

ESTUDO DE TOXICIDADE RETINIANA APÓS INJEÇÕES INTRAVÍTREAS SERIADAS DE INFLIXIMABE EM OLHOS DE COELHOS

A SAFETY STUDY OF RETINAL TOXICITY AFTER SERIAL INTRAVITREAL INJECTIONS OF INFLIXIMAB IN THE RABBITS EYES

Alan Ricardo **RASSI**, Marcos Pereira **AVILA** Leticia D. **ALVES**, Moacyr **RIGUEIRO**, Murilo **ABUD**, Ericka C. **FREITAS**, Luciana B. **CARNEIRO**

Trabalho realizado no Centro de Referência em Oftalmologia da Faculdade de Medicina da Universidade Federal de Goiás e no Departamento de Patologia da Faculdade de Medicina da Universidade Federal de São Paulo.

Endereço para correspondência: Alan Ricardo Rassi, rua T-48 nº 100 aptº 1101, Setor Oeste, CEP: 74140-130 Goiânia - Goiás, e-mail: alanrassi@ipvisao.com.br
Fone: (062) 3096-8127

Palavras chaves: infliximabe, coelhos, injeção intravítrea, uveíte.

INTRODUÇÃO

Infliximabe é um anticorpo monoclonal quimérico humano murino que se liga ao TNF, levando à perda de sua bioatividade. É administrado por via endovenosa e utilizado no tratamento da artrite reumatoide, doença de Crohn, doença de Behçet e espondilite anquilosante. Porém, efeitos adversos aparecem com frequência, como o desenvolvimento de doenças infecciosas, malignas, reações durante infusão endovenosa e desenvolvimento de autoimunidade. Pacientes podem desenvolver anticorpos humanos anti-quiméricos (HACA) e antimurinos com o uso de infliximabe. Pacientes portadores de uveíte e doença de Behçet foram tratados com infliximabe, por via endovenosa, e

remissão do processo inflamatório ocular tornou-se evidente em 24 horas, e sua completa supressão, após sete dias, em todos os pacientes . Edema macular cistoide, uma importante complicação em pacientes com uveíte posterior, resolveu-se em todos os casos. Foi notado ainda que, em dois pacientes com artrite reumatoide e DMRI, a infusão endovenosa de infliximabe causou regressão da membrana neovascular¹. Pacientes com diabetes tipo 2 portadores de edema macular apresentaram melhora acentuada após uso de infliximabe por via endovenosa . Com administração intravítrea de infliximabe obtêm-se concentrações terapêuticas com mínima absorção sistêmica, diminuindo os seus efeitos colaterais.

MATERIAL E MÉTODOS

Foram estudados doze coelhos albinos, da raça New Zealand, com protocolo aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisas Humanas e Animais da Universidade Federal de Goiás. Os coelhos foram mantidos em gaiolas individuais, em ambiente climatizado, e supervisionados por veterinário. Foram divididos em um grupo de dez coelhos e outro grupo de dois coelhos que serviram de controle. Todos os olhos foram submetidos a exame clínico oftalmológico (lampada de fenda, oftalmoscopia binocular, tonometria) e eletrorretinográfico. Dois olhos do grupo controle foram submetidos a duas aplicações de solução salina balanceada (BSS) e os outros dois olhos foram submetidos a três aplicações de BSS. No outro grupo, dez olhos foram submetidos a duas aplicações de infliximabe e dez olhos a três aplicações de infliximabe. O exame oftalmológico foi realizado após todas as injeções intravítreas e os exames eletrorretinográficos, antes da primeira aplicação e 30 dias após a última aplicação. Infliximabe (Remicade 100 mgtm) foi reconstituída com 3 ml de solução salina, tendo sido injetado em cada olho 0,06 ml da solução (2 mg de infliximabe). Os animais foram anestesiados com uma associação de cloridrato de xilazina e cetamina por via intramuscular e submetidos a exame

oftalmológico oftalmoscopia eletrorretinográfico. As injeções intravítreas foram feitas a dois milímetros do limbo supero temporal. Os olhos foram dilatados com fenilefrina e cicloplégico. Foi utilizado Moxifloxacino colírio no pré e pós-operatório. Os coelhos foram submetidos mensalmente a injeções intravítreas (dias 1, 30 e 60) sob anestesia e noventa dias após a primeira aplicação, a novo exame oftalmológico e eletrorretinográfico. A eutanásia foi feita logo após, administrando cloreto de potássio a 10%.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Resultados dos exames clínicos oftalmológicos: Os olhos não apresentaram opacificações corneanas e aumento da pressão intra-ocular. Notou-se presença de pequena opacificação de cristalino periférico em dois olhos provocadas pelas injeções intravítreas. Exame com oftalmoscópio binocular indireto não constatou descolamento de retina, alterações na retina e no nervo óptico ou presença de opacificações e sinais inflamatórios no vítreo.

Resultados dos exames eletrorretinográficos: Nos exames das ondas a e b, não foram encontradas diferenças significativas tanto na morfologia quanto nas amplitudes dessas ondas. O eletrorretinograma revelou presença de ondas detectáveis durante todo o exame em todos os grupos, com resposta normal, tanto em relação à amplitude quanto ao tempo implícito das ondas a e b.

Resultados dos exames histológicos: Não foram encontrados descolamento e edema de retina e nem percebidas alterações histológicas na retina sensorial, epitélio pigmentar e coroide todos os olhos estudados. Não se constataram sinais de atrofia e edema tanto nas células como na espessura das camadas retinianas e da coroide . Uma pequena alteração encontrada em quatro e seis olhos submetidos a duas e três aplicações de infliximabe respectivamente, foi a presença no vítreo, de raros linfócitos e

eosinófilos, sem comprometimento retiniano e sem significado clínico . Uma única alteração clinicamente significativa foi uma reação inflamatória com presença de fibrina no vítreo posterior e sem alterações na camada de células ganglionares nos dois olhos de um coelho que foi submetido a duas e três aplicações de infliximabe.

Os estudos do uso de infliximabe intravítreo em coelhos, até o presente momento, utilizaram sempre uma única aplicação com resultados convincentes da segurança dessa droga. O presente estudo avaliou os efeitos eletrofisiológicos e histológicos da retina de coelhos após duas e três aplicações de infliximabe em intervalos mensais. O volume e dosagem utilizados (0,06 ml/2 mg) foram bem tolerado pelos olhos dos coelhos, não causando aumento da pressão intra ocular. A única alteração histológica notada foi a presença no vítreo de raros linfócitos e eosinófilos, sem significado clínico. Foram encontradas tanto em olhos submetidos a duas como três aplicações de infliximabe. Como não houve alterações na morfologia das ondas a e b antes e após as injeções, a função eletrorretinográfica da retina não foi alterada com o uso da droga. Os estudos de todas as lâminas obtidas dos olhos dos coelhos não revelaram a presença de alterações nas diversas camadas da retina, o que corrobora a não toxicidade do uso intra-ocular de duas e três aplicações de infliximabe.

CONCLUSÃO

Após avaliação dos exames clínico oftalmológicos, anatomo patológicos e eletrorretinográficos pode-se afirmar que duas e três injeções intravítreas de infliximabe na dosagem de 2 mg, em intervalos mensais, não provocam alterações tóxicas nas retinas de coelhos.

Conclui-se que duas ou três injeções de infliximabe intravítreo na dosagem de 2 mg mostram-se seguras em coelhos, por não produzirem alterações tóxicas no seu

tecido retiniano e coroide. Estudos clínicos devem ser realizados para melhor avaliação da segurança do uso dessa substância, por via intravítrea, em seres humanos.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Dick AD, Forrest JV, Liversidge J, Cope AP. The role of tumor necrosis factor (TNF-alpha) in experimental autoimmune uveoretinitis (EAU). *Prog Retin Eye Res.* 2004;23:617-637.
- Santos Lacomb M, Marcos Martin C, Gallardo Galera JM, et al. Aqueous humor and serum tumor necrosis factor alpha in clinical uveítis. *Ophthalmic Res.* 2001;33:251-255.
- Fleisher LN, FerrellJB, McGahan MC. Ocular inflammatory effects of intravitreally injected tumor necrosis factor and endotoxin. *Inflammation* 1990;14:325-335.
- Rosenbaum JT, Howes EL, Rubin RM, Samples Jr. Ocular inflammatory effects of intravitreally injected tumor necrosis factor. *Am J Pathol* 1988;133:47-53.
- Lacomb MS, Martin CM, Gallardo Calera GM, et al. Aqueous humor and tumor necrosis factor alpha in clinical uveitis. *Ophthalmic Res* 2001;33:251-255.
- Palexas GN, Sussman G, Welsh NH. Ocular and systemic determination of IL-1 beta and tumor necrosis factor in a patient with ocular inflammation. *Scand J Immunol* 1992;supl 11:173-175.