

**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA “JULIO DE MESQUITA FILHO”
FACULDADE DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS E VETERINÁRIAS
CÂMPUS DE JABOTICABAL**

**EFEITOS DO ÁCIDO ASCÓRBICO INTRACAMERAL SOBRE
O ENDOTÉLIO CORNEAL E SOBRE O FATOR DE
NECROSE TUMORAL ALFA (TNF- α), EM CÃES
SUBMETIDOS À FACOEMULSIFICAÇÃO**

**Ivan Ricardo Martinez Pádua
Médico Veterinário**

2015

**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA “JULIO DE MESQUITA FILHO”
FACULDADE DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS E VETERINÁRIAS
CÂMPUS DE JABOTICABAL**

**EFEITOS DO ÁCIDO ASCÓRBICO INTRACAMERAL SOBRE
O ENDOTÉLIO CORNEAL E SOBRE O FATOR DE
NECROSE TUMORAL ALFA (TNF- α), EM CÃES
SUBMETIDOS À FACOEMULSIFICAÇÃO**

Ivan Ricardo Martinez Pádua

Orientador: Prof. Dr. José Luiz Laus

**Tese apresentada à Faculdade de Ciências
Agrárias e Veterinárias – Unesp, Câmpus de
Jaboticabal, como parte das exigências para
obtenção do título de Doutor em Cirurgia
Veterinária.**

2015

M385e Martinez Padua, Ivan Ricardo
 Efeitos do ácido ascórbico intracameral sobre o endotélio corneal
 e sobre o fator de necrose tumoral alfa (tnf- α), em cães submetidos à
 facoemulsificação. / Vanessa Morales Meirelles. -- Jaboticabal, 2011
 ix, 67 p.: il.; 28 cm

 Tese (doutorado) - Universidade Estadual Paulista, Faculdade de
 Ciências Agrárias e Veterinárias, 2015

 Orientador: José Luiz Laus

 Banca examinadora: Paola Castro Moraes, Marcela Aldrovani
 Rodrigues, Arianne Pontes Oria, Adriana Morales

 Bibliografia

 1. Cão. 2. Catarata. 3. Endotélio. I. Título. II. Jaboticabal-
 Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias.

 CDU 619:617.7:636.7

Ficha catalográfica elaborada pela Seção Técnica de Aquisição e Tratamento da Informação –
Serviço Técnico de Biblioteca e Documentação - UNESP, Câmpus de Jaboticabal.

DADOS CURRICULARES DO AUTOR

Ivan Ricardo Martinez Padua nascido em 13 de fevereiro de 1983 na cidade de Bogotá, Colômbia. Graduou-se em Medicina Veterinária pela Universidad de la Salle (Bogotá-Colômbia) em fevereiro de 2007. Foi residente (área de Cirurgia Veterinária de pequenos animais) da Universidad de la Salle no período de julho de 2006 à junho de 2007. Posteriormente, realizou residência curta no laboratório clínico veterinário da Universidad de la Salle de julho de 2007 a dezembro de 2007. Atuou também como médico veterinário e diretor do laboratório clínico veterinário da Clínica Protectora de Animales (Bogotá-Colômbia) até abril de 2008. Em agosto de 2008 ingressou no curso de Mestrado do Programa de Pós-Graduação em Cirurgia Veterinária da Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias da Unesp de Jaboticabal, SP/Brasil, culminando este em fevereiro de 2011. Deu início ao curso de Doutorado em março de 2011.

A Deus porque acredito profundamente nele, por estar sempre presente em minha vida, acompanhando o meu caminho, me dando saúde e me colocando dentro de uma grande família...

A Deus, à mãe de todos Maria e ao seu filho Jesus...

...dedico

A minha mãe, Ana Delia, por toda sua dedicação, que com muito amor e caráter, me tem guiado e sempre está ao meu lado, me dando os melhores exemplos; e ao meu pai, Pedro Pablo, por todo o apoio, que com a sua experiência e sua força, me tem dado os melhores conselhos, orientações e exemplos para culminar os meus objetivos.

A vocês que sempre estão comigo, com amor e confiança, sei que a distância não é fácil, mas é por um propósito...

...dedico

AGRADECIMENTOS

A meu irmão Pedro Pablo, que tem me acompanhado em todo o caminho da minha vida, e agora trabalhando juntos, agradeço por sempre me dar forças e me apoiar em tudo.

A minhas irmãs, Ana Maria e Juana Valentina, que nasceram para iluminar as nossas vidas, vocês são a minha inspiração.

Aos meus avós, Pedro e Mercedes, que eu admiro e respeito, agradeço por toda confiança, incentivo e amor que me brindam desde criança.

À minha avó Ana (*in memoriam*), todos ficamos com um vazio quando partiste, mas sempre com lembranças muito lindas, obrigado por sempre estar do meu lado. Ao meu avô Nicanor (*in memoriam*), que desde o céu esta cuidando da sua Família

À pessoa que sempre esteve em todo este caminho no meu lado, tendo paciência, me ajudando, me acompanhado, brindando-me amor e apoio, agradeço a ti Livia por estar presente na minha vida, como minha família aqui. Agradeço também à tua família por me abrirem as portas e deixarem que eu fizesse parte deles.

Ao professor Laus, pela orientação, pelos conhecimentos oferecidos, pelos conselhos e paciência, por me receber no serviço de oftalmologia e me permitir entrar na sua vida tanto profissional quanto pessoal, criando uma amizade sincera junto com a sua esposa Lilian.

Ao professor Camacho por ser um amigo, me apoiar, apresentar e ajudar a abrir os caminhos, e também por me acompanhar em todo o meu processo.

Aos Colaboradores e também colegas e amigos do Serviço de Oftalmologia, tanto os presentes quanto os que por lá passaram. Ao Alexandre (Dedo) por me guiar no início desta empreitada. Ao Luciano, Luciana, Tiago, Marcela, Gisele, Flor, Roberta (Tititi), Camila (Bia) e Karina (Tchaina), por fazerem parte deste trabalho, sem vocês não teria conseguido, este trabalho é fruto de todos.

A todos os estagiários, funcionários do Hospital Veterinário e da Unesp, professores, residentes e pós graduandos, que não conseguiria enumerá-los, mas foram parte essencial do meu aprendizado nesta instituição.

À professora Rosangela e a sua orientada Márcia, por me ajudarem em parte do meu projeto.

À Andressa da Microbiologia por ter sido prestativa e atenciosa com as amostras deste experimento.

Aos meus amigos colombianos, Oscar, Camilo, Yeni e Male, pela amizade à distância e espera pelo reencontro. Aos meus amigos brasileiros Fábio e Fabrício pelo companheirismo, parceria e amizade incondicional.

À FAPESP pela bolsa de estudos e auxílio financeiro, indispensáveis para a culminação deste projeto, (PROCESSO: 2011/20041-8).

À Capes pela bolsa de estudos no início de meu doutorado.

Por fim, não teria como não agradecer, aos proprietários e cães que fizeram parte deste projeto, pelo apoio e confiança em mim, sem eles nada seria possível.

Muito Obrigado a Todos!

Sumário

CEUA - COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS	iii
RESUMO	iv
ABSTRACT	v
LISTA DE TABELAS	vi
LISTA DE FIGURAS	viii
1 INTRODUÇÃO E REVISÃO DA LITERATURA	1
2 JUSTIFICATIVA	6
3 OBJETIVOS	6
3.1 Objetivo geral	6
3.2 Objetivos específicos	6
4 MATERIAL E MÉTODOS	7
4.1 Considerações quanto à ética	7
4.2 Pacientes	7
4.3 Grupos	9
4.4 Procedimentos	10
4.4.1 Procedimentos pré-operatórios	10
4.4.2 Procedimentos anestésicos	11
4.4.3 Facoemulsificação	11
4.4.4 Procedimentos pós-operatórios	13
4.5 Protocolos de avaliação	14
4.5.1 Facoemulsificação	14
4.5.2 Avaliação clínica	14
4.5.3 Microscopia Especular	14
4.5.4 Fator de necrose tumoral alfa (TNF-α)	16
4.6 Tamanho amostral e análise estatística	16
5 RESULTADOS	17
5.1 Protocolos de avaliação	17
5.1.1 Facoemulsificação	17
5.1.2 Avaliação clínica	19
5.1.3 Microscopia Especular	23

	5.2.4 Fator de necrose tumoral alfa (TNF- α)	27
6	DISCUSSÃO	29
7	CONCLUSÕES	37
8	REFERÊNCIAS	38



UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
"JÚLIO DE MESQUITA FILHO"
Câmpus de Jaboticabal



CEUA – COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS

CERTIFICADO

Certificamos que o Protocolo nº 012762/14 do trabalho de pesquisa intitulado **"Efeitos do ácido ascórbico sobre o endotélio corneal e sobre o fator de necrose tumoral alfa (TNF- α) em cães submetidos à facoemulsificação"**, sob a responsabilidade do Prof. Dr. José Luiz Laus está de acordo com os Princípios Éticos na Experimentação Animal adotado pelo Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal (CONCEA) e foi aprovado pela COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS (CEUA), em reunião ordinária de 12 de agosto de 2014.

Jaboticabal, 12 de agosto de 2014.


Prof.^a Dr.^a Paola Castro Moraes
Coordenadora – CEUA

EFEITOS DO ÁCIDO ASCÓRBICO INTRACAMERAL SOBRE O ENDOTÉLIO CORNEAL E SOBRE O FATOR DE NECROSE TUMORAL ALFA (TNF- α), EM CÃES SUBMETIDOS À FACOEMULSIFICAÇÃO

RESUMO- A catarata situa-se entre as afecções oculares mais frequentes em cães. A facoemulsificação é o método que melhor se adéqua à terapia e o preferido entre os oftalmologistas. A celularidade do endotélio é condição a ser considerada para o sucesso da cirurgia, uma vez que lesões endoteliais podem induzir descompensação corneal permanente. Avaliou-se o papel antioxidante do ácido ascórbico intracameral sobre o endotélio corneal e sobre o fator de necrose tumoral alfa (TNF- α) expresso no humor aquoso, em cães submetidos à facoemulsificação. Utilizaram-se 40 olhos de 20 pacientes, machos ou fêmeas, com 7 a 12 anos, portando catarata senil bilateral. Conceberam-se dois grupos (n=20). Grupo 1 (G1), recebeu solução salina balanceada (BSS); Grupo 2 (G2), recebeu 0,001M de ácido ascórbico estéril diluído em BSS. O endotélio corneal foi avaliado à microscopia especular de não contato, antes e em diferentes momentos após a facoemulsificação. Avaliaram-se a densidade (células/mm²) e a área (mm²) celular, a espessura corneal (mm), a hexagonalidade e o coeficiente de variação do tamanho celular. O humor aquoso foi avaliado quanto à expressão do fator de necrose tumoral alfa (TNF- α). Valores de p iguais ou inferiores a 0,05 foram considerados significativos. Com relação à densidade de células endoteliais, ambos os grupos apresentaram perdas, porém essas foram menores no G2. Relativamente à espessura corneal, não houve diferença. A hexagonalidade diminuiu significativamente no pós-operatório imediato no G1. Ainda no G1, o coeficiente de variação do tamanho celular aumentou significativamente. Não se encontrou reação marcada do TNF- α em ambos os grupos. De consoante com os resultados obtidos, admiti-se que o ácido ascórbico contribuiu para se minimizarem perdas celulares, relativamente ao endotélio corneal na facoemulsificação.

Palavras chave: cão, catarata, ácido ascórbico, endotélio corneal, facoemulsificação, fator de necrose tumoral alfa (TNF- α).

EFFECTS OF INTRACAMERAL ASCORBIC ACID ON CORNEAL ENDOTHELIAL AND ON TUMOR NECROSIS FACTOR ALPHA (TNF-A) IN DOGS PHACOEMULSIFICATION

ABSTRACT- Cataract is among the most common eye diseases in dogs. Phacoemulsification is the method that best fits to therapy and a favorite among veterinary ophthalmologists. The cellularity of the corneal endothelium is considered to be a condition for the success of the surgery, since a permanent endothelial injury can induce corneal decompensation. The goal of this study was to evaluate the antioxidant effects of ascorbic acid on the corneal endothelium, as well as the expression of the tumor necrosis factor alpha (TNF- α) in the aqueous humor was evaluated of dogs submitted to phacoemulsification. It was used 40 eyes of 20 dogs, male or female, with 7 to 12 years, and bilateral senile cataracts. The dogs were separated into two groups (n = 20), differing only in the composition of the solution used to irrigate the eyes in the phacoemulsification. Group 1 (G1) received balanced salt solution (BSS) and Group 2 (G2) received sterile BSS containing 0.001 M ascorbic acid. The corneal endothelium was evaluated by non-contact specular microscopy before and at different times after phacoemulsification, in terms of cell density (cells/mm²), cell area (mm²), corneal thickness (mm), hexagonality, and coefficient of variation in cell size. The expression of TNF- α in the aqueous humor was measured by competitive enzyme immunoassay. P values equal to or less than 0.05 were considered significant. Regarding the density of endothelial cells, both groups showed losses, but these were lower in G2. There were no significant differences in corneal thickness (P>0.05). The hexagonality significantly reduced in the immediate postoperative of G1. Also in G1, the coefficient of variation in cell size increased. TNF- α expression was not observed in the aqueous humor in G1 and G2. According to the results, it can be assumed that ascorbic acid was able to minimize losses in endothelial cellularity arising from phacoemulsification

Keywords: Ascorbic acid, dog, corneal endothelium, phacoemulsification, tumor necrosis factor alpha (TNF- α)

LISTA DE TABELAS

- Tabela 1.** Identificação numeral de pacientes da espécie canina, segundo o grupo ao qual pertenceram, raça, sexo e idade. Serviço de Oftalmologia – Hospital Veterinário “Governador Laudo Natel”–FCAV– UNESP – Câmpus de Jaboticabal, 2014.....10
- Tabela 2.** Intensidade/escore de referenciais da avaliação clínica no G1 e no G2 em pacientes da espécie canina em M0 e em M1, M2, M3, M4, M5, M6. Serviço de Oftalmologia Veterinária, FCAV-UNESP, Câmpus de Jaboticabal, SP, Brasil, 2014.....21
- Tabela 3.** Valores de “flare” (ph/ms) no G1 e no G2 em pacientes da espécie canina em M0 e em M1, M2, M3, M4, M5, M6. Serviço de Oftalmologia Veterinária, FCAV-UNESP, Câmpus de Jaboticabal, SP, Brasil, 2014....22
- Tabela 4.** Valores da densidade celular endotelial (células/mm²) no G1 e no G2, em pacientes da espécie canina em M0 e em M1, M2, M3, M4, M5, M6. Serviço de Oftalmologia Veterinária, FCAV-UNESP, Câmpus de Jaboticabal, SP, Brasil, 2014.....23
- Tabela 5.** Valores da densidade endotelial (células/mm²), relativamente à perda proporcional das células no G1 e no G2 em pacientes da espécie canina em M0 e em M1, M2, M3, M4, M5, M6. Serviço de Oftalmologia Veterinária, FCAV-UNESP, Câmpus de Jaboticabal, SP, Brasil, 2014..24
- Tabela 6.** Valores da área (mm²) das células endoteliais no G1 e no G2 em pacientes da espécie canina em M0 e em M1, M2, M3, M4, M5, M6. Serviço de Oftalmologia Veterinária, FCAV-UNESP, Câmpus de Jaboticabal, SP, Brasil, 2014.....25

- Tabela 7.** Valores da espessura corneal (mm) no G1 e no G2, em pacientes da espécie canina em M0 e em M1, M2, M3, M4, M5, M6. Serviço de Oftalmologia Veterinária, FCAV-UNESP, Câmpus de Jaboticabal, SP, Brasil, 2014.....25
- Tabela 8.** Valores de hexagonalidade celular endotelial (%) no G1 e no G2, em pacientes da espécie canina em M0 e em M1, M2, M3, M4, M5, M6. Serviço de Oftalmologia Veterinária, FCAV-UNESP, Câmpus de Jaboticabal, SP, Brasil, 2014.....26

LISTA DE FIGURAS

- Figura 1.** Imagem fotográfica colhida de paciente da espécie canina, submetido à ultrassonografia ocular transcorneal, no pré-operatório. Em A, detalhe da probe de 20 MHz sobre olho do paciente para obtenção da imagem. Em B, imagem ultrassonográfica em modo A e B. Serviço de Oftalmologia Veterinária, FCAV-UNESP, Câmpus de Jaboticabal, SP, Brasil, 2014.....8
- Figura 2.** Imagem mostrando a representação gráfica do traçado eletrorretinográfico obtida através de software *Ergview 2.1*. Onda em fase escura de alta intensidade (avaliação mista de cones e bastonetes) colhida de paciente da espécie canina. Serviço de Oftalmologia Veterinária, FCAV-UNESP, Câmpus de Jaboticabal, SP, Brasil, 2014.....9
- Figura 3.** Imagens fotográficas colhidas de pacientes da espécie canina, mostrando etapas da capsulorrexia curvilínea contínua (CCC). Em A e em B, incisão na cápsula anterior com auxílio de bisturi angulado 3,2 mm. Em C, D, e E, capsulorrexe com pinça Utrata. Em F, resultado final. Serviço de Oftalmologia Veterinária, FCAV-UNESP, Câmpus de Jaboticabal, SP, Brasil, 2014.....12
- Figura 4.** Imagem fotográfica de endotélio corneal e de referenciais de paciente, da espécie canina, à microscopia especular de não contato, em *Software Cell Count*. Serviço de Oftalmologia Veterinária, FCAV-UNESP, Câmpus de Jaboticabal, SP, Brasil, 2014.....15
- Figura 5.** Imagens fotográficas colhidas de pacientes da espécie canina do G1 e do G2, mostrando olhos com opacidade da cápsula posterior (setas). Em A, olho do indivíduo do G1 no pós-operatório imediato. Em B, olho de indivíduo do G2 em M5. Serviço de Oftalmologia Veterinária, FCAV-UNESP, Câmpus de Jaboticabal, SP, Brasil, 2014.....18

- Figura 6.** Imagens fotográficas colhidas de pacientes da espécie canina do G1 e do G2, mostrando olhos que receberam lentes acrílicas dobráveis (setas), no pós-operatório imediato. Em A, olho de indivíduo do G1. Em B, olho de indivíduo do G2. Serviço de Oftalmologia Veterinária, FCAV-UNESP, Câmpus de Jaboticabal, SP, Brasil, 2014.....18
- Figura 7.** Imagens fotográficas colhidas de pacientes da espécie canina do G1, em M4. Observar edema de córnea difuso de manifestação discreta em olho esquerdo de um dos indivíduos (A) (seta). Edema corneal axial (seta preta), e na área da incisão (seta amarela), em olho esquerdo de outro (B). Serviço de Oftalmologia Veterinária, FCAV-UNESP, Câmpus de Jaboticabal, SP, Brasil, 2014.....20
- Figura 8.** Valores médios e erro padrão da média do coeficiente de variação (%), em pacientes da espécie canina do G1 e do G2 em M0 e em M1, M2, M3, M4, M5 e M6. Serviço de Oftalmologia Veterinária, FCAV-UNESP, Câmpus de Jaboticabal, SP, Brasil, 2014.....27
- Figura 9.** Valores médios e desvio padrão da média do Fator de Necrose Tumoral Alfa (TNF- α) (pg/mL), em pacientes da espécie canina do G1 e do G2 no instante da incisão corneal principal (C1) e aos cinco minutos da facoemulsificação (C2). Serviço de Oftalmologia Veterinária, FCAV-UNESP, Câmpus de Jaboticabal, SP, Brasil, 2014.....28

1 INTRODUÇÃO E REVISÃO DA LITERATURA

A catarata, que acomete animais mestiços e de raças puras (WHITLEY et al., 1993; GLOVER; CONSTANTINESCU, 1997; GELATT, 2007), pode ser definida como a opacidade do cristalino, da sua cápsula ou de ambos decorrente de alterações na arquitetura lamelar de suas fibras ou da cápsula lenticular (BARNETT, 1985; JOHNSON; MILLER, 1990; GLOVER; CONSTANTINESCU, 1997; GELATT, 2007; CROIX, 2008).

Cataratas podem ser classificadas levando-se em consideração referenciais, como a idade do paciente (WHITLEY et al., 1993a; GELATT, 2007), localização anatômica da lesão, o estágio de desenvolvimento e as causas suscitantes (BARNETT, 1985; FISCHER, 1989; DZIEZYC, 1990; JOHNSON; MILLER, 1990; WHITLEY et al., 1993a; GLOVER; CONSTANTINESCU, 1997; GELATT, 2007).

Diferentes condições têm sido imputadas, mas outras permanecem desconhecidas (BARNETT, 1985; DAVISON; NELMS, 2007). Estudos apontam a radiação ultravioleta e a ação de espécies reativas de oxigênio (ERO), com estresse oxidativo (SIES, 1991; BARROS et al., 1999), como sendo as causas mais frequentes. Percebeu-se que a concentração de proteínas alteradas por processos oxidativos aumenta com a idade e é significativamente maior em lentes com catarata (BOSCIA et al., 2000; WILLIAMS; MUNDAY, 2006).

Relativamente à localização anatômica, as cataratas são classificadas em nucleares, corticais e capsulares. Quanto ao grau de desenvolvimento, podem ser incipientes, imaturas, maduras e hiper maduras. Sobre a condição suscitante, podem ser hereditárias, nutricionais, tóxicas, metabólicas e traumáticas (BARNETT, 1985; FISCHER, 1989; DZIEZYC, 1990; JOHNSON; MILLER, 1990; WHITLEY et al., 1993a; GLOVER; CONSTANTINESCU, 1997). Cataratas juvenis são mais comuns nas raças poodle, cocker spaniel, schnauzer e no miniatura pinscher, em que, particularmente, são frequentemente de caráter hereditário (STADES et al., 1999).

Classificam-se as cataratas em primárias e em secundárias, sendo, as primárias, aquelas em que no olho acometido não há sinais de doença anterior e a lente é a única estrutura afetada. As secundárias têm, como causa de base, alterações em outra estrutura ocular ou à distância (BARNETT, 1985).

Cataratas hereditárias primárias manifestam-se nas primeiras semanas ou meses de vida, e são progressivas. Nem todas, porém, culminam com o acometimento de toda lente. Quase sempre são bilaterais, mas não necessariamente simétricas. Cataratas hereditárias secundárias estão constantemente associadas à persistência da membrana pupilar, à atrofia progressiva da retina, à luxação da lente ou ao glaucoma primário (BARNETT, 1985; BARNETT, 1988).

Alternativas terapêuticas, de cunho medicamentoso, já foram propostas. Por exemplo, a utilização da superóxido dismutase e do ascorbato citrato de zinco. Estudos, todavia, revelaram que tais fármacos não oferecem benefícios. Os efeitos da administração local da n-acetil-carnosina, em cães com catarata, foram investigados. Demonstrou-se, por ação da substância, discreta diminuição da opacificação da lente em cataratas maduras (WILLIAMS; MUNDAY, 2006).

Como único e efetivo, admite-se o tratamento cirúrgico, cujo primeiro relato em cães se deu na Europa, por Moller em 1886, e posteriormente, Berlin em 1887. Não obstante à iniciativa, ela só se popularizou, como prática em medicina veterinária, a partir da década de 1950 (WHITLEY et al., 1993a).

A facectomia intracapsular foi abandonada desde há muito, por suas intercorrências, sendo, hoje, reservada a casos de luxação ou de subluxação da lente (WILLIAMS et al., 1996). A extracapsular predominou por anos, mas os resultados jamais atenderam ao ansiado (DZIEZYC, 1990; WHITLEY et al., 1993). Entre as causas da significativa inflamação que decorre da aplicação de qualquer dos dois procedimentos, encontram-se particularidades não só da espécie e do paciente, mas das técnicas, que favorecem a exposição de quantitativos variáveis de proteínas da lente, suscitando uveítes crônicas (DZIEZYC, 1990).

Técnicas cirúrgicas para remoção da catarata foram modificadas, para se aumentarem os percentis de sucesso, com mínimas intercorrências (DZIEZYC, 1990; DAVIDSON et al., 1991; WHITLEY et al., 1993b; WILLIAMS et al., 1996).

Atualmente, o procedimento de escolha é a facoemulsificação, que consiste na fragmentação ultrassônica e na aspiração do material emulsificado, por pequena incisão corneal de cerca de 3,0 mm (DAVIDSON et al., 1991; NASISSE et al., 1991; BISTNER, 1992; WILLIAMS et al., 1996; GLOVER; CONSTANTINESCU, 1997;

JUNG et al., 2013). Introduzida por Kelman em 1967, ganhou notoriedade (WHITLEY et al., 1993a; CROIX, 2008) e, nos últimos anos, a oftalmologia veterinária e a médica dela têm se beneficiado, pelos excelentes resultados que oferece (WILLIAMS et al., 1996; GLOVER; CONSTANTINESCU, 1997). Os efeitos, notadamente melhores, advêm de um procedimento cirúrgico rápido, da pequena incisão corneal e da reparação tecidual precoce, como já comentado. Adjunto, da menor inflamação pós-operatória, da melhor aspiração das massas corticais e da não descompressão da câmara anterior no curso da intervenção (DZIEZYC, 1990).

Dentre as complicações decorrentes, interpodem-se as uveítes, menos intensas, comparativamente a outras técnicas, o glaucoma pós-operatório, os descolamentos de retina (SIGLE; NASISSE, 2006), a ruptura da cápsula posterior da lente (JOHNSTONE; WARD, 2005) e as alterações corneais decorrentes de danos ao endotélio (HULL, 1990; MOORE et al., 2003; RUBOWITZ et al., 2003).

A transparência corneal depende da ausência de vasos sanguíneos, de pigmentos, de um epitélio superficial anterior não queratinizado, da organização das lamelas de colágeno no estroma (GELLAT, 2003) e da deturgescência (TEIXEIRA et al., 2009).

O endotélio é a camada mais interna da córnea. Suas células atuam como bomba ativa, para remover e transportar fluidos, regulando a hidratação da matriz colágena estromal. Células endoteliais normalmente exibem padrão em mosaico hexagonal, dispostas sobre a membrana de Descemet (GELLAT, 2003; RODRIGUES et al., 2006).

Com o avançar da idade, o quantitativo de células endoteliais diminui (RODRIGUES et al., 2006). Traumas cirúrgicos, uveítes e glaucoma corroboram (SLATTER, 2005). Andrade et al. (2010) ratificaram que a densidade de células endoteliais da córnea central é maior em cães jovens, enquanto maior o percentual de células hexagonais é visto em cães adultos. O valor normal da densidade das células endoteliais em seres humanos é de, aproximadamente, 2500 células/mm². Decorrem descompensação e edema da córnea quando os valores diminuem para 500 células/mm² ou menos (CAMERON; POYER; AUST, 2001). Mostrou-se que a densidade endotelial em cães menores de um ano é de, aproximadamente, 2600 células/mm², e que esses valores diminuem entre 1 a 9 anos, para 2300 a 2500

células/mm². Outrossim, que acima de 10 anos eles caem para 1900 células/mm² (GWIN et al., 1982). Pigatto et al. (2006) observaram, em cães com 6 anos de idade, densidade endotelial de 2555 células/mm². A descompensação corneal e a inabilidade em remover água do estroma ocorrem quando a densidade das células endoteliais diminui para valores inferiores a 800 células/mm² (SLATTER, 2005).

O endotélio corneal pode ser avaliado à microscopia especular (YEE et al., 1987; ABIB; BARRETO, 2001; ANDREW et al., 2002; ANDRADE et al., 2011). Com a técnica, identificam-se a densidade e a forma das células *in vivo* ou em *ex vivo*, sem que se produzam artefatos ou danos na córnea. Trata-se de método não invasivo (PIGATTO et al., 2006). Em córneas normais, o endotélio é contínuo e as células, que apresentam pleomorfismo, são, na maioria, hexagonais (68%), podendo, ainda, apresentar cinco (17%), sete (11%), quatro (2%) e oito lados (2%). Em condições normais, não há diferenças entre olhos direito e esquerdo de um mesmo indivíduo. Afirma-se que células endoteliais centrais e periféricas não diferem, quanto à forma, em indivíduos hígidos (PIGATTO et al., 2008).

A espessura corneal varia entre espécies, raças, indivíduos e quanto à localização topográfica do seu habitat. Em geral, nos animais domésticos, ela não ultrapassa a 1,5 mm, estando entre 0,60 a 1,5 mm (GUM et al., 1999). Segundo Andrade et al. (2010), a espessura da córnea é de 0,51 ± 0,01 mm em cães jovens e de 0,57 ± 0,02 mm nos adultos. Em leporinos, ela varia de 0,37 a 0,43 mm (CHAN; PAYOR; HOLDEN, 1983).

Desde a introdução de dispositivos médicos de alta energia, na semiologia e na terapêutica oftálmicas, tem-se a preocupação e o interesse pelos efeitos que decorrem da geração de radicais livres (TOPAZ et al., 2002; ROBOWITZ et al., 2003). Estudos sobre intercorrências nocivas induzidas pela facoemulsificação, em células endoteliais da córnea, mostraram que grande parte dos danos é mediada por radicais livres. Radicais hidroxila foram encontrados na câmara anterior, no curso de procedimentos cirúrgicos. Verificou-se que eles interagem com quase todos os tipos de molécula (açúcares, aminoácidos, fosfolipídios e nucleotídeos) em células vivas (TAKAHASHI et al., 2002).

Publicações enfatizaram os efeitos de antioxidantes sobre células endoteliais, na facoemulsificação (WERBLIN, 1993; HAYASHI et al., 1996; RUBOWITZ et al.,

2003). Holst et al. (1993), por exemplo, mostraram diminuição do dano endotelial pela ação da superóxido dismutase adicionada ao *buffer* de irrigação, na facoemulsificação em coelhos. Rubowitz et al. (2003) observaram o mesmo quando, à solução, adicionaram 0,001 M de ácido ascórbico, na mesma espécie. Afirmou-se que o ácido ascórbico desempenha papel na proteção das células endoteliais contra espécies reativas de oxigênio geradas na câmara anterior (VARMA, 1991; BARROS et al., 1999; BIAGGI et al., 2006).

2 JUSTIFICATIVA

Desde a introdução da energia ultrassônica na cirurgia da catarata, efeitos nocivos sobre o endotélio corneal têm sido notificados. Admite-se que parte do dano é mediada por radicais livres, o que justificaria implementarem-se investigações relativamente ao tema.

3 OBJETIVOS

3.1 Objetivo geral

Avaliar o papel do ácido ascórbico, quanto à preservação da celularidade endotelial corneal, na facoemulsificação em cães.

3.2 Objetivos Específicos

Monitorar a evolução pós-operatória de olhos de cães recebedores do ácido ascórbico estéril diluído, em 500mL de solução salina balanceada (BSS), como solução de irrigação na facoemulsificação, comparativamente à sua não utilização, na facoemulsificação, quali-quantificando-se a inflamação e intercorrências. Adjunto, avaliarem-se os danos produzidos ao endotélio corneal empregando-se a microscopia especular de não contato. Finalmente quantificar-se o fator de necrose tumoral alfa (TNF- α) expresso no humor aquoso.

4 MATERIAL E MÉTODOS

4.1 Considerações quanto à ética

O projeto foi realizado sob a expressa autorização dos tutores dos pacientes e da Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA) da FCAV - UNESP - Câmpus de Jaboticabal (Protocolo 012762/14). Por oportuno ressaltar que cuidados bioéticos, relativamente às normas da *Association for Research in Vision and Ophthalmology - ARVO (National Institutes of Health Publications No 85-23: Revised 1985)* (GOLDIM,1995), foram obedecidos.

4.2 Pacientes

Foram estudados 40 olhos de 20 cães, com 7 a 12 anos de idade, sendo sete fêmeas e três machos, para o grupo um (G1) e o mesmo para o grupo dois (G2), portando catarata senil bilateral. Empregaram-se, na seleção dos pacientes, os testes dos reflexos, o da lágrima de Schirmer¹, a biomicroscopia com lâmpada em fenda², a gonioscopia³ e a tonometria de aplanção⁴ em córneas previamente dessensibilizadas com proximetacaína 0,5%⁵, a oftalmoscopia binocular indireta⁶ e a monocular direta⁷ posteriormente à dilatação pupilar com ciclopégico⁸, e o teste de tingimento pela fluoresceína sódica⁹.

Empregaram-se testes subjetivos para avaliação da percepção visual, como o do labirinto, do algodão e do ofuscamento, somados às observações prestadas pelos tutores dos animais, quanto à deambulação e ao desvio de objetos.

Indivíduos com catarata madura, sem afecções concorrentes e sem sequelas de inflamação, compuseram a pesquisa.

Para a avaliação das condições clínicas gerais, empreitou-se exame físico, contagem global de células sanguíneas, avaliação das funções hepática e renal e da

¹ Teste de Schirmer – Ophthalmos, São Paulo, Brasil.

² SL-450 – Nidek Co, Japan.

³ Koeppe Medium Diagnostic Lens 18mm – Ocular Instruments Inc., USA.

⁴ Tonopen XL – Mentor Inc, Norwell.

⁵ Anestalcon – Alcon Laboratórios do Brasil Ltda.

⁶ OHC – 3.3 – Opto Eletrônica S.A., São Carlos, SP, Brasil.

⁷ 7100 – C- Welch Allyn, Ontário, Canadá.

⁸ Mydriacyl – Alcon Laboratórios do Brasil Ltda.

⁹ Fluoresceína strips - Ophthalmos, São Paulo, Brasil.

glicemia. Pacientes pré-selecionados foram submetidos à ultrassonografia ocular¹⁰ nos modos A e B (Figura 1). Relativamente ao modo B, o foram com o fito de se avaliar o tamanho da lente e visando-se a estimar o diâmetro da lente intra-ocular (LIOs) a ser utilizada. A eletrorretinografia¹¹ em *flash* e em *flicker*, de consoante com o *Dog Diagnostic Protocol* (Narfström et al., 2002), foi utilizada a fim de se identificarem retinopatias concorrentes, selecionando apenas pacientes eletrorretinograficamente hígidos (Figura 2).

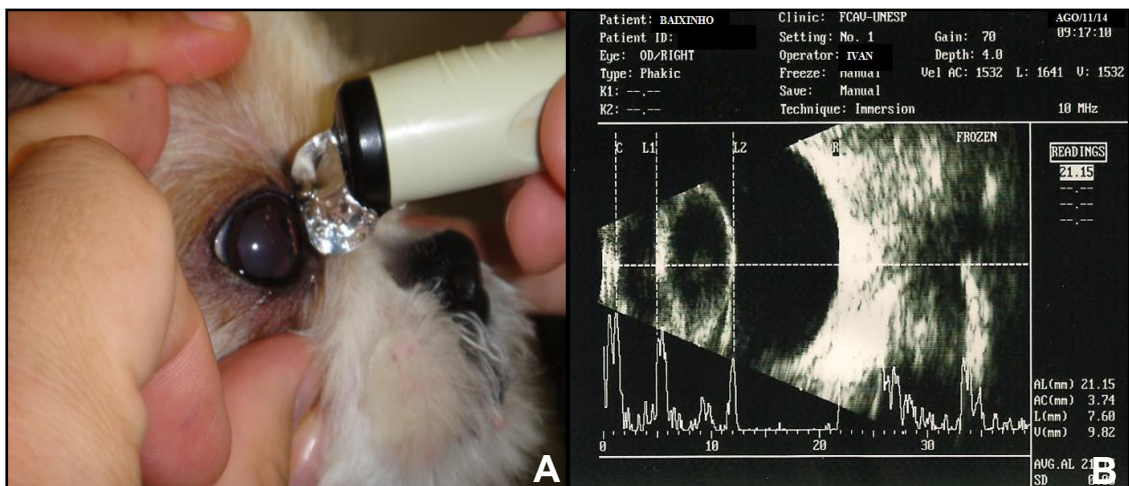


Figura 1. Imagem fotográfica colhida de paciente da espécie canina, submetido à ultrassonografia ocular transcorneal, no pré-operatório. Em A, detalhe da probe de 20MHz sobre olho do paciente para obtenção da imagem. Em B, imagem ultrassonográfica em modo A e B. Serviço de Oftalmologia Veterinária, FCAV-UNESP, Câmpus de Jaboticabal, SP, Brasil, 2014.

¹⁰ UltraScan Imaging System – Alcon do Brasil S.A.

¹¹ Handheld Multi-species ERG - Retvetcorp

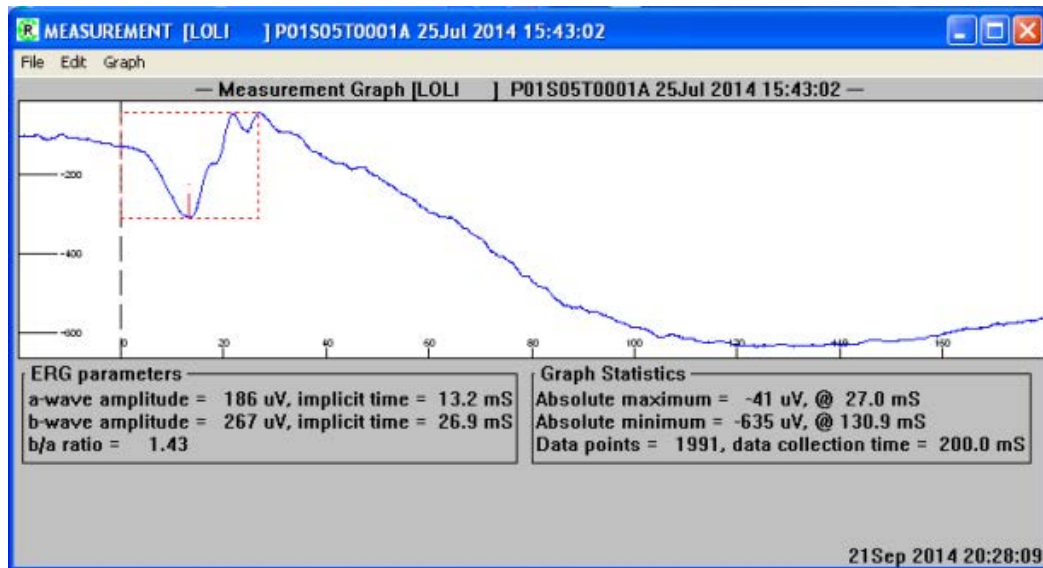


Figura 2. Imagem mostrando a representação gráfica do traçado eletrorretinográfico obtida através de software *Ergview* 2.1. Onda em fase escura de alta intensidade (avaliação mista de cones e bastonetes) colhida de paciente da espécie canina. Serviço de Oftalmologia Veterinária, FCAV-UNESP, Câmpus de Jaboticabal, SP, Brasil, 2014.

4.3 Grupos

Pacientes que atenderam aos critérios de inclusão foram aleatoriamente separados em dois grupos (n=20), diferindo só na composição da solução de irrigação aplicada para os olhos na facoemulsificação. Grupo 1 (G1), solução salina balanceada (BSS)¹²; e Grupo 2 (G2), BSS com a implementação de 0,001M de ácido ascórbico estéril¹³ (RUBOWITZ et al., 2003) (Tabela 1).

¹² Balanced Saline Solution (BSS) 500mL bottle – Alcon do Brasil S.A.

¹³ Ácido Áscorbico 0.001M, Cristália, São Carlos, São Paulo

Tabela 1. Identificação numeral de pacientes da espécie canina, segundo o grupo ao qual pertenceram, raça, sexo e idade. Serviço de Oftalmologia – Hospital Veterinário “Governador Laudo Natel” – FCAV – UNESP – Câmpus de Jaboticabal, 2014.

GRUPO	PACIENTE	RAÇA	SEXO	IDADE	PESO
G1	1	SRD	F	7	8,15
	2	Ihasa Apso	F	7	6,5
	3	Beagle	F	9	14,5
	4	Poodle	F	11	4,5
	5	Poodle	F	7	7,9
	6	SRD	M	10	7
	7	Poodle	M	9	6,2
	8	Schnauzer	F	9	7
	9	Poodle	M	10	5,9
	10	yorkshire terrier	F	12	5
G2	1	Poodle	F	11	12
	2	Poodle	F	9	7,2
	3	Poodle	M	8	7,6
	4	SRD	F	11	6,1
	5	Pinscher	F	11	4,2
	6	Poodle	F	8	6,8
	7	Poodle	F	12	3,5
	8	Poodle	M	9	8,3
	9	Pinscher	F	10	4,4
	10	Ihasa apso	M	12	7,2

idade, em anos; peso, em quilogramas.

SRD- sem raça definida.

4.4 Procedimentos

4.4.1 Procedimentos pré-operatórios

Tiveram início aos sete dias da intervenção, instilando-se colírio à base de dexametasona associada à tobramicina¹⁴, em intervalos regulares de seis horas. Empregou-se colírio de sulfato de atropina 1%¹⁵ trinta minutos prévios ao procedimento cirúrgico. Utilizou-se a flunixinina meglumina¹⁶, em dose única de 1 mg/kg, pela via intramuscular, trinta minutos prévios ao ato operatório.

¹⁴ Tobradex® - Alcon do Brasil SA., São Paulo, Brasil.

¹⁵ Atropina 1% - Allergan Produtos Farmacêuticos, São Paulo, Brasil.

¹⁶ Banamine – Schering Plough, São Paulo, Brasil.

4.4.2 Procedimentos anestésicos

Após jejum alimentar e hídrico de 12 e seis horas, respectivamente, aos pacientes impôs-se a pré-anestesia com meperidina¹⁷, na dose de 0,005mg/kg, pela via intravenosa, associada a diazepam¹⁸, na dose de 0,3mg/kg. Decorridos quinze minutos, realizou-se a indução da anestesia geral com propofol¹⁹, na dose média de 5mg/kg, pela via intravenosa. Para a manutenção da anestesia, empregou-se anestésico halogenado²⁰, vaporizado em oxigênio, em circuito semi-fechado de reinalação de gases.

4.4.3 Facoemulsificação

No curso da intervenção, esta realizada por um único cirurgião, os indivíduos foram mantidos em decúbito dorsal. A área operatória foi tricotomizada. Para a antisepsia, empregou-se solução aquosa de iodopirrolidona²¹ diluída na proporção 1:1, em solução salina²², nas pálpebras, e a mesma solução, na proporção 1:50, na superfície ocular.

Após a colocação dos campos cirúrgicos, realizou-se a cantotomia, quando necessária, e a blefarostase. Visando-se ao melhor posicionamento do olho e a diminuir a tensão da musculatura extra-ocular, procedeu-se ao bloqueio neuromuscular com brometo de rocurônio²³, na dose de 0,3mg/kg, pela via intravenosa, em ventilação assistida. A técnica cirúrgica adotada obrigou a duas incisões, (principal e auxiliar), em córnea clara a, aproximadamente, 1,0 mm do limbo. A principal foi tunelizada, em posição de 11 horas, com bisturi angulado 3,2mm²⁴. A auxiliar, situada em posição de duas horas, foi preparada com auxílio de bisturi reto de 15 graus²⁵. A câmara anterior foi preenchida com corante de cápsula²⁶. Em ato contínuo, foi lavada com solução salina balanceada (BSS), para a remoção de remanescentes do corante. Como dispositivos visco-cirúrgicos oftálmicos (DVOs),

¹⁷ Fentanest – Cristália, Itapira, SP, Brasil.

¹⁸ Diazepamil – Hipolabor, Belo Horizonte, MG, Brasil.

¹⁹ Profolen – Blausiegel, Cotia, São Paulo, Brasil.

²⁰ Isoforine – Cristália Itapira, São Paulo, Brasil.

²¹ Laboriodine PVPI tópico – Laboratórios Biosintética, São Paulo, Brasil

²² Solução fisiológica – Cloreto de sódio 0,9% - Baxter Hospitalar, São Paulo, Brasil.

²³ Esmeron – Organos do Brasil, São Paulo, Brasil.

²⁴ Surgical knife 3.2mm – Alcon do Brasil AS., São Paulo, Brasil.

²⁵ Surgical Knife 15° - Alcon do Brasil AS., São Paulo.

²⁶ Azul de tripan® - Ophthalmos, São Paulo.

utilizaram-se sulfato de condroitina 4%, hialuronato de sódio 3%²⁷, e metilcelulose 2%²⁸, em técnica “soft-shell” proposta por Arshinoff (1999). Empregando-se bisturi angulado 3,2 mm²³, fez-se a incisão na cápsula anterior, seguida de capsulorrexe curvilínea contínua (CCC), com pinça de Utrata²⁹ (Figura 3). Empregando-se seringa acoplada a uma cânula de irrigação e BSS, procedeu-se à hidrodissociação do núcleo.

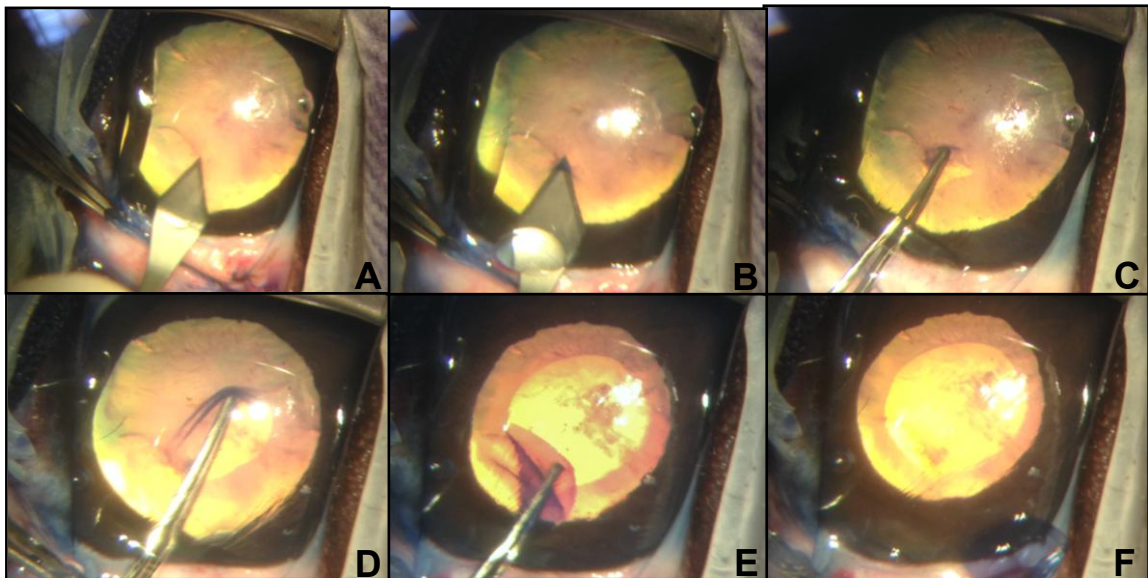


Figura 3. Imagens fotográficas colhidas de pacientes da espécie canina, mostrando etapas da capsulorrexis curvilínea contínua (CCC). Em A e em B, incisão na cápsula anterior com auxílio de bisturi angulado 3,2 mm. Em C, D, e E, capsulorrexe com pinça Utrata. Em F, resultado final. Serviço de Oftalmologia Veterinária, FCAV-UNESP, Câmpus de Jaboticabal, SP, Brasil, 2014.

²⁷ Viscoat - Alcon do Brasil AS., São Paulo.

²⁸ Metilcelulose 2% - Ophthalmos, São Paulo.

²⁹ Capsulorhexis Forceps, Ultrata, Steel Inox – Guarulhos, SP

Para as facectomias, empregou-se facoemulsificador³⁰ e solução de irrigação (BSS) acrescida de 1 mL de epinefrina³¹ 1:1000 e de 1 mL de heparina sódica³². No G2, acresceu-se também 0,001M de ácido ascórbico estéril. Para a aspiração das massas corticais e da substância viscoelástica remanescentes, utilizou-se a função irrigação e aspiração do facoemulsificador.

Empregou-se lente acrílica dobrável³³, em todos os pacientes, posicionada no saco capsular, com a porção óptica centralizada e as hápticas inseridas no seu equador. Utilizou-se, análogo de prostaglandinas³⁴ no pós-operatório imediato, em dose única, a fim de produzir miose, diminuindo-se riscos de deslocamento da lente.

A incisão corneal foi suturada com pontos simples separados, não-perfurantes totais, empregando-se fio absorvível 9-0.³⁵ A câmara anterior foi preenchida com BSS. Nos casos em que a cantotomia fora realizada, para a sutura empregaram-se pontos simples separados com fio inabsorvível monofilamentado 4-0.³⁶

4.4.4 Procedimentos pós-operatórios

Adotou-se prednisona³⁷, por via oral, na dose de 1mg/Kg, a intervalos de 24 horas, por 15 dias consecutivos, com redução gradual da dose nos 15 dias subsequentes. Por via local, utilizou-se uma gota de dexametasona associada à tobramicina¹³, a cada quatro horas, por sete dias e a seguir a cada seis horas, por 21 dias mínimos; diclofenaco de sódio³⁸, uma gota a cada seis horas, por 30 dias; e brinzolamida 1%³⁹, uma gota a intervalos de 12 horas, por sete dias. Em pacientes com aumento transitório da pressão ocular (PO), empregou-se brinzolamida³⁹, uma gota a cada 8 horas por 7 dias mínimos. Todos os pacientes foram mantidos com colar protetor.

³⁰Facoemulsificador Universal II – Alcon do Brasil S.A.

³¹ Epinefrina – Cristália, Itapira, SP, Brasil.

³² Heparina sódica – Ariston Ltda, São Paulo, Brasil

³³ 30-V 12,0/ 30-V 14,0 –Acrivet, Hennigsdorf, Germany

³⁴ Travatan – Latanoprost 0,04mg/ml – Alcon do Brasil S.A.

³⁵ Mononylon 9-0 – Ethicon, São Paulo, Brasil.

³⁶ Mononylon 4-0 – Ethicon, São Paulo, Brasil

³⁷ Meticorten - Schering Plough, São Paulo, Brasil.

³⁸ Still – Allergan Produtos Farmacêuticos.

³⁹ Azopt- Alcon Laboratórios do Brasil Ltda, São Paulo, Brasil.

4.5 Protocolos de avaliação

4.5.1 Facoemulsificação

Referenciais de cada ato cirúrgico, relativamente ao tempo de ultrassom (segundos), poder de ultrassom (%), vácuo (mmHg), fluxo de aspiração (cc/min), quantitativo de BSS e intercorrências cirúrgicas foram contabilizados. Graus de dificuldade quanto à incisão principal, incisão auxiliar, capsulorrexe, hidrodissociação, nucleodissociação, facoemulsificação, implantação da lente e sutura corneal, foram quali-quantificados, segundo a escala *Nihill*, discreto, moderado e severo (ANDRADE et al., 2010).

4.5.2 Avaliação clínica

As avaliações foram conduzidas anteriormente ao procedimento cirúrgico (M0), imediatamente a ele (M1) e aos sete (M2), 14 (M3), 28 (M4), 60 (M5) e 90 (M6) dias de pós-operatório.

Avaliaram-se o blefarospasmo, congestão, edema corneal, quemose, coloração e aspecto da íris, sinéquias, presenças de fibrina ou de membranas na câmara anterior e de alterações vítreo-retinianas, “*flare*” clínico e por flaremetria⁴⁰. Empregou-se critério subjetivo quali-quantitativo, em escala de 0 a 4, sendo 0 = ausência de manifestação do evento, 1 = manifestação discreta, 2 = manifestação moderada, 3 = manifestação intensa, 4 = manifestação grave (SAMPAIO, 2004). A PO foi avaliada em cada um dos momentos.

Testes subjetivos para avaliação da percepção visual, como o do labirinto, do algodão e do ofuscamento, somados às observações prestadas pelos tutores dos animais, quanto à deambulação e ao desvio de objetos, no pós-operatório, foram também considerados.

4.5.3 Microscopia Especular

A microscopia especular⁴¹ foi realizada na região central da córnea. Empregou-se contenção manual delicada. Para cada olho, três medidas foram realizadas e o valor médio foi calculado contabilizando-se 50 células em cada

⁴⁰ FC-2000 Laser Flare Meter – Kowa, Japan

⁴¹ Specular microscope SP-3000 P[®], Topcom corporation, Japão.

avaliação. As avaliações foram feitas anteriormente ao procedimento cirúrgico (M_0), imediatamente a ele (M_1) e aos dias sete (M_2), 14 (M_3), 28 (M_4), 60 (M_5) e 90 (M_6). Estudaram-se a densidade das células endoteliais (DC; células/mm²), a área das células endoteliais (mm²), bem como espessura corneal (mm), a hexagonalidade e o coeficiente de variação do tamanho celular. Valores obtidos foram transferidos para um *Software Cell Count* (Figura 4).

Valores de densidade das células endoteliais foram utilizados para calcular-se a diferença entre as suas medias (DM = DC pré-operatório – DC pós-operatório; células/mm²) e as mudanças na contagem [MC = (DM / DC pré-operatório) x 100; %] das células, comparando-se proporções.

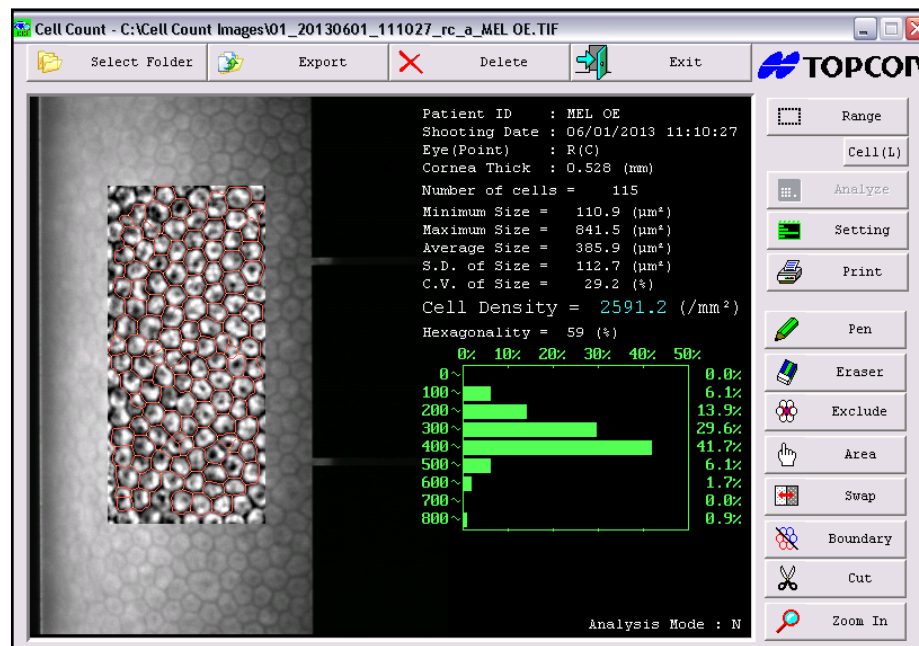


Figura 4. Imagem fotográfica de endotélio corneal e de referenciais de paciente, da espécie canina, à microscopia especular de não contato, em *Software Cell Count*. Serviço de Oftalmologia Veterinária, FCAV-UNESP, Câmpus de Jaboticabal, SP, Brasil, 2014.

4.5.4 Fator de necrose tumoral alfa (TNF- α)

O quantitativo de TNF- α , no humor aquoso, foi avaliado por imunoenensaio competitivo enzimático, empregando-se protocolo do fabricante⁴². Aproximadamente 0,5 mL de humor aquoso (HA) foi colhido, por paracentese da câmara anterior, no instante da incisão corneal principal (C1) e decorridos cinco minutos do procedimento cirúrgico (C2). As amostras foram acondicionadas em criotubos estéreis e preservadas a -70°C, até o momento do imunoenensaio. As absorbâncias foram lidas em espectrofotômetro de microplaca⁴³ empregando monocromador com comprimento de onda de 450 nm.

4.6 Tamanho amostral e análise estatística

O tamanho da amostra atendeu a critérios estabelecidos por pesquisadores do Departamento de Ciências Exatas da Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias da Universidade Estadual Paulista (FCAV/UNESP), Câmpus de Jaboticabal. Empregou-se a fórmula: $n = [Z\alpha/2\delta/d]^2$, sendo “d” fixado a um erro de estimativa de 5%; “ $Z\alpha/2$ ”, de valor fixo obtido em tabela de distribuição normal, com grau de confiança $1-\alpha=95\%$; e “ δ ”, correspondente ao desvios padrão de resultados prévios. Os dados foram agrupados por momentos, de acordo com o tempo cirúrgico. Projeções de valores médios e dos desvios padrão foram calculadas ajustando-se os modelos das variáveis estudadas.

Parâmetros de microscopia especular foram avaliados empregando-se ANOVA não paramétrica para Medidas Repetidas, de acordo com teste de normalidade Kolmogorov-Smirnov (MONTIANI-FERREIRA et al., 2004). Posteriormente, eles foram avaliados empregando-se *post-hock test* em *software* estatístico⁴⁴. Variáveis clínicas qualitativas (escores) foram avaliadas empregando-se odds ratio e teste exato de Fisher. Achados relativos ao TNF- α , foram confrontados empregando-se o teste *t* Student (não pareado). Valores de P iguais ou inferiores a 0,05 foram considerados significativos em todos os testes.

⁴²Canine TNF-alpha Quantikine Elisa Kit® R&d system USA

⁴³ Microplate Reader MRX TC Plus, Dynex Technology

⁴⁴ Systat Software inc®, San Jose, California, USA

5 RESULTADOS

5.1 Protocolos de avaliação

5.1.1 Facoemulsificação

Os parâmetros, quanto ao tempo de ultrassom, foram de 150 a 420 segundos. Relativamente ao poder de ultrassom, eles foram de 60% a 70%. Quanto ao vácuo, as variáveis foram de 60 a 220 mmHg e o fluxo de aspiração foi de 20 a 25 cc/min, com volume total de BSS variando de 500 a 750 mL.

As intervenções foram conduzidas, com graus variáveis de dificuldade técnica. As incisões principal e auxiliar foram conseguidas com nenhuma intercorrência. Em quatro olhos (20%) do G1, e em cinco olhos (25%) do G2, encontrou-se dificuldade de grau discreto na execução da CCC, por fibrose e aderência do material lenticular. A hidrodissociação deu-se em grau moderado em apenas um olho (5%) do G2, por aderência do material lenticular à cápsula. Opacidade da cápsula posterior foi observada em 40% dos pacientes do G1 e 55% dos do G2 (Figura 5). Encontrou-se dificuldade moderada para a fratura do núcleo nas cataratas duras, que obrigaram a maior tempo de ultrassom em sete olhos (40%) do G1 e em nove (45%) do G2. A implantação das lentes deu-se sem qualquer óbice, em 90% dos pacientes dos grupos, nos demais houve intercorrências de pequena monta, que não prejudicaram a evolução dos pacientes (Figura 6).

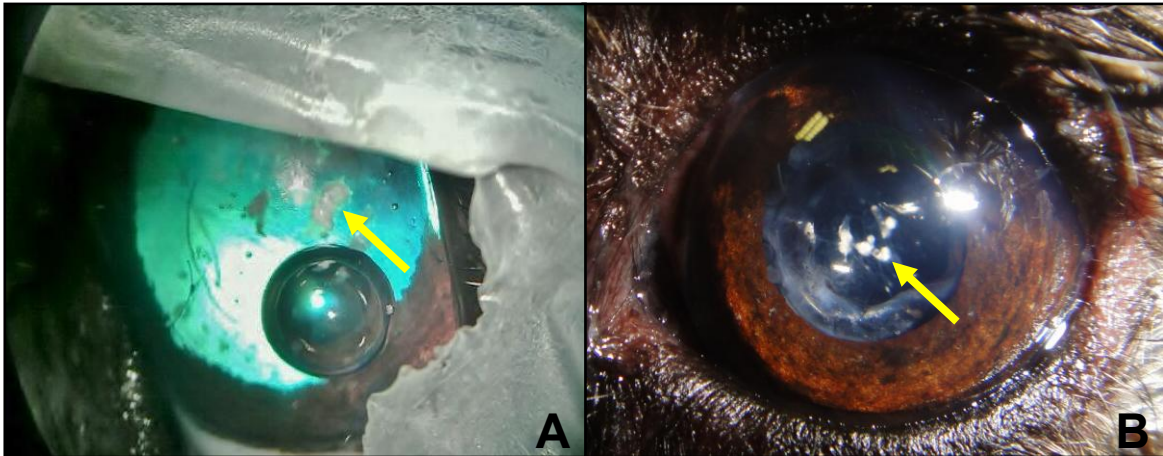


Figura 5. Imagens fotográficas colhidas de pacientes da espécie canina do G1 e do G2, mostrando olhos com opacidade da cápsula posterior (setas). Em A, olho do indivíduo do G1 no pós-operatório imediato. Em B, olho de indivíduo do G2 em M5. Serviço de Oftalmologia Veterinária, FCAV-UNESP, Câmpus de Jaboticabal, SP, Brasil, 2014.

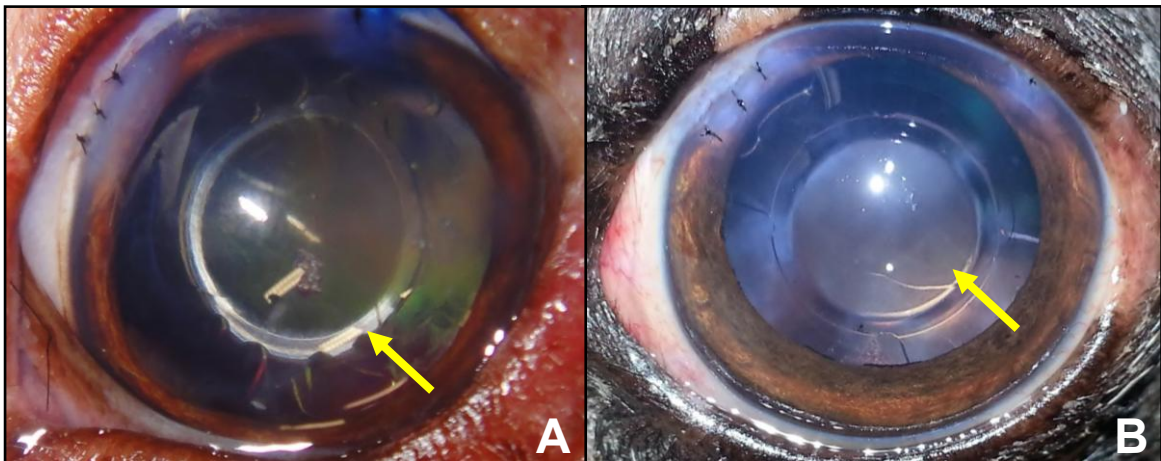


Figura 6. Imagens fotográficas colhidas de pacientes da espécie canina do G1 e do G2, mostrando olhos que receberam lentes acrílicas dobráveis (setas), no pós-operatório imediato. Em A, olho de indivíduo do G1. Em B, olho de indivíduo do G2. Serviço de Oftalmologia Veterinária, FCAV-UNESP, Câmpus de Jaboticabal, SP, Brasil, 2014.

5.1.2 Avaliação clínica

Fotofobia e blefarospasmo foram observados em M1, ocorrendo de forma moderada em 14 olhos (70%) do G1; discreto em dois olhos (10%) e moderada em 12 olhos (60%), do G2. Os sinais regrediram em sua quase totalidade em M2, permanecendo de modo discreto em apenas dois olhos (10%) do G1, para se tornarem ausentes nos demais momentos. No G2, os sinais tornaram-se ausentes a partir de M2.

Observou-se congestão conjuntival discreta em dois olhos (10%) e moderada em sete olhos (35%) do G1, em M1. Ela manteve-se moderada em seis deles (30%), em M2, com regressão para discreta, em M3, até tornar-se ausente nos demais momentos. Relativamente ao G2, observou-se o sinal ocorrendo de forma discreta em quatro olhos (20%), em M1, em seis olhos (30%), em M2, em dois olhos (10%), em M3, assim como em M4, tornando-se ausente em M5 e em M6. Na comparação entre os grupos observou-se aumento significativo do sinal, de manifestação moderada, no M1 do G1, relativamente a M1 do G2 ($P < 0,029$).

No G1, sete olhos (35%), em M2, e seis deles (30%), em M3 apresentaram edema corneal difuso de manifestação moderada (Figura 7A). Em M4, M5 e M6, quatro (20%), seis (30%) e sete (35%), respectivamente, apresentaram edema discreto. Em um deles (M6), o edema fora mais evidenciado na região axial (Figura 7B).

Com relação ao G2, o evento ocorreu de forma discreta em quatro olhos (20%) e moderada em três olhos (15%), em M2. Em M3, M4, M5 e M6, ele foi observado em dois olhos (10%) em manifestação discreta e em um olho (5%) de maneira moderada.

Observou-se edema corneal limitado aos sítios da incisão, regredindo ao final do período de avaliação, em 100% dos olhos do G1 e do G2, restando mácula cicatricial discreta nas áreas das incisões corneais. Não se encontraram diferenças entre os grupos.

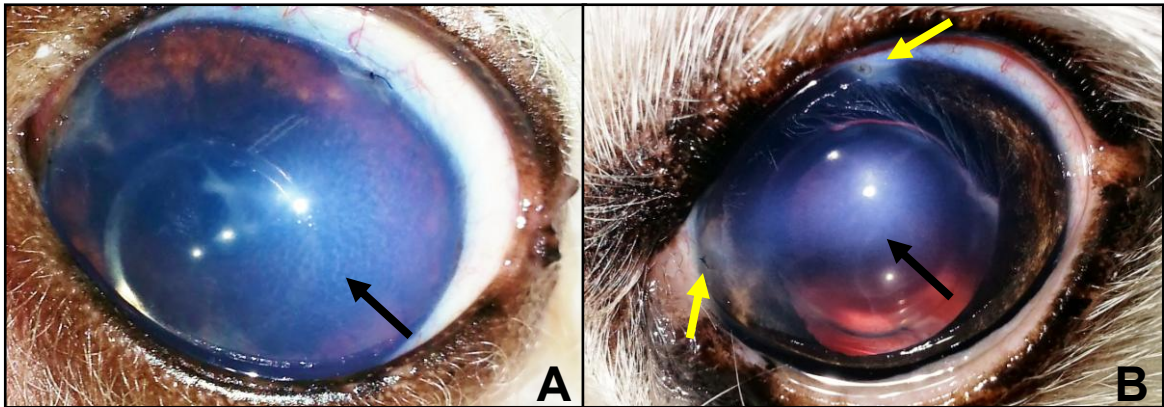


Figura 7. Imagens fotográficas colhidas de pacientes da espécie canina do G1, em M4. Observar edema de córnea difuso de manifestação discreta em olho esquerdo de um dos indivíduos (A) (seta). Edema corneal axial (seta preta), e na área da incisão (seta amarela), em olho esquerdo de outro (B). Serviço de Oftalmologia Veterinária, FCAV-UNESP, Câmpus de Jaboticabal, SP, Brasil, 2014.

Não se encontraram casos de quemose em qualquer dos olhos. Variações na coloração e aspecto da íris não foram observadas entre os grupos e momentos.

Sinéquias posteriores foram observadas. No G1 o foram em M2, de forma discreta em três (15%) e moderada em dois dos olhos (10%). Em M3 e em M4 elas ocorreram de forma discreta em quatro dos olhos (20%) e moderada em dois deles (10%). Ocorreram de forma discreta em cinco dos olhos (25%) e moderada em dois dos olhos (10%) em M5 e em M6. No G2 elas foram observadas em um olho de forma discreta (5%) e em outro, de forma moderada (5%), em M2. Em M3, o evento ocorreu de forma discreta em três olhos (15%) e de forma moderada em um olho (5%).

Membranas e alterações vítreo-retinianas não foram observadas em quaisquer dos olhos avaliados. Encontrou-se hifema discreto em um único indivíduo do G2, em M2.

O “flare”, à clínica, ocorreu em manifestação discreta em três dos olhos (15%) a partir do M2, diminuindo nos demais momentos da avaliação, para se tornar ausente, no G1. No G2, o evento deu-se em um olho, de forma discreta (5%), em outro de forma moderada (5%), em M2.

Os resultados do estudo estatístico, quanto aos eventos clínicos, encontram-se na Tabela 2.

Tabela 2. Intensidade/escore de referenciais da avaliação clínica no G1 e no G2 em pacientes da espécie canina em M0 e em M1, M2, M3, M4, M5, M6. Serviço de Oftalmologia Veterinária, FCAV-UNESP, Câmpus de Jaboticabal, SP, Brasil, 2014

Sinal Clínico	Discreto					Moderado				
	G1	G2	OR	95%IC	P	G1	G2	OR	95%IC	P
Blefarospasmo										
M1	0	2	5	0,198 - 125,79	0,328	14	12	0,857	0,218 - 3,370	0,825
M2	2	0	0,18	0,008 - 4,009	0,279
Congestão										
M1	2	4	1,37	0,213 - 8,856	0,738	7	0	0,03	0,001 - 0,716	0,029
M2	0	6	18,379	0,958 - 352,587	0,053	6	0	0,054	0,002 - 1,040	0,053
M3	6	2	0,259	0,045 - 1,480	0,129
M4	0	2	5,54	0,249 - 1,230	0,279
Edema										
M2	0	4	9	0,440 - 183,980	0,153	7	3	0,428	0,090 - 2,030	0,285
M3	0	2	4,142	0,183 - 93,360	0,371	6	1	0,117	0,012 - 1,107	0,061
M4	4	2	0,5	0,790 - 3,127	0,458	0	2	5	0,222 - 112,34	0,31
M5	6	2	0,274	0,047 - 1,579	0,147	0	1	2,485	0,093 - 65,761	0,585
M6	7	2	0,25	0,928 - 29,701	0,06	0	1	2,314	0,087 - 61,409	0,615
Sinéquias										
M2	3	1	0,259	0,024 - 2,769	0,264	3	1	0,259	0,024 - 2,769	0,264
M3	4	3	0,656	0,124 - 3,451	0,618	2	1	0,437	0,035 - 5,358	0,517
M4	4	3	0,656	0,124 - 3,451	0,618	2	1	0,437	0,035 - 5,358	0,517
M5	2	3	1,5	0,220 - 10,218	0,678	2	1	0,5	0,041 - 6,082	0,586
M6	2	3	1,5	0,220 - 10,218	0,678	2	1	0,5	0,041 - 6,082	0,586
Flare clínico										
M2	3	1	0,314	0,029 - 3,328	0,336	0	1	2,837	0,108 - 74,422	0,531
Hifema										
M2	0	1	3,153	0,121 - 82,169	0,489

A odds ratio foi calculada apenas para os sinais clínicos presentes ou positivos, respeitando-se a intensidade/escore da manifestação e o momento no qual ela foi observada. Sinais clínicos ausentes em qualquer momento da avaliação não foram avaliados.

O quantitativo de “flare” (ph/ms), relativamente a cada grupo, à flarefotometria a *laser*, encontra-se apresentado na Tabela 3. Com relação ao G2, diferença significativa foi encontrada no M1, comparativamente aos demais momentos.

Tabela 3. Valores de “flare” (ph/ms) no G1 e no G2 em pacientes da espécie canina em M0 e em M1, M2, M3, M4, M5, M6. Serviço de Oftalmologia Veterinária, FCAV-UNESP, Câmpus de Jaboticabal, SP, Brasil, 2014.

“FLARE” (ph/ms)		
Momento	G1	G2
0	24,24±8,183	11,38±1,79 ^{b***}
1	48,83±17,57	109,3±12,88 ^a
2	60,42±15,68	49,61±10,56 ^{b**}
3	48,43±15,53	29,41±8,36 ^{b***}
4	28,66±8,24	16,91±2,32 ^{b***}
5	23,70±6,15	16,54±2,19 ^{b***}
6	14,85±4,80	13,98±1,249 ^{b***}

Dados foram expressos como média±erro padrão
 ** P<0,01; ***P<0,001. Letras diferentes apresentam diferença estatística entre os momentos de cada grupo.

Valores médios e desvio padrão da PO em M0 do G1 foram de 12,25±0,8mmHg. No G2 foram de 10,20±0,7mmHg. Em M1, eles diminuíram para 6,0±0,4mmHg no G1 e para 7,7±1,7mmHg no G2, assumindo valores de normalidade nos demais momentos (M2, 11,20±1,4mmHg e 8,05±0,4mmHg; M3, 11,20±1,08mmHg e 9,90±0,81mmHg; M4, 12,50±0,9mmHg e 13,05±0,5mmHg; M5, 14,2±0,9mmHg e 13,30±0,6mmHg e M6, 15,05±0,6mmHg e 14,4±0,08mmHg, respectivamente no G1 e no G2). Houve diminuição significativa em M1 no G1, em relação a M4, M5 e a M6 do G2. Houve diminuição significativa em M1 do G2 (P<0,05), em relação a M5 e M6 do G1. Em um olho do G2 encontrou-se hipertensão ocular de 37mmHg, no M1, voltando a valores de normalidade nos demais momentos.

A percepção visual, foi discernível no pós-operatório imediato, assim se mantendo no curso da avaliação, em 100% dos pacientes.

5.1.3 Microscopia Especular

Os resultados, quanto à densidade das células endoteliais (DC; células/mm²) nos diferentes momentos, aparecem nas Tabelas 4 e 5. Encontrou-se diminuição significativa no G1, em M3, M4, M5 e em M6, comparativamente a M0 e M1. Observou-se diferença entre as médias em todos os momentos (Tabela 4). Observou-se mudança nas contagens, cuja ocorrência deu-se mais intensamente no G1. Na comparação entre as proporções, houve perda celular até M5, em G1, e até M3, em G2 (Tabela 5).

Tabela 4. Valores da densidade celular endotelial (células/mm²) no G1 e no G2, em pacientes da espécie canina em M0 e em M1, M2, M3, M4, M5, M6. Serviço de Oftalmologia Veterinária, FCAV-UNESP, Câmpus de Jaboticabal, SP, Brasil, 2014.

Momento	Densidade celular (cél./mm ²)				Diferença entre as médias (cél./mm ²)		
	G1		G2		Momentos	G1	G2
	$\bar{x} \pm DP$	Mediana	$\bar{x} \pm DP$	Mediana			
M0	2224 [±] 210,16 ^a	2230	2101 [±] 222,2	2104			
M1	2317 [±] 334,9 ^a	2304	2294 [±] 270,0 ^a	2257	M0 X M1	-93	-293
M2	1947 [±] 345,7	1836	1987 [±] 233,2	1960	M0 X M2	277	114
M3	1826 [±] 250,2 ^{b**}	1785	1843 [±] 251,1	1942	M0 X M3	398	258
M4	1790 [±] 257,8 ^{b**}	1748	1861 [±] 229,9 ^{b*}	1842	M0 X M4	434	240
M5	1687 [±] 248,7 ^{b***}	1708	1829 [±] 150,6 ^{b*}	1793	M0 X M5	537	272
M6	1662 [±] 165,4 ^{b**}	1674	1850 [±] 279,1	1906	M0 X M6	562	251

Legenda: Dados foram expressos como média (\bar{x}) \pm desvio padrão (DP); M=momento; G=grupo
*P<0,05; ** P<0,01; ***P<0,001. Letras diferentes apresentam diferença estatística entre os momentos de cada grupo

Tabela 5. Valores da densidade endotelial (células/mm²), relativamente à perda proporcional das células no G1 e no G2 em pacientes da espécie canina em M0 e em M1, M2, M3, M4, M5, M6. Serviço de Oftalmologia Veterinária, FCAV-UNESP, Câmpus de Jaboticabal, SP, Brasil, 2014.

Densidade celular (cél./mm²)					
Mudanças na contagem (%)			Comparação entre proporções		
<u>Momentos</u>	<u>G1</u>	<u>G2</u>	<u>Momentos</u>	<u>G1</u>	<u>G2</u>
M0 X M1	4,18	13,94	M0 X M1	<0,0001	<0,0001
M0 X M2	12,45	5,42	M1 X M2	<0,0001	<0,0001
M0 X M3	17,89	12,27	M2 X M3	<0,0001	<0,0001
M0 X M4	19,51	11,42	M3 X M4	<0,0001	0,445
M0 X M5	24,14	12,94	M4 X M5	<0,0001	0,1670
M0 X M6	25,26	11,94	M5 X M6	0,4677	0,3776

P≤0,05 considera-se significativo

Os resultados quanto à área (mm²) das células endoteliais corneais encontram-se na Tabela 6. A área aumentou em maior proporção no M4, M5 e M6, comparativamente ao M0 e M1, no G1. Em G2, ela aumentou significativamente no M5, comparativamente ao M1.

Tabela 6. Valores da área (mm^2) das células endoteliais no G1 e no G2 em pacientes da espécie canina em M0 e em M1, M2, M3, M4, M5, M6. Serviço de Oftalmologia Veterinária, FCAV-UNESP, Câmpus de Jaboticabal, SP, Brasil, 2014.

Área das céls. endoteliais (μm^2)					
Momento	G1	G2	Diferença entre as médias (μm^2)		
M0	471,0 [±] 60,46 ^a	473,5 [±] 65,84 ^a	Momentos	G1	G2
M1	433,1 [±] 60,93 ^a	451,9 [±] 56,11 ^a	M0 X M1	37,9	21,6
M2	535,6 [±] 92,44	529,8 [±] 60,96	M0 X M2	-64,6	-56,3
M3	522,8 [±] 109,7	553,8 [±] 77,39	M0 X M3	-51,8	-83,3
M4	574,3 [±] 85,34 ^{b***}	544,3 [±] 59,80	M0 X M4	-103,3	-70,8
M5	587,3 [±] 111,1 ^{b**}	581,0 [±] 89,42 ^{b*}	M0 X M5	-116,3	-107,5
M6	607,1 [±] 67,77 ^{b*}	562,1 [±] 82,02	M0 X M6	-136,1	-88,6

Dados foram expressos como média \pm desvio padrão

*P<0,05; ** P<0,01; ***P<0,001. Letras diferentes apresentam diferença estatística entre os momentos.

Resultados relativos à espessura corneal (mm) encontram-se na Tabela 7. Significâncias não foram observadas em qualquer dos momentos avaliados.

Tabela 7. Valores da espessura corneal (mm) no G1 e no G2, em pacientes da espécie canina em M0 e em M1, M2, M3, M4, M5, M6. Serviço de Oftalmologia Veterinária, FCAV-UNESP, Câmpus de Jaboticabal, SP, Brasil, 2014.

Espessura corneal (mm)					
Momento	G1	G2	Diferença entre as médias (mm)		
M0	0,572 [±] 0,052	0,534 [±] 0,052	Momentos	G1	G2
M1	0,640 [±] 0,071	0,584 [±] 0,086	M0 X M1	-0,068	-0,05
M2	0,642 [±] 0,057	0,578 [±] 0,097	M0 X M2	-0,07	-0,044
M3	0,613 [±] 0,100	0,567 [±] 0,047	M0 X M3	-0,041	-0,033
M4	0,579 [±] 0,081	0,566 [±] 0,059	M0 X M4	-0,007	-0,032
M5	0,572 [±] 0,073	0,571 [±] 0,084	M0 X M5	0	-0,037
M6	0,566 [±] 0,036	0,529 [±] 0,039	M0 X M6	0,006	0,008

Dados foram expressos como média \pm desvio padrão

*P<0,05; ** P<0,01; ***P<0,001. Letras diferentes apresentam diferença estatística entre os momentos

Os resultados quanto à hexagonalidade celular endotelial (%) encontram-se na Tabela 8. Encontrou-se diminuição significativa no M3 e no M4 comparativamente a M0, no G1.

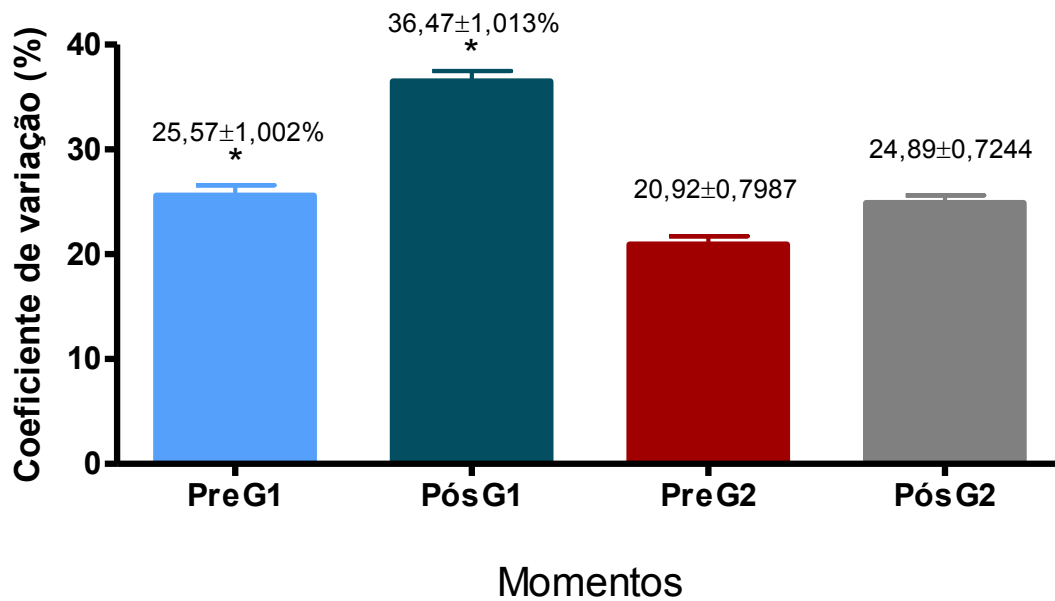
Tabela 8. Valores de hexagonalidade celular endotelial (%) no G1 e no G2, em pacientes da espécie canina em M0 e em M1, M2, M3, M4, M5, M6. Serviço de Oftalmologia Veterinária, FCAV-UNESP, Câmpus de Jaboticabal, SP, Brasil, 2014.

Hexagonalidade celular (%)					
Momento	G1	G2	Mudanças na contagem (%)		
M0	63,65 [±] 12,46 ^a	71,86 [±] 5,55	Momentos	G1	G2
M1	44,72 [±] 13,38	65,76 [±] 13,98	M0 X M1	29,8	8,48
M2	44,00 [±] 15,00	54,61 [±] 21,17	M0 X M2	30,87	24,00
M3	34,67 [±] 15,12 ^{b***}	60,13 [±] 20,13	M0 X M3	45,53	16,32
M4	40,88 [±] 13,23 ^{b**}	63,67 [±] 10,55	M0 X M4	35,77	11,39
M5	50,69 [±] 11,99	59,01 [±] 15,79	M0 X M5	20,36	17,88
M6	44,45 [±] 12,27	55,54 [±] 22,82	M0 X M6	30,16	22,71

Dados foram expressos como média[±]desvio padrão

** P<0,01; ***P<0,001. Letras diferentes apresentam diferença estatística entre os momentos

O coeficiente de variação (%), relativamente a M0, foi de 25,57[±]1,002% no G1 e de 20,92[±]0,7987% no G2. Considerando os valores médios calculados obtidos em cada momento no pós-operatório, encontraram-se 36,47[±]1,013% no G1 e 24,89[±]0,7244% no G2. Houve aumento significativo, relativamente ao pré-operatório, no G1, na comparação com os resultados vistos no pós-operatório, do mesmo grupo (Figura 8).



*diferencia significativa em relação (P<0,001)

Figura 8. Valores médios e erro padrão da média do coeficiente de variação (%), em pacientes da espécie canina do G1 e do G2 em M0 e em M1, M2, M3, M4, M5 e M6. Serviço de Oftalmologia Veterinária, FCAV-UNESP, Câmpus de Jaboticabal, SP, Brasil, 2014

Em pacientes com edema corneal, interpuseram-se dificuldades para a obtenção de imagens por microscopia especular da área central da córnea. Com relação ao G1, em M1, as encontraram, em onze olhos (55%). Em M2, M3, M4, M5 e M6 o evento deu-se em 35%, 30%, 20%, 30% e 35% dos olhos, respectivamente. No G2, manifestou-se em seis olhos 30% em M1; em M2, em sete olhos (35%). Em M3, M4, M5 e M6 em três olhos 15%.

5.2.4 Fator de necrose tumoral alfa (TNF- α)

A Figura 9 elenca os valores médios e o desvio padrão relativamente ao quantitativo do Fator de Necrose Tumoral Alfa (TNF- α) (pg/mL), de amostras obtidas no instante da incisão corneal principal (C1) e aos cinco minutos da facoemulsificação (C2).

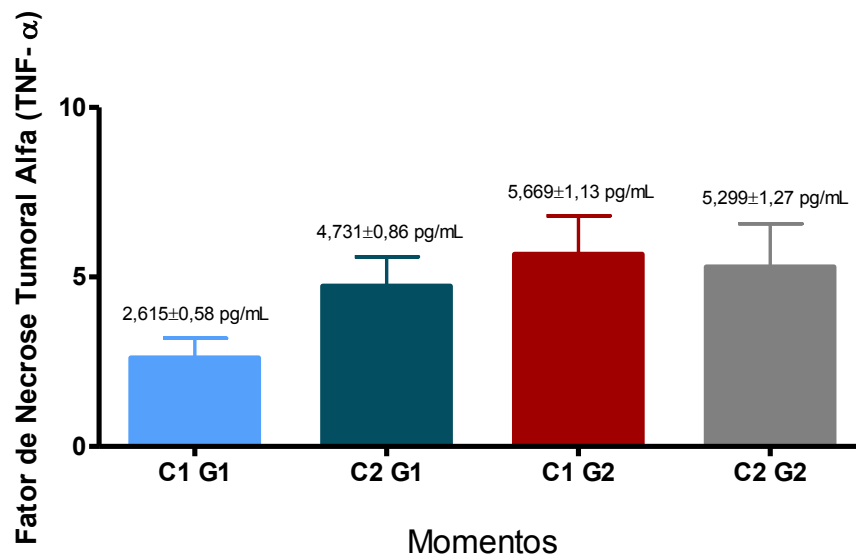


Figura 9. Valores médios e desvio padrão da média do Fator de Necrose Tumoral Alfa (TNF- α) (pg/mL), em pacientes da espécie canina do G1 e do G2 no instante da incisão corneal principal (C1) e aos cinco minutos da facoemulsificação (C2). Serviço de Oftalmologia Veterinária, FCAV-UNESP, Câmpus de Jaboticabal, SP, Brasil, 2014.

6 DISCUSSÃO

A produção de espécies reativas de oxigênio (EROs) durante a facoemulsificação está documentada na literatura e suscita importância, em face dos danos gerados às células endoteliais e a outros componentes do olho. A cada dia, estudos ratificaram que radicais hidroxila são produzidos, fazendo admitir que o olho é submetido a estresse oxidativo durante o procedimento (HOLST et al., 1993; CAMERON; POYER; AUST, 2001; TAKAHASHI et al., 2002). A capacidade antioxidante de fluidos biológicos é necessária à prevenção de danos teciduais, por espécies oxidantes (BARROS et al., 2003).

Na facoemulsificação, o humor aquoso é, na maioria dos casos, parcialmente substituído por solução para irrigação. A solução de irrigação é distribuída, a uma taxa de 20 a 30 mL/minuto, para se evitar o sobreaquecimento ensejado pela facoemulsificação e visando-se a facilitar as manobras cirúrgicas. No entanto, removem-se antioxidantes fisiológicos que protegeriam os tecidos oculares de danos decorrentes da ação de radicais livres (CAMERON; POYER; AUST, 2001).

Biaggi et al. (2006), estudando 11 cães submetidos a facoemulsificação, observaram diminuição das defesas antioxidantes do humor aquoso por até 7 dias após o procedimento cirúrgico, assim como diminuição nos níveis de ácido ascórbico por até 15 dias após a cirurgia.

Estudos apontam para benefícios quanto à implementação de antioxidantes, como o ácido ascórbico, na proteção contra a ocorrência de danos causados pelo estresse oxidativo (VARMA; SRIVASTAVA; RICHARDS, 1982; BARROS et al., 1999), notadamente ao endotélio corneal (RUBOWITZ et al., 2003; NEMET et al., 2007). Em cães, não se encontraram publicações relativas à adição do ácido ascórbico na solução de irrigação em facectomias.

A utilização local de ácido ascórbico, após ceratoplastias realizadas com “laser excimer”, em coelhos, reduziu o dano tecidual produzido por radicais livres, além de diminuir a exsudação inflamatória aguda (KASETSUWAN et al., 1999).

Pesquisas apontaram para a utilização do ácido ascórbico na proteção endotelial de vasos sanguíneos, frente a doenças cardiovasculares (KORANTZOPOULOS; GALARIS, 2003), assim como na manutenção da viabilidade

celular, e no reparo do DNA de linfócitos, ante paraefeitos induzidos por fármacos antineoplásicos (BLASIAK; KOWALIK, 2001).

Na presente pesquisa, estudaram-se os efeitos de 0,001M de ácido ascórbico estéril, diluído em 500 mL de solução para irrigação, comparado com a sua não utilização, na facoemulsificação. Investigações mostraram que a adição de ácido ascórbico à solução de irrigação, imediatamente antes da facoemulsificação, em coelhos, reduziu significativamente a perda de células endoteliais corneais (RUBOWITZ et al., 2003; NEMET et al., 2007). Na presente investigação, utilizou-se o ácido ascórbico em condições análogas, visando-se a estudar a sua atividade antioxidante em cães com catarata senil submetidos a facoemulsificação.

Dos pacientes que compuseram a pesquisa, o maior quantitativo fora de poodles (50%), corroborando dados da literatura (BARNETT; STARTUP, 1985; ANDRADE, 2011; CONCEIÇÃO, 2014). Condições de herdabilidade, relativamente à herança autossômica recessiva, desde há muito são imputadas na gênese das cataratas (RUBIN; FLOWERS, 1972; RUBIN, 1989).

O protocolo anestésico adotado atendeu ao ansiado. Ao contrário dos cães, em pacientes da espécie humana realiza-se anestesia local (TSUNEOKA et al., 2002; ALIÓ et al., 2005; DOSSO et al., 2008). Em cães é habitual o emprego da anestesia geral e o de bloqueador neuromuscular, para que se obtenha centralização e acinesia do bulbo do olho (WILKIE; COLITZ, 2007; KIM et al., 2008). O bloqueador neuromuscular utilizado (brometo de roncurônio), diluindo a dose em seringa de 5 mL, e aplicado a dose efeito, possibilitou centralização do bulbo ocular, por tempo adequado ao procedimento, não oferecendo apneia em qualquer dos pacientes. Teixeira (2003) empregou variação de dose final do bloqueador neuromuscular, usando a metade da preconizada, e logrou centralização do bulbo do olho, com poucos casos de apneia.

Durante os procedimentos, buscaram-se as mesmas condições nos dois grupos, relativamente ao tempo (segundos), ao poder de ultrassom (%), ao de vácuo (mmHg) e ao fluxo de aspiração (cc/min). O tempo médio das facoemulsificações, na comparação com outros autores, foi maior relativamente ao que reportou Özgencil (2005), por exemplo. Tal diferença poderia ser atribuída às condições da lente, dos equipamentos e de outras variáveis, próprias a intervenções desta natureza.

Sobre o quantitativo de BSS, o volume médio foi maior ao do reportado por Özgencil (2005), que empregou, em média, 300 mL. No entanto, foi similar ao reportado por Martins (2008), cuja média não excedeu a 700 mL. Foi, por outro lado, menor que o conseguido por Andrade (2011). O quantitativo de BSS utilizado na facoemulsificação varia na razão direta da dureza do núcleo cataratoso (NASISSE, 1991).

A busca por menor tempo cirúrgico é condição importante para um bom resultado final. A irrigação recorrente, envolvendo grandes volumes, pode interferir com a celularidade endotelial (HEJNY; EDELHAUSER, 2005; GELATT, 2007; WILKIE; COLITZ, 2007). Na presente pesquisa, não se podem atribuir variações entre os grupos uma vez que ultrassom e volume de BSS não diferiram entre eles. A facofragmentação fora sempre realizada com o fragmento preso à extremidade da caneta, diminuindo efeitos da mobilização de energia constante. O cirurgião fora sempre o mesmo. O fluxo de aspiração variou de 20 a 25 cc/min, não divergindo do que se considera como adequado. Valores acima de 50 cc/min podem induzir alterações corneais (HEJNY; EDELHAUSER, 2005).

Foram utilizados dispositivos visco-cirúrgicos oftálmicos (DVOs) (ARSHINOFF, 2000), visando-se à proteção contra lesões mecânicas causadas pelo ultrassom, notadamente ao endotélio corneal (KARA, 2002; TAKAHASHI et al., 2002). A associação de dois viscoelásticos, um dispersivo e outro coesivo, em técnica *soft shell*, ratificou os bons resultados de há muito reportados por Arshinoff (1999). Estudos mostraram o papel protetor do hialuronato de sódio, principal substância dos DVOs, em processos oxidativos endoteliais. Todavia, obriga-se à permanência dos mesmos na câmara anterior durante as manobras cirúrgicas (ARTOLA et al., 1993 a, b). Na presente pesquisa, utilizaram-se quantidades equivalentes de DVOs entre os grupos, visando à homogeneidade entre eles.

Graus variáveis de dificuldade técnica foram encontrados. Perceberam-se intercorrências na consecução das CCC, que poderiam ser atribuídas à fibrose da capsular anterior. Consideram-se, esses eventos, como complicações intraoperatórias comuns em cataratas maduras (BERNAYS; PEIFFER, 2000). A condição é fruto da proliferação de membrana fibrosa subcapsular, por transformação do epitélio mesenquimal (CHANDLER et al., 2005). A dificuldade,

encontrada em alguns casos na hidrodissecção pode também ser atribuída às mesmas condições, por aderência do material lenticular à cápsula, dificultando a sua separação e, por conseguinte, a fratura do núcleo.

Técnica de duas mãos foi utilizada para as facoemulsificações, por permitir o uso de um segundo instrumento, possibilitando o controle da lente no saco capsular no instante da fragmentação. A fragmentação foi realizada empregando-se a técnica “dividir e conquistar”, que permite esculpir núcleos duros e aspirá-los a uma distância segura do endotélio corneal e da cápsula posterior (BURATO et al., 2003).

Não obstante às inúmeras vantagens da facoemulsificação, opacidades capsulares tem contribuído para diminuir os índices de sucesso pós-operatórios, uma vez que se manifestam a uma frequência de até 100% nos cães afácicos (BRAS et al., 2006; SIGLE; NASISSE, 2006; CHANDLER et al., 2010). Na presente pesquisa, e considerando-se a condição temporal de avaliação que fora adotada, observou-se opacidade capsular posterior em 50% do total dos olhos avaliados, no pós-operatório imediato. O evento, todavia, não foi objeto de estudo temporal, tampouco de comparação entre grupos.

Relativamente aos procedimentos pré e pós-operatórios, seguiu-se o adotado pelos principais centros, com algumas poucas modificações. A frequência e o período das administrações de fármacos buscaram atender a protocolos nacionais e internacionais (GELATT, 2007; HONSHO et al., 2007; MARTINS, 2008; MORALES et al. prelo).

O emprego de fármaco para controle de PO, aliado a cuidados vigorosos quanto à aspiração de material viscoelástico, contribuíram para que se minimizassem condições de hipertensão ocular pós-operatória. Sabe-se que o evento pode ocorrer no curso das primeiras 3,9 horas (SMITH et al., 1996), 24 (HONSHO et al., 2007; MARTINS, 2008), 48 (MUNGER, 2009) e 72 horas das cirurgias (CRASTA et al., 2010). Reconhece-se a elevação da PO como uma das complicações agudas, estando principalmente relacionada à presença de DVOs, que oferecem resistência mecânica à drenagem do humor aquoso (MUNGER, 2009). Irrigação e aspiração criteriosas reduzem, sobremaneira, a ocorrência de tais eventos (JAFFE; JAFFE; JAFFE, 1990). A elevação temporária na PO pode, entre

outras intercorrências, sobrecarregar a função bombeadora do endotélio, resultando em edema corneal (STEINERT, 1995).

Não se interpuseram úlceras corneais, deiscências ou infecção em quaisquer dos pacientes. Fotofobia e blefarospasmo ocorreram mais presencialmente até M2, sem diferença entre os grupos. Estimulação de terminações nociceptoras na superfície ocular tem sido, entre todas, a causa mais imputada (WARING, 1984), associada às uveites que se instauram (KERN, 1990).

A congestão conjuntival é evento comum nas cirurgias intraoculares (MUNGER, 2009). Estudo realizado por Andrade et al. (2011) mostrou a variável por até os 60 dias após as facoemulsificações. Na presente pesquisa, esse sinal clínico foi evidenciado até M4 (28 dias após facoemulsificação), a partir do qual se tornou ausente. Medidas terapêuticas pré e pós-operatórias, notadamente antiinflamatórias local e sistêmica, estão indicadas (GELATT, 2007; MUNGER, 2009).

O edema corneal mostrou-se com maior intensidade em olhos do G1. A energia ultrassônica, o turbilhão pela solução de irrigação, bolhas (TOPAZ et al., 2002; PACIFICO., 1994), manipulação cirúrgica, LIOs, sua aplicação e danos gerados às células endoteliais (HAYASHI et al., 1996), assim como radicais livres, são os mais responsabilizados (HOLST et al., 1993). Teixeira (2003) informou sobre a maior ocorrência de estresse oxidativo em olhos de cães que receberam LIOs, comparativamente à sua não utilização. Espécies reativas de oxigênio (EROs), reitera-se, estão fortemente implicadas na gênese de eventos danosos ao endotélio corneal, na facoemulsificação (HULL et al., 1984). Conceição (2014) observou edema de córnea por até 180 dias após facoemulsificação. Gilger et al. (1993) reportaram maior ocorrência de edema corneal transitório em olhos de cães pseudofácicos, comparativamente a olhos afácicos. Na presente pesquisa, atribuem-se aos efeitos protetores do ácido ascórbico sobre o endotélio corneal, a menor ocorrência de edema corneal no G2.

Edema corneal limitado às áreas de incisão, como encontrado em ambos os grupos, e leucoma cicatricial são condições esperadas em acessos via córnea clara. O arranjo regular e equidistante das fibrilas colágenas é imperioso para que se preserve a transparência normal (MAURICE, 1970).

Sinéquias foram mais acentuadas no G1. A menor inflamação no G2, associada à adição de ácido ascórbico, contribuiu para que tal decorresse.

Não foram observados casos de alterações vitreoretinianas. Encontrou-se hifema em um único paciente no G2, com resolução espontânea. Os reflexos se mantiveram e a deambulação com desvios frente a objetos, fora mantida. Hemorragias de pouca significação tendem a se resolver (NASSISE; DAVISSON, 1999). Trauma iatrogênico, tensão cervical e atividade física excessiva podem ensejar uveítes e hifema, devendo ser evitados (WILKIE; COLITZ, 2013).

A quantificação do “flare” fornece informações valiosas, relativamente à gravidade e intensidade da uveíte (OSHIKA et al., 1989). Ele fora maior no pré-operatório, em ambos os grupos, comparativamente ao reportado por Krohne et al. (1998). Elevou-se no pós-operatório, como mostrado por Jaffe (1990), e decorreu, por obvio, da agressão mecânica induzida pela facoemulsificação (SAWA, 1990; ANDRADE, 2011; CONCEIÇÃO 2014). Quantitativos de “flare” foram mais intensos, no pós-operatório imediato, em pacientes do G2. Admite-se que a sensibilidade do ácido ascórbico à luz (SERRA; CAFARO, 2007), suscitando tonalidade escura, diminui a luz refletida pelo feixe de laser. A intensidade de luz é refletida por moléculas protéicas e por células flutuantes mensuráveis em fótons por milissegundos (SAWA, 1988). Não se encontrou, todavia, “flare” clínico no G2. Acredita-se que a adição de ácido ascórbico à solução de irrigação tenha favorecido a ocorrência do evento.

Relativamente aos momentos da avaliação, reporta-se que foram adotados visando a uma criteriosa monitoração dos eventos (MENCUCCI et al., 2006). Os momentos de avaliação possibilitaram que mudanças na celularidade endotelial fossem detectadas.

A transparência corneal é imperiosa para a boa acuidade visual. O endotélio da córnea deve manter-se íntegro para que, ativamente, desidrate o estroma. Processos inflamatórios e traumas mecânicos elencam-se entre os que protagonizam por lesões endoteliais, relativamente à diminuição da celularidade. Uma vez que a densidade das células endoteliais diminui a valores críticos, a descompensação da córnea decorrerá como consequência direta (SCHWARTZKOPFF et al., 2010).

Em 1976, Mccarey, Polack e Marshall reportaram-se a lesões em células endoteliais da córnea associadas ao calor produzido por vibrações ultrassônicas,

assim como por danos mecânicos resultantes de material nuclear e pela manipulação de instrumentais internamente ao olho (POLACK; SUGAR, 1977). Estudos atribuem a tais eventos a geração de microbolhas e de radicais livres (TOPAZ et al., 2002).

Pesquisa realizada em 42 cães, com idades variando entre 24 e 132 meses, portadores de catarata e submetidos à facoemulsificação, mostraram efeitos do procedimento cirúrgico sobre a densidade celular endotelial. Encontraram-se perdas axiais da ordem de 22% ($488\text{cél}/\text{mm}^2$), decorridos 30 dias das cirurgias (GWIN et al., 1983). Tratam-se de resultados similares aos encontrados em M4 no G1, mas díspares dos percebidos no G2. A avaliação temporal evidenciou perdas mais vultuosas no G1. Tais achados concorrem com os encontrados por Rubowitz et al. (2003), em que se encontrou redução na perda da celularidade endotelial de até 70%, quando da adição do ácido ascórbico à solução “buffer” de irrigação, em coelhos. Nemet et al. (2007) observaram que a adição de ácido ascórbico, também em coelhos, cuja concentração utilizada fora a mesma na presente pesquisa, é eficaz e segura na redução de danos ao endotélio da córnea. Outrossim, que melhores resultados poderiam ser conseguidos quando da utilização de maior concentração (10^{-2}M).

A reparação do endotélio corneal envolve aumento das células residuais, divisão nuclear, migração e a ocorrência do fenômeno de roseta, suscitando redução na densidade, aumento proporcional da área celular e alteração do padrão hexagonal normal (MENCUCCI et al., 2006). Gwin et al. (1983) mostraram diminuição da densidade celular e do pleomorfismo, e a ocorrência de lesões focais com áreas de degeneração celular bem marcadas, após facoemulsificação. Entretanto, não encontraram diferenças na espessura corneal. Na presente pesquisa, resultados similares foram encontrados, com maior intensidade nos olhos do G1.

O trauma cirúrgico incita resposta inflamatória aguda, desencadeando síntese de citocinas. No olho normal, citocinas respondem por parte das defesas contra agressores potenciais. Citocinas pró-inflamatórias, tais como o fator de necrose tumoral- α (TNF- α), o interferon- γ (IFN- γ) e a interleucina-1 (IL-1), atuam para manter a resposta inflamatória equilibrada (VAN LAR; VAN HAGEN, 2006). Ortencio (2013)

observou aumento significativo do TNF- α em coelhos após a indução de uveíte. Estudos reportam, ainda, maior aumento do TNF- α em processos agudos quando comparados a condições, como nas pancreatites insidiosas (AYSEL et al., 2009) e acidente vascular cerebral isquêmico em seres humanos (INTISO et al., 2004).

Atribui-se a produção de TNF- α a monócitos e a macrófagos, bem como a neutrófilos, eosinófilos, mastócitos, ao epitélio pigmentar da retina, a glia, às células de Muller e às células endoteliais ativadas. Produtos citotóxicos, células T ativadas, irradiação com raios X, luz ultravioleta e algumas citocinas podem estimular a produção de TNF- α . Células estimuladas liberam quimiocinas que ativam fatores de transcrição no núcleo, resultando na expressão de forma transmembranar da molécula de TNF- α . Esta se liga ao receptor de TNF- α -1, iniciando a gênese de moléculas efetoras, tais como as de adesão, fatores de crescimento e de proliferação, metaloproteinases, imunoglobulinas, citocinas e quimiocinas adicionais (LEVY-CLARKE et al., 2014).

Na presente pesquisa, não se encontrou reação marcada do TNF- α em ambos os grupos, o que indica que a adição de ácido ascórbico 0,001M, não interferiu com esta variável. Estudo realizado em seres humanos, correlacionando o TNF- α no humor aquoso de pacientes com catarata senil e glaucoma, mostrou que em apenas 5% dos indivíduos houve reação marcada nos casos de catarata senil. Por outro, lado o percentil em pacientes com glaucoma foi de 17,8% (SAWADA et al., 2010). Outro estudo, em seres humanos com catarata senil, mostrou valores de TNF- α de $6,8 \pm 6,7$ pg/mL, no humor aquoso (SUGITA et al., 2007). Tratam-se de resultados que confirmam os encontrados na presente pesquisa, ou seja, que a adição do ácido ascórbico não interferiu com a exsudação inflamatória. Estudos adjuntos esclareceriam se os momentos adotados para a coleta do humor aquoso faturam, com precisão, o momento da síntese de TNF- α , uma vez que remanescentes de solução de irrigação e de substâncias visco elásticas ainda se encontravam presentes. A opção por não se fazerem coletas em outros momentos deu-se para que não se produzissem danos adicionais ao endotélio corneal.

7 CONCLUSÕES

Com base nos resultados obtidos e segundo as injunções do meio em que a pesquisa fora concebida, há como admitir que:

A adição de 0,001M de ácido ascórbico estéril, diluído em 500mL de solução salina balanceada, como solução de irrigação na facoemulsificação, foi capaz de minimizar a perda da densidade celular, por preservar células do endotélio corneal.

A quantificação do TNF- α no humor aquoso, não mostrou reação marcada, tampouco divergiu entre os grupos. Depreende-se, por esse resultado que a adição do ácido ascórbico, na concentração em que fora utilizado, não alterou níveis de TNF- α no humor aquoso.

8 REFERÊNCIAS

- ABIB, F.C.; BARRETO, J. Behavior of corneal endothelial density over a lifetime. ***Journal of Cataract & Refractive Surgery***. v. 27, p. 1574-1578, 2001.
- ALIÓ, J.; RODRÍGUEZ-PRATS, J.L.; GALA, A. et al. MICS micro-incision cataract surgery. Miami: Highlights of ophthalmology, 2004. p.14.
- ANDRADE, A.L. **Avaliação da técnica “V-prechop” de nucleodissecação, na cirurgia da catarata em cães por facoemulsificação**. 2011, Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinária, Universidade Estadual Paulista “Julio de Mesquita Filho”, Jaboticabal, 2011.
- ANDRADE, A.L.; RIBEIRO, A.P; PADUA, I.R.M; RENZO, R.; LAUS, J.L. Microscopia especular de não contato do endotélio corneal em cães jovens e adultos. PANVET - Congresso Panamericano de Medicina Veterinária, Peru, 2010.
- ANDRADE, A.L.; CONCEIÇÃO, L.F.; MORALES, A.; PADUA, I. R. M.; GUIMARAES, P. J.; SAKAMOTO, S.S.; SOUZA, E.; LAUS, J.L.; Microscopia especular de não contato e flarefotometria à laser no pré e pós-operatórios imediatos de cães submetidos à facoemulsificação pela técnica v-prechop. Congresso Brasileiro da Anclivepa, Goiânia, 2011.
- ANDREW, S.E.; WILLIS, A.M.; ANDERSON, D.E. Density of corneal endothelial cells, corneal thickness, and corneal diameters in normal eyes of llama and alpacas. ***American Journal of Veterinary Research***. v. 63, p. 326-329, 2002.
- ARSHINOFF, S. A. Dispersive-cohesive viscoelastic soft shell technique. ***Journal of Cataract and Refractive Surgery***, v. 25, p. 167-173, 1999.
- ARSHINOFF, S. A. New terminology: Ophthalmic viscosurgical devices. ***Journal of Cataract and Refractive Surgery***, v.26, p.627-628, 2000.

ARTOLA, A.; ALIO, J.L.; BELLOT, J.L.; RUIZ, J.M. Lipid peroxidation in the iris and its protection by means of viscoelastic substances. ***Ophthalmic Research***, v.25, p.172-176, (1993a).

ARTOLA, A.; ALIO, J.L.; BELLOT, J.L.; RUIZ, J.M. Protective properties of viscoelastic substances (sodium hyaluronate and 2% hydroxymethylcellulose) against experimental free radical damage to the corneal endothelium. ***Cornea***, v.12, p.109-114, (1993b).

AYSEL, K.; MEHMET, I.; SEVAL, A.; SEYFETTIN, K.; ENGIN, U.; ALI, U. Serum TNF-Alpha levels in acute and chronic pancreatitis. ***European Journal of general medicine***, v.2, p.103-107, 2009.

BARNETT, K.C.; STARTUP, F.G. Hereditary cataract in the standard poodle. ***Veterinary Record***, v.117, n.1, p.15-16, 1985.

_____. Inherited eye disease in the dog and cat. ***Journal Small Animal Practice*** v.29, n.7, p.462-75, 1988.

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

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

BERNAYS, M.E.; PEIFFER, R.L. Morphologic alterations in the anterior lens capsule of canine eyes with cataracts. ***American Journal of Veterinary Research***, v.61, p.1517-1519.

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

BISTNER, S.I. Recent developments in comparative ophthalmology. ***Compendium on Continuing Education Practicing Veterinarian.***, v.14, n.10, p.1304-23, 1992.

BLASIAK, J.; KOWALIK, J.; Protective action of vitamin C against damage induced by selenium-cisplatin conjugate. ***Acta Biochimica Polonica***, v.48, p. 233-240, 2001.

BRIAN, G.; TAYLOR, H. Cataract blindness – challenges for the 21st century. ***Bulletin of the World Health Organization***, v.79, n.3, 2001.

BOSCIA, F.; GRATAGLIANO, I.; VENDEMIALE, G.; MICELLI-FERRARI, T.; ALTOMARE, E. Protein oxidation and lens opacity in humans. ***Investigative Ophthalmology and Visual Science***. v.41, p.2461–2465, 2000.

BRAS, I.D.; COLITZ, C.M.H.; SAVILLE, W.J.A.; GEMENSKY-METZLER, A.J.; WILKIE, D.A. Posterior capsular opacification in diabetic and nondiabetic canine patients following cataract surgery. ***Veterinary Ophthalmology***, v.9, n.5, p. 317-327, 2006.

BURATTO, L.; ZANINI, M.; SAVINI, G. Techniques of phacoemulsification. In: BURATTO, L.; WERNER, L.; ZANINI, M.; APPLE, D. Phacoemulsification Principles and Techniques. 2.ed. Thorofare, NJ: Slack Incorporated, 2005. Cap. 6, p. 97

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

CHAN, T.; PAYOR, S.; HOLDEN, B.A. Corneal thickness profiles in rabbits using an ultrasonic pachometer. *Investigative ophthalmology and Visual Sciences*, v. 24, p. 1408-1410, 1983.

CHANDLER, H.L.; BARDEN, C.A.; KUSEWITT, D.F.; COLITZ, C.M.H. Markers of epithelial-mesenchymal transition during canine cataractogenesis. *Veterinary Ophthalmology*, v.8, p.440. 2005.

CHANDLER, H.L.; WEBB, T.R.; BARDEN, C.A.; THANGAVELU, M.; KULP, S.K.; CHEN, C.S.; COLITZ, C..M.H. The effect of phosphorylated Akt inhibition on posterior capsule opacification in an ex vivo canine model. *Molecular Vision*, v. 16, p. 2202-2214, 2010.

CONCEIÇÃO, L. F. Ocorrência de opacidade de cápsula posterior em cães pós-facoemulsificação, com ou sem a utilização de lente intraocular dobrável e efeitos do Nd: YAG Laser. 2014. Tese (Doutorado em Cirurgia) - Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinária, Universidade Estadual Paulista "Julio de Mesquita Filho", Jaboticabal, 2014.

CRASTA, M.; CLODE, A.B.; McMULLEN, R.J.; PATE, D.O.; GILGER, B.C. Effect of three treatment protocols on acute ocular hypertension after phacoemulsification and aspiration of cataracts in dogs. *Veterinary Ophthalmology*, v.13, p.14-19, 2010.

CROIX, N.L. Cataracts: When to refer. *Topics in Companion Animal Medicine*. v.23, n.1, p.46-50, 2008.

DAVIDSON, M.G.; NASISSE, M.P.; JAMIESON, V.E.; ENGLISH, R.V.; OLIVEIRO, D.K. Phacoemulsification and intraocular lens implantation: A study of surgical results in 182 dogs. *Progress in Veterinary and Comparative Ophthalmology*, v.1, n.4, p.233-8, 1991.

DAVISON, M.G.; NELMS, S.R. Diseases of the canine lens and cataract formation. In: Gellat K.N, ***Veterinary ophthalmology***, 4ed. Oxford: Blackwell Publ, p.859-887, 2007.

DOSSO, A.A.; COTTET, L.; BURGNER, N.D.; DI NARDO. S. Outcomes of coaxial microincision cataract surgery versus conventional coaxial cataract surgery. ***Journal of Cataract and Refractive Surgery***, v.34, p.284-88, 2008.

DZIEZYC, J. Cataract surgery. Current approaches. ***Veterinary Clinics of North America Small Animal Practice***. v.20, n.3, p.737-54, 1990.

FISCHER, C.A. Geriatric ophthalmology. ***Veterinary Clinics of North America Small Animal Practice***., v.19, n.1, p.103-23, 1989.

GELATT, K.N. ***Veterinary Ophthalmology***. 2.ed. Philadelphia:Lea & Febiger, 2007. 1671p.

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

GLOVER, T.D.; CONSTANTINESCU, G.M. Surgery for cataract. ***Veterinary Clinics of North America Small Animal Practice***. v.27, n.5, p.1143-73, 1997.

GOLDIN, J.R. *Pesquisa em saúde e direitos dos animais*. Porto Alegre: HCPA, 1995. 28p.

GUM, G.G.; GELATT, K.N.; OFRI, R. Physiology of the eye. In: GELATT, K.N. ***Veterinary ophthalmology***. 3.ed, Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins, p.151-182, 1999.

GWIN, R.M.; LERNER, I.; WARREN, K.J.; GUM, G. Decrease in canine corneal endothelial cell as functions of age. *Investigative Ophthalmology and Visual Science*, v.22, p.267-271, 1982.

GWIN, R.M.; WARREN, K.J.; SAMUELSON, A.D.; GUM, G.G. Effects of phacoemulsification and extracapsular lens removal on cornea thickness and endothelial cell density in the dog. *Investigative Ophthalmology and Visual Science*. v,24, p.227-236, 1983.

HAYASHI, K.; HAYASHI, H.; NAKAO, F.; HAYASHI, F. Risk factors for corneal endothelial injury during phacoemulsification. *Journal of Cataract and Refractive Surgery*. v.22, p.1079–1084, 1996.

HEJNY, C.; EDELHAUSER, H.F. Surgical pharmacology: intraocular solutions and drugs used for cataract surgery. In: BURATTO, L.; WERNER, L.; ZANINI, M.; APPLE, D. **Phacoemulsification Principles and Techniques**. 2.ed. Thorofare, NJ: Slack Incorporated, 2005. Cap. 12, p. 219.

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

HONSHO, C. S., ORIA, A. P., PIGATTO, J. A. T., LAUS, J. L. Modified extracapsular extraction versus endocapsular phacoemulsification: intraoperative and immediate postoperative events. *Arquivos Brasileiros de Medicina Veterinária e Zootecnia*, v.59, n.1, p.105-113, 2007.

HULL, D.S. Oxygen free radicals and corneal endothelium. *Transactions of the American Ophthalmological Society*. v.88, p.463–511, 1990.

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

INTISO, D.; ZARRELLI, M.M.; LAGIOIA, G.; DI RIENZO, F.; CHECCHIA DE AMBROSIO, C. SIMONE, P. TONALI, P, CIOFFI, D.R.P. Tumor necrosis factor alpha serum levels and inflammatory response in acute ischemic stroke patients. ***Neurological Sciences***, v.24, p.390-396, 2004.

JAFFE, N. S.; JAFFE, M. S.; JAFFE, G. F. **Cataracts surgery and its complications**. 5. ed. St. Louis: Mosby. 1990. p. 400-411.

JOHNSON, B.C.; MILLER, W.W. Recognizing ocular signs of systemic diseases in dogs. ***Veterinary Medicine***. v.85, n.10, p.1076-90, 1990.

JOHNSTONE, N.; WARD, D.A. The incidence of posterior capsule disruption during phacoemulsification and associated postoperative complication rates in dogs: 244 eyes (1995-2002). ***Veterinary Ophthalmology*** ,v.8, n.1, p. 47-50, 2005.

JUNG, C.H.; HAN, J.O.; KYUNG, Y.C. long-term results after cataract surgery in patients with low corneal endothelial cell density. ***Journal Korean Ophthalmological***, v, 54, n.4, p.602-609, 2013.

KANEMAKI, N.; SAITO, M.; ONDA, K.; MARUO, T.; OGIHARA, K.; NAYA, Y.; MORISHITA, T.; OCHIAI, H. Establishment of a lens epithelial cell line from a canine mature cataract. ***Experimental Animals***, v.61, n.1, p.41-47, 2012.

KARA JR, N. Substâncias viscoelásticas mantendo espaços e protegendo estruturas. In.: ARIETA, C.E.L. ***Cristalino e catarata***. Rio de Janeiro: Cultura Médica, 2002, p.103-114.

KASETSUWAN, N.; WU, F.M.; HSIEH, F.; SANCHEZ, D.; McDONNELL, P.J. Effect of topical ascorbic acid on free radical tissue damage and inflammatory cell influx in the cornea after excimer laser corneal surgery. **Archives of Ophthalmology**, v.117, p.649-652, 1999.

KERN, T. J. Ulcerative keratitis. **Veterinary Clinics of North American Small Animal Practice**, v. 20, n. 3, p. 645-666, 1990

KIM, S.Y.; KIM, J.H.; CHOI, J.S.; JOO, C.K. Comparison of posterior capsule opacification in rabbits receiving either mitomycin-C or distilled water or sealed-capsule irrigation during cataract surgery. **Clinical and Experimental Ophthalmology** , v. 35, p. 755-758, 2008.

KORANTZOPOULOS, P.; GALARIS, D. The protective role of vitamin C on endothelial dysfunction. **Journal of Clinical and Basic Cardiology**. v.6, p.3-6, 2003.

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

LEVY-CLARKE. G.; JABS, D.A.; READ, R.W.; ROSENBAUM, J.T.; VITALE, A.; VAN GELDER, R.N. Expert panel recommendations for the use of anti-tumor necrosis factor biologic agents in patients with ocular inflammatory disorders. **Ophthalmology**, v.121, p.785-796, 2014.

MARTINS, B.C. **Características ecográficas da lente cataratogênica senil em cães (*Canis – familiaris* LINNAEUS, 1758) e a sua correlação com parâmetros de facoemulsificação**. 2008. 51 f. Tese de Doutorado – Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Jaboticabal, 2008.

MAURICE, D.M. The transparency of the corneal stroma. **Vision Research**, v.10, p.107-8, 1970.

MENCUCCI, R.; PONCHIETTI, C.; VIRGILI, G.; GIANANTI, F.; MENCHINI, U. Corneal endothelial damage after cataract surgery: Microincision versus standard technique. **Journal of Cataract and Refractive Surgery**, v.32, p. 1351-1354, 2006.

McCAREY, B.E.; POLLACK, F.M.; MARSHALL, W. The phacoemulsification procedure. I. The effect of intraocular irrigating solutions on the corneal endothelium. **Investigative Ophthalmology and Visual Science**, v.15, p.449-457, 1976.

MOORE, R.D.; McLELLAN, J.G.; DUBIELZIG, R. A study of the morphology of canine eyes enucleated or eviscerated due to complications following phacoemulsification. **Veterinary Ophthalmology**, v.6, n.1, p.219-226, 2003.

MORALES, A.; CONCEIÇÃO, L.F.; COSTA, P.F.; ANDRADE, A.L.; MARTINEZ, I.P.; MARINHO, F.; BRITO, F.; LAUS, J.L. Effects of capsular tension ring alone and associated with acrylic foldable intraocular lens in posterior capsular opacification after phacoemulsification in dogs. **Ciência Rural**. No prelo. CR-2013 – 1592. R2.

MUNGER, R.J. Catarata. In.: LAUS, J.L. **Oftalmologia clínica e cirúrgica em cães e gatos**. 1a. Ed. São Paulo: Roca, 2009. p.116-32.

NARFSTRÖM, K.; EKESTEN, B; ROSOLEN, S.G.; SPIESS, B.M.; PERCICOT, C.L.; OFRI, R. Guidelines for clinical electroretinography in the dog. **Documenta Ophthalmologica**, v. 105, p. 83-92, 2002.

NASISSE, M.P.; DAVIDSON, M.G.; JAMIESON, V.E.; ENGLISH, R.V.; OLIVEIRO, D.K. Phacoemulsification and intraocular lens implantation: A study of technique in 182 dogs. **Progress in Veterinary and Comparative Ophthalmology**, v.1, n.4, p.225-32, 1991.

NEMET, A.Y.; ASSIA, E.I.; MEYERSTEIN, D.; MEYERSTEIN, N.; GEDANKEN, A.; TOPAZ, M. Protective effect of free-radical scavengers on corneal endothelial damage in phacoemulsification. ***Journal of Cataract & Refractive Surgery***, v.33, p.310-315, 2007.

OSHIKA, T.; KATO, S. Changes in aqueous flare and cells after mydriasis. ***Japanese Journal of Ophthalmology***, v.33, p.271-8, 1989.

ORTENCIO, K. P. Efeitos da instilação de morfina na inflamação ocular induzida experimentalmente em coelhos. 2013. Dissertação (Mestrado em Cirurgia) - Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinária, Universidade Estadual Paulista “Julio de Mesquita Filho”, Jaboticabal, 2013.

ÖZGENCIL, F. E. The results of phacofragmentation and aspiration surgery for cataract extraction in dogs. ***Turkish Journal of Veterinary and Animal Science***, v. 29, p. 165 – 173, 2005.

PACIFICO, R.L. Ultrasonic energy in phacoemulsification: mechanical cutting and cavitation. ***Journal of Cataract & Refractive Surgery***, v.20, p.338-341, 1994.

PIGATTO, J.A.T.; ABIB, F.C.; PEREIRA, G.T.; BARROS, P.S.M., FREIRE, C.D.; LAUS, J.L. Density of corneal endothelial cells in eyes of dogs using specular microscopy. ***Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science***. v. 43, p. 476-480, 2006.

PIGATTO, J.A.T.; CERVA, C.; FREIRE, C.D.; ABIB, F.C.; BELLINI, L.P.; BARROS, P.S.M.; LAUS, J.L. Morphological analysis of the corneal endothelium in eyes of dogs using specular microscopy. ***Pesquisa Veterinária Brasileira***, v.28 (9), p. 427-430, 2008.

POLACK FM, SUGAR A. The phacoemulsification procedure. Part II. Corneal endothelial changes. ***Investigative Ophthalmology and Visual Science***, v.15, p.458–469,1976.

RODRIGUES, G.N.; LAUS, J.L.; SANTOS, J.M.; RIGUEIRO, M.P.; SMITH, R.L. Corneal endothelial cell morphology of normal dogs in different ages. ***Veterinary Ophthalmology***, v.9, n.2, p.101-107, 2006.

SCHWARTZKOPFF, J.; BREDOW, L.; MAHLENBREY, S.; BOEHRINGER, D.; REINHARD, T. Regeneration of corneal endothelium following complete endothelial cell loss in rat keratoplasty. ***Molecular Vision***, v.16, p.2368-2375, 2010.

RUBIN, L.; FLOWERS, R. Inherited cataract in a family of Standard Poodles. ***Journal of American Veterinary Medical Association***, v.161, p.207-08, 1972.

RUBIN, L. *Inherited eye disease in purebred dogs*. Baltimore: Wllians; Wilkins, 1989.

RUBOWITZ , A.; ASSIA, I.E.; ROSNER, M.; TOPAZ, M. Antioxidant protection against corneal damage by free radicals during facoemulsification. ***Investigative ophthalmology and visual science***, v.44 (5), p. 1866-1870, 2003.

SAMPAIO, R.L. **Avaliação clínica, histopatológica e imunohistoquímica de córneas tratadas por ceratoplastia com membrana amniótica xenógena a fresco e conservada em glicerina. Estudo experimental em coelhos**. 2004. 212p. Tese (Doutorado em Cirurgia Veterinária) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, UNESP, Botucatu.

SAWA, M. Clinical application of laser flare-cell meter. ***Japanese Journal of Ophthalmology***, v.34, p.346-363, 1990.

SAWADA, H.; FUKUCHI, T.; TANAKA, T.; ABE, H. Tumor necrosis factor- α concentrations in the aqueous humor of patients with glaucoma. ***Investigative Ophthalmology and Visual Science***, v.51, p.903-906, 2010.

SERRA, H.M.; CAFARO, T.A. Ácido ascórbico: desde la química hasta su crucial función protectora en ojo. *Acta Bioquímica Clínica Latinoamericana*, v.41, n.4, p.525-32, 2007.

SIES, H. Oxidative stress: from basic research to clinical application. *American journal of medicine*, v.9, n.3, p.31-38, 1991.

SIGLE, K.J.; NASISSE, M.P. Long-term complications after phacemulsification for cataract removal in dogs: 172 cases (1995-2002). *Journal American Veterinary Medical Association*, v. 228, n.1, p. 74-79, 2006

SLATTER, D., *Fundamentos de Oftalmologia Veterinária*, 3ª ed., ed. Roca, São Paulo, 2005.

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

SUGITA, S.; TAKASE, H.; TAGUCHI, C.; MOCHIZUKI, M. The role of soluble TNF receptors for TNF- α in uveites. *Investigative Ophthalmology and Visual Science*. v.48, p.3246-3252, 2007.

STEINERT, R.F. Cataract Surgery: Technique, Complications, and Management, 2nd Ed. *Philadelphia: Saunders*, 2004.

TAKAHASHI, H.; SAKAMOTO, A.; TAKAHASHI, R.; OHMURA, T.; SIMMURA, S.; OHARA, K. Free radicals in phacoemulsification and aspiration procedures. *Archives of Ophthalmology*. v.120, p.1348–1352, 2002.

TEIXEIRA, A. **Estudo comparativo do estresse oxidativo após facoemulsificação experimental com e sem implante de lentes intraoculares em cães**. São Paulo: FMVZ-USP, 2003. 134p. Dissertação (Mestrado em Cirurgia) –

Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo, 2003.

TEIXEIRA, A.L.; BARROS, L.F.M.; BARROS, P.S.M. Afecções da Túnica Vascular. In: LAUS, J.L. **Oftalmologia Clínica e Cirúrgica em Cães e em Gatos**. cap. 5, 1ª ed., ed. Roca, São Paulo, 2009.

TOPAZ, M.; MOTEI, M.; ASSIA, E.; MEYERSTEIN, D.; MEYERSTEIN, N.; GEDANKEN, A. Acoustic cavitation in phacoemulsification: chemical effects, modes of action and cavitation index. **Ultrasound in Medicine and Biology**. v.28, p.775–784, 2002.

TSUNEOKA, H.; SHIBA, T.; TAKAHASHI, Y. Ultrasonic phacoemulsification using a 1.4mm incision: clinical results. **Journal of Cataract & Refractive Surgery**, v.28, p.81-6, 2002.

VAN LAAR, J.A.M.; VAN HAGEN, P.M. Citokines in Uveites. **Clinical Medicine and Research**, v.4, p.248-249, 2006.

VARMA, S. D. Scientific basis for medical therapy of cataracts by antioxidants. **American Journal of Clinical Nutrition**. v.53, p.335-345, 1991.

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

WARING, G. O. Corneal structure and pathophysiology. In: LEIBOWITZ, H. W. B. **Corneal disorders: clinical diagnosis and management**. Philadelphia: W. B. Saunders, 1984. p. 3-25.

WERBLIN, T.P. Long-term endothelial cell loss following phacoemulsification: model for evaluating endothelial damage after intraocular surgery. **Refractive Corneal Surgery**. v.9, p.29–35, 1993.

WHITLEY, R.D.; MCLAUGHLIN, S.A.; WHITLEY, E.M. GILBER, B.C. Cataract removal in dogs: The presurgical considerations. **Veterinary Medicine**., v.88, n.9, p.848-58, 1993a.

____. Cataract removal in dogs: The surgical techniques. **Veterinary Medicine**., v.88, n.9, p.859-66, 1993b.

WILKIE, D.A., COLITZ, C.M.H. Surgery of the canine lens. **In: GELATT, K.N. Veterinary Ophthalmology**. 4ed. Oxford: Blackwell Publishing, 2007. 1672p.

WILKIE, D.A., COLITZ, C.M.H. Surgery of the canine lens. **In: GELATT, K.N; GILGER, B.C.; KERN, T.J. Veterinary Ophthalmology**. 5ed. Oxford: Blackwell Publishing, 2013. 2170p.

WILLIAMS, D.L., BOYDELL, I.P., LONG, R.D. Current concepts in the management of canine cataract: a survey of techniques used by surgeons in Britain, Europe and the USA and a review of recent literature. **Veterinary Record**. v.138, n.15, p.347-53, 1996.

WILLIAMS, D.L.; MUNDAY, P. The effect of a topical antioxidant formulation including N-acetyl-carnosine on canine cataract: preliminary study. **Veterinary Ophthalmology**, v.9, n.5, p.311-316, 2006.

YEE, R.W.; EDELHAUSER, H.F.; STERN, M.E. Specular microscopy of vertebrae corneal endothelium: a comparative study. **Experimental Eye Research**. v. 44, p. 703-714, 1987.