FÁBIO GASPARIN

**Estudo farmacológico, eletrofisiológico e morfológico
dos efeitos da injeção intravítrea de ácido micofenólico
em coelhos**

Tese apresentada à Faculdade de Medicina
da Universidade de São Paulo para obtenção
do título de Doutor em Ciências

Programa de Oftalmologia

Orientador: Dr. Francisco Max Damico

(Versão corrigida. Resolução CoPGr 5890, de 20 de dezembro de 2010.
A versão original está disponível na Biblioteca FMUSP)

São Paulo

2013

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)

Preparada p
ela Biblioteca da
Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo

©reprodução autorizada pelo autor

Gasparin, Fábio

Estudo farmacológico, eletrofisiológico e morfológico dos efeitos da injeção intravítrea de ácido micofenólico em coelhos / Fábio Gasparin. -- São Paulo, 2013.

Tese(doutorado)--Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo.
Programa de Oftalmologia.

Orientador: Francisco Max Damico.

Descritores: 1.Ácido micofenólico 2.Farmacocinética 3.Eletrorretinografia
4.Injeções intravítreas 5.Toxicidade de drogas 6.Retina 7.Coelhos 8.Uveíte

USP/FM/DBD-045/13

Esta tese está de acordo com as seguintes normas, em vigor no momento desta publicação:

Referências: adaptado de *International Committee of Medical Journals Editors* (Vancouver)

Universidade de São Paulo. Faculdade de Medicina. Divisão de Biblioteca e Documentação. *Guia de apresentação de dissertações, teses e monografias*. Elaborado por Anneliese Carneiro da Cunha, Maria Julia de A. L. Freddi, Maria F. Crestana, Marinalva de Souza Aragão, Suely Campos Cardoso, Valéria Vilhena. 3a ed. São Paulo: Divisão de Biblioteca e Documentação; 2011.

Abreviaturas dos títulos dos periódicos de acordo com *List of Journals Indexed in Index Medicus*.

Dedicatória

Aos meus pais, **Edson Paulo Gasparin e Maria de Lourdes Pio Gasparin**, pelo seu amor e por não terem poupado esforços na minha formação. O alicerce familiar que tive foi fundamental para todas as minhas conquistas.

À minha esposa e grande companheira em todos os momentos, **Maria Regina Franco Ribeiro Gasparin**, e meus filhos, **Paulo e Elisa**. Vocês fazem com que a vida seja mais feliz e me motivam a cada dia.

Aos meus irmãos, Fernando e Filipe, pela amizade eterna. Sempre tentei fazer o melhor para vocês e sei que estão prontos para seguir em frente.

Ao meu orientador e amigo, **Dr. Francisco Max Damico**, que não só idealizou este projeto, como participou ativamente de todas as etapas envolvidas na elaboração e conclusão desta tese. Você me deu a oportunidade para alcançar esta grande conquista e por isso serei eternamente grato.

Agradecimentos

À Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP) e ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), pelo suporte financeiro (números 07/62096-1 e 150614/2009-8).

À Faculdade de Medicina de Marília (FAMEMA), por ter me preparado para a difícil e complexa tarefa de exercer a medicina.

A todos os professores, colegas e funcionários do Departamento de Oftalmologia do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade São Paulo, que me receberam de braços abertos e me proporcionaram uma excelente formação .

À Profa. Dora Selma Fix Ventura, Christina Joselevich, Renata Genaro Aguiar, Gabriela Lourençon Ioshimoto, Marcelo Fernandes da Costa, André Maurício Liber, Balázs Vince Nagy, Nestor Norio Oiwa e todos os profissionais do Laboratório da Visão do Departamento de Psicologia Experimental do Instituto de Psicologia da Universidade de São Paulo, pelo esforço e colaboração, que foram fundamentais para a realização desse projeto.

Ao Prof. Armando da Silva Cunha Jr. e sua equipe, da Faculdade de Farmácia da Universidade Federal de Minas Gerais (UFMG).

A toda a equipe do Hospital de Clínica e Cirurgia Ocular (HCO-Uberlândia), onde iniciei minha vida profissional como oftalmologista.

À Regina Ferreira Almeida, pela ajuda indispensável em todos os momentos que precisei.

Aos amigos que gentilmente me hospedaram inúmeras vezes durante minhas viagens para São Paulo.

A toda a família Franco Ribeiro, por sempre ter me tratado com muito carinho e respeito e ter me apoiado nesta jornada.

A todos os grandes amigos que fiz em Catanduva, Marília, São Paulo e Uberlândia. Vocês conhecem minha trajetória e tenho certeza de que torceram por mim.

Sumário

Lista de abreviaturas, siglas e símbolos

Lista de figuras

Lista de tabelas

Resumo

Summary

1	INTRODUÇÃO	1
2	REVISÃO DA LITERATURA	7
2.1	Uveítes não infecciosas	8
2.2	Drogas imunossupressoras no tratamento das uveítes não infecciosas	9
2.2.1	Corticosteroides	9
2.2.2	Agentes antimetabólitos	10
2.2.3	Agentes alquilantes	11
2.2.4	Inibidores de linfócitos T	12
2.2.5	Agentes biológicos	13
2.3	Micofenolato de mofetila em uveítes	15
2.4	Modelos experimentais para o estudo de toxicidade de drogas	18
2.4.1	Técnicas utilizadas nos modelos animais	20
2.4.1.1	Farmacocinética	20
2.4.1.2	Avaliação funcional	20
2.4.1.3	Avaliação morfológica	23
2.4.1.4	Avaliação <i>in vitro</i>	23
3	MÉTODOS	25
3.1	Desenho do estudo	26
3.2	Preparação animal	27
3.2.1	Anestesia e sacrifício	28
3.2.2	Preparo do ácido micofenólico	29
3.2.3	Injeções intravítreas	29
3.3	Avaliação clínica	30
3.4	Estudo farmacocinético	31
3.5	Eletrorretinografia	33
3.6	Morfologia	36
3.7	Análise Estatística	37

4	RESULTADOS	38
4.1	Alterações clínicas.....	39
4.2	Estudo farmacocinético	40
4.3	Achados eletrorretinográficos	41
4.4	Estudo morfológico.....	59
5	DISCUSSÃO	62
6	CONCLUSÕES.....	73
7	ANEXOS	75
8	REFERÊNCIAS	118

Listas

LISTA DE ABREVIATURAS, SIGLAS E SÍMBOLOS

ACE	<i>Advance Chromatography Technologies</i>
ALFAC	solução fixadora composta por álcool 80%, formaldeído e ácido acético glacial
ANOVA	análise de variância
ARPE-19	células do epitélio pigmentado da retina, tipo ARPE-19
ARVO	Associação para Pesquisa em Visão e Oftalmologia – do inglês, <i>Association for Research in Vision and Ophthalmology</i>
C	concentração
CA	Califórnia
CD4+	linfócitos T CD4+
CLAE	cromatografia líquida de alta eficiência
Co	corporação – do inglês, <i>Corporation</i>
CsA	ciclosporina A
dGTP	desoxiguanosina trifosfato – do inglês, <i>deoxyguanosine triphosphate</i>
DNA	ácido desoxirribonucleico - do inglês, <i>deoxyribonucleic acid</i>
DP	desvio padrão
ELISA	ensaio imunoenzimático – do inglês, <i>Enzyme- Linked Immunossorbent Assay</i>
ERG	eletrorretinograma / eletrorretinografia
et al.	e outros - do latim, <i>et alli</i>
EUA	Estados Unidos da América

g	grama
G1 e S	fases da intérfase do ciclo de duplicação celular
GTP	guanosina trifosfato- do inglês, <i>guanosine triphosphate</i>
h	hora
Hz	Hertz
IFN- α	interferon-alfa
IMPDH	inosina monofosfato desidrogenase
Inc.	Sociedade Anônima – do inglês, <i>Incorporated</i>
IRBP	proteína ligadora de retinoide do interfotorreceptor - do inglês, <i>interphotoreceptor retinoid-biding protein</i> .
ISCEV	Sociedade Internacional de Eletrofisiologia Clínica da Visão – do inglês, <i>International Society for Clinical Electrophysiology of Vision</i>
kg	quilograma
log	logaritmo
log _n	logaritmo natural
MA	Massachusetts
mg	miligrama
mL	mililitro
mM	milimolar
MMF	micofenolato de mofetila
MO	Missouri
Mod.	modelo
MPA	ácido micofenólico - do inglês, <i>mycophenolic acid</i>

ms	milissegundos
mTor	proteína-alvo de rapamicina de mamíferos – do inglês, <i>mammalian target of rapamycin</i>
MTX	metotrexato
n	coeficiente de Hill
NJ	<i>New Jersey</i>
NK	linfócitos <i>natural killer</i>
°C	grau Celsius
OK	Oklahoma
p	nível de significância estatística
pH	potencial hidrogeniônico
r^2	coeficiente de determinação
RI	Rode Island
RNA	ácido ribonucleico – do inglês, <i>ribonucleic acid</i>
SVKH	síndrome de Vogt-Koyanagi-Harada
t	tempo
$t_{1/2}$	tempo de meia-vida
TA	triacinolona acetona
TGF- β	fator de transformação do crescimento-beta - do inglês, <i>transforming growth factor-beta</i>
TNF- α	fator de necrose tumoral-alfa – do inglês, <i>tumor necrosis factor-alpha</i>
TX	Texas
UAE	uveorretinite autoimune experimental
UCLA	<i>University of California, Los Angeles</i>

USP	Universidade de São Paulo
UV-VIS	ultravioleta visível
VEGF	fator de crescimento do endotélio vascular - do inglês, <i>vascular endothelial growth factor</i>
V_{max}	amplitude máxima
v/v	volume por volume
x	vezes
%	por cento
$\leq$	menor ou igual a
$\pm$	mais ou menos
cd.s/m ²	unidade de luminância - candela por segundo por metro quadrado
α	alfa, nível de significância com probabilidade máxima de cometer um erro falso-positivo
μm	micrômetro
μV	microvolt
μg	micrograma

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 -	Biossíntese das purinas (via <i>de novo</i>), evidenciando a função da inosina monofosfato desidrogenase (IMPDH).	16
Figura 2 -	As respostas do ERG escotópico de rato albino, coelho albino e ser humano são caracterizadas por padrão similar, mas diferem em amplitude e tempo implícito	21
Figura 3 -	Animais acomodados nas gaiolas do biotério do Departamento de Psicologia Experimental do Instituto de Psicologia da USP .	28
Figura 4 -	Coelho anestesiado, posicionado lateralmente sobre o suporte adaptado ao Ganzfeld	33
Figura 5 -	Gráfico da curva de regressão linear da concentração de MPA no vítreo em função do tempo, após injeção intravítrea de 1 mg	41
Figura 6 -	Diferença dos valores da amplitude (eixo vertical) entre os olhos que receberam MPA e veículo em função da dose (eixo horizontal), frequência do estímulo e tempo após a injeção.....	50
Figura 7 -	Relação amplitude da onda-b / amplitude da onda-a no grupo de 0,005 mg na condição escotópica 30 cd.s/m ² , antes e nos diferentes intervalos de tempo após a injeção intravítrea de MPA.....	51
Figura 8 -	Relação amplitude da onda-b / amplitude da onda-a no grupo de 0,05 mg na condição escotópica 30 cd.s/m ² , antes e nos diferentes intervalos de tempo após a injeção intravítrea de MPA.....	52
Figura 9 -	Relação amplitude da onda-b / amplitude da onda-a no grupo de 0,2 mg na condição escotópica 30 cd.s/m ² , antes e nos diferentes intervalos de tempo após a injeção intravítrea de MPA.....	52
Figura 10 -	Relação amplitude da onda-b / amplitude da onda-a no grupo de 1 mg na condição escotópica 30 cd.s/m ² , antes e nos diferentes intervalos de tempo após a injeção intravítrea de MPA.....	53
Figura 11 -	Relação amplitude da onda-b / amplitude da onda-a no grupo de 10 mg na condição escotópica 30 cd.s/m ² , antes e nos diferentes intervalos de tempo após a injeção intravítrea de MPA.....	53

- Figura 12** - Curva de Hill para a relação log da amplitude da onda-b *versus* log intensidade do flash no grupo de 0,005 mg. Os símbolos representam os registros individuais de cada olho57
- Figura 13** - Curva de Hill para a relação log da amplitude da onda-b *versus* log intensidade do flash no grupo de 0,05 mg. Os símbolos representam os registros individuais de cada olho57
- Figura 14** - Curva de Hill para a relação log da amplitude da onda-b *versus* log intensidade do flash no grupo de 0,2 mg. Os símbolos representam os registros individuais de cada olho58
- Figura 15** - Curva de Hill para a relação log da amplitude da onda-b *versus* log intensidade do flash no grupo de 1 mg. Os símbolos representam os registros individuais de cada olho58
- Figura 16** - Curva de Hill para a relação log da amplitude da onda-b *versus* log intensidade do flash no grupo de 10 mg. Os símbolos representam os registros individuais de cada olho59
- Figura 17** - Microscopia óptica de retina de coelho do grupo de 0,005 mg 30 dias após a injeção intravítrea de MPA (A) e veículo (B). Nota-se que a arquitetura da retina está preservada em ambas as condições. (hematoxilina-eosina, magnificação 40X).....60
- Figura 18** - Microscopia óptica de retina de coelho do grupo de 0,05 mg 30 dias após a injeção intravítrea de MPA (A) e veículo (B). Nota-se que a arquitetura da retina está preservada em ambas as condições. (hematoxilina-eosina, magnificação 40X).....60
- Figura 19** - Microscopia óptica de retina de coelho do grupo de 0,2 mg 30 dias após a injeção intravítrea de MPA (A) e veículo (B). Nota-se que a arquitetura da retina está preservada em ambas as condições. (hematoxilina-eosina, magnificação 40X).....60
- Figura 20** - Microscopia óptica de retina de coelho do grupo de 1 mg 30 dias após a injeção intravítrea de MPA (A) e veículo (B). Nota-se que a arquitetura da retina está preservada em ambas as condições. (hematoxilina-eosina, magnificação 40X).....61
- Figura 21** - Microscopia óptica de retina de coelho do grupo de 10 mg 30 dias após a injeção intravítrea de MPA (A) e veículo (B). Nota-se que a arquitetura da retina está preservada em ambas as condições. (hematoxilina-eosina, magnificação 40X).....61

LISTA DE TABELAS

- Tabela 1** - Alterações encontradas na biomicroscopia com lâmpada de fenda realizada 30 dias após a injeção em todos os olhos que receberam MPA e veículo.....39
- Tabela 2** - Concentração de MPA no vítreo de coelhos após injeção intravítrea de 1 mg40
- Tabela 3** - Média e desvio padrão da amplitude e tempo implícito das ondas a e b na condição escotópica $0,003 \text{ cd.s/m}^2$ nos 5 grupos, antes e 7,15 e 30 dias após a injeção intravítrea de MPA. Estão representados os resultados das 5 doses de MPA testadas.....43
- Tabela 4** - Média e desvio padrão da amplitude e tempo implícito das ondas a e b na condição escotópica $0,03 \text{ cd.s/m}^2$ nos 5 grupos, antes e 7,15 e 30 dias após a injeção intravítrea de MPA. Estão representados os resultados das 5 doses de MPA testadas.....44
- Tabela 5** - Média e desvio padrão da amplitude e tempo implícito das ondas a e b na condição escotópica $0,3 \text{ cd.s/m}^2$ nos 5 grupos, antes e 7,15 e 30 dias após a injeção intravítrea de MPA. Estão representados os resultados das 5 doses de MPA testadas.....45
- Tabela 6** - Média e desvio padrão da amplitude e tempo implícito das ondas a e b na condição escotópica 3 cd.s/m^2 nos 5 grupos, antes e 7,15 e 30 dias após a injeção intravítrea de MPA. Estão representados os resultados das 5 doses de MPA testadas46
- Tabela 7** - Média e desvio padrão da amplitude e tempo implícito das ondas a e b na condição escotópica 30 cd.s/m^2 nos 5 grupos, antes e 7,15 e 30 dias após a injeção intravítrea de MPA. Estão representados os resultados das 5 doses de MPA testadas.....47

Tabela 8 - Média e desvio padrão da amplitude e tempo implícito das ondas a e b na condição fotópica nos 5 grupos, antes e 7,15 e 30 dias após a injeção intravítrea de MPA. Estão representados os resultados das 5 doses de MPA testadas	48
Tabela 9 - Valores da média de V_{max}, K e n, antes e após a injeção das diferentes doses de MPA na condição escotópica.....	55
Tabelas 10 a 49 - Anexos - Registros dos exames eletrorretinográficos realizados em todos os animais, antes e 7, 15 e 30 dias após a injeção das cinco doses de MPA no olho direito e do veículo no olho esquerdo	78

Resumo

Gasparin F. *Estudo farmacológico, eletrofisiológico e morfológico dos efeitos da injeção intravítrea de ácido micofenólico em coelhos (tese)*. São Paulo: Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo; 2013. 131p.

INTRODUÇÃO: O micofenolato de mofetila é uma droga imunomoduladora utilizada no tratamento de uveítes crônicas não infecciosas. No entanto, até 20% dos pacientes interrompem o tratamento devido aos efeitos colaterais sistêmicos. O ácido micofenólico é a droga ativa do micofenolato de mofetila e sua aplicação na cavidade vítrea pode ser uma alternativa complementar ao tratamento sistêmico. Entretanto, deve-se considerar o risco de efeitos tóxicos da droga na retina e em outras estruturas oculares. **OBJETIVOS:** Determinar a meia-vida do ácido micofenólico no vítreo de coelhos e avaliar os efeitos retinianos causados pela injeção intravítrea de diferentes doses de MPA através de avaliações clínica, funcional e morfológica. **MÉTODOS:** Para o estudo farmacológico, a suspensão de ácido micofenólico (1 mg em 0,1 mL de veículo) foi injetada no vítreo de 16 coelhos albinos New Zealand. Como controle, o olho contralateral de cada coelho foi injetado com 0,1 mL do veículo usado na preparação da suspensão. Os animais foram sacrificados após 1, 7, 15 e 30 dias e as concentrações de ácido micofenólico no vítreo e no sangue foram determinadas por cromatografia líquida de alta eficiência. Para a determinação dos efeitos retinianos do ácido micofenólico foram utilizados 20 coelhos albinos New Zealand, que foram divididos em 5 grupos com quatro animais em cada grupo. Cada animal recebeu injeção de 0,005, 0,05, 0,2, 1 e 10 mg de ácido micofenólico em 0,1 mL de veículo no olho direito e 0,1 mL do veículo no olho esquerdo. Exames de biomicroscopia com lâmpada de fenda e oftalmoscopia binocular indireta foram realizados antes da injeção e 30 dias após. A avaliação funcional da retina foi feita por eletrorretinografia, que foi realizada antes e 7, 15 e 30 dias após a injeção. Os animais foram sacrificados 30 dias após as injeções intravítreas e a avaliação histológica foi feita por microscopia de luz (hematoxilina-eosina). **RESULTADOS:** A meia-vida do ácido micofenólico no vítreo do coelho foi de $5,0 \pm 0,3$ dias e o ácido micofenólico foi detectável no vítreo por 29 dias. O ácido micofenólico não foi detectado no vítreo do olho contralateral e no sangue em nenhum tempo estudado. Sinais inflamatórios de pouca intensidade foram observados em pelo menos um olho de cada grupo e não tiveram relação com a dose de ácido micofenólico injetada. A análise da eletrorretinografia não mostrou diferenças significativas da amplitude e tempo implícito da onda-a e da onda-b nas condições escotópica e fotópica após a injeção intravítrea nos cinco grupos avaliados. A análise da relação entre a amplitude da onda-b *versus* intensidade do estímulo luminoso mostrou diminuição da sensibilidade retiniana após a

injeção intravítrea do ácido micofenólico nas doses de 0,05, 0,2, 1 e 10 mg. O estudo histológico não mostrou alterações estruturais da retina após a injeção intravítrea de ácido micofenólico nas cinco doses avaliadas. **CONCLUSÕES:** O ácido micofenólico tem meia-vida de 5 dias e foi detectável no vítreo de coelhos até 29 dias após a injeção intravítrea. A avaliação funcional mostrou que a injeção intravítrea de 0,05 a 10 mg de ácido micofenólico causou diminuição da sensibilidade retiniana. As doses entre 0,005 e 10 mg de ácido micofenólico não provocaram alterações histológicas na área analisada da retina de coelhos.

Descritores: 1.Ácido Micofenólico 2.Farmacocinética 3.Eletrorretinografia 4.Injeções Intravítreas 5.Toxicidade de Droga 6.Retina 7.Coelhos 8.Uveíte

Summary

Gasparin F. *Pharmacological, electrophysiological, and morphological effects of the intravitreal injection of mycophenolic acid in rabbits (thesis)*. São Paulo: Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo; 2013. 131p.

INTRODUCTION: Mycophenolate mofetil is a potent immunomodulatory agent used in the treatment of patients with chronic non-infectious uveitis. However, systemic side effects are the main reason for discontinuation, occurring in up to 20% of patients. Mycophenolic acid is the active form of mycophenolate mofetil and its intraocular delivery may avoid the side effects observed with systemic therapy. However, local side effects in the retina and other ocular structures must be considered. **PURPOSE:** The aims of this study were to determine the half-life of mycophenolic acid in the rabbit vitreous after intravitreal injection, and to determine the clinical, functional, and morphological retinal effects of the intravitreal injection of five different doses of mycophenolic acid. **METHODS:** For the pharmacological study, mycophenolic acid 1 mg was injected in the vitreous of 16 New Zealand albino rabbits. Animals were sacrificed at different time points after injections (1, 7, 15, and 30 days) and vitreous and blood samples underwent high performance liquid chromatography. For functional and histological studies, 20 New Zealand albino rabbits were divided in 5 groups of 4 animals each, according to the dose of MPA injected in the vitreous (0.005, 0.05, 0.2, 1, and 10 mg in 0.1 mL of vehicle). As control, contralateral eyes were injected with 0.1 mL of the aqueous vehicle. Electroretinograms were recorded before injection and on days 7, 15, and 30. Slit-lamp examination and indirect fundus ophthalmoscopy were performed before injection and after 30 days. Animals were sacrificed and retinas were analyzed by light microscopy (hematoxylin and eosin). **RESULTS:** Mycophenolic acid half-life in the rabbit vitreous was 5.0 ± 0.3 days and the drug was detectable in the vitreous for 29 days. Mycophenolic acid was not detected either in the serum or in contralateral eyes. Signs of intraocular inflammation were detected in at least one eye of each group and had no correlation with the dose injected. Electroretinogram analysis did not show significant differences on a and b-wave amplitude and implicit time on scotopic and photopic conditions after intravitreal injection. The analysis of the b-wave amplitude *versus* light intensity curves in the dark-adapted state showed decrease in retinal sensitivity in eyes injected with mycophenolic acid 0.05, 0.2, 1 and 10 mg of the drug. No morphological change was found in any dose tested. **CONCLUSION:** Mycophenolic acid half-life in the rabbit vitreous is 5 days. Electroretinography shows that intravitreal injection of doses from 0.05 to 10 mg of mycophenolic acid decrease retina sensitivity. Intravitreal injection of doses from 0.005 to 10 mg of mycophenolic acid does not cause histological changes in the analysed area in the rabbit retina.

Descriptors: 1.Mycophenolic Acid 2.Pharmacology 3.Electroretinography 4.Intravitreal Injections 5.Drug Toxicity 6.Retina 7.Rabbits 8.Uveitis

1 Introdução

Uveíte é o termo utilizado clinicamente para descrever um grupo heterogêneo de doenças oculares caracterizadas por inflamação do trato uveal (íris, corpo ciliar e coróide) e de outras estruturas oculares adjacentes, como a retina, o nervo óptico e o vítreo. É uma das principais causas de cegueira no mundo. Indivíduos de ambos os sexos e de todas as faixas etárias podem ser acometidos¹⁻³. Aproximadamente 10% dos casos de cegueira nos Estados Unidos são causados por uveítes, o que representa cerca de 30.000 novos casos por ano^{4,5}. No nosso meio, é o principal diagnóstico em indivíduos que frequentam instituições de reabilitação visual^{6,7}. O processo inflamatório pode acometer todas as estruturas oculares e não só a inflamação em si como suas complicações podem provocar perda visual severa. O edema macular cistoide é a principal causa de perda visual nos pacientes com uveíte^{8,9}.

O acometimento ocular pode ser isolado ou estar associado a doenças sistêmicas infecciosas (tuberculose, sífilis e toxoplasmose) ou a doenças não infecciosas (sarcoidose, doença de Behçet, síndrome de Vogt-Koyanagi-Harada (SVKH) e espondiloartropatias soronegativas). No entanto, aproximadamente 50% dos casos não têm etiologia conhecida e são denominados idiopáticos¹⁰. Os casos de uveítes não infecciosas e não traumáticas são considerados de origem autoimune, mediados primariamente por células T e possivelmente desencadeados por um estímulo exógeno em pacientes com predisposição genética¹¹.

O processo etiopatogênico ainda não está bem compreendido e o caráter crônico e recorrente da inflamação ocular faz com que o tratamento

das uveítes não infecciosas seja um grande desafio para os oftalmologistas. A inflamação crônica cursa com aumento na produção de mediadores inflamatórios, como prostaglandinas, serotonina, bradicinina, histamina, leucotrienos, radicais livres e fator de crescimento do endotélio vascular (VEGF, do inglês *vascular endothelial growth factor*), que estão envolvidos na fisiopatogênese das uveítes e resultam nas complicações que contribuem para a piora da acuidade visual^{12, 13}.

Os corticosteroides são a droga de primeira escolha para o tratamento das uveítes não infecciosas e podem ser administrados por via oral, tópica, peri ou intraocular^{14, 15}. Nos casos em que o corticosteroide não é capaz de controlar o processo inflamatório ocular ou nos quais surgem efeitos colaterais devido ao tratamento prolongado, há necessidade do uso de outras drogas imunomoduladoras. No entanto, essas drogas também têm efeitos colaterais que podem levar à necessidade de diminuição da dose ou até mesmo à suspensão do uso^{16, 17}.

O micofenolato de mofetila (MMF) é um imunomodulador utilizado no tratamento da rejeição de órgãos transplantados^{18, 19} e de doenças autoimunes, como vasculites²⁰, lúpus eritematoso sistêmico²¹, psoríase²², artrite reumatoide²³ e síndrome nefrótica²⁴. O MMF é uma pró-droga. Após administração oral, é rapidamente convertido no fígado em ácido micofenólico (MPA), que é a droga ativa. O MPA induz a diminuição da taxa de proliferação celular, a inibição da geração de linfócitos T citotóxicos, a diminuição da produção de anticorpos por linfócitos B e a diminuição da adesão e migração leucocitária²⁵.

Existem evidências experimentais e clínicas da eficácia do MMF no tratamento de diversas uveítes²⁶⁻³¹, que o tornam uma droga importante no tratamento dessa condição ocular severa e debilitante. No entanto, a dose sistêmica necessária para a penetração da quantidade terapêutica para o controle da inflamação ocular faz com que cerca de 10 a 20% dos pacientes não suportem os efeitos colaterais e precisem suspender o seu uso^{26, 32}. Os principais efeitos colaterais associados ao uso do MMF estão relacionados ao trato gastrointestinal (diarreia, náuseas e vômitos) e às alterações hematológicas (anemia e leucopenia)^{26, 31}.

A administração intravítrea de drogas tem sido cada vez mais utilizada no tratamento de doenças da retina e da coróide. Sendo assim, é possível que a injeção intravítrea de MPA ou implantes de liberação lenta de MPA no segmento posterior do olho sejam uma alternativa complementar ao tratamento sistêmico em casos de uveítes não infecciosas de difícil controle ou de pacientes que precisam suspender o uso de corticosteroides ou imunossupressores devido aos efeitos colaterais sistêmicos. A injeção intravítrea de drogas apresenta vantagens, como: a possibilidade de administrar uma dose menor da droga, maior biodisponibilidade da droga no segmento posterior do olho, acesso imediato da droga aos tecidos inflamados (retina e coróide) e menor probabilidade de efeitos colaterais sistêmicos. No entanto, deve-se considerar o risco de efeitos tóxicos da droga na retina e em outras estruturas oculares^{33, 34}. Como o MPA é a droga imunossupressora ativa do MMF, deve-se injetá-lo diretamente na cavidade vítrea.

O uso de modelos experimentais em animais tem grande importância no desenvolvimento de agentes terapêuticos em oftalmologia, tendo sido utilizados para avaliar a toxicidade e eficácia de diversas drogas³⁵, como antibióticos³⁶⁻³⁸, corticoides^{33, 34}, imunossupressores^{39, 40}, anti-VEGF^{41, 42} e imunomoduladores, como o tacrolimus⁴³, sirolimus⁴⁴, etanercepte⁴⁵, infliximabe⁴⁶, adalimumabe^{47, 48} e rituximabe⁴⁹. Antes de conduzir um estudo de toxicidade, alguns fatores importantes devem ser considerados: a espécie animal que será utilizada, os tipos de análise (testes funcionais e/ou morfológicos), os procedimentos e equipamentos para os testes, o período de acompanhamento e a forma de análise dos dados⁵⁰.

O tamanho dos olhos de coelho permite a realização dos exames de oftalmoscopia binocular indireta e eletrorretinografia (ERG). As camadas histológicas da retina de coelhos também são semelhantes às do olho humano. Coelhos são animais fáceis de manipular e de serem anestesiados para realização dos exames e procedimentos utilizados nos estudos de toxicidade ocular de drogas. Além disso, as doses intravítreas de diversas drogas utilizadas atualmente na oftalmologia foram estabelecidas com base nos resultados de estudos experimentais em coelhos^{33, 34, 42, 45, 50-53}. No entanto, até o momento, nenhum estudo avaliou a farmacocinética do MPA no vítreo e os efeitos retinianos do uso intravítreo do MPA.

Os objetivos desse estudo foram:

1. Avaliar a farmacocinética do MPA após a injeção intravítrea em olhos de coelhos.
2. Avaliar os efeitos retinianos causados pela injeção intravítrea de diferentes doses de MPA em olhos de coelhos através da análise das alterações clínicas, eletrofisiológicas e morfológicas.

2 Revisão da literatura

2.1 Uveítes não infecciosas

As uveítes podem ser classificadas segundo as estruturas oculares acometidas, o curso clínico, a lateralidade, a etiologia e o aspecto clínico com que se apresentam. A classificação anatômica divide as uveítes em anteriores, intermediárias, posteriores e difusas.

De acordo com a etiologia, as uveítes podem ser classificadas em endógenas e exógenas. As uveítes endógenas podem ser subdivididas em infecciosas e não infecciosas (ou autoimunes); as exógenas são secundárias a traumas cirúrgicos ou acidentais⁵⁴.

A etiopatogenia das uveítes não infecciosas ainda não é completamente estabelecida, sendo que a maior parte dos conhecimentos sobre os mecanismos envolvidos no desenvolvimento da inflamação ocular foi obtida em modelos animais, mais especificamente os modelos de uveorretinite autoimune experimental (UAE). Na UAE, o processo inflamatório é geralmente induzido por antígenos de origem retiniana, como o antígeno-S e a proteína ligadora de retinoide do interfotorreceptor (IRBP), mas antígenos de origem não retiniana e de origem não ocular, como exotoxinas bacterianas, também podem ser utilizados⁵⁵⁻⁵⁷. Nesse modelo experimental, a doença ocular é desencadeada por uma resposta inflamatória mediada por linfócitos T, principalmente as células CD4+, que reconhecem os antígenos na presença das células apresentadoras de antígenos juntamente com as moléculas do complexo principal de histocompatibilidade de classe II⁵⁶.

A incidência e prevalência das uveítes variam de acordo com fatores raciais, genéticos, geográficos e sociais⁵⁸. Em um estudo epidemiológico retrospectivo de 3.310 casos, realizado por Fernandes e Oréfice⁵⁹, as uveítes não infecciosas difusas mais frequentes foram: SVKH (4%), doença de Behçet (3%) e oftalmia simpática (1%). Em outro estudo retrospectivo realizado no Brasil, Gomi et al.¹ avaliaram 744 pacientes com diagnóstico de uveítes. As uveítes difusas não infecciosas mais frequentes foram: SVKH (4%), doença de Behçet (4%) e oftalmia simpática (menos de 1%). Yang et al.⁶⁰ realizaram um estudo epidemiológico retrospectivo na China e avaliaram os dados de 1.752 pacientes com diagnóstico de uveíte. A uveíte anterior idiopática foi a mais frequente (27%), seguida pela doença de Behçet (17%) e SVKH (16%).

2.2 Drogas imunossupressoras no tratamento das uveítes não infecciosas

2.2.1 Corticosteroides

Os corticosteroides constituem a primeira linha de tratamento para a uveíte autoimune e podem ser administrados por via tópica, oral, endovenosa, peri ou intraocular, dependendo do local e da intensidade da inflamação ocular. Os efeitos colaterais sistêmicos mais comuns decorrentes do uso oral de corticoides são hiperglicemia, hipertensão arterial sistêmica,

obesidade central, úlcera gastrointestinal, osteoporose, distúrbios do humor e susceptibilidade a infecções¹⁴.

O uso endovenoso de altas doses de corticoide pode ser necessário em casos de acometimento bilateral agudo e severo de origem não infecciosa, com risco iminente de perda visual irreversível. A pulsoterapia é realizada com administração endovenosa de metilprednisolona.

Outra forma de administração é a periocular. Entretanto, existem algumas desvantagens, como a necessidade de várias injeções e as possíveis complicações oculares associadas ao procedimento⁶¹.

A injeção intravítrea de corticoide é uma alternativa para o tratamento de uveítes não infecciosas, sendo indicada geralmente em pacientes que não respondem bem à terapia sistêmica ou não toleram os efeitos colaterais sistêmicos das medicações. Os três corticosteroides que têm sido estudados para essa finalidade são a triancinolona, fluocinolona e dexametasona.

2.2.2 Agentes antimetabólitos

Os agentes antimetabólitos mais utilizados são a azatioprina, o metotrexato e o MMF. A azatioprina é uma droga citotóxica que atua como antagonista da purina, afeta a síntese de ácido desoxirribonucleico, (DNA, do inglês, *deoxyribonucleic acid*) e inibe a imunidade mediada por células⁶². A medicação começou a ser utilizada para o tratamento de doenças inflamatórias oculares nos anos 60 e é geralmente empregada em associação com corticosteroides. Os efeitos colaterais mais comuns são os

distúrbios gastrointestinais, mielossupressão, necrose hepatocelular e o aumento do risco de desenvolver leucemias e linfomas em pacientes transplantados¹⁶.

O metotrexato (MTX) é um antagonista do ácido fólico que inibe a síntese de DNA e a replicação celular. O MTX é a droga mais utilizada para o tratamento da artrite reumatoide⁶³ e alguns estudos de série de casos têm mostrado sua eficácia no tratamento de doenças inflamatórias oculares^{64, 65}. Efeitos colaterais leves (fadiga e náuseas) são encontrados em aproximadamente 44% dos pacientes, e em 18% dos casos a medicação precisa ser suspensa, principalmente devido ao aumento das enzimas hepáticas.

O MMF será detalhado no item 2.3.

2.2.3 Agentes alquilantes

Os agentes alquilantes mais utilizados são o clorambucil e a ciclofosfamida. O clorambucil é um derivado da mostarda nitrogenada e interfere na replicação do DNA e na transcrição do ácido ribonucleico (RNA, do inglês, *ribonucleic acid*). A eficácia do clorambucil tem sido demonstrada em doenças oculares não infecciosas refratárias ao tratamento com corticosteroides, sendo as uveítes associadas à doença de Behçet a principal indicação para o seu uso⁶². O efeito colateral mais comum é a mielotoxicidade (neutropenia e trombocitopenia), que pode ocorrer nas primeiras semanas de uso da medicação. A esterilidade também é uma complicação comum e deve ser levada em consideração no tratamento de pacientes jovens.

A ciclofosfamida também é um derivado da mostarda nitrogenada e seu efeito citotóxico provém da sua capacidade de formar ligações cruzadas com as cromátides do DNA, resultando na incapacidade dessas de se separarem corretamente durante a mitose, o que provoca morte celular. É considerada a droga de escolha no tratamento da esclerite necrosante e vasculite retiniana associadas à granulomatose de Wegener. A pulsoterapia endovenosa pode ser utilizada para o tratamento de formas agressivas de doença de Behçet ocular^{62, 66, 67}. Os efeitos colaterais mais importantes que podem ocorrer com o uso prolongado da medicação são mielotoxicidade (leucopenia, anemia e plaquetopenia), cistite hemorrágica e esterilidade em ambos os sexos⁶².

2.2.4 Inibidores de linfócitos T

Os inibidores de linfócitos T utilizados para o tratamento das uveítes não infecciosas são a ciclosporina A (CsA), o tacrolimus e o sirolimus. A CsA inibe a calcineurina, cuja função é atuar na desfosforilação de proteínas reguladoras existentes nos núcleos dos linfócitos T. Essa inibição impede a transcrição de muitos genes, incluindo aqueles que codificam a interleucina-2 (IL-2). A CsA também aumenta a expressão do fator de transformação do crescimento- β (TGF- β), que inibe a IL-2 e a proliferação de linfócitos T citotóxicos⁶⁸. A principal indicação da CsA são os casos de uveíte não infecciosa bilateral, resistentes ao uso de corticosteroides ou dependentes de altas doses dessa medicação, sendo mais utilizada na

doença de Behçet. O efeito colateral mais importante é a nefrotoxicidade, que se manifesta por aumento da creatinina plasmática, hipertensão arterial e hipercalemia.

O tacrolimus é um antibiótico macrolídeo cujo mecanismo de ação é semelhante ao da CsA. Os efeitos colaterais mais frequentes são nefrotoxicidade (28%), sintomas neurológicos (20%), sintomas gastrointestinais (19%) e hiperglicemia (13%)⁶⁹.

O sirolimus, também conhecido como rapamicina, é um antibiótico macrolídeo que atua nas fases G1 e S do ciclo celular, bloqueando a ação de uma proteína denominada mTor (do inglês, *mammalian target of rapamycin*), o que impede a proliferação dos linfócitos T e B. O sirolimus é eficaz no tratamento da uveíte autoimune experimental em ratos⁷⁰ e seu efeito sinérgico, quando associado com a CsA e o tacrolimus, também foi demonstrado em modelos animais^{71, 72}. Os estudos em humanos são poucos, retrospectivos e com pequeno número de pacientes^{73, 74}, sendo relatados efeitos colaterais como trombose venosa, alterações neurológicas e trombocitopenia.

2.2.5 Agentes biológicos

Os agentes biológicos são proteínas biologicamente ativas e anticorpos recombinantes que atuam como agonistas ou antagonistas de citocinas específicas e de receptores de superfície celular envolvidos na cascata inflamatória das doenças não infecciosas⁷⁵. Nos últimos anos,

diversos estudos foram publicados sobre o uso dos agentes biológicos no tratamento das uveítes não infecciosas⁷⁶. Entretanto, a maioria são estudos retrospectivos de série de casos, sendo muito difícil comparar a eficácia entre os diferentes agentes biológicos ou entre eles e outros imunomoduladores^{75, 76}. As medicações mais utilizadas são o infliximabe, o etanercepte, o adalimumabe, o daclizumabe e o interferon-alfa.

O infliximabe é um anticorpo monoclonal que inibe o fator de necrose tumoral- α (TNF- α), que é administrado por via endovenosa. Os estudos clínicos⁷⁷⁻⁸⁰ constataam que a inflamação ocular é controlada em 78 a 100% dos pacientes, mas o efeito é temporário e são necessárias várias infusões a cada 4-8 semanas para manter o quadro de remissão. Os efeitos colaterais mais importantes são o aumento do risco de doenças malignas, tuberculose, esclerose múltipla e reações semelhantes ao lúpus.

O etanercepte é administrado por via subcutânea e não é uma opção muito utilizada no tratamento das uveítes, pois os estudos demonstram eficácia questionável e inferior quando comparada ao infliximabe^{81, 82}.

O adalimumabe é um inibidor de TNF- α utilizado com bons resultados no tratamento da uveíte anterior associada à artrite reumatoide juvenil em pacientes que não respondem ao tratamento com outros fármacos^{83, 84}. Entretanto, existem poucos estudos sobre sua eficácia em pacientes com uveítes não infecciosas posteriores e difusas. Androudi et al.⁸⁵ avaliaram a eficácia e segurança da injeção intravítrea de adalimumabe em pacientes com edema macular cistoide secundário a uveítes não infecciosas. Não foram relatados efeitos colaterais oculares ou sistêmicos, mas não houve

melhora da acuidade visual e da espessura macular central em nenhum dos cinco pacientes que completaram os cinco meses de seguimento.

O daclizumabe é um anticorpo humanizado que bloqueia os receptores de IL-2 localizados na membrana dos linfócitos T ativados. A medicação pode ser administrada por via endovenosa ou subcutânea e não foram observados efeitos colaterais clinicamente significativos com a sua utilização⁶⁸.

O interferon- α (IFN α) é uma droga administrada por via subcutânea, utilizada principalmente na doença Behçet. Além de inibir a replicação viral, o IFN- α ativa as células *natural killer* (NK) e os macrófagos⁸⁶. Estudos recentes sugerem algumas semelhanças entre o tratamento com infliximabe e o IFN α , pois ambos os agentes apresentam um rápido efeito no controle da inflamação ocular em pacientes com uveítes não infecciosas resistentes ao tratamento com outros imunomoduladores^{75, 87-89}. Entretanto, os efeitos adversos são mais frequentes com o uso de IFN α . Os sintomas gripais são os mais comuns, sendo relatados em 100% dos casos, além de leucopenia, alopecia e depressão⁷⁵.

2.3 Micofenolato de mofetila em uveítes

Nos últimos 15 anos, o MMF passou a ser utilizado como medicação adjuvante no tratamento da uveítes não infecciosas, com diversos estudos comprovando sua eficácia no controle da inflamação ocular. O MMF é uma pró-droga. Após administração oral, é rapidamente convertido no fígado em

MPA, que é o imunossupressor ativo. O MPA é um potente inibidor não competitivo da enzima inosina monofosfato desidrogenase (IMPDH), que é uma enzima chave na via *de novo* da biossíntese das purinas^{25, 90, 91}. A via *de novo* é utilizada por células mononucleares e, por isso, seu efeito imunossupressor se dá principalmente sobre os linfócitos T e B. Inibindo a IMPDH, o MPA leva ao bloqueio da síntese de nucleotídeos de guanossina trifosfato (GTP, do inglês, *guanosine triphosphate*) e desoxiguanossina trifosfato (dGTP, do inglês, *deoxyguanosine triphosphate*) que são substratos para síntese de DNA e RNA (**Figura 1**). Com isso, há inibição da produção de purinas e diminuição da taxa de proliferação celular. Além de inibir a geração de linfócitos T citotóxicos, o MPA inibe a produção de anticorpos por linfócitos B e diminui a adesão e migração leucocitária^{25, 92, 93}.

Figura 1 - Biossíntese das purinas (via *de novo*), evidenciando a função da inosina monofosfato desidrogenase (IMPDH). O MPA inibe a enzima IMPDH, levando ao bloqueio da síntese de nucleotídeos de guanossina e diminuindo a síntese de DNA e RNA

O MPA inibe a isoforma tipo II da IMPDH, que é expressa em linfócitos T e B ativados, com uma potência cinco vezes maior do que a isoforma tipo I, que é expressa na maioria das células⁹⁴. Postula-se que esse seria um dos motivos pelo qual o MPA tem uma atividade imunossupressora no mínimo semelhante e com menos efeitos colaterais que a azatioprina, que é um inibidor não seletivo de várias enzimas envolvidas na síntese das purinas⁹⁵.

Um estudo experimental realizado por Chanaud et al.²⁷ evidenciou a capacidade do MMF de inibir o desenvolvimento da UAE induzida por antígeno-S em ratos. Nesse estudo, dos 11 animais que receberam MMF 30 mg/kg/dia por via oral nos primeiros 13 dias após a indução da uveíte, apenas dois desenvolveram inflamação ocular leve, enquanto entre os 11 animais do grupo controle, 10 desenvolveram inflamação ocular grave. Daniel et al.⁹⁶, em estudo retrospectivo, avaliaram 236 pacientes (397 olhos) que iniciaram o uso MMF como único imunomodulador além dos corticosteroides. O controle completo da inflamação ocular foi obtido em 53% dos pacientes após 6 meses e em 73% após 1 ano. Em 55% dos casos, o controle da inflamação foi alcançado com uma dose diária de prednisona ≤ 10 mg, e em 44% com dose ≤ 5 mg, após 12 meses de tratamento. No entanto, a medicação foi suspensa em 34% dos pacientes, sendo os principais motivos a falha em controlar a inflamação ocular e os efeitos colaterais, entre os quais, os mais comuns foram os distúrbios gastrointestinais (3%) e a supressão da medula óssea (2%), ambos reversíveis após a suspensão da medicação. Thorne et al.³¹, em outro

estudo retrospectivo, avaliaram a capacidade do MMF de controlar a inflamação ocular e de reduzir a dose diária de corticosteroide para menos de 10 mg/dia em 84 pacientes. Em 82% dos pacientes foi possível controlar a inflamação ocular e reduzir a dose diária de corticosteroide para menos de 10 mg/dia. Efeitos colaterais foram observados em 37% dos pacientes, sendo os mais frequentes os distúrbios gastrointestinais (19%), elevação das enzimas hepáticas (4%) e supressão da medula óssea (2%). O MMF precisou ser interrompido em 8% dos pacientes.

O MMF também foi eficaz como monoterapia no controle de uveítes não infecciosas em crianças. Em um estudo retrospectivo envolvendo 52 pacientes com diagnóstico de uveíte autoimune e idade inferior a 18 anos, tratados com MMF, o controle da inflamação ocular foi observado em 73% dos casos após dois meses de tratamento. A acuidade visual melhorou ou permaneceu estável em 94% dos casos e efeitos colaterais foram relatados em 44% dos pacientes, sendo os mais frequentes os distúrbios gastrointestinais (21%), fadiga (12%) e leucopenia (10%). Em 12% dos pacientes, o tratamento teve que ser interrompido devido aos efeitos colaterais⁹⁷.

2.4 Modelos experimentais para o estudo de toxicidade de drogas

Os estudos de toxicidade retiniana têm se tornado cada vez mais importantes em oftalmologia devido ao contínuo desenvolvimento de novas drogas para o tratamento de doenças inflamatórias, vasculares e

degenerativas da retina e da coroide. As pesquisas *in vitro* com cultura de células do epitélio pigmentado da retina e da retina neurosensorial, assim como as realizadas em modelos animais, constituem uma etapa fundamental na avaliação da toxicidade retiniana de uma nova medicação para uso em humanos.

Além das questões éticas, outras vantagens para o uso de modelos animais nesses estudos são: a possibilidade de testar diferentes doses para determinar a dose tóxica e as margens de segurança; de testar separadamente diferentes componentes da formulação da droga a fim de identificar o componente tóxico e de utilizar diversas técnicas experimentais (exames eletrofisiológicos, histológicos, biologia molecular e celular)⁵⁰.

A escolha da espécie animal a ser utilizada na pesquisa depende de diversos fatores, como a semelhança das estruturas oculares com o olho humano, a disponibilidade, o custo, a facilidade para realizar os experimentos e o conhecimento prévio sobre as estruturas retinianas e suas funções. A retina do macaco é a que mais se assemelha à retina humana, mas pesquisas com primatas envolvem um alto custo e questões éticas relevantes. A retina de ratos, assim como a humana, tem um sistema vascular bem desenvolvido, com artérias e veias emergindo radialmente do nervo óptico, e apresenta três camadas nucleares interpostas pelas camadas plexiforme externa e interna. No entanto, os olhos são muito pequenos, dificultando a realização dos exames oftalmológicos. O olho do coelho tem tamanho similar ao olho humano e as estruturas retinianas são parecidas com as de outros mamíferos e primatas⁵⁰. Entretanto, a

vascularização da retina do coelho é pouco desenvolvida, fato que deve ser levado em consideração nos estudos de toxicidade de drogas. No presente estudo, foram utilizados coelhos albinos, por existirem relatos na literatura sugerindo que a pigmentação ocular possa ser um fator protetor contra os efeitos tóxicos de algumas drogas^{50, 98, 99}.

2.4.1 Técnicas utilizadas nos modelos animais

2.4.1.1 Farmacocinética

Antes da avaliação funcional e histológica da retina, o conhecimento sobre a farmacocinética da droga após ser injetada na cavidade vítrea é fundamental, pois traz informações como a meia-vida e a absorção sistêmica da droga. Para o cálculo da meia-vida, é necessário determinar as concentrações da droga no vítreo em diferentes intervalos de tempo após a injeção. Esse tipo de análise pode ser feito por ELISA (*Enzyme-Linked Immunosorbent Assay*)^{46,100,101} ou cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE)¹⁰²⁻¹⁰⁴.

2.4.1.2 Avaliação funcional

O eletrorretinograma (ERG) de campo total é o exame mais utilizado em experimentação animal para avaliação funcional da retina^{35, 50, 53}. O ERG representa a atividade elétrica gerada na retina em resposta ao estímulo

luminoso. Esse procedimento permite o registro de uma onda bifásica, e os dois componentes considerados com maior frequência na avaliação da integridade elétrica da retina são a onda-a e a onda-b¹⁰⁵⁻¹⁰⁷. A onda-a é uma deflexão negativa gerada nos fotorreceptores (cones e bastonetes). A onda-b é positiva, originada na camada nuclear interna (células bipolares e células de Müller). Essas ondas são caracterizadas por elementos temporais (latência, tempo implícito e duração) e bioelétricos (medida da amplitude).

O padrão de ondas eletrorretinográficas encontrado em ratos e coelhos é similar ao humano, apresentando apenas diferenças nos valores de amplitude e tempo implícito das ondas a e b, conforme pode ser observado na **Figura 2**⁵⁰.

Figura 2 - As respostas do ERG escotópico de rato albino, coelho albino e ser humano são caracterizadas por padrão similar, mas diferem em amplitude e tempo implícito (Modificado de *Perlman I. Testing retinal toxicity of drugs in animal models using electrophysiological and morphological techniques. Doc Ophthalmol. 2009;118(1):3-28*)

A análise do ERG pode ser realizada através da comparação entre as amplitudes e os tempos implícitos das ondas a e b sob diferentes intensidades de estímulo luminoso e após adaptação ao claro e ao escuro.

Informações sobre toxicidade retiniana de drogas e seus componentes são baseadas nos dados obtidos com a análise do ERG em estudos experimentais. Loewenstein et al.¹⁰⁸ avaliaram os efeitos da injeção intravítrea de depomedrol e seu meio de conservação em coelhos. Os resultados evidenciaram que não houve alteração significativa do ERG nos olhos que receberam a medicação, mas ocorreu uma redução de 80% das respostas do ERG nos olhos que receberam o meio de conservação.

A análise da variação da amplitude da onda-b conforme a intensidade do estímulo luminoso é um método muito utilizado para avaliação funcional da retina. Essa relação pode ser representada pela função hiperbólica de Michaelis-Menten, de acordo com a equação $V = V_{max} (I/I + \sigma)$, onde V é a amplitude da onda obtida com um estímulo de intensidade I , V_{max} é a amplitude máxima obtida com um flash que leva à saturação da resposta e σ é a constante de semissaturação, que representa a intensidade do estímulo luminoso o qual resulta em uma resposta equivalente a 50% da amplitude máxima ($V_{max}/2$). Esse método foi utilizado em estudos que avaliaram a toxicidade retiniana do bavacizumabe¹⁰⁹, azul tripan¹¹⁰ e cetorolac¹¹¹ após injeção intravítrea em olhos de coelhos. Em estudos recentes sobre toxicidade retiniana de drogas como o adalimumabe^{47, 48}, etanercepte¹¹² e infliximabe⁴⁶, a avaliação funcional retiniana foi baseada na comparação da amplitude da onda-b entre os olhos que receberam injeção intravítrea da droga e os que receberam o veículo, antes e após as injeções.

2.4.1.3 Avaliação morfológica

A análise morfológica é utilizada para avaliar quantitativa e qualitativamente a integridade estrutural da retina. Parâmetros como a espessura retiniana total ou de camadas específicas e o número de células das camadas nucleares internas e externas são frequentemente utilizados para descrever as alterações estruturais retinianas⁵⁰. A microscopia de luz é o método mais utilizado em estudos experimentais de toxicidade retiniana de drogas e corantes para a análise morfológica da retina^{34, 35, 42, 44, 46-49, 52, 110-113}. O método de análise pode ser descritivo ou analítico. Estudos descritivos são os mais utilizados na literatura, pois são mais simples e as amostras podem ser menores. Nesse tipo de estudo, autor descreve se o tecido está normal ou não, e o tipo de alteração encontrada. Nos estudos analíticos a análise morfométrica pode ser realizada por meio da contagem celular ou pela medida de cada camada celular para comparação³⁵.

A microscopia de luz pode ser complementada com exames mais sofisticados, como microscopia eletrônica^{34, 47, 100, 113}, microscopia confocal e imunohistoquímica^{109, 111}.

2.4.1.4 Avaliação *in vitro*

Recentemente, como tentativa de diminuir o número de experimentos envolvendo animais, os modelos *in vitro* ganharam importância nos estudos de avaliação sobre toxicidade retiniana. O uso de cultura de células é um

método bem estabelecido para os testes pré-clínicos, sendo que diversos tipos celulares estão disponíveis para que se avaliem as alterações metabólicas e apoptóticas após serem expostos a drogas. As células do epitélio pigmentado da retina humano ARPE-19 são as mais utilizadas nos estudos *in vitro* de toxicidade retiniana de drogas³⁵. Outras linhagens celulares também podem ser utilizadas, como as células da retina neurossensorial de ratos¹¹⁴, células ganglionares da retina de ratos¹¹⁵, células de Müller imortalizadas¹¹⁶ e células endoteliais humanas da veia umbilical¹¹⁷. Zacharias et al. avaliaram a toxicidade MPA em culturas de células ARPE-19 e células de Müller humanas. Foram realizados testes de viabilidade celular, atividade das caspases e potencial de membrana mitocondrial. Os resultados mostraram que a dose mais alta (100 µg/mL) causou uma diminuição da viabilidade celular e um aumento da atividade da caspase 3/7, indicando apoptose em ambas as linhagens de células testadas (artigo no prelo).

3 Métodos

3.1 Desenho do estudo

Foi realizado um estudo experimental prospectivo, conduzido em coelhos. Inicialmente foi necessário determinar a meia-vida da droga no vítreo do coelho, pois não existe relato na literatura do comportamento do MPA quando injetado no vítreo. A dosagem do MPA no vítreo foi realizada por CLAE.

Em seguida, foram estabelecidas as doses de MPA que seriam utilizadas para avaliar as alterações anatômicas, funcionais e morfológicas após a injeção intravítrea em olhos de coelhos. Os dados de biodisponibilidade do MMF após administração oral indicam uma absorção e biodisponibilidade de cerca de 90% da droga e conversão em MPA¹¹⁸. Considerando-se os fenômenos de absorção/eliminação e de difusão da droga através da barreira hematorretiniana, estima-se que apenas 1/10 da droga presente na circulação penetre no olho. Levando-se em conta alguns fatores, como a dose comumente utilizada de MMF por via oral em humanos (2.000 mg/dia para indivíduos de 70 kg), a taxa de penetração intraocular, a diferença entre o peso médio de humanos e coelhos, e a diferença entre o volume do olho humano (4,0 mL) e dos coelhos (1,5 mL), estima-se que cerca de 5 mg de MMF atinjam o vítreo do coelho. Embora 1 g de MMF corresponda a 0,74 g de MPA, utilizamos a razão de 1:1 para o cálculo das doses a serem testadas. Sendo assim, os animais foram divididos em 5 grupos com 4 animais em cada grupo e foram escolhidas doses intravítreas abaixo e acima da dose teórica necessária para o coelho: 0,005 mg, 0,05 mg, 0,2 mg, 1 mg e

10 mg de MPA para o estudo dos efeitos clínicos, funcionais e morfológicos após injeção intraocular da droga. Todos os animais foram submetidos à biomicroscopia na lâmpada de fenda e à oftalmoscopia binocular indireta em ambos os olhos antes das injeções e 30 dias após. O ERG foi realizado antes das injeções e 7, 15 e 30 dias após. No último dia, após os exames, os animais foram sacrificados, os olhos enucleados e as peças anatômicas fixadas para análise morfológica por microscopia de luz.

3.2 Preparação animal

Foram utilizados 36 coelhos albinos machos da espécie New Zealand (*Oryctolagus cuniculus*), sendo 16 para o estudo farmacocinético e 20 para o estudo dos efeitos retinianos do MPA. Os animais pesavam de 2 a 3 kg e foram mantidos em gaiolas individuais no biotério do Departamento de Psicologia Experimental do Instituto de Psicologia da USP (**Figura 3**). O laboratório possui sistema de ar condicionado que mantinha a temperatura por volta de 25°C e a iluminação obedecia ao ciclo 12 h claro / 12 h escuro. O projeto foi aprovado pela Comissão de Ética para Pesquisa em Animais do Instituto de Ciências Biomédicas da USP e pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo (**Anexo 1 e 2 e Figura 22**). Os animais foram tratados de acordo com as Normas para o Uso de Animais em Pesquisa Oftalmológica e da Visão, da Associação para Pesquisa em Visão e Oftalmologia (*Association for Research in Vision and Ophthalmology*, ARVO).

Figura 3 - Animais acomodados nas gaiolas do biotério do Departamento de Psicologia Experimental do Instituto de Psicologia da USP

3.2.1 Anestesia e sacrifício

A sedação dos animais antes dos experimentos foi realizada com injeção intramuscular de 6,7 mg/kg de cloridrato de xilasina 2% (Calmium[®]; Agener, São Paulo, Brasil) e 50 mg/kg de cloridrato de cetamina 10% (Ketamina[®]; Agener, São Paulo, Brasil). O sacrifício foi feito através da injeção intracardiaca de 70 mg/kg de pentobarbital sódico (Euthanyle[®]; Brouwer, Buenos Aires, Argentina), sempre com os animais previamente sedados.

3.2.2 Preparo do ácido micofenólico

O preparo do MPA foi realizado no laboratório de Farmacocinética da Faculdade de Farmácia da Universidade Federal de Minas Gerais.

O MPA ($C_{17}H_{20}O_6$) é um composto lipofílico pouco solúvel em água. Para o uso intravítreo, o MPA foi doado pela Roche Bioscience, (Palo Alto, CA) e preparado como suspensão de 10 mg/mL em frascos estéreis de uso único. O meio de suspensão utilizado foi a solução salina contendo o agente emulsificante polissorbato 80 0,4% (Tween 80[®]; Sigma-Aldrich, St. Louis, MO) e o agente suspensor hidroxipropilmetilcelulose 0,5% (Sigma-Aldrich, St. Louis, MO). Antes das injeções, o MPA foi disperso utilizando o meio de suspensão em doses de 0,005, 0,05, 0,2, 1 e 10 mg. Após o preparo, o pH da solução de MPA ficou entre 7 e 7,2.

3.2.3 Injeções intravítreas

As injeções intravítreas foram realizadas no Laboratório da Visão, no Instituto de Psicologia da Universidade de São Paulo. Imediatamente antes das injeções, as pupilas foram dilatadas com colírio de tropicamida 1% (Mydriacyl[®]; Alcon, São Paulo, Brasil) e os olhos anestesiados com colírio de cloridrato de proximetacaína 0,5% (Anestalcon[®]; Alcon, São Paulo, Brasil). Em seguida, uma gota de iodopovidona 5% (Ophthalmos; São Paulo, Brasil) foi instilada em cada olho para antissepsia. Foi realizada paracentese de câmara anterior com agulha de 27G acoplada a uma agulha de insulina para reduzir pressão ocular e minimizar o refluxo após a injeção.

As injeções intravítreas foram realizadas com uma seringa de insulina e agulha 30G, a 2 mm do limbo, com visibilização da agulha na cavidade vítrea. As injeções intravítreas de MPA foram realizadas no olho direito e as do veículo no olho esquerdo, sempre com o volume de 0,1 mL. Não foi utilizado colírio de antibiótico após as injeções.

3.3 Avaliação clínica

O exame biomicroscópico foi realizado com lâmpada de fenda Topcon modelo SL-3G (Topcon Medical Systems, Inc.; Oakland, NJ, EUA) e a oftalmoscopia indireta com oftalmoscópio OSF 1.0 (Eyetec; São Carlos, SP, Brasil) e lente de +20 dioptrias (Nikon, Tóquio, Japão). Os exames foram realizados no início do estudo, para detectar possíveis alterações oculares que pudessem comprometer os resultados da pesquisa, e 30 dias após as injeções.

Foram observados se os seguintes sinais inflamatórios estavam presentes após as injeções: injeção ciliar, hipópio, células inflamatórias na câmara anterior e vítreo anterior, formação de catarata, opacidades vítreas, aspecto da retina e do nervo óptico. A avaliação da reação inflamatória foi realizada com uma fenda de 1x1 mm e os achados foram quantificados de acordo com os critérios estabelecidos por Jabs et al.¹¹⁹

3.4 Estudo farmacocinético

Para determinar a meia-vida do MPA no vítreo foram utilizados 16 animais, divididos em 4 grupos com 4 animais em cada grupo. Todos os animais foram submetidos à injeção intravítrea de 1 mg de MPA em 0,1 mL de solução no olho direito e 0,1mL do veículo no olho esquerdo. Os grupos tiveram os animais sacrificados em diferentes intervalos de tempo (1, 7, 15 e 30 dias após a injeção), sendo submetidos à biomicroscopia e à oftalmoscopia binocular indireta antes do sacrifício. Após a enucleação, o segmento anterior foi removido e o vítreo foi coletado e armazenado a -18°C para análise por CLAE. Amostras de sangue periférico também foram coletadas para avaliar a presença do MPA na circulação sistêmica por CLAE.

O sistema cromatográfico utilizado consiste em um equipamento da marca Merck-Hitachi LaChrom Elite equipado com autoinjeter (modelo L-2200, Merck-Hitachi, Alemanha), com volume de injeção definido em 100 µL e uma bomba (modelo L-2130, Merck-Hitachi, Alemanha) com taxa de fluxo constante de 1,4 mL/min, acoplado a um detector UV-VIS (modelo L-2450; Merck-Hitachi, Alemanha) com comprimento de onda definido em 215 nm. A separação cromatográfica foi realizada utilizando uma coluna C18 modelo ACE 5 (Advanced Chromatography Technologies, Escócia) de 7,8 mm de diâmetro e 250 mm de comprimento, mantida a 50 °C em forno modelo L-2300 (Merck-Hitachi, Alemanha). Uma mistura (32:68 v/v) de acetonitrila (Merck, Darmstadt, Alemanha) e tampão fosfato (40 mM, pH 3,0) foi

empregada como fase móvel. Sob essas condições experimentais, o tempo de retenção do MPA no sistema foi de 14 minutos.

Preparação das amostras: As amostras congeladas de vítreo e sangue foram descongeladas em temperatura ambiente. Após breve mistura, 500 µL da fase móvel foram adicionados a 500 µL de amostras de vítreo e sangue. Após serem misturadas por 1 minuto, as amostras foram filtradas (Durapore, 0,2 µm, Millipore) e 100 µL foram injetados na coluna. Para reduzir a variabilidade do experimento, todas as amostras foram quantificadas no mesmo experimento.

Solução padrão estoque de MPA 0.5 mg/mL foi preparada em metanol. Essa solução foi adicionada às amostras de vítreo e sangue para preparar 6 amostras com concentrações de MPA na faixa de 0,25 - 15,0 µg/mL (0,25, 0,5, 2, 5, 10 e 15 µg/mL).

O modelo farmacocinético foi desenvolvido utilizando como referência os estudos já descritos na literatura^{120, 121}. Todos os dados foram colocados em uma curva exponencial de acordo com a Equação 1 e a meia-vida estimada para eliminação do MPA foi calculada de acordo com a Equação 2.

$$C_{(t)} = C_0 \exp^{-kt} \quad (\text{Equação 1}),$$

$$t_{1/2} = 0.693/k \quad (\text{Equação 2}),$$

onde C (µg/mL) e C_0 (µg/mL) representam respectivamente a concentração do MPA em qualquer tempo e em t_0 , t (dia) é o tempo após a injeção, e k (dia⁻¹) representa uma constante.

3.5 Eletrorretinografia

Antes da realização do ERG, as pupilas foram dilatadas com colírio de tropicamida 1%. Os animais foram adaptados ao escuro por 1 hora, posicionados lateralmente sobre um suporte adaptado ao Ganzfeld (LKC 2504B) e mantidos aquecidos por uma coberta dentro de uma gaiola de Faraday (**Figura 4**). Foram registrados os traçados de ambos os olhos separadamente, de forma que, enquanto os registros do olho direito eram obtidos, o olho esquerdo permanecia com um tampão para manter a adaptação ao escuro. Após a obtenção dos registros do primeiro olho, iniciavam-se os registros do segundo.

O sistema de iluminação foi constituído por uma lâmpada de xenônio que era controlada pelo fotoestimulador Grass modelo PS33 e cuja intensidade era atenuada por filtros de densidades neutras.

Figura 4 - Coelho anestesiado, posicionado lateralmente sobre o suporte adaptado ao Ganzfeld

Foi utilizado o eletrodo bipolar do tipo lente sobre a córnea (GoldLens; Doran Instruments Inc., Littleton, MA) e o eletrodo-terra fixado na orelha com gel para eletroencefalografia (Grass E5; Grass-Telefactor, West Warwick, RI). Os sinais foram amplificados (amplificador Grass) com filtragem de 0,3 a 1000 Hz e monitorados em um osciloscópio (TDS 210, Tektronix, Richardson, TX). O olho testado foi constantemente lubrificado com metilcelulose 1% (Ophthalmos, São Paulo SP).

Foi utilizado um sistema de aquisição e análise de dados desenvolvido e gentilmente cedido por Steven Nusinowitz (Professor Assistente de Oftalmologia/Laboratório de Fisiologia Visual) e John Ramirez, no Jules Stein Eye Institute (UCLA, Los Angeles, EUA). O sistema permite controle digital da frequência e duração do estímulo, análise dos registros integrada ao Microsoft Excel 2007, indexação dos parâmetros analisados (onda-a e onda-b) e visualização em tempo real de cada etapa do ERG.

O protocolo utilizado foi uma ampliação do protocolo-padrão proposto pela ISCEV (*International Society for Clinical Electrophysiology of Vision*)¹⁰⁵. O protocolo incluiu diferentes intensidades de flashes na condição escotópica e variação da frequência temporal na resposta de flicker em condições fotópicas. Foram realizados os seguintes passos, iniciados com o animal previamente adaptado ao escuro por 1 hora.

1. ERGs de flashes sob adaptação ao escuro, na seguinte sequência de apresentação de estímulos:

1.1 - Cinco flashes de $0,003 \text{ cd.s/m}^2$ com 5 segundos de intervalo entre cada flash;

1.2 - Após 20 segundos de adaptação ao escuro, cinco flashes de $0,03 \text{ cd.s/m}^2$ com 10 segundos de intervalo entre cada flash;

- 1.3 - 60 segundos de adaptação ao escuro seguidos de cinco flashes de $0,3 \text{ cd.s/m}^2$ com 10 segundos de intervalo entre cada flash;
 - 1.4 - Após 120 segundos de adaptação ao escuro, apresentação de cinco flashes de 3 cd.s/m^2 com 14 segundos de intervalo entre cada flash;
 - 1.5 - Após mais 120 segundos de adaptação ao escuro, apresentação de cinco flashes de 30 cd.s/m^2 com 14 segundos de intervalo entre cada flash.
2. Resposta de cones: os animais foram adaptados à luz de fundo de 25 cd/m^2 por 2 minutos e as respostas de seis flashes de 3 cd.s/m^2 , com 5 segundos de intervalo entre os flashes, foram gravadas.
 3. Respostas intermitentes (flicker): em seguida, foram registradas as respostas a estímulos de luz de 3 cd.s/m^2 , com frequências de 12, 18, 24 e 30 Hz na presença de luz de fundo de 25 cd/m^2 , com duração de 6 segundos em cada registro.

O ERG realizado antes da injeção foi comparado com o ERG realizado 7,15 e 30 dias após a injeção. Os valores de amplitude e tempo implícito das ondas a e b obtidos no ERG foram analisados. Em cada grupo, foram realizadas comparações apenas entre os olhos que receberam MPA, e entre os olhos que receberam MPA com os olhos que receberam veículo, antes e nos diferentes intervalos de tempo após a injeção.

Outro método utilizado para a análise do ERG foi o estudo da relação entre a amplitude da onda-b e a intensidade do estímulo luminoso. Com os dados obtidos nos registros escotópicos foi possível fazer a relação logaritmo da amplitude da onda-b *versus* logaritmo da intensidade do flash. Esse tipo de gráfico pode ser realizado plotando-se as respostas escotópicas de acordo com a intensidade dos flashes emitidos, modelado

por uma sigmoide de acordo com a equação de Hill ¹²²: $V = V_{max} \cdot \frac{I^n}{K^n + I^n}$, onde V é a amplitude da onda-b obtida com um flash de intensidade I , V_{max} é a amplitude máxima da onda-b, K é a constante de semissaturação, representando a intensidade do estímulo luminoso que resulta em uma resposta equivalente a 50% da amplitude máxima ($V_{max}/2$) e n é o coeficiente de Hill, que informa sobre o ganho da resposta.

3.6 Morfologia

Após a realização do último ERG, 30 dias após a injeção, todos os animais foram sacrificados e os olhos preparados para análise histológica. Imediatamente após o sacrifício, os olhos foram enucleados, o segmento anterior foi seccionado e o cristalino removido. O segmento posterior foi fixado em solução ALFAC (álcool 80%, formaldeído e ácido acético glacial). As amostras foram incluídas em parafina e os cortes de espessura total (retina, coróide e esclera) de 7 μ m da médio periferia inferior foram corados com hematoxilina e eosina (Sigma-Aldrich Co., St. Louis, MO). A microscopia de luz foi realizada com um microscópio Leica DMRB (Leica Microsystems, Wetzlar, Alemanha) e todas as lâminas foram avaliadas pelo mesmo pesquisador. Foi realizado um estudo descritivo, comparando os olhos que receberam injeção do MPA com os olhos contralaterais do mesmo animal, que receberam injeção do veículo. A espessura e a organização de cada camada retiniana foram analisadas.

3.7 Análise Estatística

As variáveis quantitativas (amplitude e tempo implícito das ondas a e b) foram descritas em médias e desvios-padrão (DP). As análises estatísticas foram realizadas utilizando o programa Statistica, versão 6.0 (StatSoft Inc., Tulsa, OK) e foi adotado um nível de significância de 0,05 ($\alpha = 5\%$).

Os grupos foram comparados em relação às medidas iniciais e 7, 15 e 30 dias após a injeção. Para avaliar as diferenças antes e após as injeções foi utilizado o teste de análise de variância (ANOVA) com medidas repetidas. O teste de Fisher foi usado como teste *post hoc* para determinar as diferenças significantes entre as médias identificadas pela ANOVA.

Os valores de V_{max} , K e n antes e 7, 15, 30 dias após a injeção de MPA em todos os grupos foram inicialmente comparados através de um teste de análise de variância (ANOVA de um fator, $\alpha = 0,05$). Para as doses nas quais houve diferenças significativas, foi realizado o teste t de Student bicaudal pareado grupo a grupo, com a correção de Bonferroni adequada ao número de comparações ($\alpha = 0,0125$), para determinar quais combinações de dose intravítrea de MPA e intervalos de tempo após a injeção apresentaram diferenças estatisticamente significativas.

4 Resultados

4.1 Alterações clínicas

Não foi observado nenhum caso de opacidade corneana, hemorragia vítrea, descolamento de retina e atrofia do nervo óptico nos olhos injetados com MPA ou veículo trinta dias após a injeção. Um dos olhos do grupo que recebeu 0,005 mg de MPA desenvolveu uma discreta opacidade no cristalino, mas não apresentou reação inflamatória no segmento anterior. A presença de células na câmara anterior e no vítreo foi observada em 6 de 20 olhos que receberam MPA e em 3 de 20 olhos que receberam o veículo (Tabela 1).

Tabela 1 - Alterações encontradas na biomicroscopia com lâmpada de fenda realizada 30 dias após a injeção em todos os olhos que receberam MPA e veículo

Dose de MPA	MPA			Veículo		
	Olhos	Células/flare CA	Células vítreo	Olhos	Células/flare CA	Células vítreo
0,005 mg	1	1+	1+	1	1+	
0,05 mg	1	1+	1+			
0,2 mg	2	3+				
1 mg	1	1+	2+	1		1+
10 mg	1	1+		1	1+	

CA = câmara anterior

4.2 Estudo farmacocinético

O limite de detecção dos ensaios de CLAE para a determinação do MPA presente no vítreo nos diferentes intervalos de tempo, após a injeção intravítrea, foi de 1 µg/mL. Os valores das concentrações de MPA nas amostras de vítreo encontram-se na **Tabela 2**.

Os valores foram convertidos para logaritmo natural ($\log_n$) e a curva que representa a concentração do MPA no vítreo nos diferentes intervalos de tempo foi obtida através de análise de regressão linear ($y = 6,032 - 0,125x$), com coeficiente de determinação (r^2) de 0,993 e $p=0,0035$ (**Figura 5**). A meia-vida do MPA no vítreo ($t_{1/2}$) foi de $5,0 \pm 0,3$ dias e o MPA foi detectado no vítreo por 29 dias.

O MPA não foi detectado em nenhuma amostra de vítreo do olho contralateral e de sangue periférico dos 16 animais.

Tabela 2 - Concentração de MPA no vítreo de coelhos após injeção intravítrea de 1 mg

Tempo	Concentração de MPA no vítreo (µg/ml)				Média (µg/mL)	DP (µg/mL)
	Amostra 1	Amostra 2	Amostra 3	Amostra 4		
1 dia	488,67	428,23	401,89	411,19	432,49	39,00
7 dias	101,71	178,13	189,14	166,34	131,30	63,37
15 dias	91,37	78,28	56,24	80,1	76,49	14,64
30 dias	nd	12,1	nd	8,56	5,14	6,10

nd = não detectado

DP = desvio padrão

Figura 5 - Gráfico da curva de regressão linear da concentração de MPA no vítreo em função do tempo, após injeção intravítrea de 1 mg

4.3 Achados eletrorretinográficos

As variáveis analisadas foram a amplitude e tempo implícito da onda-a e da onda-b nas condições escotópicas ($0,003 \text{ cd.s/m}^2$, $0,03 \text{ cd.s/m}^2$, $0,3 \text{ cd.s/m}^2$, 3 cd.s/m^2 e 30 cd.s/m^2), fotópica e flicker. Também foram analisadas a relação amplitude da onda-b / amplitude da onda-a na condição ecotópica 30 cd.s/m^2 e os valores de V_{max} , K e n .

Os resultados da amplitude e tempo implícito das ondas a e b encontram-se nas **Tabelas 3 a 8**. Na análise comparativa entre os olhos que receberam as diferentes doses de MPA, o grupo de $0,005 \text{ mg}$ na condição escotópica 30 cd.s/m^2 apresentou um aumento estatisticamente significativo ($p=0,036$) da amplitude da onda-a 30 dias após a injeção ($-40,8 \text{ } \mu\text{V}$) em relação ao momento pré-injeção ($-26,6 \text{ } \mu\text{V}$) (**Tabela 7**).

A análise comparativa entre os olhos que receberam MPA com os olhos que receberam veículo evidenciou uma alteração estatisticamente significativa ($p = 0,001$) no grupo de 0,2 mg na condição escotópica $0,003 \text{ cd.s/m}^2$, com um aumento da amplitude da onda-b nos olhos que receberam MPA ($22,6 \text{ } \mu\text{V}$) em relação aos olhos que receberam veículo ($12,2 \text{ } \mu\text{V}$), observada 30 dias após a injeção (**Tabela 3**).

Para os outros grupos, não houve diferença estatística entre a amplitude e tempo implícito das ondas a e b nas condições escotópicas e fotópicas, antes e após a injeção. Os registros dos exames eletrorretinográficos realizados em todos os animais, antes e 7, 15 e 30 dias após a injeção das cinco doses de MPA no olho direito e do veículo no olho esquerdo, encontram-se nas **Tabelas 11 a 50 (anexos)**. Devido a problemas técnicos no aparelho, não foi possível realizar o ERG no sétimo dia após a injeção no grupo de 10 mg, motivo pelo qual os dados não estão nas tabelas e gráficos.

Tabela 3 - Média e desvio padrão da amplitude e tempo implícito das ondas a e b na condição escotópica 0,003 cd.s/m² nos 5 grupos, antes e 7,15 e 30 dias após a injeção intravítrea de MPA. Estão representados os resultados das 5 doses de MPA testadas

Dose de MPA	Tempo	Olho	Amplitude onda-a (µV)		Tempo implícito onda-a (ms)		Amplitude onda-b (µV)		Tempo implícito onda-b (ms)	
			Média	DP	Média	DP	Média	DP	Média	DP
0,005 mg	Pré-injeção	MPA	-7,8	0,4	22,5	5,6	14,3	2,0	67,8	3,4
		Veículo	-7,6	0,7	31,7	8,0	10,1	1,2	62,4	3,9
	7 dias	MPA	-9,1	1,8	8,4	8,4	13,5	4,9	74,5	2,2
		Veículo	-9,3	1,9	20,8	6,8	12,3	2,1	60,6	7,7
	15 dias	MPA	-8,9	1,7	18,3	4,6	16,7	5,2	78,1	2,8
		Veículo	-18,2	6,0	20,9	13,9	24,8	6,7	60,5	1,2
	30 dias	MPA	-8,0	1,7	18,2	7,3	20,2	2,1	76,4	4,9
		Veículo	-8,6	1,6	24,6	9,3	15,4	3,8	71,1	5,5
0,05 mg	Pré-injeção	MPA	-7,3	0,8	12,4	1,3	19,9	3,1	72,3	3,1
		Veículo	-10,2	4,9	24,6	6,7	15,4	3,7	64,8	4,7
	7 dias	MPA	-7,3	0,9	11,7	11,7	11,1	1,8	77,3	4,3
		Veículo	-12,9	4,4	26,1	8,2	16,8	3,4	71,0	6,1
	15 dias	MPA	-9,7	1,8	16,5	12,6	16,2	3,8	74,9	10,3
		Veículo	-12,8	7,0	15,1	6,6	16,1	9,3	61,5	8,7
	30 dias	MPA	-6,2	1,3	13,1	7,6	17,4	4,2	77,3	3,6
		Veículo	-6,8	1,0	23,7	11,1	11,2	0,8	68,9	4,7
0,2 mg	Pré-injeção	MPA	-6,7	1,1	28,6	4,5	16,0	3,4	74,3	3,9
		Veículo	-9,0	4,3	23,7	10,5	13,6	4,5	64,5	8,3
	7 dias	MPA	-6,7	0,9	7,0	7,0	9,9	1,9	73,9	7,6
		Veículo	-6,7	0,6	12,5	12,0	10,3	1,2	71,6	9,9
	15 dias	MPA	-6,4	1,8	21,9	16,7	10,1	1,4	82,5	11,3
		Veículo	-7,0	1,9	18,1	12,4	11,4	3,9	66,1	10,2
	30 dias	MPA	-9,9	3,6	16,5	11,4	22,6*	8,4	71,0	5,9
		Veículo	-7,5	0,9	9,0	5,8	12,2*	3,1	61,1	16,0
1 mg	Pré-injeção	MPA	-7,0	0,6	27,3	8,9	18,8	3,4	73,7	5,4
		Veículo	-6,5	1,1	19,3	8,1	9,5	2,2	52,9	16,4
	7 dias	MPA	-6,8	1,1	12,7	12,7	9,0	0,4	66,8	9,1
		Veículo	-7,6	2,1	12,5	8,7	11,3	6,5	76,8	9,5
	15 dias	MPA	-5,8	0,8	11,4	10,2	10,2	1,3	75,1	2,9
		Veículo	-6,4	1,1	23,3	11,5	10,1	1,4	74,2	3,9
	30 dias	MPA	-7,2	1,5	23,6	7,7	19,3	8,2	74,8	3,8
		Veículo	-6,9	0,8	28,1	4,9	9,9	2,0	72,5	2,6
10 mg	Pré-injeção	MPA	-5,9	1,3	26,5	11,1	5,9	1,4	76,5	28,4
		Veículo	-7,7	6,2	13,8	6,5	8,2	5,7	74,8	17,3
	7 dias	MPA	...	...	...	...	...	...	...	...
		Veículo	...	...	...	...	...	...	...	...
	15 dias	MPA	-3,4	0,7	4,8	2,1	3,8	1,1	58,3	20,7
		Veículo	-3,7	1,7	11,3	3,2	3,3	2,0	59,0	5,1
	30 dias	MPA	-3,7	1,8	12,8	7,5	5,3	2,3	59,0	4,8
		Veículo	-3,2	2,3	15,3	3,2	5,1	2,4	47,5	10,6

* p < 0,05

DP=desvio padrão

(...)=não realizado

Tabela 4 - Média e desvio padrão da amplitude e tempo implícito das ondas a e b na condição escotópica 0,03 cd.s/m² nos 5 grupos, antes e 7,15 e 30 dias após a injeção intravítrea de MPA. Estão representados os resultados das 5 doses de MPA testadas

Dose de MPA	Tempo	Olho	Amplitude onda-a (µV)		Tempo implícito onda-a (ms)		Amplitude onda-b (µV)		Tempo implícito onda-b (ms)	
			Média	DP	Média	DP	Média	DP	Média	DP
0,005 mg	Pré-injeção	MPA	-6,8	1,1	12,2	3,7	33,5	6,9	71,6	3,0
		Veículo	-8,8	1,3	12,6	5,8	23,1	3,6	63,9	3,8
	7 dias	MPA	-9,8	1,0	7,5	7,5	33,6	14,6	68,5	4,9
		Veículo	-8,1	2,3	11,9	1,4	30,5	10,9	64,8	2,2
	15 dias	MPA	-9,1	2,0	17,7	7,0	44,7	14,7	72,8	2,7
		Veículo	-20,7	8,7	17,9	7,0	51,5	14,2	62,8	5,3
	30 dias	MPA	-7,8	2,1	13,1	7,3	58,5	3,8	70,5	3,7
		Veículo	-8,9	1,5	18,6	7,4	41,4	9,4	66,6	3,4
	Pré-injeção	MPA	-7,5	0,8	14,7	7,1	42,1	6,7	69,0	4,9
		Veículo	-8,6	2,7	12,6	8,3	32,9	3,1	63,4	4,5
0,05 mg	7 dias	MPA	-7,5	0,8	12,0	12,0	30,7	4,7	66,9	2,1
		Veículo	-12,4	7,1	10,0	5,9	34,3	8,4	64,5	4,3
	15 dias	MPA	-8,7	0,6	12,3	4,5	40,0	8,7	67,8	4,5
		Veículo	-12,9	5,4	14,1	5,6	31,5	7,1	62,4	4,1
	30 dias	MPA	-6,9	1,1	19,8	12,0	44,6	17,6	73,1	3,2
		Veículo	-6,1	1,3	12,3	7,6	25,9	5,5	65,8	1,7
	Pré-injeção	MPA	-6,9	0,8	10,4	8,5	41,2	11,0	68,7	5,3
		Veículo	-8,8	3,3	18,1	13,2	29,6	3,2	59,6	1,2
	7 dias	MPA	-7,2	1,2	17,4	1,7	29,9	4,6	70,2	2,4
		Veículo	-7,2	0,2	21,4	8,3	28,6	1,8	67,4	6,7
0,2 mg	15 dias	MPA	-6,2	0,7	16,1	6,6	23,5	8,3	70,8	1,8
		Veículo	-5,6	0,9	11,3	4,0	29,5	7,8	67,8	4,6
	30 dias	MPA	-10,4	4,6	20,9	7,5	47,6	8,9	68,4	7,6
		Veículo	-13,9	0,8	18,5	7,1	41,9	19,7	63,4	4,2
	Pré-injeção	MPA	-6,4	0,9	13,8	11,2	43,1	5,7	72,6	4,4
		Veículo	-7,4	0,8	13,4	8,0	29,5	6,5	61,8	2,1
	7 dias	MPA	-6,0	0,4	11,2	11,2	23,6	4,6	69,1	5,6
		Veículo	-6,9	1,8	21,6	12,2	24,1	4,5	70,3	1,6
	15 dias	MPA	-6,8	1,7	15,5	8,4	34,7	5,6	68,8	4,2
		Veículo	-6,8	0,8	18,1	9,4	33,2	8,5	65,4	4,8
1 mg	30 dias	MPA	-7,1	1,6	17,2	9,0	55,8	29,5	69,1	2,6
		Veículo	-5,5	2,5	12,0	8,0	32,6	5,9	65,5	4,2
	Pré-injeção	MPA	-3,5	1,9	11,8	4,3	22,6	15,6	55,8	6,4
		Veículo	-6,8	3,8	16,5	7,7	29,4	17,6	63,0	2,4
	7 dias	MPA								
		Veículo								
	15 dias	MPA	-7,2	4,4	22,3	11,1	16,2	3,4	62,5	7,0
		Veículo	-5,4	2,0	14,5	4,5	16,7	5,2	58,3	5,9
	30 dias	MPA	-5,7	1,5	18,8	10,5	21,8	10,4	60,8	4,8
		Veículo	-5,5	0,6	21,3	5,9	25,3	6,0	60,0	6,6

DP=desvio padrão

(...)=não realizado

Tabela 5 - Média e desvio padrão da amplitude e tempo implícito das ondas a e b na condição escotópica 0,3 cd.s/m² nos 5 grupos, antes e 7,15 e 30 dias após a injeção intravítrea de MPA. Estão representados os resultados das 5 doses de MPA testadas

Dose de MPA	Tempo	Olho	Amplitude onda-a (µV)		Tempo implícito onda-a (ms)		Amplitude onda-b (µV)		Tempo implícito onda-b (ms)	
			Média	DP	Média	DP	Média	DP	Média	DP
0,005 mg	Pré-injeção	MPA	-6,2	1,2	15,1	3,5	62,6	9,8	59,8	3,2
		Veículo	-6,4	1,8	14,4	6,6	56,5	12,1	55,0	4,2
	7 dias	MPA	-6,1	2,1	15,9	6,4	64,1	27,0	59,5	2,9
		Veículo	-8,8	2,1	20,3	3,4	67,0	18,4	56,3	3,0
	15 dias	MPA	-10,3	4,8	17,7	7,4	80,6	27,9	58,7	2,5
		Veículo	-16,6	7,9	14,9	11,2	95,7	30,9	58,3	2,6
	30 dias	MPA	-8,4	2,0	21,4	4,1	114,8	15,6	58,4	2,6
		Veículo	-7,0	0,4	12,3	10,0	80,6	26,8	57,0	1,8
0,05 mg	Pré-injeção	MPA	-8,0	2,3	14,0	5,0	81,0	20,9	60,1	2,4
		Veículo	-7,9	3,4	14,6	5,3	78,6	11,6	55,7	2,7
	7 dias	MPA	-7,2	2,1	18,6	7,3	68,6	11,5	56,7	1,0
		Veículo	-14,4	4,8	21,3	2,1	74,4	9,1	59,8	2,2
	15 dias	MPA	-8,5	1,5	14,9	4,7	71,4	16,1	60,1	1,2
		Veículo	-14,5	5,2	12,8	6,5	68,9	14,0	54,5	3,9
	30 dias	MPA	-6,7	1,9	17,2	7,3	88,2	30,4	60,1	1,9
		Veículo	-7,6	1,0	17,7	3,6	67,5	11,1	56,3	2,4
0,2 mg	Pré-injeção	MPA	-8,9	2,8	16,5	3,5	78,2	25,6	61,0	4,0
		Veículo	-8,6	5,1	16,4	5,5	67,0	9,4	56,1	3,0
	7 dias	MPA	-7,7	1,1	11,3	6,1	74,0	12,6	61,1	1,9
		Veículo	-6,6	0,9	15,2	5,4	77,7	8,9	58,2	3,6
	15 dias	MPA	-5,8	0,4	15,8	6,6	62,6	14,6	60,1	1,6
		Veículo	-7,2	0,9	16,1	2,3	80,3	17,6	58,5	2,6
	30 dias	MPA	-8,4	4,2	16,8	8,7	96,9	13,6	55,6	3,3
		Veículo	-13,3	2,4	17,5	6,1	93,5	33,0	54,3	5,2
1 mg	Pré-injeção	MPA	-6,4	0,7	15,3	6,7	75,8	13,3	64,2	4,8
		Veículo	-7,0	0,7	13,0	7,6	79,4	16,1	57,4	3,1
	7 dias	MPA	-6,1	1,7	15,7	6,6	67,3	15,1	56,8	1,4
		Veículo	-6,5	1,1	19,6	6,4	69,1	15,4	60,2	1,6
	15 dias	MPA	-7,7	0,5	18,8	3,0	88,6	8,0	59,0	2,1
		Veículo	-6,5	0,8	15,9	2,4	89,3	19,0	55,2	4,5
	30 dias	MPA	-6,4	2,4	20,6	3,1	105,2	47,0	55,9	1,8
		Veículo	-7,2	0,8	16,0	7,1	84,5	16,2	56,9	2,0
10 mg	Pré-injeção	MPA	-3,7	1,0	14,8	2,5	62,3	37,2	48,5	3,8
		Veículo	-7,1	4,4	15,0	3,3	70,9	33,5	54,3	4,2
	7 dias	MPA	...	...	...	...	...	...	...	...
		Veículo	...	...	...	...	...	...	...	...
	15 dias	MPA	-7,4	1,8	16,5	2,9	47,3	23,5	52,8	8,1
		Veículo	-7,8	2,3	16,3	2,6	51,9	16,6	56,0	4,2
	30 dias	MPA	-6,2	2,2	14,3	2,4	68,7	23,3	52,3	1,3
		Veículo	-6,1	1,6	16,5	2,6	79,5	8,9	51,8	5,6

DP=desvio padrão

(...)=não realizado

Tabela 6 - Média e desvio padrão da amplitude e tempo implícito das ondas a e b na condição escotópica 3 cd.s/m² nos 5 grupos, antes e 7,15 e 30 dias após a injeção intravítrea de MPA. Estão representados os resultados das 5 doses de MPA testadas

Dose de MPA	Tempo	Olho	Amplitude onda-a (µV)		Tempo implícito onda-a (ms)		Amplitude onda-b (µV)		Tempo implícito onda-b (ms)	
			Média	DP	Média	DP	Média	DP	Média	DP
0,005 mg	Pré-injeção	MPA	-8,8	1,0	17,5	2,8	78,4	7,8	46,9	1,6
		Veículo	-9,4	1,8	16,7	3,8	90,9	17,4	49,0	4,3
	7 dias	MPA	-10,5	4,2	17,3	1,6	98,0	34,0	46,3	4,0
		Veículo	-9,3	2,8	18,4	2,0	106	11,2	46,8	5,1
	15 dias	MPA	-10,6	2,5	17,7	3,3	107,3	37,6	48,1	1,9
		Veículo	-15,8	5,6	18,3	2,5	115,6	30,8	45,1	1,1
0,05 mg	30 dias	MPA	-11,8	2,0	16,9	1,4	132,3	25,1	48,1	2,9
		Veículo	-9,3	1,4	17,7	1,7	106,7	32,3	44,8	2,4
	Pré-injeção	MPA	-10,6	2,8	16,8	1,8	104,7	24,9	43,0	1,4
		Veículo	-9,6	2,0	15,3	3,0	102,8	19,4	46,4	9,1
	7 dias	MPA	-9,2	1,4	18,2	3,0	94,8	14,5	48,5	2,4
		Veículo	-15,1	1,4	16,2	3,4	111,1	17,7	45,9	3,9
0,2 mg	15 dias	MPA	-10,1	1,8	15,3	4,1	83,7	20,4	49,0	1,5
		Veículo	-16,0	5,2	17,6	3,8	92,5	15,4	44,9	5,2
	30 dias	MPA	-10,4	3,5	18,3	1,3	98,2	31,0	48,7	2,2
		Veículo	-7,1	6,4	17,9	0,9	85,8	12,7	45,0	2,6
	Pré-injeção	MPA	-9,5	1,7	16,3	2,2	104,9	21,4	42,1	3,7
		Veículo	-11,6	3,9	17,6	1,9	86,1	5,4	44,6	5,6
1 mg	7 dias	MPA	-9,3	1,5	18,3	2,3	107,7	24,6	47,4	4,2
		Veículo	-8,4	4,5	18,6	2,0	121,5	15,1	47,2	4,2
	15 dias	MPA	-8,6	1,9	18,0	3,2	99,4	28,3	47,0	2,3
		Veículo	-10,1	1,5	18,6	1,2	111,4	25,1	44,4	5,0
	30 dias	MPA	-12,2	1,6	17,3	2,4	107,8	16,3	44,9	3,4
		Veículo	-13,7	1,6	16,5	2,2	122,3	40,8	42,6	3,2
10 mg	Pré-injeção	MPA	-9,7	1,2	18,0	0,8	85,7	34,8	50,0	7,7
		Veículo	-9,8	0,7	18,4	0,6	103,0	19,7	49,2	10,2
	7 dias	MPA	-9,6	2,4	16,0	0,8	106,4	34,8	43,6	3,6
		Veículo	-8,9	3,0	18,9	3,0	111,3	19,7	46,2	1,9
	15 dias	MPA	-10,3	1,2	18,3	0,9	120,3	34,8	45,9	4,2
		Veículo	-11,3	0,4	17,8	3,1	115,3	19,7	43,1	4,2
10 mg	30 dias	MPA	-11,2	2,3	15,8	3,5	125,3	34,8	45,5	3,4
		Veículo	-10,0	2,6	18,4	1,3	120,9	19,7	43,3	3,0
	Pré-injeção	MPA	-14,2	11,0	16,3	2,5	93,0	11,0	37,8	11,0
		Veículo	-8,4	5,2	15,5	3,3	106,4	5,2	43,5	5,2
	7 dias	MPA	...	...	...	...	...	...	...	...
		Veículo	...	...	...	...	...	...	...	...
10 mg	15 dias	MPA	-8,7	2,3	16,0	2,9	84,2	38,0	40,3	2,3
		Veículo	-7,7	1,9	16,5	2,6	84,0	11,0	47,5	1,9
	30 dias	MPA	-7,4	1,5	16,5	2,4	90,8	22,1	42,3	1,5
		Veículo	-10,4	2,8	15,0	2,6	107,6	9,2	45,8	1,6

DP=desvio padrão

(...)=não realizado

Tabela 7 - Média e desvio padrão da amplitude e tempo implícito das ondas a e b na condição escotópica 30 cd.s/m² nos 5 grupos, antes e 7,15 e 30 dias após a injeção intravítrea de MPA. Estão representados os resultados das 5 doses de MPA testadas

Dose de MPA	Tempo	Olho	Amplitude onda-a (µV)		Tempo implícito onda-a (ms)		Amplitude onda-b (µV)		Tempo implícito onda-b (ms)	
			Média	DP	Média	DP	Média	DP	Média	DP
0,005 mg	Pré-injeção	MPA	-26,6*	2,4	15,6	1,0	84,0	11,1	48,9	4,8
		Veículo	-30,4	5,8	15,9	0,8	96,4	17,0	45,9	1,8
	7 dias	MPA	-21,4	7,7	14,5	0,6	98,1	35,4	38,7	2,4
		Veículo	-30,1	11,4	15,5	0,8	119,0	16,0	41,9	2,8
	15 dias	MPA	-28,9	12,8	15,5	0,8	110,5	47,3	40,2	2,0
		Veículo	-29,7	6,6	15,9	1,3	130,6	34,8	45,9	3,3
	30 dias	MPA	-40,8*	11,0	15,9	0,8	164,4	32,4	45,0	2,5
		Veículo	-45,9	10,6	15,2	0,5	105,6	38,0	44,4	1,8
0,05 mg	Pré-injeção	MPA	-36,6	4,4	17,0	2,4	116,1	18,5	54,5	6,0
		Veículo	-38,5	1,9	15,6	0,7	118,7	11,0	50,3	7,9
	7 dias	MPA	-25,7	3,3	15,9	0,6	105,9	18,3	36,8	2,9
		Veículo	-28,7	5,4	16,8	1,0	119,4	20,7	44,7	3,8
	15 dias	MPA	-35,3	11,7	15,8	1,3	101,2	14,6	40,3	5,7
		Veículo	-36,1	10,8	16,3	2,0	98,3	19,5	43,8	5,2
	30 dias	MPA	-29,1	2,1	16,1	1,0	114,1	35,8	48,0	5,4
		Veículo	-29,6	6,9	15,9	0,7	95,3	13,7	50,1	4,7
0,2 mg	Pré-injeção	MPA	-43,0	12,4	15,6	1,0	116,7	28,9	47,9	0,5
		Veículo	-39,5	5,7	16,1	1,3	100,0	9,1	47,7	11,1
	7 dias	MPA	-30,2	2,8	15,8	1,0	127,3	31,3	41,2	5,0
		Veículo	-41,2	15,1	16,1	1,1	141,5	23,5	40,0	2,8
	15 dias	MPA	-39,6	8,8	16,3	0,7	113,9	36,0	41,4	3,2
		Veículo	-35,6	7,6	15,5	0,9	132,3	30,5	40,7	4,8
	30 dias	MPA	-30,4	7,5	16,2	2,0	121,2	23,9	49,5	7,3
		Veículo	-31,1	6,8	15,0	0,6	131,0	30,7	39,4	4,3
1 mg	Pré-injeção	MPA	-34,9	3,5	15,2	0,2	73,5	34,8	51,9	6,2
		Veículo	-44,9	6,0	16,2	1,0	71,8	19,7	48,3	6,7
	7 dias	MPA	-29,4	4,8	15,5	1,2	73,5	34,8	38,1	2,8
		Veículo	-36,8	7,4	16,3	0,7	71,8	19,7	40,3	1,9
	15 dias	MPA	-44,2	15,8	15,8	0,5	73,5	34,8	41,2	4,5
		Veículo	-35,7	6,9	15,7	0,6	71,8	19,7	38,6	3,2
	30 dias	MPA	-40,2	4,6	16,6	1,2	73,5	34,8	45,5	3,7
		Veículo	-31,6	9,2	16,2	0,9	71,8	19,7	43,5	5,1
10 mg	Pré-injeção	MPA	-39,2	23,8	14,0	0,8	103,3	53,8	35,7	3,6
		Veículo	-34,5	16,3	15,5	0,6	102,6	42,4	36,5	1,7
	7 dias	MPA	...	...	...	...	...	...	...	...
		Veículo	...	...	...	...	...	...	...	...
	15 dias	MPA	-32,1	14,4	15,7	0,6	94,3	37,1	41,3	8,7
		Veículo	-20,1	9,6	15,3	1,3	84,3	18,9	45,5	11,7
	30 dias	MPA	-25,5	7,9	15,5	1,3	95,6	30,7	41,7	11,6
		Veículo	-48,0	9,3	15,3	1,0	136,9	30,1	53,0	11,9

* p < 0,05

DP=desvio padrão

(...)=não realizado

Tabela 8 - Média e desvio padrão da amplitude e tempo implícito das ondas a e b na condição fotópica nos 5 grupos, antes e 7,15 e 30 dias após a injeção intravítrea de MPA. Estão representados os resultados das 5 doses de MPA testadas

Dose de MPA	Tempo	Olho	Amplitude onda-a (μ V)		Tempo implícito onda-a (ms)		Amplitude onda-b (μ V)		Tempo implícito onda-b (ms)	
			Média	DP	Média	DP	Média	DP	Média	DP
0,005 mg	Pré-injeção	MPA	-10,4	3,0	12,0	1,8	47,8	13,8	33,7	1,2
		Veículo	-12,5	4,6	11,5	3,8	65,3	18,5	31,6	0,6
	7 dias	MPA	-13,6	1,5	3,4	3,4	44,2	12,1	36,2	3,3
		Veículo	-15,4	1,4	11,5	2,8	58,9	2,3	34,8	1,9
	15 dias	MPA	-15,5	3,8	13,1	1,2	50,4	15,9	37,4	2,4
		Veículo	-21,7	3,9	12,1	1,7	73,6	10,4	34,1	1,2
0,05 mg	30 dias	MPA	-13,8	4,1	13,6	1,7	60,8	15,0	37,1	2,7
		Veículo	-13,1	3,1	12,6	1,3	49,5	8,9	35,8	1,9
	Pré-injeção	MPA	-14,4	4,3	11,6	2,4	61,0	11,9	32,8	1,6
		Veículo	-13,9	5,7	9,5	4,5	72,5	15,0	32,0	0,9
	7 dias	MPA	-13,8	4,0	3,3	3,3	51,1	10,7	31,9	3,9
		Veículo	-17,9	5,4	14,0	2,3	66,6	11,7	33,9	2,0
0,2 mg	15 dias	MPA	-15,5	1,2	13,7	1,7	53,9	4,9	36,0	1,7
		Veículo	-27,2	18,5	13,3	3,5	69,0	24,9	33,4	2,9
	30 dias	MPA	-10,9	2,2	13,9	0,5	50,7	14,0	34,7	3,1
		Veículo	-9,1	0,7	12,8	1,7	48,7	8,6	34,7	1,3
	Pré-injeção	MPA	-12,8	2,7	11,8	2,2	63,4	17,4	32,7	0,7
		Veículo	-16,0	8,0	11,9	1,0	66,9	10,5	32,6	1,0
1 mg	7 dias	MPA	-10,2	2,3	1,4	1,4	61,8	17,5	32,6	2,1
		Veículo	-12,3	3,8	13,5	1,4	72,5	16,8	34,1	2,7
	15 dias	MPA	-13,3	3,1	13,7	1,6	67,2	12,1	34,0	1,5
		Veículo	-15,0	5,1	13,3	1,8	83,1	12,8	33,4	0,6
	30 dias	MPA	-13,9	4,0	10,3	4,5	55,2	16,4	29,5	4,4
		Veículo	-13,2	2,3	12,3	0,7	58,0	26,1	28,6	3,9
10 mg	Pré-injeção	MPA	-11,1	1,6	12,2	2,3	49,4	11,1	33,3	2,0
		Veículo	-11,7	0,8	12,7	1,1	72,2	18,8	32,8	1,0
	7 dias	MPA	-13,2	2,4	2,2	2,2	67,8	10,4	32,9	2,8
		Veículo	-13,9	4,5	13,0	2,4	69,7	18,5	31,7	1,9
	15 dias	MPA	-10,8	1,8	12,5	1,0	74,0	21,0	34,1	1,2
		Veículo	-14,5	3,5	13,5	1,3	75,3	16,9	35,1	1,8
	30 dias	MPA	-16,7	6,6	10,0	4,7	73,5	34,8	32,3	2,3
		Veículo	-15,7	3,4	11,8	2,2	71,8	19,7	33,0	3,9
	Pré-injeção	MPA	-12,6	6,8	12,5	0,6	71,5	24,8	31,5	1,3
		Veículo	-12,3	2,5	12,8	1,3	61,4	9,0	31,8	1,3
	7 dias	MPA	...	...	...	...	...	...	...	...
		Veículo	...	...	...	...	...	...	...	...
	15 dias	MPA	-12,5	2,0	11,3	2,6	67,8	12,9	30,8	1,7
		Veículo	-12,2	1,4	13,8	0,5	68,8	13,1	31,8	1,3
	30 dias	MPA	-9,8	3,8	12,3	1,7	70,9	18,3	32,5	2,5
		Veículo	-11,4	2,1	12,5	1,3	85,8	8,6	31,5	1,3

DP=desvio padrão

(...)=não realizado

Os registros do flicker foram analisados com o algoritmo de transformação rápida de Fourier, com *cut-off* de 100 Hz, utilizando o programa MATLAB (The MathWorks, Natick MA, EUA). As amplitudes e fases do 1º, 2º e 3º harmônicos dos olhos que receberam MPA e veículo foram calculadas e comparadas para cada dose, frequência e intervalo de tempo após a injeção. Os registros do primeiro harmônico apresentaram as maiores amplitudes e os menores níveis de ruído, motivo pelo qual optamos por utilizar esses dados para uma segunda comparação.

Os dados da amplitude do primeiro harmônico dos olhos injetados com as diferentes doses de MPA foram normalizados e comparados com a média da amplitude dos olhos que receberam veículo. Os valores da média da amplitude dos olhos injetados com MPA não apresentaram diferenças estatisticamente significativas. No entanto, foi possível observar uma tendência de diminuição da amplitude com as doses maiores de MPA no 7º e 15º dia após a injeção, sugerindo que as doses maiores podem causar redução da amplitude do flicker nas frequências de 12, 18 e 24 Hz (**Figura 6**).

Figura 6 - Diferença dos valores da amplitude (eixo vertical) entre os olhos que receberam MPA e veículo em função da dose (eixo horizontal), frequência do estímulo e tempo após a injeção

A análise da relação amplitude onda-b / amplitude onda-a ($\text{amp-b}/\text{amp-a}$) foi realizada em todos os grupos na condição escotópica 30 cd.s/m^2 . Os dados e as análises de regressão linear encontram-se nas **Figuras 7 a 11**. Cada ponto representa os valores da amplitude da onda-a e da onda-b de um olho. As linhas em cinza representam a média $\pm$ DP dos registros obtidos antes da injeção das diferentes doses de MPA e as outras são as curvas de regressão linear dos registros obtidos 7, 15 e 30 dias após

a injeção. Todas as curvas nos momentos pós-injeção estão dentro dos desvios-padrão dos pontos medidos antes das injeções, com 2 olhos no grupo de 0,005 mg (**Figura 7**) e 2 no grupo de 1 mg (**Figura 10**) apresentando valores fora dos limites do desvio padrão.

Figura 7 - Relação amplitude da onda-b / amplitude da onda-a no grupo de 0,005 mg na condição escotópica 30 cd.s/m², antes e nos diferentes intervalos de tempo após a injeção intravítrea de MPA

Figura 8 - Relação amplitude da onda-b / amplitude da onda-a no grupo de 0,05 mg na condição escotópica 30 cd.s/m², antes e nos diferentes intervalos de tempo após a injeção intravítrea de MPA

Figura 9 - Relação amplitude da onda-b / amplitude da onda-a no grupo de 0,2 mg na condição escotópica 30 cd.s/m², antes e nos diferentes intervalos de tempo após a injeção intravítrea de MPA

Figura 10 - Relação amplitude da onda-b / amplitude da onda-a no grupo de 1 mg na condição escotópica 30 cd.s/m², antes e nos diferentes intervalos de tempo após a injeção intravítrea de MPA

Figura 11 - Relação amplitude da onda-b / amplitude da onda-a no grupo de 10 mg na condição escotópica 30 cd.s/m², antes e nos diferentes intervalos de tempo após a injeção intravítrea de MPA

Utilizando os valores da amplitude da onda-b obtidos no ERG escotópico nas diferentes intensidades de estímulos luminosos ($0,003 \text{ cd.s/m}^2$, $0,03 \text{ cd.s/m}^2$, $0,3 \text{ cd.s/m}^2$, 3 cd.s/m^2 e 30 cd.s/m^2), foi possível determinar e comparar a amplitude máxima (V_{max}), a constante de saturação (K) e o coeficiente de Hill (n) de cada grupo, antes e depois da injeção do MPA. Os valores da média de V_{max} , K e n de cada grupo, em unidades logarítmicas, obtidos no ERG realizado antes, 7,15 e 30 dias após a injeção intravítrea de MPA, estão na **Tabela 9**.

Tabela 9 - Valores da média de V_{max} , K e n , antes e após a injeção das diferentes doses de MPA na condição escotópica

Dose de MPA	Tempo	V_{max}	K	n
0,005 mg	Pré-injeção	1,896	0,002	0,402
	7 dias	1,788	0,002	0,394
	15 dias	2,439	0,005	0,418
	30 dias	1,891	0,002	0,430
0,05 mg	Pré-injeção	2,126	0,001	0,422
	7 dias	2,231	0,001	0,437
	15 dias	2,204	0,002	0,396
	30 dias	2,154	0,004	0,425
0,2 mg	Pré-injeção	2,155	0,001	0,390
	7 dias	2,222	0,001	0,412
	15 dias	2,163	0,002	0,399
	30 dias	2,188	0,006	0,434
1,0 mg	Pré-injeção	2,071	0,002	0,414
	7 dias	2,269	0,002	0,451
	15 dias	2,358	0,003	0,391
	30 dias	1,902	0,016	0,501
10 mg	Pré-injeção	1,896	0,002	0,404
	7 dias	2,119	0,013	0,627
	15 dias	2,335	0,031	0,413
	30 dias	2,113	0,019	0,612

Não houve diferenças estatísticas nos valores de V_{max} antes e após a injeção de MPA nos 5 grupos. Entretanto, houve um aumento estatisticamente significativo do valor de K 30 dias após a injeção de MPA nos grupos de 0,05 mg ($p=0,004$), 1 mg ($p=0,034$) e 10 mg ($p=0,02$). No grupo de 0,2 mg, o aumento de K apresentou $p=0,055$, que sugere uma tendência à significância. O valor de n aumentou significativamente 30 dias após a injeção de MPA no grupo de 10 mg ($p<0,001$).

Os parâmetros V_{max} , K e n estão representados nas curvas da relação do logaritmo da amplitude da onda-b *versus* logaritmo da intensidade do flash, de acordo com a equação de Hill¹²² (**Figuras 12 a 16**). Em cada gráfico, a área em cinza representa a curva da média $\pm$ DP dos 4 olhos de cada grupo no momento pré-injeção. As outras curvas representam as médias nos diferentes intervalos de tempo após a injeção de MPA. Como pode ser observado, a partir da dose de 0,05 mg ocorre um deslocamento da curva para a direita (eixo das ordenadas) após a injeção de MPA. Isso representa um aumento da constante de semissaturação (K), indicando que após injeção foi necessário um estímulo luminoso mais intenso para atingir a mesma amplitude obtida antes da injeção.

Figura 12 - Curva de Hill para a relação log da amplitude da onda-b *versus* log intensidade do flash no grupo de 0,005 mg. Os símbolos representam os registros individuais de cada olho

Figura 13 - Curva de Hill para a relação log da amplitude da onda-b *versus* log intensidade do flash no grupo de 0,05 mg. Os símbolos representam os registros individuais de cada olho

Figura 14 - Curva de Hill para a relação log da amplitude da onda-b *versus* log intensidade do flash no grupo de 0,2 mg. Os símbolos representam os registros individuais de cada olho

Figura 15 - Curva de Hill para a relação log da amplitude da onda-b *versus* log intensidade do flash no grupo de 1 mg. Os símbolos representam os registros individuais de cada olho

Figura 16 - Curva de Hill para a relação log da amplitude da onda-b *versus* log intensidade do flash no grupo de 10 mg. Os símbolos representam os registros individuais de cada olho

4.4 Estudo morfológico

A análise morfológica foi realizada comparando-se o olho injetado com MPA com o olho contralateral do mesmo animal em cada grupo. O exame com microscopia de luz não evidenciou sinais de dano retiniano nos olhos injetados com as cinco diferentes doses de MPA, quando comparados com os olhos controles. A estrutura histológica da retina manteve-se preservada, sem evidências de desalinhamento, diminuição da espessura ou do número de células das camadas retinianas. Os cortes histológicos dos olhos injetados com MPA e veículo (um animal de cada grupo) podem ser observados nas **Figuras 17 a 21**.

Figura 17 - Microscopia óptica de retina de coelho do grupo de 0,005 mg 30 dias após a injeção intravítrea de MPA (A) e veículo (B). Nota-se que a arquitetura da retina está preservada em ambas as condições. (hematoxilina-eosina, magnificação 40X)

Figura 18 - Microscopia óptica de retina de coelho do grupo de 0,05 mg 30 dias após a injeção intravítrea de MPA (A) e veículo (B). Nota-se que a arquitetura da retina está preservada em ambas as condições. (hematoxilina-eosina, magnificação 40X)

Figura 19 - Microscopia óptica de retina de coelho do grupo de 0,2 mg 30 dias após a injeção intravítrea de MPA (A) e veículo (B). Nota-se que a arquitetura da retina está preservada em ambas as condições. (hematoxilina-eosina, magnificação 40X)

Figura 20 - Microscopia óptica de retina de coelho do grupo de 1 mg 30 dias após a injeção intravítrea de MPA (A) e veículo (B). Nota-se que a arquitetura da retina está preservada em ambas as condições. (hematoxilina-eosina, magnificação 40X)

Figura 21 - Microscopia óptica de retina de coelho do grupo de 10 mg 30 dias após a injeção intravítrea de MPA (A) e veículo (B). Nota-se que a arquitetura da retina está preservada em ambas as condições. (hematoxilina-eosina, magnificação 40X)

5 Discussão

Este estudo avaliou a farmacocinética vítrea e as alterações clínicas, funcionais e morfológicas na retina após a injeção intravítrea de diferentes doses de MPA em olhos de coelhos. A avaliação funcional mostrou que a injeção intravítrea de 0,05 a 10 mg de MPA causa danos aos fotorreceptores. No entanto, não foram observadas alterações clínicas e morfológicas sugestivas de toxicidade em nenhuma das doses testadas.

A meia-vida do MPA no vítreo foi de 5 dias e a droga foi detectável no vítreo até 29 dias após a injeção. O MPA não foi detectado no vítreo do olho contralateral e na circulação sistêmica, sugerindo que a absorção sistêmica, se existir, deve ser pouco significativa. A taxa de eliminação de uma droga da cavidade vítrea depende de características das moléculas da droga e de propriedades de difusão dos tecidos ao redor¹²³. O MPA é uma droga lipofílica e, portanto, o esperado é que sua meia-vida seja maior que as drogas hidrofílicas. Em dois estudos experimentais, Bakri et al.^{124, 125} avaliaram a farmacocinética do bevacizumabe e ranibizumabe após a injeção intravítrea em olhos de coelhos. A meia-vida do ranibizumabe foi de 2,8 dias, enquanto a do bevacizumabe foi de 4,3 dias, sendo que ambas as drogas foram detectadas no vítreo até 29 dias após a injeção. Pequenas concentrações de bevacizumabe foram encontradas nas amostras de sangue periférico e do vítreo do olho contralateral (não injetado), indicando a absorção sistêmica da droga, fato não observado com o ranibizumabe.

Por ser o primeiro relato da literatura sobre a meia-vida do MPA no vítreo, nossos resultados não podem ser comparados diretamente com outros estudos. Entretanto, como a triancinolona acetônida (TA) também é

uma droga lipofílica pouco solúvel em água, sua farmacocinética no vítreo pode ser utilizada como referência para este estudo. Chin et al.¹²⁶ utilizaram a CLAE para avaliar a farmacocinética da TA após a injeção intravítrea em olhos de coelhos e concluíram que a meia-vida da droga no vítreo foi de 2,9 dias. Oliveira et al.¹²⁷, utilizando método de detecção semelhante ao utilizado neste estudo, avaliaram a meia-vida da TA com o conservante (álcool benzílico) e de uma formulação de TA sem conservante e encontraram resultados de 8,0 e 8,2 dias, respectivamente. Esses resultados sugerem que o MPA e a TA, ambas drogas lipofílicas, apresentam tempo de eliminação aproximado após a injeção intravítrea em olhos de coelhos.

Com relação às alterações clínicas, a presença e a intensidade da reação de câmara anterior e no corpo vítreo não tiveram relação com a dose de MPA. Esses sinais foram encontrados em pelo menos um animal de cada grupo das cinco diferentes doses utilizadas, e em três olhos injetados com veículo. Não foram observados casos de inflamação severa, hipópio, descolamento de retina ou atrofia do nervo óptico e a opacidade cristaliniana observada em um dos olhos do grupo de 0,005 mg pode ter sido causada por um eventual toque da agulha que não foi detectado durante o procedimento. O fato de o exame clínico não ter sido realizado 7 e 15 dias após a injeção pode ser considerado uma limitação do estudo, pois alguns animais podem ter apresentado uma reação inflamatória mais intensa nos primeiros dias que não foi detectada, ou que já estava em regressão no momento do exame. Os sinais inflamatórios observados podem não estar necessariamente relacionados com a droga em si, pois

fatores como o pH impróprio da solução, a presença de contaminantes particulados na medicação, seringa, luvas, ou qualquer outro material utilizado durante a injeção podem induzir reação inflamatória ocular quando injetados no vítreo¹²⁸⁻¹³⁰. Além disso, apesar da solução de MPA ter sido preparada sob condições estéreis, a possibilidade de contaminação durante a manipulação não pode ser descartada.

No entanto, apesar dos fatores citados, não podemos afirmar que as alterações encontradas não representem sinais de toxicidade da droga. Nesse caso, testes de cultura e citologia do material vítreo e do humor aquoso poderiam ser úteis para uma melhor caracterização da inflamação encontrada.

Os achados eletrorretinográficos que indicam alteração funcional da retina são a redução da amplitude das ondas a e b e o aumento do tempo implícito das ondas a e b. A redução da amplitude da onda-b foi a alteração observada com maior frequência em diversos estudos sobre toxicidade retiniana de drogas, como a vancomicina¹³¹, cetoconazol¹³², miconazol¹³³, epartanamicina B¹³⁴, entre outras. Recentemente, estudos experimentais sobre toxicidade retiniana do bevacizumabe^{42,109}, infliximabe⁴⁶, adalimumabe⁴⁸, acetato de dexametasona¹⁰⁰, cetorolac e diclofenaco¹³⁵ utilizaram os valores da amplitude e tempo implícito das ondas a e b como principais parâmetros para a avaliação funcional da retina.

Neste estudo, em nenhum grupo houve redução da amplitude ou aumento do tempo implícito das ondas a e b, tanto na condição escotópica quanto na fotópica. No grupo de 0,005 mg houve um aumento da amplitude

da onda-a na condição escotópica 30 cd.s/m^2 e no grupo de 0,2 mg houve um aumento da amplitude da onda-b na condição escotópica $0,003 \text{ cd.s/m}^2$, ambos observados 30 dias após a injeção. Esses achados não eram esperados, pois mesmo nas doses mais altas não foram encontradas diferenças. Apesar de serem estatisticamente significativas, ao se analisarem os dados em conjunto, essas duas alterações não parecem sugestivas de toxicidade e devem ter ocorrido ao acaso, provavelmente devido ao pequeno número de animais em cada grupo.

Os resultados obtidos com a análise do flicker mostraram que houve uma tendência de diminuição da amplitude média após a injeção do MPA nos grupos que receberam as maiores doses da droga. Essa tendência foi observada nas frequências de 12,18 e 24 Hz, mas não na de 30 Hz, que é a frequência estudada no protocolo da ISCEV. Os resultados do flicker não foram muito consistentes, uma vez que os desvios-padrão foram grandes em todos os grupos, provavelmente devido à amostra pequena. Além disso, pelo fato de a retina de coelhos ser composta predominantemente por bastonetes, a resposta dos cones ao flicker, utilizada isoladamente, pode não ser um parâmetro adequado para estudos de toxicidade retiniana de drogas que podem acometer os fotorreceptores, principalmente quando se pretende fazer comparações com estudos em humanos⁵⁰.

A relação entre amplitude da onda-b / amplitude da onda-a (amp-b/amp-a) é uma forma de análise que pode ser utilizada para avaliação funcional da retina externa, bem como para identificar o provável local da lesão⁵⁰. Sabe-se que a onda-a representa a resposta dos fotorreceptores e a

onda-b das células bipolares na camada nuclear interna, sendo que a relação de dependência da amplitude da onda-b com a amplitude da onda-a reflete a integridade funcional dos fotorreceptores, das células bipolares e da transmissão do sinal entre elas. Quando ocorre lesão apenas nos fotorreceptores, as amplitudes devem ficar reduzidas, mas espera-se que a relação amp-b / amp-a permaneça inalterada. Quando ocorre lesão nas células bipolares ou na transmissão sináptica, espera-se uma alteração na relação amp-b / amp-a^{50,136}.

Na nossa análise, não foram observadas alterações significativas na relação amp-b / amp-a em nenhum dos grupos, conforme demonstrado nas **Figuras 7 a 11**, sugerindo integridade funcional da retina externa após a injeção intravítrea de diferentes doses de MPA.

A magnitude das amplitudes das ondas a e b dependem da intensidade do estímulo luminoso. Com estímulos muito fracos, os valores são muito baixos ou até indetectáveis pelo ERG, e aumentam gradualmente conforme aumenta a intensidade do estímulo até atingirem um nível máximo de saturação, a partir do qual o aumento do estímulo não é acompanhado por um aumento da amplitude. Por esse motivo, utilizar apenas um estímulo luminoso para comparar respostas eletrorretinográficas em estudos de toxicidade pode levar a conclusões incorretas. Desse modo, o ideal é a utilização de estímulos de diferentes intensidades, pois esse método permite avaliar os valores da amplitude máxima (V_{max}) e da constante de semissaturação (K), que representa a sensibilidade da retina externa ao estímulo luminoso. Esses parâmetros podem ser determinados em curvas

sigmoides resultantes de funções matemáticas derivadas da equação de Hill¹²², como a de Michaelis-Menten¹³⁷ e Naka-Rushton¹³⁸.

Em nossos resultados, apesar de não terem sido observadas alterações nos valores da amplitude máxima da onda-b, o aumento da constante de semissaturação nas doses de 0,05 mg, 0,2 mg, 1 mg e 10 mg sugere uma diminuição da sensibilidade retiniana. Esses achados sugerem que doses iguais ou maiores que 0,05 mg de MPA podem causar alterações funcionais aos próprios fotorreceptores e que esse dano ocorre a partir do 15º dia após a injeção.

Neste estudo não foram utilizados testes para a avaliação funcional da retina interna. Entretanto, realizamos um estudo da densidade de neurônios da camada de células ganglionares da retina de coelhos após a injeção intravítrea de 1 e 10 mg de MPA (manuscrito em preparação). Trinta dias após a injeção intravítrea, os olhos foram enucleados, as retinas isoladas e montadas com a retina externa voltada para cima sobre lâminas gelatinizadas. Após serem desidratadas, as retinas foram coradas com Nissl e foi realizada a contagem das células ganglionares em toda a extensão. Nessa análise, não houve diminuição significativa das células ganglionares 30 dias após a injeção de MPA.

Em relação aos achados morfológicos, não foram observadas alterações estruturais nos cinco grupos estudados. No entanto, os resultados normais da análise morfológica não descartam a possibilidade de toxicidade retiniana do MPA, mesmo testando cinco diferentes doses (0,005 a 10 mg) da medicação. Primeiramente, porque em nosso estudo

foram avaliados cortes da média-periferia inferior, e como a microscopia de luz não foi realizada em toda a retina, danos focais podem não ter sido detectados. Essa possibilidade foi confirmada em estudo que avaliou a toxicidade da lidocaína após a injeção intravítrea em olhos de coelhos. Nesse estudo, não foram observadas alterações funcionais (ERG e potencial visual evocado) e a análise histológica dos cortes retinianos do polo posterior também não mostrou lesões estruturais nos olhos injetados com lidocaína (10 mg). Entretanto, a análise microscópica de parte da retina próxima ao local da injeção mostrou danos estruturais severos¹³⁹. Outra possibilidade seria o fato de a lesão retiniana ter ocorrido a nível ultramicroscópico e, portanto, só poderia ter sido detectada pela microscopia eletrônica. Por fim, é possível que a dose de MPA que causa lesão estrutural na retina seja maior que a dose máxima testada em nosso estudo (10 mg). Entretanto, soluções de MPA mais concentradas que 10 mg em 0,1 mL seriam muito viscosas e tecnicamente impróprias para aplicação intravítrea.

Os resultados obtidos na análise histológica podem ou não coincidir com os resultados encontrados na avaliação funcional. Vários estudos experimentais com coelhos reforçam a eficiência da combinação de estudos eletrofisiológicos e histológicos no estudo da toxicidade retiniana de drogas. Kjellström et al.¹⁴⁰ demonstraram que coelhos tratados com doses cumulativas de vigabatrina (inibidor da neurotransmissão) por via sistêmica apresentaram redução na amplitude da onda b no ERG e lesão das células de Müller na microscopia de luz. Macky et al.¹⁴¹ demonstraram que olhos injetados com álcool benzílico, um conservante muito utilizado na

preparação de drogas utilizadas em injeção intravítrea, também apresentaram redução nas amplitudes das ondas a e b, e equivalente redução na espessura das camadas nucleares interna e externa da retina na microscopia. Unal et al.¹⁴² estudaram os efeitos retinianos da injeção intravítrea de claritromicina e demonstraram redução da onda-b nas condições escotópica e fotópica, além da presença de necrose retiniana na microscopia de luz.

No entanto, alguns estudos mostram ausência de coincidência entre os achados eletrofisiológicos e histológicos. Myers et al.¹⁴³ injetaram rifabutina intravítrea e notaram redução da onda b sem a correspondente alteração morfológica. Por outro lado, Ponjavic et al.¹⁴⁴ observaram que a injeção de vigabatrina nos olhos de coelhos induziram alterações histológicas nas células de Müller sem a correspondente alteração no ERG.

Este estudo apresenta algumas limitações. Em primeiro lugar, por ser um estudo experimental, os achados podem não refletir os achados em olhos humanos, principalmente pelo fato de a vascularização retiniana do coelho ser pouco desenvolvida e o volume do vítreo ser de aproximadamente um terço (1,5 mL) do volume do olho humano (4,0 mL)^{35, 50}. Além disso, foram utilizados coelhos albinos, que são animais desprovidos de melanina, uma molécula encontrada em grande quantidade na retina humana. Como algumas substâncias químicas se ligam à melanina e podem ficar armazenadas em tecidos pigmentados por longos períodos, esse fato tem que ser levado em consideração em estudos experimentais, principalmente os que envolvem a toxicidade de drogas.

A pigmentação retiniana pode favorecer os efeitos tóxicos de algumas drogas, como é o caso da cloroquina em humanos¹⁴⁵. Por outro lado, Zemel et al.⁹⁹ compararam a toxicidade retiniana da gentamicina entre coelhos albinos e pigmentados e os resultados obtidos no ERG mostraram que os animais pigmentados foram menos sensíveis aos efeitos tóxicos da droga. Os autores concluíram que esse efeito protetor pode ser devido ao fato de a gentamicina se ligar à melanina, diminuindo sua concentração livre e causando, conseqüentemente, menor dano retiniano.

Outra limitação deste estudo é o pequeno número de animais em cada grupo. Por se tratar de um estudo inédito, era impossível prever o grau de toxicidade de cada dose de MPA estudada. Por isso, foi necessário estudar várias concentrações da droga para aumentar a chance de determinar as doses seguras e as tóxicas e, dessa forma, os grupos não puderam ser muito grandes. Finalmente, deve ser levado em consideração o fato de a medicação ter sido injetada em olhos sem inflamação, pois em olhos com uveíte crônica ocorre quebra das barreiras hematorretinianas interna e externa¹². Esse fato tem implicações imprevisíveis na farmacodinâmica de drogas injetadas na cavidade vítrea e, conseqüentemente, o tempo de eliminação da droga pode ser maior ou menor, o que pode influenciar nos efeitos tóxicos da droga.

Apesar das limitações citadas, as análises realizadas neste estudo (farmacológica, clínica, funcional e morfológica) são etapas fundamentais para avaliar a viabilidade e a segurança do uso intraocular de uma medicação. Além disso, as diferentes abordagens utilizadas na análise do

ERG e a consistência dos registros eletrorretinográficos valorizam os resultados obtidos.

Os resultados deste estudo sugerem que doses de MPA menores que 0,05 mg são seguras para o uso intravítreo em coelhos. No entanto, estudos semelhantes com uma amostra maior, além de estudos de eficácia do MPA intravítreo em modelos de uveorretinite autoimune experimental, devem ser realizados antes que a injeção intravítrea de MPA possa ser considerada uma opção de tratamento complementar em casos uveítes não infecciosas.

6 Conclusões

1. Avaliação farmacocinética: A meia-vida do MPA no vítreo do coelho após a injeção intravítrea foi de 5 dias e a droga foi detectada no vítreo por 29 dias.

2. Avaliação da toxicidade retiniana do MPA:

2a. Estudo clínico: A injeção intravítrea de 0,005 a 10 mg de MPA em coelhos causou reação inflamatória intraocular e não houve correlação entre o grau de inflamação e a dose de MPA injetada.

2b. Estudo funcional: A injeção intravítrea de 0,05 a 10 mg de MPA em coelhos causou redução da sensibilidade retiniana.

2c. Estudo morfológico: A injeção intravítrea de 0,005 a 10 mg de MPA não provocou alterações na área analisada da retina de coelhos nos primeiros 30 dias após a injeção.

7 Anexos

Anexo 1, Figura 22 – Carta de aprovação do estudo pelo Comitê de Ética em Pesquisa (CEUA) da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo.

A **CEUA** do Comitê de Ética em Pesquisa da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo, em sessão de 30/03/2011, **APROVOU** o Protocolo de Pesquisa nº **049/11** intitulado: **“ESTUDO FARMACOLÓGICO, MORFOLÓGICO E ELETROFISIOLÓGICO DOS EFEITOS DA INJEÇÃO INTRAVÍTEA DE ÁCIDO MICOFENÓLICO EM COELHOS”**, apresentado pelo **Departamento de OFTALMOLOGIA E OTORRINOLARINGOLOGIA**

Cabe ao pesquisador elaborar e apresentar ao CEP-FMUSP, o relatório final sobre a pesquisa, (Lei Procedimentos para o Uso Científico de Animais - Lei Nº 11.794 -8 de outubro de 2008).

Pesquisador (a) Responsável: DR. FRANCISCO MAX DAMICO
Pesquisador (a) Executante: FÁBIO GASPARIN

CEP-FM USP, 30 de Março de 2011.

Prof. Dr. Roger Chammas
Coordenador
Comitê de Ética em Pesquisa

Anexo 2, Figura 23 – Carta de aprovação do estudo pela Comissão de Ética em Experimentação Animal (CEEA) Universidade de São Paulo.

**UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
INSTITUTO DE CIÊNCIAS BIOMÉDICAS**

Cidade Universitária "Armando de Salles Oliveira"
Av. Prof. Lineu Prestes, 2415 – CEP. 05508-000 São Paulo, SP – Brasil
Telefone : (55) (011) 3091.7733 – telefax : (55) (011) 3091.7438
e-mail: cep@icb.usp.br

CERTIFICADO

Certificamos que o protocolo registrado sob nº **029** nas fls. **43** do livro **2** para uso de animais em experimentação, sob a responsabilidade de **Dora Selma Fix Ventura** Coordenador(a) da Linha de pesquisa **"Estudo farmacológico, morfológico e eletrofisiológico dos efeitos da injeção intravítrea de ácido micofenólico em coelhos"** do qual participou(aram) o **Pesquisador Francisco Max Damico**, está de acordo com os Princípios Éticos de Experimentação Animal adotado pelo Colégio Brasileiro de Experimentação Animal (COBEA) e foi aprovado pela **COMISSÃO DE ÉTICA EM EXPERIMENTAÇÃO ANIMAL (CEEA)** em **17.05.2007**.

São Paulo, 18 de maio de 2007.

Prof. Dr. WOTHAN TAVARES DE LIMA
Coordenador
CEEA - ICB/USP

Profa. Dra. PATRÍCIA GAMA
Secretária -Suplente
CEEA - ICB/USP

Tabela 10 - Registros eletrorretinográficos do coelho 1 antes e após injeção de 0,005 mg de MPA no olho direito

Condição do teste	Onda-a							
	Amplitude (μV)				Tempo implícito (ms)			
	Antes	7 dias	15 dias	30 dias	Antes	7 dias	15 dias	30 dias
Escotópico 0,003 cd.s/m ²	-7,3	-7,1	-10,5	-6,9	20,4	25,1	13,3	26,6
Escotópico 0,03 cd.s/m ²	-6,0	-10,9	-8,5	-9,0	14,5	21,5	7,8	5,1
Escotópico 0,3 cd.s/m ²	-4,8	-5,6	-5,4	-6,2	19,2	6,7	23,9	18,8
Escotópico 3 cd.s/m ²	-8,4	-6,6	-9,8	-11,3	20,0	18,4	13,7	16,8
Escotópico 30 cd.s/m ²	-23,5	-16,0	-34,5	-39,7	14,9	14,1	14,5	14,9
Fotópico	-7,3	-13,6	-16,7	-9,7	9,8	14,1	13,7	12,5
Flicker 12 Hz	-2,3	-2,3	-1,3	-2,0	8,2	7,4	3,1	11,4
Flicker 18 Hz	-7,6	-7,0	-10,7	...	11,7	14,9	12,5	...
Flicker 24 Hz	-5,7	-10,7	-9,0	...	19,6	19,2	17,2	...
Flicker 30 Hz	-9,0	-7,5	-14,4	-16,0	16,1	10,6	12,9	14,5

Condição do teste	Onda-b							
	Amplitude (μV)				Tempo implícito (ms)			
	Antes	7 dias	15 dias	30 dias	Antes	7 dias	15 dias	30 dias
Escotópico 0,003 cd.s/m ²	12,0	9,0	21,4	18,9	70,8	75,2	75,9	71,6
Escotópico 0,03 cd.s/m ²	29,1	23,6	54,0	58,2	74,4	72,8	72,4	68,1
Escotópico 0,3 cd.s/m ²	55,4	45,7	93,6	99,8	62,2	60,7	57,9	56,0
Escotópico 3 cd.s/m ²	64,6	52,4	109,2	109,9	48,9	40,3	45,4	45,4
Escotópico 30 cd.s/m ²	73,5	59,2	127,4	135,2	54,0	38,4	41,9	47,4
Fotópico	34,0	31,4	64,1	52,7	33,3	39,5	36,4	35,2
Flicker 12 Hz	24,3	19,5	41,9	39,2	34,1	36,8	33,3	33,7
Flicker 18 Hz	23,2	17,9	36,7	...	35,2	34,1	32,9	...
Flicker 24 Hz	13,5	13,6	19,1	...	35,2	32,9	32,5	...
Flicker 30 Hz	10,8	9,7	19,9	20,3	34,4	29,8	28,2	29,4

Tabela 11 - Registros eletrorretinográficos do coelho 1 antes e após injeção do veículo no olho esquerdo

Condição do teste	Onda-a							
	Amplitude (μV)				Tempo implícito (ms)			
	Antes	7 dias	15 dias	30 dias	Antes	7 dias	15 dias	30 dias
Escotópico 0,003 cd.s/m ²	-6,8	-11,2	-16,4	-9,1	29,4	9,4	20,0	31,7
Escotópico 0,03 cd.s/m ²	-6,9	-5,1	-13,8	-6,9	19,6	13,3	9,8	21,9
Escotópico 0,3 cd.s/m ²	-5,1	-11,3	-7,6	-7,1	12,1	22,3	3,1	20,4
Escotópico 3 cd.s/m ²	-6,4	-10,4	-20,0	-9,3	17,6	18,4	17,2	15,3
Escotópico 30 cd.s/m ²	-23,7	-29,2	-35,8	-39,2	14,9	14,5	14,5	14,5
Fotópico	-8,5	-14,5	-18,7	-10,7	12,5	9,8	12,9	11,4
Flicker 12 Hz	-3,6	-3,7	-5,9	-3,0	5,9	9,8	7,8	11,4
Flicker 18 Hz	-5,1	-12,1	-11,3	...	14,9	13,7	12,5	...
Flicker 24 Hz	-7,4	-17,3	-16,8	...	14,1	18,8	16,8	...
Flicker 30 Hz	-12,6	-8,6	-11,9	-17,2	13,7	21,1	13,3	11,7

Condição do teste	Onda-b							
	Amplitude (μV)				Tempo implícito (ms)			
	Antes	7 dias	15 dias	30 dias	Antes	7 dias	15 dias	30 dias
Escotópico 0,003 cd.s/m ²	9,1	13,1	21,5	16,6	61,8	56,8	61,8	66,1
Escotópico 0,03 cd.s/m ²	22,2	27,4	43,6	40,8	58,7	61,8	61,8	61,8
Escotópico 0,3 cd.s/m ²	42,6	68,7	71,8	81,0	49,7	52,5	56,0	54,8
Escotópico 3 cd.s/m ²	54,5	100,9	90,9	95,5	42,3	41,9	48,5	44,2
Escotópico 30 cd.s/m ²	73,2	121,0	105,3	113,1	43,8	38,0	48,5	44,6
Fotópico	44,3	59,1	62,9	50,2	32,1	33,3	34,1	34,4
Flicker 12 Hz	30,3	41,7	47,1	43,8	32,1	34,8	32,9	32,1
Flicker 18 Hz	25,8	37,0	42,2	...	29,0	34,4	32,1	...
Flicker 24 Hz	17,7	21,2	25,5	...	32,5	38,4	35,2	...
Flicker 30 Hz	15,8	10,7	13,0	25,2	26,2	34,8	37,6	27,4

Tabela 12 - Registros eletrorretinográficos do coelho 2 antes e após injeção de 0,005 mg de MPA no olho direito

Condição do teste	Onda-a							
	Amplitude (μV)				Tempo implícito (ms)			
	Antes	7 dias	15 dias	30 dias	Antes	7 dias	15 dias	30 dias
Escotópico 0,003 cd.s/m ²	-8,3	-8,9	-8,9	-9,8	31,7	31,7	24,3	14,5
Escotópico 0,03 cd.s/m ²	-7,2	-10,4	-12,0	-9,2	11,4	29,8	19,6	11,4
Escotópico 0,3 cd.s/m ²	-6,8	-8,3	-16,9	-8,2	13,7	17,2	10,6	27,0
Escotópico 3 cd.s/m ²	-8,5	-10,3	-10,8	-12,6	18,0	19,6	16,1	16,8
Escotópico 30 cd.s/m ²	-28,0	-13,9	-16,6	-32,0	16,4	14,1	16,4	16,4
Fotópico	-11,8	-12,2	-13,7	-13,0	11,4	7,4	11,4	16,1
Flicker 12 Hz	-4,3	-0,7	-2,0	-4,5	14,9	3,5	5,9	14,9
Flicker 18 Hz	-5,6	-8,9	-6,4	...	12,5	17,6	17,6	...
Flicker 24 Hz	-4,7	-5,0	-6,3	...	14,1	21,9	6,7	...
Flicker 30 Hz	-11,2	-7,1	-10,0	-20,4	11,0	14,9	12,5	14,1

Condição do teste	Onda-b							
	Amplitude (μV)				Tempo implícito (ms)			
	Antes	7 dias	15 dias	30 dias	Antes	7 dias	15 dias	30 dias
Escotópico 0,003 cd.s/m ²	16,7	9,8	11,6	19,1	69,3	76,3	78,7	80,6
Escotópico 0,03 cd.s/m ²	43,8	19,9	35,6	55,7	72,4	72,0	76,7	73,2
Escotópico 0,3 cd.s/m ²	76,8	39,2	61,6	102,4	60,3	61,5	61,5	61,8
Escotópico 3 cd.s/m ²	82,2	69,1	70,1	134,8	47,0	48,9	49,7	51,7
Escotópico 30 cd.s/m ²	99,4	77,1	80,0	152,0	52,1	35,6	38,0	45,4
Fotópico	46,0	37,3	33,5	48,8	35,2	31,7	40,7	41,1
Flicker 12 Hz	29,4	22,7	22,8	43,9	30,5	36,8	34,1	34,4
Flicker 18 Hz	23,7	17,7	14,8	...	29,0	37,6	35,2	...
Flicker 24 Hz	16,5	9,6	14,0	...	28,2	36,4	32,5	...
Flicker 30 Hz	15,4	9,0	13,1	23,6	27,8	28,2	31,7	32,1

Tabela 13 - Registros eletrorretinográficos do coelho 2 antes e após injeção do veículo no olho esquerdo

Condição do teste	Onda-a							
	Amplitude (μV)				Tempo implícito (ms)			
	Antes	7 dias	15 dias	30 dias	Antes	7 dias	15 dias	30 dias
Escotópico 0,003 cd.s/m ²	-7,9	-8,5	...	-9,7	36,8	25,1	...	29,0
Escotópico 0,03 cd.s/m ²	-10,0	-9,5	...	-10,4	14,9	10,6	...	27,4
Escotópico 0,3 cd.s/m ²	-8,3	-8,8	...	-7,4	21,1	23,1	...	21,5
Escotópico 3 cd.s/m ²	-10,8	-7,9	...	-9,8	9,8	19,2	...	17,6
Escotópico 30 cd.s/m ²	-27,6	-25,2	...	-29,9	16,4	16,1	...	15,3
Fotópico	-12,2	-13,9	...	-17,0	7,1	15,7	...	14,1
Flicker 12 Hz	-2,3	-0,5	...	-4,1	3,9	3,1	...	11,0
Flicker 18 Hz	-6,0	-13,2	...		12,1	18,0	...	
Flicker 24 Hz	-5,1	-13,5	...		16,8	21,9	...	
Flicker 30 Hz	-13,0	-6,7	...	-18,3	11,0	21,1	...	13,7

Condição do teste	Onda-b							
	Amplitude (μV)				Tempo implícito (ms)			
	Antes	7 dias	15 dias	30 dias	Antes	7 dias	15 dias	30 dias
Escotópico 0,003 cd.s/m ²	11,8	9,5	...	18,0	68,1	51,7	...	78,3
Escotópico 0,03 cd.s/m ²	28,1	19,9	...	43,2	66,9	66,5	...	68,9
Escotópico 0,3 cd.s/m ²	70,7	51,2	...	92,8	54,4	59,5	...	58,3
Escotópico 3 cd.s/m ²	88,4	98,7	...	120,3	51,3	54,0	...	49,7
Escotópico 30 cd.s/m ²	101,0	117,4	...	136,6	45,4	44,6	...	46,2
Fotópico	56,7	58,3	...	56,0	30,9	35,6	...	38,4
Flicker 12 Hz	35,3	38,8	...	45,2	32,9	39,1	...	35,2
Flicker 18 Hz	27,0	31,4	...		33,7	41,9	...	
Flicker 24 Hz	19,2	14,0	...		31,7	42,3	...	
Flicker 30 Hz	15,9	7,3	...	27,0	28,2	36,8	...	28,2

Tabela 14 - Registros eletrorretinográficos do coelho 3 antes e após injeção de 0,005 mg de MPA no olho direito

Condição do teste	Onda-a							
	Amplitude (μV)				Tempo implícito (ms)			
	Antes	7 dias	15 dias	30 dias	Antes	7 dias	15 dias	30 dias
Escotópico 0,003 cd.s/m ²	-7,9	-11,5	-6,6	-6,3	21,5	12,9	16,8	10,2
Escotópico 0,03 cd.s/m ²	-5,7	-9,2	-7,5	-4,7	7,4	25,1	24,3	13,3
Escotópico 0,3 cd.s/m ²	-7,5	-3,4	-9,9	-11,0	11,0	21,5	12,1	21,9
Escotópico 3 cd.s/m ²	-8,0	-16,7	-8,2	-10,8	13,3	16,4	16,8	18,8
Escotópico 30 cd.s/m ²	-29,0	-25,5	-20,4	-35,1	14,5	14,5	15,7	15,7
Fotópico	-13,9	-12,9	-11,4	-12,9	13,3	12,9	13,3	12,5
Flicker 12 Hz	-3,0	-1,3	-1,5	-1,0	12,9	3,9	3,1	4,3
Flicker 18 Hz	-6,7	-13,6	-6,0	...	12,1	17,2	12,5	...
Flicker 24 Hz	-7,7	-16,3	-7,5	...	16,4	21,5	21,9	...
Flicker 30 Hz	-14,1	-7,7	-5,1	-14,7	16,1	19,6	14,1	12,5

Condição do teste	Onda-b							
	Amplitude (μV)				Tempo implícito (ms)			
	Antes	7 dias	15 dias	30 dias	Antes	7 dias	15 dias	30 dias
Escotópico 0,003 cd.s/m ²	13,4	16,9	11,5	18,9	63,0	71,2	75,9	80,6
Escotópico 0,03 cd.s/m ²	29,5	39,3	25,9	55,3	72,4	66,9	70,8	74,0
Escotópico 0,3 cd.s/m ²	56,9	73,9	47,8	118,0	61,5	60,7	59,9	59,1
Escotópico 3 cd.s/m ²	67,3	118,2	57,6	141,3	46,6	48,1	48,9	49,3
Escotópico 30 cd.s/m ²	83,8	128,6	65,4	160,1	44,2	39,1	39,1	45,8
Fotópico	66,8	58,0	35,7	55,2	33,7	36,4	37,2	35,6
Flicker 12 Hz	32,7	47,0	21,4	44,2	34,1	35,2	35,2	32,9
Flicker 18 Hz	29,3	36,3	19,0	...	32,5	36,4	35,2	...
Flicker 24 Hz	20,7	19,7	12,3	...	32,1	36,8	37,6	...
Flicker 30 Hz	15,7	9,8	6,8	20,0	32,9	36,8	28,6	27,0

Tabela 15 - Registros eletrorretinográficos do coelho 3 antes e após injeção do veículo no olho esquerdo

Condição do teste	Onda-a							
	Amplitude (μV)				Tempo implícito (ms)			
	Antes	7 dias	15 dias	30 dias	Antes	7 dias	15 dias	30 dias
Escotópico 0,003 cd.s/m ²	-8,5	-7,0	-13,3	-6,2	21,5	22,3	7,4	11,0
Escotópico 0,03 cd.s/m ²	-9,1	-7,6	-17,7	-9,1	9,4	13,3	21,9	12,5
Escotópico 0,3 cd.s/m ²	-4,6	-6,2	-20,2	-6,5	6,3	14,5	25,4	3,5
Escotópico 3 cd.s/m ²	-9,0	-9,6	-17,2	-4,6	14,5	14,5	18,0	16,1
Escotópico 30 cd.s/m ²	-36,0	-25,2	-45,2	-14,2	15,7	15,3	16,8	15,3
Fotópico	-19,0	-17,0	-20,3	-10,4	16,1	8,2	10,2	11,7
Flicker 12 Hz	-2,9	-1,9	-10,2	-1,7	15,7	5,5	11,7	4,3
Flicker 18 Hz	-5,5	-7,7	-13,5	...	13,3	11,7	16,8	...
Flicker 24 Hz	-8,6	-18,0	-26,6	...	16,4	14,9	19,2	...
Flicker 30 Hz	-15,5	-8,9	-23,9	-9,9	16,4	21,1	21,1	10,6

Condição do teste	Onda-b							
	Amplitude (μV)				Tempo implícito (ms)			
	Antes	7 dias	15 dias	30 dias	Antes	7 dias	15 dias	30 dias
Escotópico 0,003 cd.s/m ²	9,8	12,1	20,4	9,8	59,5	66,1	59,5	67,7
Escotópico 0,03 cd.s/m ²	19,4	29,0	43,0	29,4	63,4	66,5	68,5	69,3
Escotópico 0,3 cd.s/m ²	51,8	55,9	84,8	43,2	56,0	55,6	61,1	58,7
Escotópico 3 cd.s/m ²	78,4	88,2	106,8	46,3	51,3	47,8	48,5	46,2
Escotópico 30 cd.s/m ²	97,5	99,3	116,2	50,5	48,1	43,1	47,0	41,9
Fotópico	86,1	56,5	74,5	36,7	31,3	33,3	35,2	34,4
Flicker 12 Hz	39,3	44,4	54,7	23,9	32,9	34,8	36,8	32,5
Flicker 18 Hz	33,8	31,6	43,8	...	30,5	36,4	36,0	...
Flicker 24 Hz	25,6	20,8	34,5	...	33,7	38,8	38,0	...
Flicker 30 Hz	17,7	10,8	24,5	12,2	35,6	36,8	36,0	26,6

Tabela 16 - Registros eletrorretinográficos do coelho 4 antes e após injeção de 0,005 mg de MPA no olho direito

Condição do teste	Onda-a							
	Amplitude (μV)				Tempo implícito (ms)			
	Antes	7 dias	15 dias	30 dias	Antes	7 dias	15 dias	30 dias
Escotópico 0,003 cd.s/m ²	-7,9	-8,7	-9,6	-9,0	16,4	16,8	18,8	21,5
Escotópico 0,03 cd.s/m ²	-8,1	-8,7	-8,4	-8,4	15,7	12,1	19,2	22,7
Escotópico 0,3 cd.s/m ²	-5,7	-7,0	-9,0	-8,2	16,4	18,0	24,3	18,0
Escotópico 3 cd.s/m ²	-6,3	-11,8	-14,2	-15,2	16,8	20,0	21,5	19,6
Escotópico 30 cd.s/m ²	-26,0	-30,2	-44,2	-56,7	16,4	15,3	15,3	16,4
Fotópico	-8,5	-15,7	-20,3	-19,5	13,7	14,9	14,1	13,3
Flicker 12 Hz	-2,6	-1,5	-1,4	-2,9	3,5	3,1	3,5	10,6
Flicker 18 Hz	-4,0	-10,4	-10,9	...	10,6	14,5	13,3	...
Flicker 24 Hz	-7,0	-8,9	-9,4	...	13,3	20,7	13,7	...
Flicker 30 Hz	-14,2	-11,0	-19,4	-27,6	14,9	11,0	11,4	13,7

Condição do teste	Onda-b							
	Amplitude (μV)				Tempo implícito (ms)			
	Antes	7 dias	15 dias	30 dias	Antes	7 dias	15 dias	30 dias
Escotópico 0,003 cd.s/m ²	15,0	18,5	22,4	23,9	68,1	75,2	81,8	72,8
Escotópico 0,03 cd.s/m ²	31,8	51,5	63,1	64,8	67,3	62,2	71,2	66,5
Escotópico 0,3 cd.s/m ²	61,2	97,9	119,3	139,0	55,2	55,2	55,6	56,8
Escotópico 3 cd.s/m ²	69,9	118,8	139,9	171,0	45,0	47,8	48,5	46,2
Escotópico 30 cd.s/m ²	79,4	127,5	169,3	210,4	45,4	41,5	41,9	41,5
Fotópico	44,4	50,2	68,3	86,5	32,5	37,2	35,2	36,4
Flicker 12 Hz	33,6	42,8	61,4	76,5	32,1	36,0	34,1	35,6
Flicker 18 Hz	26,3	29,8	43,7	...	28,2	38,0	32,9	...
Flicker 24 Hz	21,0	13,7	26,1	...	28,2	36,8	31,3	...
Flicker 30 Hz	16,9	14,4	27,8	33,5	27,8	29,4	28,6	30,1

Tabela 17 - Registros eletroretinográficos do coelho 4 antes e após injeção do veículo no olho esquerdo

Condição do teste	Onda-a							
	Amplitude (μV)				Tempo implícito (ms)			
	Antes	7 dias	15 dias	30 dias	Antes	7 dias	15 dias	30 dias
Escotópico 0,003 cd.s/m ²	-7,2	-10,5	-24,8	-9,6	39,1	26,6	35,2	26,6
Escotópico 0,03 cd.s/m ²	-9,2	-10,1	-30,5	-9,0	6,7	10,6	21,9	12,5
Escotópico 0,3 cd.s/m ²	-7,6	-9,1	-22,2	-6,9	18,0	21,1	16,1	3,9
Escotópico 3 cd.s/m ²	-9,4	-11,1	-28,0	-11,0	18,0	19,6	21,9	19,2
Escotópico 30 cd.s/m ²	-34,5	-39,2	-56,9	-37,2	16,4	16,1	16,4	15,7
Fotópico	-10,3	-16,1	-26,1	-14,2	10,6	12,5	13,3	13,3
Flicker 12 Hz	-3,0	-1,5	-21,8	-2,2	13,7	3,5	17,2	3,1
Flicker 18 Hz	-4,8	-14,1	-24,3	...	14,1	11,7	11,0	...
Flicker 24 Hz	-10,6	-16,1	-28,1	...	16,8	20,4	20,4	...
Flicker 30 Hz	-20,0	-13,9	-38,3	-16,5	14,9	12,9	14,9	12,9

Condição do teste	Onda-b							
	Amplitude (μV)				Tempo implícito (ms)			
	Antes	7 dias	15 dias	30 dias	Antes	7 dias	15 dias	30 dias
Escotópico 0,003 cd.s/m ²	9,5	14,5	32,6	17,1	60,3	67,7	60,3	72,4
Escotópico 0,03 cd.s/m ²	22,7	45,8	67,9	52,1	66,5	64,2	57,9	66,5
Escotópico 0,3 cd.s/m ²	60,8	92,2	130,6	105,4	59,9	57,5	57,9	56,4
Escotópico 3 cd.s/m ²	93,9	115,3	150,4	107,5	50,1	45,8	46,6	44,6
Escotópico 30 cd.s/m ²	114,1	138,4	170,4	122,1	46,2	41,9	42,3	45,0
Fotópico	74,3	62,0	83,6	55,2	32,1	37,2	32,9	36,0
Flicker 12 Hz	52,7	56,6	80,5	51,9	31,3	37,2	36,0	33,7
Flicker 18 Hz	38,7	40,6	67,4	...	34,8	36,8	30,5	...
Flicker 24 Hz	30,6	22,4	48,4	...	35,2	37,2	29,4	...
Flicker 30 Hz	22,3	16,5	38,8	21,4	34,1	28,6	33,7	27,8

Tabela 18 - Registros eletroretinográficos do coelho 5 antes e após injeção de 0,05 mg de MPA no olho direito

Condição do teste	Onda-a							
	Amplitude (μV)				Tempo implícito (ms)			
	Antes	7 dias	15 dias	30 dias	Antes	7 dias	15 dias	30 dias
Escotópico 0,003 cd.s/m ²	-6,5	-7,1	-8,0	-6,8	13,3	30,5	3,5	11,4
Escotópico 0,03 cd.s/m ²	-7,8	-7,8	-9,1	-7,2	21,1	24,7	6,3	5,9
Escotópico 0,3 cd.s/m ²	-11,3	-8,4	-8,9	-8,9	14,9	18,8	15,3	21,1
Escotópico 3 cd.s/m ²	-12,3	-9,5	-11,5	-15,6	14,9	20,7	11,7	18,4
Escotópico 30 cd.s/m ²	-35,8	-30,4	-27,1	-52,8	15,3	16,1	14,9	16,4
Fotópico	-18,7	-14,0	-17,1	-13,7	11,0	10,6	13,7	13,7
Flicker 12 Hz	-3,1	-1,0	-1,9	-0,6	13,3	3,1	3,1	3,9
Flicker 18 Hz	-6,6	-10,9	-13,6	...	12,5	17,2	14,9	...
Flicker 24 Hz	-9,4	-14,4	-9,6	...	19,2	16,1	6,7	...
Flicker 30 Hz	-10,7	-15,7	-18,6	-27,5	18,4	15,3	15,3	14,9

Condição do teste	Onda-b							
	Amplitude (μV)				Tempo implícito (ms)			
	Antes	7 dias	15 dias	30 dias	Antes	7 dias	15 dias	30 dias
Escotópico 0,003 cd.s/m ²	17,9	13,2	14,0	22,0	69,3	73,2	78,3	81,0
Escotópico 0,03 cd.s/m ²	40,8	37,0	37,1	67,3	69,7	66,1	65,4	74,0
Escotópico 0,3 cd.s/m ²	87,5	81,8	76,3	133,1	60,3	55,6	59,9	62,2
Escotópico 3 cd.s/m ²	101,9	109,9	92,3	143,8	44,6	51,3	48,1	48,9
Escotópico 30 cd.s/m ²	109,9	127,9	107,2	167,9	48,5	36,4	36,4	46,2
Fotópico	60,5	66,9	59,2	70,2	34,4	37,2	38,4	35,6
Flicker 12 Hz	37,2	52,4	37,6	53,1	32,1	36,0	35,2	35,6
Flicker 18 Hz	33,1	41,0	30,6	...	34,4	38,4	35,2	...
Flicker 24 Hz	22,2	19,1	17,3	...	34,4	39,5	32,5	...
Flicker 30 Hz	13,8	19,1	21,2	33,4	34,1	33,7	29,8	31,7

Tabela 19 - Registros eletrorretinográficos do coelho 5 antes e após injeção do veículo no olho esquerdo

Condição do teste	Onda-a							
	Amplitude (μV)				Tempo implícito (ms)			
	Antes	7 dias	15 dias	30 dias	Antes	7 dias	15 dias	30 dias
Escotópico 0,003 cd.s/m ²	-13,3	-9,0	-12,2	-7,1	29,4	18,0	21,9	20,7
Escotópico 0,03 cd.s/m ²	-7,6	-10,0	-9,9	-5,4	16,4	11,7	21,1	5,9
Escotópico 0,3 cd.s/m ²	-8,5	-10,0	-13,9	-6,1	14,9	23,1	18,4	16,8
Escotópico 3 cd.s/m ²	-8,9	-11,7	-11,3	-8,6	17,2	16,4	13,7	17,6
Escotópico 30 cd.s/m ²	-37,4	-26,2	-31,4	-36,4	14,9	17,6	17,2	15,7
Fotópico	-10,6	-14,4	-21,4	-10,0	8,6	10,6	17,2	11,7
Flicker 12 Hz	-5,0	0,0	-6,8	-3,1	13,3	3,1	12,5	9,4
Flicker 18 Hz	-5,6	-12,2	-16,0	...	6,7	10,6	13,7	...
Flicker 24 Hz	-11,4	-23,1	-23,2	...	15,7	14,1	14,1	...
Flicker 30 Hz	-17,3	-12,5	-22,5	-21,1	13,7	16,1	12,9	12,5

Condição do teste	Onda-b							
	Amplitude (μV)				Tempo implícito (ms)			
	Antes	7 dias	15 dias	30 dias	Antes	7 dias	15 dias	30 dias
Escotópico 0,003 cd.s/m ²	18,1	14,6	12,8	10,7	70,8	66,5	52,8	66,1
Escotópico 0,03 cd.s/m ²	36,9	31,6	23,6	31,4	60,3	62,6	57,9	64,2
Escotópico 0,3 cd.s/m ²	85,5	75,7	71,1	83,6	57,5	60,7	53,6	56,4
Escotópico 3 cd.s/m ²	96,5	128,9	96,8	99,8	43,8	50,9	50,1	48,5
Escotópico 30 cd.s/m ²	108,5	141,6	102,6	114,0	43,4	45,8	48,1	47,8
Fotópico	71,6	79,0	67,5	59,4	31,7	35,2	36,8	35,2
Flicker 12 Hz	49,0	57,5	50,6	48,3	30,9	38,8	33,3	34,1
Flicker 18 Hz	38,8	50,8	47,5	...	29,8	36,4	33,7	...
Flicker 24 Hz	30,4	29,3	32,4	...	34,8	39,1	39,1	...
Flicker 30 Hz	18,7	15,0	24,6	25,2	26,6	31,7	31,7	30,9

Tabela 20 - Registros eletroretinográficos do coelho 6 antes e após injeção de 0,05 mg de MPA no olho direito

Condição do teste	Onda-a							
	Amplitude (μ V)				Tempo implícito (ms)			
	Antes	7 dias	15 dias	30 dias	Antes	7 dias	15 dias	30 dias
Escotópico 0,003 cd.s/m ²	-8,4	-7,8	-8,4	-7,6	13,3	32,9	8,2	4,7
Escotópico 0,03 cd.s/m ²	-8,2	-7,1	-7,8	-8,4	4,7	4,7	11,7	32,1
Escotópico 0,3 cd.s/m ²	-7,6	-8,4	-7,5	-4,6	10,6	23,9	8,6	6,3
Escotópico 3 cd.s/m ²	-13,6	-7,1	-10,0	-8,9	16,8	16,1	18,8	19,6
Escotópico 30 cd.s/m ²	-39,4	-23,2	-30,8	-29,6	15,3	15,7	15,7	14,9
Fotópico	-17,0	-15,2	-14,1	-10,4	14,9	11,0	14,9	14,1
Flicker 12 Hz	-1,9	-0,4	-2,7	-2,6	3,1	3,5	12,1	3,9
Flicker 18 Hz	-8,2	-10,7	-9,8	...	10,2	17,6	16,8	...
Flicker 24 Hz	-9,3	-10,9	-5,7	...	17,2	20,4	20,7	...
Flicker 30 Hz	-11,8	-8,4	-14,3	-11,0	12,1	19,2	11,7	10,2

Condição do teste	Onda-b							
	Amplitude (μ V)				Tempo implícito (ms)			
	Antes	7 dias	15 dias	30 dias	Antes	7 dias	15 dias	30 dias
Escotópico 0,003 cd.s/m ²	22,3	10,6	21,8	19,9	75,5	75,9	80,2	79,1
Escotópico 0,03 cd.s/m ²	52,0	31,3	51,8	47,1	71,6	69,7	71,6	74,0
Escotópico 0,3 cd.s/m ²	106,7	71,0	89,6	81,0	56,8	57,9	59,1	57,9
Escotópico 3 cd.s/m ²	139,0	99,7	104,9	79,7	43,1	48,9	50,1	51,7
Escotópico 30 cd.s/m ²	137,7	111,3	118,9	96,5	50,9	36,4	43,1	49,3
Fotópico	73,9	46,2	54,8	40,0	32,1	32,5	36,0	30,5
Flicker 12 Hz	52,6	35,1	42,6	30,4	33,7	38,0	33,3	32,9
Flicker 18 Hz	36,5	26,4	25,1	...	30,5	38,4	35,6	...
Flicker 24 Hz	21,8	12,1	17,1	...	35,6	42,7	31,7	...
Flicker 30 Hz	16,8	9,4	19,7	16,9	27,4	33,3	27,8	27,0

Tabela 21 - Registros eletroretinográficos do coelho 6 antes e após injeção do veículo no olho esquerdo

Condição do teste	Onda-a							
	Amplitude (μV)				Tempo implícito (ms)			
	Antes	7 dias	15 dias	30 dias	Antes	7 dias	15 dias	30 dias
Escotópico 0,003 cd.s/m ²	-7,4	-9,2	-9,2	-5,5	18,4	24,3	19,6	9,4
Escotópico 0,03 cd.s/m ²	-8,0	-6,7	-8,0	-7,0	22,3	5,1	15,7	20,4
Escotópico 0,3 cd.s/m ²	-5,7	-13,8	-9,5	-8,1	7,8	22,3	6,3	21,9
Escotópico 3 cd.s/m ²	-7,2	-13,2	-10,8	-7,6	11,4	18,4	18,0	19,2
Escotópico 30 cd.s/m ²	-36,3	-29,3	-33,6	-25,2	15,3	16,4	14,9	15,7
Fotópico	-22,4	-14,7	-15,9	-8,3	12,9	15,3	10,2	14,1
Flicker 12 Hz	-2,9	-2,2	-1,5	-2,6	10,2	4,3	3,1	3,9
Flicker 18 Hz	-9,4	-11,9	-7,9	...	11,4	15,3	11,4	...
Flicker 24 Hz	-19,9	-16,2	-12,5	...	13,7	24,7	18,4	...
Flicker 30 Hz	-15,8	-8,7	-12,7	-11,2	14,9	13,7	12,5	13,3

Condição do teste	Onda-b							
	Amplitude (μV)				Tempo implícito (ms)			
	Antes	7 dias	15 dias	30 dias	Antes	7 dias	15 dias	30 dias
Escotópico 0,003 cd.s/m ²	11,2	13,3	11,7	12,4	66,1	66,5	62,6	74,8
Escotópico 0,03 cd.s/m ²	29,3	33,2	34,2	29,1	69,7	65,4	65,8	68,1
Escotópico 0,3 cd.s/m ²	91,4	85,2	75,1	58,5	55,2	59,9	50,5	57,5
Escotópico 3 cd.s/m ²	131,6	123,3	91,1	90,3	41,1	42,7	41,9	45,4
Escotópico 30 cd.s/m ²	133,2	129,4	102,0	96,9	50,1	45,0	41,5	48,5
Fotópico	94,0	64,3	58,8	41,9	32,9	30,9	33,7	34,8
Flicker 12 Hz	64,7	47,6	41,8	36,7	34,4	37,6	35,2	35,2
Flicker 18 Hz	49,3	35,4	35,6	...	34,8	35,2	34,1	...
Flicker 24 Hz	31,9	20,2	21,7	...	36,0	39,9	30,9	...
Flicker 30 Hz	18,6	12,3	17,0	12,4	34,4	38,8	29,0	34,1

Tabela 22 - Registros eletrorretinográficos do coelho 7 antes e após injeção de 0,05 mg de MPA no olho direito

Condição do teste	Onda-a							
	Amplitude (μV)				Tempo implícito (ms)			
	Antes	7 dias	15 dias	30 dias	Antes	7 dias	15 dias	30 dias
Escotópico 0,003 cd.s/m ²	-6,9	-6,2	-10,2	-4,7	12,5	8,6	29,4	23,1
Escotópico 0,03 cd.s/m ²	-7,9	-8,4	-9,2	-5,8	14,9	31,7	16,8	14,1
Escotópico 0,3 cd.s/m ²	-5,8	-4,0	-10,4	-7,5	9,8	23,5	20,0	20,7
Escotópico 3 cd.s/m ²	-8,9	-10,4	-11,3	-7,8	16,4	20,7	18,8	18,8
Escotópico 30 cd.s/m ²	-40,6	-23,8	-27,6	-28,2	17,2	16,1	17,6	17,2
Fotópico	-12,8	-8,2	-15,7	-8,4	9,0	16,8	14,9	13,3
Flicker 12 Hz	-5,8	-2,3	-1,1	-3,8	13,3	5,1	3,9	10,2
Flicker 18 Hz	-8,4	-7,7	-7,9	...	13,7	18,8	15,3	...
Flicker 24 Hz	-8,5	-11,4	-10,3	...	18,8	14,5	14,9	...
Flicker 30 Hz	-15,9	-11,0	-12,0	-15,4	14,5	16,8	12,5	13,3

Condição do teste	Onda-b							
	Amplitude (μV)				Tempo implícito (ms)			
	Antes	7 dias	15 dias	30 dias	Antes	7 dias	15 dias	30 dias
Escotópico 0,003 cd.s/m ²	22,7	8,9	15,5	13,2	70,1	83,4	81,4	76,3
Escotópico 0,03 cd.s/m ²	37,6	25,9	39,9	25,4	72,8	67,3	71,6	75,9
Escotópico 0,3 cd.s/m ²	58,3	53,8	68,6	67,5	62,2	56,4	61,8	61,1
Escotópico 3 cd.s/m ²	98,2	75,3	80,7	78,2	41,1	48,5	50,5	47,8
Escotópico 30 cd.s/m ²	122,7	84,3	87,1	95,3	56,8	40,7	47,0	54,8
Fotópico	64,3	43,8	47,3	41,2	33,7	29,0	34,4	38,0
Flicker 12 Hz	48,1	36,3	35,8	36,8	31,3	38,8	36,0	34,1
Flicker 18 Hz	36,5	29,0	28,4	...	33,7	38,4	36,4	...
Flicker 24 Hz	24,9	13,9	15,8	...	32,9	38,4	36,0	...
Flicker 30 Hz	17,8	11,9	14,0	19,6	28,6	32,9	32,1	28,6

Tabela 23 - Registros eletroretinográficos do coelho 7 antes e após injeção do veículo no olho esquerdo

Condição do teste	Onda-a							
	Amplitude (μV)				Tempo implícito (ms)			
	Antes	7 dias	15 dias	30 dias	Antes	7 dias	15 dias	30 dias
Escotópico 0,003 cd.s/m ²	-15,2	-17,0	-7,1	-6,9	31,3	37,6	9,0	34,4
Escotópico 0,03 cd.s/m ²	-12,6	-22,8	-13,3	-4,6	4,3	17,6	11,4	5,9
Escotópico 0,3 cd.s/m ²	-12,5	-21,3	-13,0	-8,0	20,7	21,5	8,2	18,8
Escotópico 3 cd.s/m ²	-11,0	-24,6	-11,9	-5,3	14,5	11,4	16,1	17,2
Escotópico 30 cd.s/m ²	-40,2	-39,4	-27,6	-24,5	16,4	17,6	14,5	16,8
Fotópico	-11,8	-25,9	-16,8	-9,4	3,5	14,5	10,6	11,0
Flicker 12 Hz	-2,0	-15,8	-3,8	-9,4	5,1	5,1	9,4	11,0
Flicker 18 Hz	-4,1	-11,2	-7,1	...	11,7	12,5	15,3	...
Flicker 24 Hz	-10,0	-24,6	-10,3	...	13,7	18,8	9,4	...
Flicker 30 Hz	-16,5	-21,5	-14,3	-11,6	15,7	21,1	12,5	12,5

Condição do teste	Onda-b							
	Amplitude (μV)				Tempo implícito (ms)			
	Antes	7 dias	15 dias	30 dias	Antes	7 dias	15 dias	30 dias
Escotópico 0,003 cd.s/m ²	18,8	20,1	9,9	10,8	61,8	79,5	73,2	70,5
Escotópico 0,03 cd.s/m ²	32,9	46,1	28,4	23,6	59,9	59,9	66,1	65,8
Escotópico 0,3 cd.s/m ²	69,5	73,7	48,8	63,4	52,1	56,8	54,0	58,3
Escotópico 3 cd.s/m ²	93,9	98,6	72,5	69,6	40,7	43,1	39,5	43,1
Escotópico 30 cd.s/m ²	112,1	112,9	71,1	84,4	46,2	48,5	37,6	57,1
Fotópico	61,8	71,5	45,8	41,6	32,5	35,2	33,3	36,0
Flicker 12 Hz	44,1	54,1	34,7	41,6	33,3	36,0	34,4	36,0
Flicker 18 Hz	33,1	38,0	32,3	...	30,1	37,2	34,8	...
Flicker 24 Hz	24,8	28,3	22,2	...	33,7	38,8	32,1	...
Flicker 30 Hz	19,5	23,5	19,3	15,1	34,1	29,4	30,9	28,2

Tabela 24 - Registros eletroretinográficos do coelho 8 antes e após injeção de 0,05 mg de MPA no olho direito

Condição do teste	Onda-a							
	Amplitude (μV)				Tempo implícito (ms)			
	Antes	7 dias	15 dias	30 dias	Antes	7 dias	15 dias	30 dias
Escotópico 0,003 cd.s/m ²	-7,2	-8,1	-12,1	-5,6	10,6	15,7	25,1	13,3
Escotópico 0,03 cd.s/m ²	-6,4	-6,7	-8,8	-6,4	18,0	12,9	14,5	27,0
Escotópico 0,3 cd.s/m ²	-7,4	-7,9	-7,2	-6,0	20,7	8,2	15,7	20,7
Escotópico 3 cd.s/m ²	-7,7	-9,9	-7,7	-9,3	19,2	15,3	11,7	16,4
Escotópico 30 cd.s/m ²	-30,7	-25,2	-31,1	-30,7	20,4	14,9	14,9	15,7
Fotópico	-9,2	-17,6	-15,2	-11,0	11,7	9,4	11,4	14,5
Flicker 12 Hz	-2,1	-1,4	-1,5	-1,9	12,5	3,5	4,3	5,1
Flicker 18 Hz	-4,7	-12,0	-11,3	...	13,7	15,3	14,1	...
Flicker 24 Hz	-9,0	-16,1	-13,3	...	18,8	20,0	18,8	...
Flicker 30 Hz	-14,5	-10,2	-13,0	-15,0	16,4	15,3	15,7	12,9

Condição do teste	Onda-b							
	Amplitude (μV)				Tempo implícito (ms)			
	Antes	7 dias	15 dias	30 dias	Antes	7 dias	15 dias	30 dias
Escotópico 0,003 cd.s/m ²	16,6	11,7	13,5	14,5	74,4	76,7	59,5	72,8
Escotópico 0,03 cd.s/m ²	38,0	28,6	31,2	38,5	61,8	64,6	62,6	68,5
Escotópico 0,3 cd.s/m ²	71,3	67,9	51,0	71,5	61,1	56,8	59,5	59,1
Escotópico 3 cd.s/m ²	79,6	94,3	57,0	90,9	43,1	45,4	47,4	46,6
Escotópico 30 cd.s/m ²	94,3	100,3	91,8	96,8	61,8	33,7	34,8	41,9
Fotópico	45,2	47,4	54,5	51,3	30,9	29,0	35,2	34,8
Flicker 12 Hz	35,3	45,7	45,3	41,4	30,9	38,4	37,6	34,4
Flicker 18 Hz	29,7	33,4	35,4	...	35,2	36,8	36,8	...
Flicker 24 Hz	22,6	18,3	18,4	...	35,2	39,1	36,0	...
Flicker 30 Hz	16,8	11,5	14,9	18,0	35,6	34,1	30,1	31,7

Tabela 25 - Registros eletrorretinográficos do coelho 8 antes e após injeção do veículo no olho esquerdo

Condição do teste	Onda-a							
	Amplitude (μV)				Tempo implícito (ms)			
	Antes	7 dias	15 dias	30 dias	Antes	7 dias	15 dias	30 dias
Escotópico 0,003 cd.s/m ²	-4,9	-16,3	-22,8	-7,9	19,2	24,7	9,8	30,1
Escotópico 0,03 cd.s/m ²	-6,4	-10,3	-20,3	-7,2	7,4	5,5	8,2	17,2
Escotópico 0,3 cd.s/m ²	-5,0	-12,5	-21,8	-8,4	14,9	18,4	18,4	13,3
Escotópico 3 cd.s/m ²	-11,6	-11,0	-29,9	-6,8	18,0	18,8	22,7	17,6
Escotópico 30 cd.s/m ²	-40,0	-23,6	-51,9	-28,8	15,7	15,7	18,8	15,3
Fotópico	-10,8	-16,7	-54,8	-8,9	12,9	15,7	15,3	14,5
Flicker 12 Hz	-2,4	-6,0	-42,5	-4,1	10,6	15,3	16,1	12,5
Flicker 18 Hz	-4,6	-10,1	-24,7	...	16,1	11,7	7,1	...
Flicker 24 Hz	-11,3	-19,8	-45,8	...	16,8	18,8	13,3	...
Flicker 30 Hz	-19,6	-9,9	-48,3	-17,5	14,1	21,5	14,9	13,3

Condição do teste	Onda-b							
	Amplitude (μV)				Tempo implícito (ms)			
	Antes	7 dias	15 dias	30 dias	Antes	7 dias	15 dias	30 dias
Escotópico 0,003 cd.s/m ²	13,2	19,4	29,9	10,8	60,3	71,6	57,5	64,2
Escotópico 0,03 cd.s/m ²	32,4	26,3	39,9	19,3	63,8	70,1	59,9	65,0
Escotópico 0,3 cd.s/m ²	68,0	63,0	80,8	64,4	57,9	61,8	59,9	52,8
Escotópico 3 cd.s/m ²	89,3	93,4	109,6	83,6	59,9	47,0	48,1	43,1
Escotópico 30 cd.s/m ²	121,0	93,8	117,4	85,7	61,5	39,5	48,1	47,0
Fotópico	62,8	51,6	103,9	51,9	30,9	34,1	29,8	32,9
Flicker 12 Hz	46,1	49,5	97,2	45,1	31,7	35,2	34,4	34,1
Flicker 18 Hz	39,4	34,8	63,8	...	35,2	36,8	37,6	...
Flicker 24 Hz	28,0	23,7	57,7	...	34,1	37,6	38,4	...
Flicker 30 Hz	20,8	10,9	53,6	20,3	32,1	35,2	29,8	31,7

Tabela 26 - Registros eletroretinográficos do coelho 9 antes e após injeção de 0,2 mg de MPA no olho direito

Condição do teste	Onda-a							
	Amplitude (μV)				Tempo implícito (ms)			
	Antes	7 dias	15 dias	30 dias	Antes	7 dias	15 dias	30 dias
Escotópico 0,003 cd.s/m ²	-6,5	-6,2	-7,1	-5,3	34,8	27,0	12,1	17,2
Escotópico 0,03 cd.s/m ²	-7,3	-6,2	-6,7	-6,6	6,3	18,4	13,3	9,8
Escotópico 0,3 cd.s/m ²	-13,0	-9,0	-5,3	-6,6	14,9	15,3	19,2	20,0
Escotópico 3 cd.s/m ²	-10,5	-9,2	-11,3	-12,6	19,2	19,6	20,4	18,4
Escotópico 30 cd.s/m ²	-51,4	-33,3	-35,7	-42,5	15,7	16,8	17,2	17,6
Fotópico	-13,2	-9,8	-13,3	-18,2	13,7	16,1	16,1	14,1
Flicker 12 Hz	-2,9	-1,4	-2,4	-1,9	3,9	3,1	3,9	5,1
Flicker 18 Hz	-9,1	-12,8	-11,6	-7,2	13,3	18,8	14,1	13,3
Flicker 24 Hz	-11,1	-11,9	-12,4	-12,5	15,3	23,1	20,0	17,2
Flicker 30 Hz	-16,7	-10,7	-13,8	-15,2	14,5	16,1	13,3	13,7

Condição do teste	Onda-b							
	Amplitude (μV)				Tempo implícito (ms)			
	Antes	7 dias	15 dias	30 dias	Antes	7 dias	15 dias	30 dias
Escotópico 0,003 cd.s/m ²	18,7	11,2	11,7	20,1	73,6	75,5	87,7	75,2
Escotópico 0,03 cd.s/m ²	47,5	35,0	35,6	48,0	74,4	70,8	71,2	78,7
Escotópico 0,3 cd.s/m ²	99,9	81,3	79,9	114,7	64,6	61,5	61,8	56,8
Escotópico 3 cd.s/m ²	102,8	113,6	125,9	129,7	42,7	53,6	49,7	45,4
Escotópico 30 cd.s/m ²	136,0	139,9	157,2	149,3	47,4	46,6	43,8	44,6
Fotópico	75,9	51,9	72,6	75,0	32,9	32,9	36,0	35,6
Flicker 12 Hz	51,8	37,8	44,3	48,4	32,5	38,8	36,0	32,9
Flicker 18 Hz	40,8	30,6	41,7	42,1	34,1	38,4	36,8	32,5
Flicker 24 Hz	25,6	16,4	22,5	26,0	35,2	41,1	38,0	36,0
Flicker 30 Hz	22,6	13,9	16,8	20,0	29,4	35,6	28,6	28,6

Tabela 27 - Registros eletrorretinográficos do coelho 9 antes e após injeção do veículo no olho esquerdo

Condição do teste	Onda-a							
	Amplitude (μV)				Tempo implícito (ms)			
	Antes	7 dias	15 dias	30 dias	Antes	7 dias	15 dias	30 dias
Escotópico 0,003 cd.s/m ²	-7,6	-5,9	-4,7	-7,2	30,5	6,3	10,2	12,5
Escotópico 0,03 cd.s/m ²	-7,0	-7,4	-6,7	-14,8	3,1	31,3	12,1	8,6
Escotópico 0,3 cd.s/m ²	-5,6	-5,8	-8,3	-13,1	13,3	18,8	18,4	20,7
Escotópico 3 cd.s/m ²	-11,4	-7,3	-11,9	-19,8	20,0	21,5	19,6	18,4
Escotópico 30 cd.s/m ²	-42,7	-25,3	-45,7	-61,3	17,6	16,8	16,4	15,3
Fotópico	-14,5	-10,4	-11,8	-16,5	12,1	14,5	15,7	12,1
Flicker 12 Hz	-2,3	-3,5	0,0	-4,5	14,9	5,5	3,1	16,4
Flicker 18 Hz	-5,1	-12,6	-14,2	-8,1	12,5	19,2	17,2	14,9
Flicker 24 Hz	-10,9	-11,4	-11,9	-15,3	12,5	23,1	20,0	17,6
Flicker 30 Hz	-15,6	-11,7	-15,3	-17,3	13,7	14,9	16,8	11,7

Condição do teste	Onda-b							
	Amplitude (μV)				Tempo implícito (ms)			
	Antes	7 dias	15 dias	30 dias	Antes	7 dias	15 dias	30 dias
Escotópico 0,003 cd.s/m ²	13,0	9,5	10,4	16,4	72,0	75,9	77,5	72,0
Escotópico 0,03 cd.s/m ²	31,0	31,2	41,2	68,1	59,9	71,6	74,4	69,7
Escotópico 0,3 cd.s/m ²	64,3	77,6	106,6	135,1	59,1	59,1	62,2	60,7
Escotópico 3 cd.s/m ²	82,6	116,0	144,5	172,2	52,5	51,7	50,5	47,4
Escotópico 30 cd.s/m ²	111,5	136,9	176,8	216,7	62,2	41,5	45,8	41,1
Fotópico	66,8	53,2	76,7	92,0	34,1	34,4	32,9	34,4
Flicker 12 Hz	42,5	38,0	48,3	50,7	33,3	36,0	38,4	32,5
Flicker 18 Hz	33,4	27,4	41,3	51,9	31,3	36,8	37,2	29,8
Flicker 24 Hz	24,7	13,9	18,7	35,7	31,3	40,7	38,0	29,8
Flicker 30 Hz	20,4	13,2	18,7	23,5	29,8	29,4	30,1	29,0

Tabela 28 - Registros eletrorretinográficos do coelho 10 antes e após injeção de 0,2 mg de MPA no olho direito

Condição do teste	Onda-a							
	Amplitude (μV)				Tempo implícito (ms)			
	Antes	7 dias	15 dias	30 dias	Antes	7 dias	15 dias	30 dias
Escotópico 0,003 cd.s/m ²	-5,6	-5,7	-7,9	-11,3	28,6	18,0	37,6	4,7
Escotópico 0,03 cd.s/m ²	-7,6	-8,3	-6,3	-11,1	23,1	18,0	14,5	25,1
Escotópico 0,3 cd.s/m ²	-8,3	-6,7	-6,2	-7,9	13,7	3,9	5,9	20,4
Escotópico 3 cd.s/m ²	-10,9	-11,4	-8,5	-14,2	14,5	18,8	18,8	20,0
Escotópico 30 cd.s/m ²	-52,9	-35,1	-38,0	-49,7	14,5	14,5	16,4	18,0
Fotópico	-13,1	-13,6	-14,0	-8,7	10,6	12,9	12,5	13,7
Flicker 12 Hz	-2,8	-3,0	-1,4	-2,5	10,2	12,9	14,9	12,1
Flicker 18 Hz	-9,7	-18,4	-5,5	-1,7	12,5	11,4	13,7	3,5
Flicker 24 Hz	-9,2	-32,7	-25,3	-5,8	16,4	19,6	16,4	16,1
Flicker 30 Hz	-16,5	-12,4	-25,0	-11,9	10,2	22,7	16,1	10,6

Condição do teste	Onda-b							
	Amplitude (μV)				Tempo implícito (ms)			
	Antes	7 dias	15 dias	30 dias	Antes	7 dias	15 dias	30 dias
Escotópico 0,003 cd.s/m ²	11,2	9,5	10,6	28,4	79,5	64,2	93,2	68,1
Escotópico 0,03 cd.s/m ²	26,0	31,8	18,8	54,6	71,6	66,9	73,2	69,7
Escotópico 0,3 cd.s/m ²	45,6	83,8	68,9	96,0	55,2	58,3	61,1	54,4
Escotópico 3 cd.s/m ²	122,0	129,5	115,6	97,7	36,8	45,0	48,1	48,9
Escotópico 30 cd.s/m ²	129,2	151,1	126,9	126,2	48,5	36,4	44,2	60,3
Fotópico	57,6	79,3	78,3	46,4	33,3	30,1	33,3	29,0
Flicker 12 Hz	47,1	71,9	64,9	19,4	30,1	36,8	34,4	26,2
Flicker 18 Hz	39,8	62,2	51,4	18,8	30,9	36,8	34,8	25,8
Flicker 24 Hz	28,6	38,4	38,6	19,0	34,1	38,0	35,2	27,4
Flicker 30 Hz	20,8	14,5	28,0	12,3	27,4	39,5	33,7	34,8

Tabela 29 - Registros eletrorretinográficos do coelho 10 antes e após injeção do veículo no olho esquerdo

Condição do teste	Onda-a							
	Amplitude (μV)				Tempo implícito (ms)			
	Antes	7 dias	15 dias	30 dias	Antes	7 dias	15 dias	30 dias
Escotópico 0,003 cd.s/m ²	-6,9	-6,7	-9,3	-8,0	17,6	6,3	5,5	15,3
Escotópico 0,03 cd.s/m ²	-8,5	-7,0	-5,8	-14,2	23,1	23,9	16,4	22,3
Escotópico 0,3 cd.s/m ²	-5,7	-7,2	-6,5	-12,2	18,0	15,3	12,9	21,9
Escotópico 3 cd.s/m ²	-8,0	-7,2	-10,7	-8,9	18,4	17,2	19,6	18,0
Escotópico 30 cd.s/m ²	-31,5	-25,2	-34,2	-27,8	16,4	16,8	14,5	15,3
Fotópico	-10,4	-8,0	-17,7	-12,7	11,4	14,9	11,7	12,1
Flicker 12 Hz	-3,3	-2,4	-2,9	-1,4	10,2	16,1	3,1	3,1
Flicker 18 Hz	-5,2	-9,6	-5,5	-2,3	14,1	16,1	15,3	5,1
Flicker 24 Hz	-7,7	-13,3	-10,9	-2,2	17,6	19,2	17,6	11,7
Flicker 30 Hz	-17,3	-10,8	-31,0	-8,6	11,0	11,7	14,1	6,7

Condição do teste	Onda-b							
	Amplitude (μV)				Tempo implícito (ms)			
	Antes	7 dias	15 dias	30 dias	Antes	7 dias	15 dias	30 dias
Escotópico 0,003 cd.s/m ²	10,3	12,1	17,2	11,2	58,3	81,0	52,8	64,2
Escotópico 0,03 cd.s/m ²	25,4	28,1	25,5	35,3	57,9	71,6	63,8	62,2
Escotópico 0,3 cd.s/m ²	55,3	71,8	72,8	63,3	55,6	60,3	56,4	55,2
Escotópico 3 cd.s/m ²	85,6	107,6	89,4	75,6	45,0	48,1	43,4	41,5
Escotópico 30 cd.s/m ²	89,1	118,7	120,6	80,7	45,8	42,3	37,2	44,2
Fotópico	61,7	65,0	99,7	39,2	32,1	35,6	32,9	26,2
Flicker 12 Hz	35,1	41,9	64,3	11,5	30,1	34,4	33,7	26,2
Flicker 18 Hz	29,9	34,2	47,0	12,4	28,6	36,8	34,1	24,3
Flicker 24 Hz	20,7	21,1	35,8	11,9	34,1	38,0	32,1	26,2
Flicker 30 Hz	21,3	12,4	35,5	10,2	28,2	29,4	31,7	25,1

Tabela 30 - Registros eletrorretinográficos do coelho 11 antes e após injeção de 0,2 mg de MPA no olho direito

Condição do teste	Onda-a							
	Amplitude (μV)				Tempo implícito (ms)			
	Antes	7 dias	15 dias	30 dias	Antes	7 dias	15 dias	30 dias
Escotópico 0,003 cd.s/m ²	-6,7	-7,8	-3,7	-13,9	24,7	34,1	3,5	12,5
Escotópico 0,03 cd.s/m ²	-5,7	-6,2	-6,8	-16,8	6,3	18,4	25,8	23,1
Escotópico 0,3 cd.s/m ²	-6,9	-8,1	-6,0	-14,5	21,5	17,2	18,0	23,1
Escotópico 3 cd.s/m ²	-7,0	-8,5	-7,0	-10,4	16,8	20,0	19,6	16,4
Escotópico 30 cd.s/m ²	-25,9	-22,4	-23,4	-28,7	15,3	15,7	15,7	13,7
Fotópico	-9,1	-8,4	-9,2	-13,5	9,4	13,3	12,9	4,7
Flicker 12 Hz	-3,2	-2,5	-2,9	-2,6	11,0	10,6	13,7	13,3
Flicker 18 Hz	-6,0	-9,2	-3,6	-2,2	14,5	10,6	12,1	4,3
Flicker 24 Hz	-5,8	-7,8	-8,4	-4,9	17,6	21,5	15,3	13,3
Flicker 30 Hz	-10,4	-8,4	-17,7	-8,3	11,0	11,0	14,1	9,4

Condição do teste	Onda-b							
	Amplitude (μV)				Tempo implícito (ms)			
	Antes	7 dias	15 dias	30 dias	Antes	7 dias	15 dias	30 dias
Escotópico 0,003 cd.s/m ²	15,8	11,5	9,9	30,2	70,1	82,6	82,2	76,7
Escotópico 0,03 cd.s/m ²	40,5	28,5	21,8	53,0	62,6	72,8	69,7	63,0
Escotópico 0,3 cd.s/m ²	69,8	55,9	47,4	95,3	62,2	62,2	58,7	59,5
Escotópico 3 cd.s/m ²	75,4	72,4	61,8	93,3	45,0	46,2	45,0	44,6
Escotópico 30 cd.s/m ²	73,7	81,3	74,3	91,3	47,8	44,2	37,6	45,0
Fotópico	41,4	42,5	50,2	37,8	32,9	35,2	32,5	25,4
Flicker 12 Hz	26,9	29,9	36,0	13,0	31,3	35,6	32,9	24,7
Flicker 18 Hz	21,3	24,0	28,4	14,7	27,8	32,9	30,5	26,2
Flicker 24 Hz	15,6	14,9	23,0	14,6	27,8	34,1	30,1	27,4
Flicker 30 Hz	12,9	11,3	19,8	10,0	26,6	27,4	29,4	25,1

Tabela 31 - Registros eletrorretinográficos do coelho 11 antes e após injeção do veículo no olho esquerdo

Condição do teste	Onda-a							
	Amplitude (μV)				Tempo implícito (ms)			
	Antes	7 dias	15 dias	30 dias	Antes	7 dias	15 dias	30 dias
Escotópico 0,003 cd.s/m ²	-6,9	-6,7	-9,3	-8,0	17,6	6,3	5,5	15,3
Escotópico 0,03 cd.s/m ²	-8,5	-7,0	-5,8	-14,2	23,1	23,9	16,4	22,3
Escotópico 0,3 cd.s/m ²	-5,7	-7,2	-6,5	-12,2	18,0	15,3	12,9	21,9
Escotópico 3 cd.s/m ²	-8,0	-7,2	-10,7	-8,9	18,4	17,2	19,6	18,0
Escotópico 30 cd.s/m ²	-31,5	-25,2	-34,2	-27,8	16,4	16,8	14,5	15,3
Fotópico	-10,4	-8,0	-17,7	-12,7	11,4	14,9	11,7	12,1
Flicker 12 Hz	-3,3	-2,4	-2,9	-1,4	10,2	16,1	3,1	3,1
Flicker 18 Hz	-5,2	-9,6	-5,5	-2,3	14,1	16,1	15,3	5,1
Flicker 24 Hz	-7,7	-13,3	-10,9	-2,2	17,6	19,2	17,6	11,7
Flicker 30 Hz	-17,3	-10,8	-31,0	-8,6	11,0	11,7	14,1	6,7

Condição do teste	Onda-b							
	Amplitude (μV)				Tempo implícito (ms)			
	Antes	7 dias	15 dias	30 dias	Antes	7 dias	15 dias	30 dias
Escotópico 0,003 cd.s/m ²	10,3	12,1	17,2	11,2	58,3	81,0	52,8	64,2
Escotópico 0,03 cd.s/m ²	25,4	28,1	25,5	35,3	57,9	71,6	63,8	62,2
Escotópico 0,3 cd.s/m ²	55,3	71,8	72,8	63,3	55,6	60,3	56,4	55,2
Escotópico 3 cd.s/m ²	85,6	107,6	89,4	75,6	45,0	48,1	43,4	41,5
Escotópico 30 cd.s/m ²	89,1	118,7	120,6	80,7	45,8	42,3	37,2	44,2
Fotópico	61,7	65,0	99,7	39,2	32,1	35,6	32,9	26,2
Flicker 12 Hz	35,1	41,9	64,3	11,5	30,1	34,4	33,7	26,2
Flicker 18 Hz	29,9	34,2	47,0	12,4	28,6	36,8	34,1	24,3
Flicker 24 Hz	20,7	21,1	35,8	11,9	34,1	38,0	32,1	26,2
Flicker 30 Hz	21,3	12,4	35,5	10,2	28,2	29,4	31,7	25,1

Tabela 32 - Registros eletrorretinográficos do coelho 12 antes e após injeção de 0,2 mg de MPA no olho direito

Condição do teste	Onda-a							
	Amplitude (μV)				Tempo implícito (ms)			
	Antes	7 dias	15 dias	30 dias	Antes	7 dias	15 dias	30 dias
Escotópico 0,003 cd.s/m ²	-8,1	-7,2	-6,7	-9,3	26,2	31,3	34,4	31,7
Escotópico 0,03 cd.s/m ²	-6,8	-8,1	-5,2	-7,4	5,9	14,9	11,0	25,8
Escotópico 0,3 cd.s/m ²	-7,3	-7,0	-5,9	-4,8	16,1	9,0	20,0	3,9
Escotópico 3 cd.s/m ²	-9,6	-8,1	-7,6	-11,6	14,9	14,9	13,3	14,5
Escotópico 30 cd.s/m ²	-42,0	-29,9	-24,5	-37,5	16,8	16,1	16,1	15,7
Fotópico	-15,6	-9,1	-16,8	-15,4	13,7	13,7	13,3	8,6
Flicker 12 Hz	-4,3	-2,7	-3,1	-3,0	14,1	3,9	12,5	10,2
Flicker 18 Hz	-9,7	-8,2	-4,2	-3,6	11,7	14,1	6,3	5,9
Flicker 24 Hz	-17,6	-22,4	-17,4	-4,3	16,1	17,6	15,7	11,7
Flicker 30 Hz	-26,2	-17,6	-20,6	-17,6	13,7	16,8	16,4	12,1

Condição do teste	Onda-b							
	Amplitude (μV)				Tempo implícito (ms)			
	Antes	7 dias	15 dias	30 dias	Antes	7 dias	15 dias	30 dias
Escotópico 0,003 cd.s/m ²	18,1	7,3	8,3	11,9	74,0	73,2	66,9	64,2
Escotópico 0,03 cd.s/m ²	50,9	24,2	17,8	34,9	66,1	70,1	69,3	62,2
Escotópico 0,3 cd.s/m ²	97,3	75,0	54,4	81,7	61,8	62,2	58,7	51,7
Escotópico 3 cd.s/m ²	119,5	115,2	94,2	110,6	43,8	44,6	45,0	40,7
Escotópico 30 cd.s/m ²	128,0	137,0	97,3	118,0	48,1	37,6	39,9	48,1
Fotópico	78,7	73,7	67,7	61,5	31,7	32,1	34,1	27,8
Flicker 12 Hz	63,2	57,7	47,9	22,3	32,1	34,1	33,7	28,6
Flicker 18 Hz	49,0	46,1	35,5	25,0	32,1	33,3	34,4	26,6
Flicker 24 Hz	36,3	33,2	28,6	23,4	35,2	34,8	35,2	27,0
Flicker 30 Hz	28,0	19,8	22,9	18,9	33,7	35,6	35,6	25,4

Tabela 33 - Registros eletrorretinográficos do coelho 12 antes e após injeção do veículo no olho esquerdo

Condição do teste	Onda-a							
	Amplitude (μV)				Tempo implícito (ms)			
	Antes	7 dias	15 dias	30 dias	Antes	7 dias	15 dias	30 dias
Escotópico 0,003 cd.s/m ²	-15,4	-7,3	-7,0	-8,3	34,4	7,1	32,1	4,3
Escotópico 0,03 cd.s/m ²	-13,5	-7,3	-5,5	-13,0	33,7	11,7	7,1	24,7
Escotópico 0,3 cd.s/m ²	-16,3	-5,9	-6,5	-16,6	23,5	7,4	16,1	18,8
Escotópico 3 cd.s/m ²	-17,0	-8,6	-9,3	-13,6	15,7	17,2	18,0	16,1
Escotópico 30 cd.s/m ²	-44,3	-38,3	-27,3	-44,2	14,5	14,5	14,9	15,3
Fotópico	-27,8	-15,8	-20,7	-11,7	13,3	12,9	12,1	13,3
Flicker 12 Hz	-7,5	-1,2	-3,8	-6,1	14,5	3,9	7,1	7,4
Flicker 18 Hz	-6,1	-9,1	-4,4	-1,8	10,6	10,2	3,5	3,9
Flicker 24 Hz	-12,8	-26,3	-24,8	-4,4	14,1	17,6	15,7	3,5
Flicker 30 Hz	-23,8	-24,0	-29,7	-21,8	13,3	17,2	17,6	11,0

Condição do teste	Onda-b							
	Amplitude (μV)				Tempo implícito (ms)			
	Antes	7 dias	15 dias	30 dias	Antes	7 dias	15 dias	30 dias
Escotópico 0,003 cd.s/m ²	20,0	9,9	9,0	12,5	71,2	57,9	68,5	70,5
Escotópico 0,03 cd.s/m ²	32,9	28,0	25,9	43,1	60,7	57,5	65,8	60,7
Escotópico 0,3 cd.s/m ²	77,0	90,3	72,8	104,7	52,1	52,8	57,5	48,1
Escotópico 3 cd.s/m ²	93,9	142,9	117,2	133,0	40,3	41,5	42,7	40,3
Escotópico 30 cd.s/m ²	99,0	174,4	124,0	133,3	35,2	36,0	36,0	34,1
Fotópico	81,6	91,0	85,9	64,8	32,1	30,1	33,7	27,0
Flicker 12 Hz	54,9	75,5	63,7	29,1	33,3	36,0	35,6	26,2
Flicker 18 Hz	39,6	56,3	49,9	25,6	32,5	34,4	35,6	26,6
Flicker 24 Hz	35,7	39,6	40,3	28,3	32,5	37,6	35,2	27,0
Flicker 30 Hz	25,9	27,1	31,4	26,0	34,1	36,0	34,1	26,6

Tabela 34 - Registros eletrorretinográficos do coelho 13 antes e após injeção de 1 mg de MPA no olho direito

Condição do teste	Onda-a							
	Amplitude (μV)				Tempo implícito (ms)			
	Antes	7 dias	15 dias	30 dias	Antes	7 dias	15 dias	30 dias
Escotópico 0,003 cd.s/m ²	-6,9	-6,0	-6,3	-7,7	33,3	27,0	9,8	25,4
Escotópico 0,03 cd.s/m ²	-6,2	-6,1	-6,4	-5,1	11,7	15,3	17,2	5,9
Escotópico 0,3 cd.s/m ²	-7,2	-8,2	-7,4	-5,0	13,7	17,6	19,2	24,3
Escotópico 3 cd.s/m ²	-11,0	-12,8	-9,6	-12,9	18,8	16,4	17,6	18,4
Escotópico 30 cd.s/m ²	-40,2	-33,4	-35,7	-50,1	15,3	16,8	15,7	16,1
Fotópico	-10,5	-12,0	-9,6	-21,4	9,8	11,4	13,3	11,7
Flicker 12 Hz	-3,1	-1,4	0,1	-1,7	4,7	3,5	3,1	4,7
Flicker 18 Hz	-5,9	-13,7	-8,0	-6,8	11,7	17,2	10,2	13,3
Flicker 24 Hz	-8,0	-21,6	-16,8	-14,8	13,3	19,6	14,9	8,6
Flicker 30 Hz	-16,6	-9,7	-18,5	-21,4	12,1	22,3	14,1	11,7

Condição do teste	Onda-b							
	Amplitude (μV)				Tempo implícito (ms)			
	Antes	7 dias	15 dias	30 dias	Antes	7 dias	15 dias	30 dias
Escotópico 0,003 cd.s/m ²	21,6	8,9	11,6	19,8	80,2	70,1	78,7	79,5
Escotópico 0,03 cd.s/m ²	45,4	29,9	42,8	58,9	70,1	72,4	71,6	72,0
Escotópico 0,3 cd.s/m ²	79,8	89,6	92,7	116,3	68,5	57,1	61,1	57,1
Escotópico 3 cd.s/m ²	80,9	132,9	121,4	146,2	59,5	46,6	52,1	50,1
Escotópico 30 cd.s/m ²	120,0	156,7	143,2	176,2	60,7	38,4	47,0	44,6
Fotópico	51,9	70,6	72,4	85,2	34,1	31,3	35,2	34,1
Flicker 12 Hz	40,0	49,7	54,2	64,3	30,5	34,8	33,7	32,9
Flicker 18 Hz	31,7	42,9	47,6	55,7	30,5	37,6	32,5	33,3
Flicker 24 Hz	24,7	24,7	31,2	39,2	27,0	38,0	30,9	30,1
Flicker 30 Hz	20,8	11,8	22,7	31,2	26,6	38,0	28,6	29,0

Tabela 35 - Registros eletrorretinográficos do coelho 13 antes e após injeção do veículo no olho esquerdo

Condição do teste	Onda-a							
	Amplitude (μV)				Tempo implícito (ms)			
	Antes	7 dias	15 dias	30 dias	Antes	7 dias	15 dias	30 dias
Escotópico 0,003 cd.s/m ²	-5,3	-10,4	-7,8	-7,8	4,3	5,1	26,2	30,1
Escotópico 0,03 cd.s/m ²	-7,7	-8,4	-6,7	-8,9	23,1	37,6	5,5	23,9
Escotópico 0,3 cd.s/m ²	-7,2	-7,8	-6,9	-6,7	24,7	24,3	16,1	20,4
Escotópico 3 cd.s/m ²	-10,1	-6,1	-11,1	-10,7	19,2	21,1	20,0	20,4
Escotópico 30 cd.s/m ²	-48,6	-34,8	-25,9	-40,8	16,4	17,2	16,1	17,2
Fotópico	-11,8	-13,8	-11,1	-19,6	12,9	15,7	13,7	14,5
Flicker 12 Hz	-1,6	-2,1	-4,4	-4,1	3,9	3,1	3,1	11,0
Flicker 18 Hz	-9,7	-16,3	-11,2	-8,6	12,9	15,3	12,9	14,9
Flicker 24 Hz	-3,9	-18,1	-15,3	-23,8	11,0	22,7	18,4	11,7
Flicker 30 Hz	-23,8	-11,4	-16,9	-21,6	14,9	13,3	15,7	14,9

Condição do teste	Onda-b							
	Amplitude (μV)				Tempo implícito (ms)			
	Antes	7 dias	15 dias	30 dias	Antes	7 dias	15 dias	30 dias
Escotópico 0,003 cd.s/m ²	8,5	21,0	11,3	10,2	30,5	72,0	77,1	75,2
Escotópico 0,03 cd.s/m ²	25,1	27,8	39,2	35,2	60,7	72,0	70,5	70,8
Escotópico 0,3 cd.s/m ²	72,4	79,7	80,9	99,7	61,8	59,1	58,3	59,9
Escotópico 3 cd.s/m ²	112,7	126,9	103,4	152,2	62,6	47,8	43,4	47,4
Escotópico 30 cd.s/m ²	149,1	162,8	111,1	175,1	58,3	39,9	42,3	39,1
Fotópico	80,5	74,6	58,9	83,0	32,5	34,1	36,8	37,2
Flicker 12 Hz	52,3	57,3	47,1	65,4	32,9	35,2	35,2	35,2
Flicker 18 Hz	31,0	43,7	40,7	56,6	33,3	39,5	35,6	34,4
Flicker 24 Hz	42,0	22,5	22,9	38,9	32,5	39,9	39,5	32,5
Flicker 30 Hz	27,9	13,9	21,0	25,1	34,1	39,1	30,5	30,5

Tabela 36 - Registros eletrorretinográficos do coelho 14 antes e após injeção de 1 mg de MPA no olho direito

Condição do teste	Onda-a							
	Amplitude (μ V)				Tempo implícito (ms)			
	Antes	7 dias	15 dias	30 dias	Antes	7 dias	15 dias	30 dias
Escotópico 0,003 cd.s/m ²	-7,9	-8,4	-5,3	-5,1	32,1	35,6	26,2	12,5
Escotópico 0,03 cd.s/m ²	-6,4	-5,7	-4,5	-6,7	5,9	5,9	3,1	14,1
Escotópico 0,3 cd.s/m ²	-5,9	-4,6	-7,2	-6,8	24,7	5,9	14,5	21,9
Escotópico 3 cd.s/m ²	-8,5	-8,1	-12,1	-7,8	18,0	14,9	18,0	16,8
Escotópico 30 cd.s/m ²	-33,1	-33,5	-42,1	-25,9	15,3	14,1	15,7	16,4
Fotópico	-9,7	-14,7	-13,5	-18,7	15,3	16,1	13,3	14,5
Flicker 12 Hz	-4,0	-3,5	-5,0	-3,1	12,1	19,6	15,7	13,3
Flicker 18 Hz	-5,1	-9,9	-5,2	-4,3	12,5	15,3	11,7	14,9
Flicker 24 Hz	-8,4	-18,6	-16,9	-11,0	20,0	21,9	12,5	12,5
Flicker 30 Hz	-10,4	-13,5	-21,4	-14,3	18,0	12,9	14,5	14,5

Condição do teste	Onda-b							
	Amplitude (μ V)				Tempo implícito (ms)			
	Antes	7 dias	15 dias	30 dias	Antes	7 dias	15 dias	30 dias
Escotópico 0,003 cd.s/m ²	14,1	9,6	10,3	12,7	66,9	60,3	73,2	70,8
Escotópico 0,03 cd.s/m ²	34,7	22,9	34,0	31,1	72,8	61,1	62,6	66,5
Escotópico 0,3 cd.s/m ²	57,3	63,1	90,3	68,9	58,3	54,8	58,3	53,6
Escotópico 3 cd.s/m ²	79,3	97,1	119,1	86,9	41,5	38,8	44,2	45,8
Escotópico 30 cd.s/m ²	80,4	119,4	140,6	91,2	47,8	35,2	39,1	48,9
Fotópico	34,5	65,5	68,7	53,6	30,5	35,2	32,9	32,9
Flicker 12 Hz	25,6	42,6	53,2	37,8	34,1	37,2	32,9	33,3
Flicker 18 Hz	20,6	40,9	45,9	27,0	35,6	34,8	31,3	34,8
Flicker 24 Hz	16,3	27,9	34,5	22,1	34,1	38,8	36,4	34,8
Flicker 30 Hz	11,6	17,0	23,5	16,5	36,4	36,8	35,6	35,6

Tabela 37 - Registros eletrorretinográficos do coelho 14 antes e após injeção do veículo no olho esquerdo

Condição do teste	Onda-a							
	Amplitude (μV)				Tempo implícito (ms)			
	Antes	7 dias	15 dias	30 dias	Antes	7 dias	15 dias	30 dias
Escotópico 0,003 cd.s/m ²	-8,0	-5,7	-5,3	-6,8	16,1	5,1	17,6	34,1
Escotópico 0,03 cd.s/m ²	-8,5	-8,2	-7,8	-4,2	10,6	19,6	27,8	10,2
Escotópico 0,3 cd.s/m ²	-6,3	-6,5	-7,4	-6,8	19,6	19,6	12,5	5,5
Escotópico 3 cd.s/m ²	-9,7	-12,4	-10,9	-7,7	17,6	20,0	13,3	17,6
Escotópico 30 cd.s/m ²	-40,3	-42,4	-36,3	-32,1	15,3	16,4	15,7	16,4
Fotópico	-12,3	-19,5	-12,3	-15,1	14,1	12,1	12,1	12,1
Flicker 12 Hz	-3,0	-4,8	-7,8	-4,2	16,1	19,2	14,5	15,3
Flicker 18 Hz	-6,0	-13,2	-2,0	-3,4	11,0	14,9	7,1	11,7
Flicker 24 Hz	-9,1	-28,9	-25,4	-16,5	16,8	22,3	14,5	11,4
Flicker 30 Hz	-17,7	-18,1	-30,1	-17,8	15,7	23,9	16,1	16,1

Condição do teste	Onda-b							
	Amplitude (μV)				Tempo implícito (ms)			
	Antes	7 dias	15 dias	30 dias	Antes	7 dias	15 dias	30 dias
Escotópico 0,003 cd.s/m ²	9,5	7,3	9,6	12,4	53,2	65,8	71,6	72,8
Escotópico 0,03 cd.s/m ²	30,1	28,3	40,3	30,2	61,5	68,9	61,5	64,6
Escotópico 0,3 cd.s/m ²	68,3	81,5	117,7	71,5	55,2	62,2	54,0	56,8
Escotópico 3 cd.s/m ²	84,5	127,8	119,1	106,1	42,7	47,8	43,8	43,8
Escotópico 30 cd.s/m ²	100,3	161,5	121,5	101,4	46,2	43,1	39,9	47,8
Fotópico	50,4	87,8	74,4	63,0	31,7	32,1	32,9	33,7
Flicker 12 Hz	35,5	65,4	62,2	51,7	32,5	38,4	33,7	33,7
Flicker 18 Hz	28,0	52,4	50,7	38,3	34,4	34,4	34,1	34,4
Flicker 24 Hz	23,3	35,9	43,2	27,7	34,8	37,6	36,4	32,5
Flicker 30 Hz	17,4	20,6	32,2	20,2	33,7	36,8	34,8	32,5

Tabela 38 - Registros eletrorretinográficos do coelho 15 antes e após injeção de 1 mg de MPA no olho direito

Condição do teste	Onda-a							
	Amplitude (μ V)				Tempo implícito (ms)			
	Antes	7 dias	15 dias	30 dias	Antes	7 dias	15 dias	30 dias
Escotópico 0,003 cd.s/m ²	-6,5	-6,3	-5,0	-7,6	29,8	8,6	3,5	26,2
Escotópico 0,03 cd.s/m ²	-5,6	-6,4	-8,2	-7,5	7,4	5,5	20,0	25,1
Escotópico 0,3 cd.s/m ²	-6,9	-6,7	-8,3	-4,3	14,1	20,4	21,1	19,2
Escotópico 3 cd.s/m ²	-10,5	-7,3	-9,3	-12,3	16,8	16,4	19,6	17,2
Escotópico 30 cd.s/m ²	-32,9	-26,6	-45,9	-62,7	15,3	14,9	16,4	15,7
Fotópico	-13,4	-15,7	-10,2	-19,9	11,7	11,7	11,4	10,2
Flicker 12 Hz	-3,4	-3,3	-3,0	-5,2	13,7	18,0	16,8	12,5
Flicker 18 Hz	-6,7	-8,7	-5,3	-8,8	14,5	13,7	14,5	11,7
Flicker 24 Hz	-9,0	-19,8	-18,1	-11,4	17,6	18,8	13,3	15,3
Flicker 30 Hz	-17,6	-18,1	-35,1	-32,6	12,1	12,9	13,7	11,7

Condição do teste	Onda-b							
	Amplitude (μ V)				Tempo implícito (ms)			
	Antes	7 dias	15 dias	30 dias	Antes	7 dias	15 dias	30 dias
Escotópico 0,003 cd.s/m ²	18,7	8,7	8,4	30,6	73,6	58,7	72,4	75,9
Escotópico 0,03 cd.s/m ²	47,0	18,7	32,1	96,4	78,7	69,3	70,8	70,5
Escotópico 0,3 cd.s/m ²	89,1	59,3	94,6	167,1	67,7	57,5	60,3	55,2
Escotópico 3 cd.s/m ²	102,4	106,7	142,1	177,8	52,5	43,1	42,7	42,3
Escotópico 30 cd.s/m ²	109,3	134,9	175,7	211,3	47,4	36,8	36,4	40,7
Fotópico	61,3	80,1	102,7	116,6	33,3	35,2	33,3	33,3
Flicker 12 Hz	43,5	55,5	70,7	84,3	33,3	32,9	33,3	32,5
Flicker 18 Hz	33,9	47,0	62,7	72,8	32,1	32,9	31,7	31,7
Flicker 24 Hz	25,7	32,2	48,9	51,4	29,0	32,9	30,5	29,8
Flicker 30 Hz	22,4	20,9	44,5	42,8	27,8	30,1	29,8	28,6

Tabela 39 - Registros eletrorretinográficos do coelho 15 antes e após injeção do veículo no olho esquerdo

Condição do teste	Onda-a							
	Amplitude (μV)				Tempo implícito (ms)			
	Antes	7 dias	15 dias	30 dias	Antes	7 dias	15 dias	30 dias
Escotópico 0,003 cd.s/m ²	-6,5	-6,6	-6,9	-5,8	18,4	21,5	11,4	24,7
Escotópico 0,03 cd.s/m ²	-6,8	-4,4	-6,8	-3,1	7,4	7,8	21,5	6,7
Escotópico 0,3 cd.s/m ²	-7,6	-5,2	-6,3	-6,9	11,7	10,6	17,2	19,6
Escotópico 3 cd.s/m ²	-11,2	-8,6	-11,3	-7,6	18,4	14,5	19,6	18,0
Escotópico 30 cd.s/m ²	-51,4	-28,1	-38,8	-45,1	17,6	15,7	16,1	15,7
Fotópico	-12,1	-13,7	-15,7	-16,7	11,4	14,1	12,9	11,7
Flicker 12 Hz	-1,5	-2,9	-4,2	-0,4	3,1	7,1	14,5	3,1
Flicker 18 Hz	-10,8	-14,2	-9,8	-4,7	14,1	13,3	17,2	15,7
Flicker 24 Hz	-9,0	-21,0	-31,1	-20,2	4,3	23,1	19,6	14,9
Flicker 30 Hz	-27,1	-19,0	-27,0	-30,9	13,3	13,3	18,0	13,3

Condição do teste	Onda-b							
	Amplitude (μV)				Tempo implícito (ms)			
	Antes	7 dias	15 dias	30 dias	Antes	7 dias	15 dias	30 dias
Escotópico 0,003 cd.s/m ²	12,6	7,8	11,2	9,3	69,3	85,7	77,9	73,2
Escotópico 0,03 cd.s/m ²	38,4	19,8	21,9	39,3	65,0	68,9	68,5	65,8
Escotópico 0,3 cd.s/m ²	103,4	67,3	80,6	97,3	55,2	60,7	59,1	55,6
Escotópico 3 cd.s/m ²	127,9	118,2	139,0	132,4	51,7	43,8	43,4	40,7
Escotópico 30 cd.s/m ²	168,2	151,4	173,8	154,9	44,6	38,8	37,2	39,1
Fotópico	93,6	72,5	98,7	92,4	32,9	31,3	36,4	33,3
Flicker 12 Hz	60,8	58,3	72,5	71,9	33,3	34,8	36,0	33,7
Flicker 18 Hz	53,3	49,9	60,6	58,3	31,7	35,2	37,2	32,9
Flicker 24 Hz	38,2	29,8	41,6	48,6	29,0	36,0	33,3	30,9
Flicker 30 Hz	38,7	21,3	30,6	37,4	28,2	37,2	36,8	31,7

Tabela 40 - Registros eletrorretinográficos do coelho 16 antes e após injeção de 1 mg de MPA no olho direito

Condição do teste	Onda-a							
	Amplitude (μV)				Tempo implícito (ms)			
	Antes	7 dias	15 dias	30 dias	Antes	7 dias	15 dias	30 dias
Escotópico 0,003 cd.s/m ²	-6,9	-6,5	-6,7	-8,5	14,1	12,1	6,3	30,1
Escotópico 0,03 cd.s/m ²	-7,6	-5,6	-8,1	-9,0	30,1	29,4	21,5	23,9
Escotópico 0,3 cd.s/m ²	-5,7	-4,8	-8,0	-9,6	8,6	18,8	20,4	17,2
Escotópico 3 cd.s/m ²	-8,7	-10,3	-10,4	-11,7	18,4	16,4	18,0	10,6
Escotópico 30 cd.s/m ²	-33,3	-24,1	-37,4	-38,1	14,9	16,1	15,3	18,4
Fotópico	-11,0	-10,3	-9,9	-6,9	12,1	14,1	12,1	3,5
Flicker 12 Hz	-2,8	-2,4	-3,2	-3,5	6,7	6,7	5,5	11,7
Flicker 18 Hz	-6,8	-10,1	-9,2	-3,3	12,9	15,7	14,9	5,9
Flicker 24 Hz	-5,0	-18,0	-13,9	-4,8	18,8	19,6	15,3	16,1
Flicker 30 Hz	-13,1	-10,6	-16,3	-9,0	10,6	21,9	14,5	9,4

Condição do teste	Onda-b							
	Amplitude (μV)				Tempo implícito (ms)			
	Antes	7 dias	15 dias	30 dias	Antes	7 dias	15 dias	30 dias
Escotópico 0,003 cd.s/m ²	21,0	8,7	10,6	13,9	74,0	78,3	76,3	72,8
Escotópico 0,03 cd.s/m ²	45,4	22,8	30,0	37,1	68,9	73,6	70,1	67,3
Escotópico 0,3 cd.s/m ²	76,8	57,1	76,9	68,4	62,2	57,9	56,4	57,5
Escotópico 3 cd.s/m ²	80,4	88,9	98,6	90,3	46,6	46,2	44,6	43,8
Escotópico 30 cd.s/m ²	101,7	105,9	115,6	101,3	51,7	41,9	42,3	47,8
Fotópico	49,7	55,1	52,3	38,4	35,2	29,8	34,8	29,0
Flicker 12 Hz	38,5	44,0	47,3	16,5	31,7	36,8	34,1	26,6
Flicker 18 Hz	33,2	35,9	41,1	16,3	30,9	34,8	32,9	28,2
Flicker 24 Hz	22,9	22,6	25,8	16,2	29,4	38,8	30,9	28,6
Flicker 30 Hz	21,9	11,4	21,0	12,1	27,8	36,8	29,4	27,0

Tabela 41 - Registros eletrorretinográficos do coelho 16 antes e após injeção do veículo no olho esquerdo

Condição do teste	Onda-a							
	Amplitude (μV)				Tempo implícito (ms)			
	Antes	7 dias	15 dias	30 dias	Antes	7 dias	15 dias	30 dias
Escotópico 0,003 cd.s/m ²	-6,3	-7,7	-5,7	-7,2	23,5	18,4	38,0	23,5
Escotópico 0,03 cd.s/m ²	-6,8	-6,9	-5,8	-5,8	22,3	21,5	17,6	7,4
Escotópico 0,3 cd.s/m ²	-6,9	-6,3	-5,5	-8,5	7,8	23,9	18,0	18,8
Escotópico 3 cd.s/m ²	-8,3	-8,4	-11,8	-14,0	18,4	20,0	18,4	17,6
Escotópico 30 cd.s/m ²	-39,4	-20,9	-41,8	-29,1	15,7	16,1	14,9	15,3
Fotópico	-10,5	-8,6	-18,7	-11,5	12,5	10,2	15,3	9,0
Flicker 12 Hz	-2,9	-2,8	-3,6	-3,7	11,4	8,2	3,9	14,9
Flicker 18 Hz	-7,1	-9,0	-6,8	-0,4	12,5	12,9	11,4	3,1
Flicker 24 Hz	-7,6	-17,5	-23,5	-4,9	16,4	21,1	14,5	12,9
Flicker 30 Hz	-20,4	-7,5	-22,8	-10,6	12,9	16,1	14,1	12,9

Condição do teste	Onda-b							
	Amplitude (μV)				Tempo implícito (ms)			
	Antes	7 dias	15 dias	30 dias	Antes	7 dias	15 dias	30 dias
Escotópico 0,003 cd.s/m ²	7,5	8,9	8,4	7,6	58,7	83,8	70,1	68,9
Escotópico 0,03 cd.s/m ²	24,2	20,6	31,3	25,8	60,3	71,2	61,1	60,7
Escotópico 0,3 cd.s/m ²	73,7	48,1	77,9	69,4	57,5	58,7	49,3	55,6
Escotópico 3 cd.s/m ²	86,7	72,1	99,7	93,1	39,9	45,4	41,5	41,5
Escotópico 30 cd.s/m ²	110,4	82,0	119,2	91,9	44,2	39,5	34,8	48,1
Fotópico	64,5	43,8	69,4	48,7	34,1	29,4	34,4	27,8
Flicker 12 Hz	49,9	36,5	65,7	16,1	31,7	36,0	34,8	27,0
Flicker 18 Hz	40,6	33,5	59,5	14,8	30,5	36,0	33,7	26,2
Flicker 24 Hz	31,0	20,6	37,9	19,4	29,4	39,1	32,5	26,2
Flicker 30 Hz	27,5	10,0	27,1	13,8	28,2	37,6	30,9	25,4

Tabela 42 - Registros eletrorretinográficos do coelho 17 antes e após injeção de 10 mg de MPA no olho direito

Condição do teste	Onda-a							
	Amplitude (μV)				Tempo implícito (ms)			
	Antes	7 dias	15 dias	30 dias	Antes	7 dias	15 dias	30 dias
Escotópico 0,003 cd.s/m ²	-7,0	...	-3,1	-2,0	20,0	...	6,0	4,0
Escotópico 0,03 cd.s/m ²	-4,7	...	-3,9	-5,5	9,0	...	23,0	8,0
Escotópico 0,3 cd.s/m ²	-4,9	...	-7,1	-7,3	13,0	...	17,0	13,0
Escotópico 3 cd.s/m ²	-25,4	...	-10,0	-9,2	17,0	...	16,0	18,0
Escotópico 30 cd.s/m ²	-38,1	...	-33,6	-53,4	14,0	...	16,0	15,0
Fotópico	-22,2	...	-15,3	-9,3	12,0	...	14,0	10,0
Flicker 12 Hz	-1,8	...	-3,9	-1,9	15,0	...	13,0	14,0
Flicker 18 Hz	-4,4	...	-0,6	-1,3	13,0	...	8,0	14,0
Flicker 24 Hz	-8,6	...	-18,1	-6,9	15,0	...	14,0	13,0
Flicker 30 Hz	-11,5	...	-27,3	-33,8	14,0	...	16,0	13,0

Condição do teste	Onda-b							
	Amplitude (μV)				Tempo implícito (ms)			
	Antes	7 dias	15 dias	30 dias	Antes	7 dias	15 dias	30 dias
Escotópico 0,003 cd.s/m ²	4,4	...	3,2	7,2	85,0	...	38,0	55,0
Escotópico 0,03 cd.s/m ²	16,3	...	19,8	30,8	62,0	...	55,0	54,0
Escotópico 0,3 cd.s/m ²	36,3	...	81,0	86,7	46,0	...	53,0	52,0
Escotópico 3 cd.s/m ²	103,2	...	122,3	95,3	42,0	...	42,0	35,0
Escotópico 30 cd.s/m ²	89,0	...	127,0	139,3	33,0	...	34,0	38,0
Fotópico	64,3	...	79,8	97,6	31,0	...	29,0	29,0
Flicker 12 Hz	34,5	...	62,1	73,6	31,0	...	33,0	30,0
Flicker 18 Hz	28,5	...	50,3	52,9	34,0	...	31,0	32,0
Flicker 24 Hz	20,8	...	41,5	46,0	35,0	...	34,0	28,0
Flicker 30 Hz	11,1	...	29,0	41,5	26,0	...	34,0	27,0

Tabela 43 - Registros eletrorretinográficos do coelho 17 antes e após injeção do veículo no olho esquerdo

Condição do teste	Onda-a							
	Amplitude (μV)				Tempo implícito (ms)			
	Antes	7 dias	15 dias	30 dias	Antes	7 dias	15 dias	30 dias
Escotópico 0,003 cd.s/m ²	-13,0	...	-3,0	-3,8	17,0	...	14,0	14,0
Escotópico 0,03 cd.s/m ²	-9,9	...	-5,4	-6,0	23,0	...	15,0	23,0
Escotópico 0,3 cd.s/m ²	-10,9	...	-7,2	-5,0	19,0	...	8,0	21,0
Escotópico 3 cd.s/m ²	-12,9	...	-7,5	-7,9	13,0	...	14,0	18,0
Escotópico 30 cd.s/m ²	-48,5	...	-33,0	-52,0	16,0	...	15,0	15,0
Fotópico	-14,1	...	-12,1	-11,0	13,0	...	14,0	13,0
Flicker 12 Hz	-10,1	...	-2,8	-1,4	12,0	...	14,0	14,0
Flicker 18 Hz	-4,3	...	-1,9	-0,4	13,0	...	8,0	13,0
Flicker 24 Hz	-12,6	...	-15,2	-8,4	17,0	...	17,0	14,0
Flicker 30 Hz	-21,3	...	-24,3	-31,8	14,0	...	17,0	13,0

Condição do teste	Onda-b							
	Amplitude (μV)				Tempo implícito (ms)			
	Antes	7 dias	15 dias	30 dias	Antes	7 dias	15 dias	30 dias
Escotópico 0,003 cd.s/m ²	13,0	...	3,2	3,2	60,0	...	54,0	35,0
Escotópico 0,03 cd.s/m ²	44,5	...	18,4	33,7	65,0	...	60,0	53,0
Escotópico 0,3 cd.s/m ²	99,7	...	68,5	88,8	56,0	...	53,0	49,0
Escotópico 3 cd.s/m ²	145,3	...	100,5	109,0	39,0	...	39,0	39,0
Escotópico 30 cd.s/m ²	139,1	...	112,5	141,6	38,0	...	40,0	39,0
Fotópico	69,2	...	76,7	76,8	32,0	...	30,0	31,0
Flicker 12 Hz	64,1	...	61,0	70,4	31,0	...	32,0	30,0
Flicker 18 Hz	52,5	...	49,0	53,6	32,0	...	32,0	30,0
Flicker 24 Hz	36,7	...	35,8	44,8	33,0	...	33,0	28,0
Flicker 30 Hz	23,2	...	26,8	39,3	33,0	...	35,0	27,0

Tabela 44 - Registros eletrorretinográficos do coelho 18 antes e após injeção de 10 mg de MPA no olho direito

Condição do teste	Onda-a							
	Amplitude (μV)				Tempo implícito (ms)			
	Antes	7 dias	15 dias	30 dias	Antes	7 dias	15 dias	30 dias
Escotópico 0,003 cd.s/m ²	-4,1	...	-2,6	-2,3	41,0	...	3,0	9,0
Escotópico 0,03 cd.s/m ²	-0,7	...	-6,4	-4,6	9,0	...	23,0	33,0
Escotópico 0,3 cd.s/m ²	-2,4	...	-5,6	-5,6	14,0	...	12,0	13,0
Escotópico 3 cd.s/m ²	-7,1	...	-11,0	-7,0	19,0	...	20,0	19,0
Escotópico 30 cd.s/m ²	-35,0	...	-25,1	-22,0	15,0	...	16,0	17,0
Fotópico	-9,5	...	-10,9	-6,7	13,0	...	13,0	14,0
Flicker 12 Hz	-0,3	...	-0,6	-0,5	15,0	...	9,0	17,0
Flicker 18 Hz	-3,3	...	-0,1	-1,1	13,0	...	7,0	12,0
Flicker 24 Hz	1,7	...	-16,5	-6,5	13,0	...	16,0	21,0
Flicker 30 Hz	-46,4	...	-20,2	-6,3	11,0	...	17,0	19,0

Condição do teste	Onda-b							
	Amplitude (μV)				Tempo implícito (ms)			
	Antes	7 dias	15 dias	30 dias	Antes	7 dias	15 dias	30 dias
Escotópico 0,003 cd.s/m ²	6,6	...	5,2	1,9	52,0	...	51,0	57,0
Escotópico 0,03 cd.s/m ²	18,3	...	11,7	8,6	60,0	...	59,0	63,0
Escotópico 0,3 cd.s/m ²	71,7	...	45,3	38,6	54,0	...	46,0	54,0
Escotópico 3 cd.s/m ²	109,0	...	110,0	68,1	37,0	...	39,0	56,0
Escotópico 30 cd.s/m ²	113,1	...	101,5	77,2	35,0	...	39,0	59,0
Fotópico	81,6	...	78,2	55,7	33,0	...	30,0	33,0
Flicker 12 Hz	74,6	...	52,9	6,7	31,0	...	32,0	32,0
Flicker 18 Hz	64,9	...	44,1	10,0	30,0	...	35,0	34,0
Flicker 24 Hz	48,8	...	32,8	8,3	27,0	...	35,0	36,0
Flicker 30 Hz	62,7	...	21,1	5,7	28,0	...	36,0	32,0

Tabela 45 - Registros eletrorretinográficos do coelho 18 antes e após injeção do veículo no olho esquerdo

Condição do teste	Onda-a							
	Amplitude (μV)				Tempo implícito (ms)			
	Antes	7 dias	15 dias	30 dias	Antes	7 dias	15 dias	30 dias
Escotópico 0,003 cd.s/m ²	-13,0	...	-4,0	-1,7	17,0	...	8,0	13,0
Escotópico 0,03 cd.s/m ²	-9,9	...	-4,7	-4,8	23,0	...	14,0	27,0
Escotópico 0,3 cd.s/m ²	-10,9	...	-8,3	-4,4	19,0	...	15,0	11,0
Escotópico 3 cd.s/m ²	-12,9	...	-6,9	-13,5	13,0	...	20,0	16,0
Escotópico 30 cd.s/m ²	-48,5	...	-10,6	-59,1	16,0	...	17,0	16,0
Fotópico	-14,1	...	-12,7	-8,8	13,0	...	13,0	12,0
Flicker 12 Hz	-10,1	...	-1,3	-1,7	12,0	...	14,0	12,0
Flicker 18 Hz	-4,3	...	-0,5	-4,4	13,0	...	16,0	13,0
Flicker 24 Hz	-12,6	...	-17,3	-6,9	17,0	...	18,0	15,0
Flicker 30 Hz	-21,3	...	-16,9	-25,9	14,0	...	18,0	14,0

Condição do teste	Onda-b							
	Amplitude (μV)				Tempo implícito (ms)			
	Antes	7 dias	15 dias	30 dias	Antes	7 dias	15 dias	30 dias
Escotópico 0,003 cd.s/m ²	13,0	...	1,3	3,3	60,0	...	66,0	47,0
Escotópico 0,03 cd.s/m ²	44,5	...	13,9	19,6	65,0	...	59,0	67,0
Escotópico 0,3 cd.s/m ²	99,7	...	34,3	69,4	56,0	...	56,0	53,0
Escotópico 3 cd.s/m ²	145,3	...	80,7	119,7	39,0	...	51,0	59,0
Escotópico 30 cd.s/m ²	139,1	...	77,6	177,5	38,0	...	41,0	59,0
Fotópico	69,2	...	62,7	97,2	32,0	...	33,0	30,0
Flicker 12 Hz	64,1	...	42,8	58,8	31,0	...	36,0	32,0
Flicker 18 Hz	52,5	...	34,3	45,3	32,0	...	36,0	31,0
Flicker 24 Hz	36,7	...	25,5	33,2	33,0	...	34,0	32,0
Flicker 30 Hz	23,2	...	18,9	29,9	33,0	...	35,0	29,0

Tabela 46 - Registros eletrorretinográficos do coelho 19 antes e após injeção de 10 mg de MPA no olho direito

Condição do teste	Onda-a							
	Amplitude (μV)				Tempo implícito (ms)			
	Antes	7 dias	15 dias	30 dias	Antes	7 dias	15 dias	30 dias
Escotópico 0,003 cd.s/m ²	-6,4	...	-4,1	-5,0	29,0	...	7,0	19,0
Escotópico 0,03 cd.s/m ²	-3,8	...	-4,9	-4,9	11,0	...	8,0	15,0
Escotópico 0,3 cd.s/m ²	-4,1	...	-7,1	-8,6	13,0	...	14,0	11,0
Escotópico 3 cd.s/m ²	-21,7	...	-8,0	-5,6	16,0	...	13,0	14,0
Escotópico 30 cd.s/m ²	-70,6	...		-27,4	13,0	...		14,0
Fotópico	-12,0	...	-11,3	-8,0	13,0	...	9,0	12,0
Flicker 12 Hz	-1,9	...	-1,7	-1,8	13,0	...	13,0	13,0
Flicker 18 Hz	-1,5	...	-2,4	-4,1	14,0	...	8,0	8,0
Flicker 24 Hz	-9,0	...	-6,5	-2,6	14,0	...	14,0	15,0
Flicker 30 Hz	-34,1	...	-17,7	-21,3	13,0	...	15,0	12,0

Condição do teste	Onda-b							
	Amplitude (μV)				Tempo implícito (ms)			
	Antes	7 dias	15 dias	30 dias	Antes	7 dias	15 dias	30 dias
Escotópico 0,003 cd.s/m ²	5,2	...	2,7	6,0	113,0	...	57,0	66,0
Escotópico 0,03 cd.s/m ²	45,5	...	16,0	18,4	53,0	...	71,0	61,0
Escotópico 0,3 cd.s/m ²	110,9	...	33,7	62,1	46,0	...	48,0	51,0
Escotópico 3 cd.s/m ²	108,9	...	62,6	80,3	35,0	...	39,0	37,0
Escotópico 30 cd.s/m ²	170,3	...		94,4	41,0	...		35,0
Fotópico	99,1	...	57,6	65,6	32,0	...	31,0	33,0
Flicker 12 Hz	69,8	...	42,9	46,5	30,0	...	31,0	31,0
Flicker 18 Hz	53,2	...	36,0	37,1	30,0	...	31,0	29,0
Flicker 24 Hz	44,2	...	25,2	28,7	34,0	...	33,0	28,0
Flicker 30 Hz	40,4	...	21,2	29,7	27,0	...	28,0	27,0

Tabela 47 - Registros eletrorretinográficos do coelho 19 antes e após injeção do veículo no olho esquerdo

Condição do teste	Onda-a							
	Amplitude (μV)				Tempo implícito (ms)			
	Antes	7 dias	15 dias	30 dias	Antes	7 dias	15 dias	30 dias
Escotópico 0,003 cd.s/m ²	-2	...	-2	-1	4	...	14	14
Escotópico 0,03 cd.s/m ²	-2	...	-3	-5	8	...	9	22
Escotópico 0,3 cd.s/m ²	-3	...	-5	-7	9	...	23	16
Escotópico 3 cd.s/m ²	-4	...	-6	-12	16	...	17	12
Escotópico 30 cd.s/m ²	-23	...	-21	-42	15	...	14	14
Fotópico	-12	...	-10	-12	11	...	14	11
Flicker 12 Hz	-5	...	-3	-1	11	...	14	15
Flicker 18 Hz	-4	...	-1	-3	9	...	8	14
Flicker 24 Hz	1	...	-12	-5	7	...	18	17
Flicker 30 Hz	-29	...	-13	-27	11	...	18	14

Condição do teste	Onda-b							
	Amplitude (μV)				Tempo implícito (ms)			
	Antes	7 dias	15 dias	30 dias	Antes	7 dias	15 dias	30 dias
Escotópico 0,003 cd.s/m ²	2,2	...	2,8	5,7	86,0	...	57,0	47,0
Escotópico 0,03 cd.s/m ²	17,5	...	11,4	24,7	62,0	...	50,0	56,0
Escotópico 0,3 cd.s/m ²	45,2	...	41,3	84,8	48,0	...	53,0	46,0
Escotópico 3 cd.s/m ²	58,9	...	76,3	99,1	40,0	...	47,0	36,0
Escotópico 30 cd.s/m ²	60,3	...	74,1	110,0	35,0	...	38,0	48,0
Fotópico	53,7	...	53,6	86,9	30,0	...	32,0	33,0
Flicker 12 Hz	59,0	...	34,2	60,1	28,0	...	33,0	31,0
Flicker 18 Hz	50,6	...	30,1	48,5	28,0	...	35,0	30,0
Flicker 24 Hz	43,2	...	20,7	38,7	27,0	...	36,0	27,0
Flicker 30 Hz	44,7	...	14,1	34,4	26,0	...	33,0	27,0

Tabela 48 - Registros eletrorretinográficos do coelho 20 antes e após injeção de 10 mg de MPA no olho direito

Condição do teste	Onda-a							
	Amplitude (μV)				Tempo implícito (ms)			
	Antes	7 dias	15 dias	30 dias	Antes	7 dias	15 dias	30 dias
Escotópico 0,003 cd.s/m ²	-6,0	...	-4,0	-5,4	16,0	...	3,0	19,0
Escotópico 0,03 cd.s/m ²	-4,8	...	-13,6	-8,0	18,0	...	35,0	19,0
Escotópico 0,3 cd.s/m ²	-3,4	...	-10,0	-3,5	19,0	...	23,0	20,0
Escotópico 3 cd.s/m ²	-2,8	...	-5,9	-7,9	13,0	...	15,0	15,0
Escotópico 30 cd.s/m ²	-12,9	...	-17,8	-25,4	14,0	...	15,0	16,0
Fotópico	-6,6	...	-12,6	-15,3	12,0	...	9,0	13,0
Flicker 12 Hz	-2,8	...	-1,5	-1,8	15,0	...	16,0	11,0
Flicker 18 Hz	-3,3	...	-2,9	-4,3	11,0	...	16,0	15,0
Flicker 24 Hz	-2,5	...	-13,3	-8,4	16,0	...	16,0	18,0
Flicker 30 Hz	-15,3	...	-11,1	-15,7	12,0	...	18,0	15,0

Condição do teste	Onda-b							
	Amplitude (μV)				Tempo implícito (ms)			
	Antes	7 dias	15 dias	30 dias	Antes	7 dias	15 dias	30 dias
Escotópico 0,003 cd.s/m ²	7,4	...	4,2	5,9	56,0	...	87,0	58,0
Escotópico 0,03 cd.s/m ²	10,5	...	17,3	29,2	48,0	...	65,0	65,0
Escotópico 0,3 cd.s/m ²	30,4	...	29,0	87,5	48,0	...	64,0	52,0
Escotópico 3 cd.s/m ²	50,9	...	42,1	119,5	37,0	...	41,0	41,0
Escotópico 30 cd.s/m ²	40,9	...	53,9	71,4	34,0	...	51,0	35,0
Fotópico	41,0	...	55,7	64,7	30,0	...	33,0	35,0
Flicker 12 Hz	39,8	...	33,4	42,8	29,0	...	34,0	33,0
Flicker 18 Hz	30,3	...	28,5	34,3	28,0	...	35,0	33,0
Flicker 24 Hz	27,5	...	20,6	24,1	27,0	...	35,0	35,0
Flicker 30 Hz	21,4	...	12,4	19,3	26,0	...	37,0	30,0

Tabela 49 - Registros eletrorretinográficos do coelho 20 antes e após injeção do veículo no olho esquerdo

Condição do teste	Onda-a							
	Amplitude (μV)				Tempo implícito (ms)			
	Antes	7 dias	15 dias	30 dias	Antes	7 dias	15 dias	30 dias
Escotópico 0,003 cd.s/m ²	-3,2	...	-5,8	-6,2	17,0	...	9,0	20,0
Escotópico 0,03 cd.s/m ²	-5,0	...	-8,1	-6,0	12,0	...	20,0	13,0
Escotópico 0,3 cd.s/m ²	-3,3	...	-10,6	-7,7	13,0	...	19,0	18,0
Escotópico 3 cd.s/m ²	-3,9	...	-10,5	-8,1	20,0	...	15,0	14,0
Escotópico 30 cd.s/m ²	-18,1	...	-15,4	-38,7	15,0	...	15,0	16,0
Fotópico	-8,8	...	-13,8	-13,8	14,0	...	14,0	14,0
Flicker 12 Hz	-1,6	...	-0,2	-0,2	15,0	...	13,0	13,0
Flicker 18 Hz	-1,1	...	-3,7	-3,7	12,0	...	12,0	12,0
Flicker 24 Hz	-16,6	...	-12,3	-12,3	17,0	...	19,0	19,0
Flicker 30 Hz	-15,7	...	-18,9	-18,9	20,0	...	17,0	17,0

Condição do teste	Onda-b							
	Amplitude (μV)				Tempo implícito (ms)			
	Antes	7 dias	15 dias	30 dias	Antes	7 dias	15 dias	30 dias
Escotópico 0,003 cd.s/m ²	4,5	...	6,0	8,2	93,0	...	59,0	61,0
Escotópico 0,03 cd.s/m ²	11,0	...	23,1	23,1	60,0	...	64,0	64,0
Escotópico 0,3 cd.s/m ²	38,8	...	63,4	75,1	57,0	...	62,0	59,0
Escotópico 3 cd.s/m ²	76,1	...	78,6	102,7	56,0	...	53,0	49,0
Escotópico 30 cd.s/m ²	72,0	...	73,1	118,5	35,0	...	63,0	66,0
Fotópico	53,5	...	82,3	82,3	33,0	...	32,0	32,0
Flicker 12 Hz	41,5	...	52,0	52,0	34,0	...	34,0	34,0
Flicker 18 Hz	35,1	...	39,4	39,4	34,0	...	31,0	31,0
Flicker 24 Hz	25,9	...	30,5	30,5	35,0	...	34,0	34,0
Flicker 30 Hz	17,0	...	19,9	19,9	34,0	...	32,0	32,0

8 Referências

1. Gomi CF, Makdissi FF, Olivalves E, Yamamoto JH. Estudo epidemiológico das uveítes. *Rev Med (São Paulo)*. 1997;76:101-8.
2. Gritz DC, Wong IG. Incidence and prevalence of uveitis in Northern California; the Northern California Epidemiology of Uveitis Study. *Ophthalmology*. 2004;111:491-500.
3. Rothova A, Suttorp-van Schulten MS, Frits Treffers W, Kijlstra A. Causes and frequency of blindness in patients with intraocular inflammatory disease. *Br J Ophthalmol*. 1996;80:332-6.
4. Nussenblatt RB. The natural history of uveitis. *Int Ophthalmol*. 1990;14:303-8.
5. Suttorp-Schulten MS, Rothova A. The possible impact of uveitis in blindness: a literature survey. *Br J Ophthalmol*. 1966;80:844-8.
6. Kara-José N, Carvalho KM, Pereira VL, Venturini NH, Gasparetto ME, Guchiken MT. Estudo retrospectivo dos 140 casos atendidos na clínica de visão subnormal do Hospital das Clínicas da Unicamp. *Arq Bras Oftalmol*. 1988;51:65-9.
7. Alves LS. Causas de cegueira e visão subnormal no Centro Louis Braille-Porto Alegre. *Arq Bras Oftalmol*. 1985;48:65-7.
8. Lardenoye CW, van Kooij B, Rothova A. Impact of macular edema on visual acuity in uveitis. *Ophthalmology*. 2006;113:1446-9.
9. Durrani OM, Tehrani NN, Marr JE, Moradi P, Stavrou P, Murray PI. Degree, duration, and causes of visual loss in uveitis. *Br J Ophthalmol*. 2004;88:1159-62.
10. Forrester JV. Uveitis: pathogenesis. *Lancet*. 1991;338:1498-501.
11. Nussenblatt RB. Fundamentals and Clinical Practice. 3 ed. Philadelphia: Elsevier; 2004.
12. Freeman G, Matos K, Pavesio CE. Cystoid macular oedema in uveitis: an unsolved problem. *Eye*. 2001;15:12-7.
13. Nussenblatt RB. Macular alterations secondary to intraocular inflammatory disease. *Ophthalmology*. 1986;93:984-8.

14. Olivalves E, Gonçalves RB, Orefice F. Corticosteróides. In: Orefice F, editor. *Uveíte Clínica e Cirúrgica*. I. 2 ed. Rio de Janeiro: Cultura Médica; 2005. p. 331-8.
15. Taylor SR, Isa H, Joshi L, Lightman S. New developments in corticosteroid therapy for uveitis. *Ophthalmologica*. 2010;224 Suppl 1:46-53.
16. Jabs DA, Rosenbaum JT, Foster CS. Guidelines for the the use of immunossupresive drugs in patients with ocular inflammatory disorders: recomendations of an expert panel. *Am J Ophthalmol*. 2000;130:492-513.
17. Kempen JH, Daniel E, Dunn JP, Foster CS, Gangaputra S, Hanish A, et al. Overall and cancer related mortality among patients with ocular inflammation treated with immunosuppressive drugs: retrospective cohort study. *BMJ*. 2009;339:b2480.
18. Wiesner R, Rabkin J, Klintmalm G, McDiarmid S, Langnas A, Punch J, et al. A randomized double-blind comparative study of mycophenolate mofetil and azathioprine in combination with cyclosporine and corticosteroids in primary liver transplant recipients. *Liver transpl*. 2001;7:442-50.
19. Wiesner RH, Steffen BJ, David KM, Chu AH, Gordon RD, Lake JR. Mycophenolate mofetil use is associated with decreased risk of late acute rejection in adult liver transplant recipients. *Am J Transplant*. 2006;6:1609-16.
20. Boumpas DT, Kritikos HD, Daskalakis NG. Perspective on future therapy of vasculitis. *Curr Rheumatol Rep*. 2000;2:423-9.
21. Chan TM, Li FK, Tang CS, Wong RW, Fang GX, Ji YL, et al. Efficacy of mycophenolate mofetil in patients with diffuse proliferative lupus nephritis. Hong Kong-Guangzhou Nephrology Study Group. *N Engl J Med*. 2000;343:1156-62.
22. Zhou Y, Rosenthal D, Dutz J, Ho V. Mycophenolate mofetil (CellCept) for psoriasis: a two-center, prospective, open-label clinical trial. *J Cutan Med Surg*. 2003;7:193-7.
23. Goldblum R. Therapy of rheumatoid arthritis with mycophenolate mofetil. *Clin Exp Rheumatol*. 1993;11 Suppl 8:S117-9.
24. Schwarz A. New aspects of the treatment of nephrotic syndrome. *J Am Soc Nephrol*. 2001;12 Suppl 17:S44-7.

25. Allison AC, Eugui EM. Mycophenolate mofetil and its mechanisms of action. *Immunopharmacology*. 2000;47:85-118.
26. Baltatzis S, Tufail F, Yu EN, Vredeveld CM, Foster CS. Mycophenolate mofetil as an immunomodulatory agent in the treatment of chronic ocular inflammatory disorders. *Ophthalmology*. 2003;110:1061-5.
27. Chanaud NP, 3rd, Vistica BP, Eugui E, Nussenblatt RB, Allison AC, Gery I. Inhibition of experimental autoimmune uveoretinitis by mycophenolate mofetil, an inhibitor of purine metabolism. *Exp Eye Res*. 1995;61:429-34.
28. Kilmartin DJ, Forrester JV, Dick AD. Rescue therapy with mycophenolate mofetil in refractory uveitis. *Lancet*. 1998;352:35-6.
29. Larkin G, Lightman S. Mycophenolate mofetil. A useful immunosuppressive in inflammatory eye disease. *Ophthalmology*. 1999;106:370-4.
30. Lau CH, Comer M, Lightman S. Long-term efficacy of mycophenolate mofetil in the control of severe intraocular inflammation. *Clin Experiment ophthalmol*. 2003;31:487-91.
31. Thorne JE, Jabs DA, Qazi FA, Nguyen QD, Kempen JH, Dunn JP. Mycophenolate mofetil therapy for inflammatory eye disease. *Ophthalmology*. 2005;112:1472-7.
32. Sobrin L, Christen W, Foster CS. Mycophenolate mofetil after methotrexate failure or intolerance in the treatment of scleritis and uveitis. *Ophthalmology*. 2008;115:1416-21, 21 e1.
33. Kwak HW, D'Amico DJ. Evaluation of the retinal toxicity and pharmacokinetics of dexamethasone after intravitreal injection. *Arch Ophthalmol*. 1992;110:259-66.
34. Yu SY, Damico FM, Viola F, D'Amico DJ, Young LH. Retinal toxicity of intravitreal triamcinolone acetonide: a morphological study. *Retina*. 2006;26:531-6.
35. Penha FM, Rodrigues EB, Maia M, Dib E, Fiod Costa E, Furlani BA, et al. Retinal and ocular toxicity in ocular application of drugs and chemicals--part I: animal models and toxicity assays. *Ophthalmic Res*. 2010;44:82-104.

36. D'Amico DJ, Caspers-Velu L, Libert J, Shanks E, Schrooyen M, Hanninen LA, et al. Comparative toxicity of intravitreal aminoglycoside antibiotics. *Am J Ophthalmol*. 1985;100:264-75.
37. Peyman GA, Herbst R. Bacterial endophthalmitis. Treatment with intraocular injection of gentamicin and dexamethasone. *Arch Ophthalmol*. 1974;91:416-8.
38. Peyman GA, May DR, Ericson ES, Apple D. Intraocular injection of gentamicin. Toxic effects of clearance. *Arch Ophthalmol*. 1974;92:42-7.
39. Grisolano J, Jr., Peyman GA. Retinal toxicity study of intravitreal cyclosporin. *Ophthalmic Surg*. 1986;17:155-6.
40. Velez G, Yuan P, Sung C, Tansey G, Reed GF, Chan CC, et al. Pharmacokinetics and toxicity of intravitreal chemotherapy for primary intraocular lymphoma. *Arch Ophthalmol*. 2001;119:1518-24.
41. Bakri SJ, Cameron JD, McCannel CA, Pulido JS, Marler RJ. Absence of histologic retinal toxicity of intravitreal bevacizumab in a rabbit model. *Am J Ophthalmol*. 2006;142:162-4.
42. Manzano RP, Peyman GA, Khan P, Kivilcim M. Testing intravitreal toxicity of bevacizumab (Avastin). *Retina*. 2006;26:257-61.
43. Passos E, Genaidy MM, Peyman GA. Ocular toxicity of intravitreal tacrolimus. *Ophthalmic Surg Lasers*. 2002;33:140-4.
44. Manzano RP, Peyman GA, Khan P, Kivilcim M, Chevez-Barrios P, Takahashi W. Testing intravitreal toxicity of rapamycin in rabbit eyes. *Arq Bras Oftalmol*. 2009;72:18-22.
45. Fauser S, Kalbacher H, Alteheld N, Koizumi K, Krohne TU, Jousen AM. Pharmacokinetics and safety of intravitreally delivered etanercept. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol*. 2004;242:582-6.
46. Giansanti F, Ramazzotti M, Vannozzi L, Rapizzi E, Fiore T, Iaccheri B, et al. A pilot study on ocular safety of intravitreal infliximab in a rabbit model. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 2008;49:1151-6.
47. Manzano RP, Peyman GA, Carvounis PE, Damico FM, Aguiar RG, Ioshimoto GL, et al. Toxicity of high-dose intravitreal adalimumab (Humira) in the rabbit. *J Ocul Pharmacol Ther*. 2011;27:327-31.

48. Manzano RP, Peyman GA, Carvounis PE, Kivilcim M, Khan P, Chevez-Barrios P, et al. Ocular toxicity of intravitreal adalimumab (Humira) in the rabbit. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol*. 2008;246:907-11.
49. Kitzmann AS, Pulido JS, Mohny BG, Baratz KH, Grube T, Marler RJ, et al. Intraocular use of rituximab. *Eye*. 2007;21:1524-7.
50. Perlman I. Testing retinal toxicity of drugs in animal models using electrophysiological and morphological techniques. *Doc Ophthalmol*. 2009;118:3-28.
51. Gao H, Pennesi ME, Qiao X, Iyer MN, Wu SM, Holz ER, et al. Intravitreal moxifloxacin: retinal safety study with electroretinography and histopathology in animal models. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 2006;47:1606-11.
52. Hancock HA, Guidry C, Read RW, Ready EL, Kraft TW. Acute aminoglycoside retinal toxicity in vivo and in vitro. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 2005;46:4804-8.
53. Peyman GA, Lad EM, Moshfeghi DM. Intravitreal injection of therapeutic agents. *Retina*. 2009;29:875-912.
54. Meira MD, Rocha MLR, Oréfice F. Conceito e Classificação das Uveítes. In: Oréfice F, editor. *Uveíte Clínica e Cirúrgica*. I. 2a ed. Rio de Janeiro: Cultura Médica; 2005. p. 18-20.
55. Adamus G, Chan CC. Experimental autoimmune uveitides: multiple antigens, diverse diseases. *Int Rev Immunol*. 2002;21:209-29.
56. Caspi RR. Understanding autoimmune uveitis through animal models. The Friedenwald Lecture. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 2011;52:1872-9.
57. de Smet MD, Chan CC. Regulation of ocular inflammation--what experimental and human studies have taught us. *Prog Retin Eye Res*. 2001;20:761-97.
58. de Smet MD, Taylor SR, Bodaghi B, Miserocchi E, Murray PI, Pleyer U, et al. Understanding uveitis: the impact of research on visual outcomes. *Prog Retin Eye Res*. 2011;30:452-70.
59. Fernandes LC, Oréfice F. Aspectos clínicos e epidemiológicos das uveítes em serviços de referência em Belo Horizonte, de 1970 a 1993. Parte I e II. *Rev Bras Oftal*. 1996;55:9-32.

60. Yang P, Zhang Z, Zhou H, Li B, Huang X, Gao Y, et al. Clinical patterns and characteristics of uveitis in a tertiary center for uveitis in China. *Curr Eye Res.* 2005;30:943-8.
61. Kuo HK, Lai IC, Fang PC, Teng MC. Ocular complications after a sub-tenon injection of triamcinolone acetate for uveitis. *Chang Gung Med J.* 2005;28:85-9.
62. Lacerda R. Imunossupressores Citotóxicos. In: Orefice F, editor. *Uveíte Clínica e Cirúrgica*. I. 2 ed. Rio de Janeiro: Cultura Médica; 2005. p. 365-72.
63. O'Dell JR. Methotrexate use in rheumatoid arthritis. *Rheum Dis Clin North Am.* 1997;23:779-96.
64. Dev S, McCallum RM, Jaffe GJ. Methotrexate treatment for sarcoid-associated panuveitis. *Ophthalmology.* 1999;106:111-8.
65. Shah SS, Lowder CY, Schmitt MA, Wilke WS, Kosmorsky GS, Meisler DM. Low-dose methotrexate therapy for ocular inflammatory disease. *Ophthalmology.* 1992;99:1419-23.
66. Durrani K, Papaliodis GN, Foster CS. Pulse IV cyclophosphamide in ocular inflammatory disease: efficacy and short-term safety. *Ophthalmology.* 2004;111:960-5.
67. Ozyazgan Y, Yurdakul S, Yazici H, Tuzun B, Iscimen A, Tuzun Y, et al. Low dose cyclosporin A versus pulsed cyclophosphamide in Behcet's syndrome: a single masked trial. *Br J Ophthalmol.* 1992;76:241-3.
68. Lasmar EP, Lasmar MF, Orefice F. Imunossupressores Não-Citotóxicos. In: Orefice F, editor. *Uveíte Clínica e Cirúrgica*. I. 2 ed. Rio de Janeiro: Cultura Médica; 2005. p. 381-8.
69. Mochizuki M, Masuda K, Sakane T, Ito K, Kogure M, Sugino N, et al. A clinical trial of FK506 in refractory uveitis. *Am J Ophthalmol.* 1993;115:763-9.
70. Roberge FG, Xu D, Chan CC, de Smet MD, Nussenblatt RB, Chen H. Treatment of autoimmune uveoretinitis in the rat with rapamycin, an inhibitor of lymphocyte growth factor signal transduction. *Curr eye Res.* 1993;12:197-203.
71. Ikeda E, Hikita N, Eto K, Mochizuki M. Tacrolimus-rapamycin combination therapy for experimental autoimmune uveoretinitis. *Jpn J Ophthalmol.* 1997;41:396-402.

72. Martin DF, DeBarge LR, Nussenblatt RB, Chan CC, Roberge FG. Synergistic effect of rapamycin and cyclosporin A in the treatment of experimental autoimmune uveoretinitis. *J Immunol.* 1995;154:922-7.
73. Phillips BN, Wroblewski KJ. A retrospective review of oral low-dose sirolimus (rapamycin) for the treatment of active uveitis. *J Ophthalm Inflamm Infect.* 2011;1:29-34.
74. Shanmuganathan VA, Casely EM, Raj D, Powell RJ, Joseph A, Amoaku WM, et al. The efficacy of sirolimus in the treatment of patients with refractory uveitis. *Br J Ophthalmol.* 2005;89:666-9.
75. Imrie FR, Dick AD. Biologics in the treatment of uveitis. *Curr Opin Ophthalmol.* 2007;18:481-6.
76. Pato E, Munoz-Fernandez S, Francisco F, Abad MA, Maese J, Ortiz A, et al. Systematic review on the effectiveness of immunosuppressants and biological therapies in the treatment of autoimmune posterior uveitis. *Semin Arthritis Rheum.* 2011;40:314-23.
77. Abu El-Asrar AM, Abboud EB, Aldibhi H, Al-Arfaj A. Long-term safety and efficacy of infliximab therapy in refractory uveitis due to Behcet's disease. *Int Ophthalmol.* 2005;26:83-92.
78. Benitez-del-Castillo JM, Martinez-de-la-Casa JM, Pato-Cour E, Mendez-Fernandez R, Lopez-Abad C, Matilla M, et al. Long-term treatment of refractory posterior uveitis with anti-TNFalpha (infliximab). *Eye.* 2005;19:841-5.
79. Lindstedt EW, Baarsma GS, Kuijpers RW, van Hagen PM. Anti-TNF-alpha therapy for sight threatening uveitis. *Br J Ophthalmol.* 2005;89:533-6.
80. Ohno S, Nakamura S, Hori S, Shimakawa M, Kawashima H, Mochizuki M, et al. Efficacy, safety, and pharmacokinetics of multiple administration of infliximab in Behcet's disease with refractory uveoretinitis. *J Rheumatol.* 2004;31:1362-8.
81. Lim LL, Suhler EB, Rosenbaum JT, Wilson DJ. The role of choroidal and retinal biopsies in the diagnosis and management of atypical presentations of uveitis. *Trans Am Ophthalmol Soc.* 2005;103:84-91; discussion-2.

82. Galor A, Perez VL, Hammel JP, Lowder CY. Differential effectiveness of etanercept and infliximab in the treatment of ocular inflammation. *Ophthalmology*. 2006;113:2317-23.
83. Biester S, Deuter C, Michels H, Haefner R, Kuemmerle-Deschner J, Doycheva D, et al. Adalimumab in the therapy of uveitis in childhood. *Br J Ophthalmol*. 2007;91:319-24.
84. Gallagher M, Quinones K, Cervantes-Castaneda RA, Yilmaz T, Foster CS. Biological response modifier therapy for refractory childhood uveitis. *Br J Ophthalmol*. 2007;91:1341-4.
85. Androudi S, Tsironi E, Kalogeropoulos C, Theodoridou A, Brazitikos P. Intravitreal adalimumab for refractory uveitis-related macular edema. *Ophthalmology*. 2010;117:1612-6.
86. Rang HP, Dale MM, Ritter JM, Flower RJ. Fármacos usados no tratamento das infecções e do câncer. In: Rang HP, editor. *Rang and Dale Farmacologia*. 6 ed. Rio de Janeiro: Elsevier; 2007. p. 688.
87. Kotter I, Gunaydin I, Zierhut M, Stubiger N. The use of interferon alpha in Behcet disease: review of the literature. *Semin Arthritis Rheum*. 2004;33:320-35.
88. Kotter I, Vonthein R, Zierhut M, Eckstein AK, Ness T, Gunaydin I, et al. Differential efficacy of human recombinant interferon-alpha2a on ocular and extraocular manifestations of Behcet disease: results of an open 4-center trial. *Semin Arthritis Rheum*. 2004;33:311-9.
89. Kotter I, Zierhut M, Eckstein AK, Vonthein R, Ness T, Gunaydin I, et al. Human recombinant interferon alfa-2a for the treatment of Behcet's disease with sight threatening posterior or panuveitis. *Br J Ophthalmol*. 2003;87:423-31.
90. Allison AC, Eugui EM. Immunosuppressive and other effects of mycophenolic acid and an ester prodrug, mycophenolate mofetil. *Immunol Rev*. 1993;136:5-28.
91. Allison AC, Kowalski WJ, Muller CJ, Waters RV, Eugui EM. Mycophenolic acid and brequinar, inhibitors of purine and pyrimidine synthesis, block the glycosylation of adhesion molecules. *Transplant Proc*. 1993;25:67-70.
92. Grailer A, Nichols J, Hullett D, Sollinger HW, Burlingham WJ. Inhibition of human B cell responses in vitro by RS-61443, cyclosporine A and DAB486 IL-2. *Transplant Proc*. 1991;23:314-5.

93. Morris RE, Hoyt EG, Murphy MP, Eugui EM, Allison AC. Mycophenolic acid morpholinoethylester (RS-61443) is a new immunosuppressant that prevents and halts heart allograft rejection by selective inhibition of T- and B-cell purine synthesis. *Transplant Proc.* 1990;22:1659-62.
94. Carr SF, Papp E, Wu JC, Natsumeda Y. Characterization of human type I and type II IMP dehydrogenases. *J Biol Chem.* 1993;268:27286-90.
95. Allison AC. Mechanisms of action of mycophenolate mofetil. *Lupus.* 2005;14 Suppl 1:s2-8.
96. Daniel E, Thorne JE, Newcomb CW, Pujari SS, Kacmaz RO, Levy-Clarke GA, et al. Mycophenolate mofetil for ocular inflammation. *Am J Ophthalmol.* 2010;149:423-32 e1-2.
97. Chang PY, Giuliari GP, Shaikh M, Thakuria P, Makhoul D, Foster CS. Mycophenolate mofetil monotherapy in the management of paediatric uveitis. *Eye.* 2011;25:427-35.
98. Bui BV, Sinclair AJ, Vingrys AJ. Electroretinograms of albino and pigmented guinea-pigs (*Cavia porcellus*). *Aust N Z J Ophthalmol.* 1998;26 Suppl 1:S98-100.
99. Zemel E, Loewenstein A, Lei B, Lazar M, Perlman I. Ocular pigmentation protects the rabbit retina from gentamicin-induced toxicity. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 1995;36:1875-84.
100. Fialho SL, Rego MB, Siqueira RC, Jorge R, Haddad A, Rodrigues AL, et al. Safety and pharmacokinetics of an intravitreal biodegradable implant of dexamethasone acetate in rabbit eyes. *Curr Eye Res.* 2006;31:525-34.
101. Gaudreault J, Fei D, Beyer JC, Ryan A, Rangell L, Shiu V, et al. Pharmacokinetics and retinal distribution of ranibizumab, a humanized antibody fragment directed against VEGF-A, following intravitreal administration in rabbits. *Retina.* 2007;27:1260-6.
102. Bahrami G, Mohammadi B. An isocratic high performance liquid chromatographic method for quantification of mycophenolic acid and its glucuronide metabolite in human serum using liquid-liquid extraction: application to human pharmacokinetic studies. *Clini Chim Acta.* 2006;370:185-90.

103. Khoschsorur G, Erwa W. Liquid chromatographic method for simultaneous determination of mycophenolic acid and its phenol- and acylglucuronide metabolites in plasma. *J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci.* 2004;799:355-60.
104. Watson DG, Araya FG, Galloway PJ, Beattie TJ. Development of a high pressure liquid chromatography method for the determination of mycophenolic acid and its glucuronide metabolite in small volumes of plasma from paediatric patients. *J Pharm Biomed Anal.* 2004;35:87-92.
105. Marmor MF, Fulton AB, Holder GE, Miyake Y, Brigell M, Bach M. ISCEV Standard for full-field clinical electroretinography (2008 update). *Doc Ophthalmol.* 2009;118:69-77.
106. Marmor MF, Holder GE, Seeliger MW, Yamamoto S. Standard for clinical electroretinography (2004 update). *Doc Ophthalmol.* 2004;108:107-14.
107. Marmor MF, Zrenner E. Standard for clinical electroretinography (1994 update). *Doc Ophthalmol.* 1995;89:199-210.
108. Loewenstein A, Zemel E, Lazar M, Perlman I. The effects of Depo-Medrol preservative on the rabbit visual system. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 1991;32:3053-60.
109. Shahar J, Avery RL, Heilweil G, Barak A, Zemel E, Lewis GP, et al. Electrophysiologic and retinal penetration studies following intravitreal injection of bevacizumab (Avastin). *Retina.* 2006;26:262-9.
110. Heilweil G, Komarowska I, Zemel E, Loewenstein A, Perlman I. Normal physiological and pathophysiological effects of trypan blue on the retinas of albino rabbits. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 2010;51:4187-94.
111. Komarowska I, Heilweil G, Rosenfeld PJ, Perlman I, Loewenstein A. Retinal toxicity of commercially available intravitreal ketorolac in albino rabbits. *Retina.* 2009;29:98-105.
112. Kivilcim M, Peyman GA, Kazi AA, Dellacroce J, Ghobrial RN, Monzano R. Intravitreal toxicity of high-dose etanercept. *J Ocul Pharmacol Ther.* 2007;23:57-62.
113. Messias A, Gekeler F, Wegener A, Dietz K, Kohler K, Zrenner E. Retinal safety of a new fluoroquinolone, pradofloxacin, in cats: assessment with electroretinography. *Doc Ophthalmol.* 2008;116:177-91.

114. Narayanan R, Kenney MC, Kamjoo S, Trinh TH, Seigel GM, Resende GP, et al. Trypan blue: effect on retinal pigment epithelial and neurosensory retinal cells. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 2005;46:304-9.
115. Jin Y, Uchida S, Yanagi Y, Aihara M, Araie M. Neurotoxic effects of trypan blue on rat retinal ganglion cells. *Exp Eye Res*. 2005;81:395-400.
116. Limb GA, Salt TE, Munro PM, Moss SE, Khaw PT. In vitro characterization of a spontaneously immortalized human Muller cell line (MIO-M1). *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 2002;43:864-9.
117. Bargagna-Mohan P, Ravindranath PP, Mohan R. Small molecule anti-angiogenic probes of the ubiquitin proteasome pathway: potential application to choroidal neovascularization. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 2006;47:4138-45.
118. Armstrong VW, Tenderich G, Shipkova M, Parsa A, Koerfer R, Schroder H, et al. Pharmacokinetics and bioavailability of mycophenolic acid after intravenous administration and oral administration of mycophenolate mofetil to heart transplant recipients. *Ther Drug Monit*. 2005;27:315-21.
119. Jabs DA, Nussenblatt RB, Rosenbaum JT. Standardization of uveitis nomenclature for reporting clinical data. Results of the First International Workshop. *Am J Ophthalmol*. 2005;140:509-16.
120. Kim H, Csaky KG, Chan CC, Bungay PM, Lutz RJ, Dedrick RL, et al. The pharmacokinetics of rituximab following an intravitreal injection. *Exp Eye Res*. 2006;82:760-6.
121. Kim H, Csaky KG, Gravlín L, Yuan P, Lutz RJ, Bungay PM, et al. Safety and pharmacokinetics of a preservative-free triamcinolone acetonide formulation for intravitreal administration. *Retina*. 2006;26:523-30.
122. Goutelle S, Maurin M, Rougier F, Barbaut X, Bourguignon L, Ducher M, et al. The Hill equation: a review of its capabilities in pharmacological modelling. *Fundam Clin Pharmacol*. 2008;22:633-48.
123. Maurice D. Review: Practical issues in intravitreal drug delivery. *J Ocul Pharmacol Ther*. 2001;17:393-401.
124. Bakri SJ, Snyder MR, Reid JM, Pulido JS, Ezzat MK, Singh RJ. Pharmacokinetics of intravitreal ranibizumab (Lucentis). *Ophthalmology*. 2007;114:2179-82.

125. Bakri SJ, Snyder MR, Reid JM, Pulido JS, Singh RJ. Pharmacokinetics of intravitreal bevacizumab (Avastin). *Ophthalmology*. 2007;114:855-9.
126. Chin HS, Park TS, Moon YS, Oh JH. Difference in clearance of intravitreal triamcinolone acetonide between vitrectomized and nonvitrectomized eyes. *Retina*. 2005;25:556-60.
127. Oliveira RC, Messias A, Siqueira RC, Bonini-Filho MA, Haddad A, Damico FM, et al. Vitreous pharmacokinetics and retinal safety of intravitreal preserved versus non-preserved triamcinolone acetonide in rabbit eyes. *Curr Eye Res*. 2012;37:55-61.
128. Dick HB, Augustin AJ, Pakula T, Pfeiffer N. Endotoxins in ophthalmic viscosurgical devices. *Eur J Ophthalmol*. 2003;13:176-84.
129. Ness T, Feltgen N, Agostini H, Bohringer D, Lubrich B. Toxic vitreitis outbreak after intravitreal injection. *Retina*. 2010;30:332-8.
130. Park HS, Kim MS. The inflammatory potential of surgical glove lubricants: Biosorb, Keoflo, calcium carbonate and Hydrocote after intravitreal injection. *Korean J Ophthalmol*. 1997;11:51-9.
131. Pfugfelder SC, Hernandez E, Fliesler SJ, Alvarez J, Pfugfelder ME, Forster RK. Intravitreal vancomycin. Retina toxicity, clearance and interaction with gentamicin. *Arch Ophthalmol*. 1987;105:831-7.
132. Yoshizumi MO, Banihashemi AR. Experimental intravitreal ketoconazole in DMSO. *Retina*. 1988;8:210-5.
133. Tolentino FI, Foster CS, Lahav M, Liu LH, Rabin AR. Toxicity of intravitreal miconazole. *Arch Ophthalmol*. 1982;100:1504-9.
134. Serracarbassa PD, Peyman GA, Liang C, Calixto N, Jr., Nair MG. Toxicity and efficacy of intravitreal injection of spartanamicin B in the treatment of Candida endophthalmitis. *Int Ophthalmol*. 1998;22:53-8.
135. Kim SJ, Adams NA, Toma HS, Belair ML, Thorne JE, Green WR, et al. Safety of intravitreal ketorolac and diclofenac: an electroretinographic and histopathologic study. *Retina*. 2008;28:595-605.
136. Perlman I. Relationship between the amplitudes of the b wave and the a wave as a useful index for evaluating the electroretinogram. *Br J Ophthalmol*. 1983;67:443-8.

137. Hood DC, Birch DG. A computational model of the amplitude and implicit time of the b-wave of the human ERG. *Visual neuroscience*. 1992;8:107-26.
138. Naka KI, Rushton WA. S-potentials from luminosity units in the retina of fish (Cyprinidae). *J Physiol*. 1966;185:587-99.
139. Zemel E, Loewenstein A, Lazar M, Perlman I. The effects of lidocaine and bupivacaine on the rabbit retina. *Doc Ophthalmol*. 1995;90:189-99.
140. Kjellstrom U, Bruun A, Ghosh F, Andreasson S, Ponjavic V. Dose-related changes in retinal function and PKC- α expression in rabbits on vigabatrin medication. Effect of vigabatrin in the rabbit eye. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol*. 2009;247:1057-67.
141. Macky TA, Helmy D, El Shazly N. Retinal toxicity of triamcinolone's vehicle (benzyl alcohol): an electrophysiologic and electron microscopic study. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol*. 2007;245:817-24.
142. Unal M, Peyman GA, Liang C, Hegazy H, Molinari LC, Chen J, et al. Ocular toxicity of intravitreal clarithromycin. *Retina*. 1999;19:442-6.
143. Myers AC, Kjellstrom S, Bruun A, Isaksson B, Ghosh F, Andreasson S, et al. Rifabutin accumulates in the lens and reduces retinal function in the rabbit eye. *Retina*. 2009;29:106-11.
144. Ponjavic V, Granse L, Kjellstrom S, Andreasson S, Bruun A. Alterations in electroretinograms and retinal morphology in rabbits treated with vigabatrin. *Doc Ophthalmol*. 2004;108:125-33.
145. Marmor MF, Kellner U, Lai TY, Lyons JS, Mieler WF. Revised recommendations on screening for chloroquine and hydroxychloroquine retinopathy. *Ophthalmology*. 2011;118:415-22.