

**PONTIFÍCIA UNIVERSIDADE CATÓLICA DO PARANÁ
ESCOLA DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS E MEDICINA VETERINÁRIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA ANIMAL**

CRISTIANE FAIERSTEIN TEIXEIRA

**EFEITO TÓPICO E CONCENTRAÇÃO DO CETOROLACO DE
TROMETAMINA 0,5% E FLURBIPROFENO SÓDICO NO HUMOR
AQUOSO DE CÃES**

*(Topical effect and concentration of ketorolac tromethamine 0,5% and
flurbiprofen sodium in aqueous humor of dogs)*

SÃO JOSÉ DOS PINHAIS

2014

CRISTIANE FAIERSTEIN TEIXEIRA

**EFEITO TÓPICO E CONCENTRAÇÃO DO CETOROLACO DE
TROMETAMINA 0,5% E FLURBIPROFENO SÓDICO NO HUMOR
AQUOSO DE CÃES**

*(Topical effect and concentration of ketorolac tromethamine 0,5% and
flurbiprofen sodium in aqueous humor of dogs)*

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal, área de concentração em Saúde, Tecnologia e Produção Animal, da Escola de Ciências Agrárias e Medicina Veterinária da Pontifícia Universidade Católica do Paraná, para obtenção do título de Mestre em Ciência Animal.

Orientador: Profa. Dra. Antônia Maria do Rocio Binder do Prado
Co-orientador: Prof. Dra. Juliany Gomes Quitzan

SÃO JOSÉ DOS PINHAIS

2014

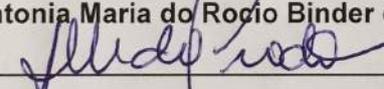


Pontifícia Universidade Católica do Paraná
Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal
Câmpus São José dos Pinhais

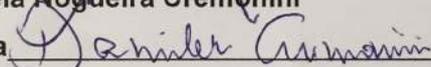
**ATA Nº 0049 E PARECER FINAL DA DEFESA DE DISSERTAÇÃO DE
MESTRADO EM CIÊNCIA ANIMAL DA ALUNA CRISTIANE FAIERSTEIN
TEIXEIRA**

Aos vinte e quatro dias do mês de fevereiro do ano de dois mil e quatorze, às 14:30 horas, realizou-se no anfiteatro do Mestrado em Ciência Animal da Escola de Ciências Agrárias e Medicina Veterinária da Pontifícia Universidade Católica do Paraná, localizada na Rodovia 376 – Km 14 – São José dos Pinhais - PR, a sessão pública de defesa da Dissertação da mestranda Cristiane Faiersteim Teixeira, intitulada: **“EFEITO TÓPICO E CONCENTRAÇÃO DO CETOROLACO DE TROMETAMINA 0,5% NO HUMOR AQUOSO DE CÃES”**. A mestranda concluiu os créditos exigidos para obtenção do título de Mestre em Ciência Animal, segundo os registros constantes na secretaria do Programa. Os trabalhos foram conduzidos pela Professora orientadora e Presidente da banca, Dra. Antonia Maria do Rocio Binder do Prado (PUCPR), auxiliada pelas Doutoradas Daniela Nogueira Cremonini e Ana Leticia Groszewicz de Souza. Procedeu-se à exposição da Dissertação, seguida de sua arguição pública e defesa. Encerrada a fase, as examinadoras expediram o parecer final sobre a Dissertação, que nos termos do Artigo 53 do Regulamento deste Programa de Pós-Graduação, foi considerada APROVADO.

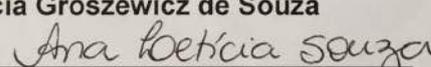
Profa. Dra. Antonia Maria do Rocio Binder do Prado (Presidente)

Assinatura 

Dra. Daniela Nogueira Cremonini

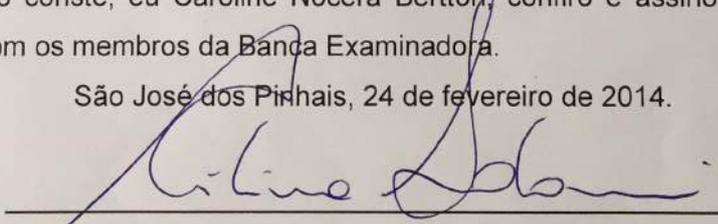
Assinatura 

Dra. Ana Leticia Groszewicz de Souza

Assinatura 

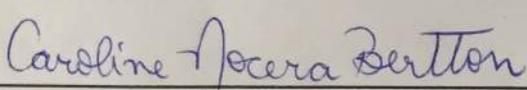
Proclamado o resultado, a Presidente da Banca Examinadora encerrou os trabalhos, e para que tudo conste, eu Caroline Nocera Bertton confiro e assino a presente ata juntamente com os membros da Banca Examinadora.

São José dos Pinhais, 24 de fevereiro de 2014.



Profa. Dra. Cristina Santos Sotomaior

Coordenadora do Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal



Caroline Nocera Bertton

Secretária do Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal

SUMÁRIO

	Página
AGRADECIMENTOS	vii
FORMATO DA DISSERTAÇÃO	ix
RESUMO GERAL	x
ABSTRACT	xi
LISTA DE ABREVIATURAS E SÍMBOLOS	xii
LISTA DE FIGURAS	xiii
LISTA DE QUADROS	xiv
LISTA DE GRÁFICOS	xv
CAPÍTULO 1	
1 INTRODUÇÃO.....	16
CAPÍTULO 2	
2 REVISÃO DE LITERATURA.....	18
CAPÍTULO 3	
3 EFEITO TÓPICO E CONCENTRAÇÃO DO CETOROLACO DE TROMETAMINA 0,5% E FLURBIPROFENO SÓDICO NO HUMOR AQUOSO DE CÃES.....	23
RESUMO.....	23
ABSTRACT.....	24
3.1 INTRODUÇÃO	25
3.2 MATERIAIS E MÉTODOS	26
3.2.1 Aspectos Éticos.....	26
3.2.2 Seleção dos animais e delineamento experimental.....	26
3.2.3 Indução da quebra da barreira hemato-aquosa.....	28
3.2.4 Mensuração das Prostaglandina E2 do humor aquoso.....	30
3.2.5 Análises por HPLC.....	31
3.2.6 Avaliação após instilação dos colírios.....	32
3.2.7 Estatística.....	32

3.3 RESULTADOS	33
3.3.1 Avaliação Oftálmica.....	33
3.3.2 Mensuração da PIO.....	34
3.3.3 Dosagem de Prostaglandinas E2.....	35
3.3.4 HPLC - Catorolaco de Trometamina e Flurbiprofeno Sódico.....	37
3.4 DISCUSSÃO.....	39
CAPÍTULO 4	
CONCLUSÃO.....	43
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	44
ANEXOS.....	51

**Gostaria de dedicar este trabalho tão somente a Deus,
autor da minha vida e da minha fé.**

AGRADECIMENTOS

Gostaria de agradecer primeiramente a Deus por ter sido agraciada durante todo o meu mestrado e que em todos os momentos atribuiu-me forças, coragem e determinação para concretizar os meus sonhos. A palavra de Deus diz: “Entrega o teu caminho ao Senhor, confia Nele, e tudo Ele fará”. Tinha o sonho de realizar mestrado em meu coração e hoje posso dar toda Honra e Glória ao Senhor por ter me concedido este lindo presente.

À meu querido marido, companheiro e amigo Diego Andrade Teixeira, pelo constante apoio e por encorajar-me nos instantes de desânimo. Nenhuma palavra seria bastante para exprimir a gratidão que lhe devo por seu carinho e sobretudo, amizade.

Aos meu pais, Roberto Faienstein e Tânia Denise Faienstein, aos meus irmãos Tiago Chagas Faienstein e André Chagas Faienstein e a minha avó Consuelo Chagas Moura sou profundamente grata pela vivência partilhada com amor, dedicação e paciência e pelos esforços despendidos ao longo destes anos.

Aos meus sogros Zenildo Moraes Teixeira e Evanete Teixeira e aos demais familiares Rosane Milet Passos Teixeira, Rodrigo Andrade Teixeira, Dayanne Andrade Teixeira e Bia Catarine Brum pelo companheirismo, incentivo e pelo apoio constante.

À minhas amigas do mestrado Luciana Wancura e Jennifer Biscara por compartilharem momentos agradáveis durante este percurso.

À equipe do mestrado Cristina Santos Sotomaior, Marconi Rodrigues de Farias, Cláudia Turra Pimpão, Daniel Ollhoff, Pedro Michelotto Jr., Carolina Nocera (secretária) e a minha orientadora Antônia Maria do Rócio Binder do Prado por me introduzirem meandros da prática de Docência, pelo carinho e confiança durante o mestrado.

À UNESP de Botucatu, ao Prof Joaquim Ranzani e Profa Cláudia Valéria Brandão pelo estágio no setor de Oftalmologia. Agradeço de coração a oportunidade que me foi concedida com amor e com carinho para aprofundar ainda mais os meus conhecimentos.

À equipe do meu projeto Victor José Vieira Rossetto, Felipe Sabbadin Zanuzzo (anestesista), as alunas de PIBIC Rebeca Abibe e Tuany Maigre, a João Ferreira e Fernando Moreto (laboratório). Sem vocês não seria possível concretizar este trabalho.

Em especial a minha co-orientadora Juliany Gomes Quitzan por me apoiar em todas as decisões, por ter aberto as portas do mestrado e por me revelar o verdadeiro foco do sucesso profissional. Registro aqui minha louvação pelo que me foi passado com inteligência e simplicidade.

Aos demais, rendo aqui meu preito de reconhecimento.

FORMATO DA DISSERTAÇÃO

A presente dissertação é composta por capítulos.

O capítulo 1 apresenta uma introdução geral dos objetivos de estudo desta dissertação.

O capítulo 2 trata-se de revisão de literatura.

O capítulo 3 aborda os materiais e métodos utilizados no estudo, resultados e discussão.

O capítulo 4 finaliza o trabalho com a conclusão do estudo.

As referências de todos os capítulos se encontram em lista única ao final da dissertação.

RESUMO

Dentre os antiinflamatórios tópicos não esteroidais mais utilizados na rotina oftalmológica veterinária, destaca-se o cetorolaco de trometamina e o flurbiprofeno sódico. Resultados positivos são vistos clinicamente com o uso do cetorolaco; porém, não há nenhum estudo que comprove a sua eficácia em cães. O objetivo do trabalho foi avaliar a eficácia e concentração no humor aquoso do cetorolaco de trometamina 0,5% em cães submetidos à ruptura da barreira hemato-aquosa, quando comparado ao flurbiprofeno sódico. Foram utilizados vinte olhos de dez cães SRD, adultos, machos e fêmeas, clinicamente saudáveis. Seguindo-se o delineamento *cross-over*, realizou-se a Etapa 1 (cetorolaco de trometamina 0,5%) no olho direito e a Etapa 2 (flurbiprofeno sódico) no olho esquerdo, com *washout* de 4 dias entre elas. Após anestesia geral, foi realizado a paracentese do humor aquoso (M0). Duas novas paracenteses foram feitas, a cada 30 minutos (M1 e M2), sendo o colírio instilado em M1, de acordo com a etapa. Amostras de humor aquoso foram colhidas para mensuração de prostaglandina e a cromatografia de alta eficiência. Os animais foram tratados com os colírios supracitados, quatro vezes ao dia e após 8, 24, 36 48 e 60 horas de M2 foi realizada avaliação oftálmica e mensuração da PIO. Quanto às alterações oftálmicas, 20% dos olhos tratados com cetorolaco apresentaram hemorragia em íris e 50% congestão dos vasos episclerais. Já com o flurbiprofeno, 30% dos olhos apresentaram congestão dos vasos episclerais e 10% edema de íris. Todas estas alterações não foram mais constatadas nas avaliações 4 e 5 (48h e 60h, respectivamente). Com relação à PIO, não houve diferença estatística ($p < 0,05$) entre os tratamentos. A mediana de prostaglandina das 20 amostras colhidas em M0 foi de 65,07 pg/mL. Em M1, esta mediana elevou-se para 9308,68 pg/mL ($p < 0,05$). Em M2, após 30 minutos da instilação dos diferentes colírios, a mediana de prostaglandina nos olhos tratados com cetorolaco e flurbiprofeno foram respectivamente 174,81 e 189,3 pg/mL ($p < 0,05$ com relação a M0). Quanto ao HPLC, não houve diferença estatística entre as concentrações do flurbiprofeno e cetorolaco no humor aquoso. Mediante os resultados, pode-se concluir que o cetorolaco de trometamina 0,5% foi tão efetivo quanto o flurbiprofeno no controle da inflamação ocular.

Palavras-chave: Antiinflamatório tópico. Paracentese. Humor aquoso. Cetorolaco de trometamina 0,5%.

ABSTRACT

Among the non-steroidal anti-inflammatory topics most used in veterinary ophthalmology routine stands out ketorolac tromethamine and flurbiprofen sodium. Positive results are seen clinically with the use of ketorolac, but there are no studies proving its effectiveness in dogs. The objective of this study was to evaluate the efficacy and concentration in the aqueous humor of ketorolac tromethamine 0,5% compared to flurbiprofen sodium, after breakdown of the blood - aqueous barrier. Twenty eyes of ten mongrel dogs, adults, males and females, clinically healthy were used. Following the *cross-over* design, we performed Step 1 (ketorolac tromethamine 0,5%) in the right eye and Step 2 (flurbiprofen) in the left eye, with *washout* of 4 days between them. After general anesthesia, paracentesis of aqueous humor (M0) was performed. Two new paracentesis were made every 30 minutes (M1 and M2) being instilled into the eye drops M1, according to the step. Aqueous humor samples were collected for measurement of prostaglandin and high performance liquid chromatography. The animals were treated with the above eye drops four times a day and after 8, 24, 36, 48 and 60 hours M2 ophthalmic evaluation and measurement of the IOP was undertaken. As for ophthalmologic abnormalities, 20% of eyes treated with ketorolac showed hemorrhage in the iris and 50% congestion of episcleral vessels. Already with flurbiprofen, 30% of eyes showed congestion of episcleral veins and edema iris 10%. All these abnormalities were not observed in the ratings 4 and 5 (48h and 60h, respectively). With respect to IOP, there was no statistical difference ($p < 0,05$) between treatment. The median of the 20 samples prostaglandin in M0 was 65,07 pg/mL. In M1, the median increased to 9308,68 pg/mL ($p < 0,05$). In M2, 30 minutes after instillation of the different eye drops, the median of prostaglandin in the eyes treated with ketorolac and flurbiprofen were respectively 174,81 and 189,3 pg/mL ($p < 0,05$ with respect to M0). As for HPLC, there was no statistical difference between concentrations of flurbiprofen and ketorolac in aqueous humor. From the results, it can be concluded that ketorolac tromethamine 0,5% was as effective as flurbiprofen in the control of ocular inflammation.

Keywords: Topic NSAIDs. Paracentesis. Aqueous humor. Ketorolac tromethamine 0,5 %.

LISTA DE ABREVIATURAS E SÍMBOLOS

AIEs – Antiinflamatórioesteroidal

AINEs – Antiinflamatório não-esteroidal

BHA – Barreira hemato-aquosa

HPLC – Cromatografia líquida de alta eficiência

KCS – Cerato conjuntivite-seca

PGs - Prostaglandinas

PGE2 – Prostaglandina E2

PIO – Pressão intra-ocular

LISTA DE FIGURAS

	Página
Figura 1. Anatomia do bulbo ocular.....	3
Figura 2. Colírios identificados com faixa vermelha e azul para o estudo.....	12
Figura 3. Animal anestesiado durante o estudo. A manutenção anestésica foi feita com Isoflurano. Para monitorização dos parâmetros vitais utilizou-se Doppler vascular (seta preta) e monitor multiparamétrico com oximetria (seta vermelha).....	14
Figura 4. Paracentese da câmara anterior.....	14
Figura 5. A) Humor aquoso sendo devidamente condicionado em ependorfs. B) Ependorfs identificados de acordo com cada etapa da paracentese.....	15
Figura 6. Congestão dos vasos episclerais após paracentese da câmara anterior.....	18

LISTA DE QUADROS

Quadro 1. Principais AINES utilizados na rotina da oftalmologia veterinária e seus principais usos.....	6
---	---

LISTA DE GRÁFICOS

	Página
Gráfico 1. Média das cinco aferições de PIO, realizadas nos olhos dos grupos cetorolaco e flurbiprofeno ($p>0,05$).....	19
Gráfico 2. Média das pressões intra-oculares nos diferentes momentos de aferição e etapas (cetorolaco-1 e flurbiprofeno-2), considerando-se como controle a PIO média antes do início do experimento.....	20
Gráfico 3. Níveis quantitativos de Prostaglandinas E2 (pg/mL) durante os momentos 0, 1 e 2, sendo o momento 2 representado no gráfico por Pós-A (Cetorolaco) e Pós-B (Flurbiprofeno). Letras diferentes representam resultados estatisticamente significantes ($p<0,05$).....	21
Gráfico 4. Concentrações de cetorolaco e flurbiprofeno avaliados por HPLC, extraídos do humor aquoso.....	22
Gráfico 5. Gráfico de dispersão mostrando correlação negativa ($r=-0,58$) entre a concentração de prostaglandina (pg/mL) e de cetorolaco (ng/mL) no humor aquoso.....	23
Gráfico 6. Gráfico de dispersão mostrando ínfima correlação positiva ($r=0,10$) entre a concentração de prostaglandina (pg/mL) e de flurbiprofeno (ng/mL) no humor aquoso.....	23

CAPÍTULO 1

INTRODUÇÃO

Os cuidados com os animais de estimação bem como a rotina de determinadas especialidades veterinárias, incluindo a oftalmologia tem evoluído e a busca por novos fármacos e tratamentos inovadores tem se tornado um campo promissor para vários pesquisadores.

A terapia tópica apresenta vantagens como conveniência durante a aplicação, acessibilidade para aquisição, custo benefício e, principalmente, por causar menores efeitos sistêmicos ao paciente. Sua ação depende da concentração cinética no fundo de saco conjuntival, velocidade de eliminação da medicação depois da absorção conjuntival e permeabilidade corneal (MILLER, 1995).

Os antiinflamatórios tópicos são um dos fármacos mais utilizados em tratamentos de pacientes com quadro de desconforto ocular (KLINGE & SAWYER, 2013). As prostaglandinas, resultantes da degradação do ácido aracdônico da membrana celular promovem vasodilatação, quebra da barreira hemato-aquosa (BHA), miose e mudança na pressão intra-ocular (GIULIANO, 2004). A preocupação no controle da inflamação exacerbada justifica-se pelo risco deste mecanismo propiciar o desenvolvimento de ceratoconjuntivite seca (KCS), pigmentação ou vascularização corneal, fibrose, catarata, glaucoma, sinéquia, atrofia do nervo ótico, degeneração retiniana e cegueira (KLINGE & SAWYER, 2013).

Dentre os antiinflamatórios prescritos, destaca-se o uso dos esteroidais (AIES), cujo mecanismo envolve liberação das lipocortinas pelas células e estas agem inibindo a progressão da cascata inflamatória a partir da sua ação sobre a fosfolipase A2, além de bloquear as prostaglandinas (HOLMBERG, 2004).

Porém, os corticosteróides possuem ações adicionais que podem ser prejudiciais durante o tratamento da doença ocular. Estes efeitos incluem redução dos mecanismos de defesa local, diminuição da permeabilidade vascular, cicatrização corneal diminuída, elevação da pressão intra-ocular e

proliferação das proteases e collagenases na córnea (SCHALNUS, 2003; HOLMBERG, 2004). Outros riscos mais importantes reconhecidos pelos oftalmologistas incluem a catarata e o glaucoma (KLINGE & SAWYER, 2013). Ainda, de 1 a 35% do corticosteróide tópico é sistemicamente absorvido e, apesar da dose absorvida ser considerada baixa, esta pode alterar o eixo hipotalâmico-hipofisário-adrenal (HOLMBERG, 2004).

Outra opção terapêutica consiste no uso dos antiinflamatórios não-esteroidais (AINES), que também atuam inibindo a formação das prostaglandinas endógenas, agindo, porém, sobre a via cicloxigenase. Eles são utilizados na conjuntivite sazonal alérgica e irritativa, alergia crônica persistente, diminuição do desconforto ocular após cirurgia e possuem mínimos efeitos colaterais quando comparados ao uso dos AIES (SCHALNUS, 2003). São ainda recomendáveis por sua capacidade de impedir a miose (GELLAT & GELLAT, 2001).

Entre os AINES utilizados na rotina oftalmológica veterinária, destaca-se o flurbiprofeno sódico, diclofenaco sódico e cetorolaco de trometamina (GIULIANO, 2004).

O flurbiprofeno sódico tem eficácia comprovada em distúrbios oculares de cães (SLATTER, 2001). É utilizado no pré-operatório de cirurgias de catarata e indicado para diminuir a miose transoperatória e no pós-operatório do segmento anterior do olho (SHAIK *et al.*, 2003).

O cetorolaco de trometamina tópico tem um potente efeito antiinflamatório e, ao ser instilado no olho promove redução da dor, diminuição da ardência ocular após cirurgia refrativa da córnea e alívio do prurido na conjuntivite alérgica sazonal (GEORGAKOPOULOS *et al.*, 2012). Na concentração de 0,5%, este fármaco é rotineiramente utilizado na oftalmologia veterinária. Resultados positivos são vistos clinicamente ao instituir o seu uso durante um tratamento. Porém, não há nenhum estudo que comprove a sua eficácia em cães bem como os níveis deste fármaco no humor aquoso, após instilação.

O objetivo do trabalho concentrou-se em avaliar o efeito do cetorolaco de trometamina 0,5% quando comparado ao efeito do flurbiprofeno sódico na uveíte induzida por ruptura da barreira hemato-aquosa, por meio da avaliação

de avaliação oftalmológica clínica, mensuração da pressão intra-ocular, concentração de prostaglandinas E2 e dos fármacos no humor aquoso.

CAPÍTULO 2

REVISÃO DE LITERATURA

O bulbo ocular é formado por três túnicas e nelas estão contidas diversas estruturas. A túnica fibrosa é composta pela córnea e esclera; a túnica vascular é composta pela íris, corpo ciliar e coróide, conhecida como úvea, e a túnica nervosa é composta pela retina e nervo óptico (Figura 1) (MONTIANI, 2010).

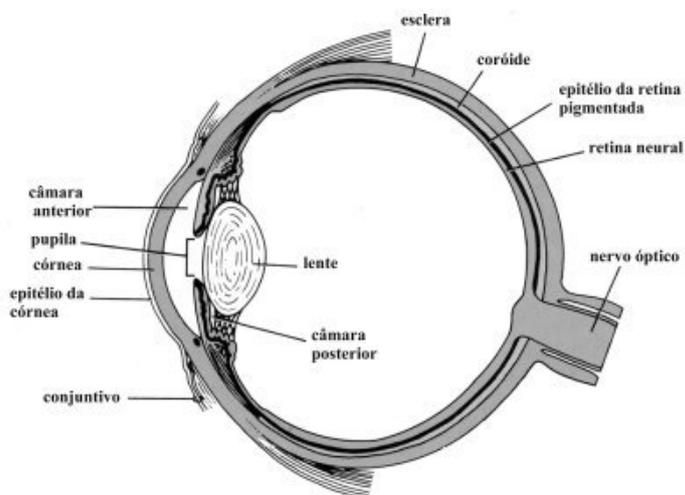


Figura 1: Anatomia do bulbo ocular. Fonte: <http://milopticas.no.sapo.pt/anatomia.htm>

Compondo a túnica vascular ou média, a íris é a estrutura responsável por controlar a quantidade de luz que entra no olho por meio da abertura pupilar. Ela separa a câmara anterior da câmara posterior (GUM *et al.*, 1999). A coróide, situada entre a esclera e a retina é um tecido vascular pigmentado, responsável pelo suporte metabólico dos cones e bastonetes da retina (MONTIANI, 2010). O corpo ciliar situa-se atrás da íris, possui junções firmes (“tight junctions”), que formam a barreira hemato-aquosa e é composto por

processos ciliares, responsáveis pela produção de humor aquoso (GUM *et al.*, 1999).

O humor aquoso é um fluido transparente ultra-filtrado do plasma, que preenche as câmaras anterior, posterior e o espaço pupilar (van der WOERDT, 2001). Seu fluxo direciona-se da câmara posterior (região situada entre a face posterior da íris até a cápsula anterior do cristalino) para a câmara anterior (região situada entre córnea e íris), passando pelo espaço pupilar e sendo drenado, em sua maior parte, pelo ângulo irido-trabéculo-corneano. O humor aquoso tem como função nutrir a córnea e o cristalino e remover os debris e restos celulares, promovendo transparência dos meios oculares (FALCÃO, 2008; MONTIANI, 2010).

As proteínas fazem parte da composição do humor aquoso. Em condições normais, os cães possuem 39,33mg/dL (FALCÃO, 2008). Quando ocorre algum distúrbio no segmento anterior, ou seja, quando há ruptura das “tight junctions” do epitélio do corpo ciliar, há uma elevação de seus níveis (SLATTER, 2001; FALCÃO, 2008; GALERA *et al.*, 2009).

O termo uveíte serve para designar o processo inflamatório que acomete o trato uveal. Existem três formas de classificar a uveíte: anterior ou iridociclite, processo inflamatório que acomete a íris e o corpo ciliar; uveíte posterior, quando há o acometimento da coróide e panuveíte, quando todas essas estruturas são acometidas (GIULIANO, 2004).

Doenças sistêmicas são as principais causas da uveíte em cães e gatos. Erliquiose, leptospirose, brucelose, toxoplasmose, leishmaniose, cinomose, entre outras são as principais doenças onde se observa a uveíte como uma afecção secundária em cães. Em felinos, as mais comuns são as síndromes da imunodeficiência felina (FIV/FELV) e PIF (Peritonite Infecciosa Felina) (MASSA *et al.*, 2002). Caso seja excluída a causa infecciosa durante um diagnóstico, pode-se pensar em neoplasia de íris, trauma, doenças metabólicas, autoimunes ou imumomediadas (MONTIANI, 2010).

A primeira fase da uveíte, ou seja, durante a inflamação aguda, ocorre vasoconstrição, seguida por vasodilatação (GUM *et al.*, 1999; GIULIANO, 2004). As prostaglandinas (PG's), liberadas pela ação catalítica da fosfolipase A2 sobre os fosfolípidos de membrana celular lesionada são os metabólitos predominantes no tecido ocular durante a resposta inflamatória

(van der WOERDT, 2001). Induzem hiperemia, contraem o músculo do esfíncter da íris, causando miose e dor (TOWNSEND, 2008), causam aumento da permeabilidade vascular e acabam colapsando a barreira hemato-aquosa (SLATTER, 2001).

A quebra de barreira hemato-aquosa (COOLEY et al., 1984; TETSURO et al., 1993; GUM et al., 1999; RIBEIRO, 2007; FALCÃO, 2008; TOWNSEND, 2008) bem como aumento da permeabilidade dos vasos da íris e do corpo-ciliar culminam com o influxo de proteínas para o humor aquoso secundário e resulta em um efeito conhecido como “Efeito Tyndall” (KREMER et al., 1982; GUM et al., 1999; COLLINS & MOORE, 1999; SLATTER, 2001; GALERA et al., 2009). A passagem de sangue para o interior do bulbo ocular (hifema) também pode ocorrer (van der WOERDT, 2001).

Quando o corpo ciliar encontra-se inflamado, a produção do humor aquoso diminui e, como consequência, resulta em diminuição da PIO. Acredita-se que a translocação das prostaglandinas para o olho também possa levar a esta mesma condição (GILMOUR & LEHENBAUER, 2006; FALCÃO, 2008; TOWNSEND, 2008).

A fase crônica ainda não é bem estudada. Porém, pode-se afirmar que é caracterizada por intenso fenômeno imunológico. Se não tratada, elevadas concentrações de prostaglandinas podem levar a um ciclo vicioso da inflamação, com consequências que ameaçam a perda da integridade visual (GUM et al., 1999; RIBEIRO, 2007).

Os sinais clínicos vistos no exame oftálmico de animais acometidos estão relacionados à porção do trato uveal acometida (HERRERA, 2008), podendo ser observado miose, dor, fotofobia, edema de córnea, dispersão coloidal do humor aquoso, hifema, hipópio, congestão dos vasos episclerais e conjuntivais, *íris bombée*, *rubeosis iridis*, precipitados ceráticos, sinéquias e baixa pressão intra-ocular (MASSA et al., 2002).

O tratamento da uveíte é baseado na aplicação tópica de midriáticos e cicloplégicos, em associação com a utilização tópica e sistêmica de antiinflamatórios, adjunto ao tratamento da causa de base (van der WOERDT, 2001; BABU & MAHENDRADAS, 2013).

Os AINEs atuam inibindo principalmente a ação das cicloxigenases, reduzindo assim a produção endógena das prostaglandinas (SRINIVASAN &

KULKARNI, 1989). Eles possuem moléculas lipofílicas que são responsáveis por penetrar rapidamente e ativar os níveis iniciais do fármaco (BABU & MAHENDRADAS, 2013).

Dentre os AINES utilizados na rotina oftalmológica veterinária, destaca-se o flurbiprofeno sódico, originário dos ácidos arilpropionílicos e o diclofenaco sódico e cetorolaco de trometamina, de origem química dos ácidos pirrolacéticos (KU *et al.*, 1986; RABIAH *et al.*, 1996).

Quadro 1. Principais AINES utilizados na rotina da Oftalmologia Veterinária e seus principais usos.

PRINCÍPIO ATIVO	NOME COMERCIAL	EMPRESA	USO
FLURBIPROFENO SÓDICO 0,03%	OCUFEN	ALLERGAN	Ajuda na profilaxia da miose cirúrgica
DICLOFENACO SÓDICO 0,1%	STILL	ALLERGAN	Promove redução da dor pós-cirurgia de facoemulsificação; promove redução da dor pós cirurgia refrativa
CETOROLACO DE TROMETAMINA 0,5%	ACULAR	ALLERGAN	Promove redução da dor pós-cirurgia de facoemulsificação; diminui o desconforto da conjuntivite alérgica sazonal

Quadro 1: Principais AINES utilizados na rotina da oftalmologia veterinária e seus principais usos. Fonte: Veterinary clinics of small animal practice. 2004; 34: 707–723.

O cetorolaco de trometamina é um antiinflamatório não-esteroidal com propriedades analgésicas e antiinflamatórias. Seu uso é preconizado em caso de dor ocular e na diminuição o desconforto no pós-operatório da cirurgia refrativa em humanos (BUCCI *et al.*, 2007; BUCCI & WATERBURY, 2008; ATTAR *et al.*, 2010), possuindo ação analgésica comparável com a morfina (CAGNARDI *et al.*, 2013). Estudos comprovam sua eficácia em diferentes vias de administração: intracameral; supracoroidal e intra-vítrea (MEIZI *et al.*, 2012).

O cetorolaco não promove aumento da PIO (SCOTT *et al.*, 2011); é também capaz de reduzir os efeitos das prostaglandinas, em especial a PGE2 encontrada no humor aquoso (SCHOENBERGER *et al.*, 2013).

O diclofenaco sódico, além de atuar na via cicloxigenase também regula a via lipoxigenase (KU *et al.*, 1986). Em medicina, é recomendado para diminuir inflamação após cirurgia de catarata e desconforto ocular gerado após cirurgia refrativa (SCHALNUS, 2003). Ele pode ser utilizado de forma mais eficaz em eventos relacionados com o segmento posterior (UNLU *et al.*, 2010).

O flurbiprofeno sódico tem propriedade antiinflamatória, analgésica e antipirética (HALDER *et al.*, 2013). Atua inibindo a produção das prostaglandinas e tromboxanos (STREPPA *et al.*, 2002), sendo indicado para diminuir a miose transoperatória e no pós-operatório do segmento anterior do olho (HALDER *et al.*, 2013). O flurbiprofeno é capaz de elevar a PIO juntamente com o diclofenaco, tendo que ser utilizado com cautela em gatos com histórico de hipertensão ocular (RANKIN, *et al.*, 2011).

CAPÍTULO 3

EFEITO TÓPICO E CONCENTRAÇÃO DO CETOROLACO DE TROMETAMINA 0,5% E FLURBIPROFENO SÓDICO NO HUMOR AQUOSO DE CÃES.

(Topical effect and concentration of ketorolac tromethamine 0,5% and flurbiprofen sodium in aqueous humor of dogs)

RESUMO

Dentre os antiinflamatórios tópicos não esteroidais mais utilizados na rotina oftalmológica veterinária, destaca-se o cetorolaco de trometamina e o flurbiprofeno sódico. Resultados positivos são vistos clinicamente com o uso do cetorolaco; porém, não há nenhum estudo que comprove a sua eficácia em cães. O objetivo do trabalho foi avaliar a eficácia e concentração no humor aquoso do cetorolaco de trometamina 0,5% em cães submetidos à ruptura da barreira hemato-aquosa, quando comparado ao flurbiprofeno sódico. Foram utilizados vinte olhos de dez cães SRD, adultos, machos e fêmeas, clinicamente saudáveis. Seguindo-se o delineamento *cross-over*, realizou-se a Etapa 1 (cetorolaco de trometamina 0,5%) no olho direito e a Etapa 2 (flurbiprofeno sódico) no olho esquerdo, com *washout* de 4 dias entre elas. Após anestesia geral, foi realizado a paracentese do humor aquoso (M0). Duas novas paracenteses foram feitas, a cada 30 minutos (M1 e M2), sendo o colírio instilado em M1, de acordo com a etapa. Amostras de humor aquoso foram colhidas para mensuração de prostaglandina e a cromatografia de alta eficiência. Os animais foram tratados com os colírios supracitados, quatro vezes ao dia e após 8, 24, 36 48 e 60 horas de M2 foi realizada avaliação oftálmica e mensuração da PIO. Quanto às alterações oftálmicas, 20% dos olhos tratados com cetorolaco apresentaram hemorragia em íris e 50% congestão dos vasos episclerais. Já com o flurbiprofeno, 30% dos olhos apresentaram congestão dos vasos episclerais e 10% edema de íris. Todas estas alterações não foram mais constatadas nas avaliações 4 e 5 (48h e 60h, respectivamente). Com relação à PIO, não houve diferença estatística ($p < 0,05$) entre os tratamentos. A mediana de prostaglandina das 20 amostras colhidas em M0 foi de 65,07 pg/mL. Em M1, esta mediana elevou-se para 9308,68 pg/mL ($p < 0,05$). Em M2, após 30 minutos da instilação dos diferentes colírios, a mediana de prostaglandina nos olhos tratados com cetorolaco e flurbiprofeno foram respectivamente 174,81 e 189,3 pg/mL ($p < 0,05$ com relação a M0). Quanto ao HPLC, não houve diferença estatística entre as concentrações do flurbiprofeno e cetorolaco no humor aquoso. Mediante os resultados, pode-se concluir que o cetorolaco de trometamina 0,5% foi tão efetivo quanto o flurbiprofeno no controle da inflamação ocular.

Palavras-chave: Antiinflamatório tópico. Paracentese. Humor aquoso. Cetorolaco de trometamina 0,5%.

ABSTRACT

Among the non-steroidal anti-inflammatory topics most used in veterinary ophthalmology routine stands out ketorolac tromethamine and flurbiprofen sodium. Positive results are seen clinically with the use of ketorolac, but there are no studies proving its effectiveness in dogs. The objective of this study was to evaluate the efficacy and concentration in the aqueous humor of ketorolac tromethamine 0,5% compared to flurbiprofen sodium, after breakdown of the blood - aqueous barrier. Twenty eyes of ten mongrel dogs, adults, males and females, clinically healthy were used. Following the *cross-over* design, we performed Step 1 (ketorolac tromethamine 0,5%) in the right eye and Step 2 (flurbiprofen) in the left eye, with *washout* of 4 days between them. After general anesthesia, paracentesis of aqueous humor (M0) was performed. Two new paracentesis were made every 30 minutes (M1 and M2) being instilled into the eye drops M1, according to the step. Aqueous humor samples were collected for measurement of prostaglandin and high performance liquid chromatography. The animals were treated with the above eye drops four times a day and after 8, 24, 36, 48 and 60 hours M2 ophthalmic evaluation and measurement of the IOP was undertaken. As for ophthalmologic abnormalities, 20% of eyes treated with ketorolac showed hemorrhage in the iris and 50% congestion of episcleral vessels. Already with flurbiprofen, 30% of eyes showed congestion of episcleral veins and edema iris 10%. All these abnormalities were not observed in the ratings 4 and 5 (48h and 60h, respectively). With respect to IOP, there was no statistical difference ($p < 0,05$) between treatment. The median of the 20 samples prostaglandin in M0 was 65,07 pg/mL. In M1, the median increased to 9308,68 pg/mL ($p < 0,05$). In M2, 30 minutes after instillation of the different eye drops, the median of prostaglandin in the eyes treated with ketorolac and flurbiprofen were respectively 174,81 and 189,3 pg/mL ($p < 0,05$ with respect to M0). As for HPLC, there was no statistical difference between concentrations of flurbiprofen and ketorolac in aqueous humor. From the results, it can be concluded that ketorolac tromethamine 0,5% was as effective as flurbiprofen in the control of ocular inflammation.

Keywords: Topic NSAIDs. Paracentesis. Aqueous humor. Ketorolac tromethamine 0,5 %.

3.1 INTRODUÇÃO

As uveítes podem trazer importantes danos ao globo ocular. O processo inflamatório e liberação das prostaglandinas no humor aquoso iniciam uma sucessão de alterações, incluindo miose, “flare”, hipópio, sinéquias, hifema, precipitados ceráticos, *rubeosis iridis*, seclusão pupilar, *íris bombée*, luxação ou sub-luxação do cristalino, redução da pressão intra-ocular (PIO), catarata e glaucoma. Se não tratada, elevadas concentrações de prostaglandinas podem manter um ciclo vicioso de inflamação, com consequências que ameaçam a perda da integridade visual (RIBEIRO, 2007).

Para evitar consequências e sequelas das uveítes sobre o bulbo do olho é importante instituir rapidamente um tratamento específico e eliminar a causa de base. A primeira iniciativa é tentar aliviar o processo inflamatório e a dor (GEORGAKOPOULOS *et al.*, 2012). A utilização tópica e sistêmica de antiinflamatório torna-se então ponto prioritário no protocolo de tratamento da uveíte, associado à aplicação tópica de midriáticos e cicloplégicos (BABU & MAHENDRADAS, 2013).

Os antiinflamatórios não-esteroidais (AINE) agem sobre a via cicloxigenase reduzem a produção endógena das prostaglandinas E2, com mínimos efeitos colaterais, quando comparados ao uso dos esteroidais (SCHALNUS, 2003). São ainda recomendados por sua capacidade de impedir a miose (GELATT & GELATT, 2001).

O cetorolaco de trometamina 0,5% é um AINE rotineiramente utilizado na oftalmologia veterinária. Resultados positivos são vistos clinicamente ao instituir o seu uso durante o tratamento. Porém, não há nenhum estudo que comprove a sua eficácia em cães, bem como os níveis deste fármaco no humor aquoso.

O objetivo do trabalho concentrou-se em avaliar o efeito do cetorolaco de trometamina 0,5% quando comparado ao efeito do flurbiprofeno sódico na uveíte induzida por ruptura da barreira hemato-aquosa, por meio da avaliação oftalmológica clínica, mensuração da pressão intra-ocular, concentração de prostaglandinas E2 e dos fármacos no humor aquoso.

3.2 MATERIAIS E MÉTODO

3.2.1 Aspectos Éticos

A pesquisa foi delineada de acordo as normas internacionais da ARVO – Association for Research in Vision and Ophthalmology e após a aprovação do Comitê de Ética da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia – UNESP – Botucatu, com o protocolo de nº109/2013 (Anexo 1).

3.2.2 Seleção dos animais e delineamento experimental

Para o desenvolvimento do estudo foram utilizados 10 cães, SRD, adultos, machos e fêmeas, com vacinação e vermifugação atualizada, fornecidos pelo Canil da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia - UNESP – Botucatu. Antes do início do estudo, todos os cães foram submetidos a exame clínico geral, hemograma e semiotécnica oftálmica, onde foram incorporados os testes de Schirmer¹, fluoresceína², tonometria de aplanção³ e fundoscopia⁴. Animais com alteração em quaisquer destes exames, mesmo que isoladamente, foram excluídos do estudo.

O experimento constituiu um ensaio clínico transversal, aleatorizado e descritivo, sendo os tratamentos realizados de modo duplo-cego. Apenas um dos pesquisadores tinha conhecimento dos colírios utilizados – Etapa 1 - Cetorolaco de Trometamina⁵ (Acular®) e Etapa 2 - Flurbiprofeno Sódico⁶ (Ocufen®). Após retirada dos rótulos, os colírios foram identificados por este pesquisador com uma faixa vermelha ou azul, utilizados respectivamente nas etapas 1 e 2. Os colírios possuíam a mesma embalagem e originavam-se do mesmo laboratório (Figura 2).

¹ Teste de Schirmer - Ophthalmos

² Teste de Fluoresceína - Ophthalmos

³ Tono-Pen Vet - Reichert

⁴ Oftalmoscópio PanOptic – Welch Allyn

⁵ Acular colírio - Allergan

⁶ Ocufen colírio - Allergan



Figura 2. Colírios identificados com faixa vermelha (cetorolaco de trometamina) e azul (flurbiprofeno) para o estudo duplo-cego. Foto: Arquivo pessoal.

Seguindo-se o delineamento *cross-over*, realizou-se na etapa 1 a paracentese da câmara anterior do olho direito e o tratamento com colírio vermelho (cetorolaco). Na etapa 2, procedeu-se a paracentese do olho esquerdo, com posterior utilização do colírio azul (flurbiprofeno). O tempo de intervalo (*washout*) entre as etapas foi de quatro dias. Nenhum dos animais teve o mesmo olho submetido aos dois tratamentos. Desta forma, foram avaliados 10 olhos em cada etapa, sendo este o “n” referido daqui por diante, conforme esquema abaixo.

	ETAPA 1	INTERVALO	ETAPA 2
	CETOROLACO	(WASHOUT)	FLURBIPROFENO
UNIDADE	10 OLHOS	4 DIAS	10 OLHOS
EXPERIMENTAL	(Direito)		(Esquerdo)

3.2.3 Indução da quebra da barreira hemato-aquosa

No dia anterior às etapas cetorolaco e flurbiprofeno, os animais foram submetidos a jejum alimentar de doze horas, sendo a água retirada apenas uma hora antes da sedação.

Para a quebra da barreira hemato-aquosa em ambas as etapas, todos os animais foram anestesiados. A medicação pré-anestésica foi feita com 0,05 mg/Kg de acepromazina⁷ e 0,05 mg/kg de morfina⁸, via intramuscular. Ato contínuo tiveram a veia cefálica canulada com cateter 20-22G⁹, sendo a indução realizada com propofol¹⁰, na dose de 5 mg/kg via intravenosa, pois é sabido que esta medicação não causa alteração na PIO (BATISTA, 2000). Todos os animais foram intubados e mantidos com isoflurano¹¹ durante todo o procedimento. A pressão arterial sistólica foi monitorada com auxílio de doppler vascular¹² e a frequência cardíaca bem como saturação de O₂ foram aferidas por monitor multiparamétrico com oximetria¹³ (Figura 3).

Para antissepsia da córnea e conjuntiva bulbar, foi utilizado solução de iodopovidona¹⁴ na diluição de 1:100 em solução comercial de NaCl 0,9%. Para auferir a anestesia tópica, foi instilado 1 gota do cloridrato de proximetacaína¹⁵ 5mg/ml. Com uma agulha de calibre 13x4,4, acoplada a uma seringa de 1ml foi realizada a primeira paracentese da câmara anterior, considerado momento 0 do estudo. A agulha foi introduzida tangencialmente ao limbo temporal, com o intuito de quebra da barreira hemato-aquosa e com o desígnio de colher 0,2ml de humor aquoso (Figura 4). Após 30 minutos (Momento 1), uma nova paracentese foi realizada e colhido mais 0,2 de humor aquoso. A última paracentese foi realizada após 60 minutos (Momento 2), sendo colhidos 0,3ml de humor aquoso.

⁷ Acepran 0,2% - Vetnil

⁸ Sulfato de Morfina - Cristália

⁹ Insyte - BD

¹⁰ Diprivan - Cristália

¹¹ Isoflurano - Cristália

¹² Doppler, modelo DVT 500 - Martec

¹³ Monitor multiparamétrico Dixtal

¹⁴ Iodopovidona - Rioquímica

¹⁵ Visonest colírio - Allergan



Figura 3. Animal anestesiado durante o estudo. A manutenção anestésica foi feita com Isoflurano. Para monitorização dos parâmetros vitais utilizou-se Doppler vascular (seta preta) e monitor multiparamétrico com oximetria (seta vermelha). Foto: Arquivo Pessoal.



Figura 4. Paracentese da câmara anterior. Foto: Arquivo Pessoal.

Todas as amostras foram acondicionadas em microtubos de Ependorf e mantidas em freezer a -80°C . As amostras colhidas nos momentos 0 e 1 destinaram-se à dosagem de prostaglandina E2 (0,2 ml). A amostra colhida no momento 2 foi fracionada, sendo 0,2 ml acondicionados para posterior dosagem de prostaglandina e 0,1 ml destinado à cromatografia líquida de alta eficiência (HPLC) (Figura 5).

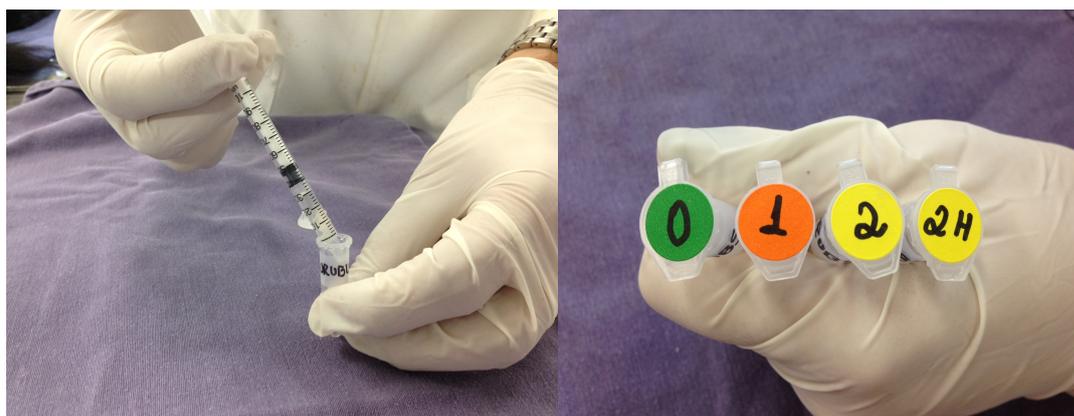


Figura 5. A) Humor Aquoso sendo devidamente condicionado em ependorfs. B) Ependorfs identificados de acordo com cada momento da paracentese. Foto: Arquivo Pessoal.

3.2.4 Mensuração das Prostaglandina E2 do humor aquoso

As amostras colhidas nos momentos 0 e 1 foram submetidas ao Imunoensaio Competitivo Enzimático (ELISA)¹⁶. Estas foram descongeladas à temperatura ambiente e centrifugadas durante 5 minutos, a uma velocidade de 3500 rpm. Posteriormente, foram diluídas na proporção de 1:5 (amostras do momento 0 e 2) e 1:80 (amostras do momento 1) em água de Milli Q. Adicionaram-se 50 μl de humor aquoso, 50 μl de tracer e 50 μl de anticorpo monoclonal em cada poço contido na placa (total de 12 poços por fileira). Uma vez preenchida, a placa foi coberta com filme plástico e incubada por 18 horas à 4°C , em escotofase. Decorrido o período de incubação, esvaziou-se o conteúdo da placa e a mesma foi lavada por cinco vezes com solução de detergente tamponado e seca em temperatura ambiente. Duzentos microlitros de reagente de Ellmer foram adicionados a cada poço. Cobriu-se a placa para que fosse mantida novamente em escotofase, transferindo-a para

¹⁶ Prostaglandin E2 EIA Kit Monoclonal – Cayman Chemical Company

um agitador, onde permaneceu por 90 minutos. Realizou-se a leitura em aparelho específico, com filtro de 405 nanômetros, a qual foi corrigida de absorvância, para picogramas por microlitros (pg/mL).

3.2.5 Análises por HPLC

As concentrações de cetorolaco de trometamina e de flurbiprofeno foram quantificadas nas amostras de humor aquoso utilizando metodologia de cromatografia líquida de alto desempenho (HPLC) seguindo métodos padronizados na literatura (RIEGEL, 1994; DEMIRCAN, 2007). O sistema de HPLC utilizado (LC-10A, Shimadzu Inc., Japão) consistia de bombas de injeção automática, dispositivo para injeção manual de amostras, forno para coluna analítica e detector UV. Todos os solventes utilizados foram soluções grau HPLC assim como padrões de elevado grau de pureza (99%, Sigma-Aldrich®).

Para essa análise, as amostras de humor aquoso foram descongeladas e adicionadas (100µL) a tubos de plástico tipo Eppendorf e então desproteinizadas com acetonitrila (500 µL). As amostras foram homogeneizadas durante 1 minuto em vortex e centrifugadas a 3000rpm durante 20 minutos, em temperatura ambiente. Após isso, o sobrenadante foi transferido para outro tubo e submetido à evaporação sob nitrogênio. Após secagem total do conteúdo, as amostras foram ressuspendidas em fase móvel (100µL) e injetadas no HPLC. Para as amostras de flurbiprofeno com concentrações conhecidamente reduzidas, foi realizada uma extração adicional por meio da centrifugação do conteúdo ressuspendido, evaporação e nova adição de fase móvel (100µL). A fase móvel consistia de acetonitrila e ácido acético glacial a 1,65% (50:50, v:v) e foi distribuída pelo sistema a um fluxo de 1mL/min. A coluna analítica de separação utilizada foi a ODS-2, C18 150x4,6mm (Waters Solutions®). A detecção do cetorolaco de trometamina foi realizada em comprimento de onda de 340nm, enquanto que o flurbiprofeno foi detectado a 280nm. A quantificação foi obtida após sucessivas diluições dos padrões (500; 250; 125; 62,5; 31,25 e 15,625 ng/mL) para obtenção da curva de calibração. As relações entre a área dos

picos e as concentrações dos padrões foram $R^2=0,999$ para ambos os fármacos.

3.2.6 Avaliação após instilação dos colírios

Após 8 (A1), 24 (A2), 36 (A3), 48 (A4) e 60 (A5) horas da última paracentese (momento 2), foi realizada avaliação oftálmica e mensuração da PIO com tonômetro de aplanção. Esta última foi realizada seguindo uma ficha delineada para avaliação de todas as estruturas do bulbo ocular (Anexo 2). Todos os animais foram tratados com os colírios supracitados, quatro vezes ao dia, até A5.

3.2.7 Estatística

Para a avaliação clínica, os resultados foram apresentados utilizando-se a estatística descritiva. As médias de PIO e os dados da concentração do cetorolaco de trometamina e flurbiprofeno sódico foram avaliados empregando-se o teste de análise de variância (ANOVA) para médias repetidas, seguido pelo teste Tukey. Já as prostaglandinas E2 foram analisadas através do teste de análise de variância (ANOVA) e Holm-Sidak. Para avaliar a correlação entre o nível de prostaglandina e a concentração dos diferentes fármacos no humor aquoso, foi realizado o teste de correlação de Pearson. Para todas as análises, considerou-se o nível de significância com $p<0,05$. As análises foram feitas utilizando-se o programa computacional Graphpad 5.

3.3 RESULTADOS

3.3.1 Avaliação Oftálmica

Quanto às alterações observadas durante o exame clínico oftálmico, estas foram evidenciadas apenas nas avaliações 2 (24h) e 3 (36h), realizadas após a última paracentese. Na Etapa 1 (cetorolaco), 2 (10) (20%) apresentaram hemorragia em íris e 5 (10) (50%) apresentaram congestão dos vasos conjuntivais (Figura 6). Na Etapa 2 (flurbiprofeno), 3 (10) (30%) apresentaram congestão dos vasos conjuntivais e 1 (10) (10%) edema de íris. Todas estas alterações não foram mais constatadas nas avaliações 4 e 5 (48 e 60h, respectivamente).



Figura 6: Congestão dos vasos conjuntivais após paracentese da câmara anterior. Foto: Arquivo pessoal.

3.3.2 Mensuração da PIO

O valor médio da PIO dos 20 olhos em estudo, mensurada antes do início do experimento foi de $19,4 \pm 5,22$ mmHg. O Gráfico 1 mostra a média e desvio padrão das 5 avaliações de PIO (8, 24, 36, 48 e 60 horas) realizadas em cada olho, nas etapas 1 (cetorolaco) e 2 (flurbiprofeno). Não houve diferença estatística ($p < 0,05$) com relação aos valores obtidos, seja entre os olhos da mesma etapa ou entre as duas etapas.

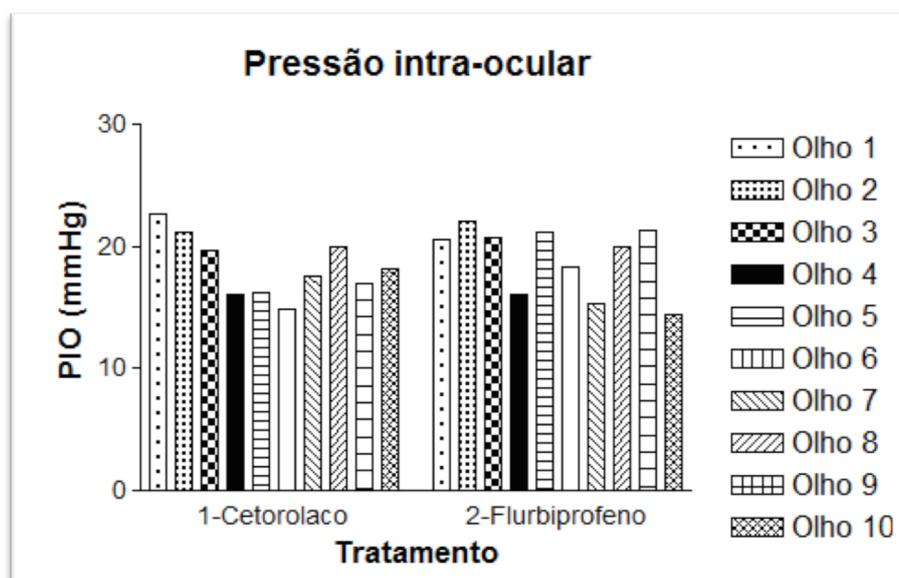


Gráfico 1 – Média das cinco aferições de PIO, realizadas nos olhos dos grupos Cetorolaco e Flurbiprofeno ($p < 0,05$).

Quando fixado o momento de mensuração, comparando-se com a média da PIO antes do início do experimento ($19,4 \pm 5,22$ mmHg), neste gráfico representada pelo Controle, também não foram encontradas diferenças estatísticas entre os grupos, conforme mostra o Gráfico 2.

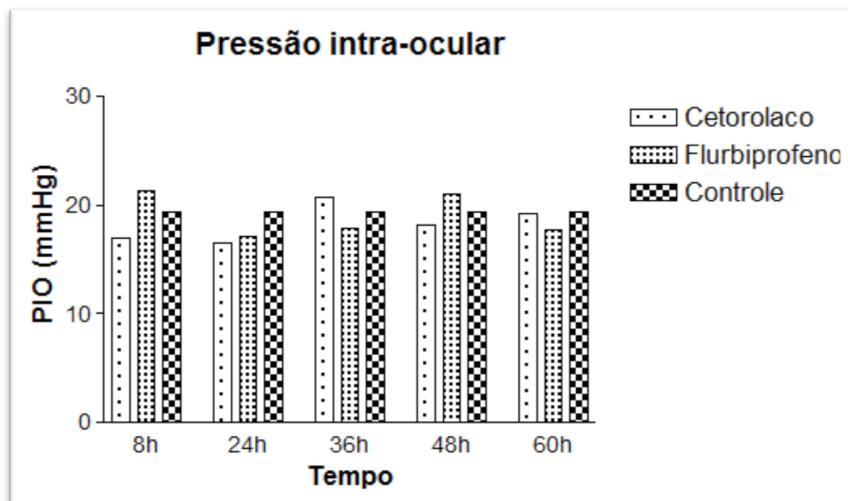


Gráfico 2 – Média das pressões intra-oculares nos diferentes momentos de aferição e etapas (cetorolaco-1 e flurbiprofeno-2), considerando-se como controle a PIO média antes do início do experimento.

3.3.3 Dosagem de Prostaglandinas E2

Para as dosagens de prostaglandina, inicialmente foi realizada a padronização da curva do teste de ELISA. A curva padrão, que correlaciona a concentração de PGE2 com o nível de absorvância, mostrou correlação de 99% ($r = 0,99$). Por esta curva, determina-se que a detecção limítrofe é de 15 pg/mL, representando 80% de relação entre B e B_0 , onde B refere-se á absorvância de uma amostra conhecida e B_0 a máxima quantidade de marcador que pode o anticorpo pode ligar-se, na amostra em estudo.

No momento 0, a mediana das 20 amostras colhidas foi de 65,07 pg/mL. Após a primeira punção, pode-se observar no momento 1 que esta mediana elevou-se para 9308,68 pg/mL, diferindo significativamente da concentração de prostaglandina encontrada em M0 ($p < 0,001$). No momento M2, após 30 punção e instilação dos diferentes colírios, a mediana de prostaglandina encontrada nos olhos tratados com Cetorolaco e Flurbiprofeno foram respectivamente 174,81 e 189,3 pg/mL, conforme o esquema abaixo.

	MEDIANA (pg/mL)	Valor de p
MOMENTO 0	65,07	p<0,05
MOMENTO 1	9508,68	p<0,05
MOMENTO 2 (FLURBIPROFENO)	189,3	p=0,995
MOMENTO 2 (CETOROLACO)	174,81	p=0,999

Não houve diferença estatística entre os grupos tratados (momento 2 – p<0,05); porém, houve significativa redução em M2 com relação a M1, nos olhos tratados com cetorolaco (p<0,001) e flurbiprofeno (p<0,001). Não houve diferença estatística entre M2 cetorolaco e M2 flurbiprofeno e o momento M0 (p=0,995 e 0,999, respectivamente), demonstrando que os valores da prostaglandina após o tratamento retornaram próximo ao valor considerado basal. Estes dados estão apresentados no gráfico 3.

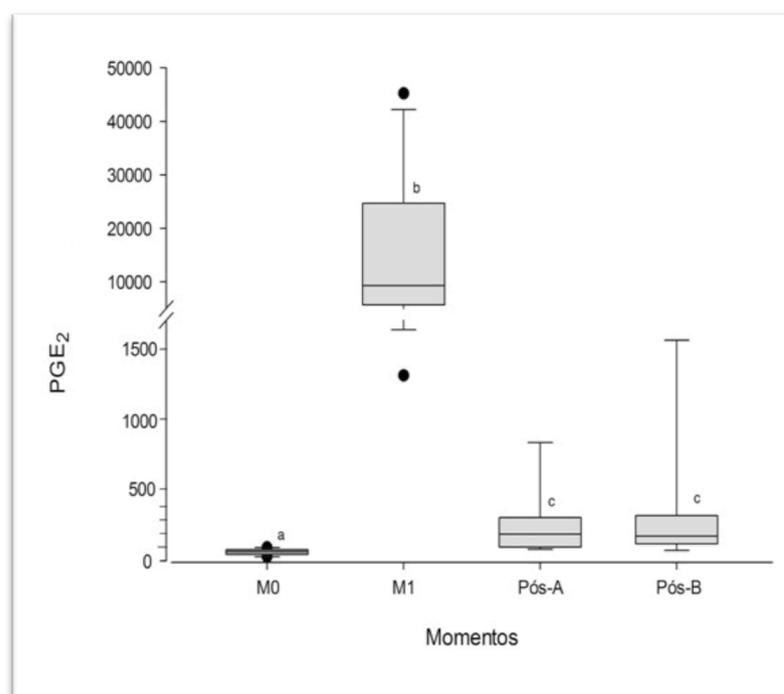


Gráfico 3 - Níveis quantitativos de Prostaglandinas E2 (pg/mL) durante os momentos 0, 1 e 2, sendo o momento 2 representado no gráfico por Pós-A (Cetorolaco) e Pós-B (Flurbiprofeno). Letras diferentes representam resultados estatisticamente significantes (p<0,05).

3.3.4 HPLC – Cetorolaco de Trometamina e Flurbiprofeno Sódico

A média da concentração de cetorolaco de trometamina 30 minutos após sua instilação, nos dez olhos tratados na Etapa 1 foi de $27,04 \pm 14,348$ ng/mL e de flurbiprofeno sódico, nos dez olhos tratados na Etapa 2 foi de $25,41 \pm 16,93$ ng/mL. O gráfico 4 traz a representação dos resultados obtidos pelo HPLC e, apesar das propriedades diferentes dos fármacos, não houve diferença estatística na concentração dos mesmos.

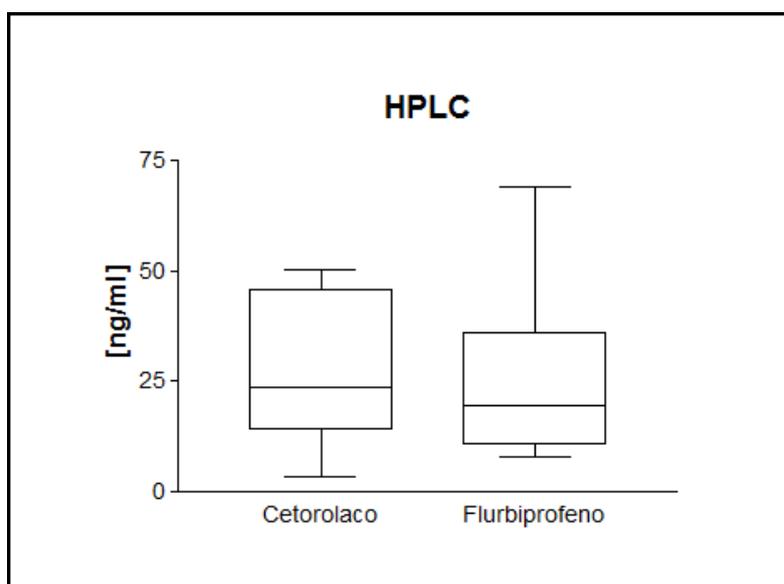


Gráfico 4 – Concentrações de cetorolaco e flurbiprofeno avaliados por HPLC, extraídos do humor aquoso.

Ao analisar os valores de prostaglandina E2 do momento M2 e a concentração do cetorolaco no humor aquoso pelo teste de correlação de Pearson, obteve-se $r=-0,58$ ($p=0,07$), indicando uma correlação moderadamente negativa, ou seja, a diminuição de prostaglandina não teve relação com a concentração do fármaco (Gráfico 5). Com flurbiprofeno, houve uma correlação ínfima positiva ($r=0,10$), mas sem significância estatística ($p=0,77$), mostrando tendência entre o maior nível do fármaco e aumento de prostaglandina (Gráfico 6).

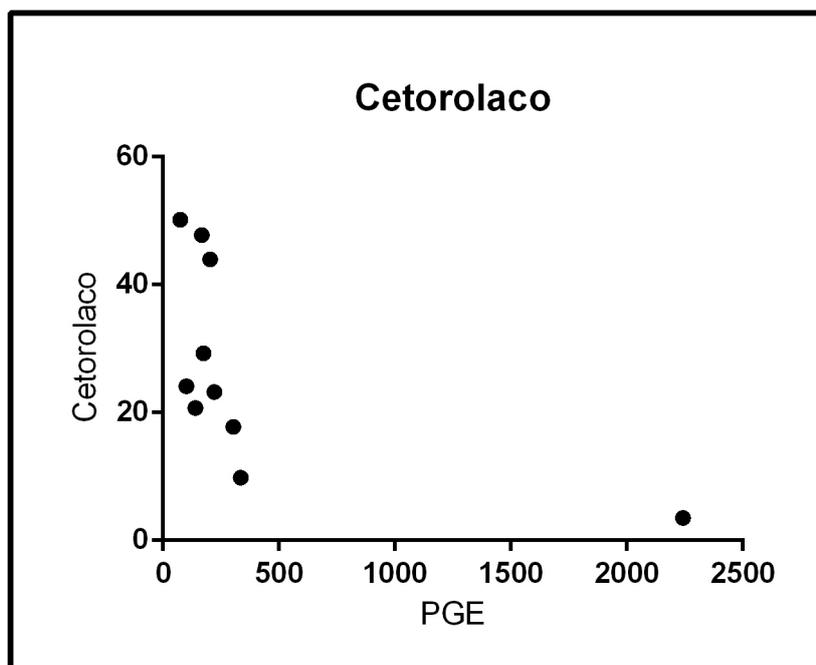


Gráfico 5 – Gráfico de dispersão mostrando correlação negativa ($r=-0,58$) entre a concentração de prostaglandina (pg/mL) e de cetorolaco (ng/mL) no humor aquoso.

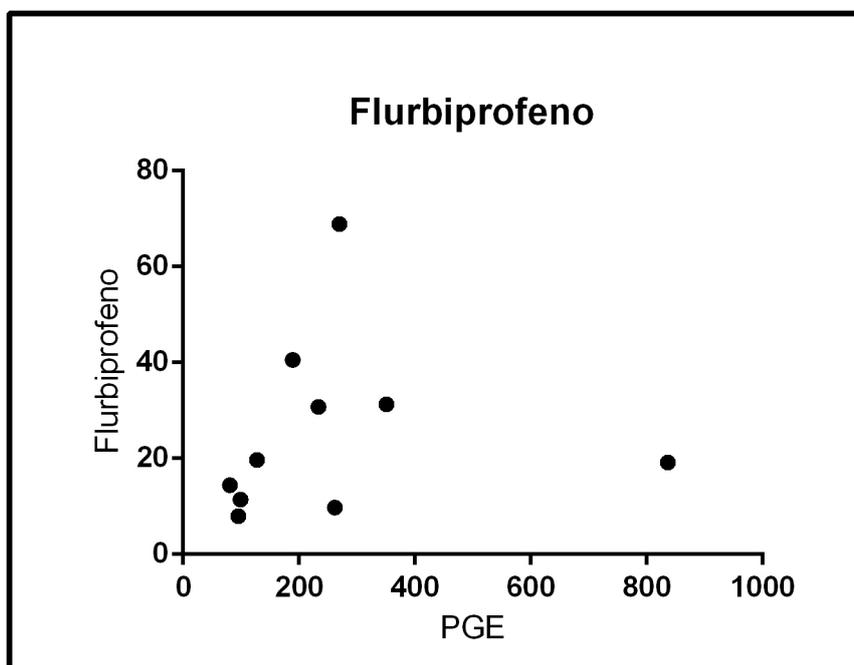


Gráfico 6 – Gráfico de dispersão mostrando ínfima correlação positiva ($r=0,10$) entre a concentração de prostaglandina (pg/mL) e de flurbiprofeno (ng/mL) no humor aquoso.

3.4 DISCUSSÃO

Diferentemente da realidade na oftalmologia veterinária, várias pesquisas envolvendo a farmacocinética e farmacodinâmica do ceterolaco foram desenvolvidos em humanos. Porém, não há estudos correlacionando a concentração deste fármaco no humor aquoso de cães, após uso tópico, apesar de ser recomendado na prática clínica, o que motivou a realização desta pesquisa.

O método escolhido neste estudo para quebra da barreira hemato-aquosa foi a paracentese da câmara anterior, segundo o protocolo de Galera (2002). Sabe-se que este método pode ser utilizado como modelo experimental de indução de uveítes anteriores e não promove danos oftálmicos no paciente (OKISAKA, 1976).

Para ser realizada, anestesia geral é requerida como garantia de segurança da punção. No presente estudo, a indução anestésica foi realizada com propofol, objetivando evitar interferências na pressão intra-ocular, uma vez que é sabido que esta medicação não causa alteração no referido parâmetro (BATISTA, 2000).

Com relação aos exames oftálmicos, as complicações observadas no grupo ceterolaco (hemorragia em íris e congestão dos vasos conjuntivais) e no grupo flurbiprofeno (congestão dos vasos conjuntivais e edema de íris) associaram-se ao efeito mecânico da punção e secundariamente à inflamação causada, sendo talvez um inconveniente desta técnica experimental de indução de uveíte. Porém, estas alterações foram consideradas sutis e não constatadas nas avaliações 4 e 5 (48 e 60h, respectivamente).

Nesta avaliação clínica, notou-se que as alterações oftálmicas mencionadas apresentaram melhor evolução com a utilização do colírio azul (flurbiprofeno) em comparação com o colírio vermelho (ceterolaco). Apesar da subjetividade da informação, por se tratar de um estudo duplo-cego, julgamos importante mencioná-la.

Apesar da diminuição da PIO tender a ocorrer de maneira súbita nos quadro de uveíte (COLLINS & MOORE 1999), podendo ser considerada como um dos primeiros sinais clínicos da doença, neste modelo experimental

não foi evidenciado a mesma característica, pois não houve alteração significativa da PIO em nenhuma das etapas, apesar de ser constatado que houve quebra da barreira hemato-aquosa, por meio da dosagem de prostaglandinas. Ribeiro (2007), assim como nos resultados da presente investigação, utilizou a paracentese para avaliar efeito do meloxicam e carprofeno em diferentes vias de administração e não encontrou variações na PIO após a punção.

Hotchkiss *et al.* (1984), avaliando olhos glaucomatosos submetidos a trabeculoplastia demonstram que o flurbiprofeno foi capaz de diminuir a pressão intraocular de forma mais significativa que a Indometacina. Contrariando esta informação, Rankin (2011) relatou que o flurbiprofeno foi capaz de elevar a PIO, tendo que ser utilizado com cautela em pacientes com histórico de hipertensão ocular. Quanto ao cetorolaco, dados obtidos na literatura mostram que este princípio não promove aumento da PIO (SCOTT *et al.*, 2011).

A observação de efeitos adversos após o uso do flurbiprofeno incluindo prurido, ardor e sensação de corpo estranho em pessoas também foi relatada no estudo de Hotchkiss *et al.* (1984). Não observamos nenhum sinal de desconforto nos animais deste estudo, tanto nos olhos tratados com flurbiprofeno quanto com cetorolaco.

Sabe-se que as prostaglandinas E2 são encontradas em uveítes anteriores; por isso tivemos o intuito de estudá-las tanto como forma de comprovar a eficácia da paracentese na quebra de barreira hemato-aquosa quanto demonstrar a atividade dos fármacos estudados em regularizar seus níveis.

A mediana da concentração de prostaglandina E2, no momento 0 do estudo foi de 65,07pg/mL, encontrando-se na faixa descrita como segura pelo ensaio comercial padrão, acima de 15 pg/mL. Abaixo deste valor, os resultados são considerados pouco seguros e devem ser analisados com cautela.

Algumas divergências foram encontradas comparando nossos resultados a outros estudos que utilizaram o mesmo ensaio comercial para dosagem das prostaglandinas. Pinard *et al.* encontraram 130 pg de prostaglandina E2 por mililitro humor aquoso em cães saudáveis, sem

detalhar se houve diluição das amostras. Gilmour & Lehenbauer (2009) avaliaram a concentração de prostaglandina E2 no humor aquoso de cães e relatam valores de normalidade entre 9 e 12 pg/mL, em amostras não diluídas. Ainda, em outro estudo, Gilmour e Payton (2012) encontraram valor ainda inferior de prostaglandina em olhos normais, em amostras não diluídas. Ribeiro (2007) também relata valores de normalidade abaixo do nível de detecção comercial, ou seja, inferiores a 15 pg/mL, utilizando a diluição de 1:10. Em olhos de seres humanos com catarata, em 61% dos indivíduos, a concentração de prostaglandina E2 encontrava-se abaixo dos níveis de detecção, de, <15 pg/mL (MATSUO, 2004). Apesar de não termos realizado o estudo em duplicata devido quantidade insuficiente das amostras, principalmente no momento 2, quando realizamos também o HPLC, encontramos valores de prostaglandina nos olhos saudáveis (M0) dentro da faixa de detecção confiável do teste, utilizando a diluição de 1:5.

Já em M1, 30 minutos após a primeira paracentese, foi observada importante elevação da prostaglandina E2, comprovando que o método utilizado induziu a quebra da barreira hemato-aquosa, favorecendo a sua passagem para o humor aquoso. Desta forma, podemos atribuir a diminuição do nível de prostaglandinas observado em M2 ao uso dos colírios, apesar de não ter sido detectada diferença entre os tratamentos. Porém, este fato evidencia claramente que, neste momento, o cetorolaco conseguiu atingir níveis de concentração no humor aquoso suficientes para controlar a inflamação causada por duas paracenteses, de forma semelhante ao flurbiprofeno. De fato, há evidência literária de que o cetorolaco é capaz de reduzir os efeitos das prostaglandinas, em especial a PGE2 encontrada no humor aquoso (SCHOENBERGER *et al.*, 2013).

A cromatografia líquida de alta eficiência (HPLC) é uma técnica utilizada para aferir concentrações de substâncias em determinado produto (DEMIRCAN *et al.*, 2007). No presente estudo, a média da concentração de cetorolaco de trometamina e flurbiprofeno sódico, 30 minutos após sua instilação nos dez olhos tratados foi de $27,04 \pm 14,348$ ng/mL e $25,41 \pm 16,93$ ng/mL, respectivamente. Esses níveis atingidos no humor aquoso foram suficientes para controlar o processo inflamatório gerado na câmara anterior. Semelhante ao nosso estudo, Unlu (2010) estudou 17 pacientes humanos

que foram designados para receber cetorolaco tópico antes da cirurgia de facoemulsificação. As amostras de humor aquoso foram recolhidas 30 minutos após a instilação do colírio. A concentração média encontrada foi de $20,17 \pm 12,21 \text{ ng/mL}$.

Os dois fármacos estudados neste estudo mostraram ser capazes de agir sobre as PGE₂ do humor aquoso, reduzindo os efeitos inflamatórios gerados pela paracentese, sem diferença estatística entre os dados avaliados. Não observamos correlação entre os níveis de prostaglandina e a concentração de cetorolaco ou flurbiprofeno, ou seja, a maior quantidade de fármaco não foi acompanhada por menor concentração de prostaglandina no humor aquoso, em M2.

Os preços das apresentações comerciais, Ocufen® e Acular®, podem variar significativamente. O Acular® custa cerca de duas vezes mais que o Ocufen®. Por isso, ao apresentarmos dados referidos pela primeira vez a respeito do cetorolaco em cães, podemos ter estas informações como importantes justificativas para fornecer opções de tratamento aos proprietários, nos adequando melhor às diferentes classes sociais que atendemos. Além disso, a realização de novas pesquisas torna-se imperativa para consolidar maiores informações sobre farmacocinética e farmacodinâmica deste fármaco em cães.

CAPÍTULO 4

CONCLUSÃO

Mediante os resultados do estudo, pode-se concluir que o cetorolaco de trometamina 0,5% mostrou ter penetração e concentração detectável no humor aquoso de cães, pela Cromatografia Líquida de Alta Eficiência.

Este estudo também comprovou que o cetorolaco teve eficácia semelhante ao flurbiprofeno no controle da inflamação ocular, comprovada pela avaliação clínica e diminuição de prostaglandinas no humor aquoso.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Attar M, Schiffman R, Borbridge L, Farnes Q, Welty, D. Ocular pharmacokinetics of 0,45% Ketorolac tromethamine. **Clinical Ophthalmology**. 2010; 4:1403-8.

Babu K, Mahendradas P. Medical management of uveitis – current trends. **Indian Journal Ophthalmology**. 2013; 6:277-83.

Batista MB, Laus JL, Nunes N, Santos PSP, Costa JLO. Evaluation of intraocular pressure and partial CO₂ pressure in dogs anesthetized with propofol. **Veterinary Ophthalmology**. 2000; 3: 17-19.

Brideau C, Van staden C, Chan CC. In vitro effects of cyclooxygenase inhibitors in whole blood of horses, dogs, and cats. **American Journal of Veterinary Research**. 2001; 62: 1755-1760.

Brightman AH, Helper LC, Hoffman WE. Effect of aspirin on aqueous protein values in the dog. **Journal Veterinary Association**. 1981; 6: 572-3.

Bucci FA Jr, Waterbury LD, Amico LM. Prostaglandin E₂ inhibition and aqueous concentration of Ketorolac 0,4% (Acular LS) and Nepafenac 0,1% (Nevanac) in patients undergoing phacoemulsification. **Journal Ophthalmology**. 2007; 1: 146-7.

Bucci FA Jr, Waterbury LD. Comparison of Ketorolac 0,4% and Bromfenac 0,09% at trough dosing: aqueous drug absorption and prostaglandin E₂ levels. **Journal Cataract Refract Surgery**. 2008; 9: 1509-12.

Burder RM, Waltman SR. Topical corticosteroids after cataract surgery. **Ann Ophthalmology**. 1972; 4: 290-3.

Cagnardi P, Zonca A, Gallo M, Villa R, Carli S, Beccaglia M, Fonda D, Ravasio G. Pharmacokinetics and perioperative efficacy of intravenous ketorolac in dogs. **Journal of Veterinary Pharmacology and Therapeutics**. 2013; 36: 603–608.

Collins BK, Moore CP. Diseases and surgery of the canine uvea. **Veterinary Ophthalmology**. 1999; 3: 755-795.

Cooley PL, Milvae R, Riis RC. Effect of flunixinmeglumine on prostacyclin accumulation in the equine eye. **American Journal of Veterinary Research**. 1984; 45: 1383-1385.

Demircan S, Sayin F, Basci NE, Unlu N, Kir S. Determination of Ketorolac Tromethamine in Human eye samples by HPLC with photo diode-array detection. **Journal Chromatographia**. 2007; 66: 135-139.

Dzikiti TB, Joubert KE, Venter LJ, Dzikiti LN. Comparison of morphine and carprofen administered alone or in combination for analgesia in dogs undergoing ovariohysterectomy. **Journal of South African Veterinary Association**. 2006; 77: 120-126.

Falcão MSA. Proteinograma do humor aquoso de cães (*Canis familiares* – Linnaeus, 1758) clinicamente saudáveis. (**Dissertação de Mestrado**). 2008; 9-16.

Floman N, Zor U. Mechanism of steroid action in ocular inflammation: Inhibition of prostaglandin production. **Investigative Ophthalmology & Visual Science**. 1977; 1: 69–73.

Freddo TF, Patz S, Arshanskiy Y. Pilocarpine's effects on the blood-aqueous barrier of the human eye as assessed by high-resolution, contrast magnetic resonance imaging. **Experimental Eye Research**. 2006; 3: 458-64.

Galera PD, Laus JL, Soares AMB, Ribeiro CR, Melo FR. Avaliação dos efeitos da flunixin meglumina, por via subconjuntival, sobre a concentração e padrão proteico do humor aquoso de cães submetidos à paracentese da

câmara anterior. **Ciência Animal Brasileira**. 2009; 10: 1310-1316.

Gelatt KN, Gelatt JP. Surgical procedures of the anterior chamber and anterior uvea. **Small Animal Ophthalmic Surgery**.2001; 219-243.

Georgakopoulos CD, Vasilakis PT, Beredina MO, Pharmakakis NM. Effect Of Ketorolac 0.5% Drops On Patients' Pain Perception During Intravitreal Injection Procedure. **Department of Ophthalmology**.2012; 5: 455-8.

Gilmour MA, Lehenbauer TW. Effects of tepoxalin in reducing intraocular inflammation in the dog. **Veterinary Ophthalmology**. 2009; 9:414-425.

Giuliano EA. Nonsteroidal anti-inflammatory drugs in veterinary ophthalmology. **Veterinary Clinical Small Animal**. 2004; 34: 707–723.

Gum GG, Gelatt KN, Ofri R. Phisiology of the eye. **Veterinary Ophthalmology**. 1999. 3: 151-182.

Halder S, Mondal KK, Biswas S, Mandal TK, Dutta BK, Haldar M. Comparative evaluation of aqueous and plasma concentration of topical moxifloxacin alone and with flurbiprofen patients of cataract surgery. **Indian Journal Pharmacology**. 2013; 3: 223-6.

Herrera D. Oftalmologia Clínica em Animais de Companhia. **Editora MedVet**. 2008; 30-40.

Holmberg BJ, Maggs DJ. The use of corticosteroids to treat ocular inflammation. **Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice**. 2004; 34: 693-705.

Hotchkiss ML, Robin AL, Pollack IP, Quigley HA. Nonsteroidal anti-inflammatory agents after argon laser trabeculoplasty. A trial with flurbiprofen and indomethacin. **Ophthalmology**.1984; 8: 969-76.

Klinge SA, Sawyer GA. Effectiveness and safety of topical versus oral nonsteroidal anti-inflammatory drugs. **Physician and sports medicine**. 2013; 2: 64-74.

Kremer M, Baikoff G, Charbonnel B. The release of prostaglandins in human aqueous humor following intraocular surgery. **Prostaglandins**.1982; 23: 695-702.

Krone GS, Gionfriddo J, Morrison E. Inhibition of pilocarpine-induced aqueous humor flare, hypotony, and miosis by topical administration of anti-inflammatory and anesthetic drugs to dogs. **American Journal of Veterinary Research**.1998; 59:482-488.

Ku ED, Lee W, Kothari HV. Effect of diclofenac sodium on the arachidonic acid cascade. **American Journal of Medicine**.1986; 80:18–23.

Margi A, Gilmour DVM, Payton ME. Comparison of the effects of IV administration of meloxicam, carprofen, and flunixin meglumine on prostaglandin E2 concentration in aqueous humor of dogs with aqueocentesis induced anterior uveitis. **American Journal of Veterinary Research**. 2012; 73.

Massa KL, Gilger BC, Miller TL, Davidson MG. Causes of uveitis in dogs: 102 cases (1989-2000). **Veterinary Ophthalmology**. 2002; 5: 93-98.

Matsuo T. Prostaglandins F2 alpha and E2 in aqueous humor of patients with cataract surgery. **Journal of Ocular Pharmacology and Therapeutics**. 2004; 20:101-106.

Meizi W, Wu L, Qingjun L, Huiyang Z, Sumeng L, Yankun Y, Haiting C, Ying L, Ming X. Pharmacokinetic comparison of Ketorolac after intracameral, intravitreal, and suprachoroidal administration in rabbits. **The Journal of Retinal and Vitreous Diseases**. 2012; 32.

Miller TR. Anti-inflammatory therapy of the eye. **Small Animal Practice**.1995; 1218-1222.

Montiani F. Túnica Vascolar. **Programa de Educação continuada em Ciências Agrárias** (Universidade Federal do Paraná). 2010; 1: 1-55.

Okisaka S. Effects of paracentesis on the blood-aqueous barrier: a light and electron microscopic study on cynomolgus monkey. **Investigative Ophthalmology & Visual Science**. 1976;15: 824-834.

Pinard MM, Martel-pelletier J, Gauvin D, Pelletier JP, Troncy E. Effect of carprofen on aqueous humor levels of PGE₂, NOX and TNF- α in an experimental canine uveitis model. **Veterinary Ophthalmology**. 2006; 9: 414-425.

Rabiah PK, Fiscellas RG, Tessler HH. Intraocular penetration of periocular ketorolac and efficacy in experimental uveitis. **Investigative Ophthalmology & Visual Science**.1996; 4: 613-8.

Rankin AJ, Khrono SG, Stiles J. Evolution of four drugs for inhibition of paracentesis-induced blood-aqueous humor barrier breakdown in cats. **Journal Veterinary Research**. 2011; 6: 826-32.

Ribeiro AP. Efeitos do meloxicam e do carprofeno administrados por diferentes vias no controle da uveíte em cães (*Canis familiaris*– LINNAEUS, 1758). **Dissertação de Mestrado**.2007; 2-6.

Schalnus R. Topical nonsteroidal anti-inflammatory therapy in ophthalmology. **Ophthalmologica**. 2003; 217:89–98.

Schoenberger SD, Kim SJ, Sheng J, Calcut MW. Reduction of Vitreous Prostaglandin E2 levels after topical administration of ketorolac 0,45%. **JAMA Ophthalmology**. 2013; 10: 2158-64.

Scott GR, Weizer JS, Moroi SE, Bruno CA, Musch DC, Niziol LM, Lee PP, Stein JD. Can topical ketorolac 0.5% improve the function of Ahmed® glaucoma drainage devices?. **Ophthalmic Surgery, Lasers & Imaging**. 2011; 3: 190-5.

Shaikh MY, Mars JS, Heaven CJ. Prednisolone and Flurbiprofen drops to maintain mydriasis during phacoemulsification cataract surgery. **Journal of Cataract and Refractive Surgery**. 2003; 7: 2372.

Slatter D. Fundamentals of veterinary ophthalmology. **Kindle Edition**. 2001; 640.

Srinivasan BD, Kulkarni PS. Inhibitors of the arachidonic acid cascade in the management of ocular inflammation. **Progress in Clinical and Biological Research**. 1989; 49: 312-229.

Streppa HK, Jones CJ, Budsberg SC. Cyclooxygenase selectivity of nonsteroidal anti-inflammatory drugs in canine blood. **American Journal of Veterinary Research**. 2002; 63: 91-94.

Tetsuro O, Masahiko S, Makoto A. A Study on Diurnal Fluctuation of Blood-Aqueous Barrier Permeability to Plasma Proteins. **Experimental Eye Research**. 1993; 56: 129-133.

Townsend WM. Canine and Feline Uveitis. **Veterinary Clinics of North America - Small Animal Practice**. 2008; 323-346.

Unlu N, Kocaoglan H, Sayin F, Hazirolan D, Demircan S, Basci N, Acar MA, Demir NM, Duman S. Penetration of topically applied diclofenac and ketorolac into the aqueous humor and subretinal fluid: randomized clinical trial. **Journal of Ophthalmology**. 2010; 6: 610-5.

Wang M, Liu W, Zeng H, Liu S, Yue Y, Cheng H, Liu Y, Xue M. Pharmacokinetic comparison of ketorolac after intracameral, intravitreal, and suprachoroidal administration in rabbits. **Retina**. 2012; 10: 2158-64.

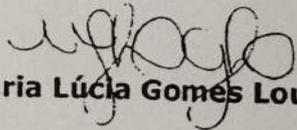
Waterbury LD, Flach AJ. Efficacy of low concentrations of Ketorolac tromethamine in animal models of ocular inflammation. **Journal Ocular Pharmacology Therapy**.2004; 4: 345-52.

van der Woerd A. Management of intraocular inflammatory disease. **Clinical Techniques in Small Animal Practice**. 2001; 16: 58-61.

ANEXOS

A T E S T A D O

Atesto para os devidos fins, que o Projeto de Pesquisa "**Avaliação da concentração no humor aquoso e efeito tópico do Ceterolaco de Trometamina 0,4% em cães**" Protocolo nº 109/2013-CEUA, de **Juliany Gomes Quitzan**, desta Faculdade, está de acordo com os Princípios Éticos na Experimentação Animal e foi aprovado pela Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA) desta Faculdade.
Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, em 14 de junho de 2013.



Prof.ª Ass. Dr.ª. Maria Lúcia Gomes Lourenço

Presidente da CEUA da FMVZ, UNESP - Campus de Botucatu



Unidade Hospitalar de Animais de Companhia – UHAC

Pontifícia Universidade Católica do Paraná – PUC-PR

SERVIÇO DE OFTALMOLOGIA

DATA: ___/___/___

NOME: _____

FICHA CLÍNICA: _____

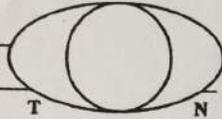
O. D.

Reflexos: () Direto () Consensual

Schirmer: _____ mm/min

Aplan.: _____ mmHg

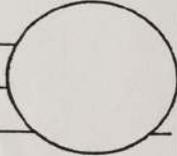
Pálpebra:



Secreção:

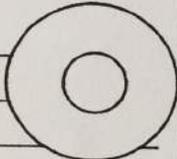
Conjuntiva:

Córnea:

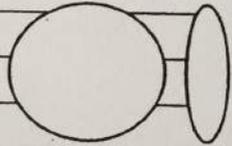


Fluoresceína: () Lissamina ()

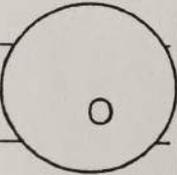
Câmara anterior, íris e pupila:



Lente:



Fundo e Vítreo:



Diagnóstico:

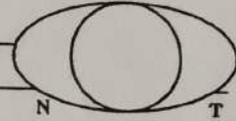
O. E.

Reflexos: () Direto () Consensual

Schirmer: _____ mm/min

Aplan.: _____ mmHg

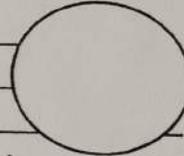
Pálpebra:



Secreção:

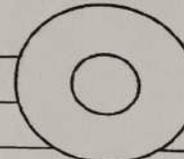
Conjuntiva:

Córnea:

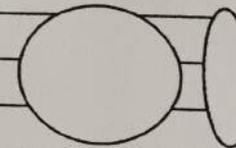


Fluoresceína: () Lissamina ()

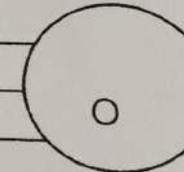
Câmara anterior, íris e pupila:



Lente:



Fundo e Vítreo:



Tratamento:

