Efeitos dos colírios a base de cloridrato de dorzolamida a 2% e latanoprost a 0,005% sobre a superfície ocular de coelhos

Effects of 2% Dorzolamide Hydrochloride and 0.005% Latanoprost Solutions on the Eye Surface of Rabbits

Elaine Baptista Barbosa, Paulo Gabriel Pereira da Silva Junior & Marília Martins Melo

ABSTRACT

Background: The glaucoma is a progressive optical neuropathy generally associated to the increase of the intraocular pressure (IOP). It is a disease of difficult therapeutic conduct and potential cause of blindness. The dorzolamide at 2% and the latanoprost at 0.005% are topical antiglaucoma drugs that cause significant reduction of the IOP. We decided to evaluate the local adverse effects of the dorzolamide at 2% and of the latanoprost at 0.005% in rabbits treated during 120 days. **Materials, Methods & Results:** Eighteen adult male rabbits were used in this study. They were randomly distributed into 3 groups (G) [n = 6]. Each animal received topical treatment in both eyes: GI (latanoprost at 0.005%, SID); GII (dorzolamide at 2%, TID) and GIII (ultra-pure water, TID) during 120 days. Ophthalmological evaluation was carried out through daily clinical examination, and at the end of the 120 days of treatment, it was verified clinical-ophthalmological alterations in the eyelids. The measurement of ECC was performed in triplicate, obtaining the lowest value among them as a result. They were carried out at the same time, in the morning between 9 and 10 am in order to avoid the effects of daytime ECC variation related to corneal hydration. In animals from group I, changes were observed in two eyes. Conjunctival hyperemia and ocular secretion, both in mild degree, were evidenced, respectively, in 13.75% and 9.1% of the observations. Conjunctival hyperemia was characterized from the 16th day and lasted until the final time (120 days). The animals from GII, treated with dorzolamide at 2%, presented the highest number of ophthalmological alterations. At the end of the experiment, conjunctival and eyelid changes and presence of ocular secretion, both ranging from mild to moderate, were observed in 60% and 16.32% of eyes, respectively. The animals from control group, GIII, did not present ophthalmological alterations. **Discussion:** Clinical signs observed in eyes treated with 0.005% latanoprost and 2% dorzolamide hydrochloride demonstrated manifestations of toxicity and / or ocular allergy. The adverse effects described may be related to the preservative of eye drops, benzalkonium chloride, a quaternary ammonia, which demonstrated ocular tissue toxicity, *in vivo* and *in vitro*. Benzalkonium chloride present in antiglaucomatous drugs can cause conjunctival inflammation affecting the normal immunological functions of the eye. The presence of the preservative mainly justifies the changes found in the group of animals treated with 0.005% latanoprost, considering that the concentration of benzalkonium chloride in this drug is 0.02%, that is, two and a half times greater than of 2% dorzolamide, which is 0.008%. It should be noted that deleterious effects were associated. The other hypothesis associated with the adverse effects observed in the 2% dorzolamide treated group is related to the pH of the drug. This eye drop has a pH of 5.6, while that of 0.005% latanoprost is 6.7. This indicates that 2% dorzolamide may have secondarily induced ocular changes by virtue of its acidic pH. The association of low pH and the presence of benzalkonium chloride in concentration above 0.005% as a preservative of eye drops explains the high percentage of changes observed in this group. When facing the results, one can conclude that the treatment with the latanoprost at 0.005% and dorzolamide at 2% promoted clinical alterations to the eyelids and the conjunctive of rabbits.

Keywords: antiglaucoma drugs, blindness, optic neuropathy, intraocular pressure adverse effects, rabbit.

Descritores: antiglaucomatosos, cegueira, neuropatia óptica, pressão intraocular, efeitos adversos, coelho.

INTRODUÇÃO

O glaucoma é uma neuropatia óptica progressiva multifatorial [4,26] que possui como principal fator de risco para o seu desenvolvimento o aumento da pressão intraocular (PIO) [6]. Reveste-se de singular importância por ser considerada a principal causa de cegueira irreversível em seres humanos e cães. Em decorrência do seu caráter crônico, progressivo e irreversível a fidelização ao tratamento torna-se imperativa, pois a maioria dos pacientes veterinários é diagnosticada tardiamente e a terapia adequada é única que pode prevenir a perda visual [19].

O glaucoma é considerado uma afecção de difícil conduta terapêutica [4]. Os tratamentos são utilizados por longos períodos e visam o controle da PIO a fim de manter a integridade do nervo óptico [6].

O uso prolongado de antiglaucomatosos tópicos podem determinar consideráveis alterações conjuntivais [20,24,40], corneanas [20,32,40] e do filme lacrimal, facilitando subsequentes reações alérgicas locais [12,32]. A avaliação destes efeitos adversos torna-se essencial tendo em vista que uma alta incidência pode levar à descontinuidade do tratamento e influenciar de forma negativa o prognóstico para manutenção da visão.

Na medicina veterinária os estudos relacionados aos efeitos adversos associados ao uso prolongado do cloridrato de dorzolamida a 2% e do latanoprost a 0,005% são escassos. Desta forma, a realização deste trabalho teve como objetivo verificar e determinar se os fármacos estudados induzem alterações oftalmológicas em coelhos hígidos tratados por 120 dias.

MATERIAIS E MÉTODOS

Animais

Foram utilizados 18 coelhos (*Oryctolagus cuniculus*) da raça Nova Zelândia, machos, saudáveis, com peso corporal médio de 3,5 kg e aproximadamente oito meses de idade, sendo mantidos individualmente em gaiolas apropriadas. Previamente ao início do experimento, os animais passaram por avaliação clínica, oftalmológica e laboratorial para exclusão de alterações sistêmicas ou oculares, estabelecendo-se neste momento os valores normais de referência (Tempo Zero) das análises propostas.

Grupos experimentais

Os animais foram distribuídos aleatoriamente em 3 grupos (G) experimentais: GI - colírio

à base de Latanoprost a 0,005%¹; GII - cloridrato de dorzolamida a 2%² e o GIII - com água ultrapura (grupo testemunha) e foram tratados durante 120 dias (Tabela 1).

Protocolo de avaliação oftalmológica

Para estimativa dos efeitos adversos sob a superfície ocular realizou-se exame sistemático das pálpebras e suas margens, das conjuntivas, córnea e caracterização da secreção ocular com auxílio de oftalmoscópio direto³ (Beta 200) com feixe de luz em fenda e filtro azul, diariamente. Além da avaliação oftalmológica diária, foi mensurada a espessura corneana central (ECC) com paquímetro ultra-sônico⁴ no início e ao final do experimento.

Para a completa interpretação dos resultados do exame oftalmológico diário, foram adotados critérios, que correlacionavam às alterações observadas com números, de acordo com a gravidade de cada caso. Desta forma, foi estabelecido protocolo para avaliar a ausência ou presença de alterações nas conjuntivas e pálpebras, na córnea e caracterizar a secreção ocular (Tabela 2).

A aferição da ECC foi realizada por um mesmo examinador, através de 3 medidas, obtendo-se como resultado o menor valor entre elas. Foram efetuadas no mesmo horário, no período da manhã entre as nove e 10 h com o intuito de evitar os efeitos da variação diurna da ECC relacionada à hidratação da córnea.

Análise estatística

Todas as análises estatísticas foram realizadas adotando-se um nível de significância de 5%. Antes de serem feitas as análises de comparação entre médias, foi realizado o teste de Kolmogorov-Smirnov para detectar se as variáveis trabalhadas no estudo apresentavam distribuição normal. Nos dados com distribuição normal foram realizadas análises paramétricas utilizando-se o teste de Duncan para comparação entre as médias dos grupos em cada tempo ($P < 0,05$).

Para a interpretação estatística dos resultados referentes a avaliação oftalmológica diária, intervalos de 10 dias foram estabelecidos, fazendo com que ao final dos 120 dias de experimento, houvesse 12 tempos de comparação.

Tabela 1. Protocolo terapêutico adotado no experimento.

Grupo	Tratamento	Posologia	Período
I	Latanoprost a 0,005%	1 gota por olho a cada 24 h (22 h 00) [5]	120 dias
II	Cloridrato de Dorzolamida a 2%	1 gota por olho a cada 8 h (06 h 00, 14:00 e 22 h 00) [28]	120 dias
III	Água ultrapura	1 gota por olho a cada 8 h (06 h 00, 14 h 00 e 22 h 00)	120 dias

Tabela 2. Protocolo de avaliação clínica oftalmológica para avaliar a ausência ou presença de alterações nas conjuntivas e pálpebras, na córnea e caracterizar a secreção ocular.

Classificação das alterações	Escore	Alterações observadas nas conjuntivas e pálpebras	Alterações observadas na córnea	Caracterização da secreção ocular
Ausência de alteração	0	nenhuma	nenhuma	nenhuma
Grau leve	1	hiperemia conjuntival discreta	opacidade corneana focal e discreta ou ceratite puntiforme, envolvendo menos de um quadrante da córnea	pequena quantidade de secreção serosa presente no fundo do saco conjuntival ou nas margens palpebrais
Grau moderado	2	hiperemia conjuntival moderada e discreto edema palpebral	opacidade corneana moderada, sem visualização detalhada da íris, ou ceratite puntiforme envolvendo até dois quadrantes da córnea	moderada quantidade de secreção, variando de serosa a seromucosa, observada nas conjuntivas, nas margens palpebrais e canto medial do olho
Grau acentuado	3	hiperemia conjuntival de moderada a intensa e moderado edema palpebral	opacidade corneana de moderada a acentuada ou ceratite puntiforme envolvendo mais de dois quadrantes da córnea	grande quantidade de secreção, variando de seromucosa a mucosa, observada nas conjuntivas, nas margens palpebrais e canto medial do olho e na superfície ocular

RESULTADOS

No presente estudo, as observações oftalmológicas diárias, de ambos os olhos de todos os animais, foram caracterizadas de acordo com os critérios adotados no protocolo de avaliação oftalmológica.

Ao final dos 120 dias de experimento, foram realizadas 1440 observações clínicas por grupo, totalizando 4320 análises. Em decorrência do elevado número de observações, foram criados intervalos de 10 dias, que caracterizaram um tempo. Os escores das alterações clínicas de cada olho foram somados, obtendo-se um escore final para cada tempo.

No grupo controle (grupo III), durante todo o experimento, a grande maioria das observações demonstrou ausência de alterações oftalmológicas (Figura 1). Apenas 1 olho apresentou hiperemia conjuntival discreta e secreção ocular serosa nas margens palpebrais, caracterizando alterações leves da secreção ocular e nas conjuntivas e pálpebras. Estas alterações foram evidenciadas no 11º dia de experimento e tiveram duração, respectivamente, de 7 e 9 dias, se restringindo ao tempo 2. Ao final do experimento as alterações nas conjuntivas e pálpebras, e da secreção ocular corresponderam a, respectivamente, 0,62% e 0,48% do total de observações realizadas, não sendo observada nenhuma outra alteração oftalmológica.

Figura 1. Fotos pertencentes a um olho do Grupo Controle (Grupo III) com 100 dias de tratamento. A- Olho normal, sem presença de secreção e/ou outra alteração. B- Conjuntivas palpebrais e bulbar normais. C- Terceira pálpebra normal.

Alterações oftalmológicas, variando do grau leve ao moderado, foram evidenciadas nas conjuntivas e pálpebras e através da secreção ocular nos grupos tratados com latanoprost a 0,005% (grupo I) e dorzolamida a 2% (grupo II). No entanto, alterações corneanas não foram observadas em nenhum momento do experimento.

No grupo I foram observadas alterações em 2 olhos (Tabela 3). Hiperemia conjuntival e secreção ocular, ambas em grau leve, foram evidenciadas, respectivamente, em 13,75% e 9,1% das observações. A hiperemia conjuntival foi caracterizada a partir do 16º dia e perdurou até o final do experimento, corroborando com os dados de paciente humanos glaucomatosos que apresentaram alterações na superfície ocular após 14 dias de tratamento [7]. Secreção ocular em grau leve também foi observada nos 2 olhos. Em 1 dos olhos, a presença de secreção foi verificada a partir do 20º dia, sem melhora do quadro até o final do tratamento. No outro olho, a presença de secreção teve um comportamento cíclico, aparecendo em 2 momentos distintos, do 58º ao 69º e do 103º ao 120º dia.

O grupo medicado com dorzolamida a 2% (Tabela 4), apresentou o maior número de alterações

oftalmológicas. Ao final do experimento, alterações nas conjuntivas e pálpebras e a presença de secreção ocular, ambas variando do grau leve ao moderado, foram observadas, respectivamente em 60% e 16,32% dos olhos. A primeira alteração foi verificada com 5 dias de tratamento e caracterizada por hiperemia conjuntival leve. A presença de secreção ocular leve foi notada após 6 dias. Efeitos adversos semelhantes foram relatados por 45% dos pacientes humanos tratados com este antiglaucomatoso [37]. Um comportamento cíclico da presença de secreção ocular também foi observado neste grupo. Alterações em grau moderado (Figura 2) nas pálpebras e conjuntivas (1 olho) e em relação à presença de secreção ocular (2 olhos) foram verificadas apenas no Grupo II.

Diferenças estatisticamente significativas em nível de 5%, foram observadas no Tempo 1, do Grupo II em relação aos Grupos I e III. Nos demais tempos diferenças estatísticas foram evidenciadas entre o grupo controle e os grupos tratados com os colírios antiglaucomatosos. Entretanto, a partir do Tempo 2 não houve diferença estatística significativa, entre os grupos I e II.

Tabela 3. Olhos tratados com o antiglaucomatoso latanoprost 0,005%, que apresentaram alterações, baseadas e classificadas de acordo com o protocolo de avaliação clínica oftalmológica, nos tempos de 1 a 12. Cada tempo (intervalo de 10 dias) expressa 120 observações.

Avaliação Clínica Oftalmológica				
Tempo	Grau da alteração	Secreção	Conjuntiva e Pálpebras	Córnea
1	leve	0	0	0
1	moderado	0	0	0
1	acentuado	0	0	0
1	TOTAL	0	0	0
2	leve	1 (0,83%)	5 (4,17%)	0
2	moderado	0	0	0
2	acentuado	0	0	0
2	TOTAL	1 (0,83%)	5 (4,17%)	0
3	leve	10 (8,33%)	13 (10,83%)	0
3	moderado	0	0	0
3	acentuado	0	0	0
3	TOTAL	10 (8,33%)	13 (10,83%)	0
4	leve	10 (8,33%)	20 (16,67%)	0
4	moderado	0	0	0
4	acentuado	0	0	0
4	TOTAL	10 (8,33%)	20 (16,67%)	0
5	leve	10 (8,33%)	20 (16,67%)	0
5	moderado	0	0	0
5	acentuado	0	0	0
5	TOTAL	10 (8,33%)	20 (16,67%)	0
6	leve	13 (10,83%)	20 (16,67%)	0
6	moderado	0	0	0
6	acentuado	0	0	0
6	TOTAL	13 (10,83%)	20 (16,67%)	0
7	leve	19 (15,83%)	20 (16,67%)	0
7	moderado	0	0	0
7	acentuado	0	0	0
7	TOTAL	19 (15,83%)	20 (16,67%)	0
8	leve	10 (8,33%)	20 (16,67%)	0
8	moderado	0	0	0
8	acentuado	0	0	0
8	TOTAL	10 (8,33%)	20 (16,67%)	0
9	leve	10 (8,33%)	20 (16,67%)	0
9	moderado	0	0	0
9	acentuado	0	0	0
9	TOTAL	10 (8,33%)	20 (16,67%)	0
10	leve	10 (8,33%)	20 (16,67%)	0
10	moderado	0	0	0
10	acentuado	0	0	0
10	TOTAL	10 (8,33%)	20 (16,67%)	0
11	leve	18	20 (16,67%)	0
11	moderado	0	0	0
11	acentuado	0	0	0
11	TOTAL	18 (15%)	20 (16,67%)	0
12	leve	20 (16,67%)	20 (16,67%)	0
12	moderado	0	0	0
12	acentuado	0	0	0
12	TOTAL	20 (16,67%)	20 (16,67%)	0
120 dias	TOTAL	131 (9,1%)	198 (13,75%)	0

Figura 2. Fotos pertencentes a um olho do Grupo tratado com dorzolamida a 2% (Grupo II) com 100 dias de tratamento. A- Olho com presença de secreção em grau moderado. B- Conjuntivas palpebrais e bulbar com hiperemia moderada e edema discreto; C- Terceira pálpebra com hiperemia leve, hiperemia em grau moderado das conjuntivas e edema conjuntival discreto.

Tabela 4. Olhos tratados com o antiglaucomatoso dorzolamida a 2%, que apresentaram alterações, baseadas e classificadas de acordo com o protocolo de avaliação clínica oftalmológica, nos tempos de 1 a 12. Cada tempo (intervalo de 10 dias) expressa 120 observações.

Tempo	Grau da alteração	Avaliação Clínica Oftalmológica		
		Secreção	Conjuntiva e Pálpebras	Córnea
1	leve	5 (4,17%)	13 (10,83%)	0
1	moderado	0	0	0
1	acentuado	0	0	0
1	TOTAL	5 (4,17%)	13 (10,83%)	0
2	leve	10 (8,33%)	56 (46,67%)	0
2	moderado	0	0	0
2	acentuado	0	0	0
2	TOTAL	10 (8,33%)	56 (46,67%)	0
3	leve	23 (19,17%)	68 (56,67%)	0
3	moderado	0	0	0
3	acentuado	0	0	0
3	TOTAL	23 (19,17%)	68 (56,67%)	0
4	leve	22 (18,33%)	78 (65%)	0
4	moderado	8 (6,66%)	0	0
4	acentuado	0	0	0
4	TOTAL	30 (25%)	78 (65%)	0
5	leve	28 (23,33%)	80 (66,67%)	0
5	moderado	2 (1,67%)	0	0
5	acentuado	0	0	0
5	TOTAL	30 (25%)	80 (66,67%)	0
6	leve	25 (20,83%)	86 (71,67%)	0
6	moderado	0	0	0
6	acentuado	0	0	0
6	TOTAL	25 (20,83%)	86 (71,67%)	0
7	leve	10 (8,33%)	83 (69,16%)	0
7	moderado	0	0	0
7	acentuado	0	0	0
7	TOTAL	10 (8,33%)	83 (69,16%)	0
8	leve	10 (8,33%)	71 (59,17%)	0
8	moderado	0	9 (7,5%)	0
8	acentuado	0	0	0
8	TOTAL	10 (8,33%)	80 (66,67%)	0
9	leve	13 (10,83%)	70 (58,33%)	0
9	moderado	0	10 (8,33%)	0
9	acentuado	0	0	0
9	TOTAL	13 (10,83%)	80 (66,67%)	0
10	leve	20 (16,67%)	70 (58,33%)	0
10	moderado	0	10 (8,33%)	0
10	acentuado	0	0	0
10	TOTAL	20 (16,67%)	80 (66,67%)	0
11	leve	29 (24,16%)	80 (66,67%)	0
11	moderado	0	0	0
11	acentuado	0	0	0
11	TOTAL	29 (24,16%)	80 (66,67%)	0
12	leve	30 (25%)	80 (66,67%)	0
12	moderado	0	0	0
12	acentuado	0	0	0
12	TOTAL	30 (25%)	80 (66,67%)	0
120 dias	TOTAL	235 (16,32%)	864 (60%)	0

Para a avaliação da ECC foi considerada válida a medida de menor valor em decorrência da variabilidade da espessura depender da região da córnea, indicando que quanto mais central, menor é a sua espessura. O contato da sonda com a córnea foi cuidadoso, de forma a não provocar medições de espessura menores que a realidade.

Diferenças estatisticamente significativas não foram observadas entre os tratamentos, dentro de cada tempo. Entretanto, no Grupo II verificou-se diferença estatística ($P < 0,05$) entre os tempos, sendo a média das ECC do Tempo 2, maior que a do Tempo 1 (Tabela 5). Este comportamento não foi evidenciado entre os tempos dos outros tratamentos (Tabela 5).

Tabela 5. Médias e desvios padrão das ECC de olhos tratados com os antiglaucomatosos latanoprost a 0,005% (Grupo I), dorzolamida a 2% (Grupo II) e a água ultra pura (Grupo III - Controle).

	Grupo I	Grupo II	Grupo III
Tempo 1	406,25 ± 22,57	408,33 ± 15,55*	400,33 ± 26,29
Tempo 2	428,83 ± 27,54	443,58 ± 24,3**	417,50 ± 17,27

* $P < 0,05$, teste de Duncan (tempo 1). ** $P < 0,05$, teste de Duncan (tempo 2).

DISCUSSÃO

Diante da variedade de medicamentos disponíveis para o tratamento do glaucoma, a escolha do fármaco mais adequado ou da melhor associação depende da capacidade de reduzir de forma considerável a PIO [6], da habilidade de serem administrados por períodos prolongados e da menor necessidade de doses diárias. Uma série de fatores torna impossível a elaboração de um protocolo aplicável a todo e qualquer paciente. Para cada caso clínico existe uma droga inicialmente mais recomendável ou uma associação mais conveniente quando a monoterapia não reduz a PIO de forma adequada [1]. Infelizmente, até o presente momento, não se dispõe de um fármaco ideal que interrompa a progressão do dano glaucomatoso e que possa ser utilizado para todo tipo de glaucoma.

Em virtude do caráter crônico e progressivo da síndrome, a eficácia e a eficiência da terapia também dependem de fármacos que possam promover o mínimo possível de efeitos colaterais locais ou sistêmicos para que não haja descontinuidade do tratamento.

No presente estudo foram avaliados os efeitos colaterais locais de antiglaucomatosos tópicos usados de forma ampla na medicina humana e veterinária, latanoprost a 0,005% e dorzolamida a 2%. Estes fármacos possuem mecanismos de ação diferentes que promovem redução da PIO de forma significativa e são indicados para tipos de glaucoma diversos.

Latanoprost a 0,005%, um análogo de prostaglandina tópico altamente lipofílico [28], age na redução da PIO pois promove um aumento do escoamento do humor aquoso através da via uveoescleral

[31] é indicado para o tratamento do glaucoma primário sendo considerado a primeira linha de tratamento em seres humanos [35]. O uso da dorzolamida a 2% é preconizado no tratamento dos glaucomas secundários [23]. Possui relevância especial na medicina veterinária devido o glaucoma secundário ser o mais prevalente em cães e gatos [9,27].

Os sinais clínicos observados nos olhos tratados com latanoprost a 0,005% e cloridrato de dorzolamida a 2%, demonstraram manifestações de toxicidade e/ou alergia ocular. Os efeitos adversos descritos podem estar relacionados ao conservante dos colírios, o cloreto de benzalcônio [14,24], uma amônia quaternária, que demonstrou toxicidade em tecidos oculares, *in vivo* e *in vitro* [21,30] até mesmo nas concentrações mais baixas [8]. O cloreto de benzalcônio presente em drogas antiglaucomatosas pode causar inflamação conjuntival afetando as funções imunológicas normais do olho [24,33]. A presença do conservante justifica principalmente as alterações encontradas no grupo de animais tratados com latanoprost a 0,005%, tendo em vista que a concentração do cloreto de benzalcônio neste fármaco é de 0,02%, ou seja, duas vezes e meia, maior do que a da dorzolamida a 2%, que é de 0,008% [21]. Deve-se ressaltar que efeitos deletérios foram associados ao cloreto de benzalcônio na concentração de 0,005% [13].

A outra hipótese associada aos efeitos adversos observados no grupo tratado com dorzolamida a 2%, está relacionada ao pH do fármaco. Este colírio possui um pH de 5,6, enquanto o do latanoprost a 0,005% é de 6,7. Isto indica que a dorzolamida a 2% pode ter

induzido, secundariamente, as alterações oculares em virtude de seu pH ácido, [21]. A associação do baixo pH e da presença do cloreto de benzalcônio em concentração superior a 0,005% como conservante do colírio explica o elevado percentual de alterações observadas neste grupo.

Outro inibidor da anidrase carbônica é a bri-zolamida, que possui pH próximo da neutralidade e provoca menor desconforto ao animal [38]. Embora seu efeito sobre a diminuição do PIO seja semelhante ao da dorzolamida, ele não atua de forma eficaz na espécie felina [22] e por este motivo não foi objeto do presente estudo.

Reações de desconforto ocular imediatas as instilações dos tratamentos foram observadas nos grupos I e II. Na maioria dos animais (83,34%) medicados com dorzolamida a 2%, o desconforto foi leve e evidenciado pelo abrupto fechamento das pálpebras, por alguns segundos, e sacudir lateral da cabeça. Dois animais (33,34%), deste mesmo grupo, apresentaram reações mais intensas que incluíam agitação e prurido ocular. Nos coelhos que receberam latanoprost a 0,005%, apenas 1 animal (16,67%) apresentou desconforto ocular leve. Efeitos oftálmicos semelhantes, como desconforto e prurido, foram relatados por pacientes humanos [3,5,10]. Em estudos experimentais realizados em coelhos o prurido foi um sinal observado e associado a presença do cloreto de benzalcônio [18].

As reações que demonstraram desconforto ocular não foram relacionadas exclusivamente com as alterações conjuntivais observadas, tendo em vista que estavam presentes antes dos animais apresentarem qualquer variação.

As alterações oculares observadas no grupo controle foram isoladas, de curta duração, resolução espontânea e relacionadas a agentes ambientais, como poeira ou outros tipos de alérgenos.

Durante todo o experimento, nos diferentes grupos e tempos, nenhuma alteração clínica da córnea, como opacidade, edema ou ceratite puntiforme, foi observada ao exame clínico. Relatos de edema e descompensação irreversível da córnea ocorreram em pacientes humanos tratados com dorzolamida a 2%, mas foram relacionados com comprometimento endotelial [16,29]. Entretanto, estes resultados não foram comprovados em outros estudos [15,36]. Alterações corneanas semelhantes não foram relatadas em pacientes tratados com latanoprost a 0,005% [8,34].

Embora não tenham sido observadas alterações corneanas durante a avaliação oftalmológica diária, foi verificado aumento estatisticamente significativo da ECC nos olhos tratados com dorzolamida a 2%, após 120 dias. Em olhos de pacientes humanos glaucomatosos tratados com dorzolamida a 2% também houve aumento da ECC [11]. Outros pesquisadores [15,36] evidenciaram um pequeno, mas não significativo aumento da ECC após tratamento com este antiglaucomatoso. Porém, num estudo realizado em coelhos com dorzolamida a 2% por 18 semanas foi relatada diminuição da ECC [2].

Análises associando alterações da ECC ao uso do latanoprost a 0,005%, por períodos prologados (após seis meses e um ano), mostraram não haver diferenças estatísticas significativas na ECC de olhos [17], corroborando com os dados obtidos neste experimento.

Uma hipótese para elevação da ECC em olhos normais medicados com dorzolamida a 2% diz respeito ao baixo pH (5,6) deste fármaco. Substâncias com pH menor que 6,8 podem causar danos às membranas celulares levando ao edema [25]. Outras possíveis justificativas para o desenvolvimento do edema de córnea e consequente aumento da ECC envolve a inibição intracelular dos íons cálcio que possuem um importante papel na bomba celular de Na⁺/K⁺ e na mobilidade da concentração de cálcio nas células endoteliais da córnea e podendo interferir na homeostase corneana [39], e a atenuação do efluxo de bicarbonato bloqueando a anidrase carbônica no endotélio da córnea [16].

O aumento da ECC pode influenciar a mensuração da PIO, superestimando seu valor e deve ser considerado no acompanhamento de animais tratados por longos períodos. Em pacientes glaucomatosos a elevação da ECC pode ser maior devido lesão das células endoteliais corneanas.

Deve-se ressaltar que a eficácia do tratamento é dependente do tutor e a probabilidade de atingir este objetivo é maior quando a medicação se faz de modo criterioso [4]. As barreiras para a fidelidade e adesão ao tratamento com antiglaucomatosos tópicos na medicina veterinária incluem além dos possíveis efeitos adversos locais, a inabilidade para instilar o colírio associada a ausência de um colaborador que auxilie na administração do fármaco e o custo do medicamento.

Os efeitos colaterais devem ser conhecidos para que o profissional veterinário possa esclarecer sobre as possíveis reações imediatas a instilação e a

longo prazo para evitar a descontinuidade do tratamento na tentativa de preservar a visão do animal pelo maior tempo possível.

Com os novos conhecimentos a respeito da fisiopatologia do glaucoma, as bases do tratamento da enfermidade estão englobando, além do controle da PIO, a preservação da função do nervo óptico através do uso de neuroprotetores. Entretanto, a atual base para o tratamento medicamentoso da síndrome continua sendo o controle da PIO, esteja essa associada ou não, a lesão do nervo óptico determinando assim a extrema importância de estudos relacionados aos principais fatores responsáveis pela descontinuidade do tratamento.

CONCLUSÕES

Com base nos resultados obtidos e nas condições experimentais descritas, é possível concluir que, após 120 dias, a cloridrato de dorzolamida a 2% promoveu aumento da espessura corneana central e que

ambos os colírios estudados, latanoprost a 0,005% e dorzolamida a 2%, produziram reações de desconforto ocular, hiperemia conjuntival, edema palpebral e secreção ocular variando de serosa a seromucosa nas margens palpebrais e sacos conjuntivais e que estas reações foram mais intensas em animais tratados com a dorzolamida.

MANUFACTURERS

¹Pfizer Manufacturing Belgium Nv Puurs. Puurs, Belgium.

²União Química Farmacêutica Nacional S.A. Embu-Guaçu, SP, Brazil.

³Efe Consultoria & Importação. Recife, Pe, Brazil.

⁴Tomey Corporation. Nagoya, Japan.

Funding. This project was supported by the Conselho Nacional de Pesquisa-CNPq.

Acknowledgments. The authors are grateful to the staff of the Hospital São Geraldo, Belo Horizonte, Minas Gerais, Brazil.

Declaration of interest. The authors report no conflicts of interest. The authors alone are responsible for the content.

REFERENCES

- 1 **Abdou E.M. & Kandil S.M. 2017.** Formulation and evaluation of dorzolamide and timolol ocserts. *International Journal of Pharmaceutical Sciences and Research*. 8(2): 915-924.
- 2 **Almeida Junior G.C. & Faria e Souza S.J. 2006.** Effect of topical dorzolamide on rabbit central corneal thickness. *Brazilian Journal of Medical and Biological Research*. 39(2): 277-281.
- 3 **Balfour J.A. & Wilde M.I. 1997.** Dorzolamide - A review of its pharmacology and therapeutic potential in the management of glaucoma and ocular hypertension. *Drugs & Aging*. 10(5): 384-402.
- 4 **Borges A.G., Brandão C.V.S., Ranzani J.J.T. & Adalberto J.C. 2007.** Efeitos maleato de timolol 0,5% do cloridrato de dorzolamida 2%, e da associação de ambas na pressão intra-ocular. *Arquivo Brasileiro Medicina Veterinária e Zootecnia*. 59(3): 660-664.
- 5 **Cawrse M.A., Ward D.A. & Hendrix D.V.H. 2001.** Effects of topical application of a 2% solution of dorzolamide on intraocular pressure and aqueous humor flow rate in clinically normal dogs. *American Journal of Veterinary Research*. 62(6): 859-863.
- 6 **Conlon R., Saheb H. & Ahmed I.I.K. 2017.** Glaucoma treatment trends: a review. *Canadian Journal of Ophthalmology*. 52(1): 114-124.
- 7 **Costagliola C., Del Prete A., Incorvaia C., Fusco R., Parmeggiani F. & Di Giovanni A. 2001.** Ocular surface changes induced by topical application of latanoprost and timolol: a short-term study in glaucomatous patients with and without allergic conjunctivitis. *Graefe's Archive for Clinical Experimental Ophthalmology*. 239(11): 809-814.
- 8 **Costagliola C., Del Prete A., Verolino M., Antinozzi P., Fusco R., Parmeggiani F. & Mastropasqua L. 2000.** Effect of 0.005% latanoprost once daily on intraocular pressure in glaucomatous patients not adequately controlled by beta-blockers twice daily: a 3-year follow-up. Experience and incidence of side effects in a prospective study on 76 patients. *Graefe's Archive for Clinical Experimental Ophthalmology*. 240(5): 379-386.
- 9 **Galera P.D., Araújo R.L.S., Sant'ana F.J.F. & Castro M.B. 2017.** Caracterização clínica e histopatológica de bulbos oculares de cães e gatos (2005-2015). *Pesquisa Veterinária Brasileira*. 37(10): 1125-1132.
- 10 **Gray H.E., Willis A.M. & Morgan R.V. 2003.** Effects of topical administration of 1% brinzolamide on normal cat eyes. *Veterinary Ophthalmology*. 6(4): 285-290.
- 11 **Herndon L.W., Choudhri S.A., Cox T., Damji K.F., Shields M.B. & Allingham R.R. 1997.** Central corneal thickness in normal, glaucomatous, and ocular hypertensive eyes. *Archives of Ophthalmology*. 115(9): 1137-1141.

- 12 **Herreras J.M., Pastor C.P., Calonge M.C. & Asensio V.M. 1992.** Ocular surface alteration after long-term treatment with an antiglaucomatous drug. *Ophthalmology*. 99(7): 1082-1088.
- 13 **Imperia P.S., Lazarus H.M., Botti Junior R.E. & Lass J.H. 1986.** An in vitro method for measuring ophthalmic preservative cytotoxicity. *Journal of Toxicology Cutaneous and Ocular Toxicology*. 5(4): 309-317.
- 14 **Jaenen N., Baudouin C., Pouliquen P., Manni G., Figueiredo A. & Zeyen T. 2007.** Ocular symptoms and signs with preserved and preservative-free glaucoma medications. *European Journal Ophthalmology*. (17): 341-349.
- 15 **Kaminski S., Hommer A., Koyuncu D., Biowski R., Barisani T. & Baumgartner I. 1998.** Influence of dorzolamide on corneal thickness, endothelial cell count and corneal sensibility. *Acta Ophthalmologica Scandinavica*. 76(1): 78-79.
- 16 **Konowal A., Morrison J.C., Brown S.V., Cooke D.L., Maguire L.J., Verdier D.V., Fraundfelder F.T., Dennis R.F. & Epstein R.J. 1999.** Irreversible corneal decompensation in patients treated with topical dorzolamide. *American Journal Ophthalmology*. 127(4): 403-407.
- 17 **Lass J.H., Eriksson G.L., Osterling L. & Simpson C.V. 2001.** Comparison of the corneal effects of latanoprost, fixed combination latanoprost-timolol, and timolol: A double-masked, randomized, one-year study. *Ophthalmology*. 108(2): 264-271.
- 18 **Liang H., Baudouin C., Labbe A., Riancho L. & Brignole-Baudouin F. 2012.** Conjunctiva-associated lymphoid tissue (CALT) reactions to antiglaucoma prostaglandins with or without BAK-preservative in rabbit acute toxicity study. *PLoS ONE*. 7(3): e33913.
- 19 **Martins A.C., Ribeiro A.P., Laus J. & L'Ortiz J.P.D. 2009.** Glaucoma. In: Laus J.L. (Ed). *Oftalmologia Clínica e Cirúrgica em Cães e Gatos*. São Paulo: Editora Roca, pp.151-167.
- 20 **Mietz H., Schlötzer-Schreber U., Strassfeld C. & Krügelstein G.K. 2001.** Effect of latanoprost and timolol on the histopathology of the rabbit conjunctiva. *Investigative Ophthalmology & Visual Science*. 42(3): 679-687.
- 21 **Noecker R.J., Herrygers L.A. & Anwaruddin R. 2004.** Corneal and conjunctival changes caused by commonly used glaucoma medications. *Cornea*. 23(5): 490-496.
- 22 **Oriá A.P., Gomes Junior D.C., Souza M.R., Costa Neto J.M., Estrela-Lima A. & Dórea Neto F.A. 2013.** Glaucoma secundário em cães e gatos. *Medicina Veterinária*. 7(3): 13-22.
- 23 **Ribeiro A.P., Martins B.C. & Laus J.L. 2007.** Síndrome glaucomatosa em cães - parte 2. *Ciência Rural*. 37(6): 1828-1835.
- 24 **Russ H. H., Turner-Gianicco A., Montiani-Ferreira F. & Lima L. 2016.** Clinical and histologic comparison of conjunctival changes induced by antiglaucoma beta blockers, carbonic anhydrase inhibitors, alfa agonists and fixed combinations with and without preservatives. *Journal of Clinical & Experimental Ophthalmology*. 7(5): 1000606. DOI: 10.4172/2155-9570.1000606
- 25 **Schor P. & Belfort Junior R. 1997.** Metabolismo e Bioquímica da Córnea. In: Belfort-Junior R. & Kara-José N. (Eds). *Córnea Clínica-Cirúrgica*. São Paulo: Editora Roca, pp.41-50.
- 26 **Schwartz M. 2001.** Neuroprotection as a treatment for glaucoma: pharmacological and immunological approaches. *European Journal Ophthalmology*. 11(Suppl 2): 7-11.
- 27 **Strom A.R., Hassig M., Iburg T.M. & Spiess B.M. 2011.** Epidemiology of canine glaucoma presented to University of Zurich from 1995 to 2009. 1. Congenital and primary glaucoma (4 and 123 cases). *Veterinary Ophthalmology*. 14(2): 121-126.
- 28 **Studer M.E., Charles L.M. & Stiles J. 2000.** Effects of 0.005% latanoprost solution on intraocular pressure in healthy dogs and cats. *American Journal of Veterinary Research*. 61(10): 1220-1224.
- 29 **Talluto D.M., Wyse T.B. & Krupin T. 1997.** Topical carbonic anhydrase inhibitors. *Current Opinion in Ophthalmology*. 8(2): 2-6.
- 30 **Tripathi B.J., Tripathi R.C. & Kolli S.P. 1992.** Cytotoxicity of ophthalmic preservatives on human corneal epithelium. *Lens and Eye Toxicity Research*. 9(3-4): 361-375.
- 31 **Vanlandingham B.D. & Brubaker R.F. 1998.** Combined effect of dorzolamide and latanoprost on the rate of aqueous humor flow. *American Journal Ophthalmology*. 126(2): 191-196.
- 32 **Walimbe T., Chelkerkar V., Bhagat P., Joshi A. & Raut A. 2016.** Effect of benzalkonium chloride-free latanoprost ophthalmic solution on ocular surface in patients with glaucoma. *Clinical Ophthalmology*. 10: 821-827.
- 33 **Wang X., Dong J. & Wu Q. 2013.** Twenty-four-hour measurement of IOP in rabbits using rebound tonometer. *Veterinary Ophthalmology*. 16(6): 423-428.

- 34 **Watson P.G. 1999.** Latanoprost in the treatment of glaucoma and ocular hypertension. *Drugs Today*. 35(6): 449-459.
- 35 **Weinreb R.N., Aung T. & Medeiros F.A. 2014.** The pathophysiology and treatment of glaucoma: a review. *Journal of the American Medical Association*. 311(18): 1901-1911.
- 36 **Wilkerson M., Cyrlin M., Lippa E.A., Esposito D., Deasy D., Panebianco D., Fazio R., Yablonsky M. & Shields M.B. 1993.** Four-week safety and efficacy study of dorzolamide, a novel, active topical carbonic anhydrase inhibitor. *Archives of Ophthalmology*. 111(10): 1343-1350.
- 37 **Willis A.M., Diehl K.A. & Robbin T.E. 2002.** Advances in topical glaucoma therapy. *Veterinary Ophthalmology*. 5(1): 9-17.
- 38 **Willis A.M. 2004.** Ocular hypotensive drugs. *Veterinary Clinics of North America Practice*. 34(3): 755-776.
- 39 **Wu K.Y., Hong S.J. & Wang H.Z. 2006.** Effects of antiglaucoma drugs on calcium mobility in cultured corneal endothelial cells. Kaohsiung. *Journal of Medical Sciences*. 22(2): 60-67.
- 40 **Yalvaç I.S., Gedikoglu G., Karagöz Y., Akgün U., Nurözler A., Koç F., Kasim R. & Duman S. 1995.** Effects of antiglaucoma drugs on ocular surface. *Acta Ophthalmologica Scandinavica*. 73(3): 246-248.