

Estudo histopatológico da retina de coelhos após injeção intravítrea de lidocaína

Histopathologic study of the retina in rabbits after intravitreal injection of lidocaine

Marcos Antônio Ferreira¹
Moacyr Pezati Rigueiro²
Paulo Henrique Moraes³
Magno Antônio Ferreira⁴
Michel Eid Farah⁵

RESUMO

Objetivo: Estudar em olhos de coelhos as alterações retinianas após injeção intravítrea de lidocaína nas concentrações 0,5, 1,0 e 2,0% por meio de análise histopatológica com microscopias de luz e eletrônica de transmissão. **Métodos:** Foram utilizados 40 olhos de 20 coelhos albinos da raça Nova Zelândia, submetidos à injeção intravítrea de lidocaína a 0,5% (grupo II), 1,0% (grupo III) e 2,0% (grupo IV) nos olhos direitos e solução salina nos olhos esquerdos (grupo I-controle) após anestesia geral. Foi realizada oftalmoscopia binocular indireta, antes, durante, imediatamente e uma hora após a injeção intravítrea e nos dias 1^o, 3^o, 7^o e 15^o de evolução. Nos mesmos períodos um olho do grupo II, dois olhos do grupo III, um olho do grupo IV e todos olhos contralaterais (grupo I), foram enucleados e examinados sob microscopia de luz e eletrônica de transmissão. **Resultados:** A observação por oftalmoscopia binocular indireta antes e durante a injeção intravítrea não apresentou alteração em todos os olhos examinados. Após a injeção intravítrea observou-se a retina com aspecto esbranquiçado difuso, elevação da interface vítreo-retiniana, focal e próximo ao local de injeção, edema de retina e anel de condensação vítreo tanto no grupo controle quanto nos olhos com injeção de lidocaína. A análise histológica por microscopia de luz e eletrônica de transmissão não evidenciou alterações em nenhum dos olhos examinados. **Conclusões:** A injeção intravítrea de lidocaína nas concentrações de 0,5, 1,0 e 2,0% demonstrou ser atóxica para a retina, considerando os estudos de microscopia de luz e eletrônica de transmissão.

Descritores: Coelhos; Lidocaína/administração & dosagem; Injeções; Anestésicos locais; Corpo vítreo; Retina/fisiopatologia; Microscopia eletrônica/métodos; Microscopia eletrônica de transmissão e varredura/métodos; Animais

¹ Pós-graduando - Nível Mestrado pelo Departamento de Oftalmologia da Universidade Federal de São Paulo, Escola Paulista de Medicina.

² Doutor em Medicina e Prof. Adjunto do Departamento de Patologia da Universidade Federal de São Paulo, Escola Paulista de Medicina.

³ Mestre em Oftalmologia pelo Departamento de Oftalmologia da Universidade Federal de São Paulo, Escola Paulista de Medicina.

⁴ Mestre em Oftalmologia pelo Departamento de Oftalmologia da Universidade Federal de São Paulo, Escola Paulista de Medicina e Professor Assistente da Universidade Federal de Uberlândia.

⁵ Professor Livre-Docente e Orientador de Pós-graduação da Universidade Federal de São Paulo, Escola Paulista de Medicina.

Endereço para correspondência: HIGS 708 Bloco H casa 57 - Brasília (DF) CEP 70272-040.
E-mail: marcosferreira@sindmedico.com.br
Recebido publicação em 02.08.2000
Aceito para 29.08.2001

INTRODUÇÃO

A retina é um tecido delicado, diáfano, cuja parte interna está em contato com o corpo vítreo e a parte externa está adjacente ao epitélio pigmentado da retina, chamado espaço intra-retiniano. Posteriormente todas as camadas da retina terminam na cabeça do nervo óptico, exceto a camada de fibras nervosas e a limitante interna anteriormente a retina neurosensorial estende-se até a ora serrata⁽¹⁾.

A anestesia local compreende a produção de um estado de insensibilidade localizada, de caráter reversível, sem alteração do estado de consciência⁽²⁾. Na dependência da quantidade de droga anestésica injetada, o blo-

queio da sensibilidade pode também ser acompanhado de bloqueio motor⁽³⁾.

A estrutura química da lidocaína é constituída por um radical lipofílico e outro hidrofílico, unidos por uma cadeia intermediária⁽⁴⁾, sendo o mais comum anestésico para bloqueio⁽⁵⁾, entretanto a duração da anestesia e acinesia podem ser insuficiente para o completo procedimento cirúrgico⁽⁶⁾.

As anestésias retrobulbar e peribulbar são as mais comuns e utilizadas em oftalmologia e na grande maioria dos casos não causam complicações⁽⁷⁻⁸⁾; porém existem as complicações tipo rotura do bulbo ocular, trauma do nervo óptico, hemorragia retrobulbar, penetração da bainha dural do nervo óptico e conseqüentemente injeção no espaço subaracnóideo, resultando apnéia e mesmo morte; outras mais comuns incluem diplopia, ptose, náusea e hipertensão sistêmica⁽⁸⁻¹⁰⁾.

Com o intuito de minimizar complicações, houve uma evolução técnica e formas alternativas à anestesia retrobulbar⁽¹¹⁻¹⁵⁾, como a anestesia tópica e intracamerular para extração de catarata por facoemulsificação⁽¹⁶⁾.

O objetivo deste trabalho é analisar, em olhos de coelhos, as alterações anatômicas provocadas pela lidocaína no segmento posterior do olho nas concentrações 0,5, 1,0 e 2,0% por meio de análise clínica e histopatológica sob microscopias de luz e eletrônica de transmissão.

MÉTODOS

Foram utilizados 40 olhos de 20 coelhos albinos, da raça Nova Zelândia, pesando entre 2,5 e 3,2 quilogramas. Os olhos esquerdos de todos os coelhos foram utilizados como grupo controle (grupo I) nos quais injetou-se 0,2 ml de solução salina. Nos olhos direitos injetou-se 0,2 ml de lidocaína nas concentrações conforme se segue: a 0,5% (grupo II, 10 olhos), 1,0% (grupo III, 20 olhos) e 2,0% (grupo IV, 10 olhos).

Os coelhos foram submetidos à anestesia geral com injeção intramuscular de uma mistura contendo 1,0 ml de cloridrato de ketamina (50 mg) Ketalar® e 3,0 ml de xilazina (2g/100 ml) Rompun®. A midríase foi obtida com a mistura de uma gota de tropicamide a 1%, Mydracyl 1%® (Alcon Laboratório), uma gota de Fenilefrina a 10%® (Allergan Laboratório).

A injeção intravítrea foi realizada com agulhas de 13 x 5,5 (Teruno Medical Corporation) através da *pars ciliaris*, a 2 mm do limbo⁽¹⁶⁾ na região temporal superior, sendo injetado 0,2 ml de solução de lidocaína a 0,5, 1,0 e 2,0% sem preservativo (Ophthalmos).

O exame clínico incluiu a realização de oftalmoscopia binocular indireta sob midríase, antes, durante, imediatamente e uma hora após a injeção intravítrea e nos dias 1^o, 3^o, 7^o e 15^o de evolução, sendo observados os seguintes parâmetros: grau de opacidade do vítreo; na retina: edema localizado ou difuso, hemorragia, vasculite, descolamento e atrofia. Após anestesia geral e exame clínico, os animais foram enucleados, os olhos enviados para estudo histopatológico e posteriormente sacrificados com injeção letal de tionebutal (de acordo com a reso-

lução do uso de animais em pesquisa da “Association for Research in Vision and Ophthalmology”) em grupos de cinco no primeiro, terceiro, sétimo e décimo quinto dias.

Para microscopia de luz os olhos foram imersos em solução de paraformaldeído a 2%, glutaraldeído a 2,5% e fosfato tampão 0,2 M (pH 7,2). Os processos de embebição em parafina, cortes e coloração pela hematoxilina-eosina seguiram os procedimentos de rotina⁽¹⁷⁾.

A metodologia utilizada para realização da microscopia eletrônica de transmissão foi a de Luft, Harven⁽¹⁸⁻¹⁹⁾. A análise dos cortes ultrafinos e suas eletromicrofotografias foram realizadas em microscópio eletrônico de marca Carl Zeiss, modelo EM 900 a 80 Kv⁽²⁰⁾.

RESULTADOS

A observação por oftalmoscopia binocular indireta realizada antes da injeção intravítrea não apresentou alteração em todos os olhos examinados, assim como não houve intercorrência durante a injeção intravítrea.

Na oftalmoscopia realizada imediatamente após a injeção encontramos alterações como retina com aspecto esbranquiçado, próximos ao local da injeção, elevação da interface vítreo-retiniana, edema de retina e anel de condensação vítrea (Tabela 1).

Uma hora após a injeção intravítrea do anestésico foi observado o desaparecimento retina esbranquiçada em todos os olhos. Não foi encontrado rotura ou descolamento de retina regmatogênico nos olhos do experimento (Tabela 2).

No exame de oftalmoscopia realizado no primeiro dia de administração da lidocaína observou-se no grupo I (controle), somente anel de condensação vítrea em 2 (10%) olhos. Um olho (20%) do grupo II, 2 (20%) olhos do grupo III e 1 (20%) olho do grupo IV apresentaram anel de condensação vítrea, elevação da interface vítreo-retiniana e descolamento seroso de retina (Tabela 3).

No exame histopatológico realizado com microscopia de luz e eletrônica de transmissão não evidenciou alterações da retina em nenhum dos olhos dos coelhos estudados no primeiro dia do experimento.

No exame oftalmoscópico realizado no terceiro dia de administração da lidocaína apenas um olho (5%) apresentou anel de condensação vítrea nos grupo controle e grupo III. No exame realizado nos olhos dos grupos II e IV não foram encontrados sinais de anel de condensação vítrea; não foram observadas elevações da interface vítreo-retiniana e nem descolamento seroso de retina (Tabela 3).

No exame de oftalmoscopia realizado no sétimo e décimo quinto dia de administração da lidocaína não foram observados anel de condensação vítreo-retiniana, elevação da interface vítreo-retiniana e nem descolamento seroso de retina nos grupos I, II e III.

No exame de microscopia de luz e eletrônica de transmissão, realizados no terceiro, sétimo e décimo quinto dia de

Tabela 1. Achados oftalmoscópicos do vítreo e da retina de coelhos logo após a injeção intravítrea de lidocaína e solução fisiológica

ACHADOS FUNDOSCÓPICOS Fundo de olho imediato	Grupo I		Grupo II		Grupo III		Grupo IV	
	N=20	%	n=05	%	n=10	%	n=05	%
Retina esbranquiçada								
Leve	16	80	1	20	2	20	1	20
Moderada	-	-	3	60	6	60	3	60
Intensa	-	-	1	20	2	20	1	20
Elevação da interface vítreo-retiniana	6	30	2	40	5	50	2	40
Anel de condensação vítrea	2	10	2	40	5	50	2	40
Edema de retina	4	20	3	60	5	50	3	60
Pulso venoso	-	-	1	20	2	20	1	20

Tabela 2. Achados oftalmoscópicos do vítreo e da retina de olhos de coelhos submetidos à injeção intravítrea de lidocaína e solução salina após uma hora

ACHADOS FUNDOSCÓPICOS Fundo de olho após uma hora	Grupo I		Grupo II		Grupo III		Grupo IV	
	n=20	%	n=05	%	n=10	%	n=05	%
Elevação da interface vítreo-retiniana	6	30	3	60	6	60	3	60
Anel de condensação vítrea	2	10	3	60	6	60	3	60
Edema de retina	4	20	4	80	8	80	4	80
Descolamento seroso de retina	-	-	1	20	2	20	1	20

Tabela 3. Achados oftalmoscópicos do vítreo e da retina de coelhos submetidos à injeção intravítrea de lidocaína e solução fisiológica após o primeiro e terceiro dias

ACHADOS FUNDOSCÓPICOS Fundo de olho no 1º dia	Grupo I		Grupo II		Grupo III		Grupo IV	
	n=20	%	n=05	%	n=10	%	n=05	%
Elevação da interface vítreo-retiniana	-	-	1	20	2	20	1	20
Anel de condensação vítrea	2	10	1	20	2	20	1	20
Descolamento seroso de retina	-	-	1	20	2	20	1	20
Fundo de olho no 3º dia								
Anel de condensação vítrea	1	5	-	-	1	10	-	-

administração da lidocaína não foram observadas alterações morfológicas, nas camadas ou organelas da retina de nenhum olho de qualquer grupo.

DISCUSSÃO

Admitiu-se que o achado oftalmoscópico de retina esbranquiçada seja atribuído à presença do fenômeno de depressão alaistrante. A depressão alaistrante pode ser desencadeada por estímulos elétrico, mecânico, químico, térmico e por estímulos fisiológicos como, por exemplo, na retina, a estimulação óptica⁽²¹⁾.

Neste estudo, interpretou-se como depressão alaistrante a observação oftalmoscópica de retina esbranquiçada, por ter sido um fenômeno transitório e reversível, pois desapareceu após uma hora e pôde ser detectado com intensidade variável. O estímulo que o provocou foi interpretado como mecânico, por ter afetado ambos os olhos, e também químico, por ter maior intensidade no olho injetado com lidocaína.

O cristalino do coelho é bem maior do que o cristalino do homem e a agulha tende a se direcionar, durante a injeção, na parte posterior da cavidade vítrea para o pólo posterior, provocando efeitos osmóticos teoricamente maiores. Interessante observar também que as alterações fundoscópicas foram diferentes na comparação do grupo controle com os outros três grupos, porém a concentração da lidocaína não foi suficiente para modificar os resultados observados na oftalmoscopia binocular indireta. Nos grupos II, III e IV, as diferentes concentrações da droga utilizada não foram suficientes para alterar os resultados fundoscópicos.

No terceiro dia de pós-operatório, a única alteração fundoscópica observada foi um anel de condensação vítrea no grupo controle, apenas um olho, provavelmente porque neste grupo existia um maior número de olhos.

A cirurgia de catarata, por qualquer técnica, pode apresentar como complicação per-operatória uma rotura da cápsula posterior do cristalino e supõe-se que a solução anestésica difunda-se no humor vítreo, causando nestes casos dilatação e paralisia da pupila, diminuição da visão para conta dedos por

até 16 horas⁽²²⁾. As estatísticas não são uniformes e variam de acordo com os cirurgiões⁽²³⁻²⁵⁾.

Neste estudo, pela microscopia de luz, não foram encontradas alterações morfológicas na retina de coelhos albinos, quando foi utilizada a injeção intravítrea de lidocaína a 0,5%, 1% e 2%, coincidindo com os achados de Zemel et al.⁽⁶⁾, Lincoff et al.⁽²²⁾ e Nishide et al.⁽²⁶⁾.

O olho do coelho albino de raça Nova Zelândia possui a metade do comprimento axial do olho humano e um volume de 1,4 ml de humor vítreo, ou seja, 35% do volume vítreo do olho humano⁽²⁷⁾. Por esse motivo, a concentração usada neste trabalho correspondeu a uma concentração três vezes maior do que aquela que seria usada no olho do homem.

Mudanças de situação, como aquelas que ocorrem no olho do coelho e no olho do homem, não são uma simples questão matemática. Marmor⁽²⁸⁾ notou que a toxicidade retiniana não está relacionada somente ao volume vítreo ou à dosagem da droga. Os efeitos da injeção vítrea dependem também de fatores como local da injeção, padrão de difusão da droga no olho e características fisiológicas, vasculares e hidrodinâmicas particulares de cada olho.

Considerando os estudos de microscopia de luz e microscopia eletrônica de transmissão, para análise histopatológica, a injeção intravítrea de lidocaína nas concentrações 0,5%, 1% e 2% demonstraram ser atóxica para a retina.

ABSTRACT

Purpose: To study the retinal alterations in rabbit eyes after intravitreal injection of 0.5, 1.0 and 2.0% lidocaine through histopathological analysis with light and transmission electron microscopy. **Methods:** Forty eyes of 20 New Zealand albino rabbits were submitted to intravitreal injection of 0.5 (group II), 1.0 (group III) and 2.0% (group IV) lidocaine in the right eyes and saline solution in the left eyes (group I - control) after general anesthesia. Bilateral indirect ophthalmoscopy was performed before the intravitreal injection, during the procedure, one hour postoperative and on days 1, 3, 7 and 15. On the same days one eye of group II, two eyes of group III and one eye of group IV were enucleated and examined under light and transmission electron microscopy. **Results:** No alterations were found under bilateral indirect ophthalmoscopy before and during the intravitreal injection, but on days 1, 3, 7 and 15 after the procedure the retina showed a whitish aspect, an elevation of the vitreous-retinal interface, retinal edema and virtual condensation ring in all groups. No alterations were found using light and transmission electron microscopy analysis. **Conclusion:** Intravitreal injection of 0.5, 1.0 and 2.0% lidocaine morphologically showed no toxicity to New Zealand albino rabbit retina, based on light and transmission electron microscopy analysis.

Keywords: Rabbits; Lidocaine/administration & dosage;

Injections; Local anesthetics; Vitreous body; Retina/physiopathology; Electron microscopy/methods; Scanning transmission electron microscopy/methods; Animals

REFERÊNCIAS

1. Jan MM. Ocular embryology and anatomy. In: Ryan SJ, editor. Retina. 2ªed. Saint Louis: Mosby; 1994. p.15-6.
2. Covino BG. Pharmacology of local anesthetic agents. Br J Anaesth 1986;58: 701-6.
3. Butterworth JF, Strichartz GR. Molecular mechanisms of local anesthesia: a review. Anesthesiology 1990;72:711-34.
4. Strichartz GR, Sanches ZV, Arthur GR, Chafetz, Martin, D. Fundamental properties of local anesthetics II. Measured octanol: buffer partition coefficients and pKa values of clinically used drugs. Anesth Analg 1990;71:158-70.
5. Chin GN, Almquist HT. Bupivacaine and lidocaine retrobulbar anesthesia. A double blind clinical study. Ophthalmology 1983;90:369-72.
6. Zemel E, Loewenstein A, Lazar M, Perlman I. The effects of lidocaine and bupivacaine on the rabbit retina Doc Ophthalmol 1995;90:189-99.
7. Feibel RM. Current concepts in retrobulbar anesthesia. Surv Ophthalmol 1985;30:102-10.
8. Ramsay RC, Knobloch WH. Ocular perforation following retrobulbar anesthesia for retinal detachment surgery. Am J Ophthalmol 1978;86:61-4.
9. Schneider ME, Milstein DE, Oyakawa RT, Ober R. Ocular perforation from a retrobulbar injection. Am J Ophthalmol 1988;106:35-40.
10. Schechter RJ. Management of inadvertent intraocular injections. Ann Ophthalmol 1985;17:771-5.
11. Davis DB, Mandel MR. Posterior peribulbar anesthesia: an alternative to retrobulbar anesthesia. J Cataract Refract Surg 1986;12:182-4.
12. Arnold PN. Prospective study of a single injection peribulbar technique. J Cataract Refract Surg 1992;18:157-61.
13. Duker JS, Belmont JB, Benson WE, Brooks HL, Federman JL, Fischer DH, et al. Inadvertent globe perforation during retrobulbar and peribulbar anesthesia. Patient characteristics, surgical management, and visual outcome. Ophthalmology 1991;98:519-26.
14. Erie JC. Acquired Brown's Syndrome after peribulbar anesthesia. [letter] Am J Ophthalmol 1990;109:349-50.
15. Fichman RA. Phacoemulsification with topical anesthesia. In: Fine IH, Fichman RA, Grabow HB, editors. Clear corneal cataract surgery and topical anesthesia. Thorofare, NJ: Slack; 1993. p.113-8.
16. Prince JH, Eglittis I. The uvea. In: Prince JH, editor. The rabbit in eye research. Springfield: Charles C. Thomas; 1964. p 140-61.
17. Michalany J. Técnica histológica em anatomia patológica. 3. ed. São Paulo: Pedagógica e Universitária; 1981.
18. Erie JH. Improvements in epoxy embedding methods. J Biophys Biochem Cytol 1961;9:409-14.
19. Harven E. Methods in electron microscopic cytologic. Methods Cancer Res 1967;1:37-8.
20. Reynolds ES. The use of lead citrate of high pH as an electron opaque stain in electron microscopy. J Cell Biol 1963;17:208-3.
21. Leão AAA. Spreading depression of activity in cerebral cortex. J Neurophysiol 1944;7:359-90.
22. Lincoff H, Zweifach P, Brodie S, Fuchs D, Gross S, Kommehl E, et al. Intraocular injection of lidocaine. Ophthalmology 1985;92:1587-91.
23. Gills JP, Cherchio M, Raanan MG. Unpreserved lidocaine to control discomfort during cataract surgery using topical anesthesia. J Cataract Surg 1997;23: 545-50.
24. Dinsmore SC. Drop, then decide approach to topical anesthesia. [comment on J Cataract Refract Surg 1996;22:281-2]. J Cataract Surg 1995;21:666-71.
25. Rosenthal KJ. Deep, topical, nerve-block anesthesia. J Cataract Surg 1995;21: 499-503.
26. Nishide T, Kadonosono K, Itoh N, Yazama F, Endoh Y, Sawada H., et al. The effect of intraocular lidocaine in white rabbit eyes. Nippon Ganka Zasshi 2000;104:214-20.
27. Prince JH, Eglittis I. The vitreous. In: Prince JH. editors. The rabbit in eye research. Springfield: Charles C. Thomas; 1964. p.372- 3.
28. Marmor MF. Retinal detachment from hyperosmotic intravitreal injection. Invest Ophthalmol Vis Sci 1979;18:1237-44.