LUIZ FELIPE DE MORAES BARROS

**Estudo comparativo entre nepafenaco 0,1% e dexametasona 0,1%
no tratamento da inflamação pós facoemulsificação experimental
em coelhos Nova Zelândia (*Oryctolagus cuniculus*)**

São Paulo

2011

LUIZ FELIPE DE MORAES BARROS

**Estudo comparativo entre nepafenaco 0,1% e dexametasona 0,1%
no tratamento da inflamação pós facoemulsificação experimental
em coelhos Nova Zelândia (*Oryctolagus cuniculus*)**

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação
em Clínica Cirúrgica Veterinária da Faculdade de
Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade
de São Paulo para obtenção do título de Doutor
em Ciências

Departamento:

Cirurgia

Área de concentração:

Clínica Cirúrgica Veterinária

Orientador:

Prof. Dr. Angelo João Stopiglia

São Paulo

2011

Autorizo a reprodução parcial ou total desta obra, para fins acadêmicos, desde que citada a fonte.

DADOS INTERNACIONAIS DE CATALOGAÇÃO-NA-PUBLICAÇÃO

(Biblioteca Virginie Buff D'Ápice da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da
Universidade de São Paulo)

T.2469
FMVZ

Barros, Luiz Felipe de Moraes

Estudo comparativo entre nepafenaco 0,1% e dexametasona 0,1% no tratamento da inflamação pós facoemulsificação experimental em coelhos Nova Zelândia (*Oryctolagus cuniculus*) / Luiz Felipe de Moraes Barros. -- 2011.

109 f. : il.

Tese (Doutorado) - Universidade de São Paulo. Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia. Departamento de Cirurgia, São Paulo, 2011.

Programa de Pós-Graduação: Clínica Cirúrgica Veterinária.
Área de concentração: Clínica Cirúrgica Veterinária.

Orientador: Prof. Dr. Angelo João Stopiglia.

1. Catarata. 2. Facoemulsificação. 3. Dexametasona. 4. Nepafenaco.
5. Coelhos. I. Título.

CERTIFICADO

Certificamos que o Projeto intitulado "Efeitos comparativos do Nepafenaco 0,1% e Dexametasona 0,1% em facoemulsificação experimental em coelhos (*Oryctolagus cuniculus*)", protocolado sob o nº 1885/2010, utilizando 20 (vinte) coelhos, sob a responsabilidade do Prof. Dr. Angelo João Stopiglia, está de acordo com os princípios éticos de experimentação animal da "Comissão de Ética no uso de animais" da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo e foi aprovado em reunião de 24/03/2010.

We certify that the Research "Comparative effects of Nepafenac 0,1% and Dexametasone 0,1% eye drops after experimental phacoemulsification in rabbits", protocol number 1885/2010, utilizing 20 (twenty) rabbits, under the responsibility Prof. Dr. Angelo João Stopiglia, agree with Ethical Principles in Animal Research adopted by "Ethic Committee in the use of animals" of the School of Veterinary Medicine and Animal Science of University of São Paulo and was approved in the meeting of day 03/24/2010.

São Paulo, 25 de março de 2010

Profa. Dra. Denise Tabacchi Fantoni
Presidente

FOLHA DE AVALIAÇÃO

Nome: BARROS, Luiz Felipe de Moraes

Título: Estudo comparativo entre nepafenaco 0,1% e dexametasona 0,1% no tratamento da inflamação pós facoemulsificação experimental em coelhos Nova Zelândia (*Oryctolagus cuniculus*)

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Clínica Cirúrgica Veterinária da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo para obtenção do título de Doutor em Ciências

Data: ____/____/____

Banca Examinadora

Prof. Dr. _____ Instituição: _____

Julgamento: _____ Assinatura: _____

Prof. Dr. _____ Instituição: _____

Julgamento: _____ Assinatura: _____

Prof. Dr. _____ Instituição: _____

Julgamento: _____ Assinatura: _____

Prof. Dr. _____ Instituição: _____

Julgamento: _____ Assinatura: _____

Prof. Dr. _____ Instituição: _____

Julgamento: _____ Assinatura: _____

DEDICATÓRIA

À Leda, minha esposa, por nosso imenso amor e cumplicidade que me dão a certeza de que estaremos juntos para sempre.

Aos meus pais, Silvia e Paulo, por me ensinarem como ser um profissional correto e sobretudo por serem meus exemplos de família.

Aos meus avós, Therezinha e Blás, Belinha e Hilton que dedicaram suas vidas aos filhos e netos.

À minha irmã Maria Silvia, sempre afetuosa apesar da distância.

Aos meus sogros Silvia e Roberto, minha segunda família, por todo apoio e carinho

AGRADECIMENTOS

Professor Angelo João Stopiglia pela confiança em mim depositada.

Ao Ewaldo pela amizade e auxílio nos procedimentos anestésicos.

À Rebeca e Diogo do Laboratório de Patologia do Departamento de Análise Clínicas FCF-USP pelas análises do humor aquoso e Cristina Bichels Hebeda do Laboratório de Toxicologia do Departamento de Análises Clínicas FCF-USP pela análise das prostaglandinas.

À todos os amigos que passaram pelo serviço de oftalmologia, por todos estes anos de convívio e amizade.

Aos veterinários e pós-graduandos dos serviços de cirurgia e anestesiologia pelo convívio sempre agradável.

Ao secretários Ney e Alessandra pela paciência.

Aos funcionários do HOVET-USP Jesus dos Anjos Vieira, Otávio Rodrigues dos Santos, Cledson Lélis dos Santos e José Miron Oliveira da Silva pelo apoio e amizade.

Às bibliotecárias em especial à Elza pela ajuda na formatação da tese.

À CAPES pelo suporte financeiros nestes quatro anos de doutorado.

À todos os animais que doaram suas vidas para realização deste experimento, meus sinceros agradecimento e respeito.

Às outras pessoas que de alguma forma me incentivaram e me apoiaram para a concretização deste trabalho.

RESUMO

BARROS, L. F. M. **Estudo comparativo entre nepafenaco 0,1% e dexametasona 0,1% no tratamento da inflamação pós facoemulsificação experimental em coelhos Nova Zelândia (*Oryctolagus cuniculus*)**. [Comparative effects of nepafenac 0,1% and dexametasone 0,1% eye drops after experimental phacoemulsification in rabbits]. 2011. 109 f. Tese (Doutorado em Ciências) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2011.

As técnicas de remoção da catarata evoluíram consideravelmente nos últimos anos. No entanto, apesar do aprimoramento de novas técnicas e equipamentos, a inflamação resultante da manipulação e da remoção da lente é ainda uma das principais causas de complicações pós-operatórias. Desta forma novos anti-inflamatórios têm sido testados para o melhor controle da inflamação no sentido de aumentar o sucesso da cirurgia. O objetivo do presente trabalho foi comparar os efeitos anti-inflamatórios do nepafenaco 0,1% e da dexametasona 0,1% no tratamento da inflamação decorrente da facoemulsificação experimental em coelhos. Para tanto 21 coelhos foram submetidos à facoemulsificação do olho direito e distribuídos em três grupos: Grupo ST – recebeu colírio de moxifloxacino 0,5% quatro vezes ao dia por 15 dias; Grupo CORT – recebeu associação de colírios dexametasona 0,1% e moxifloxacino 0,5% quatro vezes ao dia por 15 dias; Grupo NEPA - recebeu associação de colírios nepafenaco 0,1% e moxifloxacino 0,5% quatro vezes ao dia por 15 dias. Os animais foram submetidos à avaliação clínica, mensuração de pressão intra-ocular, mensuração da espessura corneal e coleta de humor aquoso imediatamente antes do procedimento cirúrgico, 1, 2, 3, 7 e 15 dias após a cirurgia. As amostras foram armazenadas a -80°C para mensuração dos níveis de prostaglandina, proteína e ácido ascórbico. Com relação aos parâmetros clínicos, observou-se diferença para secreção ocular no momento T2 onde o grupo NEPA apresentou menor escore. O mesmo foi observado nos momentos T2 e T7 para hiperemia conjuntival, nos momentos T2 e T3 para opacidade corneal e no momento T3 para fibrina em câmara anterior. A paquimetria corneal não mostrou diferença significativa entre os grupos, com exceção do momento T15 quando os grupos NEPA e CORT mostraram paquimetria inferior ao grupo ST. Os níveis de prostaglandina mostraram-se inferiores no grupo NEPA nos momentos T1 e T2

ainda que nos demais momentos exista maior agrupamento de animais nos intervalos de menor concentração de PGE. Não se observou diferença entre os valores da pressão intra-ocular entre os grupos com exceção do momento T1 em que houve um pico de PIO no grupo CORT ($35,7 \pm 10,73$ mmHg). Em relação à contagem de células não se observou diferença entre os grupos com exceção do momento T3 que mostrou menor número de células no grupo CORT. Os níveis de ácido ascórbico foram superiores no grupo NEPA em todos os momentos, porém apenas em T7 e T15 com diferença estatisticamente significativa em relação ao CORT. O grupo CORT mostrou a concentração de proteína nos dois primeiros dias (T1 e T2) e a partir do momento T3 o grupo NEPA passou a apresentar concentrações de proteína discretamente menores. O grupo ST mostrou concentrações superiores em todos os momentos. O tempo de Ultra-som utilizado nos três grupos não diferiu estatisticamente. Desta forma podemos dizer que o nepafenaco foi eficiente na inibição da inflamação, redução da PCC e controle da PIO, sendo superior à dexametasona na inibição da formação de prostaglandina no HA e no restabelecimento dos níveis de ácido ascórbico na câmara anterior.

Palavras-chave: Catarata. Faciemulsificação. Dexametasona. Nepafenaco. Coelhos.

ABSTRACT

BARROS, L. F. M. **Comparative effects of nepafenac 0,1% and dexametasone 0,1% eye drops after experimental phacoemulsification in rabbits.** [Estudo comparativo entre nepafenaco 0,1% e dexametasona 0,1% no tratamento da inflamação pós facoemulsificação experimental em coelhos Nova Zelândia (*Oryctolagus cuniculus*)]. 2011. 109 f. Tese (Doutorado em Ciências) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2011.

The techniques of cataract removal have developed considerably in the last years. Despite of the improvement of new techniques and equipments, inflammation resultant from manipulation and lens extraction remain one of the main causes of post-operative complications. New anti-inflammatory drugs have been tested to better control inflammation and therefore increase success of the surgery. The purpose of the study was to compare the anti-inflammatory effects of nepafenac 0,1% and dexametasone 0,1% eye drops after experimental phacoemulsification in rabbits. Twenty one animals were submitted to phacoemulsification of the right eye and divide into three groups: Group ST - moxifloxacin 0,5% eye drops 4 times a day; Group CORT - dexametasone 0,1 % and moxifloxacin 0,5% eye drops 4 times a day; Group NEPA - nepafenac 0,1% and moxifloxacin 0,5% eye drops 4 times a day. Animals underwent clinical evaluation and values of intra-ocular pressure and central corneal pachimetry were assessed and a sample of aqueous humor was taken immediately before the surgical procedure and at days 1, 2, 3, 7 and 15 after surgery. The aqueous humor samples were storage at - 80°C and the levels of prostaglandins, protein and ascorbic acid were measured. No difference in blepharospasm was noted between groups. Group NEPA showed lower scores of ocular discharge only at day 2. The same was noted at days 2 and 7 for conjunctival hyperemia, at days 2 and 3 for corneal opacity and at day 3 for fibrin inside the anterior chamber. Corneal pachimetry showed no difference between groups except at day 15 when groups CORT e NEPA showed lower corneal pachimetry when compared to control group. Regarding the prostaglandin, NEPA group showed the lowest levels; however statistical difference was only observed at days 1 and 2. Values of intra-ocular pressure showed no statistical difference except at day 1 when a peak was noted in CORT group ($35,7 \pm 10,73$ mmHg). No difference between

groups was noted in inflammatory cell counting but in day 3 CORT group showed less cells. The ascorbic acid levels of the NEPA group were higher in all days but statistical difference was only observed at days 7 and 15. Group CORT showed lower concentration of protein at days 1 and 2 and from days 3 to 15 NEPA showed slightly lower concentration. Group ST showed highest concentrations at all moments. Mean values of ultra-sound time were not statistically different between NEPA, CORT and ST groups. Nepafenac showed to be efficient in reducing CCP, controlling IOP and inflammatory clinical signs when compared to dexamethasone and was more efficient than dexamethasone 0,1% in the recovering of the of the humor ascorbic acid levels and inhibiting PGE2 production in aqueous humor.

Keywords: Cataract. Phacoemulsification. Dexametasone. Nepafenac. Rabbits.

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Distribuição das porcentagens dos escores de Blefarospasmo dos grupos ST, CORT e NEPA para cada momento estudado.....	57
Tabela 2 - Distribuição das porcentagens dos escores de Secreção Ocular dos grupos ST, CORT e NEPA para cada momento estudado.....	58
Tabela 3 - Distribuição das porcentagens dos escores de Hiperemia Conjuntival dos grupos ST, CORT e NEPA para cada momento.....	60
Tabela 4 - Distribuição das porcentagens dos escores de Opacidade Corneal dos grupos ST, CORT e NEPA para cada momento estudado.....	61
Tabela 5 - Distribuição das porcentagens dos escores de Opacidade de Humor Aquoso dos grupos ST, CORT e NEPA para cada momento estudado.....	63
Tabela 6 - Distribuição das porcentagens dos escores de Fibrina em Câmara Anterior dos grupos ST, CORT e NEPA para cada momento estudado.....	64
Tabela 7 - Distribuição das porcentagens dos intervalos de Paquimetria Central de Córnea (μm) obtidos dos olhos direitos (OD) dos animais dos grupos ST, CORT e NEPA nos diferentes momentos estudados.....	67
Tabela 8 - Distribuição das porcentagens dos intervalos de Paquimetria Central de Córnea (μm) obtidos para os olhos esquerdos (OE) dos animais dos grupos ST, CORT e NEPA, nos diferentes momentos estudados.....	68
Tabela 9 - Distribuição das porcentagens dos intervalos das concentrações de Prostaglandina (pg/ml) obtidos dos olhos direitos (OD) para os grupos ST, CORT e NEPA, nos diferentes momentos estudados.....	70
Tabela 10 - Valores de Pressão Intra-ocular (mmHg), obtidos do olho direito (OD) dos animais dos grupos ST, CORT e NEPA, nos diferentes momentos estudados.....	72
Tabela 11 - Comparação entre as médias de Pressão Intra-ocular obtidas para os grupos ST, CORT e NEPA no momento T1.....	73
Tabela 12 - Valores de Pressão Intra-ocular (mmHg), obtidos do olho esquerdo (OE) dos animais dos grupos ST, CORT e NEPA, nos diferentes momentos estudados.....	74

Tabela 13 - Contagem de Células ($\times 10^4$ céls/ml) obtida do olho direito (OD) dos animais dos grupos ST, CORT e NEPA, nos diferentes momentos estudados.....	76
Tabela 14 - Comparação entre as médias do número de células obtidas para os grupos ST, CORT e NEPA (olhos direitos) no momento T3.....	77
Tabela 15 - Contagem de Células ($\times 10^4$ céls/ml) obtida do olho direito (OD) dos animais dos grupos ST, CORT e NEPA, nos diferentes momentos estudados.....	78
Tabela 16 - Concentrações de Ácido Ascórbico (mM) no humor aquoso, obtidas do olho direito (OD) dos animais dos grupos ST, CORT e NEPA nos diferentes momentos estudados.....	79
Tabela 17 - Comparação entre as médias das concentrações obtidas para os grupos ST, CORT e NEPA (olho direito) no momento T7.....	80
Tabela 18 - Comparação entre as médias das concentrações de ácido ascórbico obtidas (mM) para os grupos ST, CORT e NEPA (olho direito) no momento T15.....	81
Tabela 19 - Concentrações de ácido ascórbico no humor aquoso (mM), obtidas do olho esquerdo (OE) dos animais do grupo ST nos diferentes momentos estudados.....	82
Tabela 20 - Concentração de proteína no humor aquoso ($\mu\text{g}/\mu\text{L}$), obtida do olho direito (OD) dos animais dos grupos ST, CORT e NEPA nos diferentes momentos estudados.....	83
Tabela 21 - Concentração de proteína no humor aquoso ($\mu\text{g}/\mu\text{L}$), obtida do olho esquerdo (OE) dos animais dos grupos ST nos diferentes momentos estudados.....	84
Tabela 22 - Comparação entre as médias das concentrações de proteína no humor aquoso, obtidas para os grupos ST, CORT e NEPA (olho direito) no momento T1.....	84
Tabela 23 - Médias dos valores do tempo de ultra-som (min) utilizado nas cirurgias dos grupos ST, CORT e NEPA.....	85
Tabela 24 - Correlações obtidas entre as variáveis nos grupos ST, CORT e NEPA no momento T0 - São Paulo – 2011.....	86
Tabela 25 - Correlações obtidas entre as variáveis nos grupos ST, CORT e NEPA no momento T1 - São Paulo – 2011.....	87
Tabela 26 - Correlações obtidas entre as variáveis nos grupos ST, CORT e NEPA no momento T2 - São Paulo – 2011.....	87

Tabela 27 - Correlações obtidas entre as variáveis nos grupos ST, CORT e NEPA no momento T3 - São Paulo – 201.....	87
Tabela 28 - Correlações obtidas entre as variáveis nos grupos ST, CORT e NEPA no momento T7 - São Paulo – 2011.....	88

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 -	Representação gráfica da distribuição dos escores de blefarospasmo dos animais dos grupos ST, CORT e NEPA nos diferentes momentos.....	58
Figura 2 -	Representação gráfica da distribuição dos escores de secreção ocular dos animais dos grupos ST, CORT e NEPA nos diferentes momentos. * p= 0,038.....	59
Figura 3 -	Representação gráfica da distribuição dos escores de hiperemia conjuntival dos animais dos grupos ST, CORT e NEPA nos diferentes momentos.....	60
Figura 4 -	Representação gráfica da distribuição dos escores de opacidade corneal dos animais dos grupos ST, CORT e NEPA nos diferentes momentos.....	62
Figura 5 -	Representação gráfica da distribuição dos escores de opacidade de humor aquoso corneal dos animais dos grupos ST, CORT e NEPA nos diferentes momentos.....	63
Figura 6 -	Representação gráfica da distribuição dos escores de fibrina em câmara anterior dos animais dos grupos ST, CORT e NEPA nos diferentes momentos.....	65
Figura 7 -	Representação gráfica da distribuição dos valores de paquimetria de córnea do olho direito dos animais dos grupos ST, CORT e NEPA nos diferentes momentos.....	68
Figura 8 -	Representação gráfica da distribuição dos valores das concentrações de prostaglandina do olho direito dos animais dos grupos ST, CORT e NEPA nos diferentes momentos.	71
Figura 9 -	Representação gráfica da evolução dos valores de pressão intra-ocular do olho direito dos animais dos grupos ST, CORT e NEPA nos diferentes momentos.....	73
Figura 10 -	Representação gráfica dos valores de pressão intra-ocular dos grupos ST (21,4 ± 6,5 mmHg), CORT (35,7 ± 10,73mmHg) e NEPA (22,4 ± 11,98mmHg) no momento T1 com p=0,047 quando ST e CORT são comparados entre si.	73
Figura 11 -	Representação gráfica da evolução dos valores de pressão intra-ocular do olho direito dos animais dos grupos ST, CORT e NEPA nos diferentes momentos.....	77
Figura 12 -	Representação gráfica dos valores de contagem de células inflamatórias dos grupos ST (3,09 ± 1,93 x 10 ⁴ céls/ml), CORT (0,83 ± 0,9 x 10 ⁴ céls/ml) e NEPA (1,15 ± 0,49 x 10 ⁴ céls/ml) no momento T4.....	77

Figura 13 -	Representação gráfica da evolução dos níveis de ácido ascórbico (mM) nos animais dos grupos ST, CORT e NEPA nos diferentes momentos.....	80
Figura 14 -	Representação gráfica da concentração de ácido ascórbico dos grupos ST ($511,35 \pm 235,36$ mM), CORT ($316,8 \pm 100,81$ mM) e NEPA ($640,57 \pm 271,67$ mM) no momento T7.....	81
Figura 15 -	Representação gráfica da concentração de ácido ascórbico dos grupos ST ($676,65 \pm 278,35$ mM), CORT ($214,67 \pm 70,72$ mM) e NEPA ($567,57 \pm 92,08$ mM) no momento T15.....	81
Figura 16 -	Representação gráfica da evolução da concentração de proteína no humor aquoso ($\mu\text{g}/\mu\text{L}$) dos animais dos grupos ST, CORT e NEPA nos diferentes momentos.....	84
Figura 17 -	Representação gráfica da concentração de proteína dos grupos ST ($11,2 \pm 5,05$ $\mu\text{g}/\mu\text{L}$), CORT ($5,03 \pm 1,55$ $\mu\text{g}/\mu\text{L}$) e NEPA ($9,38 \pm 3,74$ $\mu\text{g}/\mu\text{L}$) no momento T1.....	85

LISTA DE ABRAVIATURAS E SIGLAS

A	amperes
AINES	anti-inflamatórios não esteroidais
BHA	barreira hemato-aquosa
BSS	solução salina balanceada
cc/min	centímetros cúbicos por minuto
COX	cicloxogenase
céls/ mm ³	células por milímetro cúbico
céls/ ml	células por mililitro
EECC	extração extra-capsular convencional da catarata
ERO	espécies reativas de oxigênio
et al.	e outros
HA	humor aquoso
I /A	irrigação e aspiração
IL	Interleucinas
LIO	lente intra-ocular
mg/l	miligrama por litro
mg/kg	miligrama por quilograma
min	minuto
ml	mililitro
mm	milímetro
mmHg	milímetro de mercúrio
mM	milimolar
mMol/l	milimolar por litro
nM/min	nanomolar por minuto

NO	óxido nítrico
µg/µL	micrograma/microlitro
µL	microlitro
OD	olho direito
OE	olho esquerdo
pg/ml	picograma por mililitro
PG	Prostaglandina
PIO	pressão intra-ocular
PMN	Polimorfonucleares
r	coeficiente de Spearman
RL	radicais livres
TNFα	fator de necrose tumoral alfa

LISTA DE SÍMBOLOS

°C grau Celsius

% Percentual

= igual

± mais ou menos

x vezes

< menor

> maior

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO E REVISÃO DE LITERATURA	21
1.1 Anatomia do cristalino e Catarata	21
1.2 Cirurgia da Catarata	25
1.3 Mediadores inflamatórios e barreira hemato-aquosa	27
1.4 Radicais livres e antioxidantes	34
1.5 Anti-inflamatórios usados na oftalmologia	38
2 OBJETIVO	48
3 MATERIAL E MÉTODOS	49
3.1 Animais	49
3.1.1 Grupos experimentais	49
3.2 Procedimento cirúrgico	50
3.2.1 Anestesia	50
3.2.2 Facoemulsificação	50
3.3 Parâmetros analisados	51
3.3.1 Avaliação clínica	52
3.3.2 Mensuração da pressão intra-ocular (PIO)	52
3.3.3 Mensuração da espessura corneal – Paquimetria	52
3.3.4 Coleta do humor aquoso	53
3.3.5 Contagem de células inflamatórias	53
3.3.6 Determinação de proteínas totais no HA	53
3.3.7 Determinação da concentração de ácido ascórbico no HÁ	54
3.3.8 Determinação da concentração de Prostaglandinas no HÁ (PGE2)	54
3.3.9 Tempo de Facoemulsificação	55
3.4 Análise Estatística	55
3.4.1 Comparação das variáveis qualitativas	55
3.4.2 Comparação das variáveis quantitativas	55
3.4.3 Análise de correlação	56
4 RESULTADOS	57
4.1 Avaliação Clínica	57
4.2 Paquimetria de córnea	65
4.3 Determinação dos níveis de prostaglandina	69
4.4 Pressão intra-ocular	71

4.5 Contagem de células inflamatórias.....	74
4.6 Determinação dos níveis de ácido ascórbico.....	78
4.7 Determinação dos níveis de proteína.....	82
4.8 Tempo de US.....	85
4.9 Análise de correlação.....	86
5 DISCUSSÃO.....	89
6 CONCLUSÕES.....	97
REFERENCIAS.....	98

1 INTRODUÇÃO E REVISÃO DE LITERATURA

A cirurgia da catarata vem apresentando um desenvolvimento considerável nos últimos anos. Isto se deve às novas técnicas e tecnologias que melhoraram substancialmente o sucesso pós-operatório. Apesar de toda esta evolução, a inflamação resultante do ato cirúrgico e manipulação do cristalino é considerada uma importante causa de complicação no período pós-operatório. Neste sentido, o uso de anti-inflamatórios é fundamental para assegurar uma recuperação pós-operatória sem intercorrências que interfiram no resultado final da cirurgia, ou seja a recuperação da visão. Assim é importante que existam na literatura estudos comparando a eficácia de novos anti-inflamatórios com aqueles já amplamente difundidos entre a comunidade médica.

Em virtude da literatura correlata ao tema ser vasta e abrangente optou-se por subdividir a revisão de literatura em capítulos a fim de organizar os diferentes pontos de interesse do estudo.

1.1 Anatomia do cristalino e Catarata

O cristalino é uma estrutura biconvexa, transparente e avascular, ancorada em sua porção equatorial no corpo ciliar por meio de fibras denominadas de ligamentos zonulares que o mantêm localizado posteriormente à íris e anteriormente ao corpo vítreo, dividindo o globo ocular em segmento anterior e segmento posterior. É composto, por duas cápsulas externas de membrana basal, anterior e posterior, epitélio anterior, fibras diferenciadas e substância amorfa. A cápsula é formada por fibras colágenas tipo IV e regula a passagem de água e eletrólitos e é impermeável a grandes moléculas. O epitélio é composto por uma única camada de células que se estendem por baixo da cápsula anterior e é responsável pela formação das fibras lenticulares. Existe uma constante produção de células epiteliais durante toda a vida e estas se dispõem concêntricamente, formando o córtex (região periférica e com menor densidade celular) e o núcleo (região central com maior densidade celular) (SAMUELSON, 1999).

Pode ser dividido em região cortical, mais externa, próxima à cápsula e núcleo, região central da lente. A lente do cão tem volume aproximado de 0,5 ml, espessura antero-posterior de 7 mm e equatorial de 10 mm (GELLAT, 2000). Por sua transparência e curvatura tem como função a transmissão e refração da luz bem como a focalização da imagem na retina pelo mecanismo de acomodação visual (SLATTER, 1990; GELLAT, 2005).

A perda de transparência é um denominador comum entre as doenças que acometem a lente e devido à prevalência de doenças hereditárias pode ser considerada uma das afecções intra-oculares mais freqüentes como causa de perda de visão nos cães (GELLAT, 2000).

A catarata pode ser definida como uma opacificação da cápsula ou das fibras do cristalino resultantes de alterações da arquitetura destas estruturas. Podem ser classificadas de acordo com as causas (ex. traumática, diabetogênica), idade de aparecimento (ex. congênita, juvenil, senil), localização da opacidade (ex. capsular, sub-capsular, zonular, cortical, nuclear, equatorial, sutural ou axial) e mais comumente pelo estágio de evolução (ex. incipiente, imatura, madura e hipermadura) (GELLAT, 2000).

Por convenção, o grau de opacificação ou estágio de evolução da catarata está diretamente ligado à porcentagem do reflexo tapetal que ela bloqueia. A catarata incipiente, estágio mais inicial, apresenta uma opacidade focal ocupando 10 a 15% da área do cristalino sem comprometimento do reflexo tapetal. A catarata imatura, estágio intermediário, se mostra como uma opacidade mais pronunciada e comprometimento parcial do reflexo de fundo. A catarata madura apresenta opacidade total do cristalino com impedimento total do reflexo tapetal. Por fim, a catarata hipermadura, último estágio evolutivo, apresenta aspecto cintilante e a intensidade do reflexo de fundo pode variar de acordo com o grau de reabsorção. Neste último estágio, as fibras lenticulares degeneradas podem liberar enzimas que causam proteólise de áreas do cristalino caracterizando este fenômeno de reabsorção. As proteínas lisadas e água atravessam a cápsula, diminuindo o volume do cristalino e conseqüentemente enrugando a cápsula anterior e aumentando a profundidade da câmara anterior.

Os mecanismos de formação da catarata envolvem alguma forma de estresse osmótico, agregação de proteínas lenticulares, disfunções metabólica energética ou nutricional, alterações de concentração de oxigênio, radiação, exposição à luz

ultravioleta e estresse oxidativo secundários à reações de oxidação e redução (GLOVER; CONSTANTINESCU; 1997; SAMUELSON, 1999). Na formação da catarata, ocorre 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 coagulação de proteínas intracelulares formando opacidades permanentes no cristalino (SLATTER, 1990).

A lente, quando comparada com outros tecidos, apresenta alta relação entre proteína e água, necessária para a manutenção da transparência e capacidade de alteração do formato da lente durante o processo de acomodação visual (PATERSON; DELAMERE, 1992). O metabolismo da lente é direcionado à produção energética necessária para a síntese protéica e manutenção do equilíbrio osmótico. A demanda energética é basicamente suprida por glicólise aeróbica. No momento em que a catarata se torna clinicamente evidente, uma série de alterações irreversíveis no metabolismo da lente ocorrem em decorrência de eventos relacionados ao conteúdo protéico, trocas metabólicas e atividade antioxidante (DAVIDSON; NELMS, 2007).

Na catarata, quase sempre existe uma diminuição da atividade das bombas de Na^+/K^+ -adenosina trifosfato (ATPase) das células epiteliais do cristalino gerando um aumento dos níveis de sódio e cálcio bem como diminuição dos níveis de potássio. Diminuem o consumo de oxigênio e a produção de adenosina trifosfato e da mesma forma atividade de agentes oxidantes como glutathione reduzida e oxidada, ácido ascórbico, alfa-tocoferol e superóxido desmutase (DAVIDSON; NELMS, 2007).

Durante o metabolismo aeróbico celular, uma série de espécies reativas de oxigênio (ERO) são liberadas e podem reagir com biomoléculas causando danos a lipídeos, proteínas, ácidos nucleicos e carboidratos. Uma vez que a produção de ERO supera o potencial de defesa antioxidante o processo de estresse oxidativo se desenvolve. Este desbalanço pode, por sua vez, aumentar a oxidação das proteínas e lipídios do cristalino (SIES, 1991). Um dos mecanismos propostos para explicar a opacificação da lente é o fenômeno oxidativo no cristalino quer seja pela radiação bem como pela liberação de ERO (SIES, 1991). A proteção da lente contra o dano oxidativo tem importância fundamental visto que a lente esta constantemente exposta aos raios solares (PATERSON; DELAMERE, 1992).

A catarata pode progredir de forma lenta ou manter-se em determinado estágio de evolução. Em animais jovens esta progressão ocorre geralmente em ritmo mais rápido. Não existe atualmente nenhum tipo de tratamento medicamentoso para evitar a sua progressão ou cura; no entanto, estudos sugerem possível relação entre prevenção e desenvolvimento da catarata e a concentração de ácido ascórbico no HA (BARROS et al., 2004).

Durante o processo de reabsorção da catarata, o contato da proteína lenticular com a úvea pode instalar um quadro de uveíte facogênica ou facoinduzida. Existem basicamente duas formas de uveíte facoinduzida: facoclástica e facolítica. A uveíte facoclástica resulta de um trauma ocular, ruptura da cápsula e conseqüente liberação súbita de proteínas do cristalino no humor aquoso. Já a uveíte facolítica, é o resultado do extravasamento de proteínas solúveis do cristalino através da cápsula anterior intacta, processo este relacionado à reabsorção da catarata (VAN DER WOERDT, 2000).

Os sinais clínicos mais comumente observados incluem hiperemia conjuntival, dilatação pupilar insuficiente quando da aplicação de midriático tópico, miose e diminuição da pressão intra-ocular. “Flare” foi observado em 50% dos animais examinados em estudo de van der Woerdt et al., 1992. Os mesmos autores identificaram, em casos crônicos, sinéquias posteriores e pigmentação de cápsula anterior.

Segundo alguns autores a presença de uveíte facoclástica pode reduzir a taxa de sucesso da extração extra capsular da catarata de 95% para 52%; no entanto não existem dados na literatura referentes a facoemulsificação em cães portadores com este tipo de uveíte (PAULSEN et al., 1986).

Atualmente a fisiopatogenia das uveítes facoinduzidas ainda não está totalmente elucidada. Por muitos anos, considerava-se ser uma reação celular imuno-mediada, uma vez que se pensava que as proteínas do cristalino eram represadas no interior da cápsula do cristalino antes do desenvolvimento do sistema imunológico fazendo com que estas proteínas não fossem reconhecidas como “self” (VAN DER WOERDT, 2000). Contrariamente a esta teoria, está o fato de que alguns estudos já haviam detectado vários tipos de proteínas cristalinianas em amostras de humor aquoso normais (SANDBERG; CLOSS, 1979). A presença de anticorpos contra proteínas do cristalino em soro sanguíneo de cães foi detectada em 43,1% de animais portadores da catarata e 59,3% de cães sem catarata (DENIS et al., 2003).

A menor detecção de anticorpos em animais com catarata pode, segundo os autores, ser o reflexo de mudanças nos epítomos das proteínas no cristalino, maturação da afinidade dos anticorpos e o chamado desvio imunológico associado à câmara anterior.

Atualmente é consenso mundial que a abordagem da catarata deve ser feita de forma cirúrgica quer seja no homem ou em qualquer outra espécie animal (FISCHER, 1989; DZIEZYC, 1990). Desta forma, ao longo dos anos as técnicas para remoção da catarata têm evoluído de forma consistente com intuito de diminuir as complicações pós-operatórias e acelerando a recuperação do paciente.

1.2 Cirurgia da Catarata

A extração intracapsular do cristalino foi a primeira técnica utilizada em Medicina Veterinária e consistia na remoção do cristalino na sua forma intacta, ou seja cápsulas preservadas, núcleo e córtex. Era necessária uma ampla incisão corneal com freqüentes lesões na região da zônula e descolamentos de retina que levavam à uma série de complicações pós-operatórias que culminaram com o desuso desta técnica para a remoção eletiva da catarata, reservando-se a sua indicação apenas nas luxações anteriores de cristalino (DZIEZYC, 1990; WHITLEY et al., 1993).

Após alguns anos de experiência com a extração intracapsular do cristalino, seguiu-se a idéia de remover a cápsula anterior do cristalino para retirar núcleo e córtex mantendo desta forma a cápsula posterior e denominando esta técnica de extração extra-capsular do cristalino (EECC). Este procedimento foi a técnica de eleição para o tratamento da catarata por 25 anos e ainda hoje ela é utilizada em alguns centros oftalmológicos. As repercussões no segmento posterior com relação aos descolamentos de retina eram muito menores em relação à intra-capsular, melhorando o prognóstico com relação ao retorno da visão, porém existia ainda o inconveniente de uma ampla incisão corneal bem como a uveíte pós-operatória intensa (DZIEZYC, 1990; WHITLEY et al., 1993).

Com o advento da facoemulsificação, atualmente a técnica de eleição para o tratamento da catarata, as taxas de complicações, antes mais freqüentes,

diminuíram tornando a recuperação mais rápida e os resultados visuais incomparavelmente melhores em relação à EECC. A facoemulsificação consiste na fragmentação do cristalino utilizando-se de energia ultrassônica (emulsificação) e posterior aspiração dos fragmentos através de uma pequena incisão. Trata-se de um procedimento cirúrgico em que se deve respeitar uma seqüência de eventos dependentes entre si composto de incisão, injeção de substância viscoelástica, capsulorrexe, hidrodissecção e hidrodelineação, facoemulsificação propriamente dita, colocação ou não de lente intra-ocular e sutura da córnea (DAVIDSON et al., 1991).

Dentre as principais vantagens da facoemulsificação comparativamente à EECC estão a pequena incisão, manutenção da pressão intra-ocular trans-operatória, pouca manipulação das estruturas internas do bulbo ocular e menor tempo operatório (DZIEZYC, 1990; DAVIDSON et al., 1991; WHITLEY et al., 1993; GLOVER; CONSTANTINESCU, 1997; PRASAD, 1998). Miller et al., em 1987 apontaram taxa de 94,6% de sucesso no pós-operatório imediato nas facoemulsificações em cães, frente aos 85,7% de sucesso descritos por Barros (1990) com cirurgias de EECC.

A incisão corneal principal deve ser realizada na porção superior da córnea com bisturi de largura pré-determinada para um perfeito encaixe com a ponteira da caneta de facoemulsificação. Uma incisão muito larga provoca vazamento de líquido e instabilidade da câmara anterior ao passo que uma incisão estreita pode provocar queimadura corneal uma vez que a energia ultra-sônica gera calor (GLOVER; CONSTANTINESCU, 1997). A técnica bimanual, hoje a mais utilizada, necessita ainda de uma segunda incisão auxiliar de trabalho, cuja posição está a aproximadamente 80° da incisão principal. A função desta incisão é de inserção do instrumental de manipulação para rotação e fratura do núcleo (DAVIDSON et al., 1991; NASISSE et al., 1991).

Após a incisão introduz-se na câmara anterior material viscoelástico que tem como função a manutenção da câmara bem como proteger as estruturas intra-oculares, principalmente o endotélio. A seguir deve ser realizada a capsulorrexe curvilínea contínua onde se retira a porção central da cápsula anterior do cristalino. É realizada com auxílio de cistítilo e pinça de Ultrata.

A hidrodissecção é realizada pela introdução de cânula abaixo da borda da cápsulorrexe e infusão de solução salina. O fluxo gerado pela infusão separa o

cristalino da cápsula na tentativa de desfazer possíveis aderências permitindo a rotação do núcleo. O hidrodelineamento tem como objetivo a separação do córtex e epinúcleo e epinúcleo do núcleo cataratoso. Na Medicina este é um procedimento rotineiro, porém na oftalmologia veterinária tal manobra não tem o mesmo efeito uma vez que as regiões do cristalino não se apresentam tão distintas (GLOVER; CONSTANTINESCU, 1997). Em seguida, inicia-se a facoemulsificação propriamente dita, onde por meio de uma caneta introduzida através da incisão, o núcleo é quebrado pela energia ultrassônica emitida pela caneta e aspirado pelo vácuo promovido pela bomba peristáltica externa.

1.3 Mediadores inflamatórios e barreira hemato-aquosa

Mesmo com o aprimoramento das técnicas que se tornaram menos traumáticas e com recuperação pós-operatória mais rápida, um dano tecidual trans-operatório existe e mediadores inflamatórios são liberados via enzimas cicloxigenases (COX) e lipoxigenases. A via cicloxigenase do metabolismo do ácido aracdônico leva à produção de tromboxano, prostaglandinas (PGs) e prostaciclina ao passo que a via lipoxigenase produz leucotrienos e 5-HETE (ROBERTS; BRENNAN, 1995). A biossíntese dos eicosanóides é bem conhecida e sabe-se que as PGs são formadas pela oxidação cíclica dos cinco carbonos centrais dentro dos 20 carbonos dos ácidos graxos polinsaturados. A enzima regulatória desta via é a COX ou PGH sintase. Basicamente duas isoformas das enzimas COX foram isoladas: a COX1 e a COX2. A COX1 é uma proteína onipresente de importância fisiológica como proteção gástrica, agregação plaquetária, manutenção da função renal, metabolismo ósseo, tônus vascular, resposta imune e cicatricial entre outras, enquanto que a COX2 está primariamente envolvida na resposta inflamatória induzindo a produção de PGs por meio da conversão de ácido aracdônico, ocorrendo em vários tecidos incluindo os oculares. Este fato se revela quando na análise do padrão de expressão tecidual, ou seja, nas proximidades de tecidos normais encontra-se maior expressão de COX1 e pouca expressão de COX2 (DUBOIS et al., 1998).

Desta forma os pacientes que apresentam manifestações clínicas pós-operatórias demandam tratamento clínico com anti-inflamatórios tanto pela via sistêmica e principalmente pela via tópica. Existem evidências que o uso de carprofeno pela via oral, por exemplo, é capaz de prevenir ou diminuir a formação de flare em cães submetidos a modelo experimental de inflamação intra-ocular induzida por pilocarpina (KROHNE et al., 1998). Dentre outros AINES mais comumente prescritos pela via oral na oftalmologia pode-se citar ainda o flunixin meglumine, meloxicam e dentre os corticóides a prednisolona (GIULIANO, 2004).

Sabe-se que algumas afecções do segmento anterior bem como procedimentos cirúrgicos intra-oculares provocam reações inflamatórias que alteram a barreira hemato-aquosa (BHA). As prostaglandinas são consideradas uma das principais responsáveis pela quebra da BHA após algum tipo de paracentese (REGNIER et al., 1986). Existem relatos de métodos experimentais para se induzir uveíte e conseguinte quebra da BHA tais como ruptura da cápsula anterior do cristalino por laser, aplicação tópica de fármacos e cirurgias da córnea (GIULIANO, 2004). Como manifestação clínica das uveítes pós-operatórias, pode-se ter sintomas de dor, hiperemia conjuntival, edema corneal, sinéquias posteriores, hemorragias vítreas, descolamentos de retina entre outras alterações que, se não adequadamente tratadas, podem comprometer o resultado da cirurgia no que se refere à restauração da visão. Sintomas relacionados especificamente com a quebra da BHA são principalmente formação de flare, evidenciado pela turvação e aumento da celularidade no HA.

Após uma cirurgia de catarata a BHA pode permanecer alterada por até três meses como demonstraram Sanders et al. (1982). Os mesmos autores afirmam que o uso de anti-inflamatórios como a indometacina pode reduzir o tempo de restabelecimento da BHA para cinco semanas observando diminuição de extravasamento de fluoresceína na câmara anterior.

A BHA depende primariamente de junções *tight* entre o epitélio não-pigmentado do corpo ciliar sendo que os vasos sanguíneos são mais fenestrados o que permite a passagem de componentes plasmáticos para seu estroma. Além disso, um dos eventos fundamentais da inflamação e que ocorre muito precocemente ao estímulo inflamatório é a contração do endotélio vascular principalmente da íris, mediada quimicamente por mediadores inflamatórios que aumentam a distância entre as células permitindo o extravasamento de fluido e

leucócitos do compartimento vascular (GELLAT, 1991). Como resultado clínico da quebra da BHA tem-se aumento da celularidade na câmara anterior ou flare e aumento dos níveis de proteína no humor aquoso. Desta forma, a contagem de células inflamatórias e dosagem de proteínas no humor aquoso podem ser consideradas bons indicadores de inflamação intra-ocular e avaliação da quebra da BHA (LORENZ et al., 2008). Outras formas de avaliação da inflamação da câmara anterior são descritas na literatura como a biomicroscopia em lâmpada de fenda, a mensuração celular e de flare por laser que acessam a permeabilidade de BHA e a fluorofotometria onde se estabelece um coeficiente de difusão de fluoresceína que reflete justamente a permeabilidade de moléculas de propriedades semelhantes à fluoresceína.

Freddo et al. (1990) concluíram em seus estudos que existe uma via para difusão de macromoléculas ou proteínas globulares que vai da íris e corpo ciliar em direção ao HA na câmara anterior de coelhos visto que há uma falta de epitélio e endotélio contínuos entre estas estruturas e o humor aquoso.

O HA contém pequena quantidade de proteína e a concentração é aproximadamente 1/500 em relação ao plasma. A relação entre a concentração de proteína circulante no plasma e que atravessa a BHA e o metabolismo dos tecidos adjacentes como íris, processo ciliar, córnea, epitélio da lente e malha trabecular determinam os níveis totais de proteínas presentes no HA (ZHOU; LIU, 2006). Segundo Murray e Bartels (1993), a concentração de proteína na câmara anterior é determinada por três fatores: taxa de entrada de proteína no HA, taxa de remoção por fluxo em massa de HA e pelo volume da câmara anterior. A maior parte da proteína adentra a câmara anterior por difusão do montante estromal do filtrado plasmático. A maioria das proteínas encontradas no HA responsáveis pelo flare é albumina e globulinas derivadas no plasma (DERNOUCHAMPS; HEREMANS, 1975).

Em coelhos, a concentração de proteína parece ser maior no período da manhã e menor no período da tarde e noite. Supondo que a relação entre a transferência de proteína do plasma para o HA ou a permeabilidade da BHA fosse constante durante as 24 horas do dia a proteína seria removida e sua concentração diminuiria durante a noite quando sabidamente o fluxo de HA é maior (TAKAHASHI et al., 1995). Murray e Bartels (1993) afirmam que a taxa endógena de entrada de proteína no HA decresce ao longo do dia uma vez que o “flare” diminui, ao passo

que o fluxo de HA não varia significativamente, fenômeno este, que segundo os mesmos autores, indica uma regulação endógena para passagem de proteína pela BHA.

Normalmente o humor aquoso de coelhos não apresenta prostaglandinas em concentrações importantes, no entanto após paracentese ou injúria em íris ou no cristalino, prostaglandinas (PGs) são liberadas para a câmara anterior e junto de outros mediadores causam a quebra da barreira hematoaquosa (BHA) (BHATTACHERJEE, 1980).

Em estudos mais recentes, no entanto, observou-se uma concentração fisiológica de PGE₂, PGED₂ e PGF₂α em coelhos normais sendo que a concentração de PGE₂ variou de 114 a 158 pg/ml em média (LIU, 2000). No mesmo estudo constatou-se uma variação circadiana das concentrações de PGED₂ e PGF₂α, variação esta que acompanha a variação da concentração de proteína, o que segundo Liu (2000) demonstra a relação entre estas prostaglandinas e a permeabilidade de proteínas através da BHA. Estudos *in vitro* determinaram que em coelhos a capacidade de síntese de PGE₂ é maior na conjuntiva, íris e corpo ciliar e consideravelmente menor na córnea e retina (EAKINS, 1977). Sabe-se também da existência de receptores distintos pra PGE₂ e outras prostaglandinas na musculatura bem como sítios ligantes específicos para PGE₂ na íris e corpo ciliar mediando a quebra da BHA o que pode explicar a maior efetividade da PGE₂ na quebra da BHA em relação às outras PGs (PROTZMAN; WOODWARD, 1990; CSUKAS et al., 1992).

Aumento dos níveis de PGE₂ foi observado na fotofacofragmentação por Nd:YAG laser em coelhos. Kao et al. (1988) constataram aumento importante dos níveis de PGE₂ e proteína no HA de coelhos 2 a 4 horas após aplicação de Nd:YAG laser. Os mecanismos de liberação de PGE₂ após aplicações de laser, segundo estes autores, pode estar relacionada a um reflexo neuro-humoral ou por ondas de choque muito embora se saiba que é resultado de lesões de tecidos capazes de induzir a síntese e liberação de PGs. Como antes mencionado a íris e corpo ciliar são os locais de maior produção de PGE₂, no entanto especula-se que tanto o epitélio da cápsula anterior quanto fibroblastos possam sintetizar PGE₂ frente a estímulos exógenos. Desta forma, no mesmo experimento, quando se realiza a facofragmentação sem realizar ruptura da cápsula anterior, há um aumento menos expressivo de PGE₂ e proteína no humor aquoso.

Outros mediadores também podem estar envolvidos na inflamação pós-aplicação de Nd:YAG laser. Er et al. (2000) encontraram aumento dos níveis de óxido nítrico (NO), interleucinas (IL) e TNF α em coelhos submetidos à capsulotomia posterior por YAG laser. Em coelhos submetidos à extração do cristalino e implante de LIO (lente intra-ocular) após catarata traumática existe aumento dos níveis de TNF α no humor aquoso porém este aumento é muito mais significativo nos animais que receberam LIO do que nos animais que não receberam LIO. Desta forma pode-se dizer que este mediador desempenha um papel importante na resposta inflamatória pós- Catarata traumática e sua indução está intimamente ligada à presença de LIO (ZHAOHUI; SHOUZHI, 1999). Os mesmos resultados foram observados por Qi et al. (2003) quando após facoemulsificação experimental em coelhos com e sem implante de LIO observaram maior indução de NO, IL-2 e TNF α em animais que receberam o implante.

A administração de prostaglandinas pela via tópica em coelhos pode promover diminuição da PIO (pressão intra-ocular) (WOODWARD et al., 1990). Porém se a dose estiver abaixo da curva dose-resposta pode haver um aumento da PIO. Estes dois fatores em conjunto corroboram com a teoria de que as prostaglandinas endógenas desempenham papel no controle da PIO. Contrariamente a esta hipótese, Liu (2000) e Matsuo (2004) não observaram relação entre concentrações de PGE2 e proteína em HA em coelhos e pacientes humanos portadores de catarata respectivamente. A aplicação tópica de PGE2 pode induzir vasodilatação e diminuir o tempo de preenchimento vascular por fluoresceína bem como aumentar o extravasamento do corante para a câmara anterior de coelhos (WHITELOCKE; EAKINS; BENNET, 1975).

Em pacientes humanos portadores de catarata, Matsuo (2004) relata que a concentração de PGE2 estava abaixo dos níveis de detecção em aproximadamente 50% dos casos, ainda que em média a concentração fosse superior à de PGF2 α . Nenhuma correlação foi observada entre a concentração de PGE2 e PIO.

Para comparar a resposta inflamatória da facoemulsificação em relação à EECC Laurell et al. (1997a) avaliaram parâmetros inflamatórios tais como paquimetria corneal, contagem de células inflamatórias bem como níveis de proteína e PGE2 no humor aquoso de coelhos. Com relação à paquimetria corneal, os autores observaram aumento marcante no primeiro dia de pós-operatório com decréscimo do valor até o 30º dia. Houve também um aumento de celularidade, mais

evidente nos animais submetidos a facoemulsificação, sendo que no primeiro dia havia predomínio de polimorfonucleares e a partir do segundo dia em diante havia predomínio de monócitos e leucócitos. Um pico dos níveis de proteína e PGE2 no HA são observados no primeiro dia após a cirurgia seguindo um decréscimo progressivo no transcorrer do período de 30 dias. Em humanos a facoemulsificação também produz menor quebra da barreira hematoaquosa quando comparada a EECC. Chee et al. (1999) observaram menores índices de flarefotometria à laser bem como menores escores de celularidade combinado à flare mais evidentes no primeiro mês pós-operatório.

Clinicamente a inflamação em câmara anterior pode ser avaliada por parâmetros clínicos como hiperemia conjuntival, flare, formação de fibrina e edema corneal. A contagem celular e determinação da concentração de proteína, também pode servir como ferramenta (KOURA et al., 2006). Em cães clinicamente normais, o HA é desprovido de células e frente a um processo inflamatório com ocorrência de “flare” assume-se que células juntamente com proteínas adentraram o HA. Este fato ocorre uma vez que neutrófilos são recrutados por mediadores inflamatórios (KROHNE; REAGAN; WELCH, 1998). Em modelo experimental de uveíte induzida por endotoxina em coelhos, além dos sinais clínicos pertinentes à inflamação intra-ocular como flare e *rubeosis iridis*, McGahan (1985) observou marcado aumento da contagem celular (3203 ± 609 céls/mm³ vs 213 ± 209 céls/mm³ no controle) bem como uma concentração de proteína 23 vezes maior do que no HA de coelhos normais. Para analisar o comportamento das LIO em olhos com e sem uveíte após facoemulsificação, estes autores promoveram uveíte por injeção intravítrea de um lipopolissacarídeo de *Salmonella typhimurium* e realizaram contagem de células inflamatórias por exclusão com azul Trypan e após centrifugação do HA mensuraram a concentração de proteínas do sobrenadante. Houve marcado aumento do número de células nos animais que receberam o lipopolissacarídeo frente aos animais que receberam PBS ($4,9 \times 10^6$ céls/ml vs $7,5 \times 10^5$ céls/ml). Foi observada maior concentração de proteína nos animais com uveíte no primeiro e segundo dias pós-operatórios, mas não houve diferença no sétimo dia.

O grau de inflamação pós-operatória pode variar, entre outros fatores, de acordo com o tipo de capsulotomia, método de extração do cristalino bem como tipo de LIO implantada. Laurell et al. (1997 b) demonstraram que o tamanho da incisão também pode influenciar parâmetros inflamatórios. Em facoemulsificação

experimental em coelhos observaram valores quase três vezes maiores da concentração de PGE2 em incisões de 11.0 mm quando comparados à incisões de 5.2 mm no terceiro dia pós-operatório. Da mesma forma a contagem de células inflamatórias mostrou-se superior quando incisões de 11.0 mm eram praticadas.

Como anteriormente descrito a avaliação da quebra da BHA é um importante procedimento no acompanhamento da evolução pós-operatória de cirurgias intra-oculares. O procedimento que estima a quantidade de células por fotometria a laser é considerado padrão para constatação deste evento. Assim Shah, Spalton e Taylort (1992) confrontaram os dados de fotometria com a concentração de proteínas totais no HA de pacientes com uveítes e submetidos à cirurgia de catarata. Uma correlação linear entre os dois parâmetros foi observada. Portanto, segundo os autores estes métodos são validos para avaliação da quebra da BHA.

Aumento da paquimetria corneal também foi observado por Lynch e Brinkis (2006) em cães submetidos à facoemulsificação e implante de LIO, com aumento significativo no primeiro dia até a primeira semana pós-operatória. Os autores ainda concluem que os valores de espessura corneal só retornam a índices normais após 30 dias de cirurgia. O aumento da paquimetria corneal pode ser explicado por uma série de fatores. Primeiro pela perda ou dano parcial de células endoteliais causados pelo ultrassom usado na fragmentação do cristalino que produz bolhas de cavitação e subsequente produção de radicais livres bem como pelo tempo de facoemulsificação e volume de solução de irrigação utilizados. Neste experimento os autores relatam um pico de elevação da PIO o que também poderia interferir no funcionamento adequado do endotélio. Por fim a uveíte pós-operatória influencia de forma transitória o mecanismo de bombeamento endotelial e conseqüente edema corneal.

Mais recentemente a literatura tem estudado um tipo de inflamação pós-operatória chamada Síndrome Tóxica do Segmento Anterior (TASS). Pode ser definida como uma inflamação intra-ocular causada por uma substância não infecciosa que adentra a câmara anterior, relacionada principalmente à cirurgia de catarata (MAMALIS et al., 2006; CUTLER PECK et al., 2010). Os principais causadores da TASS estão relacionados às soluções de irrigação, resíduos presentes nos instrumentais cirúrgicos e lentes intra-oculares, detergentes usados para limpeza, algumas toxinas, viscoeláticos denaturados, preservativos como benzalcônio entre outros.

Segundo os autores a inflamação ocorre 12 a 24 horas após a cirurgia e provoca quebra massiva da BHA com presença de fibrina e hipópio na câmara anterior e edema corneal importante devido à alterações no endotélio corneal. O tratamento com corticóides é preconizado, porém alguns em que a inflamação não for adequadamente controlada seqüelas como irregularidade pupilar e danos à malha trabecular podem resultar em aumento da pressão intra-ocular.

Até o momento não existem relatos na literatura da ocorrência de TASS em cães, no entanto esta possibilidade deve ser considerada nos casos de inflamação pós-operatória uma vez que as técnicas e materiais empregados assemelham-se com aqueles potenciais causadores desta síndrome em humanos.

1.4 Radicais livres e antioxidantes

O olho é um órgão único porque é relativamente desprotegido e está em constante exposição à radiação solar, oxigênio atmosférico, agentes químicos do ambiente e abrasões físicas. Cada um destes fatores pode resultar na geração de espécies reativas de oxigênio (ERO) ou outros radicais livres (RL) os quais acredita-se contribuir para dano tecidual quer seja nos tecidos oculares como em outros órgãos (CHAPPLE, 1997). As fontes predominantes de ERO associadas aos tecidos oculares são: Radiação pela exposição ao sol, radical ânion superóxido e outros radicais de oxigênio gerados pela respiração mitocondrial e por neutrófilos (RAO et al., 1987; ROSE; RICHER; BODE, 1998).

Existem controvérsias em relação à fonte de oxigênio na câmara anterior especificamente se ele é proveniente do ambiente e adentra a câmara anterior por difusão corneal ou se os vasos da íris anterior são os maiores responsáveis. Barr e Silver (1973) propuseram que o oxigênio seria proveniente em sua maioria do ambiente ao passo que Mead, Scars e Scars (1996) concluíram por seus estudos que os vasos iridianos seriam mais representativos.

As células da retina apresentam alta taxa de utilização de oxigênio, tornando-a outro sítio de injúria induzida por oxigênio. Ainda cones e bastonetes possuem alta quantidade de ácidos graxos polinsaturados, substratos para reações de peroxidação. Baixos níveis de vitamina C e E e conseqüente acúmulo de ERO

podem estar ligados a processos inflamatórios e à neovascularização em algumas afecções retinianas (BHOOMA et al., 1997).

Além da radiação e radicais de oxigênio, H_2O_2 ou lipoperóxidos são potenciais oxidantes no HA. Existem estudos que correlacionam níveis de H_2O_2 com a presença de catarata uma vez que em paciente portadores de catarata senil observou-se 20 vezes mais peróxido de hidrogênio no HA (ROSE; RICHER; BODE, 1998).

A relação entre o catabolismo e a produção de metabólitos de oxigênio pelas células e tecidos é crítica para a manutenção de processos bioquímicos e tem impacto direto nos danos induzidos por radicais livres e como anteriormente descrito o olho dispõe de agentes anti-oxidantes que agem tanto como seqüestradores de radicais bem como interferindo nas reações da cadeia oxidativa (RAO et al., 1987). Inúmeros seqüestradores de ERO estão presentes no olho e podem ser agrupados em: 1- nutrientes (Vitaminas A, E, C); 2- enzimas antioxidantes (superóxido desmutase, catalase, glutatinoxidase), 3- moléculas de baixo peso molecular (ácido úrico, tirosina); 4- pigmentos (produtos da oxidação de melanina, xantofila e triptofano) (ROSE; BODE, 1991).

O humor aquoso em si não parece sofrer muitos danos por estresse oxidativo: qualquer deterioração de componentes importantes ligados à proteção antioxidante parece ser reversível após regresso às condições ótimas, embora os insultos a longo prazo resultem em perda de antioxidantes no tecido lesionado.

Apesar de seu potencial pró-oxidante, o ascorbato é considerado o mais efetivo, versátil e protetivo antioxidante encontrado no olho (ROSE; BODE, 1991). Sugere-se que o ácido ascórbico oferece significativa proteção antioxidante aos tecidos oculares seqüestrando ERO (ROSE; BODE, 1991). Estima-se que a concentração de ácido ascórbico no humor aquoso seja quase 20 vezes maior que sua concentração plasmática. E este fato pode estar relacionado à função protetiva que esta substância desempenha nos tecidos oculares como absorção de raios UV e reações de oxidação da lente. Acredita-se que como o ácido ascórbico atua como seqüestradores de radicais a H_2O_2 seja um sub-produto necessário, porém com poder oxidante menor (RILEY; SCHWATZ; PETERS, 1986).

Numata et al. (1995) determinaram as concentrações de ácido ascórbico, glutatona e proteína em HA de coelhos albinos e concluíram que a concentração total de ácido ascórbico foi de $1,34 \pm 0,24$ mmol/l, glutatona de $37,5 \pm 8,68$ mmol/l e

proteína de $425,7 \pm 174,4$ mg/l. Ainda os autores relatam não haver diferença estatisticamente significativa entre coelhos albinos e pigmentados. As concentrações de ácido ascórbico no HA também já foram determinadas em suínos e bovinos ($0,547 \pm 0,044$ mM e $1,09 \pm 0,16$ mM respectivamente) (ERB et al., 2004).

O HA de humanos apresenta altos níveis de vitamina C como demonstrado por Cheng et al. (1999), porém em pacientes com uveíte anterior os autores observaram redução significativa da concentração de vitamina C ($152,03 \pm 56,30$ vs $65,93 \pm 43,50$ mg/l). Possivelmente o que ocorre é que neste momento existe maior produção de ERO como superóxidos ou peróxido de hidrogênio e a maior disponibilidade de ERO levaria à redução de antioxidantes como a vitamina C. Seguindo este raciocínio, os autores ainda sugerem haver uma relação inversamente proporcional entre a severidade da uveíte e a concentração de vitamina C no HA. Achados semelhantes foram descritos por McGahan (1985) que após indução de uveíte por injeção de endotoxina observaram em 24 horas marcada diminuição da concentração de ácido ascórbico no HA. Como indicam estes resultados, a secreção de ácido ascórbico não depende completamente da integridade da BHA visto que a taxa relação de concentração HA/plasma foi de 12:1 ao passo que em animais normais foi de 21:1. É muito provável segundo o autor que os polimorfonucleares (PMN) que adentram a câmara anterior contribuam para a oxidação do ácido ascórbico devido à liberação de ERO durante a fagocitose.

O ácido ascórbico parece, no entanto inibir a atividade da mieloperoxidase ativada nos PMN assim prevenindo tecidual quando a enzima é liberada durante degranulação dos leucócitos nos processos inflamatórios em tecidos oculares (WILLIAMS et al., 1984).

Utilizando-se do mesmo modelo de uveíte induzida por endotoxina Williams e Paterson (1987) observaram que anti-inflamatórios como a prednisolona e dexametasona são capazes de manter a concentração de ácido ascórbico quando comparados aos animais sem tratamento. Em relação aos animais normais existe sim uma redução dos níveis de ácido ascórbico, porém o tratamento com estes fármacos promove uma redução menor. Rao et al. (1987) acreditam que os radicais livres tenham alguma participação nas uveítes uma vez que na uveíte experimental induzida, observaram resposta inflamatória menor em animais tratados com substâncias seqüestradoras de radical hidroxila. A explicação para este evento pode estar no fato de que no início da resposta inflamatória há ativação de PMN ou

macrófagos e conseqüente liberação de ânion superóxido. O superóxido pode ser convertido ou contribuir para a geração de ERO como os radicais hidroxil, cuja importância no dano tecidual durante a inflamação têm sido salientada.

Com a evolução da cirurgia de catarata e o surgimento da facoemulsificação como anteriormente descrito, presenciou-se melhora significativa nos resultados pós-operatórios, no entanto as complicações relacionadas à córnea ainda têm preocupado os cirurgiões. Inúmeros fatores pode estar correlacionados à esta injúria corneal entre eles tempo prolongado de emulsificação, impacto de fragmentos de cristalino no endotélio corneal, aquecimento excessivo gerado pela energia ultrassônica e bolhas ar que se formam. Além disso, a oscilação ultrassônica no meio líquido induz à cavitações acústicas que levam à dissociação do vapor de água em radical hidroxila e átomos de hidrogênio (RIESZ; KONDO, 1992). De fato existem relatos da formação de radicais livres durante a facoemulsificação (HOLST et al., 1993). Murano et al. (2008) observaram que a oscilação ultrassônica foi responsável por causar danos às células endoteliais tais como edema e necrose celular, danos à membrana plasmática, aumento do volume das organelas e ausência de heterocromatina nos núcleos. Aumento da atividade da enzima lipídio peroxidase também foi detectada. Interessante comentar que no grupo em que se infundiu ácido ascórbico juntamente com BSS houve menor dano celular, talvez por este atuar como seqüestradores de ERO.

A formação de radical hidroxila na facoemulsificação foi observada por Cameron, Poyer e Aust (2001). Os autores ainda observaram correlação positiva entre o tempo de ultra-som utilizado e a quantidade de radical formado. Assim os mesmos sugerem que a utilização de uma solução salina de irrigação com menor concentração de oxigênio poderia promover melhora da eficiência da solução no tocante à proteção contra efeitos oxidantes. Achados muito semelhantes foram descritos por Gardner e Aust (2009) no que se refere à formação de radical hidroxila durante a facoemulsificação e que a adição de moléculas orgânicas à solução de irrigação tais como glutatona, dextrose, citrato e acetato podem limitar os potenciais danos associados à formação de radicais livres.

O hyaluronan, viscoelástico utilizado em cirurgias de catarata, parece conferir certa proteção à córnea uma vez que esta substância reduziu em cerca de 60% a formação de radicais livres e ainda diminuiu o edema corneal bem como a perda de

células endoteliais em facoemulsificação experimental em coelhos (CAMILLIERI et al., 2004).

Em cães, alguns estudos têm sido realizados no sentido de se correlacionar anti-oxidantes e radicais livres e a formação da catarata. Já em 1984, Gibiln et al. propunham a eventual participação de radicais livres na formação da catarata. Sabe-se da existência de H_2O_2 no humor aquoso e que ela possa estar ligada à oxidação de proteínas na lente bem como a lipoperoxidação que ocorre tanto durante o envelhecimento como em catarata experimental. Desta forma em processos que gerem excesso de H_2O_2 podem precipitar dano oxidativo e formação da catarata, já que níveis aumentados desta substância já foram isolados de pacientes com catarata senil (SPECTOR; GARNER, 1981). Outros pesquisadores não acreditam que o ácido ascórbico esteja envolvido isoladamente na formação da catarata, mas atividade de enzimas anti-oxidantes como glutathione peroxidase e superóxido dismutase deve ser analisada, isto porque não foram observadas diferenças entre a concentração de ácido ascórbico no HA de poodle com ou sem catarata mas a atividade destas enzimas mostraram-se reduzidas (BARROS et al., 2004).

O estado antioxidante do HA de cães foi analisado após EECC por Barros et al. (2003) que encontraram diminuição da capacidade antioxidante total até o terceiro dia pós-operatório, bem como os níveis de ácido ascórbico que seguiram comportamento semelhante. Como esperado, a concentração de proteína aumentou consideravelmente já nas primeiras 24 horas. A diminuição da capacidade antioxidante pode contribuir para a condição oxidativa no HA e aumentar a probabilidade de injúrias causadas por espécies de oxigênio localmente produzidas por células inflamatórias. O mesmo experimento foi repetido utilizando-se da facoemulsificação e resultados muito semelhantes foram observados, quer sejam aumento da concentração de proteína, e redução da capacidade antioxidante e de ácido ascórbico (DE BIAGGI et al., 2006).

1.5 Anti-inflamatórios utilizados na oftalmologia

Dois grupos de anti-inflamatórios atualmente estão disponíveis para o controle da inflamação: os corticosteróides e os anti-inflamatórios não esteroidais (AINES)

ambos interferindo na via cicloxigenase/lipoxigenase. Os AINES diminuem a inflamação por inibir a atividade da enzima cicloxigenase e, por conseguinte inibindo a síntese de PG. Os corticosteróides, que sabidamente inibem a síntese de ácido aracdônico, têm sido considerados como a terapia padrão para o tratamento pós-operatório em cirurgias de catarata quer seja em cães (MUNGER et al., 2009), eqüinos (BROOKS, 2002) e humanos (FREITAS et al., 2007). São comumente utilizados duas a seis semanas pós-operatórias. No entanto estudos mostram que este grupo de fármacos pode trazer efeitos adversos como aumento da pressão intra-ocular, retardo na cicatrização e aumento da possibilidade de infecção (EL-HARAZI et al., 2000). Outros efeitos colaterais como desenvolvimento de catarata e agravamento de infecções virais em especial o herpes vírus devem ser considerados quando do início da terapia com corticóides (SCHALNUS, 2003).

Ainda seu uso deve ser cauteloso em pacientes diabéticos onde a presença de catarata é muito freqüente bem como em casos de desepitelizações corneais onde o uso de corticóides deve ser evitado uma vez que pode diminuir a proliferação de ceratócitos bem como a deposição de colágeno e principalmente pela potencialização da collagenase. Como efeitos indesejados pode-se observar comprometimento da imunidade pela redução de neutrófilos e macrófagos aumentando os riscos de infecções secundárias, diminuição da permeabilidade vascular (WILKIE, 1990; GAYNES; FISCELLA, 2002). Alguns esteróides mais novos como loteprednol 0,5% e rimeloxone 1% parecem produzir menores efeitos colaterais, no entanto a eficácia do loteprednol 0,5% também mostrou-se reduzida em pacientes com uveíte (THE LOTEPRDNOL ETABONATE US UVEITIS STUDY GROUP, 1999).

Alguns estudos apontam que apesar da dexametasona ter melhor potência anti-inflamatória e maior capacidade de ligação a receptores de glicocorticóides do que a prednisolona, sua capacidade de proteger a BHA é semelhante (DIESTELHORST et al., 1992). Após instilação de fosfato de dexametasona em coelhos pode-se detectar tanto a dexametasona quanto o fosfato de dexametasona indicando haver biotransformação da pró-droga em seu composto ativo, livre de álcool, na córnea (MIDELFART et al., 1999). Além disso, os autores encontraram concentrações semelhantes entre o fármaco e seus metabólitos na córnea e HA indicando haver um equilíbrio entre os compartimentos.

Quando comparadas entre si, fosfato de dexametasona 0,1% e acetato de prednisolona 1% apresentaram eficácia similar no tratamento pós-cirúrgico da catarata, boa tolerância e controle dos efeitos da inflamação. O grupo tratado com prednisolona apresentou PIO média discretamente mais elevada sem, no entanto, demonstrar diferença estatística (STRUCK; BARISZLOVICH, 2001).

A prednisolona 0,5% quando comparada isoladamente ao veículo mostrou-se capaz de controlar a inflamação intra-ocular de pacientes humanos após cirurgias de catarata (LORENZ et al., 2008). Os valores de flaremetria encontrados para o primeiro e segundo dias pós-operatórios não apresentaram diferença estatística. Apenas no terceiro dia o grupo tratado com prednisolona apresentou menor reação de câmara anterior, levando os autores questionarem a necessidade do uso de anti-inflamatórios nos dois primeiros dias após facoemulsificação. Outra observação importante é de que apenas dois dos 62 pacientes apresentaram elevação da PIO. Após capsulotomia anterior por laser em cães Dziezyc et al. (1995) constataram que o flurbiprofeno foi mais eficiente na manutenção da midríase e produziu menor extravasamento de fluoresceína na câmara anterior quando comparado ao acetato prednisolona. Não se observou, no entanto elevação da PIO em ambos os grupos.

Tornou-se bastante comum a comercialização de formulações que associem os anti-inflamatórios com antibióticos. Logo a dexametasona 0,1% mostrou-se eficaz e tolerável quando associada ao ciprofloxacino, tobramicina bem como ao moxifloxacino em cirurgias de catarata em humanos (MOHAN et al., 2001; NOTIVOL et al., 2004; FREITAS et al., 2007).

Em substituição aos corticóides, alguns estudos envolvendo uso de AINES no tratamento pós-operatório de catarata foram realizados em humanos, principalmente com cetorolaco de trometamina 0,5% (HEIER et al., 1999). Este fármaco, quando comparado ao veículo, mostrou substancial efeito anti-inflamatório sendo que apenas 28% do total de pacientes tratados descontinuou a terapia por ausência de efeito. Diferença significativa também foi percebida quando aos sinais clínicos de inflamação como hiperemia conjuntival, sensação de corpo estranho, dor.

Em estudo clínico, Hirneiß et al. (2005) compararam os efeitos anti-inflamatórios da prednisona 1%, rimexolona 1% e cetorolaco de trometamina 0,5%. Os autores comentam que o cetorolaco de trometamina promoveu bom efeito anti-inflamatório sem, no entanto expor o paciente ao risco de elevação da PIO, já que um paciente do grupo tratado com prednisolona apresentou o maior pico de

hipertensão. Contrariamente ao que se esperava, os grupos corticóides apresentaram médias de PIO inferiores aos encontrados no grupo do cetorolaco. Uma possível explicação para este comportamento seria o efeito das PGs sobre a diminuição da PIO, que estariam mais inibidas pelo cetorolaco. Apesar dos riscos, os pacientes submetidos à corticóide terapia apresentaram melhor conforto ocular. Em outro estudo, diclofenaco e acetato de prednisolona comportaram-se de maneira similar em relação ao número de células inflamatórias e inibição de “flare” (BRENNAN; BROWN; ROBERTS, 1993).

Em coelhos pigmentados Hayasaka et al. (2003) induziram flare por aplicação de PGE2 e compararam a ação anti-inflamatória da dexametasona 0,1%, fluorometolona 0,1%, bromofenaco 0,1% e pranoprofen 0,1% e indometacina 0,5% e constataram que os corticóides inibem com mais eficiência a formação do flare, porém demoram mais tempo ao passo que os AINES o inibem menos o flare, porém o fazem com maior rapidez.

A capacidade do cetorolaco 0,4% em inibir a PGE2 foi comparada ao bromofenaco 0,09% após cirurgias de catarata por Bucci e Waterbury (2009). Sabe-se que o cetorolaco deve ser instilado quatro vezes ao dia e recentemente iniciou-se o uso do bromofenaco duas vezes ao dia. No entanto, os autores encontraram níveis de PGE2 inferiores nos pacientes tratados com cetorolaco do que no grupo tratado com bromofenaco ($285,6 \pm 141,9$ pg/ml *versus* $386,2 \pm 131,0$ pg/ml). Ainda a concentração de cetorolaco encontrada na câmara anterior foi quase nove vezes maior do que o bromofenaco. Não apenas estes resultados comprovam a superioridade do cetorolaco no controle da inflamação como os dados clínicos mostram melhor controle da dor.

A eficácia do cetorolaco 0,5% foi comparada a da dexametasona 0,1% quanto à preservação da BHA após cirurgia de catarata por Flach et al. (1988). Com relação aos parâmetros clínicos avaliados não foram observadas diferenças estatísticas entre os dois grupos, no entanto mensurações por fluorofotometria indicaram eficácia superior do cetorolaco em relação à dexametasona na preservação da BHA. Em cirurgias de EECC o cetorolaco obteve desempenho semelhante quando comparado simultaneamente à dexametasona e prednisolona (OSTROV et al., 1997). Os três fármacos mostraram-se igualmente eficazes no que se refere à inibição do “flare” onde a maioria dos escores obtidos concentrou-se ente ausente à leve em todos os momentos de avaliação. Os autores apontam uma discreta

superioridade do ceterolaco na estabilização da BHA devido ao fato da fluorofotometria resultar em maior acúmulo de fluoresceína na câmara anterior entre o 5º dia e a segunda semana pós cirurgia nos grupos dexametasona e prednisolona.

O diclofenaco 0,1% também é um AINE usado no pós-operatório de catarata. Ao contrário de outros AINES o diclofenaco modula indiretamente as vias lipoxigenase e cicloxigenase. Este fármaco reduz os níveis de ácido aracdônico livre intracelular por aumentar sua incorporação com triglicerídeos o que, por sua vez, reduz a taxa de formação de produtos da lipoxigenase (ROBERTS; BRENNAN, 1995). Flach et al. (1998) realizaram estudo comparativo entre diclofenaco 1% e ceterolaco de trometamina 0,5% e mostraram que ambos os AINES são igualmente efetivos no tratamento da inflamação pós-operatória da facoemulsificação e implante de lentes intra-oculares em humanos e foram considerados uma alternativa aos corticosteróides. Quando comparado à prednisolona o diclofenaco mostrou-se igualmente eficaz no controle da inflamação após cirurgia de catarata, no entanto a PIO dos pacientes que receberam diclofenaco atingiu níveis superiores ao da prednisolona no início do tratamento assumindo padrão inverso um mês após o procedimento (ROBERTS; BRENNAN, 1995). Os efeitos anti-inflamatórios do diclofenaco parecem ser semelhantes ao da dexametasona no pós-operatório de catarata em humanos. No primeiro dia de pós-operatório não houve diferença entre os dois anti-inflamatórios e o grupo placebo, porém do terceiro ao oitavo dias, ambos apresentaram-se igualmente eficazes na redução do “flare” (LAURELL; ZETTERSTRÖM, 2002). No entanto oito dias após a facoemulsificação o grupo tratado com dexametasona apresentou elevação na PIO quando comparado ao placebo e um mês após a cirurgia o grupo tratado com dexametasona apresentou maiores valores de PIO em relação ao diclofenaco.

Em EECC comparando-se os mesmos anti-inflamatórios, resultados semelhantes foram obtidos por Reddy et al. (2000), com relação à eficácia do diclofenaco em inibir “flare” e outros sinais de inflamação, ainda que os mesmos acreditem haver uma tendência à melhor recuperação de pacientes que usaram fostato de dexametasona quando a contagem de células inflamatórias é considerada. Em cães, após paracentese, observou-se que o diclofenaco foi mais eficaz em estabilizar a BHA quando comparado flurbiprofeno e suprofeno quando utilizados pela via tópica (WARD, 1996).

O uso do nepafenaco tem sido investigado, pois segundo alguns autores apresenta algumas vantagens sobre os demais AINES. Lane (2006) o descreve como uma pró-droga única. Pró-drogas estão na forma inativa e são transformadas para a forma ativa após conversão metabólica. Após instilação tópica, o nepafenaco penetra rapidamente na córnea e é transformado por hidrolases intra-oculares em amfenaco (ácido 2-amino-3-benzoilbenzenoacético), um potente antiinflamatório (KIM; FLACH; JAMPOL, 2010). Por sua característica neutra, o nepafenaco tem superior capacidade de penetrar a córnea quando comparado a outros AINES que apresentam estruturas ácidas polarizadas que dificultam sua passagem. Este mecanismo maximiza a bioativação do nepafenaco em amfenaco na córnea, corpo ciliar e coróide. Ke et al. (2000) estimaram que, *in vitro*, após 122 minutos era possível detectar conversão do nepafenaco em amfenaco a uma taxa de 18,5 nM/mim.

A capacidade de permeabilidade do nepafenaco na córnea foi comparada ao diclofenaco, bromofenaco e cetorolaco por Ke et al. (2000). Os autores relatam que sua permeabilidade foi quatro vezes maior do que diclofenaco, 19 vezes maior do que bromofenaco e 28 vezes maior que o cetorolaco. Resultados semelhantes foram observados com a penetração na esclera e tecido conjuntival. Segundo os autores, a concentração inicial de diclofenaco, por exemplo, mostrou-se superior ao nepafenaco, o fluxo através da córnea não conseguiu se sustentar provavelmente por uma combinação de fatores tais como coeficiente de permeabilidade inferior e restabelecimento de um gradiente de concentração insuficiente e para direcionar a permeabilidade do fármaco. Por conseguinte o fluxo de diclofenaco através da córnea se esgotou em aproximadamente 60 minutos após a exposição ao fármaco o que não ocorre com o nepafenaco que parece exibir maior capacidade de permanecer na córnea. Assim, o reaparecimento de concentrações significantes de nepafenaco no compartimento doador é a força motriz que permite a manutenção da saturação dos níveis deste fármaco na córnea e deste modo mantendo o fluxo de nepafenaco para o compartimento endotelial (KE et al., 2000).

Estudos têm demonstrado que o nepafenaco é bastante efetivo na inibição da síntese de prostaglandinas. Gamache, Graff e Brandy (2000) demonstraram que o uso tópico de nepafenaco tem importante potencial supressor da inflamação mediada por prostaglandinas nos segmentos anterior e posterior. O mesmo estudo mostrou que, enquanto o nepafenaco é inibidor de COX-1, o amfenaco é um potente

inibidor tanto da COX-1 quanto da COX-2. Ainda os autores mensuraram a inibição da síntese de PGs por meio da avaliação da atividade da prostaglandina H sintase e observaram que o nepafenaco 0,1% inibiu a síntese de prostaglandina na íris e corpo ciliar em 85 a 95% e na retina e coróide em 55%. Já o diclofenaco inibiu 100% da síntese de PG na íris e corpo ciliar ao passo que ínfima inibição foi observada na retina e coróide. Os níveis de inibição se sustentaram por até 6 horas após aplicação de nepafenaco e o diclofenaco conseguiu inibição por apenas 20 minutos. Os autores ainda investigaram os efeitos destes AINES na quebra da BHA e concluíram que o nepafenaco 0,1% em uma única aplicação foi capaz de inibir em 61% o acúmulo de proteína no HA, resultado muito próximo ao obtido para o diclofenaco. Estes resultados foram obtidos a partir de modelo experimental de inflamação intra-ocular induzida por trauma (paracentese) em coelhos.

Em estudo realizado em humanos por Walters et al. (2007), comparando-se a inibição *in vitro* de COX do ceterolaco, bromofenaco, nepafenaco e amfenaco observou-se que o diclofenaco é maior inibidor de COX1 ao passo que o amfenaco é maior inibidor de COX2. Como em estudos anteriores não foi constatada inibição de COX2 pelo nepafenaco. Com relação às concentrações dos fármacos no HA observou-se concentração maior de nepafenaco somado ao amfenaco e menor concentração de bromofenaco nos tempos avaliados. Nepafenaco atingiu concentração máxima no HA em 30 minutos, o ceterolaco em 60 minutos e o amfenaco em 180 minutos. Esta variação pode ser explicada pelo tempo que o nepafenaco precisa para ser biotransformado em amfenaco quando as sua penetração na câmara anterior.

Bucci Jr., Waterbury e Amico (2007) compararam a inibição de prostaglandinas (PGE2) pelo nepafenaco 0,1% e ceterolaco 0,4% em pacientes com catarata e concluíram que o nepafenaco promoveu inibição pré-operatória, porém em níveis menores que o ceterolaco. Ainda observou-se maior concentração de ceterolaco do que amfenaco no HA, porém havia concentração considerável de nepafenaco passível de sofrer hidrólise. Tal fato parece ser traduzido clinicamente uma vez que em humanos, quando nepafenaco foi comparado ao ceterolaco, não houve diferença entre os grupos com relação à inflamação do segmento anterior e recuperação da visão após cirurgias de catarata, porém os pacientes usuários do ceterolaco apresentaram maior conforto ocular e melhor complacência ao tratamento (DUONG; WESTFIELD; CHALKLEY, 2007). Dados contrários foram obtidos por

Nardi et al. (2007) que ao comparar estes dois fármacos quanto a eficácia no controle da dor mostraram igualdade e até superioridade do nepafenaco nos dias 3 e 7 pós-operatórios. O conforto ocular quando da instilação de um colírio é importante para a adesão do paciente ao tratamento e quanto a isto o nepafenaco mostrou-se mais agradável aos pacientes. Segundo os autores isto pode estar ligado à diferenças moleculares bem como à composição dos colírios onde o nepafenaco é formulado como suspensão e o ceterolaco como solução. Quando comparado ao placebo, nepafenaco apresentou resultados superiores no que se refere à presença de “flare”, contagem de células em humor aquoso e dor pós-operatória (LANE et al., 2007).

Os parâmetros clínicos também podem se comportar de forma diferente conforme se altera a posologia aplicada. Maxwell et al. (2008) avaliaram dor ocular pós-operatória e percentual de falha no tratamento e concluíram que aplicações de nepafenaco três vezes ao dia tem maior capacidade de controle da dor em relação à duas ou uma vez ao dia em cirurgias de catarata, ainda que as outras posologias tenham promovido alguma ação antiinflamatória.

O nepafenaco é considerado por muitos autores como um fármaco eficaz e seguro. Heaton et al. (2005) relatam que mesmo após seis meses de uso de nepafenaco 0,3%, 1% e 1,5%, nenhum efeito colateral, quer seja ocular ou sistêmico, foi observado em coelhos. Parâmetros como paquimetria corneal, PIO e microscopia especular também não apresentaram diferença significativa em relação aos coelhos não tratados. Walker et al. (2005) afirmam que o uso de nepafenaco 0,1%, 0,3% e 1,0% não produzem irritação ou toxicidade ocular bem como alteração da PIO, paquimetria corneal e microscopia especular em macacos após três meses de instilação.

Um questionamento constante em relação aos anti-inflamatórios em geral é o retardo no tempo de cicatrização corneal a eles referido. Neste sentido o uso do nepafenaco tem sido investigado em cirurgias da superfície ocular quando a sua interferência na epitelização corneal. O nepafenaco mostrou-se igualmente eficaz ao diclofenaco (COLIN; PAQUETTE, 2006) e superior ao placebo (CALDWELL; REILLY, 2008) no controle da dor pós-operatória de pacientes submetidos à ceratectomia fotoreativa por excimer laser. E ainda, ambos os trabalhos enfatizam não haver efeitos adversos no que tange o tempo de re-epitelização corneal. Aliás em outro estudo envolvendo ceratectomia fotoreativa não houve aumento do tempo

de cicatrização corneal no grupo tratado com nepafenaco, pelo contrário, enquanto o tempo de cicatrização do grupo com nepafenaco foi em média de $4,8 \pm 1,1$ dias, o grupo que utilizou apenas fluorometolona foi de $5,2 \pm 0,8$ dias (JALALI; YUEN; BOXER WATCHER, 2008).

McGee et al. (2005) relatam não haver diferença no tempo de cicatrização de uma incisão parcial da córnea bem como ausência de irritação ocular quando utilizaram nepafenaco sete dias antes e 34 dias após a realização da incisão.

Existem, no entanto, alguns relatos de complicações após o uso do nepafenaco como *melting* corneal em um paciente com edema macular crônico, relacionado ao uso prolongado de nepafenaco (5 meses) (DI PASCUALE; EHITSON; MOOTHA, 2008) e um caso de perfuração corneal após facoemulsificação (WOLF; KLEIMAN; SCHRIER, 2007). Um caso de *melting* corneal bilateral foi descrito por Feiz et al. (2009) após ceratectomia fotorrefrativa bilateral com uso de nepafenaco 0,1% a cada duas horas três dias após a cirurgia, necessitando realização de ceratoplastia penetrante.

A penetração dos anti-inflamatórios no humor vítreo também é preocupação de muitos cirurgiões uma vez que as PGs são, à semelhança do segmento anterior, os principais mediadores inflamatórios no segmento posterior após cirurgias intra-oculares como a vitrectomia (COLIN, 2007). Neste sentido Heier et al. (2009) compararam a penetração vítrea e a inibição de prostaglandina do ceterolaco 0,4%, bromofenaco 0,09% e nepafenac 0,1% em pacientes submetidos à vitrectomia. Como resultados relatam maior concentração e maior inibição de PGE2 no grupo tratado com ceterolaco em relação aos demais AINES, no entanto vale ressaltar que estes dados se referem a um quadro pré-operatório que pode não condizer exatamente com a condição pós-cirúrgica. Estes achados são contrários aos anteriormente descritos na literatura experimental que afirmam que o nepafenaco é bastante eficiente na inibição da síntese de PGE2 na retina e coróide de coelhos e que o ceterolaco 0,5% seria inefetivo na redução dos níveis de PGE2 no humor vítreo em modelos de uveíte por trauma (GAMACHE; GRAFF; BRANDY, 2000; KE et al., 2000) ou retinite por injeção de concavalina A (KAPIN et al., 2003). Estes últimos consideram, de acordo com seus achados, que o nepafenaco pode ser usado em casos de retinopatia diabética, oclusões venosas e complicações pós-cirúrgicas.

Existem evidências também das vantagens do uso de AINES na manutenção da midríase intra-operatória em cirurgias de catarata, evento considerado de extrema importância para remoção adequada do cristalino evitando possíveis complicações. Quando o nepafenaco foi comparado à dexametasona, manteve maior diâmetro pupilar médio ($6,84 \pm 0,93\text{mm}$ X $7,91 \pm 0,74\text{mm}$) e menor taxa de perda de midríase trans-operatória (CERVANTES-COSTE et al., 2009). Outros AINES tais como flurbiprofeno 0,03%, diclofenaco 0,1% foram igualmente eficazes quanto à redução da miose (ROBERTS, 1996). O cetorolaco 0,5% manteve maior diâmetro pupilar em relação ao veículo (STEWART et al., 1999).

A despeito dos mínimos efeitos colaterais observados por alguns autores, o nepafenaco é considerado um bom AINE para o tratamento pós-operatório em humanos majoritariamente na prevenção e tratamento do edema macular cistóide, sendo atualmente considerado pela literatura como o primeiro e único AINE específico para a inibição de prostaglandinas nos segmentos anterior e posterior do bulbo ocular.

Em cães até o presente momento não há relatos do uso de nepafenaco em cirurgias de catarata nem tampouco existem trabalhos que comparem este fármaco à outros anti-inflamatórios. A falta de dados na literatura e a evidente necessidade de novos agentes anti-inflamatórios fazem dos estudos experimentais etapa importante para criar subsídios ao uso do nepafenaco de forma segura e efetiva.

2 OBJETIVO

O objetivo do presente trabalho foi comparar os efeitos anti-inflamatórios do nepafenaco 0,1% e dexametasona 0,1% pela via tópica no tratamento da inflamação pós-operatória em facoemulsificação experimental em coelhos.

3 MATERIAL E MÉTODOS

3.1 Animais

Foram utilizados 21 coelhos da raça Nova Zelândia (*Oryctolagus cuniculus*), machos, adultos jovens com peso variando entre 2,8 e 3,0 kg obtidos do Criadouro Criex (Mogi das Cruzes – São Paulo – SP). Todos os animais foram submetidos a exame clínico oftalmológico a fim de se detectar alterações oculares prévias que pudessem comprometer os resultados.

3.1.1 Grupos experimentais

Os animais foram distribuídos em três grupos:

1- Grupo ST – Composto por sete animais submetidos à cirurgia de facoemulsificação no olho direito que receberam 1 gota de antibiótico moxifloxacino 0,5% pela via tópica (Vigamox^{®1}) 4 vezes ao dia por 15 dias.

2- Grupo Cort – Composto por sete animais submetidos à cirurgia de facoemulsificação no olho direito que receberam 1 gota da associação de antibiótico moxifloxacino 0,5% e anti-inflamatório dexametasona 0,1% (Vigadexa^{®2}) pela via tópica 4 vezes ao dia por 15 dias.

3- Grupo Nepa – Composto por sete animais submetidos à cirurgia de facoemulsificação no olho direito que receberam associação 1 gota de antibiótico moxifloxacino e 1 gota antiinflamatório nepafenaco 0,1% (Vigamox[®] + Nevanac^{®3}) pela via tópica, nesta ordem, 4 vezes ao dia por 15 dias.

¹ Vigamox, Alcon, São Paulo, SP

² Vigadexa, Alcon, São Paulo, SP

³ Nevanac, Alcon, São Paulo, SP

3.2 Procedimento Cirúrgico

3.2.1 Anestesia

Os animais receberam medicação pré-anestésica de acepromazina⁴ e meperidina⁵ nas doses de 0,5 mg/kg e 10 mg/kg respectivamente pela via intramuscular. Após 10 minutos a veia auricular foi canulada por meio de cateter nº 20 para indução anestésica intravenosa com propofol⁶ na dose de 5 mg/kg. Foi então procedida a intubação traqueal com sonda traqueal nº 3 e manutenção da anestesia com isoflurano⁷ em oxigênio 100% com auxílio de equipamento de anestesia⁸.

3.2.2 Facoemulsificação

Após a indução anestésica e intubação traqueal, o animal foi posicionado em decúbito lateral esquerdo e anestesia tópica foi realizada com colírio de cloridrato de proximetacaína a 0,5 %⁹. Foram realizadas a tricotomia e anti-sepsia da região palpebral com iodo povidine 5% para o posicionamento do campo operatório. A cirurgia foi realizada apenas no olho direito de cada animal.

Imediatamente antes do início de cada cirurgia foi realizada a paracentese da câmara anterior com auxílio de seringa de 1 ml e agulha 13x4 para obtenção de aproximadamente 0,3 ml de humor aquoso, correspondente a amostra do momento T0. A seguir, a câmara anterior foi preenchida por salina balanceada. Procedimento semelhante foi realizado paracentese da câmara anterior do olho esquerdo dos animais do grupo ST.

⁴ Apromazin, Syntec, Cotia, SP

⁵ Dolosal, Cristália, Itapira, SP

⁶ Propovan, Cristália, Itapira, SP

⁷ Isoforane, Cristália, Itapira, SP

⁸ Samurai III, Takaoka, São Paulo, SP

⁹ Anestalcon, Alcon, São Paulo, SP

A cirurgia foi realizada com aparelho de facoemulsificação Universal II Alcon^{®10}. A técnica adotada foi a bimanual com duas incisões. Para tanto uma incisão inicial com bisturi angulado de 3,2mm em posição 10 horas e outra auxiliar com bisturi de 15 graus em posição 2 horas foram confeccionadas em córnea clara distantes aproximadamente 1 mm da região do limbo. Após incisão a câmara anterior foi preenchida por metilcelulose 1%¹¹ (Ophthalmos[®]) para dar início à confecção da capsulorrexe circular contínua com pinça de Utrata.

Uma vez retirada a cápsula anterior, com a caneta de facoemulsificação Standard[®] dotada de ponteira 30°, luva de silicone, linhas d e irrigação/aspiração (I/A) de silicone autoclaváveis e irrigação com Solução Salina Balanceada (BSS)¹² foi confeccionado um sulco central e fratura do núcleo com ultrassom em modo contínuo fixado em 60%, taxa de aspiração de 25cc/min e vácuo de 150mmHg. Após remoção do cristalino foi procedida a aspiração dos restos corticais com caneta de I/A. As incisões foram suturadas com fio de seda 8-0¹³ em pontos simples separados. Imediatamente após o término da cirurgia aplicou-se dipirona¹⁴ na dose de 25 mg/kg pela via intra-muscular por três dias.

3.3 Parâmetros analisados

Todos os parâmetros, bem como humor aquoso, foram coletados imediatamente antes do procedimento cirúrgico (T0). Em seguida, todos os animais passaram por avaliação clínica, mensuração da pressão intra-ocular, mensuração da espessura corneal e coleta de humor aquoso aos 1, 2, 3, 7 e 15 dias pós-operatórios (T1, T2, T3, T7, T15). A partir do humor aquoso obtido foi procedida a contagem de células inflamatórias, dosagem de proteínas e ácido ascórbico bem como a análise de prostaglandina (PGE2).

¹⁰ Universal II, Alcon, São Paulo, SP

¹¹ Metilcelulose 2%, Ophthalmos, São Paulo, SP

¹² BSS, Ophthalmos, São Paulo, SP

¹³ Ethicon, São José dos Campos, SP

¹⁴ Dipirona, Ibasa, Porto Alegre, RS

3.3.1 Avaliação clínica

O exame oftalmológico foi realizado por meio de biomicroscopia em lâmpada de fenda. Os sinais clínicos observados foram: blefarospasmo, secreção ocular, hiperemia conjuntival, opacidade corneal, fibrina em câmara anterior, opacidade do humor aquoso. Foram atribuídas notas quali-quantitativas de forma subjetiva como 0 - ausente; 1 – discreto; 2 – moderado; 3 – intenso (MUNGER, 2002).

3.3.2 Mensuração da pressão intra-ocular (PIO)

Para a mensuração da pressão intra-ocular foi utilizado tonômetro de aplanação TonoPen-XL^{®15}, após instilação de colírio anestésico de cloridrato de proximetacaína a 0,5%. Vale lembrar que a mensuração da pressão intra-ocular precedeu a aplicação de anestésicos gerais. Os valores foram expressos em milímetros de mercúrio (mmHg)

3.3.3 Mensuração da espessura corneal – Paquimetria

Para a mensuração da espessura corneal foi utilizado paquímetro ultrassônico de contato PachPen^{®16} (Accutome – UltraSound). A ponta do aparelho foi posicionada no centro da córnea de forma a se obter valores de paquimetria central expressos em micrômetros (μm). Para analisar os resultados referentes a este parâmetro, optou-se por dividir os animais e categorias, uma vez que as mensurações realizadas pelo aparelho de paquimetria corneal PachPen[®] não ultrapassam 1000 μm de espessura. Desta forma as categorizou-se em: <400, 401-550, 551-700, 701-850, 851-1000 e >1000. O limite inferior foi determinado com base nos valores obtidos para os grupos no momento T0, supondo-se que estes seriam os valores próximos aos normais.

¹⁵ Tonopen XL, Biorad, Glendale, Califórnia

¹⁶ PachPen, Accutome, Malvern, Pensilvânia

3.3.4 Coleta do humor aquoso

Para a coleta de humor aquoso foi realizada medicação pré-anestésica pela via intramuscular com quetamina¹⁷ e midazolam¹⁸ nas doses de 20 mg/kg e 0,5 mg/kg respectivamente. Transcorridos 10 minutos a anestesia geral foi induzida com vaporização de isoflurano em oxigênio 100% por meio de máscara. Com auxílio seringa de insulina e agulha 13X4 procedeu-se a paracentese da câmara anterior e obtenção de 0,3 ml de humor aquoso aproximadamente. Para o grupo ST, além da paracentese do olho direito, realizou-se paracentese e coleta de humor aquoso do olho esquerdo de cada animal. As amostras foram então centrifugadas à 4°C, à 2500 rotações/min por 10 minutos. Posteriormente foram aliquotadas em quatro tubos sendo dois para quantificação de prostaglandinas, um para quantificação de proteínas e um para quantificação de ácido ascórbico. As amostras foram armazenadas em freezer à -80°C até o momento do processamento.

3.3.5 Contagem de células inflamatórias

Para a contagem celular, uma fração de 0,15 ml de humor aquoso foi obtida e adicionada à mesma quantidade de azul de metileno. Em seguida por meio de câmara de Neubauer foi realizada a contagem de células presentes em 8 campos para se obter uma média dos campos observados.

3.3.6 Determinação de proteínas totais no HA

A determinação de proteínas no HA foi realizada pelo método de Lowry (LOWRY et al., 1951) utilizando-se albumina bovina¹⁹ como padrão (Sigma, St Louis,

¹⁷ Cetamin, Syntec, Cotia, SP

¹⁸ Dormire, Cristália, Itapira, SP

¹⁹ Sigma, St Louis, MO

MO). As leituras espectrofotométricas foram realizadas em espectrofotômetro em 620nm.

3.3.7 Determinação da concentração de ácido ascórbico no HA

A medida da concentração de ácido ascórbico foi determinada por cromatografia líquida de alta resolução (ROSS, 1994).

As amostras (20µL) foram desproteinizadas com ácido metafosfórico (480µL), e após centrifugação e filtração em membrana de acetato de celulose 0,22 µm. O sobrenadante empregado para a determinação do ácido ascórbico.

O Sistema cromatográfico foi composto de bomba Consta Metric 3200²⁰ (Thermo Separation Products, Fremont, CA), acoplado a detector espectrofotométrico Lab Alliance Modelo 525²¹ (Lab Alliance, State College, PA) ajustado para 254nm e a um injetor Rheodyne modelo 7125²² (Rheodyne, Cotati, CA.). A separação foi então procedida em coluna LUNA C18²³ (Phenomenex, Torrance, CA) de 250x4,6mm, 10µ e 100 Å, empregando-se como fase móvel solução 0,2% de ácido metafosfórico em água e fluxo de 0,7ml/min. O volume de injeção foi de 20µL.

3.3.8 Determinação da concentração de Prostaglandinas no HA (PGE2)

A determinação da concentração de PGE2 foi realizada empregando-se kit RPN22210²⁴ (Piscataway - New Amersham Biosciences®) de acordo com as especificações e instruções do fabricante. O ensaio baseia-se na competição entre PGE2 livre na amostra e PGE2 conjugada com peroxidase por um número limitado de sítios de ligação dos anticorpos presentes na fase sólida. Os resultados forma

²⁰ Thermo Separation Products, Fremont, CA

²¹ Lab Alliance, State College, PA

²² Rheodyne, Cotati, CA

²³ Phenomenex, Torrance, CA

²⁴ Piscataway - New Amersham Biosciences®

expressos em pg/ml. O método descrito anteriormente consegue detectar níveis de prostaglandina superiores a 50 pg/ml e inferiores a 6400 pg/ml. Desta forma optou-se por distribuir os valores os valores obtidos para cada animal nos intervalos a seguir: <50, 51-500, 501- 2500, 2501- 4500, 4501-6400 e >6400.

3.3.9 Tempo de Facoemulsificação

Os tempos de facoemulsificação de cada cirurgia foram anotados e as médias entre os grupos analisadas e comparadas entre si.

3.4 Análise Estatística

3.4.1 Comparação das variáveis qualitativas

As variáveis qualitativas quer sejam blefarospasmo, secreção ocular, hiperemia conjuntival, opacidade corneal, opacidade de aquoso e fibrina em câmara anterior, bem como as variáveis classificatórias (paquimetria corneal e nível de prostaglandina) foram avaliadas quanto à semelhança entre os três grupos do estudo: St, Cort e Nepa.

Para as comparações, foi utilizado o teste não paramétrico de Kruskal-Wallis. Para todos os testes foi considerado um nível de significância de 5%. Desta forma, foi considerado haver diferença entre os grupos se $p\text{-valor} < 0,05$. Os resultados que apresentaram diferença, estatisticamente significativa, foram destacados em azul na apresentação das tabelas.

3.4.2 Comparação das variáveis quantitativas

Para a comparação entre os grupos das variáveis quantitativas utilizou-se o teste de Análise de Variância (ANOVA). Para a utilização deste teste foi verificado se, para cada variável, as variâncias eram homogêneas entre os grupos (suposição

para a utilização). Quando não foi verificada homogeneidade das variâncias, foi feito o ajuste através do teste de Brown-Forsythe (BF).

Havendo diferença das medidas entre os grupos, foram realizadas comparações múltiplas (comparação dois a dois) para identificar quais grupos apresentam diferenças entre si. Os testes utilizados para as comparações múltiplas foram o teste de Bonferroni ou o teste de Dunnett, quando foi necessário o ajuste de Brown-Forsythe (BF). Para estas comparações também foram considerado um nível de significância de 5%. Foram construídos gráficos, para melhor interpretação dos resultados que apresentaram diferença, bem como para ilustrar o comportamento das variáveis no transcorrer dos períodos avaliados.

3.4.3 Análise de correlação

Por algumas variáveis no estudo serem tratadas como qualitativas (categorias), para verificar esta correlação entre as variáveis foi utilizado o coeficiente de Spearman (r). As análises foram realizadas para cada momento do estudo e os resultados dos coeficientes de correlação estão apresentados em tabelas. Considerou-se correlação forte quando $r > 0,700$, moderada quando r entre 0,500 e 0,700 e fraca quando r entre 0,400 e 0,500.

4 RESULTADOS

Os resultados foram apresentados de acordo com as variáveis qualitativas e quantitativas em cada momento avaliado para cada grupo estudado.

4.1 Avaliação Clínica

Com relação ao blefarospasmo, todos os animais apresentaram ausência deste parâmetro no T0 (Tabela 1 e Figura 1). Nos momentos T1 e T2 houve aumento do número de animais com escore 1 e 2 nos grupos ST e CORT porém já no momento T3 até o momento T15 100% dos animais apresentaram escores 0. Ainda que o único grupo em que não houve aumento dos escores tenha sido o NEPA, não houve diferença estatística entre os grupos. Quanto à presença de secreção notou-se diferença estatística apenas no T2 onde 71,4% dos animais do grupo NEPA estavam com escores 0 e 85,7% dos animais dos grupos ST e CORT estavam com escore 1 de secreção ($p=0,038$) (Tabela 2 e Figura 2). No T15 apenas 1 animal pertencente ao grupo NEPA ainda apresentava escore 1 de secreção.

Tabela 1 – Distribuição das porcentagens dos escores de Blefarospasmo dos grupos ST, CORT e NEPA para cada momento estudado – São Paulo – 2011

		Grupo						p-valor
		St		Cort		Nepa		
		n	%	n	%	n	%	
Belfarospasmo (T0)	0	7	100,0%	7	100,0%	7	100,0%	***
Belfarospasmo (T1)	0	4	57,1%	5	71,4%	7	100,0%	0,152
	1	1	14,3%	2	28,6%			
	2	2	28,6%					
Belfarospasmo (T2)	0	5	71,4%	6	85,7%	7	100,0%	0,329
	1	2	28,6%	1	14,3%			
Belfarospasmo (T3)	0	7	100,0%	7	100,0%	7	100,0%	***
Belfarospasmo (T7)	0	7	100,0%	7	100,0%	7	100,0%	***
Belfarospasmo (T15)	0	7	100,0%	7	100,0%	7	100,0%	***

Figura 1 - Representação gráfica da distribuição dos escores de blefarospasmo dos animais dos grupos ST, CORT e NEPA nos diferentes momentos

Tabela 2 – Distribuição das porcentagens dos escores de Secreção Ocular dos grupos ST, CORT e NEPA para cada momento estudado – São Paulo – 2011

		grupo						p-valor
		St		Cort		Nepa		
		n	%	n	%	n	%	
Secreção ocular (T0)	0	7	100,0%	7	100,0%	7	100,0%	***
Secreção ocular (T1)	0	2	28,6%	1	14,3%	5	71,4%	0,186
	1	5	71,4%	5	71,4%	1	14,3%	
	2			1	14,3%	1	14,3%	
Secreção ocular (T2)	0	1	14,3%	1	14,3%	5	71,4%	0,038
	1	6	85,7%	6	85,7%	2	28,6%	
Secreção ocular (T3)	0	2	28,6%	4	57,1%	6	85,7%	0,108
	1	5	71,4%	3	42,9%	1	14,3%	
Secreção ocular (T7)	0	5	71,4%	7	100,0%	7	100,0%	0,122
	1	2	28,6%					
Secreção ocular (T15)	0	7	100,0%	7	100,0%	6	85,7%	0,368
	1					1	14,3%

Figura 2 - Representação gráfica da distribuição dos escores de secreção ocular dos animais dos grupos ST, CORT e NEPA nos diferentes momentos. (* p= 0,038)

No que se refere à hiperemia conjuntival, em T1 existe um aumento dos escores sendo que 85,7% dos animais do grupo NEPA apresentaram escore 1 e nenhum animal apresentou escore 2, ao passo que 71,4 % e 28,6% dos animais do grupo CORT estavam entre 1 e 2 respectivamente e 14,3 e 28,6 % dos animais do grupo ST obtiveram escores entre 2 e 3 respectivamente. Houve diferença estatística em T2 quando 42,9% dos animais do grupo NEPA apresentaram escore 0, 57,1 % dos animais do grupo CORT apresentaram escore 1 e 57,1 % dos animais do grupo ST apresentaram escore 2 (p= 0,037). Observou-se diferença estatística também em T7 quando 85,7% dos animais do grupo NEPA apresentaram escore 0, 71,4 % dos animais do grupo CORT mostraram escore 1 e 28,6% dos animais do grupo ST obtiveram escore 2 (p= 0,011). Ao final do experimento 100% dos animais do NEPA apresentaram escore 0 e apenas 1 animal do CORT apresentou escore 1. Neste momento, 3 animais do grupo ST ainda apresentaram escore 1. As freqüências e percentis estão detalhados na tabela 3 e na figura 3 .

Tabela 3 – Distribuição das porcentagens dos escores de Hiperemia Conjuntival dos grupos ST, CORT e NEPA para cada momento estudado – São Paulo – 2011

		Grupo						p-valor
		St		Cort		Nepa		
		n	%	n	%	n	%	
Hiperemia conjuntival (T0)	0	7	100,0%	7	100,0%	7	100,0%	***
Hiperemia conjuntival (T1)	0	1	14,3%			1	14,3%	0,247
	1	3	42,9%	5	71,4%	6	85,7%	
	2	1	14,3%	2	28,6%			
	3	2	28,6%					
Hiperemia conjuntival (T2)	0					3	42,9%	0,037
	1	2	28,6%	4	57,1%	3	42,9%	
	2	4	57,1%	2	28,6%	1	14,3%	
	3	1	14,3%	1	14,3%			
Hiperemia conjuntival (T3)	0					3	42,9%	0,063
	1	3	42,9%	4	57,1%	3	42,9%	
	2	3	42,9%	2	28,6%	1	14,3%	
	3	1	14,3%	1	14,3%			
Hiperemia conjuntival (T7)	0	1	14,3%	1	14,3%	6	85,7%	0,011
	1	4	57,1%	5	71,4%	1	14,3%	
	2	2	28,6%	1	14,3%			
Hiperemia conjuntival (T15)	0	4	57,1%	6	85,7%	7	100,0%	0,128
	1	3	42,9%	1	14,3%

Figura 3 - Representação gráfica da distribuição dos escores de hiperemia conjuntival dos animais dos grupos ST, CORT e NEPA nos diferentes momentos. (* p= 0,037 e ▲ p= 0,011)

Quando se observa a opacidade de córnea, houve aumento de escores no tempo T1, sendo que os grupos ST e CORT apresentaram mais animais com escores 2 (Tabela 4 e Figura 4) . Já em T2 e T3 houve diferença estatística entre o grupo NEPA e os demais quando a maioria dos animais do grupo NEPA estava com escore 0 ou 1 enquanto que nos grupos CORT e ST apenas 1 animal apresentava

escore 1 e a maioria apresentava escore 2 ($p=0,002$). A partir T3 ocorre evolução do quadro com melhora dos parâmetros, porém ainda existe superioridade do grupo NEPA quando quatro animais receberam escore 0 ao passo que no grupo CORT cinco animais receberam escore 1 e no grupo ST três animais apresentaram escore 2 ($p=0,009$). O mesmo padrão de evolução é percebido no transcorrer do período, existindo uma tendência de melhora do grupo NEPA, porém de forma não significativa.

Tabela 4 – Distribuição das porcentagens dos escores de Opacidade Corneal dos grupos ST, CORT e NEPA para cada momento estudado – São Paulo – 2011

		St		grupo Cort		Nepa		p- valor
		n	%	N	%	n	%	
Opacidade corneal (T0)	0	7	100,0%	7	100,0%	7	100,0%	***
Opacidade corneal (T1)	0	1	14,3%			2	28,6%	0,065
	1	2	28,6%	2	28,6%	4	57,1%	
	2	4	57,1%	4	57,1%	1	14,3%	
	3			1	14,3%			
Opacidade corneal (T2)	0					3	42,9%	0,002
	1	1	14,3%	1	14,3%	4	57,1%	
	2	5	71,4%	5	71,4%			
	3	1	14,3%	1	14,3%			
Opacidade corneal (T3)	0					4	57,1%	0,009
	1	3	42,9%	5	71,4%	3	42,9%	
	2	3	42,9%	1	14,3%			
	3	1	14,3%	1	14,3%			
Opacidade corneal (T7)	0	1	14,3%	1	14,3%	4	57,1%	0,087
	1	4	57,1%	6	85,7%	3	42,9%	
	2	1	14,3%					
	3	1	14,3%					
Opacidade corneal (T15)	0	4	57,1%	4	57,1%	7	100,0%	0,138
	1	2	28,6%	3	42,9%			
	2	1	14,3%

Figura 4 - Representação gráfica da distribuição dos escores de opacidade corneal dos animais dos grupos ST, CORT e NEPA nos diferentes momentos. (* $p=0,002$ e ▲ $p=0,009$)

Houve marcante aumento da opacidade de HA nos três grupos no momento T1, sem diferença entre eles (Tabela 5 e Figura 5). Em T2 já começa haver melhora do parâmetro, mais evidente no grupo NEPA quando 71,5% dos animais apresentavam escore 0 ou 1 ao passo que um animal do grupo CORT apresentava escore 2 (14,3%) e 1 animal do grupo ST apresentava escore 3 (14,3%) ($p=0,044$). Quadro semelhante foi observado em T3 quando cinco animais do grupo NEPA estavam com escore 0 (71,4%), quatro animais do grupo CORT apresentavam escore 1 (57,1%) e dois animais do grupo ST apresentavam escore 2 (28,6%) com $p=0,043$.

Tabela 5 – Distribuição das porcentagens dos escores de Opacidade de Humor Aquoso dos grupos ST, CORT e NEPA para cada momento estudado – São Paulo – 2011

		St		Grupo Cort		Nepa		p-valor
		n	%	N	%	n	%	
Opacidade de aquoso (T0)	0	7	100,0%	6	85,7%	7	100,0%	0,368
	1			1	14,3%			
Opacidade de aquoso (T1)	0	1	14,3%			2	28,6%	0,098
	1	4	57,1%	4	57,1%	5	71,4%	
	2	2	28,6%	3	42,9%			
Opacidade de aquoso (T2)	0					2	28,6%	0,044
	1	4	57,1%	6	85,7%	5	71,4%	
	2	2	28,6%	1	14,3%			
	3	1	14,3%					
Opacidade de aquoso (T3)	0	1	14,3%	2	28,6%	5	71,4%	0,043
	1	3	42,9%	4	57,1%	2	28,6%	
	2	2	28,6%	1	14,3%			
	3	1	14,3%					
Opacidade de aquoso (T7)	0	1	14,3%	5	71,4%	5	71,4%	0,040
	1	5	71,4%	2	28,6%	2	28,6%	
	3	1	14,3%					
Opacidade de aquoso (T15)	0	4	57,1%	6	85,7%	7	100,0%	0,119
	1	2	28,6%	1	14,3%			
	2	1	14,3%

Figura 5 - Representação gráfica da distribuição dos escores de opacidade de humor aquoso corneal dos animais dos grupos ST, CORT e NEPA nos diferentes momentos. (* p=0,044, ▲ p=0,043 e ** p= 0,040)

Os escores de fibrina na câmara anterior aumentaram em T1 em todos os grupos, porém não houve diferença significativa, com decréscimo progressivo à

partir de T2 (Tabela 6 e Figura 6). Em T3 houve diferença estatística entre os grupos ($p= 0,040$) onde a maioria dos animais do grupo NEPA apresentou escore 0 42,9%, 57,1% dos animais do grupo CORT apresentaram escore 2 ($n=4$) e dois animais do grupo ST apresentaram escore 3 (28,6%). Uma tendência de melhora é observada progressivamente até o T15, quando todos os animais no NEPA apresentaram escore 0, um animal do CORT apresentou escore 1 e um animal do grupo ST apresentou escore 2 porém não houve diferença significativa entre os grupos.

Tabela 6 – Distribuição das porcentagens dos escores de Fibrina em Câmara Anterior dos grupos ST, CORT e NEPA para cada momento estudado – São Paulo – 2011

		St		Grupo Cort		Nepa		p-valor
		n	%	n	%	n	%	
Fibrina em CA (T0)	0	7	100,0%	7	100,0%	7	100,0%	***
Fibrina em CA (T1)	0	1	14,3%					0,265
	1	3	42,9%	4	57,1%	7	100,0%	
	2	3	42,9%	3	42,9%			
Fibrina em CA (T2)	0					1	14,3%	0,13
	1	3	42,9%	4	57,1%	5	71,4%	
	2	2	28,6%	3	42,9%	1	14,3%	
	3	2	28,6%					
Fibrina em CA (T3)	0	1	14,3%			3	42,9%	0,040
	1	3	42,9%	3	42,9%	4	57,1%	
	2	1	14,3%	4	57,1%			
	3	2	28,6%					
Fibrina em CA (T7)	0	1	14,3%	2	28,6%	4	57,1%	0,174
	1	5	71,4%	5	71,4%	3	42,9%	
	3	1	14,3%					
Fibrina em CA (T15)	0	5	71,4%	6	85,7%	7	100,0%	0,313
	1	1	14,3%	1	14,3%			
	3	1	14,3%

Figura 6 - Representação gráfica da distribuição dos escores de fibrina em câmara anterior dos animais dos grupos ST, CORT e NEPA nos diferentes momentos (* $p=0,040$)

4.2 Paquimetria de córnea

No momento T0 100% dos animais do grupo NEPA apresentaram paquimetria inferior a 400 μm , 14,3% e 28,6 % dos animais do grupo CORT e NEPA apresentaram paquimetria entre 401-500 (Tabela 7 e Figura 7). A partir da realização da cirurgia existe aumento da paquimetria, quando em T1 71,4% ($n=5$) dos animais de ST apresentaram espessura corneal superior à 1000 μm , 42% ($n=3$) e 28% ($n=2$) dos animais de CORT estavam com paquimetria entre 701-850 μm e >1000 μm respectivamente e 28% ($n=2$) dos animais do NEPA apresentavam paquimetria <400 μm ao passo que apenas 2 animais apresentaram paquimetria superior a 1000 μm . Em T2 houve piora do parâmetro no grupo CORT uma vez que 57,1% ($n=4$) animais apresentaram paquimetria >1000 μm . O quadro se mantém em T3 e transcorridos sete dias de cirurgia observou-se melhora da paquimetria no grupo NEPA uma vez que no momento anterior dois animais apresentaram paquimetria >1000 μm e em T7 apenas um animal ainda apresentou paquimetria nesta faixa. Ainda que o grupo NEPA tenha mostrado menor porcentagem de animais com

paquimetrias em categorias inferiores, não houve diferença estatisticamente significativa em relação aos demais grupos nos momentos anteriormente descritos. No entanto em T15 observou-se que há uma diminuição da paquimetria nos grupos tratados, uma vez que se nenhum animal do grupo CORT e NEPA apresentam medidas superiores a 1000µm e 42,9% dos animais do ST foram incluídos nesta faixa de paquimetria. Ainda referente a este momento observou-se 57,1% de animais dos grupos CORT e NEPA com valores considerados normais, ou seja, inferiores a 400µm e ao passo que 57,1% do grupo ST apresentou paquimetria entre 401-550µm. As comparações realizadas entre os grupos no momento T15 foram consideradas estatisticamente significantes ($p=0,046$).

Os valores de paquimetria do olho esquerdo do grupo ST foram tomados com finalidade de observar o comportamento deste parâmetro frente a paracentese, ou seja, de que forma a paracentese interferiria no aumento da espessura da córnea isoladamente. Observou-se então discreto aumento da paquimetria, progressivamente à partir de T1 até T7, retornado à valores <400µm no momento T15 ao passo que nos grupos onde não foi realizada paracentese do olho esquerdo os valores não sofreram alterações durante o período avaliado (Tabela 8).

Tabela 7 – Distribuição das porcentagens dos intervalos de Paquimetria Central de Córnea (μm) obtidos dos olhos direitos (OD) dos animais dos grupos ST, CORT e NEPA nos diferentes momentos estudados – São Paulo – 2011

		<i>St</i>		<i>Grupo Cort</i>		<i>Nepa</i>		<i>p-valor</i>
		<i>n</i>	%	<i>n</i>	%	<i>n</i>	%	
T0	<400	5	71,4%	6	85,7%	7	100,0%	0,301
	401-550	2	28,6%	1	14,3%	0	0,0%	
T1	<400	1	14,3%	0	0,0%	2	28,6%	0,299
	401-550	0	0,0%	1	14,3%	1	14,3%	
	551-700	0	0,0%	1	14,3%	0	0,0%	
	701-850	0	0,0%	3	42,9%	2	28,6%	
	851-1000	1	14,3%	0	0,0%	0	0,0%	
	>1000	5	71,4%	2	28,6%	2	28,6%	
T2	<400	1	14,3%	0	0,0%	2	28,6%	0,359
	401-550	1	14,3%	2	28,6%	3	42,9%	
	701-850	0	0,0%	1	14,3%	1	14,3%	
	>1000	5	71,4%	4	57,1%	1	14,3%	
T3	<400	1	14,3%	2	28,6%	2	28,6%	0,57
	401-550	1	14,3%	1	14,3%	3	42,9%	
	701-850	1	14,3%	0	0,0%	0	0,0%	
	>1000	4	57,1%	4	57,1%	2	28,6%	
T7	<400	0	0,0%	1	14,3%	2	28,6%	0,294
	401-550	2	28,6%	1	14,3%	3	42,9%	
	551-700	0	0,0%	1	14,3%	0	0,0%	
	851-1000	0	0,0%	0	0,0%	1	14,3%	
	>1000	5	71,4%	4	57,1%	1	14,3%	
T15	<400	0	0,0%	4	57,1%	4	57,1%	0,046
	401-550	4	57,1%	1	14,3%	3	42,9%	
	551-700	0	0,0%	1	14,3%	0	0,0%	
	851-1000	0	0,0%	1	14,3%	0	0,0%	
	>1000	3	42,9%	0	0,0%	0	0,0%

Figura 7 - Representação gráfica da distribuição dos valores de paquimetria de córnea do olho direito dos animais dos grupos ST, CORT e NEPA nos diferentes momentos (* p= 0,046)

Tabela 8 – Distribuição das porcentagens dos intervalos de Paquimetria Central de Córnea (μm) obtidos para os olhos esquerdos (OE) dos animais dos grupos ST, CORT e NEPA, nos diferentes momentos estudados – São Paulo – 2011

(Continua)

		grupo		
		St	Cort	Nepa
Paquimetria de córnea - OE (T0)	n	7	7	7
	média	379,0	375,7	364,6
	mediana	373	373	366
	desvio padrão	38,8	37,5	20,4
	mínimo	318	313	329
	máximo	421	440	389
Paquimetria de córnea - OE (T1)	n	7	7	7
	média	388,1	365,3	362,1
	mediana	384	370	368
	desvio padrão	29,6	36,7	17,4
	mínimo	351	312	324
	máximo	439	418	376
Paquimetria de córnea - OE (T2)	n	7	7	7
	média	395	358,1	373,7
	mediana	386	357	375
	desvio padrão	35,5	32,5	22,4
	mínimo	340	311	345
	máximo	449	410	414

		(Conclusão)		
		grupo		
		St	Cort	Nepa
Paquimetria de córnea - OE (T3)	n	7	7	7
	média	414,0	362,9	377,9
	mediana	410,0	364,0	375,0
	desvio padrão	30,9	35,4	16,3
	mínimo	371	316	362
	máximo	455	417	411
Paquimetria de córnea - OE (T7)	n	7	7	7
	média	406,3	361,7	376,9
	mediana	410	350	374
	desvio padrão	29,1	32,7	13,4
	mínimo	362	324	359
	máximo	441	420	396
Paquimetria de córnea - OE (T15)	n	7	7	7
	média	398,1	356,6	365,1
	mediana	404	345	365
	desvio padrão	16,47	30,24	21,17
	mínimo	371	325	322
	máximo	418	415	387

4.3 Determinação dos níveis de prostaglandina

No momento T0, havia tanto para o grupo CORT quanto para o grupo NEPA, 71,4% (n= 5) com níveis inferiores a 50 e 28,6% (n= 2) dos animais entre 51-500 pg/ml de PGE e no grupo ST 66.7% (n=4) e 16,7% (n=1) dos animais estavam com níveis inferiores a 50 e entre 501-2500 pg/ml respectivamente (Tabela 9 e Figura 8). Em T1 apenas um animal do grupo NEPA apresentou níveis de PGE entre 501-2500 e 4 animais ainda permaneceram com níveis inferiores a 50 ao passo que no grupo CORT quatro animais estavam com níveis entre 51-500 e três animais com níveis entre 501-2500 e no grupo ST nenhum animal inferior a 50 e ente 51-500, um animal ente 2501-4500 e três animais acima de 6400. A diferença entre os grupos mostrou-se estatisticamente significativa com $p=0,004$. Em T2 houve quadro bastante parecido mostrando superioridade do grupo NEPA quando 100% dos animais apresentaram níveis inferiores a 50 frente aos 42,95% (n= 3) e 28,6% (n=2) dos animais do grupo CORT com níveis entre 51-500 e 510-2500 respectivamente e 33,3% (n=2) e 33,3% (n=2) dos animais entre 2501-4500 e >6400 pg/ml com diferença estatística entre os grupos ($p=0,005$). Em T3 dois animais do grupo ST ainda permaneceram com nível superior de 6400, 14,35% do grupo CORT também

apresentou nível superior a 6400 ao passo que nenhum animal do NEPA mostrou este nível de PGE. Observou-se para este momento uma discreta piora da PGE para o grupo NEPA uma vez que um animal apresentou nível entre 51-500 e um animal entre 501-2500. A partir de T7 observa-se melhora dos níveis de prostaglandina sendo que o NEPA mostrou 85,7% (n= 6) dos animais com nível inferior a 50 e apenas 14,3% (n= 1) de animais com concentração de PGE entre 51-500. Já no grupo CORT apenas 57,1% (n= 4) dos animais apresentaram índices inferiores a 50 e outros três animais distribuídos eqüitativamente entre os intervalos 51-500, 501-2500 e >6400. No grupo ST apenas um animal apresentou nível de PGE inferior a 50 pg/ml. Em T15 100% dos animais de NEPA apresentaram concentração de PGE inferior a 50 pg/ml frente aos 66% dos animais de CORT e 83,3% do grupo ST nesta faixa de classificação.

Tabela 9 – Distribuição das porcentagens dos intervalos das concentrações de Prostaglandina (pg/ml) obtidos dos olhos direitos (OD) para os grupos ST, CORT e NEPA, nos diferentes momentos estudados – São Paulo – 2011

		grupo						p-valor
		St		Cort		nepa		
		n	%	n	%	n	%	
Concentração de PGE - T0	<50	4	66,7%	5	71,4%	5	71,4%	0,629
	51-500	1	16,7%	2	28,6%	2	28,6%	
	501-2500	1	16,7%	0	0,0%	0	0,0%	
Concentração de PGE - T1	<50	0	0,0%	0	0,0%	4	57,1%	0,004
	51-500	0	0,0%	4	57,1%	2	28,6%	
	501-2500	1	20,0%	3	42,9%	1	14,3%	
	2501-4500	1	20,0%	0	0,0%	0	0,0%	
	>6400	3	60,0%	0	0,0%	0	0,0%	
Concentração de PGE - T2	<50	0	0,0%	1	14,3%	7	100,0%	0,005
	51-500	1	16,7%	3	42,9%	0	0,0%	
	501-2500	1	16,7%	2	28,6%	0	0,0%	
	2501-4500	2	33,3%	1	14,3%	0	0,0%	
	>6400	2	33,3%	0	0,0%	0	0,0%	
Concentração de PGE - T3	<50	0	0,0%	1	14,3%	5	71,4%	0,11
	51-500	1	20,0%	3	42,9%	1	14,3%	
	501-2500	1	20,0%	2	28,6%	1	14,3%	
	2501-4500	1	20,0%	0	0,0%	0	0,0%	
	>6400	2	40,0%	1	14,3%	0	0,0%	
Concentração de PGE - T7	<50	1	20,0%	4	57,1%	6	85,7%	0,44
	51-500	2	40,0%	1	14,3%	1	14,3%	
	501-2500	1	20,0%	1	14,3%	0	0,0%	
	>6400	1	20,0%	1	14,3%	0	0,0%	
Concentração de PGE - T15	<50	5	83,3%	4	66,7%	7	100,0%	0,439
	51-500	0	0,0%	1	16,7%	0	0,0%	
	501-2500	1	16,7%	1	16,7%	0	0,0%

Figura 8 - Representação gráfica da distribuição dos valores das concentrações de prostaglandina do olho direito dos animais dos grupos ST, CORT e NEPA nos diferentes momentos. (* p= 0,004 e ▲ p= 0,005)

4.4 Pressão intra-ocular

A análise da PIO no momento T0 mostrou que o grupo ST apresentou PIO média inferior aos grupos testados ($18,7 \pm 5,62$ mmHg vs $22,6 \pm 5,44$ mmHg do grupo CORT e $24,3 \pm 4,31$ mmHg do grupo NEPA com $p=0,146$) (Tabela 10 e Figura 9). Já em T1 observou-se um pico da PIO no grupo CORT atingindo $35,7 \pm 10,73$ mmHg ao mesmo tempo que os demais grupos não apresentaram mudança significativa com valores de $21,4 \pm 6,5$ mmHg do grupo ST e $22,4 \pm 11,98$ mmHg do grupo NEPA. Quando se compara as médias dos grupos entre si o grupo CORT apresenta média superior estatisticamente diferente do grupo NEPA ($p=0,047$) (Tabela 11 e Figura 10). Existe uma queda progressiva da PIO a partir de T3 até o momento T15 quando os valores de PIO foram: $17,4 \pm 4,61$ mmHg para o grupo ST; $19,6 \pm 7,21$ mmHg para o grupo CORT e $17,6 \pm 7,63$ mmHg para o grupo NEPA. Em todos os momentos aferidos, os valores de PIO do grupo CORT mostraram-se

superiores aos do grupo ST e NEPA, porém não houve diferença estatística quando as médias foram comparadas.

Os resultados de PIO obtidos para o olho esquerdo do grupo ST, CORT e NEPA foram tomados e as médias e desvios padrão estão apresentados na tabela 12.

Tabela 10 – Valores de Pressão Intra-ocular (mmHg), obtidos do olho direito (OD) dos animais dos grupos ST, CORT e NEPA, nos diferentes momentos estudados – São Paulo – 2011

		<i>Grupo</i>			<i>p-valor</i>
		<i>St</i>	<i>Cort</i>	<i>Nepa</i>	
Pressão intraocular (mmHg) - OD (T0)	n	7	7	7	0,146
	média	18,7	22,6	24,3	
	mediana	18	24	25	
	desvio padrão	5,62	5,44	4,31	
	mínimo	12	12	19	
	máximo	26	29	32	
Pressão intraocular (mmHg) - OD (T1)	n	7	7	7	0,027
	média	21,4	35,7	22,4	
	mediana	20	33	16	
	desvio padrão	6,5	10,73	11,98	
	mínimo	17	20	12	
	máximo	35	52	45	
Pressão intraocular (mmHg) - OD (T2)	n	7	7	7	0,945
	média	21,1	21,6	20,0	
	mediana	16	23	19	
	desvio padrão	12,56	6,19	6,98	
	mínimo	11	12	13	
	máximo	46	28	30	
Pressão intraocular (mmHg) - OD (T3)	n	7	7	7	0,685
	média	16,6	20,9	18,4	
	mediana	13	23	16	
	desvio padrão	9,2	9,19	9,07	
	mínimo	11	7	4	
	máximo	37	30	30	
Pressão intraocular (mmHg) - OD (T7)	n	7	7	7	0,898
	média	17,3	18,9	17,6	
	mediana	14	19	19	
	desvio padrão	9,96	2,91	5,29	
	mínimo	9	16	9	
	máximo	38	24	23	
Pressão intraocular (mmHg) - OD (T15)	n	7	7	7	0,783
	média	17,3	19,6	17,6	
	mediana	17	17	20	
	desvio padrão	4,61	7,21	7,63	
	mínimo	11	14	4	
	máximo	24	34	25

Figura 9 – Representação gráfica da evolução dos valores de pressão intra-ocular do olho direito dos animais dos grupos ST, CORT e NEPA nos diferentes momentos (* $p=0,027$)

Tabela 11 – Comparação entre as médias de Pressão Intra-ocular obtidas para os grupos ST, CORT e NEPA no momento T1 – São Paulo – 2011

<i>comparações múltiplas</i>	<i>p-valor</i>
St x Cort	0,047
St x Nepa	>0,999
Cort x Nepa	0,070

Figura 10 - Representação gráfica dos valores de pressão intra-ocular (média $\pm$ erro padrão) dos grupos ST ($21,4 \pm 2,45$ mmHg), CORT ($35,7 \pm 3,9$ mmHg) e NEPA ($22,4 \pm 4,52$ mmHg) no momento T1 com $p=0,047$ quando ST e CORT são comparados entre si

Tabela 12 – Valores de pressão intra-ocular (mmHg), obtidos do olho esquerdo (OE) dos animais dos grupos ST, CORT e NEPA, nos diferentes momentos estudados – São Paulo – 2011

		<i>Grupo</i>		
		<i>St</i>	<i>Cort</i>	<i>Nepa</i>
Pressão intra-ocular (mmHg) - OE (T0)	N	7	7	7
	média	18,4	26,0	23,7
	mediana	20	28	26
	desvio padrão	5,5	5,8	5,9
	mínimo	9	18	13
	máximo	25	35	29
Pressão intra-ocular (mmHg) - OE (T1)	N	7	7	7
	média	15	20	16,1
	mediana	15	20	15
	desvio padrão	2,5	5,1	3,6
	mínimo	11	13	12
	máximo	18	29	23
Pressão intra-ocular (mmHg) - OE (T2)	N	7	7	7
	média	13	16	16,7
	mediana	12	15	15
	desvio padrão	3,8	4,1	4,6
	mínimo	8	10	12
	máximo	20	23	23
Pressão intra-ocular (mmHg) - OE (T3)	N	7	7	7
	média	10,9	20,7	15,6
	mediana	11	20	16
	desvio padrão	1,4	5,9	4,6
	mínimo	9	12	10
	máximo	13	31	23
Pressão intra-ocular (mmHg) - OE (T7)	N	7	7	7
	média	17,7	16,7	16,3
	mediana	17	17	17
	desvio padrão	3,4	3,5	2,9
	mínimo	15	12	11
	máximo	25	21	20
Pressão intra-ocular (mmHg) - OE (T15)	N	7	7	7
	média	14,1	14,6	15,7
	mediana	12	15	16
	desvio padrão	5,43	2,82	4,61
	mínimo	10	10	11
	máximo	22	18	22

4.5 Contagem de células inflamatórias

A contagem de células dos grupos CORT e NEPA no momento T0 revelou ausência total de células e no grupo ST uma quantidade ínfima de células ($0,03 \pm$

$0,08 \times 10^4$ céls/ml) (Tabela 13 e Figura 11). Observa-se um desvio padrão elevado visto que se abalizarmos os valores individualmente para cada animal veremos que 6 dos 7 animais apresentaram contagem celular nula e apenas 1 animal apresentou contagem celular de $0,2 \times 10^4$. Existe evidente aumento de células no primeiro dia após a cirurgia (T1) quando o grupo CORT apresentou menor contagem celular ($3,51 \pm 4,68 \times 10^4$ céls/ml) frente aos grupos ST e NEPA ($6,3 \pm 2,49 \times 10^4$ céls/ml e $5,01 \pm 6,77 \times 10^4$ céls/ml respectivamente), sem no entanto haver diferença estatisticamente significativa ($p=0,620$). Em T2 observa-se diminuição da contagem celular em todos os grupos e novamente o grupo CORT mostrou menor contagem celular ($1,19 \pm 1,18 \times 10^4$ céls/ml), porém sem diferença estatisticamente significativa quando comparado aos demais grupos ($2,98 \pm 1 \times 10^4$ céls/ml para grupo NEPA e $4,47 \pm 6,61 \times 10^4$ céls/ml para o grupo ST com $p=0,336$). O padrão de redução da contagem celular segue em T3 quando CORT, a semelhança do momento anterior, apresenta menor quantidade de células no HA ($0,83 \pm 0,9 \times 10^4$ céls/ml) em relação aos outros grupos ($1,15 \pm 0,49 \times 10^4$ céls/ml para NEPA e $3,09 \pm 1,93 \times 10^4$ céls/ml para ST). A comparação de médias entre os grupos em T3 mostrou diferença estatística com $p=0,010$ e quando os grupos são comparados individualmente, observa-se que o grupo ST apresentou contagem celular superior aos grupos CORT e NEPA ($p=0,013$ e $0,046$ respectivamente) (Tabela 14 e Figura 12). Entre NEPA e CORT não houve diferença estatisticamente significativa. Em T7 ocorreu ainda queda da contagem celular e de novo o grupo CORT mostrou menor número de células ($0,14 \pm 0,24 \times 10^4$ céls/ml) quando NEPA apresentou $0,37 \pm 0,5 \times 10^4$ céls/ml e ST $0,52 \pm 0,54 \times 10^4$ céls/ml ainda que a comparação entre médias não revelou diferença estatisticamente significativa ($p=0,314$). Finalmente em T15 o grupo CORT mostrou contagem celular nula ao passo que pequena quantidade de células foi encontrada em NEPA ($0,12 \pm 0,2 \times 10^4$ céls/ml) e aumento das células foi observado em ST ($1,34 \pm 2,12 \times 10^4$ céls/ml).

Os dados referentes à contagem de células do olho esquerdo do grupo ST estão apresentados na tabela 15. Observa-se aumento progressivo do número de células em T1 ($0,07 \pm 0,19 \times 10^4$ céls/ml) até o momento T7 ($0,17 \pm 0,37 \times 10^4$ céls/ml) e queda deste parâmetro em T15 ($0,1 \pm 0,19 \times 10^4$ céls/ml).

Tabela 13 – Contagem de Células ($\times 10^4$ céls/ml) obtida do olho direito (OD) dos animais dos grupos ST, CORT e NEPA, nos diferentes momentos estudados – São Paulo – 2011

		grupo			p-valor
		St	Cort	Nepa	
contagem de células inflamatórias - OD (T0)	N	7	7	6	***
	Média	0,03	0	0	
	mediana	0	0	0	
	Desvio padrão	0,08	0	0	
	mínimo	0	0	0	
	máximo	0,2	0	0	
contagem de células inflamatórias - OD (T1)	n	7	7	6	0,620
	média	5,01	3,51	6,3	
	mediana	1,7	2	6,85	
	desvio padrão	6,77	4,68	2,49	
	mínimo	0,5	0	2,7	
	máximo	18,2	13,5	9,5	
contagem de células inflamatórias - OD (T2)	n	7	7	6	0,336
	média	4,47	1,19	2,98	
	mediana	2,2	1,2	2,75	
	desvio padrão	6,61	1,18	1	
	mínimo	0	0	2	
	máximo	19,2	3	4,7	
contagem de células inflamatórias - OD (T3)	n	7	7	6	0,010
	média	3,09	0,83	1,15	
	mediana	2,7	0,7	1,1	
	desvio padrão	1,93	0,9	0,49	
	mínimo	0,2	0	0,5	
	máximo	5,5	2,2	2	
contagem de células inflamatórias - OD (T7)	n	7	7	6	0,314 (BF)
	média	0,52	0,14	0,37	
	mediana	0,2	0	0,1	
	desvio padrão	0,54	0,24	0,5	
	mínimo	0	0	0	
	máximo	1,25	0,5	1	
contagem de células inflamatórias - OD (T15)	n	7	7	6	0,122
	média	1,34	0	0,12	
	mediana	1	0	0	
	desvio padrão	2,12	0	0,2	
	mínimo	0	0	0	
	máximo	6	0	0,5

Figura 11 – Representação gráfica dos valores de contagem de células inflamatórias do olho direito dos animais dos grupos ST, CORT e NEPA nos diferentes momentos (* $p=0,010$)

Tabela 14 – Comparação entre as médias do número de células obtidas para os grupos ST, CORT e NEPA (olhos direitos) no momento T3 – São Paulo – 2011

<i>comparações múltiplas</i>	<i>p-valor</i>
St x Cort	0,013
St x Nepa	0,046
Cort x Nepa	>0,999

Figura 12 - Representação gráfica dos valores de contagem de células inflamatórias (média $\pm$ erro padrão) dos grupos ST ($3,09 \pm 0,73 \times 10^4$ céls/ml), CORT ($0,83 \pm 0,34 \times 10^4$ céls/ml) e NEPA ($1,15 \pm 0,18 \times 10^4$ céls/ml) no momento T3 com $p=0,013$ quando ST e CORT são comparados entre si e $p=0,045$ quando ST e NEPA são comparados entre si

Tabela 15 – Contagem de Células ($\times 10^4$ céls/ml) obtida do olho direito (OD) dos animais dos grupos ST, CORT e NEPA, nos diferentes momentos estudados – São Paulo – 2011

		<i>grupo – st</i>					
		<i>T0</i>	<i>T1</i>	<i>T2</i>	<i>T3</i>	<i>T7</i>	<i>T15</i>
contagem de células inflamatórias - OE (T0)	n	7	7	7	7	7	7
	média	0	0,07	0,43	0,6	0,17	0,1
	mediana	0	0	0	0	0	0
	desvio padrão	0	0,19	0,61	0,84	0,37	0,19
	mínimo	0	0	0	0	0	0
	máximo	0	0,5	1,5	2	1	0,5

4.6 Determinação dos níveis de ácido ascórbico

A determinação dos níveis de ácido ascórbico no T0 revelou homogeneidade entre os grupos uma vez que a comparação entre médias não revelou diferença estatisticamente significativa ($p=0,539$) (Tabela 16 e Figura 13). Observou-se diminuição também bastante homogênea da concentração de ácido ascórbico em todos os grupo no momento T1 ($483,15 \pm 144,09\text{mM}$ para ST, $476 \pm 156,33\text{mM}$ para CORT e $469,99 \pm 169,26\text{mM}$ para NEPA com $p=0,989$). Em T2 houve ligeira queda dos níveis em ST e CORT ($419,55 \pm 76,71\text{mM}$ e $443,97 \pm 84,62\text{mM}$ respectivamente) e recuperação dos níveis de ácido ascórbico em NEPA ($730,41 \pm 720,51\text{mM}$). Convém salientar que analisando pontualmente o grupo NEPA no momento T2 observou-se um valor máximo de $2353,3\text{mM}$ e mínimo de $338,9\text{mM}$. Em T3 existe ainda discreta diminuição de ácido ascórbico em ST e CORT, mas chama atenção a forte queda observada no grupo NEPA em relação ao momento anterior ($486,9 \pm 145,77\text{mM}$), ainda que não tenha havido diferença na comparação entre as médias ($p=0,343$). Em T7 observou-se retomada nos níveis de ácido ascórbico nos grupos ST e NEPA ($511,35 \pm 235,26\text{mM}$ e $640,57 \pm 271,67\text{mM}$ respectivamente) ao passo que em CORT ainda houve queda da concentração de ácido ascórbico ($316,8 \pm 100,81\text{mM}$). A comparação entre médias foi estatisticamente significante ($p=0,006$) e quando comparadas individualmente as médias dos grupos CORT e ST houve diferença estatística com $p=0,035$, mostrando a que neste momento os níveis de ácido ascórbico no grupo CORT mostraram-se muito baixos em relação ao grupo NEPA (Tabela 17 e Figura 14). Em T15 a mesma tendência de queda na concentração foi observada para o grupo CORT ($214,67 \pm$

70,72mM) uma discreta queda foi observada no grupo NEPA ($567,57 \pm 92,08\text{mM}$) e uma retomada na concentração foi observada em ST ($676,65 \pm 278,35\text{mM}$). A comparação entre médias dos grupos mostrou diferença estatisticamente significativa ($p=0,006$) e mais ainda quando comparamos as médias individualmente observou-se que o grupo CORT mostrou médias bastante inferiores ao grupo ST ($p=0,023$) bem como em relação ao grupo NEPA ($p<0,001$) (Tabela 18 e Figura 15).

A determinação de ácido ascórbico no HA do olho esquerdo está mostrada na tabela 19. Observamos a partir desta análise que as médias das concentrações de ácido ascórbico são evidentemente mais elevadas que aquelas observadas nos animais que passaram por procedimento cirúrgico quer tenham recebido tratamento ou não.

Tabela 16 – Concentrações de Ácido Ascórbico (mM) no humor aquoso, obtidas do olho direito (OD) dos animais dos grupos ST, CORT e NEPA nos diferentes momentos estudados – São Paulo – 2011

		<i>grupo</i>			<i>p-valor</i>
		<i>St</i>	<i>Cort</i>	<i>Nepa</i>	
ácido ascórbico - OD (T0)	n	6	7	7	0,539
	média	821,78	899,1	990,23	
	mediana	806,65	860	982,9	
	desvio padrão	214,21	313,37	261,1	
	mínimo	557,6	518,3	498,4	
	máximo	1167,1	1396,8	1333,5	
ácido ascórbico - OD (T1)	n	6	7	7	0,989
	média	483,15	476,39	469,99	
	mediana	529,3	510,7	434,2	
	desvio padrão	144,09	156,33	169,26	
	mínimo	244,4	263,5	353	
	máximo	606,2	699,5	833,3	
ácido ascórbico - OD (T2)	n	6	7	7	0,370 (BF)
	média	419,55	443,97	730,41	
	mediana	428,7	422,3	480,6	
	desvio padrão	76,71	84,62	720,51	
	mínimo	304,7	325,7	338,9	
	máximo	511,1	596,4	2353,3	
ácido ascórbico - OD (T3)	n	6	7	7	0,343
	média	414,13	390,96	486,9	
	mediana	405,7	423,4	439,4	
	desvio padrão	107,84	110,97	145,77	
	mínimo	276,9	174,1	349,4	
	máximo	552,7	494	773,2	

		(Conclusão)		
		grupo		
		St	Cort	Nepa
		p-valor		
ácido ascórbico - OD (T7)	n	6	7	7
	média	511,35	316,8	640,57
	mediana	464,45	352,3	550,6
	desvio padrão	235,36	100,81	271,67
	mínimo	254,5	189,2	407,3
	máximo	854,6	443,4	1202,1
ácido ascórbico - OD (T15)	n	6	7	7
	média	676,65	214,67	567,57
	mediana	615,25	215,9	605,4
	desvio padrão	278,35	70,72	92,08
	mínimo	329,92	112,3	414,4
	máximo	1029,4	313,2	658

Figura 13 – Representação gráfica da evolução dos níveis de ácido ascórbico (mM) nos animais dos grupos ST, CORT e NEPA nos diferentes momentos (* $p=0,037$ e $\blacktriangle p=0,006$).

Tabela 17 – Comparação entre as médias das concentrações obtidas para os grupos ST, CORT e NEPA (olho direito) no momento T7 – São Paulo – 2011

comparações múltiplas	p-valor
St x Cort	0,363
St x Nepa	0,881
Cort x Nepa	0,035

Figura 14 - Representação gráfica da concentração de ácido ascórbico (média $\pm$ erro padrão) dos grupos ST (511,35 $\pm$ 88,63 mM), CORT (316,8 $\pm$ 38,04 mM) e NEPA (640,57 $\pm$ 102,51 mM) no momento T7 com $p=0,035$ quando CORT e NEPA são comparados entre si

Tabela 18 – Comparação entre as médias das concentrações de ácido ascórbico obtidas (mM) para os grupos ST, CORT e NEPA (olho direito) no momento T15 – São Paulo – 2011

<i>comparações múltiplas</i>	<i>p-valor</i>
St x Cort	0,023
St x Nepa	0,745
Cort x Nepa	<0,001

Figura 15 - Representação gráfica da concentração de ácido ascórbico (média $\pm$ erro padrão) dos grupos ST (676,65 $\pm$ 105,03 mM), CORT (214,67 $\pm$ 26,68 mM) e NEPA (567,57 $\pm$ 34,74 mM) no momento T15 com $p=0,023$ quando ST e CORT são comparados entre si e $p<0,001$ quando CORT e NEPA são comparados entre si

Tabela 19 –Concentrações de ácido ascórbico no humor aquoso (mM), obtidas do olho esquerdo (OE) dos animais do grupo ST nos diferentes momentos estudados – São Paulo – 2011

		<i>grupo – st</i>					
		<i>T0</i>	<i>T1</i>	<i>T2</i>	<i>T3</i>	<i>T7</i>	<i>T15</i>
ácido ascórbico - OE	n	7	7	7	7	7	7
	média	905,07	990,25	926,8	976,33	1081,07	1186,9
	mediana	808,7	1027,1	943,15	999,4	1120,8	1131,7
	desvio padrão	300,95	318,56	138,8	189,68	189,44	336,94
	mínimo	645,6	414,1	750,8	686	835,4	691,9
	máximo	1437,1	1355	1083,6	1172,3	1367,7	1581,4

4.7 Determinação dos níveis de proteína

As concentrações de proteína no HA dos grupos no momento T0 mostraram igualdade estatística ($p= 0,288$) ainda que a média do grupo NEPA tenha sido ligeiramente superior ($2,69 \pm 3,71\mu\text{g}/\mu\text{L}$) (Tabela 20 e Figura 16). Após o procedimento cirúrgico (T1) evidenciou-se aumento da concentração em todos os grupos, porém no CORT foi observada a menor concentração de proteína ($5,03 \pm 1,55\mu\text{g}/\mu\text{L}$) seguida pelo grupo NEPA ($9,38 \pm 3,74\mu\text{g}/\mu\text{L}$) e pelo grupo ST ($11,2 \pm 5,05\mu\text{g}/\mu\text{L}$). Houve diferença estatisticamente significativa na comparação entre médias ($p= 0,019$) e a comparação entre grupos mostrou que a concentração de proteína do grupo ST é estatisticamente maior que o grupo CORT ($p=0,022$) (Tabela 21 e Figura 17). Não houve diferença estatisticamente significativa entre o grupo CORT e NEPA ($p=0,117$). Em T2 houve redução da concentração de proteína dos grupos CORT e NEPA e estabilidade no grupo ST. Em T3 houve queda ainda maior da proteína do grupo NEPA ($4,8 \pm 1,8\mu\text{g}/\mu\text{L}$), ligeira queda em ST ($10,22 \pm 6,92\mu\text{g}/\mu\text{L}$) e contrariamente houve aumento no grupo CORT ($6,44 \pm 2,96\mu\text{g}/\mu\text{L}$), não havendo diferença significativa ($p=0,161$). No momento T7 observou-se evidente redução da concentração em todos os grupos ($5,7 \pm 3,8\mu\text{g}/\mu\text{L}$ para ST, $3,24 \pm 2,27\mu\text{g}/\mu\text{L}$ para CORT e $2,69 \pm 1,34\mu\text{g}/\mu\text{L}$ para NEPA) bem como no momento T15 ($2,03 \pm 0,94\mu\text{g}/\mu\text{L}$ para ST, $1,72 \pm 0,73\mu\text{g}/\mu\text{L}$ para CORT e $1,40 \pm 0,57\mu\text{g}/\mu\text{L}$ para NEPA). Ainda que as concentrações médias do grupo ST nos momentos T7 e T15

tenham sido superior aos demais grupos, não houve diferença significativa entre eles ($p=0,118$ e $p=0,338$ respectivamente).

As concentrações de proteína no HA do olho esquerdo, obtidas em cada momento estão expostas na tabela 22. Nota-se que os valores obtidos para o olho esquerdo são muito próximos àqueles observados no momento T15 dos grupos CORT e NEPA.

Tabela 20 – Concentração de proteína no humor aquoso ($\mu\text{g}/\mu\text{L}$), obtida do olho direito (OD) dos animais dos grupos ST, CORT e NEPA nos diferentes momentos estudados – São Paulo – 2011

		grupo			p-valor
		St	Cort	Nepa	
Proteína - OD (T0)	n	6	7	7	0,288 (BF)
	média	0,9	0,86	2,62	
	mediana	0,88	0,83	0,9	
	desvio padrão	0,09	0,32	3,71	
	mínimo	0,83	0,47	0,54	
	máximo	1,08	1,4	10,85	
Proteína - OD (T1)	n	6	7	7	0,019
	média	11,2	5,03	9,38	
	mediana	9,53	4,6	7,97	
	desvio padrão	5,05	1,55	3,74	
	mínimo	7,6	3,31	6,5	
	máximo	20,83	7,61	17,1	
Proteína - OD (T2)	n	6	7	7	0,094 (BF)
	média	11,76	4,6	6,86	
	mediana	9,75	4,84	6,98	
	desvio padrão	7,87	1,24	1,49	
	mínimo	5,98	3,08	5,39	
	máximo	27,29	6,73	9,56	
Proteína - OD (T3)	n	6	7	7	0,161 (BF)
	média	10,22	6,44	4,8	
	mediana	7,38	6,29	5,13	
	desvio padrão	6,96	2,96	1,8	
	mínimo	3,37	2,23	2,03	
	máximo	20,81	11,4	7,41	
Proteína - OD (T7)	n	6	7	7	0,118
	média	5,7	3,24	2,69	
	mediana	4,62	2,52	2,21	
	desvio padrão	3,8	2,27	1,34	
	mínimo	1,96	1,26	1,27	
	máximo	12,76	7,19	5,09	
Proteína - OD (T15)	n	6	7	7	0,338
	média	2,03	1,72	1,4	
	mediana	1,73	1,61	1,21	
	desvio padrão	0,94	0,73	0,57	
	mínimo	1	0,79	0,8	
	máximo	3,66	3	2,46

Figura 16 – Representação gráfica da evolução da concentração de proteína no humor aquoso ($\mu\text{g}/\mu\text{L}$) dos animais dos grupos ST, CORT e NEPA nos diferentes momentos (* $p=0,019$)

Tabela 21 - Concentração de proteína no humor aquoso ($\mu\text{g}/\mu\text{L}$), obtida do olho esquerdo (OE) dos animais dos grupos ST nos diferentes momentos estudados – São Paulo – 2011

		grupo – st					
		T0	T1	T2	T3	T7	T15
Proteína – OE	n	7	7	7	7	7	7
	média	2,2	2,73	1,83	1,41	0,84	1,22
	mediana	1,31	0,71	1,34	1,38	0,87	0,74
	desvio padrão	2,13	3,82	1,22	0,57	0,27	1,55
	mínimo	0,65	0,47	0,84	0,74	0,39	0,3
	máximo	6,15	10,36	4,26	2,28	1,21	4,72

Tabela 22 – Comparação entre as médias das concentrações de proteína no humor aquoso, obtidas para os grupos ST, CORT e NEPA (olho direito) no momento T1 – São Paulo - 2011

comparações múltiplas	p-valor
St x Cort	0,022
St x Nepa	>0,999
Cort x Nepa	0,117

Figura 17 - Representação gráfica da concentração de proteína (média $\pm$ erro padrão) dos grupos ST (11,2 $\pm$ 1,9 $\mu\text{g}/\mu\text{L}$), CORT (5,03 $\pm$ 0,59 $\mu\text{g}/\mu\text{L}$) e NEPA (9,38 $\pm$ 1,41 $\mu\text{g}/\mu\text{L}$) no momento T1 com $p=0,022$ quando ST e CORT são comparados entre si

4.8 Tempo de US

A análise dos tempos ultra-som utilizados durante a cirurgia foram apresentados na tabela 23. Nota-se homogeneidade entre os grupos uma vez que a comparação entre médias não demonstrou diferença estatisticamente significativa ($p=0,957$).

Tabela 23 - Médias dos valores do tempo de ultra-som (min) utilizado nas cirurgias dos grupos ST, CORT e NEPA - São Paulo – 2011

		grupo			p-valor
		St	Cort	Nepa	
Tempo de US (min)	n	7	7	7	0,957
	média	3,31	3,59	3,3	
	mediana	2,4	3,3	3,15	
	desvio padrão	1,85	2,23	1,42	
	mínimo	1,8	1,2	1,9	
	máximo	7	8,2	5	

4.9 Análise de correlação

No momento T0 não foram observadas correlações entre as variáveis (Tabela 24). No momento T1 observou-se fraca correlação entre paquimetria e PIO ($r= 0,472$), entre paquimetria e contagem de células inflamatórias ($r= 0,419$) entre prostaglandina e fibrina em CA ($r= 0,414$) e correlação moderada negativa entre paquimetria e níveis de ácido ascórbico ($r= -0,497$). Forte correlação negativa observou-se entre ácido ascórbico e contagem de células inflamatórias ($r= -0,737$) (Tabela 25). Em T2 houve correlação moderada e negativa entre valores de PIO e concentração de proteína ($r= -0,581$) bem como entre paquimetria corneal e presença de fibrina em CA ($r= -0,559$) (Tabela 26) e novamente correlação moderada a fraca entre níveis de prostaglandina e fibrina em CA ($r= 0,463$). Em T3 a correlação negativa entre proteína e PIO se mantém ($r= -0,561$) bem como entre níveis de prostaglandina e fibrina em CA ($r= 0,509$) e proteína ($r= 0,512$) e negativa entre PIO ($r= -0,525$) (Tabela 27). Em T7 houve apenas correlação moderada entre o tempo de US e PIO ($r= 0,571$) (Tabela 28). Forte correlação entre prostaglandina e o escore de fibrina em câmara anterior foi observada em T15 ($r= 0,744$) e fraca correlação entre paquimetria corneal e contagem de células inflamatórias ($r= 0,419$) e entre proteína e PIO ($r= 0,430$) (Tabela 29).

Tabela 24 – Correlações obtidas entre as variáveis nos grupos ST, CORT e NEPA no momento T0 - São Paulo – 2011

	Paquimetria de córnea	Pressão intraocular	Proteína	ácido ascórbico	Fibrina em CA	contagem de células inflamatórias	Prostaglandina	Tempo de US
Paquimetria de córnea	1	-0,27	-0,027	0,261	.	0,179	-0,01	-0,263
Pressão intraocular	-0,27	1	0,37	0,051	.	-0,3	0,075	-0,303
Proteína	-0,027	0,37	1	-0,017	.	-0,108	-0,046	-0,325
ácido ascórbico	0,261	0,051	-0,017	1	.	0,258	-0,424	-0,01
Fibrina em CA	.	.	.	.	.	.	.	.
contagem de células inflamatórias	0,179	-0,3	-0,108	0,258	.	1	-0,156	-0,094
Prostaglandina	-0,01	0,075	-0,046	-0,424	.	-0,156	1	0,039
Tempo de US	-0,263	-0,303	-0,325	-0,01	.	-0,094	0,039	1

Tabela 25 – Correlações obtidas entre as variáveis nos grupos ST, CORT e NEPA no momento T1 - São Paulo – 2011

	<i>Paquimetria de córnea</i>	<i>Pressão intraocular</i>	<i>Proteína</i>	<i>ácido ascórbico</i>	<i>Fibrina em CA</i>	<i>contagem de células inflamatórias</i>	<i>Prostaglandina</i>	<i>Tempo de US</i>
Paquimetria de córnea	1	0,472	-0,139	-0,497	-0,008	0,419	-0,018	0,3
Pressão intraocular	0,472	1	-0,344	-0,331	0,359	0,079	0,264	0,224
Proteína	-0,139	-0,344	1	-0,048	-0,282	0,179	0,262	-0,082
ácido ascórbico	-0,497	-0,331	-0,048	1	-0,143	-0,737	-0,104	-0,028
Fibrina em CA	-0,008	0,359	-0,282	-0,143	1	-0,334	0,414	-0,093
contagem de células inflamatórias	0,419	0,079	0,179	-0,737	-0,334	1	-0,363	0,001
Prostaglandina	-0,018	0,264	0,262	-0,104	0,414	-0,363	1	-0,136
Tempo de US	0,3	0,224	-0,082	-0,028	-0,093	0,001	-0,136	1

*Correlação fraca marcada em verde e correlação forte marcada em azul.

Tabela 26 – Correlações obtidas entre as variáveis nos grupos ST, CORT e NEPA no momento T2 - São Paulo – 2011

	<i>Paquimetria de córnea</i>	<i>Pressão intraocular</i>	<i>Proteína</i>	<i>ácido ascórbico</i>	<i>Fibrina em CA</i>	<i>contagem de células inflamatórias</i>	<i>Prostaglandina</i>	<i>Tempo de US</i>
Paquimetria de córnea	1	-0,196	0,003	-0,341	-0,559	0,257	-0,199	0,143
Pressão intraocular	-0,196	1	-0,581	-0,337	0,284	0,005	-0,089	0,234
Proteína	0,003	-0,581	1	0,211	0,084	0,277	0,171	-0,161
ácido ascórbico	-0,341	-0,337	0,211	1	-0,078	0,049	-0,385	0,013
Fibrina em CA	-0,559	0,284	0,084	-0,078	1	-0,091	0,463	-0,251
contagem de células inflamatórias	0,257	0,005	0,277	0,049	-0,091	1	-0,022	0,406
Prostaglandina	-0,199	-0,089	0,171	-0,385	0,463	-0,022	1	0,034
Tempo de US	0,143	0,234	-0,161	0,013	-0,251	0,406	0,034	1

*Correlação fraca marcada em verde, correlação moderada marcada em laranja

Tabela 27 – Correlações obtidas entre as variáveis nos grupos ST, CORT e NEPA no momento T3 - São Paulo – 2011

	<i>Paquimetria de córnea</i>	<i>Pressão intraocular</i>	<i>Proteína</i>	<i>ácido ascórbico</i>	<i>Fibrina em CA</i>	<i>contagem de células inflamatórias</i>	<i>Prostaglandina</i>	<i>Tempo de US</i>
Paquimetria de córnea	1	0,174	-0,093	-0,407	-0,326	0,332	-0,46	0,167
Pressão intraocular	0,174	1	-0,561	0,218	-0,077	0,094	-0,525	0,123
Proteína	-0,093	-0,561	1	-0,451	0,268	0,082	0,512	0,146
ácido ascórbico	-0,407	0,218	-0,451	1	0,012	-0,3	-0,353	-0,339
Fibrina em CA	-0,326	-0,077	0,268	0,012	1	-0,219	0,509	-0,255
contagem de células inflamatórias	0,332	0,094	0,082	-0,3	-0,219	1	0,127	0,184
Prostaglandina	-0,46	-0,525	0,512	-0,353	0,509	0,127	1	0,091
Tempo de US	0,167	0,123	0,146	-0,339	-0,255	0,184	0,091	1

*Correlação fraca marcada em verde, correlação moderada marcada em laranja

Tabela 28 – Correlações obtidas entre as variáveis nos grupos ST, CORT e NEPA no momento T7 - São Paulo – 2011

	<i>Paquimetria de córnea</i>	<i>Pressão intraocular</i>	<i>Proteína</i>	<i>ácido ascórbico</i>	<i>Fibrina em CA</i>	<i>contagem de células inflamatórias</i>	<i>Prostaglandina</i>	<i>Tempo de US</i>
Paquimetria de córnea	1	-0,121	0,07	-0,09	-0,304	0,061	-0,003	0,171
Pressão intraocular	-0,121	1	-0,096	0,025	0,168	-0,239	-0,16	0,571
Proteína	0,07	-0,096	1	-0,334	-0,127	0,252	0,242	0,077
ácido ascórbico	-0,09	0,025	-0,334	1	-0,009	0,018	0,122	-0,158
Fibrina em CA	-0,304	0,168	-0,127	-0,009	1	-0,301	0,126	-0,037
contagem de células inflamatórias	0,061	-0,239	0,252	0,018	-0,301	1	0,04	-0,022
Prostaglandina	-0,003	-0,16	0,242	0,122	0,126	0,04	1	0,146
Tempo de US	0,171	0,571	0,077	-0,158	-0,037	-0,022	0,146	1

*Correlação moderada marcada em laranja

Tabela 29 – Correlações obtidas entre as variáveis nos grupos ST, CORT e NEPA no momento T15 - São Paulo – 2011

	<i>Paquimetria de córnea</i>	<i>Pressão intraocular</i>	<i>Proteína</i>	<i>ácido ascórbico</i>	<i>Fibrina em CA</i>	<i>contagem de células inflamatórias</i>	<i>Prostaglandina</i>	<i>Tempo de US</i>
Paquimetria de córnea	1	-0,313	-0,038	-0,279	0,142	-0,418	0,329	0,137
Pressão intraocular	-0,313	1	-0,43	-0,285	0,023	-0,099	-0,084	0,126
Proteína	-0,038	-0,43	1	-0,095	0,26	0,019	0,33	-0,075
ácido ascórbico	-0,279	-0,285	-0,095	1	-0,087	0,374	-0,114	-0,076
Fibrina em CA	0,142	0,023	0,26	-0,087	1	0,392	0,744	0,171
contagem de células inflamatórias	-0,418	-0,099	0,019	0,374	0,392	1	0,112	-0,302
Prostaglandina	0,329	-0,084	0,33	-0,114	0,744	0,112	1	0,076
Tempo de US	0,137	0,126	-0,075	-0,076	0,171	-0,302	0,076	1

*Correlação fraca marcada em verde e correlação forte marcada em azul.

5 DISCUSSÃO

A cirurgia de remoção da catarata evoluiu consideravelmente nos últimos anos. No entanto, apesar de novas técnicas e equipamentos, a inflamação resultante da manipulação e da remoção da lente é ainda uma das principais causas de complicações pós-operatórias. Desta forma, existe uma busca constante por anti-inflamatórios mais eficazes no sentido de melhorar o controle da inflamação no período pós-operatório e assim aumentar o sucesso cirúrgico.

A avaliação de parâmetros clínicos associados ao desconforto ocular como blefarospasmo, presença de secreção e hiperemia conjuntival pode ser útil na análise da efetividade de um determinado antiinflamatório (KOURA et al., 2006; NARDI et al., 2007). Quando comparamos a presença de blefarospasmo entre os grupos, não houve diferença estatisticamente significativa nos momentos estudados, ainda que em T2 observamos que 100% dos animais do grupo NEPA apresentava escore 0, ao passo que 29% dos animais do grupo CORT apresentava escore 1 e 29% dos animais do grupo ST apresentavam escore 2. Com relação à secreção ocular, houve apenas diferença estatisticamente significativa no momento T2 quando 71% dos animais do grupo NEPA apresentavam escore 0 e 86% dos animais dos grupos CORT e ST apresentavam escore 1. No entanto, nos demais tempos estudados observamos que existe maior concentração de animais do grupo NEPA com escores inferiores em relação aos demais grupos e, como esperado, o grupo ST mostrou maior número de animais com escore 1 ou 2 quando comparado aos demais grupos. Houve marcado aumento da hiperemia conjuntival após a facoemulsificação, porém observamos diferença estatisticamente significativa em T2 quando 86% dos animais do grupo NEPA apresentava escore 0 ou 1, 57% dos animais do grupo CORT obteve escore 1, 29% escore 2 e 14% escore 3 e 57% do grupo ST apresentava escore 1, 29% escore 2 e 14% escore 3 e em T7 quando 86% dos animais do grupo NEPA já apresentava escore 0; 71% do grupo CORT classificado com escore 1 e 29% do grupo ST ainda com escore 2. A final do experimento 100% dos animais do grupo NEPA apresentavam escore 0 e 43% do grupo ST ainda foi classificado com escore 1. Diante destes resultados podemos dizer que ambos os anti-inflamatórios demonstraram eficácia no controle da dor pós-

operatória, assim como descrito por Lane et al. (2007) e Nardi et al. (2007) que mostraram que o nepafenaco 0,1% tem boa efetividade na prevenção da dor causada pela inflamação pós-operatória.

A posologia utilizada em nosso experimento foi a de 4 vezes ao dia, no entanto, Maxwell et al. (2008) afirmam que o nepafenaco pode controlar a dor se aplicado duas ou três vezes ao dia quando comparada ao placebo. No grupo NEPA obtivemos eficácia semelhante ao grupo CORT na inibição dos sintomas de dor ocular tendendo a superioridade uma vez que todos os animais apresentaram escore 0 para blefarospasmo e escores inferiores para secreção e hiperemia conjuntival fato semelhante ao relatado por Laurell e Zetterström (2002) quando a dexametasona foi comparada a outro AINE como o diclofenaco em que estes anti-inflamatórios apresentam eficácia similar no controle da dor.

Sabe-se que afecções do segmento anterior bem como procedimentos cirúrgicos intra-oculares provocam reações inflamatórias que alteram a barreira hemato-aquosa (SANDERS et al., 1982; REGNIER et al., 1986; GIULIANO, 2004). A BHA depende primariamente de junções *tight* entre as células do epitélio não-pigmentado do corpo ciliar, sendo que os vasos sanguíneos são fenestrados. Assim em decorrência de um estímulo inflamatório ocorre a contração do endotélio vascular principalmente da íris, favorecendo o extravasamento de fluído e leucócitos do compartimento vascular (GELLAT, 1991). Como resultado, entre outros, tem-se o aumento de celularidade e presença de fibrina no humor aquoso, clinicamente evidenciados pelo aumento da sua opacidade (KOURA et al., 2006). Nossos resultados mostram aumento da opacidade do HA em T1 e início de melhora da opacidade nos momentos seguintes sendo que em T2, T3 e T7 houve diferença estatisticamente significativa ($p= 0,044$; $p= 0,043$ e $p= 0,040$ respectivamente) onde o grupo NEPA mostrou escores inferiores aos CORT em T2 e T3. Padrão semelhante foi observado para escores de fibrina em câmara anterior quando o grupo NEPA apresenta escores inferiores aos do grupo CORT. Lane et al. (2007) indicam dados semelhantes em pacientes humanos submetidos à facectomia onde o grupo que recebeu nepafenaco mostrou menor intensidade de flare que o grupo controle assim como em nosso estudo em que o grupo NEPA mostrou menor opacidade de aquoso e presença de fibrina quando comparado ao grupo ST.

Segundo Flach et al. (1988) existem evidências de que AINE como o ceterolaco de trometamina é mais efetivo na estabilização da BHA após facectomia

em humanos. O mesmo pôde ser observado em nossos resultados uma vez que em determinados momentos o grupo NEPA apresentou maior número de animais com escores inferiores aos do grupo CORT.

Sabe-se que o HA é desprovido de células e, como anteriormente descrito, a quebra da BHA favorece a entrada de células inflamatórias no HA uma vez que predominantemente neutrófilos são recrutados por mediadores inflamatórios (KRONE; REAGAN; WELCH, 1998). Este evento de fato ocorreu onde observamos um aumento expressivo da contagem de células inflamatórias no momento T1; no entanto, esperava-se contagem celular inferior do grupo NEPA em relação principalmente ao grupo ST ($6,3 \pm 2,49 \times 10^4$ *versus* $5,01 \pm 6,77 \times 10^4$ céls/ml). Nos momentos T2 e T3 a contagem de células no grupo ST manteve-se superior aos grupos tratados, de acordo com as expectativas, mas a contagem de células para o grupo NEPA foi superior ao grupo CORT. Os anti-inflamatórios segundo a literatura são capazes de reduzir a contagem de células inflamatórias no humor aquoso após facectomia. Lane et al. (2007) observaram menor contagem celular em pacientes medicados com nepafenaco em relação a pacientes que receberam placebo assim como descrito por Nardi et al. (2007) comparando nepafenaco com cetorolaco de trometamina. Laurell e Zetterström (2002) afirmam que a mensuração de células inflamatórias foi significativamente menor em pacientes medicados com dexametasona em relação a usuários do diclofenaco e placebo aos três, oito, 15 e 30 dias pós operatórios, o que se aproxima de nossos resultados ainda que não haja uma comparação entre estes dois anti-inflamatórios na literatura específica. Ostrov et al. (1997) também mostraram que em pacientes humanos submetidos à cirurgia de catarata, a dexametasona foi melhor do que prednisolona e ketorolac respectivamente com relação infiltração de células inflamatórias na câmara anterior.

Se analisarmos os escores de fibrina na câmara anterior podemos inferir que, dentro de uma visão geral, no grupo NEPA observamos maior número de animais com escores inferiores de fibrina quando comparado aos demais grupos. Logo, acreditamos que nos grupos CORT e ST a contagem celular inferior se deve justamente ao fato de que a maior formação dos coágulos de fibrina possa ter aprisionado células inflamatórias não coletadas nas amostras de humor aquoso, resultando em menor contagem.

Outro parâmetro para avaliação da quebra da BHA é a concentração de proteína no HA que segundo Lorenz et al. (2008) pode ser considerada um bom

indicativo de inflamação intra-ocular. Como esperado, observamos maior concentração de proteína no grupo ST em relação aos grupos tratados, sobretudo no momento T1 quando comparamos ST com CORT. No entanto, o cotejamento dos resultados entre os dois anti-inflamatórios não mostrou diferença estatisticamente significativa. Nossos achados estão de acordo com Teixeira (2003) que realizou facoemulsificação em cães tratados com dexametasona e cloranfenicol e obteve curva semelhante à obtida pela mensuração da concentração de proteína. O autor relata aumento abrupto nas primeiras 24 horas seguido de declínio progressivo até valores próximos aos basais ao 14^o dia.

Hayasaka et al. (2003) compararam a ação antiinflamatória da dexametasona, fluorometolona, bromofenaco e pranoprofen após indução de inflamação por aplicação de PGE2 em coelhos e observaram que os AINES, embora mais efetivos, demoraram mais tempo para atingir o efeito desejado. Esta observação parece estar de acordo com os nossos achados já que no momento T1 e T2 os valores absolutos da concentração de proteína no grupo NEPA foram maiores do que o grupo CORT, porém o grupo NEPA mostrou diminuição da concentração de proteína a partir de T1 contrariamente ao CORT que mostrou diminuição apenas em T3.

Lynch e Brinkis (2006) afirmam que a facofragmentação em cães causa aumento transitório da paquimetria central da córnea (PCC), clinicamente evidenciado pelo aumento da opacidade corneal. Segundo os autores este evento pode ser explicado por perdas ou danos nas células endoteliais causados pela movimentação dos fluidos ou pela produção de radicais livres. O mesmo foi constatado por Laurell et al. (1997a) quando compararam facoemulsificação e EECC em coelhos. De fato, observamos em nosso experimento aumento considerável dos escores de opacidade corneal. O padrão apresentado pelo grupo NEPA difere pouco dos dois outros grupos, uma vez que houve aumento abrupto dos escores no momento T1, mostrando queda a partir de T2 até que ao final do experimento os escores voltaram a zero. O que foi notado nos grupos CORT e ST foi um aumento dos escores em T1 e T2 com queda a partir de T3, porém ao final do experimento ainda existiam animais com escores 1 ou 2.

Se analisarmos os valores de PCC podemos dizer que os grupos apresentaram padrão condizente com os escores de opacidade corneal. Em T1 houve aumento abrupto de escores de paquimetria para todos os grupos, no entanto no momento T2 observamos redução dos escores de PCC para os grupos NEPA e

aumento dos escores para os grupos CORT e ST comprovando a efetividade dos escores de opacidade corneal. Os nossos achados estão de parcialmente acordo com os resultados de Laurell et al. (1997a) e de Lynch e Brinkis (2006) que compararam facoemulsificação e EECC em coelhos, já que ambos os estudos concluíram que a PCC aumenta bruscamente no primeiro dia pós-operatório e declina progressivamente a partir do sétimo até o 30º dia pós-operatórios. Tal fato observado apenas para o grupo NEPA já que nos demais grupos houve manutenção de escores elevados até T7. Apenas em T15 houve diferença estatística entre os grupos quando NEPA mostrou paquimetria inferior aos demais sugerindo melhor ação deste AINE sobre os danos às células endoteliais.

Alguns estudos na literatura mostram que pode haver elevação temporária da PIO após a facoemulsificação (EL-HARAZI et al., 2000). Hirneiß et al. (2005) ao compararem prednisona, rimeloxona e ceterolaco afirmam que mesmo apresentando valores médios de PIO inferiores ao longo do experimento, os corticóides, marcadamente a prednisona, produziram maiores picos de hipertensão, evento semelhante ao que foi observado em nosso experimento quando no momento T1 o grupo CORT apresentou pico elevatório de PIO ($35,7 \pm 10,73$ mmHg). Os autores não explicam o motivo pelo qual houve pico de hipertensão, mas justificam que o AINE mostrou índices superiores de PIO ao longo do tempo estudado provavelmente por promover maior inibição das PGs, mediadores que causam diminuição da PIO.

Com exceção do pico observado em T2 para o grupo CORT, não houve diferença estatisticamente significativa entre os grupos, nos demais momentos, ainda que, se observarmos os valores absolutos, existe tendência de superioridade da PIO neste grupo. Outro fato que deve ser considerado é o método de aferição da PIO. Sabe-se que o aumento da espessura corneal pode superestimar o valor da PIO obtido por tonometria de aplanção, logo o aumento da PCC detectado no experimento pode ser uma possível explicação para o pico observado em T2.

Normalmente o humor aquoso de coelhos não apresenta prostaglandinas em concentrações importantes, no entanto após paracentese ou injúria em íris ou no cristalino, prostaglandinas são liberadas para a câmara anterior e junto de outros mediadores contribuem para a quebra da BHA (BHATTACHERJEE, 1980; LIU, 2000). Sabe-se também da existência de receptores distintos para PGE2 e outras prostaglandinas na musculatura, bem como sítios ligantes específicos para PGE2 na

íris e corpo ciliar mediando a quebra da BHA o que pode explicar a maior importância da PGE2 na quebra da BHA em relação às outras PGs (PROTZMAN; WOODWARD, 1990; CSUKAS et al., 1992). No presente experimento foi notado aumento da concentração de PGE2 em todos os grupos em T1 sendo que o grupo NEPA apresentou concentração menor do que o grupo CORT e ST, respectivamente ($p = 0,004$). Em T2 100% dos animais do grupo NEPA apresentava níveis basais de PGE2, estatisticamente diferente dos demais grupos ($p = 0,005$). A comparação entre os grupos nos demais tempos estudados não mostrou diferença estatisticamente significativa, ainda que o grupo NEPA tenha apresentado maior número de animais com concentração inferior a 50 pg/ml.

Levando-se em conta os resultados de T0, assume-se que a concentração basal de PGE2 seja inferior a 50pg/ml. Com exceção do momento T1, o grupo NEPA apresentou 100%, 71%, 86% e 100% dos animais com concentração inferior a 50 pg/ml nos momentos T2, T3, T7 e T15, respectivamente, corroborando com os achados de Gamache, Graff e Brandy (2000) que, em estudo experimental de uveíte traumática em coelhos, afirmam que o nepafenaco pode inibir cerca de 98% a síntese de PGE2. Contrariamente, Bucci Jr., Waterbury e Amico (2007) sugerem que o uso do nepafenaco não confere vantagens em relação à penetração ocular e inibição de PGE2, por exemplo, quando comparado ao ceterolaco. No entanto, deve-se ressaltar que resultados obtidos por Bucci Jr., Waterbury e Amico (2007) referem-se à inibição pré-operatória e não pós-cirúrgicas de PGE2.

O HA parece não sofrer alterações significativas pelo estresse oxidativo já que os componentes ligados à proteção antioxidante se restabelecem ao regresso das condições ótimas, muito embora os insultos causados em longo prazo resultem em perda de substâncias antioxidantes no tecido lesionado. Neste sentido, o ascorbato é considerado o mais efetivo antioxidante encontrado no olho (ROSE; BODE, 1991).

Alguns estudos presentes na literatura demonstraram haver redução da capacidade antioxidante após EECC e facoemulsificação em cães e em cães portadores de catarata diabética (BARROS et al., 2002; BARROS et al., 2003; DE BIAGGI et al., 2006). Teixeira (2003) observou diminuição das concentrações de ácido ascórbico logo após o primeiro dia pós facoemulsificação experimental em cães e marcadamente no grupo que recebeu implante de lente intra-ocular. Cheng et al. (1999) mostraram diminuição de antioxidantes como vitamina C em pacientes

humanos com uveíte anterior McGahan (1985) e em coelhos após indução de uveíte por endotoxinas. Estes últimos observaram marcada redução de ácido ascórbico nas primeiras 24 horas assim como observado em nosso experimento no momento T1 em todos os grupos estudados. Este fato pode ser explicado pela invasão de polimorfonucleares na câmara anterior que contribuem para a oxidação do ácido ascórbico pela liberação de ERO durante a fagocitose.

Utilizado o mesmo modelo de uveíte induzida por endotoxinas, Willians e Paterson (1987) observaram que a prednisolona e dexametasona são capazes de manter as concentrações de ácido ascórbico no HA. Os nossos resultados são conflitantes uma vez que houve redução progressiva na concentração de ácido ascórbico para o grupo CORT. Já o grupo NEPA foi capaz de restabelecer os níveis de ácido ascórbico sendo que em T7 e T15 houve diferença estatisticamente significativa entre os dois grupos.

Rao et al. (1987) também justificam a importância da ativação dos PMN e macrófagos e liberação de ânion superóxido para a geração de ERO com radical hidroxil, potenciais causadores de danos teciduais. Fazendo-se correlação com a contagem de células inflamatórias e concentração de ácido ascórbico esperava-se que grupos com maior contagem de células na câmara anterior apresentassem menor concentração de ácido ascórbico, o que não foi observado já que o grupo CORT que mostrou menores valores de concentração de células resultou em menor concentração de ácido ascórbico. No entanto, nos momentos T2 e T3 o grupo ST apresentou maior contagem celular e níveis baixos de ácido ascórbico. Este fato talvez reforce a idéia de que a mensuração das células inflamatórias tenha sido subestimada no grupo CORT pela presença dos coágulos de fibrina.

Estudos relatam a formação de radicais livres durante a facoemulsificação (HOLST et al., 1993; CAMERO; POYER; AUST, 2001). Riesz e Kondo (1992) referem que a oscilação ultrassônica no meio líquido induz à cavitações acústicas que levam à dissociação de vapor de água em radical hidroxila. Murano et al. (2008) mostraram que estas oscilações são responsáveis por uma série de alterações nas células endoteliais da córnea. Camero, Poyer e Aust (2001) observaram correlação positiva entre o tempo de energia ultrassônica utilizado e a quantidade de radical hidroxila. De fato, o tempo de ultra-som utilizado na facoemulsificação poderia ser responsável pelas diferenças obtidas nas curvas de concentração de ácido ascórbico ou nos resultados de paquimetria corneal, no entanto o tempo de ultra-

som utilizado em nosso experimento não diferiu estatisticamente entre os grupos estudados.

Existem na literatura alguns relatos de complicações advindas do uso do nepafenaco. Di Pascuale; Ehitson; Mootha (2008) relataram *melting* corneal após uso prolongado, Wolf, Kleiman e Schrier (2007) descreveram um caso de perfuração corneal após facoemulsificação e Feiz et al. (2009) relataram *melting* bilateral após ceratectomia fotorrefrativa em humanos. Convém ressaltar que no presente experimento não foram observados efeitos colaterais tais como irritação ocular ou demora no tempo de cicatrização corneal corroborando com os estudos realizados em humanos (COLIN; PAQUETE, 2006; CALDWELL; REILLY, 2008; JALALI; YUEN; BOXER WACHLER; 2008).

Até o momento, não existem estudos específicos que envolvam o nepafenaco para o controle da inflamação pós-cirurgia da catarata em cães, nem tampouco comparações com outros anti-inflamatórios. Deve-se ressaltar ainda a alta incidência de catarata diabética em cães e a necessidade de AINE eficaz, já que o uso de anti-inflamatórios esteroidais é evitado. Embora o modelo experimental utilizado não represente exatamente o quadro clínico cotidianamente vivenciado em cães, já que os animais não apresentavam catarata, os efeitos da facoemulsificação, a sensibilização do tecido uveal pelas proteínas cristalínicas resultaram em a resposta inflamatória evidenciada pelos parâmetros analisados. Alguns resultados obtidos no presente trabalho em relação ao nepafenaco, como ausência de efeitos colaterais, eficiência na inibição de PGE₂, manutenção dos níveis de ácido ascórbico, bom controle da pressão intra-ocular e baixos escores clínicos, aliados à ausência de dados na literatura sugerem que estudos futuros devem ser realizados relativamente à penetrabilidade e eficácia do nepafenaco na cirurgia de catarata em cães.

6 CONCLUSÕES

Com base nos resultados apresentados podemos concluir que:

- O nepafenaco foi tão eficiente quanto a dexametasona na inibição de sinais clínicos de inflamação, no entanto mostrou-se mais eficiente quanto à opacidade do humor aquoso e presença de fibrina na câmara anterior.
- Ambos os anti-inflamatórios foram eficazes na manutenção da espessura corneal, contudo com melhores escores foram obtidos no grupo NEPA.
- O grupo NEPA mostrou melhor inibição da formação de prostaglandina em relação aos grupos CORT e ST.
- Não houve diferença nos valores de pressão intra-ocular com exceção do grupo CORT que apresentou pico de hipertensão no início da inflamação.
- O grupo CORT apresentou contagem de células inflamatórias inferior aos grupos NEPA e ST nos momentos iniciais da inflamação.
- No grupo NEPA a manutenção e restabelecimento dos níveis de ácido ascórbico no humor aquoso foram mais eficientes quando comparado aos grupos CORT e ST.
- As concentrações de proteína no humor aquoso do grupo CORT, nos momentos iniciais da inflamação, foram menores do que o grupo NEPA e ST, ainda que em sequência o grupo NEPA tenha sido capaz de inibir o extravasamento de proteína no humor aquoso de forma tão eficiente quanto o grupo CORT.

REFERÊNCIAS

- BARR, R.; SILVER, L. Effects of corneal environment on oxygen tension in the anterior chamber of rabbits. **Investigative Ophthalmology and Visual Science**, v. 12, n. 2, p. 140-144, 1973.
- BARROS, P. S. M. Cirurgia da catarata no cão. **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science**, v. 27, n. 2, p. 199-208, 1990.
- BARROS, P. S. M.; ANGELLOTTI, A. C.; NOBRE, F.; MORALES, A.; FANTONI, D. T.; BARROS, S. B. M. Antioxidant profile of cataractous English Cocker Spaniels. **Veterinary Ophthalmology**, v. 2, n. 2, p. 83-86, 1999.
- BARROS, P. S. M.; DEBIAGGI C. P; QUEIROZ, L.; SILVA, V. V.; BARROS S. B. M. Antioxidant status of dog aqueous humor after extracapsular lens extraction. **Brazilian Journal of Medical and Biological Research**, v. 36, n. 11, p. 1491-1494, 2003.
- BARROS, P. S. M.; SAFATLE, A. M. V.; QUEIROZ, L.; SILVA, V. V.; BARROS S. B. M. Blood and aqueous humor antioxidants in cataractous poodles. **Canadian Journal of Ophthalmology**, v. 39, n.1, p. 19-24, 2004.
- 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., 2002, Colorado. **Abstract...** Denver, Colorado: ACVO, 2005. p. 5.
- BHATTACHERJEE, P. Prostaglandin and inflammatory reactions in the eye. **Methods and Findings in Experimental and Clinical Pharmacology**, v. 2, n. 1, p. 17-31, 1980.
- BHOOMA, V.; SULOCHANA, K. N.; BISWAS, J.; RAMAKRISHNAN, S. Eales's disease: Accumulation of reactive oxygen intermediates and lipid peroxides and decrease of antioxidants causing inflammation, neovascularization and retinal damage. **Current Eye Research**, v. 16, n. 2, p. 91-95, 1997.
- BRENNAM, K. M.; ROBERTS, C. W. A comparison of topical non-steroidal anti-inflammatory drugs to steroids for control of post cataract inflammation. **Insight**, v. 18, n. 1, p. 8-11, 1993.
- BRENNAN, K. M.; BROWN, R. M.; ROBERTS, C. W. A comparison of topical non-steroidal anti-inflammatory drugs to steroids for control of post cataract inflammation. **Insight. Journal of American Society of Ophthalmic Registered Nurses**, v. 18, n. 1, p. 8-9,11, 2003.

- BROOKS, D. E. Cataracts, glaucoma, and uveal tract disease. In: _____. **Ophthalmology for equine practitioner**. 1. ed. Jackson: Innovative Publishing, 2002. p. 95-114.
- BUCCI, F. A.; WATERBURY, L. D. Aqueous prostaglandin E₂ of cataract patients at trough ketorolac and bromfenac levels after after 2 days dosing. **Advances in Therapy**, v. 26, n. 6, p. 645-650, 2009.
- BUCCI-JR, F. A.; WATERBURY, L. D.; AMICO, L. M. Prostaglandin E₂ inhibition and aqueous concentration of Ketorolac 0,4% (Acular LS) and Nepafenac 0,1% (Nevanac) in patients undergoing phacoemulsification. **American Journal of Ophthalmology**, v. 144, n. 1, p. 146-147, 2007.
- CALDWELL, M.; REILLY, C. Effects of nepafenac on corneal epithelial healing time and postoperative pain after PRK: a bilateral, prospective, randomized, masker trial. **Journal of Refractive Surgery**, v. 24, n. 4, p. 377-382. 2008.
- CAMERON, M. D.; POYER, J. F. ; AUST, S. D. Identification of free radicals radical produced during phacoemulsification. **Journal of Cataract and Refractive Surgery**, v. 27, n. 3, p. 463-470, 2001.
- CAMILLIERI, G.; NASTASI, A.; GULINO, P.; BUCOLO, C.; DRAGO, F. Effects of Hyaluronan on free-radical formation, corneal endothelial damage, and inflammation parameters after phacoemulsification in rabbits. . **Journal of ocular Pharmacology and Therapy**, v.20, n. 2, p. 151-157, 2004.
- CERVANTES-COSTE, G.; CASTRO, Y. G. S.; CARROLL, M. O.; SCHUSTER, E. M.; BARONA, C. V. Inhibition of surgically induced miosis and prevention of postoperative macular edema with nepafenac. **Clinical Ophthalmology**, v. 3, n. 2, p. 219-226, 2009.
- CHAPPLE, I. L. Reactive oxygen species and antioxidants in inflammatory diseases. **Journal of Clinical Periodontology**, v. 24, n. 5, p. 286-296, 1997.
- CHEE, S. P.; TI, S. E.; SIVAKUMAR, M.; TAN, T. H. D. Postoperative inflammation: Extracapsular cataract extraction versus phacoemulsification. **Journal of Cataract and Refractive Surgery**, v. 25, n. 9, p. 1280-1285, 1999.
- CHENG, M. L.; LIU, T. Z.; LU, F. J.; CHIU, D. T. Y. Simultaneous detection of vitamin C and uric acid by capillary electrophoresis in plasma of diabetes and in aqueous humor in acute anterior uveitis. **Clinical Biochemistry**, v. 32, n. 6, p. 473-476, 1999.
- COLIN, J. The role of NSAIDs in the management of postoperative ophthalmic inflammation. **Drugs**, v. 67, n. 92, p. 1291-1308, 2007.
- COLIN, J.; PAQUETTE, B. Comparison of the analgesic efficacy and safety of nepafenac ophthalmic suspension compared with diclofenac ophthalmic solution for ocular pain and photophobia after excimer laser surgery: a phase II, randomized, double-masked trial. **Clinical Therapeutics**, v. 28, n. 8, p. 527-536, 2006.
- CSUKAS, S.; BHATTACHERJEE, P.; RHODES, L.; PATERSON. C. A. Prostaglandins E₂ binding site distribution and subtype classification in the rabbit iris-ciliary body. **Prostaglandins**, v. 44, n. 3, p. 199-208, 1992.

CUTLER PECK, C. M.; BRUBAKER, J.; CLOUSER, S.; DANFORD, C.; EDELHAUSER, H. E.; MAMALIS, N. Toxic anterior segment syndrome: common causes. **Journal of Cataract and Refractive Surgery**, v. 36, n. 7, p. 1073-1080, 2010.

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

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

DAVIDSON, M. G.; NELMS, S. R. Disease of the lens and cataract formation. In: GELLAT, K. N. **Veterinary ophthalmology**. 4. ed. Iowa: Blackwell Publisinhg, 2007. p. 859-887.

DE BIAGGI, C. P.; BARROS, P. S. M.; SILVA, V. V.; BROOKS, D. E.; BARROS, S. B. M. Ascorbic acid levels of aqueous humor of dogs after experimental phacoemulsification. **Veterinary Ophthalmology**, v. 9, n. 5, p. 299-302, 2006.

DENIS, H. M.; BROOKS, D. E.; ALLEMAN, A. R.; ANDREW, S. E.; PLUMMER, C. Detection of anti-lens crystallin antibody in dogs with and without cataracts. **Veterinary Ophthalmology**, v. 6, n. 4, p. 321-327, 2003.

DERNOUCHAMPS, J. P.; HEREMANS, J. F. Molecular sieve effect of blood-aqueous barrier. **Experimental Eye Research**, v. 21, n. 3, 289-297, 1975.

DI PASCUALE, M. A.; EHITSON, J. T.; MOOTHA, V. V. Corneal melting after use of nepafenac in a patient with chronic cystoid macular edema after cataract surgery. **Eye & Contact Lens**, v. 34, n. 2, p. 129-130, 2008.

DIESTELHORST, M.; ASPACHER, F.; KONEN, W.; KRIEGLSTEIN, G. K.; HILGERS, R. D. Effect of dexamethasone 0,1% and prednisolone acetate 1% eye drops on the blood-aqueous barrier after cataract surgery: a controlled randomized fluorophotometric study. **Graefe's Archive for Clinical and Experimental Ophthalmology**, v. 230, n. 5, p. 451-453, 1992.

DUBOIS, R. N.; ABRAMSON, S. B.; CROFFORD, L.; GUPTA, R. A.; SIMON, L. S.; VAN DE PUTTS, L. B. A.; LIPSKY, P. Cyclooxygenase in biology and disease. **The FASEB Journal**, v. 12, n. 12, p. 1063-1073, 1998.

DUONG, H. V.; WESTFIELD, K. C.; CHALKLEY, T. H. F. Ketorolac tromethamine LS 0,4% versus nepafenac 0,1% in patients having cataract surgery. Prospective randomized doublé-masked clinical trial. **Journal of Cataract and Refractive Surgery**, v. 33, n. 11, p. 1925-1929, 2007.

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

DZIEZYC, J.; MILLICHAMP, N. J.; MANDAHL, A.; BRODIN, E.; NILSSOM, G. Effect of flurbiprofen and corticosteoids on ocular irritative response in dogs. **Veterinary Comparative Ophthalmology**, v. 5, n. 1, p. 42-45, 1995.

EAKINS, K. E. Prostaglandin and non-prostaglandin mediated breakdown of the blood-aqueous barrier. **Experimental Eye Research**, v. 25, p. 483-489, 1977. Supplement.

EL-HARAZI, S. M.; RUIZ, R. S.; FELDMAN, R. M.; VILLANUEVA, G. V.; CHUANG, A. Z. Efficacy of preoperative versus postoperative ketorolac tromethamine 0,5% in reducing inflammation after cataract surgery. **Journal of Cataract and Refractive Surgery**, v. 26, n. 11, p. 1626-1630, 2000.

ER, H.; GUNDUZ, A.; CIGLI, A.; TURKOZ, Y.; CEKMEN, M. Quantification of nitric oxide and cytokines in rabbit aqueous humor after neodymium:YAG laser capsulotomy. **Ophthalmic Research**, v. 32, n. 2-3, p. 106-109, 2000.

ERB, C.; NAU-STAUDT, K.; FLAMMER, J.; NAU, W. Ascorbic acid as a free radical scavenger in porcine and bovine aqueous humor. **Ophthalmic Research**, v. 36, n. 1, p. 38-42, 2004.

FEIZ, V.; OBERG, T. J.; KURZ, C. J.; MAMALIS, N.; MOSHIRFAR, M. Nepafenac associated bilateral corneal melt after photorefractive keratectomy. **Cornea**, v. 28, n. 8, p. 948-950, 2009.

FISCHER, C. A. Geriatric ophthalmology. **Veterinary Clinics of North America and Animal Practice**, v. 19, n. 1, p. 103-123, 1989.

FLACH, A. J.; DOLAN, B. J.; DONAHUE, M. E.; FAKTOROVICH, E. G.; GONZALEZ, G. A. Comparative effects of ketorolac 0,5% or diclofenac 0,1% ophthalmic solutions on inflammation after cataract surgery. **Ophthalmology**, v. 105, n. 9, p. 1775-1779, Sep. 1998.

FLACH, A. J.; KRAFF, M. C.; SANDERS, D. R.; TANEMBAUM, L. The quantitative effect of 0,5% ketorolac tromethamine solution and 0,1 dexamethasone sodium phosphate solution on postsurgical blood-aqueous barrier. **Archives of Ophthalmology**, v. 106, n. 4, p. 480-483, 1988.

FREDDO, T. F.; BARTELS, S. P.; BARSOTTI, M. F.; KAMM, R. D. The source of proteins in the aqueous humor of the normal rabbit. **Investigative Ophthalmology and Visual Science**, v. 31, n. 1, p. 125-137, 1990.

FREITAS, L. L.; SORIANO, E.; MUCCIOLI, C.; HÖFLING-LIMA, A. L.; BELFORT JR., R. Efficacy and tolerability of a combined moxifloxacin/dexamethasone formulation for topical prophylaxis and reduction of inflammation in phacoemulsification: a comparative, double masked clinical trial. **Current Medical Research and Opinion**, v. 23, n. 12, p. 3123-3130, 2007.

GAMACHE, D. A.; GRAFF, G.; BRADY, M. T. Nepafenac, a unique nonsteroidal prodrug with potential utility in the treatment of trauma-induced ocular inflammation: I. Assessment of anti-inflammatory efficacy. **Inflammation**, v. 24, n. 4, p. 357-370, 2000.

GARDNER, J. M.; AUST, S. D. Quantification of hydroxyl radical produced during phacoemulsification. **Journal of Cataract and Refractive Surgery**, v. 35, n. 12, p. 2149-2153, 2009.

GAYNES, B. I.; FISCELLA, R. Topical non-steroidal anti-inflammatory drugs for ophthalmic use: a safety review. **Drug Safety**, v. 45, n. 4, p. 233-250, 2002.

GAYNES, B. I.; ONYEKWULUJE, A. Topical ophthalmic NSAIDs: a discussion with focus on nepafenac ophthalmic suspension. **Clinical Ophthalmology**, v. 2, n. 2, p. 355-368, 2008.

GELLAT, K. N. **Essentials of veterinary ophthalmology**. 3. ed. Baltimore: Lippincott Williams & Wilkins, 2000. 595 p.

GELLAT, K. N. **Veterinary ophthalmology**. 2. ed. Philadelphia: Lea & Febiger, 1991. 765 p.

GELLAT, K. N. **Veterinary ophthalmology**. 3. ed. Victoria: Blackwell Publishing, 2005. 765 p.

GIBILN, F. J.; MCCREADY, J. P.; KOMADA, T.; REDDY, V. N. A direct correlation between the levels of ascorbic acid and H₂O₂ in aqueous humor. **Experimental Eye Research**, v. 38, n. 1, p. 87-93, 1984.

GIULIANO, E. A. Non-steroidal anti-inflammatory drugs in veterinary ophthalmology. **Veterinary Clinics of North America Small Animal Practice**, v. 34, n. 3, p. 707-723, 2004.

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

GWENDOLYN, L. L.; BRINKIS, J. L. The effect of elective phacofragmentation on corneal thickness in the dog. **Veterinary Ophthalmology**, v. 9, n. 5, p. 303-310, 2006.

HAYASAKA, Y.; HAYASAKA, S.; ZHANG, X. Y.; NAGAKI, Y. Effects of topical corticosteroids and nonsteroidal antiinflammatory drugs on prostaglandin E₂-induced aqueous flare elevation in pigmented rabbit, **Ophthalmic Research**, v. 35, n. 6, 341-344, 2003.

HEATON, J. D.; HIDDELMEN, J. W.; HACKETT, R. B.; RICE, R. L.; GRUEBBEL, M. M. Ocular effects of ocular nepafenac ophthalmic suspension following six months of topical ocular administration to pigmented rabbits In: ARVO ANNUAL MEETING, 2005, Fort Lauderdale. **Resumos...** Rockville: American Association for Visual and Ophthalmology, 2005. Res 2650.

HEIER, J. S.; AWH, C. C.; BUSBEE, B. G.; WATERBURY, D.; DANIEL, P.; STOLLER, G. L.; CLEARY, T. S. Vitreous nonsteroidal antiinflammatory drug concentration and prostaglandin E2 levels in vitrectomy patients treated with ketorolac 0.4%, bromfenac 0.09%, and nepafenac 0.1%. **Retina**, v. 29, n. 9, p. 1310-1313, 2009.

HEIER, J.; CHEETHAM, J. K.; DEGRYSE, R.; DIRKS, M. S.; CALDWELL, D. R.; SILVERSTONE, D. E.; ROSENTHAL, A. Ketorolac tromethamine 0,5% ophthalmic solution in the treatment of moderate to severe ocular inflammation after cataract surgery: a randomized, vehicle-controlled clinical trial. **American Journal of Ophthalmology**, v. 127, n. 3, p. 253-259, 1999.

HIRNEIß, C.; NEUBAUER, A. S.; KAMPIK, A.; SCHONFELD, C. L. Comparison of prednisolone 1%, rimexolone 1% and ketorolac tromethamine 0,5% after cataract extraction. A prospective, randomized, double-masked study. **Graefe's Archive for Clinical and Experimental Ophthalmology**, v. 243, n. 8, p. 768-773, 2005.

HOLST, A.; ROLFSEN, W.; SVENSSON, B.; OLLINGER, K.; LUNDGREN, B. Formation of free radicals during phacoemulsification. **Current Eye Research**, v. 12, n. 4, p. 359-365, 1993.

JALALI, S.; YUEN, L. H.; BOXER WACHLER, B. S.. Effect of nepafenac sodium 0,1% on delayed corneal epithelial healing and haze after photorefractive keratectomy. **Journal of Cataract and Refractive Surgery**, v. 34, n. 9, p. 1542-1545, 2008.

KAO, G. W. K.; PANG, M. P.; PEYMAN, G. A.; WEINREB, R. N. Prostaglandin E2 and protein release following Nd:Yag laser application to the anterior lens capsule in rabbits lens. **Ophthalmic Surgery**, v. 19, n. 5, p. 339-343, 1988.

KAPIN, M. A.; YANNI, J. M.; BRADY, M. T.; MCDONOUGH, T. J.; FLANAGAN, J. G.; DAHLIN, D. C.; SANDERS, M. E.; GAMACHE, D. A. Inflammation-mediated retinal edema in the rabbit is inhibited by topical nepafenac. **Inflammation**, v. 27, n. 5, p. 281-291, 2003.

KE, T. L.; GRAFF, G.; SPELLMAN, J. M.; YANNI, J. M. Nepafenac, a unique nonsteroidal prodrug with potential utility in the treatment of trauma-induced ocular inflammation: II. In vitro bioactivation and permeation of external ocular barriers. **Inflammation**, v. 24, n. 4, p. 371-384, 2000.

KIM, S. J.; FLACH, A. J.; JAMPOL, L. M. Nonsteroidal anti-inflammatory drugs in ophthalmology. **Survey of Ophthalmology**, v. 55, n. 2, p. 108-133, 2010.

KOURA, Y.; FUKUSHIMA, A.; NISHIMO, K.; ISHIDA, W.; NAKAKUKI, T.; SENTO, M.; YAMAZOE, K.; YAMAGUCHI, T.; MISYOSHI, T.; UENO, H. Inflammatory reaction following cataract surgery and implantation of acrylic intraocular lens in rabbits with endotoxin-induced uveitis. **Eye**, v. 20, n. 5, p. 606-610, 2006.

KROHNE, S. G.; BLAIR, M. J.; BIRGAMAN, D.; GIONFRIGO, J. R. Carprofen inhibition of flare in the dog measured by laser flare photometry. **Veterinary Ophthalmology**, v. 1, n. 2-3, p. 81-84, 1998.

KROHNE, S. G.; REAGAN, W. J.; WELCH, P. M. Use of laser cell photometry to count anterior chamber canine leucocytes and latex beads in vitro. **American Journal of Veterinary Research**, v. 59, n. 10, p. 1221-1226, 1998.

LANE, S. S. Nepafenac: a unique nonsteroidal prodrug. **International Ophthalmology Clinics**, v. 46, n. 4, p.13-20, 2006.

LANE, S. S.; MODI, S. S.; LEHMANN, R. P.; HOLLAND, E. J. Nepafenac ophthalmic suspension 0,1% for the prevention and treatment of ocular inflammation associated with cataract surgery. **Journal of Cataract and Refractive Surgery**, v. 33, n. 1, p. 53-58, 2007.

LAURELL, C. G.; WICKSTRÖM, K.; ZETTERSTRÖM, C.; LUNDGREN, B. Inflammatory response after endocapsular phacoemulsification or conventional extracapsular lens extraction in the rabbit eye. **Acta Ophthalmologica Scandinavica**, v. 75, n. 4, p. 401-404, 1997a.

LAURELL, C. G.; ZETTERSTRÖM, C. Effects of dexamethasone, diclofenac, or placebo on the inflammatory response after cataract surgery. **British Journal of Ophthalmology**, v. 86, n. 12, p. 1380-1384, 2002.

LAURELL, C. G.; ZETTERSTRÖM, C.; LUNDGREN, B.; TORNGRÉN, L.; ANDERSSON, K. Inflammatory response in the rabbit after phacoemulsification and intraocular lens implantation using a 5.5 or 11.0 mm incision. **Journal of Cataract and Refractive Surgery**, v. 23, n. 1, p. 126-131, 1997b.

LIU, J. H. K. Circadian variations of prostaglandins in the rabbit aqueous humor. **Journal of Ocular Pharmacology and Therapeutics**, v. 16, n. 1, p. 49-54, 2000.

LORENZ, K.; DICK, B.; JEHKUL, A.; AUFFAHRT, G. U. Inflammatory response after phacoemulsification treated with 0,5% prednisolone acetate or vehicle. **Graefes Archive for Clinical and Experimental Ophthalmology**, v. 246, n. 11, p. 1617-1622, 2008.

LOWRY, O. H.; ROSENBROUGH, N. J.; FARR, A. L.; RANDAL, R. J. Protein Measurement with folin phenol reagent. **The Journal of Biological Chemistry**, v. 193, n. 1, p. 265-275, 1951.

LYNCH, G. L.; BRINKIS, J. L. The effect of elective phacofragmentation on central corneal thickness in the dog. **Veterinary Ophthalmology**, v. 9, n. 5, p. 303-310, 2006.

MAMALIS, N.; EDELHAUSER, H. F.; DAWSON, D. G.; CHEW, J.; LEBOYER, R. M.; WERNER, L. Toxic anterior segment syndrome. **Journal of Cataract and Refractive Surgery**, v. 32, n. 2, p. 324-333, 2006.

MATSUO, T. Prostaglandins F2 α e E2 in aqueous humor of patients with cataract surgery. **Journal of Ocular Pharmacology and Therapeutics**, v. 20, n. 2, p. 101-106, 2004.

MAXWELL, W. A.; REISER, H. J.; STEWART, R. H.; CAVANAGH, H. D.; WALTERS, T. R.; SAGER, D. P.; MEUSE, P. A. Nepafenac dosing frequency for ocular pain and inflammation associated with cataract surgery. **Journal of Ocular Pharmacology and Therapeutics**, v. 24, n. 6, p. 593-599, 2008.

MCGAHAN, M. C. Ascorbic acid levels in aqueous and vitreous humors of the rabbit: effects of the inflammation and ceruloplasmin. **Experimental Eye Research**, v. 41, n. 3, p. 291-298, 1985.

MCGEE, D. H.; HEATON, J. D.; GRUEBEL, M. M.; RICE, R. L.; HIDDELMEN, J. W. Ocular effects of nepafenac ophthalmic suspension in the new zealand white rabbits undergoing partial corneal incisions. In: ARVO ANNUAL MEETING, 2005, Fort Lauderdale. **Resumos...** Rockville: American Association for Visual and Ophthalmology, 2005. Res 2648.

MEAD, A.; SCARS, J.; SCARS, M. Transepithelial transport of ascorbic acid by isolated intact ciliary epithelial bilayer of the rabbit eye. **Journal of ocular Pharmacology and Therapy**, v. 12, n. 3, p. 253-258, 1996.

MIDELFART, A.; DYBDAHL, A.; KRANE, J. Detection of dexamethasone in the cornea and lens by NMR spectroscopy. **Graefe's Archive for Clinical and Experimental Ophthalmology**, v. 237, n. 5, p. 415-423, 1999.

MILLER, T. R.; WHITLEY, 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 Medical Association**, v. 190, n. 12, p. 1577-1580, 1987.

MOHAN, N.; GUPTA, V.; TANDON, R.; GUPTA, S. K.; VAJPAYEE, R. B. Topical ciprofloxacin-dexamethasone combinations therapy after cataract surgery: randomized controlled clinical trial. **Journal of Cataract and Refractive Surgery**, v. 27, n. 12, p. 1975-1978, 2001.

MUNGER, R. J. Veterinary ophthalmology in laboratory animal studies. **Veterinary Ophthalmology**, v. 53, n. 3, p. 167-175, 2002.

MUNGER, R. J.; LAUS, J. L.; MARTINS, B. C.; RIBEIRO, A. P.; ORTIZ, J. P. D. Afecções da lente. In: LAUS, J. L. **Oftalmologia clínica e cirúrgica em cães e em gatos**. 1. ed. São Paulo: Roca, 2009. p.111-149.

MURANO, N.; ISHIZAKI, M.; SAT, S.; FUKUDA, Y.; TAKAHASHI, T. Corneal endothelial cell damage by free radicals associated with ultrasound oscillation, **Archives of Ophthalmology**, v. 126, n. 6, p. 816-821, 2008.

MURRAY, D. L.; BARTELS, S. P.; The relationship between aqueous humor flow and anterior chamber protein concentrations in rabbits. **Investigative Ophthalmology and Visual Science**, v. 34, n. 3, p. 370-376, 1993.

NARDI, M.; LOBO, C.; BEREZKI, A.; CANO, J.; ZAGATO, E.; POTTS, S.; SULLINS, G.; NOTIVOL, R. Analgesic and anti-inflammatory effectiveness of nepafenac 0,1% for cataract surgery. **Clinical Ophthalmology**, v. 1, n. 4, p. 527-533, 2007.

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

NOTIVOL, R.; AMIN, D.; WHITLING, A.; WELLS, D.; KENNEDY, M.; COCKRUM, P. C. Prophylactic effectiveness of tobramycin-dexametasone eye drops compared with tobramycin/vehicle eye drops in controlling post surgical inflammation in cataract patients: prospective, randomized, double-masked, two-arm, parallel-group, placebo-controlled, multicentric study. **Clinical Drug Investigation**, v. 24, n. 9, p. 523-533, 2004.

NUMATA, K.; HIRAKI, S.; YANO, H.; HAYASAKA, S. Intracameral ascorbic acid, glutathione and protein levels in albino and pigmented rabbits. **Ophthalmic Research**, v. 27, n. 6, p. 347-349, 1995.

OSTROV, C. S.; SIRKIN, S. R.; DEUTSCH, W. E.; MASI, R. J.; CHANDLER, J. W.; LINDQUIST, T. D. Ketorolac, prednisolone, and dexamethasone for postoperative inflammation. **Clinical Therapeutics**, v. 19, n. 2, p. 259-272, 1997.

PADOVANI, C. B.; BARROS, P. S. M.; SILVA, V. V.; QUEIROZ, L.; BARROS, S. M. B. Antioxidant status of dog aqueous humor after extracapsular lens extraction. **Brazilian Journal of Medical and Biological Research**, v. 36, p. 1491-1494, 2003.

PADOVANI, C. B.; BARROS, P. S. M.; SILVA, V. V.; BROOKS, D. E.; BARROS, S. M. B. Ascorbic acid level of aqueous humor of dogs after experimental phacoemulsification. **Veterinary Ophthalmology**, v. 9, p. 299-302, 2006.

PATERSON, C. A.; DELAMERE, N. A. The lens. In: HART, W. M. **Physiology of the eye**. 1. ed. St Louis: Mosby year book Inc, 1992. p. 348-390.

PAULSEN, M. E.; LAVACH, J. D.; SEVERIN, G. A.; EICHENBAUM, J. D. The effect of lens-induced uveitis on the success of extracapsular cataract extraction: a retrospective study of 65 lens removals in the dog. **Journal of the American Animal Hospital Association**, v. 22, n. 5, p. 49-56, 1986.

PRASAD, S. Phacoemulsification learning curve: experience of two junior trainee ophthalmologists. **Journal of Cataract and Refractive Surgery**, v. 24, p. 73-77, 1998.

PROTZMAN, C. E.; WOODWARD, D. F. Prostanoid-induced blood-aqueous barriers breakdown in rabbits involves the EP2 receptor subtype. **Investigative Ophthalmology and Visual Science**, v. 31, n. 11, p. 2463-2466, 1990.

QI, M. X.; HUANG, X. R.; SHEN, S. R.; ZHENG, L. P.; LIN, J. M.; WEI, L. A study on cytokine levels and nitric oxide content in rabbit aqueous humor after lens extraction and intraocular lens implantation. **Zhonghua Yan Ke Za Zhi**, v. 39, n. 1, p. 41-43, 1988.

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

REDDY, M. S.; SUNEETHA, N.; THOMAS, R. K.; BATTU, R. R. Topical diclofenac for treatment of postoperative inflammation in cataract surgery. **Indian Journal of Ophthalmology**, v. 48, n. 3, p. 223-226, 2000.

REGNIER, A.; WHITLEY, R. D.; BERNARD, P.; BONNEFOI, M. Effect of flunixin meglumine on the breakdown of the blood-aqueous barrier following paracentesis in the canine eye. *Journal of Pharmacology*, v. 2, n. 2, p. 165-170, 1986.

RIESZ, P.; KONDO, T. Free radicals formation induced by ultrasound and its biological implications. **Free Radicals Biology and Medicine**, v. 13, n. 3, p. 247-270, 1992.

RILEY, M. V.; SCHWARTZ, C. A.; PETERS M. I. Interactions of ascorbate and H₂O₂: Implications for in vitro studies of lens and cornea. **Current Eye Research**, v. 5, n. 3, p. 207-216, 1986.

ROBERTS, C. W. Comparison of diclofenac sodium and flurbiprofen for inhibition of surgically induced miosis. **Journal of Cataract and Refractive Surgery**, v. 2, p. 780-787, 1996. supplement, 1.

ROBERTS, C. W.; BRENNAN, K. N. A comparison of topical diclofenac with prednisolone for post-cataract inflammation. **Archives of Ophthalmology**, v. 113, n. 6, p. 725-727, 1995.

ROSE, R. C.; BODE, A, M. Ocular ascorbate transport and metabolism- mini review. **Comparative Biochemistry and Physiology**, v. 100, n. 2, p. 275-278, 1991.

ROSE, R. C.; RICHER, S. T.; BODE, A, M. Ocular oxidants and antioxidants protection. **Proceedings of the Society of Experimental Biology and Medicine**, v. 217, n. 4, p. 397-407, 1998.

ROSS, M. A. Determination of ascorbic acid and uric acid in plasma by high-performance liquid chromatography. **Journal of Chromatography, B. Biomedical Applications**, v. 657, n. 1, p.197-200, 1994.

ROWEN, S. Preoperative and postoperative medications used for cataract surgery. **Current opinion in ophthalmology**, v. 10, n. 1, p. 29-35, 1999.

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

SANDBERG, H. O.; CLOSS, O. The alpha and gamma crystallin content in aqueous humor of eyes with clear lenses and with cataract. **Experimental Eye Research**, v. 28, n. 5, p. 601-610, 1979.

SANDERS, D. R.; KRAFF, M. C.; LIEBERMAN, H. L.; PEYMAN, G. A.; TARABISHY, S. Breakdown and reestablishment of blood-aqueous barrier with implant surgery. **Archives of Ophthalmology**, v. 100, n. 4, p. 588-590, 1982.

SCHALNUS, R. Topical nonsteroidal anti-inflammatory therapy in ophthalmology. **Ophthalmologica**, v. 217, n. 2, p. 89-98, 2003.

SHAH, S. M.; SPALTON, D. J.; TAYLOR, J. C. Correlations between laser flare measurements and anterior chamber protein concentrations. **Investigative Ophthalmology and Visual Science**, v. 33, n. 10, p. 2878-2884, 1992.

SIES, H. Oxidative stress: from basic research to clinical application. **American Journal of Medicine**, v. 91, p. 31-38, 1991. Supplement, 3C.

SLATTER, D. **Fundamental in veterinary ophthalmology**. 2. ed. Philadelphia: W.B. Saunders, 1990. 630 p.

SPECTOR, A.; GARNER, W. H. Hydrogen peroxide and human cataract, **Experimental Eye Research**, v. 33, n. 6, p. 673-681, 1981.

STEWART, R.; GROSSERODE, R.; CHEETHAM, J. K.; ROSENTHAL, A. Efficacy and safety profile of ketorolac 0,5% ophthalmic solution in the prevention of surgically induced miosis during cataract surgery. **Clinical Therapeutics**, v. 21, n. 4, p. 723-732, 1999.

STRUCK, H.; BARISZLOVICH, A. Comparison of 0,1% dexamethasone phosphate eye gel (Dexagel) and 1% prednisolone acetate eye suspension in the treatment of post-operative inflammation after cataract surgery. **Graefe's Archive for Clinical and Experimental Ophthalmology**, v. 239, n. 10, p. 737-742, 2001.

TAKAHASHI, T.; INAMOCHI, K.; MASUDA, K.; SAWA, M. Circadian rhythms in aqueous protein concentration and intraocular pressure in rabbits. **Japanese Journal of Ophthalmology**, v. 39, n.1, p. 49-54, 1995.

TEIXEIRA, A. L. **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 LOTE Prednol Etabonate US Uveitis Study Group. Controlled evaluation of loteprednol etabonate and prednisolone acetate in the treatment of acute anterior uveitis. **American Journal of Ophthalmology**, v. 125, n. 5, p. 537-544, 1999.

VAN DER WOERDT, A. Lens-induced uveitis. **Veterinary Ophthalmology**, v. 3, n. 4, p. 227-234, 2000.

VAN DER WOERDT, A.; NASISSE, M. P.; DAVIDSON, M. G. Lens-induced uveitis in dogs: 151 cases 1985-1990. **Journal of the American Medical Veterinary Association**, v. 201, n. 6, p. 921-926, 1992.

WALKER, L. M.; RICE, R. L.; HEATON, J. D.; HACKETT, R. B.; MUNGER, R. J.; HIDDELMEN, J. W. Ocular effects of ocular nepafenac ophthalmic suspension following three months of topical ocular administration to cynomolgus monkeys. In: ARVO ANNUAL MEETING, 2005, Fort Lauderdale. **Resumos...** Rockville: American Association for Visual and Ophthalmology, 2005. Res 2649.

WALTERS, T.; RAIZMAN, M.; ERNEST, P.; GAYTON, J.; LEHMANN, R. In vivo pharmacokinetics, and in vitro pharmacodynamics of nepafenac, amfenac, ketorolac, and bromofenac. **Journal of Cataract and Refractive Surgery**, v. 33, n. 9, p. 1539-1545, 2007.

WARD, D. A. Comparative efficacy of topically applied flurbiprofen, diclofenac, tolmetin, and suprofen for the treatment of experimentally induced blood-aqueous barrier disruption in dogs. **American Journal of Veterinary Research**, v. 57, n. 6, p. 875-878, 1996 .

WHITELOCKE, R. A. F.; EAKINS, K. E.; BENNET, A. Acute anterior uveitis and prostaglandins. **Proceedings of the Royal Society of Medicine**, v. 66, n. 5, p. 434-434, 1973.

WHITLEY, R. D.; MCLAUGHLIN, S. A.; WHITLEY, E. M.; GILBER, B. C. Cataract removal in dogs: The surgical techniques. **Veterinary Medicine**, v. 88, n. 9, p. 859-866, 1993.

WILKIE, D. A. Control of ocular inflammation. . **Veterinary Clinics of North America Small Animal Practice**, v. 20, n. 3, p. 693-713, 1990.

WILLIAMS, R. N.; PATERSON, C. A. The influence of topical corticosteroid therapy upon polymorfonuclears leucocytes distribution, vascular integrity and ascorbate levels in endotoxin-induced inflammation of the rabbit eye. **Experimental Eye Research**, v. 44, n. 2, p. 191-198, 1987.

WILLIAMS, R. N.; PATERSON, C. A.; EAKINIS, K. E.; BHATTACHERJEE, P. Ascorbic acid inhibits the activity of polymorphonuclears leucocytes in inflamed ocular tissues. **Experimental Eye Research**, v. 39, n. 3, p. 261-265, 1984.

WOLF, E. J.; KLEIMAN, L. Z.; SCHRIER, A. Nepafenac associated corneal melt. **Journal of Cataract and Refractive Surgery**, v. 33, n. 11, p. 1974-1975, 2007.

WOODWARD, D. F.; HAWLEY, S. B.; WILLIAMS, L. S.; RALSTON, T. R.; PROTZAN, C. E.; SPADA, C. S.; NEIVES, A. L. Studies on the ocular pharmacology of prostaglandins D2. **Investigative Ophthalmology and Visual Science**, v. 31, n. 1, p. 138-146, 1990.

ZHAOHUI, Z.; SHOUZHI, H. An experimental study of the tumor necrosis factor levels in aqueous humor after traumatic cataract and intraocular lens implantation. **Chinese Medical Science Journal**, v. 14, n. 1, p. 64-66, 1999.

ZHOU, L. X.; LIU, J. H. Circadian variation of mouse aqueous humor protein. **Molecular Vision**, v. 1, n. 12, p. 639-643, 2006.