



UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
“JÚLIO DE MESQUITA FILHO”
FACULDADE DE MEDICINA

PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM PESQUISA E DESENVOLVIMENTO:
BIOTECNOLOGIA MÉDICA

VIRGÍLIO FIGUEIREDO SILVA

**AVALIAÇÃO DO EFEITO CITOTÓXICO E ESTRESSE OXIDATIVO
DA INJEÇÃO INTRACAMERAL DE LIDOCAÍNA COM E SEM
CONSERVANTE EM PACIENTES SUBMETIDOS À
FACOEMULSIFICAÇÃO**

Tese apresentada ao Programa de Pós-graduação
em Pesquisa e Desenvolvimento: Biotecnologia
Médica da Universidade Estadual Paulista - UNESP,
Botucatu, São Paulo.

Prof. Dr. Antônio Carlos Lottelli Rodrigues

Botucatu

2023

VIRGÍLIO FIGUEIREDO SILVA

**AVALIAÇÃO DO EFEITO CITOTÓXICO E ESTRESSE
OXIDATIVO DA INJEÇÃO INTRACAMERAL DE LIDOCAÍNA
COM E SEM CONSERVANTE EM PACIENTES SUBMETIDOS À
FACOEMULSIFICAÇÃO**

Tese apresentada ao Programa de Pós-
graduação em Pesquisa e Desenvolvimento:
Biotecnologia Médica da Universidade Estadual
Paulista - UNESP, Botucatu, São Paulo.

Prof. Dr. Antônio Carlos Lottelli Rodrigues

Botucatu

2023

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA SEÇÃO TÉC. AQUIS. TRATAMENTO DA INFORM.
DIVISÃO TÉCNICA DE BIBLIOTECA E DOCUMENTAÇÃO - CÂMPUS DE BOTUCATU - UNESP
BIBLIOTECÁRIA RESPONSÁVEL: MARIA CAROLINA A. CRUZ E SANTOS-CRB 8/10188

Silva, Virgílio Figueiredo.

Avaliação do efeito citotóxico e estresse oxidativo da
injeção intracameral de lidocaína com e sem conservante em
pacientes submetidos à facoemulsificação / Virgílio
Figueiredo Silva. - Botucatu, 2023

Tese (doutorado) - Universidade Estadual Paulista "Júlio
de Mesquita Filho", Faculdade de Medicina de Botucatu
Orientador: Antônio Carlos Lottelli Rodrigues
Coorientador: Camila Renata Corrêa
Capes: 40101177

1. Catarata. 2. Estresse oxidativo. 3. Facoemulsificação.
4. Lidocaína.

Palavras-chave: Catarata; Estresse oxidativo;
Facoemulsificação; Lidocaína.

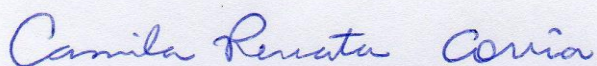
VIRGÍLIO FIGUEIREDO SILVA

**AVALIAÇÃO DO EFEITO CITOTÓXICO E ESTRESSE OXIDATIVO DA
INJEÇÃO INTRACAMERAL DE LIDOCAÍNA COM E SEM
CONSERVANTE EM PACIENTES SUBMETIDOS À
FACOEMULSIFICAÇÃO**

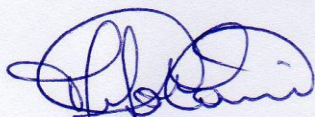
Tese apresentada à Faculdade Medicina de Botucatu,
Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho",
Campus de Botucatu, para obtenção do título de doutor.

Orientador: Prof. Dr. Antônio Carlos Lottelli Rodrigues

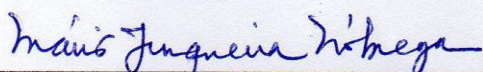
Comissão examinadora



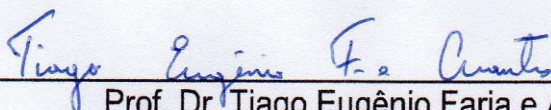
Profa. Dra. Camila Renata Corrêa
Universidade Estadual Paulista



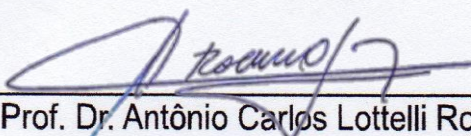
Profa. Dr. Dijon Henrique Salomé de Campos
Universidade Estadual Paulista



Prof. Dr. Mário Junqueira Nóbrega
Hospital de Olhos Sadalla Amin Ghanem



Prof. Dr. Tiago Eugênio Faria e Arantes
Hospital de Olhos Sadalla Amin Ghanem



Prof. Dr. Antônio Carlos Lottelli Rodrigues
Universidade Estadual Paulista

Botucatu, 13 de outubro de 2023

DEDICATÓRIA

Dedico a presente tese de doutorado àqueles que buscam soluções viáveis com cunho social e que propiciem o entendimento e racionalidade em uso de fármacos para tratamento seguro de pacientes com doenças oculares, os quais tem sua visão e qualidade de vida comprometidas.

Agradeço a todos os pacientes que participaram deste estudo e assim ajudaram o entendimento de uma droga para que outros possam se analgesiar de forma segura e eficaz.

AGRADECIMENTO

Ao meu pai, que me traz a segurança da vida; minha mãe pelo seu amor, bondade e abnegação; aos avós, tios, tias e irmão pelo carinho, paciência, respeito, amor e ensinamentos e ao amigo Tiago Arantes pela paciência e respeito.

À minha esposa Patrícia cumplice em todos os sentidos da vida. Uma mulher que soube os caminhos a serem seguidos, a passos contínuos de estudo, atendimentos, cirurgias e ensinamentos sem esmorecer nas dificuldades o que a proporcionou vastas qualificações e respeito profissional além da sabedoria de amor de mãe a qual conduz nosso lar.

À minha filha Vivian, um milagre de Deus, o qual me permitiu ser pai para observar a pureza de uma criança, o tamanho incondicional do amor e cujo carinho é capaz de curar qualquer tipo dor.

Ao amigo e orientador Prof. Dr. Antônio Carlos que em todos os momentos da minha vida oftalmológica e diária esteve ao meu lado incentivando, ensinando, sendo um grande Pai.

À Profa. Dra. Camila Correa que soube ensinar e permitir uma tese em alto padrão mesmo nas adversidades de tempo e distância.

À esta universidade, pela minha formação médica e ensinamentos

Aos pacientes deste projeto pela cumplicidade e bondade.

À natureza, os rios que tanto me fascinam e me surpreendem para viver e poder um dia mostrar a minha filha o quanto somos abençoados pela vida que nos foi concebida.

EPÍGRAFE

“Olhar para trás após uma longa caminhada pode fazer perder a noção da distância que percorremos, mas se nos detivermos em nossa imagem, quando a iniciamos e ao término, certamente nos lembraremos o quanto nos custou chegar até o ponto final, e hoje temos a impressão de que tudo começou ontem. Não somos os mesmos, mas sabemos mais uns dos outros. E é por esse motivo que dizer adeus se torna complicado! Digamos então que nada se perderá. Pelo menos dentro da gente.”

João Guimarães Rosa
escritor, diplomata, novelista, contista e médico mineiro
(1908 – 1967)

RESUMO

SILVA, V. F. **Avaliação do efeito citotóxico e estresse oxidativo da injeção intracameral de lidocaína com e sem conservante em pacientes submetidos à facoemulsificação.** Tese (Doutorado) – Faculdade de Medicina de Botucatu, Universidade Estadual Paulista, Botucatu, 2023

Objetivo

Avaliar os efeitos e consequências sobre a estrutura corneana e o estresse oxidativo gerado na câmara anterior em pacientes submetidos à facoemulsificação utilizando como solução anestésica lidocaína 2% intracameral com e sem conservante.

Pacientes e métodos

Estudo prospectivo, randomizado, incluindo 41 portadores de catarata operados por facoemulsificação com anestesia tópica, separados em dois grupos que diferiram pela injeção intracameral de lidocaína 2% sem vasoconstritor com conservante metilparabeno (grupo I) ou sem conservante (grupo II). Os olhos foram avaliados clinicamente com paquimetria e microscopia especular no pré-operatório e depois de 90 dias da cirurgia. Foi realizada análise do estresse oxidativo no humor aquoso, coletado imediatamente após a paracentese da câmara anterior. A energia dissipada pelo facoemulsificador foi avaliada em cada grupo.

Resultados

A análise do estresse oxidativo pela dosagem de 4-Hydroxynonenal como Carbonilação de proteínas não apresentou diferenças estatísticas entre os grupos I e II. Tanto a contagem endotelial corneana como espessura central de córnea não resultaram diferenças entre ambos os anestésicos.

Conclusão

O uso de lidocaína 2% com conservante se mostrou seguro dentro das variáveis analisadas tanto na análise clínica como molecular para paciente submetidos a facoemulsificação com anestesia tópica.

Palavras-chave: Catarata. Facoemulsificação. Lidocaína. Estresse oxidativo

ABSTRACT

Silva, V. F. **Cytotoxic effect and oxidative stress evaluation of lidocaine intracameral injection with and without preservative in patients undergoing phacoemulsification.** Thesis (Doctorate) – Botucatu College of Medicine, Paulista State University, Botucatu, 2023.

Purpose

Evaluate the effects and consequences on the corneal structure and the oxidative stress generated in the anterior chamber in patients undergoing phacoemulsification under intracameral 2% lidocaine anesthetic solution with and without preservative.

Patients and Methods

Prospective randomized study of 41 eyes with cataract which underwent phacoemulsification surgery under topical anesthesia, separated into two groups that differed by 2% lidocaine intracameral injection without vasoconstrictor with methylparaben preservative (group I) or without preservative (group II). The eyes were clinically evaluated with pachymetry and specular microscopy preoperatively and 90 days after surgery. The analysis of the oxidative stress on the aqueous humor, which was collected immediately after the anterior chamber paracentesis, was performed. The cumulative dissipated energy was evaluated in each group.

Results

The oxidative stress analysis by 4-hydroxynonenal dosage as protein carbonylation had no significant statistical difference between the groups I and II. The corneal endothelial count as well as the corneal central thickness did not result a difference between both anesthetics.

Conclusion

The use of 2% lidocaine with or without preservative was safe during clinical evaluation as well as during the oxidative stress development within the analyzed variables in patients that underwent phacoemulsification with intracameral anesthesia.

Keywords: Cataract. Phacoemulsification. Lidocaine. Oxidative stress

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Dados demográficos e características clínicas do estudo.....	39
Tabela 2. Dados do Grupo I e II de energia dissipada (CDE) durante a facoemulsificação, dosagem de 4-hidroxinonenal e Carbonilação de Proteínas (quantificação estresse oxidativo).....	40
Tabela 3. Diferença percentual da CE e ECC entre os momentos pré-operatório. e 90 dias.....	40

LISTA DE ABREVIÇÕES

µm	-	Micrómetro
µs	-	Microsegundo
¹O₂	-	Oxigênio singlete
4-HNE	-	4-hidroxinonenal
8-OHdG	-	8-hidroxi-2- desoxiguanosina
ADN	-	Ácido desoxirribonucleico
AGEs	-	Advanced Glycation End Products
AGPI	-	Ácidos graxos poliinsaturados
ALES	-	Advanced Lipoxidation End Products
ARN	-	Ácido ribonucleico
CDE	-	Energia dissipada durante a facoemulsificação
CE	-	Contagem endotelial corneana
Cis	-	Cisteína
CP	-	Carbonilação de proteínas
Cu/Zn-SOD, SOD1 - Cu/Zn	-	Superóxido dismutase
DCEF	-	Distrofia corneana endotelial de Fuchs
ECRs	-	Espécies Carbonila Reativas
EO	-	Estresse oxidativo
ERON	-	Espécies reativas de oxigênio e nitrogênio
EROs	-	Espécies reativas do oxigênio
GPx	-	Glutathione peroxidase
GR	-	Glutathione reductase
H₂O₂	-	Peróxido de hidrogênio
His	-	Histidina
LIO	-	Lente intraocular
Lis	-	Lisina
MDA	-	Malonaldeído
Mfn2	-	Mitofusina-2
ml	-	Mililitro
mm²	-	Milímetro quadrado
nm	-	Nanômetro

Lista de abreviações

O² - Ânion superóxido

OH· - Radical hidroxila

PCOs - Proteínas carbonilas

ROCK - Inibidor (Y-27632) de Rho-quinase

SOD2 - Superóxido dismutase dependente de manganês

SUS - Sistema Único de Saúde

US\$ - Dólar americano

SUMÁRIO

1.	INTRODUÇÃO.....	14
2.	REVISÃO DA LITERATURA.....	18
2.1	Cirurgia de Catarata.....	18
2.2	Córnea.....	20
a)	Anatomia estrutural e constitutiva da córnea.....	20
b)	O endotélio corneano.....	22
2.3	Lidocaína.....	26
2.4	Tipos de Anestesia em Cirurgia de Catarata.....	28
a)	Anestesia geral.....	28
b)	Anestesia retrobulbar.....	28
c)	Anestesia peribulbar.....	29
d)	Anestesia subtenoniana.....	29
e)	Anestesia tópica.....	30
2.5	Análise Celular em Anestesia Intracameral.....	31
2.6	Estresse Oxidativo.....	32
3.	OBJETIVOS.....	34
4.	MÉTODOS E PACIENTES.....	35
4.1	Pacientes.....	35
4.2	Avaliação do estresse oxidativo.....	36
4.3	Técnica cirúrgica.....	37
4.4	Estatística.....	37
5.	RESULTADOS.....	39
6.	DISCUSSÃO.....	41
7.	CONCLUSÃO.....	47
8.	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	48
Anexos 1		53
Anexos 2		54
Anexos 3		57

1. Introdução

Ao longo do período de 20 anos, de 2000 a 2019, um total de 8.424.521 procedimentos cirúrgicos para tratamento da catarata foram realizados por meio do Sistema Único de Saúde (SUS). Os custos associados ao tratamento geral da catarata no sistema público aumentaram de US\$ 18.109.151,54 em 2000, para US\$ 101.626.691,25 em 2019, representando um acréscimo de 461,2%.⁽¹⁾

O uso racional de insumos para as cirurgias intraoculares é essencial para vitalidade do sistema. Na maior parte dos procedimentos, são utilizados anestésicos tópicos combinados com anestesia intracameral, em especial o uso de lidocaína sem conservante, pela sua conhecida eficácia e segurança. Entretanto, trata-se de um produto de custo mais elevado e de baixa disponibilidade comercial. No mercado há dois tipos de lidocaína, uma com conservante e outra sem conservante. O conservante presente nos frascos é o metilparabeno, um éster metílico do ácido 4-hidroxibenzóico com função antimicrobiana, cuja ação é eficaz contra bactérias, fungos e leveduras. Os custos na data desta pesquisa tendo como fonte a Câmara de Regulação do Mercado de Medicamentos (CMED) são: custo médio 1 ampola 20 ml Lidocaína 2% sem vasoconstritor com conservante 2,31 US\$; 0,12 US\$ por ml/ (Laboratório Cristália Itapira, Brasil) e Lidocaína isobárica 2% 5 ml sem vasoconstritor 1,39 US\$ por frasco de uso único (Laboratório Cristália Itapira, Brasil).⁽²⁾

A lidocaína é um eficiente agente anestésico local. Atua por bloqueio dos canais de sódio, conduzindo à inibição do potencial de membrana. A injeção intracameral de lidocaína atua sobre todas as fibras nervosas na câmara anterior e proporciona anestesia e acinesia da íris.⁽³⁾ Estudos anteriores têm relatado que em baixa concentração, a lidocaína sem conservante não parece danificar o endotélio corneano.⁽⁴⁻⁶⁾ A lidocaína com conservante induz poucas alterações ultra estruturais nas células endoteliais corneanas de coelho, além de uma diminuição no número de microprojeções na superfície endotelial avaliado por microscopia eletrônica.⁽⁷⁾

Há redução intraoperatória do desconforto durante a cirurgia de catarata com o uso da injeção intracameral de lidocaína 1% sem conservantes, utilizada em conjunto com um anestésico tópico. Além disso, o uso de lidocaína intraocular não

causa danos ao endotélio corneano, avaliado pela contagem de células e espessura da córnea.⁽⁸⁾

Estudo utilizando cultivo celular demonstrou que a redução de células endoteliais corneanas após o uso intracameral de 0,3 ml de lidocaína a 1% sem conservantes é comparável com o número de células endoteliais corneanas perdidas após a extração da catarata utilizando outros anestésicos locais.⁽⁹⁾

Estudos anteriores com animais *in vivo* e *in vitro* demonstraram ausência de citotoxicidade da lidocaína sem conservantes sobre o endotélio da córnea, quando utilizada em concentrações de 1% ou menor, mas significativos danos ocorrem quando com concentrações de 2% ou maior.⁽¹⁰⁻¹²⁾

Recente estudo, utilizando formulações comerciais de lidocaína com conservantes, demonstrou que a citotoxicidade da lidocaína é dependente da dose. As formulações comerciais de menor concentração com adrenalina (1% ou 2%) não foram citotóxicas, mas as formulações com concentração mais elevada sem epinefrina (2% e 4%) eram citotóxicas para as células endoteliais corneanas. Estes resultados parecem indicar que a lidocaína a 1% ou 2 %, mesmo com conservante, pode ser seguro para uso clínico intracameral.⁽¹³⁾

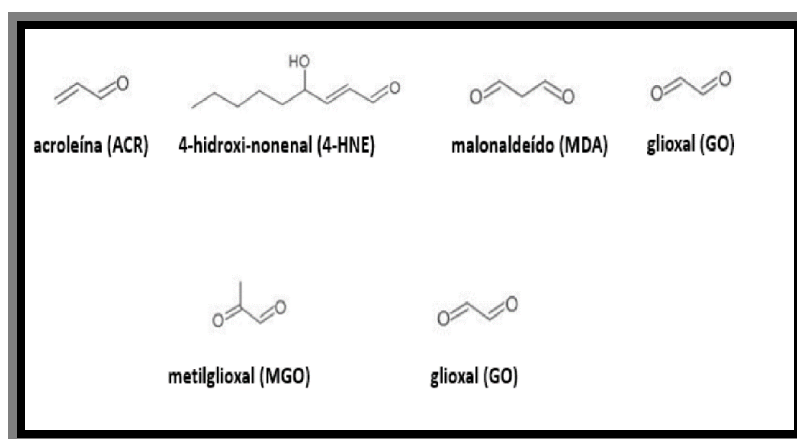
Células endoteliais da córnea de coelho, animal comumente utilizado em oftalmologia por sua semelhança anatômica com o olho humano, mostram diferenças importantes quando comparadas com células endoteliais humanas. Em coelhos, o endotélio cura facilmente pela migração celular e proliferação mitótica, sendo que defeitos endoteliais podem ser reparados em até dois dias em modelos experimentais.⁽¹⁴⁾ Nos seres humanos, existe também a migração de células endoteliais, mas quase nenhuma atividade mitótica. A apoptose induzida pode resultar na perda de células permanentes e espessamento do endotélio corneano. No entanto, existe uma elevada reserva funcional do número de células endoteliais na córnea humana (até 80%), impedindo a descompensação endotelial, pelo menos até um dano moderado.^(15,16)

O estresse oxidativo (EO) é classicamente definido como um evento resultante do desequilíbrio de magnitude entre substâncias oxidantes e antioxidantes, as quais são geradas em um cenário de reações de óxido-redução, onde a oxidação

implica em perda de elétron e a redução, em ganho.^(17,18) Visto que a geração e a ação dessas substâncias dependem do sistema de óxido-redução, o termo desequilíbrio do sistema *redox* tem sido utilizado para se referir ao EO.^(19–22)

Comumente denominadas radicais livres, as espécies oxidantes incluem as espécies reativas *de oxigênio* e nitrogênio (ERON)⁽²³⁾ as quais, quando se encontram em excesso, podem danificar todo o tipo de moléculas como DNA, lipídeos, carboidratos e proteínas. Dentre as complicações que refletem os danos às macromoléculas, as proteínas merecem destaque, pois, ao apresentar sua estrutura modificada pelo EO perdem sua função biológica.^(24,25) As mudanças oxidativas nas proteínas podem ocorrer diretamente em seus aminoácidos por ERON, mas também por reações secundárias originadas dos subprodutos do EO, conhecidos por Espécies Carbonila Reativas (ECRs).^(26,27)

As ECRs são quimicamente classificadas como aldeídos ou cetonas que apresentam um grupamento carbonila (C=O) em sua estrutura. As ECRs formadas da oxidação de lipídeos (lipoxidação) geram produtos como o malondialdeído (MDA), glioxal (GO), acroleína (ACR), 4-hidroxi-nonenal (4-HNE) e as originadas da oxidação de açúcares (glicoxidação) geram glioxal (GO) e metilglioxal (MGO) (Figura 1). As ERCs originadas tanto da lipoxidação quanto da glicoxidação ligam-se com as proteínas modificando-as pela formação irreversível de adutos.⁽²⁸⁾



Fonte: Representação química das moléculas.

Figura 1. Estrutura de espécies carbonila reativas. Produtos da lipoxidação: ACR, 4-HNE, MDA e GO; produtos da glicoxidação: MGO e GO.

A reação entre ECRs e proteína, denominada carbonilação, origina as chamadas proteínas carbonilas (PCOs), que incluem os AGEs (*Advanced Glycation End Products*) e ALES (*Advanced Lipoxidation End Products*).⁽²⁹⁾ Essas reações

ocorrem devido à natureza eletrofílica dessas espécies que reagem com proteínas oxidando resíduos nucleofílicos de aminoácidos como Lisina, Histidina e Cisteína (Lis, His e Cis) originando produtos tóxicos que vêm sendo investigados como biomarcadores em diferentes condições patológicas, por estarem envolvidos no desequilíbrio dos mecanismos celulares comprometendo diversos órgãos. Esses indicadores podem ser usados para avaliar o nível de estresse oxidativo de diversas doenças, incluindo as oculares.^(30,31)

Em contrapartida, um sistema antioxidante existe para contrabalancear o estresse oxidativo. A glutathione e outras enzimas antioxidantes e os grupos tióis protegem o olho contra o estresse oxidativo.⁽³²⁾ A córnea contém uma elevada concentração de glutathione reduzida, que mantém os grupos tiol sob a forma reduzida. Ela contribui para a manutenção da transparência do cristalino. Alterações na enzima glutathione na córnea ocorrem com o envelhecimento, catarata, diabetes, irradiação e da administração de algumas drogas.⁽³³⁾

O endotélio corneano desempenha um papel crucial na manutenção da *deturgescência* corneana; portanto qualquer dano mecânico e químico para esta monocamada pode cursar com sua descompensação. Durante a cirurgia do segmento anterior do olho, a injeção intracameral de agentes anestésicos pode danificar o endotélio corneano.⁽³⁴⁾

2 Revisão da literatura

2.1. Cirurgia de Catarata

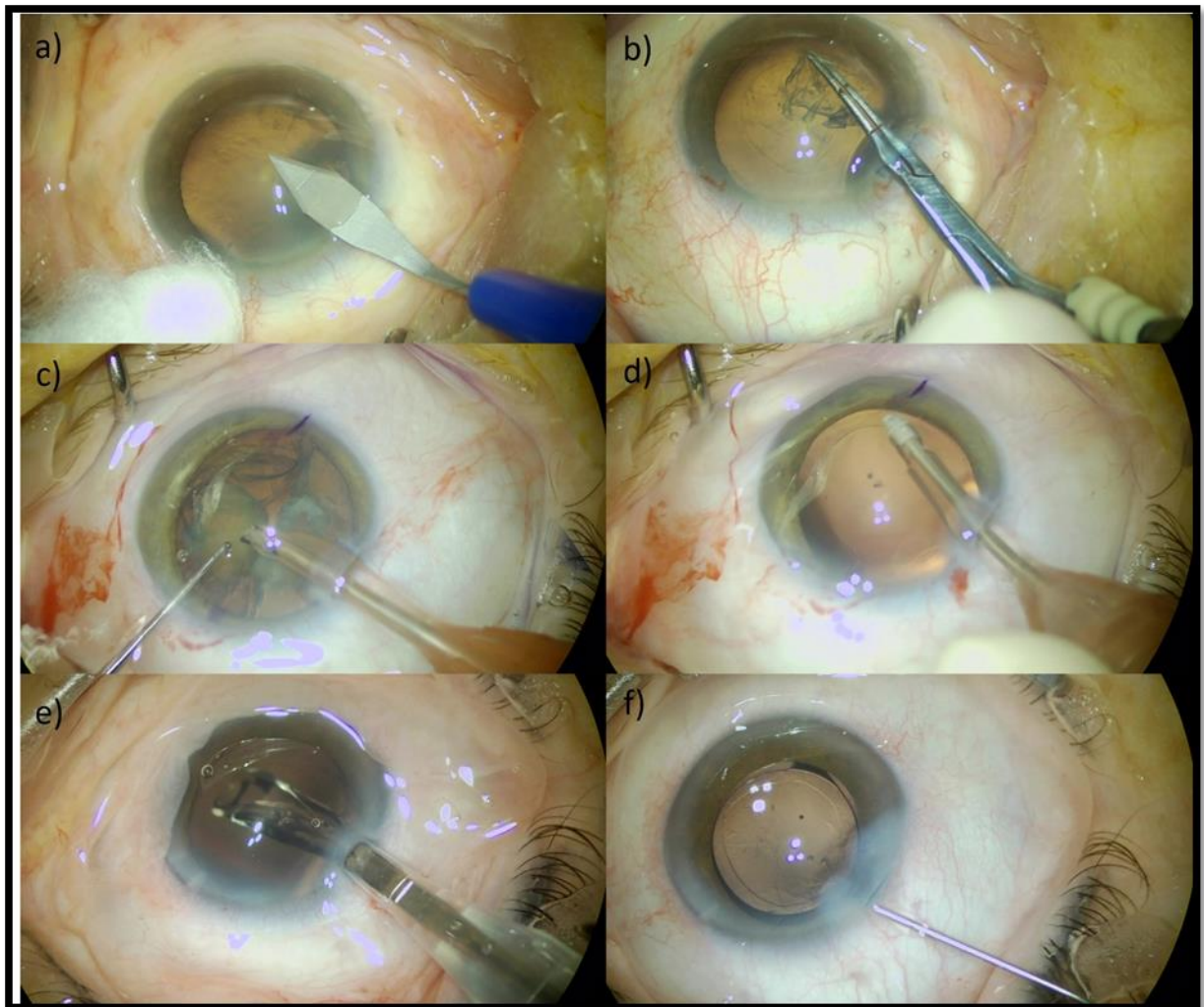
Em 1967, um oftalmologista americano, Charles Kelman, revolucionou a cirurgia de catarata quando introduziu a facoemulsificação como uma forma alternativa a cirurgia extracapsular. A técnica proposta utiliza uma “caneta” que faz vibrar uma ponteira em ondas ultrassônicas, com emulsificação, seguida de aspiração do cristalino através de uma incisão que pode ser menor que 2,0mm. ⁽³⁵⁾

O procedimento de facoemulsificação atual é realizado da seguinte maneira: dilatação pupilar pré-operatória com colírios midriáticos. Na sala de cirurgia, após preparo estéril com iodopovidona, o olho é adequadamente exposto com um blefarostato e posicionado sob microscópio cirúrgico. Inicia-se com uma incisão principal, feita com lâmina ou laser de *femtosegundo*, com diâmetro que pode variar de 1,8 mm a 2,75 mm de tamanho, e outra incisão acessória de 0,8mm, localizadas em meridianos opostos, confeccionadas de forma multiplanar, para auto selar ao término do procedimento, sem necessidade de pontos. ⁽³⁶⁾

Em seguida, uma abertura circular contínua é feita na cápsula anterior (capsulorrexe) do cristalino, de forma manual ou com auxílio de laser. Após isso, o núcleo do cristalino é desprendido do equador por um jato controlado na periferia inferior da cápsula anterior do cristalino com cânula de 25 *gauges*, contendo solução salina balanceada, o que possibilita a rotação da catarata e manipulação dentro do saco capsular. A caneta de facoemulsificação é então introduzida no olho para quebrar e aspirar o material opaco do cristalino. Diversas técnicas podem ser aplicadas para a quebra do núcleo, o que torna a extração um procedimento dinâmico, moderno e individualizado para cada paciente. Algumas técnicas para fratura do núcleo são consideradas livres de ultrassom, o que reduz o gasto energético, com menor dissipação de calor, preservando a camada endotelial da córnea, além de facilitar a “captura” e “conquista” dos fragmentos. ⁽³⁶⁾

A porção posterior da cápsula do cristalino deve permanecer intacta e servirá para abrigar a prótese, denominada lente intraocular, que se aloja no interior do saco capsular. A lente intraocular desde sua concepção sofreu diversas mudanças, tanto em tamanho, material e funções ópticas. Atualmente, são implantadas dobradas,

com auxílio de um injetor e quando no interior do olho, se acomodam dentro do saco capsular. Além de restabelecer a visão do paciente como uma prótese fixa e definitiva, permite a correção de grau e independência da correção óptica quando possível pelas condições anatômicas do paciente⁽³⁶⁾ A sequência cirúrgica está ilustrada na figura 2.



Fonte: Própria autoria.

Figura 2. Sequência cirúrgica da facoemulsificação. a) Incisão corneana em córnea clara com lâmina 2,4 mm para acesso a câmara anterior. b) Capsulorrexe circular contínua de 5,5 mm de diâmetro no centro da cápsula anterior. c) Facoemulsificação da catarata. d) Aspiração de restos corticais e polimento de cápsula anterior. e) Implante de lente intraocular. f) Hidratação do estroma corneano para selar incisões.

A facoemulsificação reduz os efeitos adversos associados a técnicas cirúrgicas intra e extracapsulares, mas possíveis complicações podem ocorrer. Pela caneta fragmentadora estar na câmara anterior, alguns efeitos nocivos a córnea

podem ocorrer seja pelo efeito mecânico do ultrassom, trauma direto dos fragmentos da catarata que reverberam na aspiração, energia térmica pela vibração da ponteira, irregularidades osmóticas causada pela solução que está circulando e estresse oxidativo pelos radicais livres formados. Durante a facoemulsificação há produção de radicais hidroxila, os quais podem ser quantificados pelo método da desoxirribose. Após uma reação com o radical hidroxila, a 2-deoxy-D-ribose se degrada para formar malondialdeído (MDA).⁽³⁷⁾

A presença de moléculas orgânicas (por exemplo, glutatona, dextrose, metilcelulose, viscosirúrgicos oftálmicos) podem limitar os danos associados à formação de radicais livres. Além disso, para minimizar o estresse oxidativo durante o procedimento é importante ter experiência cirúrgica e ajustar os parâmetros (poder do ultrassom, vácuo e taxa fluídica balanceada) do facoemulsificador a fim de melhor eficiência com menor geração de energia possível, a qual pode ser quantificada em tempo real durante o procedimento pelo parâmetro Energia dissipada cumulativa (CDE), ou seja, a quantidade de energia de ultrassom usada para remover a catarata.⁽³⁷⁾

A caneta ultrassônica vibra de forma a quebrar a catarata e possibilitar a aspiração. A modernização do aparelho o tornou mais efetivo ao ponto de se observar uma redução pela metade nas concentrações médias de MDA quando se compara o uso de canetas com modo ultrassom torcional e longitudinal em relação ao longitudinal estrito.^(38,39)

Um aumento da expectativa de vida da população, o acesso a saúde, e a procura por tratamentos mais precoces como possibilidade de independência de óculos, têm elevado os números de cirurgias de catarata em todo mundo.

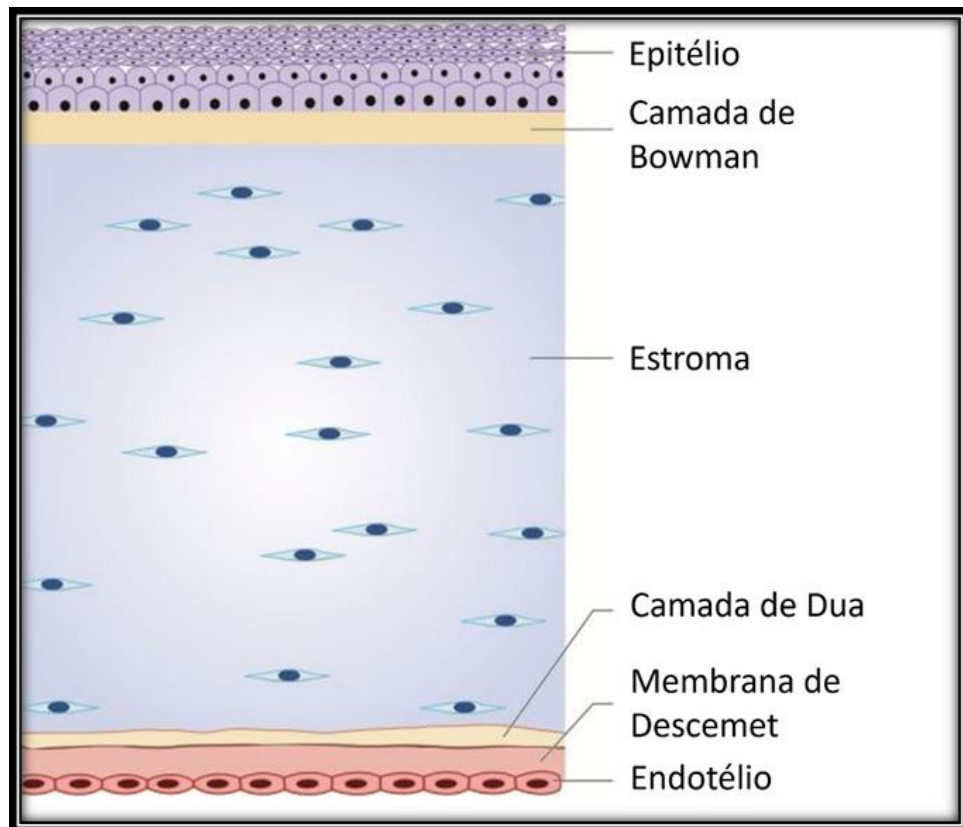
2.2 Córnea

a) Anatomia Estrutural e Constitutiva da Córnea

A córnea contém camadas celulares organizadas em padrões distintos. Além disso, a composição de cada camada é única, com variações no tipo e na densidade de colágenos, elastinas, fibronectinas, lamininas e proteoglicanos, as quais conferem propriedades mecânicas amplamente diferentes.

Sua espessura, de aproximadamente 550 μm , é capaz de transmitir mais de 80% da luz visível (400-700 nm) através de uma estrutura densa de proteínas, principalmente colágeno, que diferente de outras partes do corpo, é transparente.⁽⁴⁰⁾

A partir da superfície anterior, temos as seguintes estruturas (Figura 3):



Fonte: Khurana A, Khurana B, Khurana A. Diseases of Cornea. In: Comprehensive Ophthalmology. Jaypee Brothers Medical Publishers (P) Ltd.; 2015.

Figura 3. Histologia da córnea.

1. O filme lacrimal, composto por camadas lipídica, mucosa e aquosa, com aproximadamente 3 μm de espessura. Proporciona lubrificação, proteção por meio de fatores imunológicos dissolvidos e transparência.

2. A camada epitelial, de 53 μm de espessura, sustentada por uma membrana basal epitelial com apenas 0,3 μm de espessura, constituída principalmente de colágeno e laminina.

3. Abaixo dela, está a camada de Bowman, acelular, com cerca de 17 μm de espessura, repleta de fibras colágenas orientadas aleatoriamente.

4. Abaixo da camada de Bowman encontra-se o estroma da córnea, com espessura variável, em torno de 500 μm , composto por fibras de colágeno minuciosamente organizadas em lamelas, sustentadas por proteoglicanos e orientadas de forma paralela à superfície e entrelaçadas em ângulos variados.⁽⁴¹⁾

5. A membrana de pré-Descemet, também chamada de camada de Dua, é semelhante aos tecidos estromais. Diferencia-se na distribuição de proteoglicanos e pela maior densidade de lamelas e espaçamento entre as fibras de colágeno.

6. A membrana de Descemet, com cerca de 3 μm de espessura, é uma camada fibrosa acelular secretada pelas células endoteliais, as quais formam uma monocamada celular.⁽⁴²⁾

7. Endotélio corneano que será descrito a seguir em detalhes.

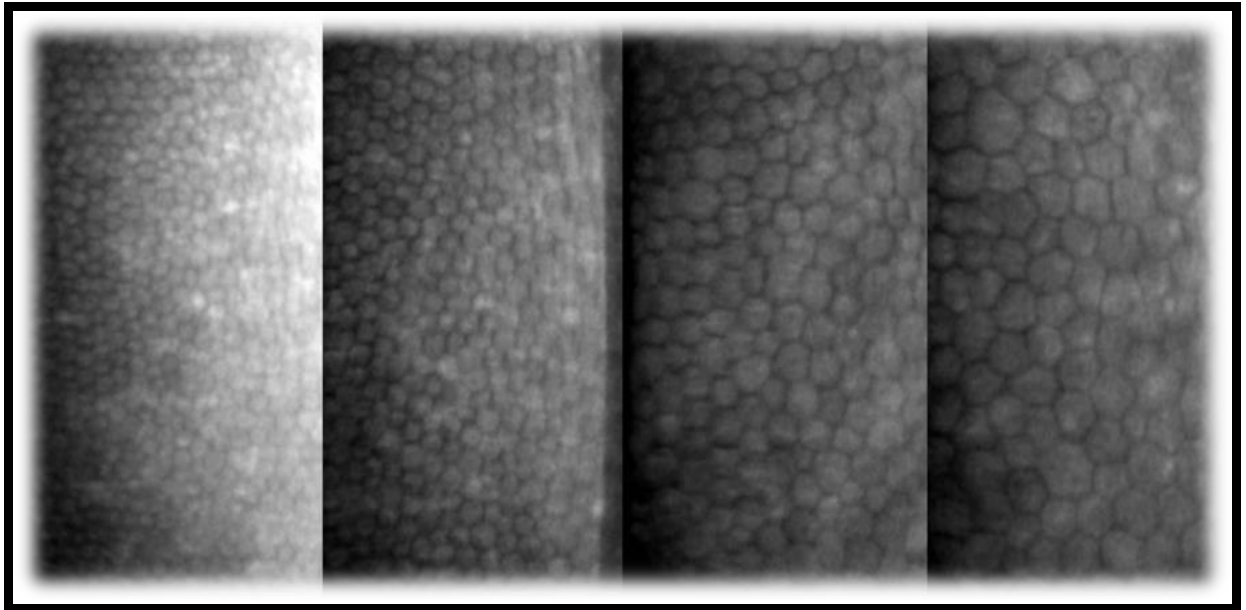
b) O endotélio corneano

O endotélio da córnea consiste em uma monocamada de células poligonais cuja função é manter a deturgência do tecido sendo dependente da bomba Na^+/K^+ -ATPase. Apresenta densidade numérica maior ao nascimento (3000 células/ mm^2) com redução lenta, porém constante ao longo da vida humana (figura 4). A densidade numérica mínima de 400–500 células/ mm^2 é necessária para manter o tecido corneano sem edema e transparente.⁽⁴³⁾

A disfunção pela morte celular leva a descompensação endotelial e edema corneano, causando opacidade visual, borramento e até perda da visão. Há capacidade limitada dessas células de se regenerar por migração celular, a qual ocorre da periferia para o centro corneano. Esta situação pode ser agravada por certas doenças, como traumas, distrofia endotelial de Fuchs (DCEF), por inflamações intraoculares de causas diversas ou após cirurgias intraoculares.⁽⁴³⁾

As cirurgias intraoculares representam um insulto e um trauma para o endotélio corneano, podendo levar a um aumento transitório na espessura da córnea medida por paquimetria ultrassônica por entrada de líquidos para dentro da estrutura corneana, além da redução da contagem celular por morte celular.⁽⁴³⁾

A avaliação pré operatória do paciente define o valor basal numérico, o mosaico endotelial e serve como base para prognóstico pós cirurgico. A depender do trauma, os pacientes recuperam os valores pré-operatórios entre 30 e 90 dias, com redução em média numérica de 10 a 20% do número de células endoteliais após uma facectomia sem complicações.

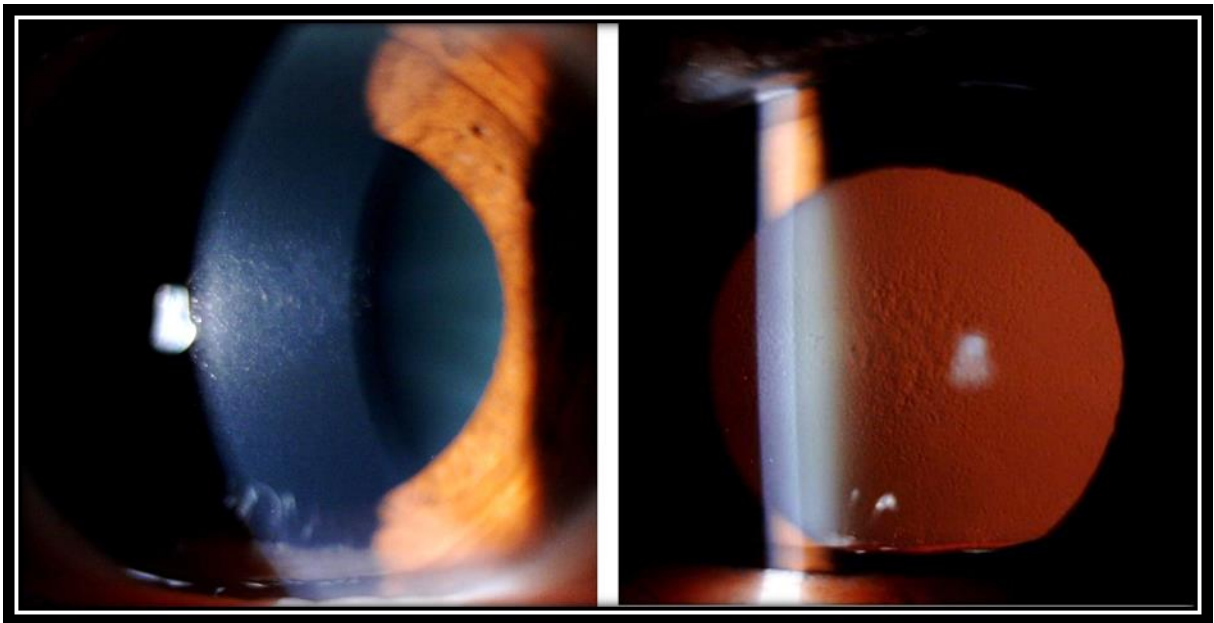


Fonte: Própria autoria.

Figura 4. Evolução do mosaico endotelial com envelhecimento corneano demonstrado ao exame de microscopia especular de córnea. Observa-se redução natural senil da celularidade endotelial. Da esquerda para direita os valores de células endoteliais fornecidos microscópio especular (EM-3000 tomye): 3500/2500/1500/750 células/ mm² respectivamente.

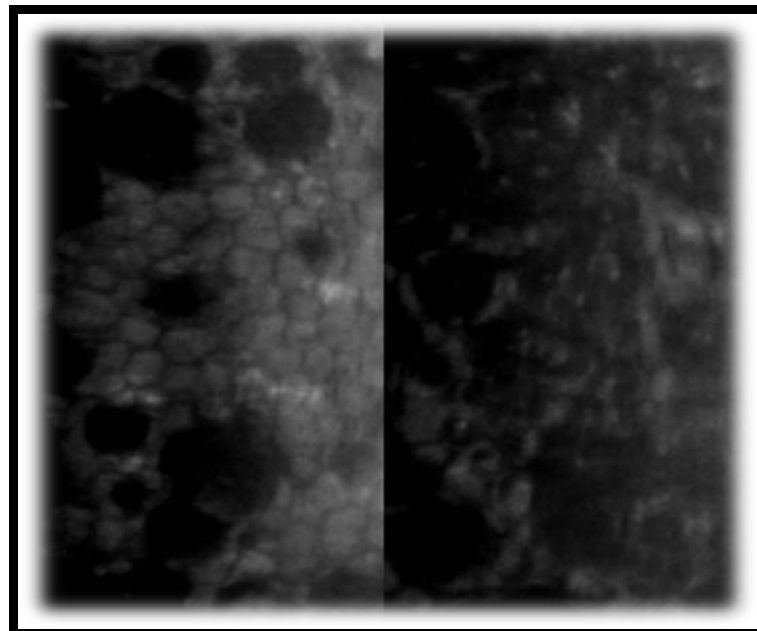
A DCEF é um distúrbio relacionado à idade que afeta indivíduos de forma bilateral, especialmente mulheres, com mais de 40 anos de idade. Geralmente segue um padrão de herança autossômica dominante.⁽⁴⁴⁾

Ao exame de biomicroscopia anterior observa-se por um espessamento da membrana de Descemet com aspecto de rugosidades (Guttatas) (figura 5). Este aspecto refletivo do endotélio semelhante a um metal batido se deve a perda acelerada de células endoteliais (figura 5). O centro corneano depende da migração celular periférica. A regeneração endotelial reflete alterações no mosaico endotelial quando analisada por microscópio especular de córnea. Observa-se anormalidades no tamanho celular (polimegatismo) e variações na forma hexagonal (pleomorfismo) (figura 6).⁽⁴⁵⁾



Fonte: Própria autoria

Figura 5. Espessamento da membrana de Descemet com aspecto de rugosidades (Guttatas) ao corte lateral da lâmpada de fenda a esquerda e aspecto em metal batido do reflexo posterior da córnea a trans iluminação a direita.



Fonte: Própria autoria.

Figura 6. Microscopia especular com anormalidades no tamanho celular (polimegatismo) e variações na forma hexagonal (pleomorfismo) em imagem a esquerda e intensa fibrose endotelial a direita.

As células endoteliais da córnea são metabolicamente mais ativas devido ao fluxo constante de íons e fluidos e possuem uma população maior de mitocôndrias

em comparação com todos os outros tecidos oculares. Na DCEF há um aumento do estresse oxidativo em células endoteliais da córnea descompensadas com um sistema mitocondrial ineficiente. O estresse oxidativo desencadeia uma série de processos fisiopatológicos: desequilíbrio da função oxidante-antioxidante em comparação com a células endoteliais normais; acúmulo de lesões de ADN (ácido desoxirribonucleico) oxidado, alterações morfológicas e apoptose em células endoteliais.⁽⁴⁶⁾

O ADN mitocondrial (mtADN) é particularmente suscetível a danos oxidativos devido alguns fatores inerentes; ele está localizado próximo a cadeia de espécies reativas de oxigênio, não é recoberto por histonas e carece de um sistema de reparo forte em comparação com o nuclear. Outra razão importante para a perda de células endoteliais da córnea e desenvolvimento de edema é a ceratopatia bolhosa, um dano ao endotélio durante a cirurgia, principalmente a facectomia. Importante destacar que nesta afecção, o estresse oxidativo não é um fator inerente comprovado pela análise dos níveis de 8-OHdG em córneas receptoras de transplante, portanto a perda endotelial pregressa está aliada às drogas utilizadas intraoculares durante o ato operatório, trauma cirúrgico mecânico ou térmico.⁽⁴⁶⁾

Embora os cirurgiões se esforcem para aprimorar as técnicas menos invasivas como transplantes endoteliais e que apresentem melhor reabilitação visual, refracional e menor taxa de rejeição em relação ao transplante penetrante de córnea, os procedimentos cirúrgicos são sempre uma batalha desgastante tanto social como econômica ao paciente, médico e sistema de saúde. Uma fórmula revolucionária de colírio contendo um inibidor (Y-27632) de Rho-quinase (ROCK) regenerou completamente as células endoteliais da córnea apoptóticas e terminalmente diferenciadas em macacos, o que serviu de modelo animal para aplicação em humanos.⁽⁴⁷⁾

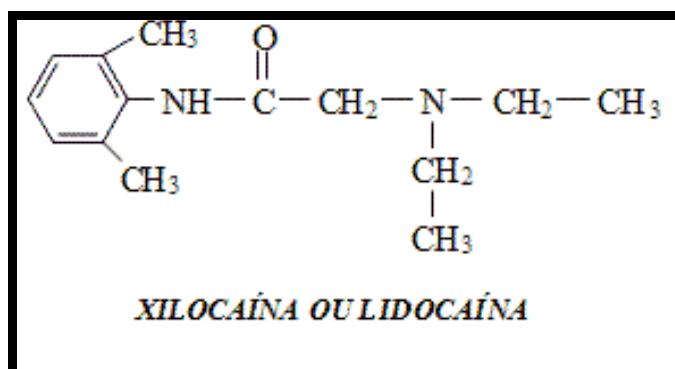
Após estudos animais e protocolos para uso em humanos, os mesmos pesquisadores administraram a medicação em colírio (6 vezes ao dia por 7 dias) e observaram a inibição da sinalização Rho/ROCK usando o inibidor de ROCK Y-27632, o que promoveu proliferação celular e possibilitou regenerar as células endoteliais dos pacientes com distrofia corneana.⁽⁴⁸⁾

No entanto, não basta somente repovoar o endotélio celular. Se as células endoteliais regeneradas desenvolverem focos nucleares patogênicos devido a repetições de *trinucleotídeos* (*expansão de microssatélites*), uma camada não saudável de endotélio será formada. A administração de oligonucleotídeos antisense contra repetições *CUG* expandidas bloqueou focos de ARN (ácido ribonucleico) em células derivadas. Após o tratamento, essas células reduziram significativamente o número de focos de ARN e restauraram parcialmente os eventos de splicing alternativo dos genes MBNL1, IN2 e ADD3.⁽⁴⁹⁾

Ambos os métodos, colírios inibidores de ROCK e oligonucleotídeos antisense, são técnicas terapêuticas não invasivas promissoras, e poderão ser usados em combinação, permitindo uma abordagem micromolecular genética do paciente com DECF ou outras afecções que cursem com redução do número de células endoteliais.

2.3 Lidocaína

A lidocaína foi sintetizada pela primeira vez sob o nome Xylocaine® por Nils Lofgren, em 1942, e vendida comercialmente em 1948. É um anestésico local do tipo *aminoamida*, com ação antiarrítmica, analgésica, sedativa e anti-inflamatória. A ligação entre a cadeia intermediária e o grupo aromático se faz por uma ligação amida. Sua amina terciária atua como receptora de prótons, fazendo com que se comporte como uma base fraca e, quando em sua forma quaternária, protonada, a porção amina é hidrossolúvel. A fórmula abaixo (Figura 7) representa a lidocaína com um anel aromático, ligada a uma amina terciária por uma cadeia intermediária.⁽⁵⁰⁾



Fonte: Representação química da forma de lidocaína

Figura 7. Fórmula química da molécula de lidocaína.

Os anestésicos locais são bases fracas, portanto insolúveis em água. Para que se tornem hidrossolúveis são adicionados ao ácido clorídrico em uma reação ácido-base. Desta forma, num frasco de anestésico local temos a droga sob a forma de cloridrato, em solução aquosa. Nesta solução, parte do anestésico local estará na forma ionizada e parte, na forma não ionizada. O grau de ionização do anestésico depende do pKa da droga e do pH do meio, o qual é regido pela equação de Henderson-Hasselbach: $pKa - pH = \log \text{ionizado/não ionizado}$.⁽⁵¹⁾

A constante de acidez (Ka) geralmente é expressa pelo negativo do seu logaritmo (pKa) do seu ácido conjugado, ou seja, quanto maior o pKa do ácido conjugado, mais forte será a base. A lidocaína pode existir em formas ionizadas ou não ionizadas. No nível fisiológico de pH 7,4, 25% da droga está presente na forma não ionizada devido ao seu pKa de 7,9. A porção não-ionizada atravessa a membrana mais facilmente que a ionizada. Assim, a droga com maior fração não-ionizada em pH fisiológico alcança seu sítio efetor de forma mais rápida. A forma ionizada do anestésico local liga-se de modo específico aos canais de sódio, inativando-os e impedindo a propagação da despolarização celular.⁽⁵¹⁾

A concentração de lidocaína usada durante a cirurgia de catarata pode variar. Dentro de estudos de revisão, a dose ocular intracameral mais comum utilizada foi a de 2%. Isso provavelmente indica a concentração mínima necessária a ser utilizada para obter um efeito analgésico nos pacientes.⁽⁵²⁾

Outros estudos mostraram o uso da lidocaína em concentrações menores de 1% e 1,5% e maiores de 2,5%, 3,5% e 4%.⁽⁵³⁾ Entende-se que há uma variabilidade entre pacientes para alcançar o efeito analgésico ou que diferentes procedimentos podem requerer uma concentração maior/menor de lidocaína para garantir a segurança do paciente, entretanto doses elevadas podem ser tóxicas ao endotélio corneano.⁽¹²⁾

2.4 Tipos de anestesia em cirurgia de catarata.

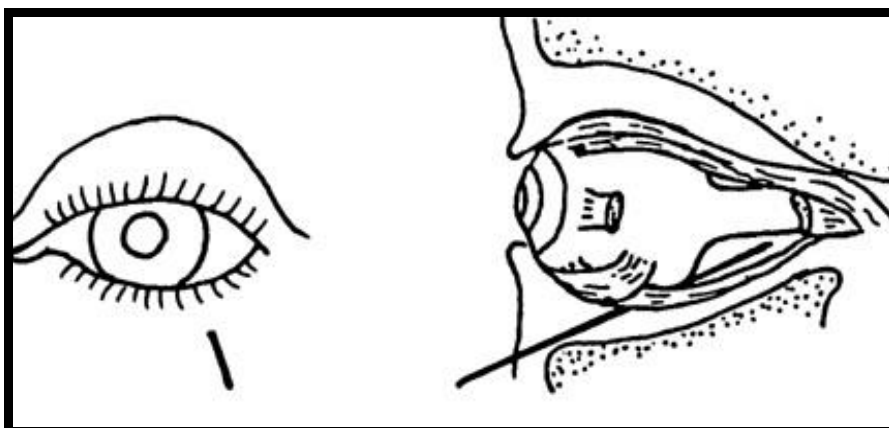
a) Anestesia geral

Reservada para crianças, mas também pode ser considerada em pacientes que podem não cooperar por distúrbios mentais ou neurológicos. Apresenta maiores riscos clínicos e eventos negativos. Portanto, seu uso é restrito e deve ser bem analisado.⁽⁵⁴⁾

b) Anestesia Retrobulbar

A maioria dos cirurgiões foi treinada usando a técnica de Atkinson (ou uma variação). Na clássica descrição de Atkinson de 1936, pede-se ao paciente que olhe na direção “para cima e para dentro”. A agulha é introduzida através da pele abaixo da pálpebra inferior na junção entre o terço lateral e os dois terços mediais da borda orbitária inferior. A agulha é direcionada para o ápice da órbita (ligeiramente medialmente e cefálica) e avançada até uma profundidade de 25 a 35 mm. Um volume de aproximadamente 4 mL de solução de anestésico local é então injetado (Figura 8).⁽⁵⁵⁾

Os bloqueios retrobulbares modernos são realizados com o olho na posição neutra. A posição de olhar “para cima e para dentro” de Atkinson foi abandonada quando estudos alertaram o aumento do risco de lesão do nervo óptico, uma vez que essa posição coloca o nervo óptico próximo ao trajeto da agulha. Além disso, o nervo óptico é esticado e pode ser ferido facilmente pela agulha, em vez de ser empurrado para o lado.⁽⁵⁶⁾



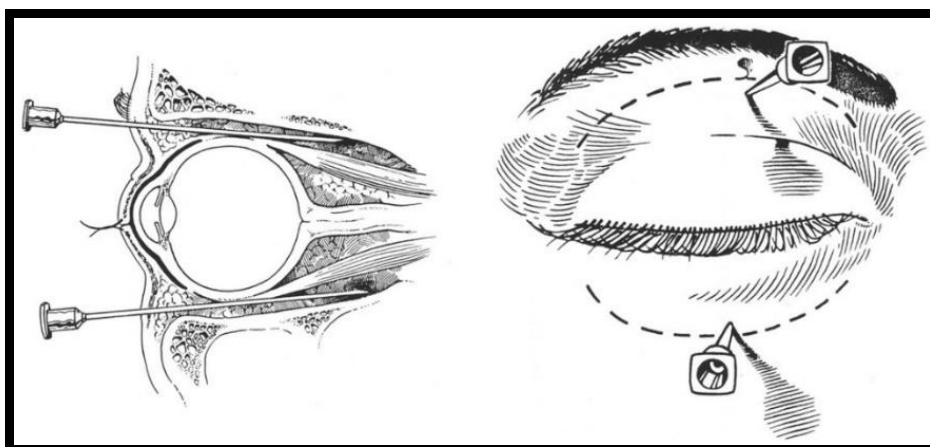
Fonte: Figura extraída de WONG et al., 1993.

Figura 8 - Representação esquemática da técnica para anestesia retrobulbar.

c) Anestesia Peribulbar

Na anestesia peribulbar, a agulha é introduzida no espaço extraconal. A técnica clássica envolve duas injeções. A primeira injeção é inferior e temporal, sendo a agulha introduzida no mesmo local da injeção de anestesia retrobulbar, mas com menor ângulo de subida e descida até uma profundidade de 15 mm ou menos. A segunda injeção é superior e nasal, entre o terço medial e os dois terços laterais da borda do teto orbitário.⁽⁵⁷⁾

O volume injetado de solução anestésica (6–12 mililitros) é maior do que para uma injeção retrobulbar. Esse volume maior permite que o anestésico se espalhe por todo o corpo adiposo da órbita, incluindo o espaço intraconal, onde estão localizados os nervos a serem bloqueados. Além disso, pelo maior volume injetado, o anestésico se difunde para os tecidos anteriores até o nervo do músculo orbicular, causando analgesia e acinesia da pálpebra (Figura 9).⁽⁵⁷⁾



Fonte: Figura extraída de DAVIS; MANDEL, 1986.

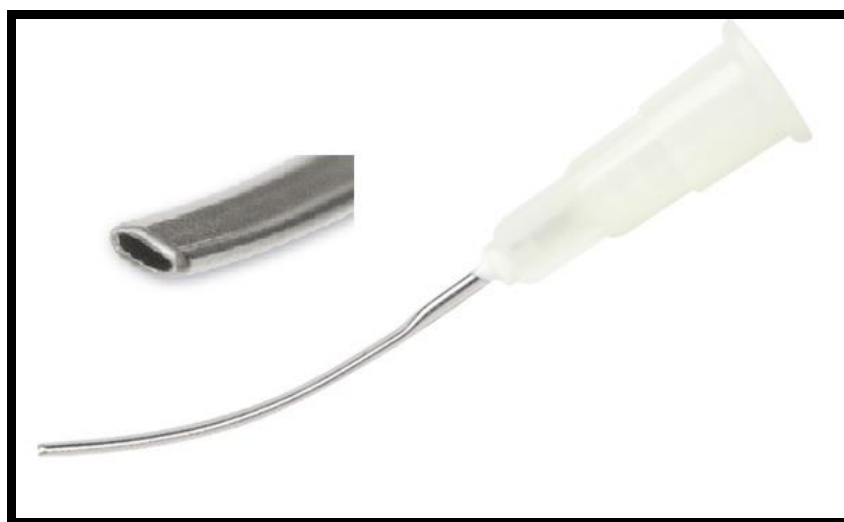
Figura 9. Representação esquemática da técnica para anestesia peribulbar.

d) Anestesia Subtenoniana

A cápsula de Tenon é uma bainha que envolve o globo e o separa da gordura orbital. Anteriormente, a cápsula de Tenon se funde com a conjuntiva logo atrás do limbo. Posteriormente, a cápsula de Tenon se funde com as meninges ao redor do nervo óptico e esclera na saída do nervo óptico. Os tendões dos seis músculos extraoculares perfuram a bainha à medida que passam para suas inserções no

globo. Portanto, existe um espaço potencial entre a esclera e a cápsula de Tenon, que, pode fornecer acesso ao espaço retrobulbar. ⁽⁵⁸⁾

Uma cânula de ponta romba (Figura 10) é utilizada para administrar o anestésico atrás do equador do globo, por meio uma dissecção inferonasal realizada com tesouras de ponta romba através da conjuntiva e cápsula de Tenon até a esclera nua. Pequenos volumes de anestésico local no espaço subtenoniano posterior fornecem boa analgesia e volumes maiores se espalham pelas bainhas dos músculos extraoculares, causando acinesia. ⁽⁵⁸⁾



Fonte: Figura extraída de <https://dorcglobal.com/pt/produto/canula-para-anestesia-subtenoniana-curva-e-com-ponta-aplainada-19g-x-1-11-x-25-mm>. Acesso em: 06/10/2023

Figura 10. Cânula para anestesia subtenoniana, curva e com ponta aplainada.

e) Anestesia tópica

A facoemulsificação com implante de lente intraocular com anestesia tópica envolve a instilação de colírios anestésicos nos fórnices conjuntivais antes e durante a cirurgia. Descrita em 1992, é rentável e permite recuperação visual pós-operatória mais rápida do que a anestesia regional ou anestesia geral, sem risco de diplopia ou ptose pós-operatória. ^(59,60)

Pacientes relatam desconforto em determinados pontos da cirurgia, geralmente pela manipulação direta da íris ou movimento do seu diafragma como resultado de rápidas mudanças hidrodinâmicas. ⁽⁶⁰⁾

Uma injeção intracameral de anestésico local parece aumentar substancialmente a analgesia na abordagem tópica. Consiste na injeção de pequenas quantidades (0,1-0,3 ml) do anestésico na câmara anterior no início ou durante a cirurgia. Este tipo de procedimento é atualmente o mais utilizado pelo conforto e analgesia que fornece.⁽⁵²⁾ Até o momento soluções anestésicas livres de conservantes são tidas como as ideais para o procedimento devido as dúvidas sobre a segurança e efeitos tóxicos dos anestésicos locais no endotélio da córnea. Neste interim nosso estudo introduziu um parêntese a fim de elucidar e permitir o uso de anestésico locais com conservantes neste tipo de técnica, trazendo segurança clínica em cirurgia de catarata que utilizam este anestésico.⁽⁶¹⁾

2.5 Análise celular em anestesia intracameral

O uso de anestesia tópica combinada a intracameral em cirurgia de catarata está se tornando cada vez mais popular. Com o uso crescente da anestesia intracameral, possíveis alterações das estruturas intraoculares, incluindo células endoteliais da córnea, humor aquoso e função retiniana foram descritas.⁽¹²⁾

O uso de lidocaína 1% intracameral em cirurgia de catarata não demonstra alterações eletrofisiológicas na retina; entretanto em concentrações mais altas há citotoxicidade. A alteração do endotélio corneano também depende da concentração do agente anestésico. O uso de concentração superior a 2% sem conservante pode levar a alterações na espessura corneana, por edema, morte celular endotelial e perda da estrutura hexagonal das células endoteliais com aumento do polimorfismo celular.⁽⁶²⁾

A irrigação durante à facoemulsificação auxilia e limita a exposição da lidocaína aos tecidos intraoculares por alguns minutos e esta curta duração acaba não afetando demasiadamente a viabilidade do endotélio corneano.⁽⁶³⁾

Em essência, a literatura indica que há dois fatores principais relacionados ao dano celular das células endoteliais da córnea. Estes são: a concentração, ou seja, o valor da exposição, e o tempo de exposição ao agente intracameral que contém ou é gerador de radicais livres da via estresse de oxidativo. Reduzindo essas duas variáveis, a dissipação de radicais livres para o tecido ocular pode ser minimizada.

2.6 Estresse oxidativo

As espécies reativas do oxigênio (ERO) são compostos químicos resultantes da redução parcial do oxigênio molecular, energeticamente mais reativas, ou seja, são compostos que tem maior afinidade elétrica com outras substâncias podendo gerar uma cascata de reações. As formas mais comuns de EROs encontrados nas células são: ânion superóxido (O_2^-), radical hidroxila ($OH\cdot$), peróxido de hidrogênio (H_2O_2) e oxigênio singlete (1O_2).⁽⁶⁵⁾

As EROs podem ser resultados de fatores externos e ambientais, tais como reação as drogas, aos metais pesados e radiação ultravioleta. No entanto, a maioria das EROs são produzidas pela cadeia respiratória na mitocôndria.⁽⁶⁶⁾

Superóxido é gerado diretamente da redução do oxigênio e depois dismutado em peróxido de hidrogênio. O radical superóxido (O_2^-) é um radical livre moderadamente reativo, com uma meia-vida de 2-4 μs . Entretanto, o superóxido não pode atravessar as membranas biológicas e é prontamente dismutado a H_2O_2 . O peróxido de hidrogênio é uma molécula com baixa reatividade, mas pode facilmente penetrar na membrana celular e gerar a forma mais reativa de oxigênio, o radical hidroxila, através da reação de Fenton assistida ou de Haber-Wies ($H_2O_2 + Fe^{2+} \rightarrow Fe^{3+} + OH^- + OH\cdot$). Como as células não possuem mecanismos enzimáticos para eliminar essa espécie altamente reativa, seu acúmulo pode levar à morte celular.⁽⁶⁷⁾

Em condições fisiológicas ocorre um equilíbrio celular entre a geração e eliminação de EROs uma vez que as células eucarióticas têm vários mecanismos de defesas antioxidantes incluindo enzimas e antioxidantes. Há cinco principais tipos de enzimas antioxidantes intracelulares primárias, isto é, Cu/Zn-superóxido dismutase (Cu/Zn-SOD, SOD1) no citosol, superóxido dismutase dependente de manganês (SOD2) na matriz mitocondrial, catalase, glutational peroxidase (GPx) e glutational redutase (GR). As SODs desmutam o superóxido em oxigênio e peróxido de hidrogênio, enquanto catalase e GPx convertem peróxido de hidrogênio em água e oxigênio.⁽⁶⁸⁾

Os radicais livres têm o potencial de serem tóxicos para o epitélio da córnea e conjuntiva. A superfície ocular é normalmente protegida pelo filme lacrimal, cujos

componentes como lactoferrina, aldeído desidrogenase, superóxido dismutase e glutathione atuam como fatores protetores.⁽⁶⁸⁾

Em relação as formulações para uso intraocular com conservantes, como antibióticos, lidocaína 1-2%, solução salina balanceada, antiangiogênicos, triancinolona e carbachol, a quantificação isolada dos radicais livres estão na ordem de 0,5% de peróxido de hidrogênio. O possível potencial de dano ao endotélio corneano causados pelos radicais livres devem levar o cirurgião a considerar o uso cuidadoso e controlado destas substâncias particularmente em pacientes com córneas já com dano.⁽⁶⁴⁾

O presente estudo visa avaliar a segurança do uso de lidocaína 2% sem vasoconstritor com conservante vendida comercialmente, através da avaliação morfológica celular endotelial por microscopia especular e espessura central de córnea além de determinar o possível estresse oxidativo desta substância no humor aquoso de pacientes que serão submetidos a cirurgia de facoemulsificação.

3 Objetivo

Comparar os efeitos e consequências sobre a estrutura corneana e o estresse oxidativo gerado na câmara anterior em pacientes submetidos à facoemulsificação utilizando como solução anestésica lidocaína 2% intracameral com conservante e sem conservante.

4 Métodos e pacientes

4.1 Pacientes

Este é um estudo prospectivo, randomizado, duplo-cego, controlado, com intervenção, realizado em uma única unidade de cirurgia ambulatorial de catarata, em ambiente hospitalar multidisciplinar, localizado no Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina de Botucatu. O estudo recebeu aprovação do comitê de ética em pesquisa (parecer número: 5.159.217), assim como a anuência da instituição. Todos os pacientes do estudo assinaram o termo de consentimento livre e esclarecido.

Foram incluídos pacientes provenientes do ambulatório de catarata senil do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina de Botucatu com indicação de cirurgia de catarata tendo como critérios de exclusão: presença de doença corneana de Fuchs, catarata traumática, alterações segmento anterior congênitas, glaucoma e lesão retineana em curso por doenças degenerativas, vasculares ou inflamatórias.

A amostra foi composta por 41 olhos de 28 mulheres e 13 homens, randomizados de forma individual para serem alocados em dois grupos: grupo I no qual foi utilizada injeção intracameral de lidocaina 2% sem vasoconstritor e com conservantes e grupo II, no qual foi utilizada a injeção intracameral de lidocaina 2% sem vasoconstritor livre de conservantes, com seis blocos permutados quatro a quatro (AABB, BBAA, ABAB, BABA, ABBA, BAAB) sem o conhecimento do cirurgião ou do observador de qual substância estava sendo utilizada. O grupo I foi composto 20 pacientes e o grupo II por 21 pacientes.

Os parâmetros de avaliação foram:

1. Dados clínicos dos pacientes: Idade, gênero, lateralidade do olho operado, graduação clínica da opalescência nuclear do cristalino ⁽⁶⁹⁾, espessura central de córnea e contagem endotelial de córnea.

2. Dados cirúrgicos relacionados à facoemulsificação incluindo energia dispensada durante a cirurgia (CDE).

3. Dados laboratoriais: amostras do humor aquoso dos sujeitos da pesquisa foram coletadas para análise do estresse oxidativo de cada grupo.

Todos os pacientes foram avaliados no pré-operatório, primeiro dia e três meses após a realização da cirurgia. Exame oftalmológico em lâmpada de fenda (Zeiss SL 120 Slit Lamp) foi realizado para avaliação clínica. A densidade numérica central das células endoteliais da córnea (CE) (células/mm²) e espessura central de córnea (ECC) (micrômetro - μm) foram estimadas em fotomicrografias tiradas com microscópio especular de não contato EM-3000 (Tomey Corporation Nagoya, Japão) no momento pré-operatório e noventa dias após cirurgia.

Para aferição dos indicadores de estresse oxidativo, foi coletado o humor aquoso (vide técnica cirúrgica), injetados em criotubos e transportados em nitrogênio líquido para a Unidade de Pesquisa Experimental (UNIPLEX) da Faculdade de Medicina de Botucatu- UNESP onde foram estocados a -80 graus até serem determinadas as análises.

4.2 Avaliação do estresse oxidativo

Carbonilação de proteínas

A quantidade de 100 μL de humor aquoso foi adicionada no poço da placa de 96 wells. Em seguida, 100 μL de 2,4-dinitrofenilhidrazina (DNPH) (10 mM em HCl 2 M) foi acrescentado no poço e incubado por 10 minutos em temperatura ambiente. Posteriormente, foi adicionado 50 μL de NaOH (6 M) e novamente incubado por 10 minutos em temperatura ambiente. A leitura foi feita em 450 nm em leitor de placa de microplaca Spectra Max 190 (Molecular Devices®, Sunnyvale, CA, USA).

4-Hidroxinonenal

Foi mensurado pela da técnica de ELISA, utilizando kit comercial (OxiSelect™ Elisa Kit, Cell Lab Tech, Inc. San Aleso Ave, Suite 3C, Sunnyvale, CA). A leitura foi realizada em espectrofotômetro de microplaca Spectra Max 190 (Molecular Devices®, Sunnyvale, CA, USA).

4.3 Técnica cirúrgica

Pacientes foram submetidos a facectomia com implante de lente intraocular por um único cirurgião com experiência no procedimento (Prof. Dr. Antônio Carlos Lottelli Rodrigues).

Inicialmente uma incisão principal de 2,75 mm de largura foi realizada no meridiano mais curvo da ceratometria. Após incisão, 0,3 ml de anestésico intracameral lidocaína 2% com conservante metilparabeno (Xylestesin® - Laboratório Cristália Itapira, São Paulo, Brasil) e sem conservante (Xylestesin® isobárico - Laboratório Cristália Itapira, São Paulo, Brasil) foi injetada na câmara anterior. Depois de 15 segundos, o máximo possível de humor aquoso contendo anestésico foi aspirado (entre 0,1 e 0,3ml) com cânula de 25 *gauge* para quantificação do estresse oxidativo pós-anestésico. Feito estes passos, a câmara anterior foi preenchida com uma substância viscoelástica, seguida pela técnica de pré fratura através ganchos de pré – fratura para divisão da catarata e após realização de facoemulsificação utilizando o aparelho Infiniti Vision System (Alcon Laboratories, Fort Worth, Texas, Estados Unidos) para fragmentação e aspiração das massas cristalínias e implante de LIO hidrofílica Acry-philio-A (Leedsay medical products, Monte Aprazível, São Paulo, Brasil) no saco capsular.

4.4. Estatística

Para o cálculo do tamanho amostral do presente estudo, foi considerado o estudo de Srinivas et al (2000) em que a densidade de células para o grupo em estudo foi de 2525 ± 337 cells/mm² (intervalo, 1,195–3,590). Considerando que após o tratamento há uma redução de 10% no número de células, com uma confiabilidade de 95%, poder para detectar a diferença entre os grupos de 80%, o número mínimo de pacientes por grupo seria de 26 (total de 52). Em nosso estudo consideramos uma redução de 20%, portanto o tamanho amostral calculado foi de 20 pacientes por grupo.

Para as variáveis quantitativas, os dados foram descritos por suas médias e desvios padrão. A normalidade dos dados foi avaliada pelo teste de Shapiro-Wilk. A comparação das médias entre anestésicos foi feita utilizando o teste t-student.

Para as variáveis qualitativas, os dados foram descritos por sua frequência absoluta e relativa. A associação dessas variáveis com os anestésicos foi avaliada pelo teste qui-quadrado.

Os dados clínicos obtidos foram tabulados em planilhas do programa Microsoft Excel. Em todas as análises foi considerado o nível de significância de 5% ou o p-valor correspondente. Todas as análises foram feitas pelo programa SAS for Windows, v.9.4.

5 Resultados

A média de idade dos 41 pacientes incluídos era de 74,46 anos, desvio padrão $\pm 7,25$, variação de 60 até 87 anos. Vinte e oito (68,29%) pacientes eram do sexo feminino e 13 (31,71%), masculino. A análise descritiva para as variáveis idade, gênero, olho operado e classificação da catarata em graus está apresentada na Tabela 1. A associação dessas variáveis com os anestésicos, avaliada pelo teste qui-quadrado, não demonstra associação significativa.

Tabela 1. Dados demográficos e características clínicas do estudo. Grupo I (Grupo lidocaína com conservante) e Grupo II (Grupo lidocaína sem conservante).

Dados demográficos e características clínicas			
Variáveis	Grupo I	Grupo II	p valor
Idade (média $\pm$ DP)	73,90 $\pm$ 7,27	73,05 $\pm$ 7,39	0,7117 ^a
Gênero (n[%])			
Masculino	13 (35%)	15 (29%)	0,6584 ^b
Feminino	7 (65%)	6 (71%)	
Olho operado n[%])			
Direito	11 (55%)	11 (52%)	0,8665 ^b
Esquerdo	9 (45%)	10 (48%)	
Classificação catarata (n[%])			
N0-N2	15 (75%)	11 (52%)	0,1655 ^b
N3-N4	5 (25%)	10 (48%)	

Análises estatísticas foram realizadas por: ^a teste t de Student, ^b teste qui-quadrado.

Observou-se quantidades de energia semelhantes dissipadas pelo ultrassom do facoemulsificador utilizadas na abordagem entre os pacientes ($p = 0,4432$). O estresse oxidativo analisado por meio da dosagem 4-hidroxinonenal e Carbonilação de proteínas não apresentou diferença estatisticamente significativa entre os grupos I e II (respectivamente, $p = 0,550$ e $p = 0,912$), representados na tabela 2.

Tabela 2. Dados do Grupo I e II de energia dissipada (CDE) durante a facoemulsificação, dosagem de 4-hidroxinonenal e Carbonilação de Proteínas (quantificação estresse oxidativo). Grupo I (Grupo lidocaína com conservante) e Grupo II (Grupo lidocaína sem conservante).

Variáveis	Grupo I (média ± DP)	Grupo II (média ± DP)	p valor
Energia dissipada, CDE	9,95 ±8,72	12,10±9,03	0,4432 ^a
4-Hydroxynonenal ng/mL	0,71±0,36	0,64±0,39	0,5505 ^a
Carbonilação de proteínas nMol/mg	100,40±37,18	98,85±41,51	0,9121 ^a

Análises estatísticas foram realizadas por: ^a teste t de Student.

A mensuração pós-operatória da CE (Grupo I média = 1939,30 ± 592,87 e Grupo II = 1846,86 ± 536,87) em relação a pré-operatória (Grupo I média = 2321,70 ± 289,14 e Grupo II = 2242,29 ± 387,95) resultou em uma queda de 16,47% em Grupo I e 17,63% em grupo II, p= 0,9926.

Em relação a ECC os resultados da análise de 90 dias (Grupo I média = 551,6 ± 35,24 e Grupo II média = 528,52 ± 29,92) foram muito semelhantes ao basais entre dois grupos (Grupo I média = 551,6 ± 35,24 e Grupo II média= 528,52 ± 29,92), p = 0,7554.

Tanto a CE como ECC avaliada no pré-operatório e após 90 dias da cirurgia não mostrou diferença entre as médias dos percentuais em ambos os grupos estudados. Os valores de média, desvio padrão e significância estatística de CE e ECC assim como número de sujeitos de estudos para variável em cada grupo estão representados na tabela 3.

Tabela 3. Diferença percentual da CE (contagem endotelial de córnea) e ECC (espessura central de córnea) entre os momentos pré-operatório e 90 dias. N = Número de pacientes em cada grupo.

	Grupo	N	Média ± DP	p valor
CE	I	20	16.41 ± 24.01	p=0.9926 ^b
	II	21	16.48 ± 23.66	
ECC	I	17 ^a	0.30 ± 4.63	p=0.7554 ^b
	II	19	0.67 ± 2.33	

^a Dados não disponíveis para 5 pacientes. Análises estatísticas foram realizadas por: ^b teste t de Student.

6. Discussão

A nossa hipótese para o presente estudo foi a segurança do uso de um anestésico intracameral com conservante, lidocaína 2%, visando avaliar se este anestésico poderia ser usado desta forma. Para confirmar a nossa hipótese, analisamos a estrutura corneana assim como os metabolitos nocivos gerados pelo estresse oxidativo intracameral logo após sua aplicação. Seguindo a metodologia proposta, baseada em randomização e cegamento que conferem ao estudo confiabilidade, foi demonstrado que ambos os anestésicos (com ou sem conservante) quando utilizados na câmara anterior do olho apresentam os mesmos efeitos sobre a córnea.

A córnea é uma estrutura formada basicamente de colágeno e apresenta transparência. Sua porção interna apresenta uma camada endotelial a qual a mantém transparente pela constante troca de fluidos e íons com humor aquoso. O uso excessivo do ultrassom sem devida proteção endotelial com viscoelásticos e injeção de substâncias nocivas podem levar a morte celular endotelial e edema transitório ou persistente, a depender da reserva periférica funcional do endotélio. ⁽⁶³⁾

A toxicidade intraocular é sempre uma preocupação quando agentes químicos são introduzidos no olho. O efeito tóxico pode não ser imediato. Se um agente anestésico é injetado na câmara anterior, sua ação por ligações químicas é rápida e, portanto, deve ser “lavado” o mais rápido possível para diminuir o tempo de contato com as células endoteliais da córnea, a fim de retirar a solução que está em excesso, permitindo assim que o equilíbrio ácido base não esteja totalmente deslocado ao fim da cirurgia pelo excesso de radicais básicos circulantes. ⁽⁶⁴⁾

Em um tempo tão breve, é improvável que a exposição a agentes anestésicos locais possa lesar o endotélio da córnea. Entretanto as análises em vitro mantem os tecidos corneanos sob exposição prolongada e assim determinam as lesões pela dependência do tempo, o que é importante para avaliar o potencial de toxicidade celular, mas que não define a realidade em procedimentos intraoculares em seres humanos visto que a duração de exposição é curta e interrompida. ⁽⁷⁰⁾

Postulava-se que somente anestésicos desprovidos de conservantes poderiam ser introduzidos no olho. Entretanto, os testes que levaram a esta conclusão foram realizados *in vitro* e com tempos de exposição muito maiores.⁽⁶⁴⁾

Os longos tempos de manutenção dos anestésicos na câmara anterior, diferente do que ocorre na facoemulsificação, podem ter sido os responsáveis pelos resultados observados pelos outros pesquisadores.⁽¹³⁾ Assim o efeito da droga *in vitro* ou em culturas de células endoteliais de coelho se perpetua devido ao excesso de moléculas da substância os quais sobrecarregam o tecido corneano e assim podem levar a toxicidade endotelial pela via celular como oxidativa.^(12,13,16,34,70)

Cabe ressaltar que qualquer outra substância se mantida na câmara anterior como anestésico sem conservante, viscoelásticos, utilizados para proteção endotelial durante a facectomia e azul de tripam que auxilia a visibilização da capsula anterior por corá-la em azul também apresentam efeitos nocivos, ou seja, além da concentração, é importante ressaltar que o tempo de exposição é fator crucial.^(13,64)

O endotélio corneano foi avaliado por meio da contagem endotelial e espessura central utilizando o microscópio especular de não contato da córnea. A espessura central corneana reflete o edema celular e, de forma indireta, infere desarranjo no endotélio. A análise de 90 dias mostrou resultados muito semelhantes aos de antes da cirurgia nos dois grupos. Assim, infere-se que houve uma ótima recuperação central do tecido corneano, independente do anestésico utilizado.

A avaliação quantitativa da população endotelial mostrou uma proporção semelhante de células perdidas em todo o processo da facoemulsificação nos dois grupos. A morte celular ocorre tanto pelo uso de substâncias intraoculares, turbilhonamento de líquido e fragmentos cristalínios na câmara anterior, quanto pelo uso da caneta intraocular do facoemulsificador, cuja ponteira ao vibrar em ondas ultrassônicas acaba convertendo parte desta energia utilizada para fragmentar a catarata em calor, levando a agressão celular.⁽³⁸⁾ Mensurar a energia dissipada nos dois grupos é um fator importante para evitar vieses. Assim, ao comparar o uso de ultrassom nos grupos, retiramos um fator de viés, em vista da padronização do procedimento pelo mesmo cirurgião, instrumentais, viscoelásticos,

esterilização e lente intraocular. Não houve diferença do CDE entre os dois grupos, demonstrando a mesma eficiência energética nos procedimentos.

A perda endotelial, portanto, seguiria um padrão normal pós facectomia com morte celular semelhante nos dois grupos. ^(62,71) A mensuração pós-operatória da CE em relação a pré-operatória resultou em uma queda de 16,47% no grupo I e 16,50% no grupo II. Assim, a perda semelhante de células endoteliais demonstrou segurança clínica para a córnea no uso da lidocaína 2% com conservante.

Apesar da avaliação clínica da córnea por meio de aparelhos como o microscópio especular, com definição clara da lesão celular, julgamos importante avaliar os efeitos moleculares no humor aquoso destes pacientes, como mais uma análise de como é a reação decorrente da introdução do anestésico intracameral. A análise celular do estresse oxidativo definiria em relação ao componente micromolecular se haveria desequilíbrio químico e indução de apoptose ou morte celular que não seriam observadas nos exames clínicos, já que os tecidos podem não sofrer a real injúria a que foram expostos por possuírem uma reserva funcional. ^(13,34)

Existem vários marcadores de dano oxidativo, incluindo os seguintes: 8-hidroxi-2- desoxiguanosina (8-OHdG), um marcador de dano oxidativo para ADN; grupos carbonila de proteínas, um marcador de oxidação de proteínas; malondialdeído (MDA) e 4-hidroxinonenal (4-HNE) marcadores de peroxidação lipídica. Esses produtos tem a capacidade de degradar proteínas. Isso ocorre quando esses produtos se ligam ao grupo carbonil da proteínas, e essa ligação é determinada de carbonilação de proteínas. ⁽⁷²⁾

Espécies reativas do oxigênio são resultado do metabolismo celular diário normal, portanto, as células têm mecanismos de defesa complexos para combater tanto a sua formação quanto os impactos de suas ações. O estresse oxidativo leva à apoptose quando a capacidade antioxidante é insuficiente. A apoptose pode danificar o mtADN, inibindo a respiração mitocondrial, transição da cadeia e aumento da permeabilidade da membrana mitocondrial. ^(73,74)

Entre os marcadores oxidativos, os grupos carbonila de proteínas e 4-HNE foram dosados. O desequilíbrio entre a neutralização destes metabolitos levaria a

formação de radicais livres. A dosagem dos dois marcadores não resultou diferença entre os grupos. Assim, as espécies reativas de oxigênio formadas nos dois grupos estão em um mesmo patamar de formação de metabolitos reativos, não havendo diferenças na resposta oxidante/antioxidante do humor aquoso quanto à presença de conservante ou não no anestésico.

O 4-HNE é um aldeído alfa beta insaturado formado no processo de peroxidação lipídica em células como ácido linoléico e ácido araquidônico, sendo o principal produto gerado durante a peroxidação lipídica. Em concentrações mais altas, pode reagir com algumas substâncias nucleofílicas, como compostos sulfidrílicos, ADN, proteínas e fosfolipídeos e induzir a disfunção das células, o que resulta em danos celulares e morte celular. Por outro lado, O 4-HNE em concentrações mais baixas também é uma molécula bioativa que regula várias vias de sinalização celular e expressões gênicas, estando envolvido na proliferação celular, necrose e apoptose.⁽⁷⁵⁾

A carbonilação de proteínas refere-se a um processo que forma cetonas reativas ou aldeídos. Em condições normais, existem várias classes de enzimas metabolizadoras de aldeídos cuja função é desintoxicar aldeídos lipídicos reativos antes do dano celular oxidativo. No entanto, sob condições de estresse oxidativo prolongado ou elevado, os aldeídos insaturados se acumulam; são eletrófilos fortes e altamente reativos a proteínas e ácidos nucleicos. Assim, a oxidação de proteínas resulta em proteínas modificadas e seu acúmulo leva a mudanças da função celular, através da alteração da atividade catalítica de proteínas e/ou interações proteína-proteína.⁽⁷⁶⁾

A perda progressiva da transparência do cristalino associada a senilidade é uma resposta fisiológica cumulativa a fatores tóxicos ambientais que levam a uma geração excessiva de EROs nas células do epitélio do cristalino e assim como no humor aquoso. O estresse oxidativo induz defeitos na bomba Na^+/K^+ ATPase da membrana das células epiteliais do cristalino, um processo que pode levar ao acúmulo de sódio e água nas células, causando a formação de fendas no seu interior e opacificação. O dano oxidativo induzido pela radiação ultravioleta é um fator de risco para a formação de catarata. Em condições normais, o cristalino possui defesas e usa múltiplas estratégias de defesa fisiológica para eliminar as

EROs e mantê-las em níveis baixos, protegendo dos efeitos tóxicos do dano oxidativo.^(68,77)

O sistema de defesa constitui antioxidantes enzimáticos, ou seja, superóxido dismutase (SOD), catalase (CAT) e glutathione peroxidase (GPX) utilizando H₂O₂; antioxidantes químicos, como alfatocoferol, beta-caroteno, vitamina C e glutathione (GSH); antioxidantes estruturais, ou seja, colesterol e proteínas de membrana e quelantes de metal de transição, incluindo humor aquoso e ceruloplasmina plasmática.⁽⁷⁴⁾

A limitação de nosso estudo se encontra na dosagem de somente dois marcadores oxidativos devido ao pequeno volume de humor aquoso passível de aspiração. Cada reação necessita de uma quantidade mínima de reagente para o marcador e volumes pequenos são limitadores. Amplia-se para estudos futuros a avaliação com outros reagentes a fim de aprofundar a investigação do estresse oxidativo no humor aquoso.

A análise do estresse oxidativo trouxe uma importância relevante neste estudo por avaliar o componente micromolecular de pacientes submetidos a cirurgia de catarata com uso de substâncias com conservantes. Diferente de outros estudos que mantinham o anestésico intracameral por algumas horas e após analisar seus efeitos, realizamos avaliação logo após sua injeção e prosseguimos a aspiração do material do cristalino e assim excluímos o excesso de substâncias circulantes na câmara anterior que poderiam corroborar para um desequilíbrio celular.^(13,70)

As espécies reativas de oxigênio aceleraram apoptose celular e morte endotelial. Em condições normais o olho humano está bem equipado com mecanismos de defesa e vive uma homeostase química entre a produção e neutralização destes elétrons. Ao observar um padrão semelhante entre os valores de estresse oxidativo tendo um grau de CDE da facoemulsificação dos pacientes balanceado entre os grupos, podemos afirmar com segurança molecular que o uso de lidocaína com conservante é tão seguro e eficaz, quanto o anestésico sem conservante.

Desta forma, comprovadamente por estudo clínico e molecular, os nossos resultados trazem uma importante resposta quanto ao uso de anestésico

intracameral com conservante metilparabeno. Este anestésico de menor custo é encontrado com facilidade em qualquer centro operatório, pode ser usado com segurança nas facoemulsificações para a obtenção de analgesia local adequada, segura e sem efeitos deletérios ao olho humano.

Este projeto recebeu atestado de comunicação de inovação social por meio da AGÊNCIA UNESP DE INOVAÇÃO – AUIN na data de 14/09/2023 sob registro AUIN: 23CI065.

7. Conclusão

Esses resultados permitem concluir que a lidocaína 2% com conservantes apresenta segurança sobre a estrutura corneana e o estresse oxidativo em relação ao mesmo produto sem conservante. Amplia-se o uso de uma substância já comercialmente disponível e de fácil aquisição para o sistema de saúde com segurança para cirurgias de catarata com anestesia intracameral.

8. Referências Bibliográficas

1. Fernandes AG, Ferraz AN, Lemos R da S, Watanabe SES, Berezovsky A, Salomão SR. Trends in cataract surgical treatment within the Brazilian national public health system over a 20-year period: Implications for Universal Eye Health as a global public health goal. *PLOS Global Public Health*. 2022;2(6):e0000328.
2. Rossi T, Romano MR, Iannetta D, Romano V, Gualdi L, D'Agostino I, et al. Cataract surgery practice patterns worldwide: a survey. *BMJ Open Ophthalmol*. 2021;6(1):e000464.
3. Tseng SH, Chen FK. A randomized clinical trial of combined topical-intracameral anesthesia in cataract surgery. *Ophthalmology*. 1998;105(11):2007-2011.
4. Eggeling P, Pleyer U, Hartmann C, Rieck PW. Corneal endothelial toxicity of different lidocaine concentrations. *J Cataract Refract Surg*. 2000;26(9):1403–8.
5. Kadonosono K, Ito N, Yazama F, Nishide T, Sugita M, Sawada H, et al. Effect of intracameral anesthesia on the corneal endothelium. *J Cataract Refract Surg*. 1998;24(10):1377–81.
6. Liou SW, Chiu CJ, Wang IJ. Effect of intracameral injection of lidocaine and carbachol on the rabbit corneal endothelium. *J Cataract Refract Surg*. 2004;30(6):1351–5.
7. Schellini SA, Creppe MC, Gregório EA, Padovani CR. Lidocaine effects on corneal endothelial cell ultrastructure. *Vet Ophthalmol*. 2007;10(4):239–44.
8. Gills JP, Cherchio M, Raanan MG. Unpreserved lidocaine to control discomfort during cataract surgery using topical anesthesia. *J Cataract Refract Surg*. 1997;23(4):545–50.
9. Elvira JC, Hueso JR, Martínez-Toldos J, Mengual E, Artola A. Induced endothelial cell loss in phacoemulsification using topical anesthesia plus intracameral lidocaine. *J Cataract Refract Surg*. 1999; 25(5):640–2.
10. Kim T, Holley GP, Lee JH, Broocker G, Edelhauser HF. The effects of intraocular lidocaine on the corneal endothelium. *Ophthalmology*. 1998;105(1):125–30.
11. Werner LP, Legeais JM, Obsler C, Durand J, Renard G. Toxicity of Xylocaine to rabbit corneal endothelium. *J Cataract Refract Surg*. 1998;24(10):1371–6.
12. Eggeling P, Pleyer U, Hartmann C, Rieck PW. Corneal endothelial toxicity of different lidocaine concentrations. *J Cataract Refract Surg*. 2000;26(9):1403-1408.
13. Chang YS, Tseng SY, Tseng SH, Wu CL. Cytotoxicity of Lidocaine or Bupivacaine on Corneal Endothelial Cells in a Rabbit Model. *Cornea*. 2006;25(5):590–6.
14. Khodadoust AA, Green K. Physiological function of regenerating endothelium. *Invest Ophthalmol*. 1976;15(2):96–101.
15. Assil KK, Quantock AJ. Wound healing in response to keratorefractive surgery. *Surv Ophthalmol*. 1993 Nov;38(3):289–302.
16. Borazan M, Karalezli A, Oto S, Akova YA, Karabay G, Kocbiyik A, et al. Induction of apoptosis of rabbit corneal endothelial cells by preservative-free lidocaine hydrochloride 2%, ropivacaine 1%, or levobupivacaine 0.75%. *J Cataract Refract Surg*. 2009;35(4):753–8.

17. Ferreira ALA, Yeum KJ, Matsubara LS, Matsubara BB, Correa CR, Pereira EJ, et al. Doxorubicin as an antioxidant: maintenance of myocardial levels of lycopene under doxorubicin treatment. *Free Radic Biol Med*. 2007;43(5):740–51.
18. Yeum KJ, Russell RM, Krinsky NI, Aldini G. Biomarkers of antioxidant capacity in the hydrophilic and lipophilic compartments of human plasma. *Arch Biochem Biophys*. 2004;430(1):97–103.
19. Ralser M, Wamelink MM, Kowald A, Gerisch B, Heeren G, Struys EA, et al. Dynamic rerouting of the carbohydrate flux is key to counteracting oxidative stress. *J Biol*. 2007;6(4):10.
20. Grant CM. Metabolic reconfiguration is a regulated response to oxidative stress. *J Biol*. 2008;7(1):1.
21. Poli G, Schaur RJ, Siems WG, Leonarduzzi G. 4-Hydroxynonenal: A membrane lipid oxidation product of medicinal interest. *Med Res Rev*. 2008;28(4):569–631.
22. Pawluk H, Pawluk R, Robaczewska J, Kędziora-Kornatowska K, Kędziora J. Biomarkers of antioxidant status and lipid peroxidation in elderly patients with hypertension. *Redox Rep*. 2017;22(6):542–6.
23. Kanaan GN, Harper ME. Cellular redox dysfunction in the development of cardiovascular diseases. *Biochim Biophys Acta Gen Subj*. 2017;1861(11 Pt A):2822–9.
24. Rogowska-Wrzesinska A, Wojdyla K, Nedić O, Baron CP, Griffiths HR. Analysis of protein carbonylation — pitfalls and promise in commonly used methods. *Free Radic Res*. 2014;48(10):1145–62.
25. Barreiro E, Gea J, Di Falco M, Kriazhev L, James S, Hussain SNA. Protein carbonyl formation in the diaphragm. *Am J Respir Cell Mol Biol*. 2005;32(1):9–17.
26. Vistoli G, Orioli M, Pedretti A, Regazzoni L, Canevotti R, Negrisoni G, et al. Design, Synthesis, and Evaluation of Carnosine Derivatives as Selective and Efficient Sequestering Agents of Cytotoxic Reactive Carbonyl Species. *ChemMedChem*. 2009;4(6):967–75.
27. Colzani M, Aldini G, Carini M. Mass spectrometric approaches for the identification and quantification of reactive carbonyl species protein adducts. *J Proteomics*. 2013; 92:28–50.
28. Semchyshyn HM. Reactive Carbonyl Species *In Vivo* : Generation and Dual Biological Effects. *The Scientific World Journal*. vol 2014; 2014:1–10.
29. Aldini G, Dalle-Donne I, Colombo R, Maffei Facino R, Milzani A, Carini M. Lipoxidation-Derived Reactive Carbonyl Species as Potential Drug Targets in Preventing Protein Carbonylation and Related Cellular Dysfunction. *ChemMedChem*. 2006;1(10):1045–58.
30. Barreiro E. Role of Protein Carbonylation in Skeletal Muscle Mass Loss Associated with Chronic Conditions. *Proteomes*. 2016;4(2):18.
31. Ishida YI, Kayama T, Kibune Y, Nishimoto S, Koike S, Suzuki T, et al. Identification of an argpyrimidine-modified protein in human red blood cells from schizophrenic patients: A possible biomarker for diseases involving carbonyl stress. *Biochem Biophys Res Commun*. 2017;493(1):573–7.
32. Ganea E, Harding JJ. Glutathione-Related Enzymes and the Eye. *Curr Eye Res*. 2006;31(1):1–11.
33. Lou MF. Glutathione and Glutaredoxin in Redox Regulation and Cell Signaling of the Lens. *Antioxidants*. 2022;11(10):1973.

34. Demir MN, Demir ZA, Tök ÖY, Yilmaz FM, Yilmaz G, Nurözler AB, et al. Oxidative stress of intracameral lidocaine and levobupivacaine on ocular tissues. *British Journal of Ophthalmology*. 2010;94(8):1083–7.
35. Kelman CD. Phacoemulsification and aspiration. A new technique of cataract removal. A preliminary report. *Am J Ophthalmol*. 1967 Jul;64(1):23–35.
36. Davis G. The Evolution of Cataract Surgery. *Mo Med*. 2016;113(1):58–62.
37. Gardner JM, Aust SD. Quantification of hydroxyl radical produced during phacoemulsification. *J Cataract Refract Surg*. 2009;35(12):2149–53.
38. Aust SD, Hebdon T, Humbert J, Dimalanta R. Hydroxyl free radical production during torsional phacoemulsification. *J Cataract Refract Surg*. 2010;36(12):2146–9.
39. Aust SD, Terry S, Hebdon T, Gunderson B, Terry M, Dimalanta R. Determining the local origin of hydroxyl radical generation during phacoemulsification. *J Cataract Refract Surg*. 2011;37(6):1154–9.
40. Knupp C, Pinali C, Lewis PN, Parfitt GJ, Young RD, Meek KM, Quantock AJ. The architecture of the cornea and structural basis of its transparency. *Adv Protein Chem Struct Biol*. 2009;78:25-49.
41. Blackburn BJ, Jenkins MW, Rollins AM, Dupps WJ. A Review of Structural and Biomechanical Changes in the Cornea in Aging, Disease, and Photochemical Crosslinking. *Front Bioeng Biotechnol*. 2019;7.
42. Dua HS, Faraj LA, Said DG, Gray T, Lowe J. Human Corneal Anatomy Redefined. *Ophthalmology*. 2013;120(9):1778–85.
43. Ventura AC, Wälti R, Böhnke M. Corneal thickness and endothelial density before and after cataract surgery. *Br J Ophthalmol*. 2001;85(1):18-20.
44. Wilson SE, Bourne WM. Fuchs' dystrophy. *Cornea*. 1988;7(1):2–18.
45. Mustonen RK, McDonald MB, Srivannaboorn S, Tan AL, Doubrava MW, Kim CK. In Vivo Confocal Microscopy of Fuchs' Endothelial Dystrophy. *Cornea*. 1998;17(5):493–503.
46. Jurkunas U V., Bitar MS, Funaki T, Azizi B. Evidence of oxidative stress in the pathogenesis of fuchs endothelial corneal dystrophy. *American Journal of Pathology*. 2010;177(5):2278–89.
47. Okumura N, Sakamoto Y, Fujii K, Kitano J, Nakano S, Tsujimoto Y, et al. Rho kinase inhibitor enables cell-based therapy for corneal endothelial dysfunction. *Sci Rep*. 2016;6(1):26113.
48. Koizumi N, Okumura N, Ueno M, Kinoshita S. New Therapeutic Modality for Corneal Endothelial Disease Using Rho-Associated Kinase Inhibitor Eye Drops. *Cornea*. 2014 Nov;33(Supplement 11): S25–31.
49. Hu J, Rong Z, Gong X, Zhou Z, Sharma VK, Xing C, et al. Oligonucleotides targeting TCF4 triplet repeat expansion inhibit RNA foci and mis-splicing in Fuchs' dystrophy. *Hum Mol Genet*. 2018;27(6):1015–26.
50. Karnina R, Arif SK, Hatta M, Bukhari A. Molecular mechanisms of lidocaine. *Annals of Medicine & Surgery*. 2021;69.
51. Hills AG. pH and the Henderson-Hasselbalch equation. *Am J Med*. 1973;55(2):131–3.
52. Reddy AJ, Dang A, Dao AA, Arakji G, Cherian J, Brahmabhatt H. A Substantive Narrative Review on the Usage of Lidocaine in Cataract Surgery. *Cureus*. 2021;13(10):e19138.
53. Bardocci A, Lofoco G, Perdicaro S, Ciucci F, Manna L. Lidocaine 2% Gel versus Lidocaine 4% Unpreserved Drops for Topical Anesthesia in Cataract Surgery A Randomized Controlled Trial. *Ophthalmology*. 2003;110(1):144-9.

54. Crandall AS. Anesthesia modalities for cataract surgery. *Current Opinion in Ophthalmology*. 2001;12(1):9–11.
55. Wong DHW, Koehrer E, Sutton HF, Merrick P. A modified retrobulbar block for eye surgery. *Canadian Journal of Anaesthesia*. 1993;40(6):547–53.
56. Unsöld R, Stanley JA, DeGroot J. The CT-topography of retrobulbar anesthesia. Anatomic-clinical correlation of complications and suggestion of a modified technique. *Albrecht Von Graefes Arch Klin Exp Ophthalmol*. 1981;217(2):125–36.
57. Davis DB, Mandel MR. Posterior peribulbar anesthesia: An alternative to retrobulbar anesthesia. *J Cataract Refract Surg*. 1986;12(2):182–4.
58. Hansen EA, Mein CE, Mazzoli R. Ocular anesthesia for cataract surgery: a direct sub-Tenon's approach. *Ophthalmic Surg*. 1990; 21(10):696–9.
59. Fichman RA. Use of topical anesthesia alone in cataract surgery. *J Cataract Refract Surg*. 1996;22(5):612–4.
60. Minakaran N, Ezra DG, Allan BD. Topical anaesthesia plus intracameral lidocaine versus topical anaesthesia alone for phacoemulsification cataract surgery in adults. *Cochrane Database Syst Rev*. 2020;7(7).
61. Ezra DG, Nambiar A, Allan BD. Supplementary Intracameral Lidocaine for Phacoemulsification under Topical Anesthesia. A Meta-analysis of Randomized Controlled Trials. *Ophthalmology*. 2008;115(3).
62. Heuermann T, Hartmann C, Anders N. Long-term endothelial cell loss after phacoemulsification: Peribulbar anesthesia versus intracameral lidocaine 1%. *J Cataract Refract Surg*. 2002;28(4):639–43.
63. Takahashi H, Suzuki H, Shiwa T, Sakamoto A. Alteration of free radical development by ophthalmic viscosurgical devices in phacoemulsification. *J Cataract Refract Surg*. 2006;32(9):1545–8.
64. Lockington D, Macdonald ECA, Young D, Stewart P, Caslake M, Ramaesh K. Presence of free radicals in intracameral agents commonly used during cataract surgery. *British Journal of Ophthalmology*. 2010;94(12):1674–7.
65. Halliwell B. Biochemistry of oxidative stress. *Biochem Soc Trans*. 2007;35(5):1147–50.
66. Juan CA, Pérez de la Lastra JM, Plou FJ, Pérez-Lebeña E. The Chemistry of Reactive Oxygen Species (ROS) Revisited: Outlining Their Role in Biological Macromolecules (DNA, Lipids and Proteins) and Induced Pathologies. *Int J Mol Sci*. 202;22(9):4642.
67. Kehrer JP. The Haber–Weiss reaction and mechanisms of toxicity. *Toxicology*. 2000;149(1):43–50.
68. Nita M, Grzybowski A. The Role of the Reactive Oxygen Species and Oxidative Stress in the Pathomechanism of the Age-Related Ocular Diseases and Other Pathologies of the Anterior and Posterior Eye Segments in Adults. *Oxid Med Cell Longev*. vol. 2016 (2016):1–23.
69. Chylack LT. The Lens Opacities Classification System III. *Archives of Ophthalmology*. 1993;111(6):831.
70. Guzey M, Satıcı A, Dogan Z, Karadede S. The Effects of Bupivacaine and Lidocaine on the Corneal Endothelium when Applied into the Anterior Chamber at the Concentrations Supplied Commercially. *Ophthalmologica*. 2002;216(2):113–7.

71. Sharma A, Singh S, Hansraj S, Gupta A, Agrawal S, Katiyar V, et al. Comparative clinical trial of intracameral ropivacaine vs. lignocaine in subjects undergoing phacoemulsification under augmented topical anesthesia. *Indian J Ophthalmol.* 2020;68(4):577.
72. Marrocco I, Altieri F, Peluso I. Measurement and Clinical Significance of Biomarkers of Oxidative Stress in Humans. *Oxid Med Cell Longev.* 2017;2017:1–32.
73. Nita M, Grzybowski A. The Role of the Reactive Oxygen Species and Oxidative Stress in the Pathomechanism of the Age-Related Ocular Diseases and Other Pathologies of the Anterior and Posterior Eye Segments in Adults. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity.* 2016;2016:3164734.
74. Hsueh YJ, Chen YN, Tsao YT, Cheng CM, Wu WC, Chen HC. The Pathomechanism, Antioxidant Biomarkers, and Treatment of Oxidative Stress-Related Eye Diseases. *Int J Mol Sci.* 2022;23(3):1255.
75. Poli G, Schaur RJ, Siems WG, Leonarduzzi G. 4-Hydroxynonenal: A membrane lipid oxidation product of medicinal interest. *Med Res Rev.* 2008;28(4):569–631.
76. Hauck AK, Bernlohr DA. Oxidative stress and lipotoxicity. *J Lipid Res.* 2016;57(11):1976–86.
77. Hsueh YJ, Chen YN, Tsao YT, Cheng CM, Wu WC, Chen HC. The Pathomechanism, Antioxidant Biomarkers, and Treatment of Oxidative Stress-Related Eye Diseases. *Int J Mol Sci.* 2022;23(3):1255.

Anexo1

**Inovação
Social****ATESTADO DE RECEBIMENTO DE COMUNICAÇÃO DE INOVAÇÃO SOCIAL**

Por meio deste, a AGÊNCIA UNESP DE INOVAÇÃO – AUIN, atesta o recebimento, em 18/07/2023 da Comunicação de Inovação Social abaixo tratada.

Registro AUIN: 23CI065

Título: “Uso intracameral ocular de lidocaína 2% com conservante em pacientes submetidos à facoemulsificação”

Autoria: Virgílio Figueiredo Silva e Antonio Carlos Lottelli Rodrigues

Filiação: Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho” (Unesp) e Hospital de Olhos Sadalla Amin Ghanem

Atestado Expedido em: 14/09/2023.

Resumo da Inovação Social: A visão é um sentido extremamente importante, pois nos possibilita ver todas as coisas ao nosso redor, diferenciar cores e experimentar sensações. A catarata é a grande causa de cegueira reversível no mundo. Possibilitar a sua extração através de uma cirurgia com anestesia segura e de fácil disponibilidade poderá permitir maior promoção de saúde. Tendo isso, o presente estudo teve como objetivo avaliar a segurança do uso de lidocaína 2% sem vasoconstritor com conservante vendida comercialmente, através da avaliação morfológica celular endotelial por microscopia especular e espessura central de córnea além de determinar o possível estresse oxidativo desta substância no humor aquoso de pacientes que serão submetidos a cirurgia de facoemulsificação. Em relação ao anestésico lidocaína 2% sem conservantes, a solução com conservante mostrou-se segura para o endotélio corneano, com custo muito menor e maior facilidade de aquisição, com diversas empresas que já a comercializam em frascos de uso individual.

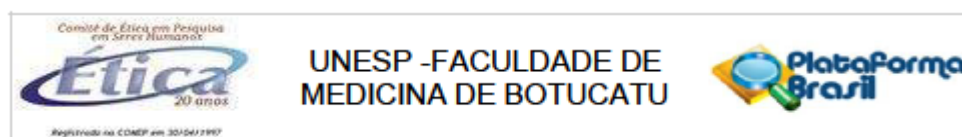
Organizações envolvidas: Projeto desenvolvido totalmente no Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina de Botucatu - Unesp, com auxílio da Unidade Experimental da Faculdade de Medicina (UNIPEX).

Autorizações pertinentes: O estudo recebeu toda a aprovação do comitê de ética em pesquisa assim como anuência da instituição. Todos os pacientes do estudo receberam, por escrito, um termo de consentimento informado.

Público-alvo: O público foi e será os médicos oftalmologistas e a população com catarata.

Assinado digitalmente por
Saulo Philipe Sebastião Guerra
Diretor Executivo
Agência UNESP de Inovação

Anexo 2

**PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP****Elaborado pela Instituição Coparticipante****DADOS DO PROJETO DE PESQUISA**

Título da Pesquisa: Avaliação do efeito citotóxico e estresse oxidativo da injeção intracameral de lidocaína com e sem conservante em pacientes submetidos à facoemulsificação.

Pesquisador: Virgílio Figueiredo Silva

Área Temática:

Versão: 1

CAAE: 28127720.7.3001.5411

Instituição Proponente: Unidade de Pesquisa Experimental

Patrocinador Principal: Financiamento Próprio

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 5.159.217

Apresentação do Projeto:

Apresentação de Emenda a projeto previamente aprovado pelo CEP.

Objetivo da Pesquisa:

O pesquisador é pós-graduando orientado pelo Prof. Dr. Antonio Carlos Lottelli Rodrigues. Na Emenda, há solicitação para mudança do local de realização da pesquisa, do Centro de Pesquisa de Joinville para o Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina de Botucatu. Os autores justificam que, com a pandemia de COVID -19, houve paralisação cirúrgica em Joinville imposta pelo governo estadual.

Avaliação dos Riscos e Benefícios:

Previamente avaliados.

Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:

Previamente avaliados.

Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:

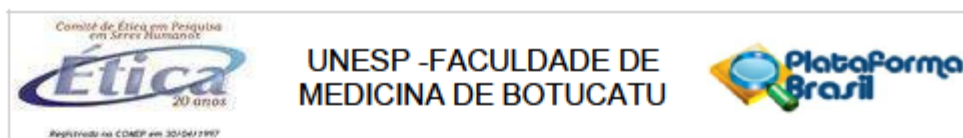
Previamente avaliados.

Recomendações:

Recomendo aprovação pelo CEP.

Endereço: Chácara Butignoli, s/n
Bairro: Rubião Junior
UF: SP Município: BOTUCATU CEP: 18.618-970
Telefone: (14)3680-1609 E-mail: cep@fmb.unesp.br

Anexo 2 - (continuação)



Continuação do Parecer: 5.159.217

Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:

Após análise em REUNIÃO ORDINÁRIA, o Colegiado deliberou APROVAÇÃO da EMENDA apresentada.

Considerações Finais a critério do CEP:

Conforme deliberação do Colegiado, em REUNIÃO ORDINÁRIA do Comitê de Ética em Pesquisa

FMB/UNESP, realizada em 08/12/2021, a EMENDA apresentada encontra-se APROVADA.

Ao final da execução da pesquisa, o Pesquisador deverá enviar o Relatório Final de Atividades, na forma de Notificação, via Plataforma Brasil.

Atenciosamente,

Comitê de Ética em Pesquisa FMB/UNESP

Este parecer foi elaborado baseado nos documentos abaixo relacionados:

Tipo Documento	Arquivo	Postagem	Autor	Situação
Outros	JustificativaEmenda1.pdf	01/11/2021 10:56:05	Virgílio Figueiredo Silva	Aceito
Outros	carta_parecer.docx	01/03/2020 20:48:14	Virgílio Figueiredo Silva	Aceito
Projeto Detalhado / Brochura Investigador	Tese_Doutorado_Lido.docx	01/03/2020 20:45:44	Virgílio Figueiredo Silva	Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	tole.docx	01/03/2020 20:45:14	Virgílio Figueiredo Silva	Aceito

Lista de Instituições deste Projeto Coparticipante

CNPJ	Nome da Instituição
	Unidade de Pesquisa Experimental
12.474.705/0001-20	Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina de Botucatu

Situação do Parecer:

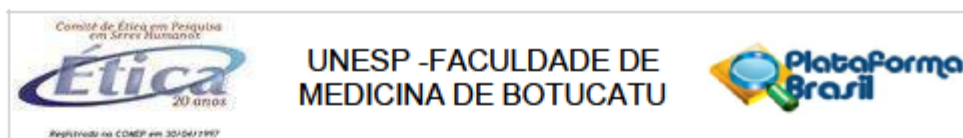
Aprovado

Necessita Apreciação da CONEP:

Não

Endereço: Chácara Butignoli, s/n
 Bairro: Rubião Junior CEP: 18.618-970
 UF: SP Município: BOTUCATU
 Telefone: (14)3880-1609 E-mail: cep@fmb.unesp.br

Anexo 2 - (continuação)



Continuação do Parecer: 5.159.217

BOTUCATU, 10 de Dezembro de 2021

Assinado por:
Trajano Sardenberg
(Coordenador(a))

Endereço: Chácara Butignoli, s/n
Bairro: Rubião Junior CEP: 18.618-970
UF: SP Município: BOTUCATU
Telefone: (14)3880-1609 E-mail: cep@fmb.unesp.br

Anexo 3

HOSPITAL DAS CLÍNICAS
FACULDADE DE MEDICINA DE BOTUCATU – UNESP

**TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO**

Eu, _____
_____(nome, nacionalidade, idade, RG), estou sendo convidado a participar do estudo intitulado “Avaliação do efeito citotóxico e estresse oxidativo da injeção intracameral de lidocaína com e sem conservante em pacientes submetidos à facoemulsificação.” cujos objetivos e justificativas são uso da anestesia lidocaína 2% sem vasoconstritor intracameral com conservante, distribuída comercialmente, que proporciona analgesia intraoperatória, melhor controle da dor, fácil utilização, além de estar disponível no mercado.

A minha participação no referido estudo será no sentido de realização do procedimento denominado Facectomia com implante de Lente intraocular, a qual já foi indicado devido a doença preexiste denominada catarata.

A catarata é a opacificação (ato de tornar-se opaco, oposto de transparente) da lente natural do olho, chamada cristalino. O cristalino se localiza no interior do olho, logo atrás da íris (parte colorida do olho). É o responsável pela focalização das imagens. Quando ocorre sua opacificação, a visão torna-se embaçada. O grau de embaçamento visual vai depender do nível de opacidade do cristalino e da existência de outras alterações oculares associadas.

Procedimento proposto: Remoção da catarata (Facectomia) com OU sem implante de lente intraocular. A melhor técnica existente no momento para tratar a catarata chama-se facoemulsificação.

Após a anestesia, é realizado um pequeno corte na esclera (parte branca dos olhos) ou na córnea (parte transparente que fica na frente da íris) que pode variar de 2.2mm a 7mm. Através deste corte, é realizada a remoção da catarata. Nessa técnica, a catarata é removida aspirada ou em fragmentos por um aparelho chamado facoemulsificador. Após a sua remoção é realizado o implante da lente intraocular (em alguns casos específicos não se implanta a lente intraocular). Esta lente permanece no interior do olho por um período indeterminado, normalmente, pelo resto da vida. O fechamento do corte, na maioria das vezes, é realizado sem pontos.

Em alguns casos específicos, a técnica utilizada é a da extração extracapsular, onde a catarata é removida inteira, através de um corte que pode chegar a 10 mm. O tempo cirúrgico médio é de 20 (vinte) a 60 (sessenta) minutos, mas em casos de maior dificuldade o tempo do procedimento cirúrgico de remoção de pode chegar a 2 (duas) horas.

A prescrição dos óculos será necessária tanto para complementação perto quanto longe.

O paciente deverá seguir as orientações do profissional (médico) e realizar as prescrições indicadas para minimizar as possibilidades de ocorrência de complicações pré, intra e pós-operatórias do procedimento cirúrgico.

O procedimento cirúrgico é executado com anestesia local assistida por anestesiolologista especialista neste tipo de procedimento

Será realizada a aspiração de 0,1 ml de humor aquoso (líquido intraocular entre a córnea e catarata) após paracentese de câmara anterior (corte para retirar a catarata) para análise pré-anestésica. Após, será realizada a injeção de 0,5 ml de anestésico intracameral. Este líquido denominado humor aquoso é aspirado por completo durante qualquer cirurgia de catarata e repostado com solução salina balanceada ao final. Em aproximadamente doze horas o corpo absorve e forma um novo humor aquoso, diariamente isto é feito.

Entre as complicações anestésicas que eventualmente podem ocorrer, verifica-se:

- a) Perfuração do olho (raríssimo na anestesia tópica);
- b) Alterações na transparência da córnea;
- c) Lesão do nervo óptico (raríssimo na anestesia tópica);
- d) Má circulação da retina (raríssimo na anestesia tópica);
- e) Possível queda da pálpebra superior;
- f) Hipotensão ou Hipertensão arterial;

Há programação de randomização individual (receber ou não a medicação em teste), (A para injeção de lidocaína 2 % sem vasoconstritor e conservantes ou B para injeção de lidocaína 2 % sem vasoconstritor livre de conservantes) de forma aleatória (sorteio prévio) sem o conhecimento do cirurgião ou do observador de qual substância é A ou B.

Com a realização do procedimento cirúrgico de remoção de catarata, pode haver uma recuperação parcial ou total da sua visão, dependendo de outros problemas oculares existentes e da capacidade visual anterior ao início da catarata.

Todos os pacientes serão avaliados no primeiro dia, um mês e três meses após a realização da cirurgia. Será realizado exame oftalmológico completo, incluindo paquimetria e microscopia especular em todas as fases do estudo.

Os dados serão coletados por um único pesquisador, sempre em confidencialidade e respeitando todas as medidas para proteção dos dados e manutenção do anonimato dos participantes. Em hipótese nenhuma será informado em nenhuma produção ou discussão os dados pessoais dos participantes. Os dados físicos serão armazenados no centro de estudos do hospital e sob sigilo, sendo disponível apenas à equipe de pesquisa. Já os dados digitais serão armazenados em computadores e redes seguras e sem divulgação à terceiros.

O membro da equipe de investigação, Virgílio Figueiredo Silva telefone 47 – 99236 1313 estará disponível para responder as minhas perguntas, bem como esclarecer toda e qualquer dúvida que venha a ter durante a leitura deste TCLE, durante o estudo e até mesmo após o término do estudo. **Estou ciente de que minha privacidade será respeitada, ou seja, meu nome ou qualquer outro dado ou elemento que possa, de qualquer forma, me identificar, será mantido em sigilo.** Também fui informado de que posso me recusar a participar do estudo, ou retirar meu consentimento a qualquer momento, sem precisar justificar, e não sofrerei qualquer prejuízo à assistência que venho recebendo. Enfim, tendo sido orientado quanto ao teor de todo o aqui mencionado e compreendido a natureza e o objetivo do já referido estudo, manifesto meu livre consentimento em participar, estando totalmente ciente de que não há nenhum valor econômico, a receber ou pagar, por minha participação. Caso ocorra algum dano decorrente da minha participação no estudo, serei devidamente indenizado, conforme determina a lei.

Sua decisão de fazer parte do estudo é voluntária. O(a) senhor(a) é livre para escolher se deseja ou não fazer parte. Independente da opção de participar ou não do estudo, o tratamento médico necessário para o problema de saúde que o(a) senhor(a) apresenta continuará sendo executado, sem interferência alguma, pelo seu médico. Assinando o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE), afirmo ter lido as informações acima, ter recebido as explicações necessárias do investigador, ter tido oportunidade de tirar todas as dúvidas que julgaram

necessárias e concordo em fazer parte do estudo. O TCLE terá duas vias, uma para o paciente participante do estudo e outra para o responsável pelo estudo.

Esse estudo foi aprovado por um Comitê de Ética em Pesquisa. O Comitê de Ética em Pesquisa envolvendo Seres Humanos (CEP) é constituído por uma equipe de profissionais com formação multidisciplinar que está trabalhando para assegurar o respeito aos seus direitos como participante de pesquisa. Qualquer dúvida adicional você poderá entrar em contato com o Comitê de Ética em Pesquisa através dos telefones (14) 3880-1608 ou 3880-1609 que funciona de 2ª a 6ª feira das 8:00 às 12.00 e das 13.30 às 17 horas, na Chácara Butignolli s/nº em Rubião Júnior – Botucatu - São Paulo. Os dados de localização dos pesquisadores estão abaixo descritos:

Após terem sido sanadas todas minhas dúvidas a respeito deste estudo, CONCORDO em participar de forma voluntária, estando ciente que todos os meus dados estarão resguardados através do sigilo que os pesquisadores se comprometeram. Estou ciente que os resultados desse estudo poderão ser publicados e revistas científicas.

Botucatu, _____ de _____ de 20_____.

Assinatura do Participante: _____

Assinatura do Investigador Principal: _____

Investigador Principal: Virgilio Figueiredo Silva

Endereço: Rua camboriu 35 – sala 35 CEP 89216-222 Joinville – SC.

Telefone: (47)99231313

Email: virepm71@yahoo.com.br

Nome do Orientador: Antonio Carlos Lottelli Rodrigues

Endereço: Av. Prof. Mário Rubens Guimarães Montenegro, s/n - UNESP - Campus de Botucatu - Botucatu/SP - CEP 18618687 - Departamento de Oftalmologia, Otorrinolaringologia e Cirurgia de Cabeça e Pescoço

Telefone: Celular: (14) 997764557

Email: eye_acr@fmb.unesp.br - eye_acr@yahoo.com - antonio.lottelli@unesp.br

TESTEMUNHA 1

Nome: _____

Endereço: _____

CPF: _____

Grau de Parentesco: _____

Ass: _____