

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE MATO GROSSO DO SUL
FACULDADE DE MEDICINA DR. HÉLIO MANDETTA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO *STRICTO SENSU* EM SAÚDE E
DESENVOLVIMENTO NA REGIÃO CENTRO-OESTE
CURSO DE DOUTORADO**

MARCELO DE OLIVEIRA

**QUANTIFICAÇÃO DE MACRO E MICROELEMENTOS EM COLÍRIOS
LUBRIFICANTES UTILIZADOS NO TRATAMENTO DA DOENÇA DO OLHO SECO**

**CAMPO GRANDE-MS
2024**

MARCELO DE OLIVEIRA

**QUANTIFICAÇÃO DE MACRO E MICROELEMENTOS EM COLÍRIOS
LUBRIFICANTES UTILIZADOS NO TRATAMENTO DA DOENÇA DO OLHO SECO**

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Saúde e Desenvolvimento na Região Centro-Oeste, da Faculdade de Medicina da Universidade Federal de Mato Grosso do Sul, como parte dos requisitos para obtenção do título de Doutor em Saúde e Desenvolvimento na Região Centro-Oeste.

Linha de pesquisa: Metabolismo e Nutrição.
Orientador: Prof. Dr. Valter Aragão do Nascimento.

Coorientadora: Dra. Elaine Silva de Pádua Melo.

**CAMPO GRANDE-MS
2024**

MARCELO DE OLIVEIRA

**QUANTIFICAÇÃO DE MACRO E MICROELEMENTOS EM COLÍRIOS
LUBRIFICANTES UTILIZADOS NO TRATAMENTO DA DOENÇA DO OLHO SECO**

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Saúde e Desenvolvimento na Região Centro-Oeste, da Faculdade de Medicina da Universidade Federal de Mato Grosso do Sul, como parte dos requisitos para obtenção do título de Doutor em Saúde e Desenvolvimento na Região Centro-Oeste.

Linha de pesquisa: Metabolismo e Nutrição.
Orientador: Prof. Dr. Valter Aragão do Nascimento.

Coorientadora: Dra. Elaine Silva de Pádua Melo.

Banca examinadora	Avaliação
Prof. Dr. Valter Aragão do Nascimento (UFMS)	
Profa. Dra. Karine de Cássia Freitas Gielow (FACFAN/UFMS)	
Profa. Dra. Rita de Cássia Avelhaneda Guimarães (FACFAN/UFMS)	
Prof. Dr. Carlos Renato Menegatti (USP)	
Prof. Dr. Caio Fernando Ramalho de Oliveira (IFMT)	

Avaliação Final: (x) Aprovado () Reprovado

Campo Grande/MS, 5 de março de 2024.

AGRADECIMENTOS

A Deus pelo presente da vida, por dar-me saúde, força e paciência para superar as dificuldades enfrentadas durante meu doutorado no Programa de Pós-Graduação em Saúde e Desenvolvimento na Região Centro-Oeste (PPGSD) da Faculdade de Medicina da Universidade Federal de Mato Grosso do Sul.

À minha esposa, pelo amor, paciência, incentivo e apoio incondicional.

Aos meus familiares pelos ensinamentos de amor, honestidade, persistência, responsabilidade e comprometimento. Todos esses valores e as orações foram importantes e me trouxeram até aqui.

Ao PPGSD pelo acolhimento e oportunidade de realizar este projeto, em especial aos que exercem suas atividades no Laboratório de Metabolismo Mineral e Biomateriais, ambiente espetacular, amigável e criativo que proporcionou a finalização deste trabalho.

Ao meu orientador, Professor Dr. Valter Aragão do Nascimento, pelo acolhimento, apoio, confiança, orientação deste trabalho e oportunidade que me foi oferecida de aprendizado e crescimento pessoal.

À minha coorientadora, Dra. Elaine Silva de Pádua Melo, pela amizade, paciência, incentivo, auxílio em todas as etapas deste trabalho e orientação impecável.

Ao Instituto Federal de Mato Grosso do Sul, pela oportunidade de realizar o doutorado mediante afastamento integral.

A todas as pessoas que, direta ou indiretamente, fizeram parte da minha caminhada, seja por meio de conselhos, conversas, orações e apoios, meu muito obrigado.

RESUMO

Olho seco é uma doença multifatorial da superfície ocular caracterizada pela perda da homeostase do filme lacrimal e geralmente está acompanhada de sintomas oculares. A doença afeta milhões de pessoas em todo mundo, é um dos motivos mais comuns para consulta com médico oftalmologista e o tratamento convencional utiliza colírios lubrificantes ou lágrimas artificiais, que podem ser eficazes em casos leves e moderados. O objetivo deste estudo foi avaliar a presença de macro e microelementos em colírios lubrificantes utilizados no tratamento da doença do olho seco no Brasil. Após digestão em sistema aberto, as concentrações de Al, As, Ba, Cd, Co, Cu, Cr, Pb, Fe, Mg, Mn, Mo, Ni, Se, V e Zn foram determinadas em 19 amostras de colírios lubrificantes utilizando a técnica de Espectrometria de Emissão Óptica com Plasma Indutivamente Acoplado (ICP OES). Os valores do limite de detecção (LOD) e limite de quantificação (LOQ) para os elementos quantificados foram, respectivamente: Al (0,0363 µg/g, 0,1211 µg/g), As (0,0036 µg/g, 0,0121 µg/g), Ba (0,0003 µg/g, 0,0010 µg/g), Cd (0,0005 µg/g, 0,0018 µg/g), Co (0,0010 µg/g, 0,0033 µg/g), Cr (0,0011 µg/g, 0,0037 µg/g), Cu (0,0020 µg/g, 0,0067 µg/g), Fe (0,0065 µg/g, 0,0217 µg/g), Mg (0,0017 µg/g, 0,0057 µg/g), Mn (0,0002 µg/g, 0,0007 µg/g), Mo (0,0006 µg/g, 0,0019 µg/g), Ni (0,0011 µg/g, 0,0038 µg/g), Pb (0,0050 µg/g, 0,0168 µg/g), Se (0,0045 µg/g, 0,0149 µg/g), V (0,0010 µg/g, 0,0032 µg/g) e Zn (0,0016 µg/g, 0,0052 µg/g). Os elementos Al (2,382 µg/g), As (0,204 µg/g), Ba (0,056 µg/g), Cd (0,051 µg/g), Co (1,085 µg/g), Cr (0,020 µg/g), Cu (0,023 µg/g), Fe (0,453 µg/g), Mg (24,284 µg/g), Mn (0,014 µg/g), Mo (0,046 µg/g), Ni (0,071 µg/g), Pb (0,049 µg/g), Se (0,365 µg/g), V (0,083 µg/g) e Zn (0,552 µg/g) apresentaram os maiores valores de concentrações. Além disso, as concentrações foram comparadas com os níveis estabelecidos pela Farmacopeia Brasileira (FB) e diretriz ICH Q3D (R2) do Conselho Internacional para Harmonização de Requisitos Técnicos para Medicamentos para Uso Humano (ICH) para via parenteral. A exposição diária pela instilação de colírio foi comparada com a exposição diária permitida parenteral (PDE) definida na diretriz ICH Q3D (R2). Em relação a via parenteral, a concentração de As (5 amostras) e Cd (3 amostras) foi superior as permitidas pela FB. Duas amostras apresentaram concentração de As e Cd acima do limite permitido pela FB na via parenteral. O teor de Co em uma amostra

foi superior ao valor de concentração permitida pela diretriz ICH Q3D (R2) na via parenteral. Com base na diretriz ICH Q3D (R2), os valores das exposições dos elementos químicos As, Ba, Cd, Co, Cr, Cu, Mo, Ni, Pb, Z e V estavam abaixo do limite estabelecido pela diretriz ICH Q3D (R2) na via parenteral. No entanto, a exposição a curto ou longo prazo a este tipo de medicamento contendo níveis elevados destes elementos representa um risco para a saúde. A presença de macro e microelementos em colírios é um alerta às agências reguladoras de diversos países para que sejam realizados controles e fiscalizações.

Palavras-chave: colírios lubrificantes; doença do olho seco; metais pesados; macroelementos; microelementos.

ABSTRACT

Dry eye is a multifactorial disease of the ocular surface characterized by loss of tear film homeostasis and is usually accompanied by ocular symptoms. The disease affects millions of people around the world, it is one of the most common reasons for consulting an ophthalmologist and conventional treatment uses lubricating eye drops or artificial tears, which can be effective in mild and moderate cases. The objective of this study was to evaluate the presence of macro and microelements in lubricating eye drops used to treat dry eye disease in Brazil. After digestion in an open system, the concentrations of Al, As, Ba, Cd, Co, Cu, Cr, Pb, Fe, Mg, Mn, Mo, Ni, Se, V and Zn were determined in 19 samples of lubricating eye drops using the technique of Inductively Coupled Plasma Optical Emission Spectrometry (ICP OES). The limit of detection (LOD) and limit of quantification (LOQ) values for the quantified elements were, respectively: Al (0.0363 $\mu\text{g/g}$, 0.1211 $\mu\text{g/g}$), As (0.0036 $\mu\text{g/g}$, 0.0121 $\mu\text{g/g}$), Ba (0.0003 $\mu\text{g/g}$, 0.0010 $\mu\text{g/g}$), Cd (0.0005 $\mu\text{g/g}$, 0.0018 $\mu\text{g/g}$), Co (0.0010 $\mu\text{g/g}$, 0.0033 $\mu\text{g/g}$), Cr (0.0011 $\mu\text{g/g}$, 0.0037 $\mu\text{g/g}$), Cu (0.0020 $\mu\text{g/g}$, 0.0067 $\mu\text{g/g}$), Fe (0.0065 $\mu\text{g/g}$, 0.0217 $\mu\text{g/g}$), Mg (0.0017 $\mu\text{g/g}$, 0.0057 $\mu\text{g/g}$), Mn (0.0002 $\mu\text{g/g}$, 0.0007 $\mu\text{g/g}$), Mo (0.0006 $\mu\text{g/g}$, 0.0019 $\mu\text{g/g}$), Ni (0.0011 $\mu\text{g/g}$, 0.0038 $\mu\text{g/g}$), Pb (0.0050 $\mu\text{g/g}$, 0.0168 $\mu\text{g/g}$), Se (0.0045 $\mu\text{g/g}$, 0.0149 $\mu\text{g/g}$), V (0.0010 $\mu\text{g/g}$, 0.0032 $\mu\text{g/g}$) and Zn (0.0016 $\mu\text{g/g}$, 0.0052 $\mu\text{g/g}$). The elements Al (2.382 $\mu\text{g/g}$), As (0.204 $\mu\text{g/g}$), Ba (0.056 $\mu\text{g/g}$), Cd (0.051 $\mu\text{g/g}$), Co (1.085 $\mu\text{g/g}$), Cr (0.020 $\mu\text{g/g}$), Cu (0.023 $\mu\text{g/g}$), Fe (0.453 $\mu\text{g/g}$), Mg (24.284 $\mu\text{g/g}$), Mn (0.014 $\mu\text{g/g}$), Mo (0.046 $\mu\text{g/g}$), Ni (0.071 $\mu\text{g/g}$), Pb (0.049 $\mu\text{g/g}$), Se (0.365 $\mu\text{g/g}$), V (0.083 $\mu\text{g/g}$) and Zn (0.552 $\mu\text{g/g}$) presented the highest concentration values. Furthermore, concentrations were compared with the levels established by the Brazilian Pharmacopoeia (FB) and ICH Q3D (R2) guideline of the International Council for Harmonization of Technical Requirements for Medicinal Products for Human Use (ICH) for parenteral use. Daily exposure from eye drop instillation was compared with the parenteral permitted daily exposure (PDE) defined in the ICH Q3D (R2) guideline. Regarding the parenteral route, the concentration of As (5 samples) and Cd (3 samples) was higher than those allowed by FB. Two samples showed concentrations of As and Cd above the limit allowed by FB in the parenteral route. The Co content in a sample was higher than the concentration value allowed by

the ICH Q3D (R2) guideline in the parenteral route. Based on the ICH Q3D (R2) guideline, exposure values for the chemical elements As, Ba, Cd, Co, Cr, Cu, Mo, Ni, Pb, Z and V were below the limit established by the ICH Q3D (R2) guideline via the parenteral route. However, short or long-term exposure to this type of medicine containing high levels of these elements represents a health risk. The presence of macro and microelements in eye drops is a warning to regulatory agencies in several countries to carry out controls and inspections.

Keywords: dry eye disease; lubricating eye drops; heavy metals; macroelements; microelements.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Camadas do filme lacrimal.....	20
Figura 2 - Absorção dos colírios.....	29
Figura 3 - Adição de ácido nítrico (HNO_3) e peróxido de hidrogênio (H_2O_2) nas amostras.....	44
Figura 4 - Homogeneização das partículas na amostra.	44
Figura 5 - Sistema de digestão aberto.	45
Figura 6 - Amostras nos tubos Falcon.....	45
Figura 7 - Equipamento de ICP OES do Laboratório de Metabolismo Mineral e Biomateriais/FAMED/UFMS.....	48
Figura 8 - Concentrações de macro e microelementos nos colírios lubrificantes.....	56
Figura 9 - Exposição diária a macro e micro elementos pela instilação de colírios lubrificantes.	61
Figura 10 - Concentração de Al quantificada nos colírios lubrificantes comparada com a FB e diretriz ICH Q3D (R2) para via parenteral.....	69
Figura 11 - Exposição diária ao Al pela instilação de colírio lubrificante comparada com a diretriz ICH Q3D (R2) para via parenteral.	70
Figura 12 - Concentração de As quantificada nos colírios lubrificantes comparada com a FB e diretriz ICH Q3D (R2) para via parenteral.....	71
Figura 13 - Exposição diária ao As pela instilação de colírio lubrificante comparada com a diretriz ICH Q3D (R2) para via parenteral.....	71
Figura 14 - Concentração de Ba quantificada nos colírios lubrificantes comparada com a FB e diretriz ICH Q3D (R2) para via parenteral.....	72
Figura 15 - Exposição diária ao Ba pela instilação de colírio lubrificante comparada com a diretriz ICH Q3D (R2) para via parenteral.....	73
Figura 16 - Concentração de Cd quantificada nos colírios lubrificantes comparada com a FB e diretriz ICH Q3D (R2) para via parenteral.....	74
Figura 17 - Exposição diária ao Cd pela instilação de colírio lubrificante comparada com a diretriz ICH Q3D (R2) para via parenteral.....	75
Figura 18 - Concentração de Co quantificada nos colírios lubrificantes comparada com a FB e diretriz ICH Q3D (R2) para via parenteral.....	76
Figura 19 - Exposição diária ao Co pela instilação de colírio lubrificante comparada com a diretriz ICH Q3D (R2) para via parenteral.....	77

Figura 20 - Concentração de Cr quantificada nos colírios lubrificantes comparada com a FB e diretriz ICH Q3D (R2) para via parenteral.....	78
Figura 21 - Exposição diária ao Cr pela instilação de colírio lubrificante comparada com a diretriz ICH Q3D (R2) para via parenteral.....	78
Figura 22 - Concentração de Cu quantificada nos colírios lubrificantes comparada com a FB e diretriz ICH Q3D (R2) para via parenteral.....	79
Figura 23 - Exposição diária ao Cu pela instilação de colírio lubrificante comparada com a diretriz ICH Q3D (R2) para via parenteral.....	80
Figura 24 - Concentração de Fe quantificada nos colírios lubrificantes comparada com a FB e diretriz ICH Q3D (R2) para via parenteral.....	81
Figura 25 - Exposição diária ao Fe pela instilação de colírio lubrificante comparada com a diretriz ICH Q3D (R2) para via parenteral.....	81
Figura 26 - Concentração de Mg quantificada nos colírios lubrificantes comparada com a FB e diretriz ICH Q3D (R2) para via parenteral.....	82
Figura 27 - Exposição diária ao Mg pela instilação de colírio lubrificante comparada com a diretriz ICH Q3D (R2) para via parenteral.....	83
Figura 28 - Concentração de Mn quantificada nos colírios lubrificantes comparada com a FB e diretriz ICH Q3D (R2) para via parenteral.....	84
Figura 29 - Exposição diária ao Mn pela instilação de colírio lubrificante comparada com a diretriz ICH Q3D (R2) para via parenteral.....	84
Figura 30 - Concentração de Mo quantificada nos colírios lubrificantes comparada com a FB e diretriz ICH Q3D (R2) para via parenteral.....	85
Figura 31 - Exposição diária ao Mo pela instilação de colírio lubrificante comparada com a diretriz ICH Q3D (R2) para via parenteral.....	86
Figura 32 - Concentração de Ni quantificada nos colírios lubrificantes comparada com a FB e diretriz ICH Q3D (R2) para via parenteral.....	87
Figura 33 - Exposição diária ao Ni pela instilação de colírio lubrificante comparada com a diretriz ICH Q3D (R2) para via parenteral.....	87
Figura 34 - Concentração de Pb quantificada nos colírios lubrificantes comparada com a FB e diretriz ICH Q3D (R2) para via parenteral.....	88
Figura 35 - Exposição diária ao Pb pela instilação de colírio lubrificante comparada com a diretriz ICH Q3D (R2) para via parenteral.....	89
Figura 36 - Concentração de Se quantificada nos colírios lubrificantes comparada com a FB e diretriz ICH Q3D (R2) para via parenteral.....	90

Figura 37 - Exposição diária ao Se pela instilação de colírio lubrificante comparada com a diretriz ICH Q3D (R2) para via parenteral.....	90
Figura 38 - Concentração de V quantificada nos colírios lubrificantes comparada com a FB e diretriz ICH Q3D (R2) para via parenteral.....	91
Figura 39 - Exposição diária ao V pela instilação de colírio lubrificante comparada com a diretriz ICH Q3D (R2) para via parenteral.	91
Figura 40 - Concentração de Zn quantificada nos colírios lubrificantes comparada com a FB e diretriz ICH Q3D (R2) para via parenteral.....	93
Figura 41 - Exposição diária ao Zn pela instilação de colírio lubrificante comparada com a diretriz ICH Q3D (R2) para via parenteral.....	93

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Principais distúrbios oftalmológicos associados a presença de minerais.....	39
Tabela 2 - Equações de calibração ($y = ax + b$)*, R^2 , LOD e LOQ obtidos por calibração externa..	46
Tabela 4 - Parâmetros instrumentais do ICP OES.	48
Tabela 5 - Concentração de macro e microelementos quantificadas nos colírios lubrificantes com conservantes ($\mu\text{g/g}$).....	53
Tabela 6 - Concentração de macro e microelementos quantificadas nos colírios lubrificantes sem conservantes ($\mu\text{g/g}$).....	55
Tabela 7 - Colírio lubrificante com conservante e sem conservante, volume de uma gota (mL), frequência máxima diária de instilações nos olhos e dose máxima diária (mL), conforme estabelecido na bula.	57
Tabela 8 - Exposição diária pela instilação de colírios lubrificantes com conservantes ($\mu\text{g/dia}$).....	58
Tabela 9 - Exposição diária pela instilação de colírios lubrificantes sem conservantes ($\mu\text{g/dia}$).....	60
Tabela 10 - Concentração de macro e microelementos quantificadas nos colírios lubrificantes em comparação com a concentração permitida de IEs estabelecida pela FB (BRASIL, 2019) e diretriz ICH Q3D (R2) para administração parenteral (ICH, 2022).....	63
Tabela 11 - Exposição diária pela instilação de colírios lubrificantes comparados com os valores de PDE estabelecidos na diretriz ICH Q3D (R2) para via parenteral (ICH, 2022)....	66

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ADES	Sociedade de Olho Seco da Ásia (do inglês, <i>Asia Dry Eye Society</i>)
Al	Alumínio
ANOVA	Análise de variância
ANVISA	Agência Nacional de Vigilância Sanitária
As	Arsênio
Ba	Bário
BAK	Cloreto de benzalcônio
BGI	Implante de glaucoma de Baerveldt (BGI)
Cd	Cádmio
Co	Cobalto
Cr	Cromo
Cu	Cobre
DED	Doença do olho seco (do inglês, <i>dry eye disease</i>)
DMRI	Degeneração Macular Relacionada à Idade
DNA	Ácido desoxirribonucleico
EPR	Epitélio pigmentar da retina
FB	Farmacopeia Brasileira
FDA	Agência Federal do Departamento de Saúde e Serviços Humanos dos Estados Unidos (do inglês, <i>U.S. Food and Drug Administration</i>)
Fe	Ferro
FI-ICP-MS	Espectrometria de Massa com Plasma Indutivamente Acoplado por Injeção de Fluxo (do inglês, <i>Flow Injection Inductively Coupled Plasma Mass Spectrometry</i>)
GPAA	Glaucoma primário de ângulo aberto
H ₂ O ₂	Peróxido de hidrogênio
HNO ₃	Ácido nítrico
iCAP 6300	Espectrômetro simultâneo para análise rápida de oligoelementos em uma solução com níveis de partes por bilhão (ppb) e em partes por trilhão (ppt)

ICH	Conselho Internacional para Harmonização de Requisitos Técnicos para Medicamentos para Uso Humano (do inglês, <i>International Council for Harmonisation of Technical Requirements for Pharmaceuticals for Human Use</i>)
ICH Q3D	Diretriz Harmonizada para Impurezas elementares (do inglês, <i>ICH Harmonised Guideline for elemental impurities</i>)
ICP MS	Espectrometria de Massa de Plasma Indutivamente Acoplado (do inglês, <i>Inductively Coupled Plasma Mass Spectrometry</i>)
ICP OES	Espectrometria de Emissão Óptica com Plasma Indutivamente Acoplado (do inglês, <i>Inductively Coupled Plasma Optical Emission Spectrometry</i>)
IEs	Impurezas elementares
IUPAC	União Internacional de Química Pura e Aplicada (do inglês, <i>International Union of Pure and Applied Chemistry</i>)
LOD	Limite de detecção
LOQ	Limite de quantificação
Mg	Magnésio
Mn	Manganês
Mo	Molibdênio
Ni	Níquel
OMS	Organização Mundial da Saúde
One-Way ANOVA	Análise de variância de uma via
Pb	Chumbo
PDE	Exposição Diária Permitida (do inglês, <i>Permitted Daily Exposure</i>)
R ²	Coeficiente de correlação
Se	Selênio
PEX	Síndrome de pseudoexfoliação
PEG	Glaucoma pseudoexfoliativo
TFOS DEWS	Workshop de filme lacrimal, superfície ocular e olho seco (do inglês, <i>Tear Film & Ocular Surface Society and Dry Eye Workshop</i>)
V	Vanádio
Zn	Zinco

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	16
2 REVISÃO DE LITERATURA	19
2.1 Doença do olho seco.....	19
2.1.1 Definição e classificação	19
2.1.2 Fisiologia	19
2.1.3 Epidemiologia.....	21
2.1.4 Principais causas e/ou fatores de risco associados a DED	23
2.1.5 Sinais e sintomas	24
2.1.6 Diagnóstico.....	24
2.1.7 Tratamento	25
2.2 Tratamento da DED utilizando colírios lubrificantes	26
2.3 Absorção dos colírios	28
2.4 Legislação	30
2.5 Minerais (Macro e microelementos)	31
2.5.1 Alumínio (Al).....	33
2.5.2 Arsênio (As).....	33
2.5.3 Bário (Ba)	33
2.5.4 Cádmio (Cd).....	33
2.5.5 Chumbo (Pb)	34
2.5.6 Cobalto (Co).....	34
2.5.7 Cobre (Cu).....	34
2.5.8 Cromo (Cr)	35
2.5.9 Ferro (Fe)	35
2.5.10 Magnésio (Mg)	35
2.5.11 Manganês (Mn)	36
2.5.12 Molibdênio (Mo).....	36
2.5.13 Níquel (Ni)	36
2.5.14 Selênio (Se).....	37
2.5.15 Vanádio (V)	37
2.5.16 Zinco (Zn)	38
2.5.17 Macro e microelementos associados a distúrbios oftalmológicos	38
3 OBJETIVOS.....	42

3.1 Objetivo geral	42
3.2 Objetivos específicos	42
4 MATERIAIS E MÉTODOS	43
4.1 Coleta de amostras	43
4.2 Preparação para a análise	43
4.3 Digestão ácida das amostras	43
4.4 Procedimentos de calibração	45
4.5 Análise elementar usando ICP OES	47
4.6 Determinação da dose máxima diária de colírio lubrificante	48
4.7 Exposição diária a macro e microelementos pela instilação de colírio lubrificante.....	49
4.8 Estudo comparativo.....	49
4.8.1 Concentrações permitidas de impurezas elementares em colírios lubrificantes.....	50
4.8.2 PDE para impurezas elementares em medicamentos oftalmológicos.....	50
4.9 Análise estatística	50
5 RESULTADOS E DISCUSSÃO	51
5.1 Concentração de macro e microelementos em colírios lubrificantes.....	51
5.2 Dose máxima diária de colírio lubrificante	57
5.3 Valores da exposição diária a macro e microelementos pela instilação de colírios lubrificantes	58
5.4 Estudo comparativo.....	62
6 CONCLUSÕES	95
REFERÊNCIAS.....	96
APÊNDICE 1 – Testes estatísticos utilizados considerando os resultados das concentrações e das exposições diárias.....	112
APÊNDICE 2 – Artigo publicado	118

1 INTRODUÇÃO

De acordo com a Organização Mundial da Saúde (OMS), as condições oculares que normalmente não causam deficiência visual, como o olho seco, não devem ser negligenciadas (WHO, 2019). Por isso, vários países têm buscado a prevenção e o tratamento desta doença (TCHEGNON et al., 2021).

A doença do olho seco (DED, do inglês, *dry eye disease*), também chamada de síndrome do olho seco, síndrome da disfunção lacrimal ou ceratoconjuntivite, é uma doença multifatorial da superfície ocular caracterizada pela perda da homeostase do filme lacrimal (GOLDEN; MEYER; PATEL, 2022; ŞİMŞEK et al., 2018) e geralmente está acompanhada de sintomas oculares (WILLCOX et al., 2017).

Diversas etiologias podem contribuir para o desenvolvimento da DED, como idade, sexo, doenças oculares ou sistêmicas, fatores sociodemográficos, condições ambientais e causas iatrogênicas (uso de medicamentos ou cirurgias) (GOLDEN; MEYER; PATEL, 2022; RIBEIRO, 2019).

O diagnóstico da DED é realizado a partir da identificação dos sintomas e exames clínicos (KANNAN et al., 2023; MESSMER, 2015; WOLFFSOHN et al., 2017) e o tratamento convencional utiliza colírios lubrificantes ou lágrimas artificiais, que podem ser eficazes em casos leves e moderados (DOGRU et al., 2013; FONSECA; ARRUDA; ROCHA, 2010).

O tratamento com colírios lubrificantes é considerado seguro, mas pode causar efeitos colaterais nas pessoas (BOYD, 2022; PUCKER; NG; NICHOLS, 2016). Além disso, os colírios utilizados na DED podem conter conservantes na sua fórmula, a fim de evitar a contaminação de bactérias nos frascos após a abertura (GOLDSTEIN et al., 2022).

O uso crônico de colírios com conservantes pode causar danos significativos aos tecidos oculares (GOLDSTEIN et al., 2022; NISHIWAKI-DANTAS, 1999). Por outro lado, os colírios lubrificantes sem conservantes podem diminuir os efeitos de irritação e toxicidade ocular, mas são caros e o frasco é de difícil manuseio, principalmente para pacientes idosos (BAUDOUIN et al., 2010; JONES et al., 2017).

Nos colírios podem existir impurezas elementares (IEs), contaminantes que podem ter sido adicionados de forma intencional, por meio de reagente e catalisadores, ou surgir naturalmente devido à contaminação ambiental dos

excipientes ou da substância ativa que compõe a formulação do medicamento (SILVA, 2018).

Os níveis aceitáveis de macro e microelementos em produtos farmacêuticos são definidos pelas agências reguladoras, considerando os dados de avaliação toxicológica para diferentes tipos de exposição, de modo que os riscos não sobreponham aos benefícios terapêuticos (BRASIL, 2019; CHAWLA et al., 2020; EMA, 2018; ICH, 2022; LI et al., 2015; NAGESWARA; KUMAR, 2007; USP, 2017).

Nesse contexto, alguns países possuem farmacopeias que estabelecem parâmetros de qualidade e métodos de análise de insumos e medicamentos (BRASIL, 2019; KAMEYAMA et al., 2019; WHO, 2022). Porém, na ausência de informações em suas farmacopeias, alguns países recorrem as orientações da diretriz harmonizada para IEs (ICH Q3D), que são estabelecidas pelo Conselho Internacional para Harmonização de Requisitos Técnicos para Medicamentos para Uso Humano (ICH) (BRASIL, 2016; CANADA, 2016; EMA, 2018).

A diretriz ICH Q3D, atualmente na versão 2 (R2), apresenta um processo para avaliar e controlar as IEs presentes em medicamentos administrados na via oral, parenteral e inalatória, ou seja, estabelece as concentrações permitidas de impurezas em medicamentos, substâncias medicamentosas e excipientes (ICH, 2022; SANDERSON; WHITECOTTON, 2022; SILVA, 2018) e os limites de Exposição Diária Permitida (PDE) para elementos que exige preocupação toxicológica. Porém, até o momento, não foram estabelecidos os valores de limite de concentração e exposição diária para elementos químicos administrados pela via oftálmica (BRASIL, 2019; ICH, 2022; USP, 2017).

Estudos relatam que os macro e micro elementos desempenham um papel importante na patogênese de diversos distúrbios oftalmológicos, como glaucoma (BOCCA et al., 2020; LEE et al., 2016; WONG et al., 2007), degeneração macular relacionada à idade (DMRI), (ABERAMI et al., 2019; JÜNEMANN et al., 2013; PARK et al., 2015), catarata (DOLAR-SZCZASNY et al., 2019; GARNER et al., 2000) e DED (CHEN; CHEN; LAI, 2022; CHOI et al., 2020; CHUNG; MYONG, 2016; JUNG; LEE, 2019; LIOU et al., 2022). No entanto, são escassos os estudos clínicos sobre a toxicidade de macro e microelementos em colírios com e sem conservantes.

Motivado pelos resultados dos estudos publicados nas referências (ABERAMI et al., 2019; BOCCA et al., 2020; CHEN; CHEN; LAI, 2022; CHOI et al., 2020; CHUNG; MYONG, 2016; DOLAR-SZCZASNY et al., 2019; GARNER et al., 2000; JÜNEMANN

et al., 2013; JUNG; LEE, 2019; LEE et al., 2016; LIOU et al., 2022; PARK et al., 2015; WONG et al., 2007) que demonstraram que os potenciais riscos à saúde ocular podem estar relacionados a presença de metais pesados, é importante verificar se existe macro e microelementos tóxicos nos colírios lubrificantes utilizados no tratamento da DED.

Nosso estudo visa avaliar pela primeira vez a presença de alumínio (Al), arsênio (As), bário (Ba), cádmio (Cd), cobalto (Co), cromo (Cr), cobre (Cu), ferro (Fe), magnésio (Mg), manganês (Mn), molibdênio (Mo), níquel (Ni), chumbo (Pb), selênio (Se), vanádio (V) e zinco (Zn) em colírios lubrificantes com e sem conservantes utilizados no tratamento da doença do olho seco no Brasil. Além disso, os teores dos elementos químicos nas amostras de colírios estudadas foram comparados com os valores limites de concentração de impurezas elementares estabelecidos pela Farmacopeia Brasileira (FB) (BRASIL, 2019) e ICH Q3D (R2) e os valores da exposição diária pela instilação de colírios foram comparados com os PDEs recomendados pela ICH Q3D (R2) (ICH, 2022), na via parenteral.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 Doença do olho seco

2.1.1 Definição e classificação

De acordo com o relatório de 2017 do *Workshop* de filme lacrimal, superfície ocular e olho seco (TFOS DEWS II), o olho seco é uma doença multifatorial da superfície ocular caracterizada pela perda da homeostase do filme lacrimal e está acompanhada de sintomas oculares, na qual a instabilidade e hiperosmolaridade do filme lacrimal, inflamação e danos da superfície ocular e anormalidades neurosensoriais desempenham papéis etiológicos (CRAIG et al., 2017; GOLDEN; MEYER; PATEL, 2022; MARSHALL; ROACH, 2016; ŞİMŞEK et al., 2018; WILLCOX et al., 2017).

A DED pode ser classificada em duas categorias: deficiência aquosa e evaporativa, sendo que as pessoas podem apresentar uma combinação dessas categorias (BRON et al., 2014; GOLDEN; MEYER; PATEL, 2022; JONES et al., 2017).

A DED por deficiência aquosa é caracterizada pela produção inadequada de lágrimas causada por doenças, inflamação e/ou disfunção da glândula lacrimal, obstrução da glândula lacrimal, uso de medicamentos sistêmicos que afetam a produção de lágrimas ou síndrome de Sjögren (primária ou secundária). A síndrome de Sjögren é uma doença inflamatória autoimune crônica caracterizada pela diminuição da função lacrimal e das glândulas salivares, com consequente secura dos olhos e da boca (GOLDEN; MEYER; PATEL, 2022; PERTOVAARA et al., 1999; RAMOS-CASALS; TZIOUFAS; FONT, 2005). A DED evaporativa é caracterizada pelo aumento da evaporação do filme lacrimal e por uma deficiência na porção lipídica do filme lacrimal. A quantidade de lágrimas produzidas é normal, mas a qualidade das lágrimas causa evaporação excessiva. Esta alteração geralmente é causada por disfunção da glândula meibomiana (GOLDEN; MEYER; PATEL, 2022). Ressalta-se que a DED evaporativa é mais comum que a aquosa (CRAIG et al., 2017).

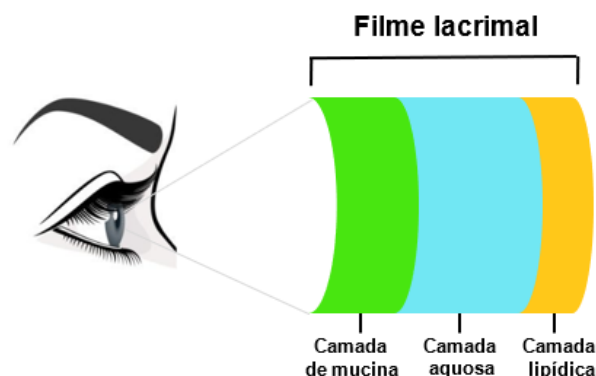
2.1.2 Fisiologia

A lágrima é produzida pelas glândulas lacrimais, cobre a superfície ocular e a mantém lubrificada, protege o olho do meio ambiente, mantém a superfície lisa para refração da luz e preserva a saúde da córnea e conjuntiva (DARTT; WILLCOX, 2013). Na sua composição é possível encontrar lipídios, proteínas, mucinas e eletrólitos, que

são essenciais para manter a integridade da superfície ocular (WILLCOX et al., 2017). Após um piscar, as lágrimas se espalham na superfície ocular formando o filme lacrimal, que favorece a visão clara e mantém a saúde e a renovação das células da superfície ocular (LEMP, 2008).

O filme lacrimal é composto por 3 camadas: mucina, aquosa e lipídica (Figura 1). A camada de mucina é a camada mais interna do filme lacrimal, produzida predominantemente por células caliciformes conjuntivais e sua principal função é proporcionar estabilidade e fixar as lágrimas à córnea (FONSECA; ARRUDA; ROCHA, 2010; O'NEIL et al., 2019). A camada intermediária, aquosa, mais espessa do filme lacrimal, é produzida pelas glândulas lacrimais, localizadas nas órbitas, e pelas glândulas lacrimais acessórias (glândulas de Krause e Wolfring) na conjuntiva, sua função é hidratar, proteger e nutrir a superfície ocular. Em certas condições, o uso de lentes de contato pode diminuir a sensibilidade das terminações nervosas na superfície ocular e ocasionar uma diminuição da secreção aquosa reflexa. Esta redução no lacrimejamento reflexo é suficiente para causar sensações de olho seco. A camada lipídica, localizada na parte externa do filme lacrimal, é produzida pelas glândulas meibomianas das pálpebras e tem a função de reduzir a evaporação das lágrimas (BROWN; ADDISON, 2017). Quando a camada lipídica está alterada, devido a distúrbios das glândulas meibomianas, pode aumentar a evaporação da lágrima (WILLCOX et al., 2017) e, quanto maior a evaporação, maior o desconforto ocular e os sintomas de DED (RIBEIRO, 2019).

Figura 1 - Camadas do filme lacrimal.



Fonte: Elaborado pelo autor.

O olho aberto está sujeito ao ressecamento em virtude da evaporação da lágrima, mas existem mecanismos que regulam a secreção e a distribuição da lágrima em resposta ao estresse, por exemplo, impedindo o dano. Quando esses mecanismos

falham, ocorre a DED e isso vai causar a instabilidade do filme lacrimal, hiperosmolaridade e irritação da superfície ocular. Além disso, inicia várias reações inflamatórias que vão caracterizar a doença (BRON et al., 2017).

Ressalta-se também que a DED pode ser considerada não só pela falta de quantidade suficiente das lágrimas, mas também quando a qualidade está alterada (BRON et al., 2014).

2.1.3 Epidemiologia

A prevalência da DED para estudos em humanos envolvendo sintomas variou de aproximadamente 5% a 50%. Em estudos onde o diagnóstico foi baseado principalmente nos sinais da DED, a prevalência foi maior que 75% em algumas populações (STAPLETON et al., 2017).

Em relação ao sexo, a prevalência de DED em mulheres variou de 1,33 a 1,74 vezes em relação aos homens na maioria dos estudos (HAN et al., 2011; HASHEMI et al., 2014; JIE et al., 2009; MALET et al., 2014; PAULSEN et al., 2002; TAN et al., 2015; VISO; RODRIGUEZ-ARES; GUDE, 2009). Apesar da dificuldade de comparar estudos diretamente devido a heterogeneidade da doença, a DED sintomática é mais comum em mulheres do que em homens (STAPLETON et al., 2017).

Vários estudos também encontraram associação da DED com idade elevada (GUO et al., 2010; LU et al., 2008). No entanto, não está bem estabelecido como os limiares patológicos para instabilidade lacrimal, produção lacrimal e coloração da córnea devem ser ajustados em relação à idade (WOLFFSOHN et al., 2017).

Acredita-se que a raça possa causar confusão nas estimativas de prevalência da função lacrimal anormal, pois usa os mesmos critérios de diagnósticos e faixa etária semelhante. Além disso, os asiáticos apresentam maior prevalência de instabilidade lacrimal e manchas na superfície ocular do que os caucasianos. Essa questão pode estar relacionada as diferenças geográficas e/ou diferenças na suscetibilidade à doença entre populações asiáticas e outras populações (STAPLETON et al., 2017).

Existe uma variação significativa na prevalência da DED diagnosticada apenas com sinais clínicos. Isto é, quando o tempo de ruptura do filme lacrimal foi menor que 10s, a prevalência variou de 15,6 a 85,6%; quando se avaliou usando o teste de Schirmer e obteve valor menor que 5mm a prevalência foi entre 19,9 e 37% e quando houve coloração corneana (fluoresceína) maior que 1, a prevalência ficou entre 5,8 e 77% (GUO et al., 2010; HAN et al., 2011; LU et al., 2008). Essas diferenças

na prevalência podem ser devidas à heterogeneidade da doença e a controvérsia de métodos utilizados nos diagnósticos, visto que muitas vezes os sintomas não são compatíveis com os sinais da DED (BARTLETT et al., 2015). Outros fatores também devem ser considerados como a resposta diferente à dor e a variabilidade de respostas aos questionários de sintomas (DRY EYE WORKSHOP, 2007).

Em relação a incidência da DED, um estudo estimou a incidência da DED em uma população de 43 a 86 anos da cidade de Beaver Dam (Estados Unidos) durante 10 anos e examinou sua associação com vários fatores de risco. Neste período foram realizados exames, entrevistas e coletas de informações sobre fatores de risco, dados demográficos, histórico médico, uso de medicamentos e estilo de vida. Durante o período de 10 anos, 482 indivíduos apresentaram histórico de DED com uma incidência de 21,6%, que aumentou significativamente com a idade, sendo maior em mulheres (25,0%) do que em homens (17,2%). Além disso, as pessoas com artrite, alergia ou doença da tireoide não tratada com hormônios, que usaram medicamentos como anti-histamínicos, ansiolíticos, antidepressivos, esteroides orais ou vitaminas e tiveram pior autoavaliação de saúde apresentaram maior incidência da DED (MOSS; KLEIN; KLEIN, 2008).

No geral, a prevalência da DED aumenta linearmente com a idade e a prevalência relacionada a sinais clínicos é maior em comparação com o relato de sintomas e com o autorrelato de um diagnóstico clínico (STAPLETON et al., 2017). Bron e colaboradores (2009) propuseram um modelo teórico de progressão da DED baseado na evolução da doença por meio de 3 estágios (início, compensação reflexiva e perda da resposta compensatória). Este modelo sugere que a doença pode piorar sem intervenção e que, no decorrer dos anos, a DED por deficiência aquosa pode apresentar sinais clínicos de olho seco evaporativo e *vice-versa* ou a doença pode estabilizar numa determinada fase. Por outro lado, outro estudo relata que nem todos os casos da DED é progressivo. Ao determinar a taxa e os fatores de risco para um aumento do desconforto ocular seco e o impacto social do desconforto ocular nos participantes por meio de registros médicos e exames clínicos, constataram que a duração média da DED era de 10,5 anos para homens e 14,5 anos para mulheres (LIENERT et al., 2016).

No entanto, o agravamento dos sintomas de *secura* foi associado a um alto gasto mensal em tratamento, a um histórico de sintomas graves e ao uso de betabloqueadores sistêmicos. A piora nos sintomas também foi associada a um

histórico de cirurgia ocular, depressão, disfunção da glândula meibomiana ou blefarite (LIENERT et al., 2016). No geral, a utilização de lágrimas artificiais e ciclosporina apresentaram alguma melhora para esses casos (WAN; CHEN; YOUNG, 2015).

A DED afeta milhões de pessoas em todo o mundo (ŞİMŞEK et al., 2018), é considerada um dos motivos mais comuns para uma consulta com um médico oftalmologista (GOLDEN; MEYER; PATEL, 2022), tem implicações socioeconômicas significativas, como despesas associadas a medicamentos e consultas médicas, efeitos no funcionamento social e físico, prejuízo na produtividade e perda de qualidade de vida (UCHINO et al., 2014). Inclusive, pacientes com DED constantemente relatam dificuldades visuais durante as atividades diárias, que podem causar depressão e ansiedade (LI et al., 2012).

2.1.4 Principais causas e/ou fatores de risco associados a DED

Dentre as principais causas e/ou fatores de risco relacionados a DED temos a idade; o sexo, principalmente o feminino devido a variação nos níveis de hormônios sexuais (DRY EYE WORKSHOP, 2007; RIBEIRO, 2019; SCHAUMBERG et al., 2011; STAPLETON et al., 2017); o uso do computador ou dispositivo móvel (de forma contínua ou excessiva); o uso prolongado de lentes de contato; a exposição a irritantes como vapores químicos, fumaça de cigarro e poluição; a baixa umidade; as dosagens excessivas ou insuficientes de vitaminas, principalmente a deficiência de vitamina A (GOLDEN; MEYER; PATEL, 2022); a disfunção da glândula meibomiana (DRY EYE WORKSHOP, 2007; SCHAUMBERG et al., 2011); a raça asiática (TONG et al., 2009, 2021); o diabetes (WARD et al., 2019); o uso de colírios para tratamento do glaucoma; a toxicidade de conservantes em colírios com conservantes e o uso de medicamentos sistêmicos, como anti-histamínicos, anti-hipertensivos, ansiolíticos, diuréticos, benzodiazepínicos, hormônios sistêmicos, anti-inflamatórios não esteroides, corticosteroides sistêmicos ou inalados, medicamentos anticolinérgicos, isotretinoína e antidepressivos (GOLDEN; MEYER; PATEL, 2022; RIBEIRO, 2019).

Outras causas/fatores também podem estar associadas a DED, como fatores genéticos e hereditários (VEHOF et al., 2014a); dor crônica (VEHOF et al., 2014b); doenças da tireoide (BRUSCOLINI et al., 2015; KAN et al., 2014); síndrome de Sjögren; doenças de pele nas pálpebras ou ao redor delas; cirurgias oftalmológicas como refrativa, catarata, ceratoplastia e de pálpebras; queimaduras químicas ou térmicas que cicatrizam a conjuntiva; alergias oculares; infecções causadas pelo vírus

do herpes ou outras causas de córnea neurotrófica; doença do enxerto contra hospedeiro; doenças autoimunes ou do tecido conjuntivo como artrite reumatoide e lúpus (GOLDEN; MEYER; PATEL, 2022).

2.1.5 Sinais e sintomas

Os sinais e sintomas da DED, que geralmente afetam ambos os olhos, incluem irritação, olhos lacrimejantes, sensação de ardência, queimação ou coceira nos olhos, sensação de corpo estranho ou de ressecamento, vermelhidão dos olhos, prurido leve, fotofobia, visão turva ou fadiga visual, intolerância à lente de contato, hiperemia, muco viscoso dentro ou ao redor dos olhos, frequência do piscar aumentada, flutuação diurna e dificuldade para dirigir à noite. Dentre as possíveis complicações relacionadas à doença temos a ceratite infecciosa, úlcera corneana, neovascularização, afinamento e perfuração da córnea (FONSECA; ARRUDA; ROCHA, 2010; GOLDEN; MEYER; PATEL, 2022; ROSA, 2019a).

2.1.6 Diagnóstico

Segundo Golden, Meyer e Patel (2022), não existe um único sinal ou sintoma de padrão-ouro para o diagnóstico da DED, sendo recomendada a avaliação dos sintomas e dos sinais pelo médico oftalmologista, pois os sinais podem estar presentes em pessoas sem sintomas e vice-versa.

O médico oftalmologista ao fazer o diagnóstico deve determinar a etiologia subjacente como olho seco por deficiência aquosa ou evaporativa, que são os mecanismos que causam a DED, e/ou a presença de outras doenças da superfície ocular. Posteriormente, o profissional precisa administrar o tratamento ao paciente (SY et al., 2015; WILLIAMSON et al., 2014).

O diagnóstico é realizado a partir de testes que medem a quantidade e a qualidade das lágrimas. As lágrimas contêm em média 98,2% de água e 1,8% de sólidos. Esta alta percentagem de água presente na lágrima é uma consequência natural da necessidade de lubrificar a conjuntiva e a superfície da córnea (SOUSA, 2014).

O grau de gravidade da DED pode ser avaliado através de uma tabela adaptada a partir daquela desenvolvida pelo *Delphi Panel Report* em 2007, que classifica a gravidade da doença considerando os sinais e sintomas e as alterações da superfície ocular por meio da biomicroscopia e de testes específicos (FONSECA; ARRUDA; ROCHA, 2010).

Segundo Rosa (2019a), o teste mais utilizado no diagnóstico é o de Schirmer, no qual o médico oftalmologista usa uma fita absorvente cuja ponta é colocada na pálpebra inferior do olho de modo que promova o contato entre as lágrimas e a fita. Se no teste verificar que a produção de lágrimas é suficiente, o especialista procurará outras causas para a DED. Testes adicionais também podem ser realizados para definir a qualidade da lágrima e determinar se há problemas na camada lipídica. Além disso, aparelhos modernos na área de oftalmologia podem ser utilizados para analisar essas e outras condições.

A identificação da condição primária subjacente nos casos da DED é a chave para reduzir a progressão da doença e o agravamento do olho seco (GOLDEN; MEYER; PATEL, 2022). Além disso, outros aspectos também devem ser considerados no diagnóstico, como exposição ao vento, viagem aérea, umidade reduzida, esforço visual prolongado associado à diminuição da frequência do piscar durante leitura e uso de computador (FONSECA; ARRUDA; ROCHA, 2010).

2.1.7 Tratamento

A DED é uma doença crônica cujo tratamento dificilmente conduz a cura definitiva (GOLDEN; MEYER; PATEL, 2022; NISHIWAKI-DANTAS, 1999). O tratamento é realizado gradualmente, de acordo com a gravidade da doença, e baseado na diminuição dos sintomas e desconfortos gerados (CRAIG et al., 2017).

O tratamento orientado para a etiologia da doença ganhou importância nos encontros realizados pela Sociedade de Olho Seco da Ásia (*Asia Dry Eye Society* - ADES) e TFOS DEWS (*Tear Film & Ocular Surface Society*). A ADES reconheceu o protocolo da terapia orientada para camadas do filme lacrimal na qual a camada deficiente do filme lacrimal deve ser substituída e o problema subjacente deve ser abordado diretamente (ŞİMŞEK et al., 2018).

Como é difícil classificar o tratamento da DED dentro de regras precisas e levando em consideração apenas os estudos baseados em evidências científicas, o médico oftalmologista precisa avaliar cada paciente individualmente e elaborar planos de tratamento específicos para cada situação (ŞİMŞEK et al., 2018).

As abordagens iniciais para o tratamento da DED incluem educação sobre a condição, modificação do ambiente, como eliminação de alto fluxo de ar/ventiladores diretos, tempo de tela reduzido (computador, celular, televisão, etc), umidificador, identificação e eliminação de agentes tópicos e sistêmicos ofensivos, utilização de

lubrificantes oculares de vários tipos, higiene da tampa e ingestão de ácidos graxos essenciais (GOLDEN; MEYER; PATEL, 2022). Posteriormente, pode incluir no tratamento lubrificantes oculares sem conservantes (lágrimas artificiais), tampões punctais, pomada noturna ou óculos de câmara de umidade, aquecimento assistido por dispositivo e/ou expressão das glândulas meibomianas, terapia de luz intensa pulsada, medicamentos anti-inflamatórios e antibióticos orais (FONSECA; ARRUDA; ROCHA, 2010; GOLDEN; MEYER; PATEL, 2022; ŞİMŞEK et al., 2018).

Outras opções de tratamento incluem colírios séricos, secretagogos orais ou tópicos, lentes de contato terapêuticas, enxerto de membrana mucosa, oclusão punctal cirúrgica e tarsorrafia (FONSECA; ARRUDA; ROCHA, 2010; GOLDEN; MEYER; PATEL, 2022; ŞİMŞEK et al., 2018).

O tratamento da DED é desafiador, sendo necessário estabelecer o que é realmente seguro e eficaz no manejo do crescente número de portadores (FONSECA; ARRUDA; ROCHA, 2010). Neste contexto, será dada ênfase no tratamento da DED utilizando colírios lubrificantes com conservantes e sem conservantes.

2.2 Tratamento da DED utilizando colírios lubrificantes

Os colírios são aplicados localmente e considerados a forma farmacêutica mais usada no tratamento de doenças oculares. A administração tópica desses medicamentos são benéficas para a parte anterior (córnea, conjuntiva, esclera, câmara anterior) e posterior (humor vítreo, retina, coroide) do olho (MUN et al., 2014).

Atualmente os colírios lubrificantes estão disponíveis em gotas ou gel (JACOBS, 2020; SHTEIN, 2023). O gel é um produto mais viscoso e pode ser usado quando o paciente observa que o colírio não está aliviando os sintomas (PUCKER; NG; NICHOLS, 2016; SHTEIN, 2023). Ao utilizá-lo pode borrar temporariamente a visão, então seu uso deve ocorrer preferencialmente antes de dormir (JACOBS, 2020; PUCKER; NG; NICHOLS, 2016; SHTEIN, 2023).

Existem várias formulações de colírios lubrificantes (lágrimas artificiais) e, muitas vezes, o paciente deve submeter-se a diferentes tipos até encontrar a que lhe oferece maior conforto e benefício (NISHIWAKI-DANTAS, 1999). Em um levantamento realizado pelo autor em *sites* de farmácia *online* do Brasil no mês de setembro de 2021 foram identificados 34 colírios lubrificantes comercializados no país para tratar os sinais e sintomas da DED, sendo 30 disponíveis em gotas e 4

lubrificantes em gel. Segundo as informações contidas nas bulas, apenas 6 colírios lubrificantes em gotas não possuem conservantes em sua composição.

Os colírios lubrificantes são aprovados para o uso sem necessidade de comprovação de eficácia clínica e seguem as normas da Agência Federal do Departamento de Saúde e Serviços Humanos dos Estados Unidos (FDA), órgão que regula as medicações nos Estados Unidos e serve de modelo para outros países, como o Brasil e países da Europa (DEWS CLINICAL TRIALS, 2007; FOULKS, 2003).

A superioridade de um colírio lubrificante em relação a outro referente a proteção da superfície ocular e alívio dos sintomas, sugerida nas propagandas, não significa que foi necessariamente comprovada em estudos clínicos controlados e talvez não exista método clínico satisfatoriamente sensível para indicar a superioridade de um produto em relação ao outro. Por outro lado, para ocorrer a liberação de medicamentos no comércio com ingredientes ativos como anti-inflamatórios, vitaminas e secretagogos é necessário apresentar comprovação de eficácia em relação a um placebo, com desenho, planejamento, execução adequada e superioridade em pelo menos um sintoma e um sinal relacionado a doença do olho seco (DEWS CLINICAL TRIALS, 2007; FOULKS, 2003).

Os colírios lubrificantes possuem diferentes osmolaridade, pH e viscosidade (JONES et al., 2017), tentam mimetizar as camadas do filme lacrimal, mas não tem os mesmos componentes com atividade biológica encontrados na lágrima natural e podem ter adição de substâncias químicas em sua composição. Entretanto, possuem o mesmo componente aquoso que é importante na lubrificação da superfície ocular (PUCKER; NG; NICHOLS, 2016).

Em geral, colírios com preparações menos viscosas são mais toleradas, principalmente nos casos mais leves da DED, mas são menos estáveis, requerem instilação mais frequente e isso pode ser um transtorno para os casos mais graves (NISHIWAKI-DANTAS, 1999).

Para os lubrificantes que são usados várias vezes ao dia, é necessário o uso de conservante para evitar contaminações (GOMES et al., 2017). O cloreto de benzalcônio (BAK) é o preservativo mais comum dos colírios, tem ação bactericida e fungicida e possui melhor difusão na superfície ocular (COROI; BUNGAU; TIT, 2015), mas apresenta efeitos colaterais como apoptose de células conjuntivais e corneanas, danos aos nervos corneanos e redução da cicatrização corneana (CHEN et al., 2013; PINHEIRO et al., 2016).

Os conservantes brometo de benzododecimo, cetrimido, nitrato fenilmercúrico, thimerosal, clorambutol, metil parahidroxibenzoato e ácido etilenodiamino tetra-acético podem ser usados nos colírios, mas a maioria deles apresentou toxicidade na concentração de 0,05% (DEBBASCH et al., 2001; RIBEIRO, 2019). Existem ainda outros conservantes que podem agredir menos a superfície ocular, como o cloreto de sódio, perborato de sódio e o poliquatérnio (RIBEIRO, 2019; SCHRAGE; FRENTZ; SPOELER, 2012).

Segundo Fraunfelder e Rich (2003), os conservantes em medicamentos oculares tópicos são predominantes e um dos principais motivos de irritação ocular, antes e após a cirurgia refrativa. Além disso, são causadores de danos às células epiteliais da córnea.

Em um estudo observacional europeu envolvendo 9658 pacientes com glaucoma verificou que todos os sintomas e sinais registrados foram mais frequentes em pacientes que usam medicamentos com conservantes em comparação com aqueles que usam formulações sem conservantes. Acredita-se que a maioria dos efeitos observados nos pacientes pode ter sido causado pelo conservante e não pelos ingredientes ativos (JAENEN et al., 2007).

Existem também os colírios sem conservantes, que possuem um custo mais elevado e são usualmente recomendados para pacientes com DED moderada a severa. Neste caso os pacientes necessitam utilizar lubrificante com maior frequência, ou em situações que os pacientes usam múltiplos colírios.

Da mesma forma que outros medicamentos, os colírios lubrificantes podem ter efeitos colaterais, causar reação alérgica na pessoa e visão embaçada. Dentre os sintomas, pode acontecer coceira, inchaço, problemas respiratórios, sensação de tontura ou enjoo (BOYD, 2022; PUCKER; NG; NICHOLS, 2016). Em virtude disso, a lágrima artificial ideal seria aquela que fosse bem tolerada, estável, sem irritar os olhos, sem conservantes, vendida a um custo baixo e acessível para maioria da população (BAUDOUIN et al., 2010; GOMES et al., 2017; JONES et al., 2017; NISHIWAKI-DANTAS, 1999).

2.3 Absorção dos colírios

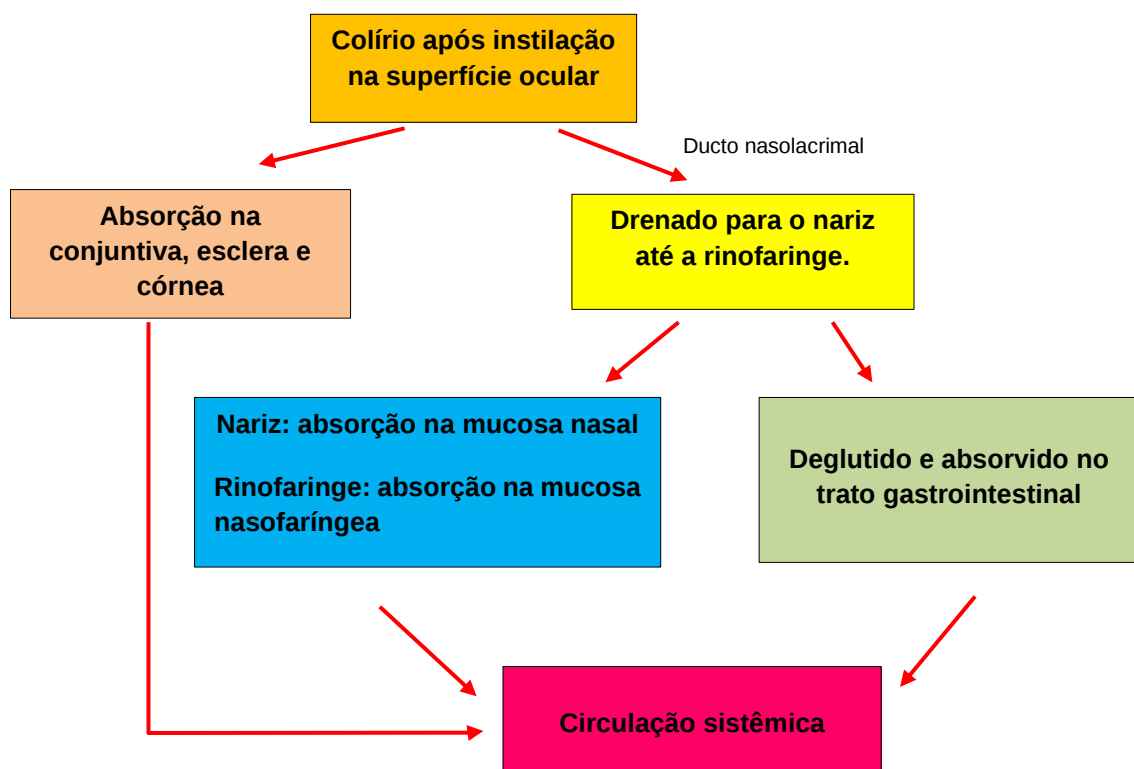
A capacidade máxima do fundo do saco conjuntival em humanos é de aproximadamente 30 μ L. Em virtude disso, o volume ideal de uma gota na forma de colírio para atingir um aproveitamento máximo é de 20 a 23 μ L (COSTA et al., 2015).

Como o volume dos dispensadores de gotas comerciais geralmente excede a capacidade de absorção do medicamento no saco conjuntival, parte da mistura colírio-lágrima escorre do olho para o rosto (FARKOUH; FRIGO; CZEJKA, 2016; JÄRVINEN; JÄRVINEN; URTTI, 1995; SALMINEN, 1990).

Após instilação, o colírio fica pouco tempo na superfície ocular (JÄRVINEN; JÄRVINEN; URTTI, 1995; SALMINEN, 1990) (Figura 2), pois uma parte dele é absorvida pela conjuntiva, esclera e córnea (AGARWAL; CRAIG; RUPENTHAL, 2021; AGRAHARI et al., 2016); a maior parte é drenada através do ducto nasolacrimal para o nariz até a rinofaringe. Na cavidade nasal, o colírio pode ser absorvido pela mucosa nasal e na rinofaringe pela mucosa nasofaríngea difundindo-se para circulação sistêmica (AGARWAL; CRAIG; RUPENTHAL, 2021; FARKOUH; FRIGO; CZEJKA, 2016). O restante é deglutido e absorvido no trato gastrointestinal (JÄRVINEN; JÄRVINEN; URTTI, 1995; PAULSEN et al., 2002).

Apesar da administração tópica de medicamentos oftalmológicos ser mais utilizada, a biodisponibilidade do fármaco é baixa e fica comprometida por fatores como piscar, lacrimação e a função de barreira da córnea (AGARWAL; CRAIG; RUPENTHAL, 2021; DAVIES, 2000; PIVETA, L. C. et al., 2020; RAMSAY et al., 2017, 2018).

Figura 2 - Absorção dos colírios.



Fonte: Elaborado pelo autor.

Ressalta-se também que a taxa de drenagem da solução da superfície ocular depende de vários fatores, como volume instilado, viscosidade e lacrimejamento induzido (CHRAI et al., 1973; CONRAD et al., 1978).

2.4 Legislação

Os colírios podem conter impurezas, que podem ser solventes orgânicos, inorgânicos e residuais. A maior parte dessas impurezas pode estar relacionada aos processos de fabricação, degradação, condições de armazenamento, excipientes ou contaminação, não trazem qualquer benefício terapêutico ao paciente e podem afetar negativamente o comportamento toxicológico do fármaco (BALARAM, 2016; RAGHURAM et al., 2010; SILVA, 2017a, 2018).

A indústria farmacêutica está sujeita a um conjunto de leis e documentos de orientação com a finalidade de garantir a qualidade, eficácia e segurança dos medicamentos (PRIME, 2012). Neste contexto, existem diretrizes para garantir que os riscos dos produtos farmacêuticos não sobreponham aos benefícios terapêuticos. Essas diretrizes definem os limites de concentração no medicamento e os métodos que garantem os critérios de segurança e qualidade dos produtos farmacêuticos (CHAWLA et al., 2020; ICH, 2022; LI et al., 2015; USP, 2017). Todos esses critérios são exigidos e controlados por agências reguladoras, como a Agência Europeia de Medicamentos e o Conselho Internacional para Harmonização de Requisitos Técnicos para Medicamentos para Uso Humano (ICH), e também devem respeitar as normas das farmacopeias dos países (LI et al., 2015).

Neste sentido, a FB, compêndio farmacêutico do Brasil, estabelece as exigências mínimas de qualidade, autenticidade e pureza dos insumos farmacêuticos, dos medicamentos e de outros produtos sujeitos à vigilância sanitária, que são disponibilizados à população brasileira, e descreve testes para determinação de metais pesados nos medicamentos (BRASIL, 2019).

Diante da ausência de informações nas farmacopeias, alguns países recorrem ms diretrizes para impurezas elementares (ICH Q3D) estabelecidas pelo ICH (BRASIL, 2016; CANADÁ, 2016; EMA, 2018).

Em novembro de 2016, a Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA), órgão regulatório do Brasil, passou a fazer parte do ICH, favorecendo o alinhamento da legislação brasileira sobre medicamento às práticas internacionais (BRASIL, 2016).

A diretriz ICH Q3D (R2) do ICH, avalia e controla as IEs em produtos farmacêuticos administrados pelas vias oral, parenteral e inalatória. Esta orientação contempla 24 elementos, divididos em 3 classes, de acordo com a natureza toxicológica, e define os limites de PDE e as concentrações permitidas de IEs em medicamentos, substâncias medicamentosas e excipientes (ICH, 2022; SANDERSON; WHITECOTTON, 2022; SILVA, 2018).

Como as IEs presentes nos medicamentos aplicados topicamente ou por via mucosa são minimamente absorvidas, não são abordadas na diretriz ICH Q3D (ICH, 2022; SANDERSON; WHITECOTTON, 2022; SILVA, 2018) e, até o momento, não foram definidos os limites de concentração e exposição diária a macro e microelementos administrados pela via oftálmica (BRASIL, 2019; ICH, 2022; USP, 2017).

2.5 Minerais (Macro e microelementos)

Os minerais são elementos químicos inorgânicos que desempenham funções estruturais e biológicas vitais para o organismo humano, ou seja, a presença deles favorece o equilíbrio e manutenção de funções corporais básicas, como regulação do metabolismo, ativação e regulação de enzimas, condução de impulsos nervosos, controle do equilíbrio ácido-base do organismo, atuação na coagulação sanguínea, fabricação de hormônios e transporte de oxigênio. São classificados em macrominerais (macroelementos ou elementos majoritários) e microelementos (microminerais) (PORFÍRIO, 2004; ROSA, 2019b; TOGNON, 2012).

Os macroelementos são essenciais a vida e precisam estar em maior quantidade no organismo humano para ter uma vida saudável (quantidade ≥ 100 mg/dia), sendo eles: Cálcio (Ca), Enxofre (S), Fósforo (P), o Sódio (Na), Potássio (K) e Magnésio (Mg). Os microelementos também são conhecidos como elementos traço, são importantes ao organismo, mas em pequenas quantidades (quantidade < 100 mg/dia). Dentre eles temos o Cobalto (Co), Cobre (Cu), Cromo (Cr), Ferro (Fe), Flúor (F), Manganês (Mn), Selênio (Se), Vanádio (V) e Zinco (Zn). Alguns deles, como o Alumínio (Al), Arsênio (As), Bário (Ba), Cadmio (Cd), Chumbo (Pb), Mercúrio (Hg) e o Níquel (Ni) não são essenciais aos seres vivos do ponto de vista biológico e podem ser tóxicos ou contaminantes, mesmo em baixas concentrações (PORFÍRIO, 2004; ROSA, 2019b; SOUZA, 2021; TOGNON, 2012).

O conceito de metais pesados refere-se, basicamente, ao alto peso molecular que esses elementos químicos apresentam, seja devido ao peso atômico ou à densidade. E, ao contrário do que se imagina, nem todos os metais pesados são considerados tóxicos e, além disso, são utilizados nas indústrias, residências, agricultura e medicina, levando à sua ampla distribuição no meio ambiente (AL OSMAN; YANG; MASSEY, 2019; MAHURPAWAR, 2015; MARTIN; GRISWOLD, 2009). Como vimos anteriormente, em concentrações fisiológicas, alguns minerais (macro e microelementos) desempenham papéis essenciais para o organismo, sendo importantes para a manutenção das atividades biológicas. No entanto, outros elementos químicos, como Al, As, Ba, Cd, Pb, Hg e Ni não trazem quaisquer benefícios para a saúde humana e podem, inclusive, contaminar a água, o solo, o ar e os alimentos. (CUNHA; MACHADO, 2004; PORFÍRIO, 2004; ROSA, 2019b; ROSA et al., 2020; TOGNON, 2012).

O desequilíbrio de alguns minerais (metais pesados) no organismo, tanto a deficiência como o excesso, podem ocasionar efeitos adversos (SILVA, 2017a). Em algumas situações de toxicidade podem causar doenças graves, como problemas cardiovasculares, respiratórios, distúrbios neurológicos e câncer (AL OSMAN; YANG; MASSEY, 2019; AYENIMO et al., 2010; SILVA, 2017a). A toxicidade depende da quantidade da substância química que entra no organismo e do tempo de exposição. Quanto maior a quantidade e o tempo de exposição, maior será a resposta tóxica (CALDERÓN et al., 2003; SILVA, 2017a).

A exposição dos seres humanos aos metais pesados considerados tóxicos à saúde geralmente ocorre pela ingestão de água e alimentos contaminados, inalação de poluentes/partículas do ar e contato (absorção dérmica) com água, solo contaminados ou produtos com quantidade de metais pesados acima do valor permitido pelos órgãos de regulamentação (DE MIGUEL et al., 2007; KOMAROVA et al., 2021; WANG et al., 2019).

Neste contexto, o macroelemento (Mg) e os microelementos (Al, As, Ba, Cd, Co, Cr, Cu, Fe, Mn, Mo, Ni, Pb, Se, V e Zn) analisados neste estudo e suas possíveis consequências ao organismo, devido a situações de deficiência ou excesso, são apresentados nas subseções 2.5.1 a 2.5.16. Na subseção 2.5.17 são apresentados os elementos que estão associados a distúrbios oftalmológicos em situações de toxicidade.

2.5.1 Alumínio (Al)

O Al não possui uma função biológica conhecida, mas evidências sugerem que a exposição a concentrações altas do metal pode potencializar eventos oxidativos e inflamatórios no organismo, causar distúrbios oftalmológicos (DOLAR-SZCZASNY et al., 2019; LU; GONG; AMEMIYA, 2002) e contribuir para o desenvolvimento de encefalopatia dialítica, anemia microcítica, osteomalácia (BECARIA; CAMPBELL; BONDY, 2002), aluminose encefalopatia por diálise e Alzheimer (KLOTZ et al., 2017).

2.5.2 Arsênio (As)

O As é um elemento tóxico e carcinogênico, sendo que a ingestão de 100 mg envenena seriamente o organismo (CUNHA; MACHADO, 2004). A exposição crônica afeta o sistema vascular, causa hipertensão, doenças cardiovasculares, diabetes, doenças dérmicas, cânceres (JOMOVA et al., 2011) e conjuntivite (BARRA et al., 2000).

2.5.3 Bário (Ba)

O Ba não tem papel biológico conhecido em humanos, é tóxico, assim como seus compostos solúveis em água ou ácido (MOFFETT; SMITH-SIMON; STEVENS, 2007), e a ingestão de concentrações de 550 a 600 mg são fatais ao homem (CUNHA; MACHADO, 2004). A exposição a compostos de Ba podem causar dores gástricas, náuseas, vômitos, diarreia, hipocalcemia, taquicardia ventricular, hipertensão ou hipotensão arterial, dormência, fraqueza muscular, paralisia, tremores, convulsões, midríase (MOFFETT; SMITH-SIMON; STEVENS, 2007; OSKARSSON, 2022; SAVAZZI, 2009) e doença ocular (LU; GONG; AMEMIYA, 2002).

2.5.4 Cádmio (Cd)

O Cd não desempenha um papel nos sistemas biológicos superiores ou na nutrição humana (MEHRI, 2020), é altamente tóxico, acumulativo no organismo humano. Pode causar alterações no organismo, como desregulação hormonal, estresse oxidativo, apoptose (CUPERTINO et al., 2017; ERIE et al., 2005), doenças cardiovasculares, renais, ósseas e hepáticas, câncer (CUNHA; MACHADO, 2004; VOLPE et al., 2012), distúrbios oftalmológicos (ABERAMI et al., 2019; CHOI et al., 2020; DOLAR-SZCZASNY et al., 2019) e levar à morte (CUNHA; MACHADO, 2004).

2.5.5 Chumbo (Pb)

O Pb não tem nenhum papel biológico, é muito tóxico, carcinogênico, possui efeito acumulativo e pode ser letal se ingerido por muito tempo. Pode causar danos irreversíveis ao cérebro, principalmente em crianças, hiperatividade, retardamento de crescimento, anemia, tumores renais (CUNHA; MACHADO, 2004) e doenças oculares (BOCCA et al., 2020; CASTRO et al., 2021; EKINCI et al., 2014; NELKE et al., 2015).

2.5.6 Cobalto (Co)

O Co possui papel importante na formação das hemácias, da mielina e do ácido desoxirribonucleico (DNA). Sua deficiência no organismo pode causar alterações no fator intrínseco do estômago, hipocloridria, envelhecimento e hipotireoidismo (CARVALHO, 2002). Níveis excessivos podem resultar em alterações visuais, neuropatia periférica, perda auditiva, déficits cognitivos, cardiomiopatia, hipotireoidismo (GARCIA et al., 2020) e dermatite de contato alérgica (UTER et al., 2012).

2.5.7 Cobre (Cu)

O Cu é um microelemento essencial para a síntese de hemoglobina, colágeno e melanina. Ele é indispensável na absorção do Fe, na manutenção da saúde óssea e do sistema nervoso central (CARVALHO, 2002; TOGNON, 2012). O Cu também é encontrado em diferentes regiões da retina e as concentrações desse elemento estão ligadas à fisiologia e funções da retina nas quais está envolvido (BOCCA et al., 2020). Sua deficiência no organismo causa redução do crescimento, anemia microcítica e hipocrômica, evoluindo para leucopenia com neutropenia e consequente deficiência imunológica, e redução da pigmentação da pele e dos cabelos. A intoxicação é caracterizada por náuseas, vômitos, queimaduras epigástricas, diarreia, icterícia, hemólise, sangramento digestório e falência renal. Podem também ocorrer hemocromatose, hipertireoidismo, hemopatias malignas, doenças reumatológicas (CARVALHO, 2002; TOGNON, 2012), cirrose hepática, disfunção motora, distúrbios oftalmológicos, tremores, rigidez muscular, infarto do miocárdio (AYENIMO et al., 2010) e doenças oculares (BOCCA et al., 2020; JÜNEMANN et al., 2013; MICUN et al., 2022).

2.5.8 Cromo (Cr)

O Cr é um microelemento essencial para o organismo que potencializa a ação da insulina e influencia o metabolismo de carboidratos, lipídios e proteínas. (CARVALHO, 2002; GOMES; ROGERO; TIRAPEGUI, 2005; OFFENBACHER et al., 1986). O Cr reduz os níveis de colesterol total, aumenta o HDL-colesterol e desempenha um papel importante na síntese de serotonina podendo diminuir a depressão. A forma biologicamente ativa é a trivalente (Cr^{+3}), enquanto a hexavalente (Cr^{+6}) é potencialmente tóxica (CARVALHO, 2002) e pode causar câncer, problemas no fígado, nos rins, na derme (LOZI, 2019) e danos nos olhos (KAPARWAN, 2023).

2.5.9 Ferro (Fe)

O Fe possui grande importância biológica para a saúde, é responsável pelo transporte de oxigênio para as células através da hemoglobina e pode ser encontrado na forma ferrosa (Fe^{+2}), natural dos alimentos, com maior absorção e na forma férrica (Fe^{+3}) com menos absorção (CARVALHO, 2002; GROPPER; SMITH; CARR, 2012). Sua deficiência causa anemia ferropriva e doenças gastrointestinais, como colite ulcerativa e doença de Crohn (BJØRKLUND et al., 2017). O Fe em excesso pode contribuir para formação de radicais livres (MAHAN; RAYMOND, 2018) e está associado ao desenvolvimento e progressão de certos tipos de câncer, doenças hepáticas e cardíacas, diabetes, anormalidades hormonais, disfunções do sistema imunológico (FRAGA; OTEIZA, 2002) e doenças oculares (BOCCA et al., 2020; UGARTE et al., 2013; WONG et al., 2007).

2.5.10 Magnésio (Mg)

O Mg é um macroelemento encontrado naturalmente no corpo humano que está relacionado aos processos de síntese de proteínas, formação óssea, regulação da pressão arterial, função nervosa, condução elétrica no coração e pode desempenhar papel terapêutico e preventivo no diabetes, osteoporose, asma brônquica, pré-eclâmpsia e enxaqueca (AJIB; CHILDRESS, 2021; HADDAD; ALASADI; HADDAD, 2012). A deficiência de Mg causa fadiga, anorexia, deficiência de crescimento, insuficiência cardíaca, arritmias, angina, alterações neuromusculares, aumento da adesividade plaquetária, hipercolesterolemia, irritabilidade e desequilíbrios mentais, alucinações e tetania (CARVALHO, 2002). Os sintomas iniciais mais comuns de toxicidade são diarreia, náuseas e vômitos, fraqueza muscular e pressão arterial

baixa, mas à medida que os níveis aumentam, há perda de reflexos tendinosos profundos, bloqueios do nó sinoatrial ou atrioventricular, paralisia respiratória e, eventualmente, parada cardíaca (AJIB; CHILDRESS, 2021).

2.5.11 Manganês (Mn)

O Mn é um elemento essencial para o ser humano, age como ativador e como um constituinte de várias enzimas (superóxido dismutase, peptidase, arginase, glutamina sintetase, glicosil transferase, colinesterase e piruvato carboxilase). Sua deficiência está relacionada a convulsões, ataxia, paralisias, surdez, cegueira, obnubilação, perda de peso, diminuição da densidade óssea, arritmias cardíacas, intolerância à lactose, insuficiência pancreática, fragilidade ligamentar, articular e de tendões. Concentrações elevadas no organismo podem causar anemia ferropriva, deficiência de cobre, interferência na utilização de tiamina (vitamina B1) (CARVALHO, 2002), toxidades no sistema cardíaco, respiratório, reprodutor e nervoso central (ATSDR, 2012; SILVA, 2017a).

2.5.12 Molibdênio (Mo)

Participa de importantes sistemas enzimáticos (xantina oxidase, sulfito oxidase, aldeído oxidase e nitrato redutase). Além disso, está ligado à produção de catecolaminas e ao metabolismo lipídico (CARVALHO, 2002). Sua deficiência está relacionada com intolerâncias alimentares, hipersensibilidade ao álcool, câncer de esôfago, artrite gotosa, impotência, queda de dentes, problemas visuais, taquicardia, perda de peso e diminuição da longevidade. A toxicidade do Mo está associada a ingestão de cobre ou ao esgotamento dos estoques de cobre no corpo (VYSKOCIL; VIAU, 1999). O excesso no organismo pode aumentar os níveis séricos de ácido úrico e xantina oxidase tecidual, causar dores nas articulações, hiperuricosúria (KOVAL'SKII; IAROVAIA; SHMAVONIAN, 1961), dores de cabeça (WALRAVENS et al., 1979), irritação ocular (MoO_3) e doença ocular (CEYLAN et al., 2013).

2.5.13 Níquel (Ni)

O Ni é um elemento essencial para o corpo humano, componente importante no processo de hematopoiese, está envolvido na atividade enzimática, hormonal, estabilidade estrutural das macromoléculas biológicas e no metabolismo em geral. Além disso, interfere na absorção e no metabolismo do ferro. A sua carência no organismo pode alterar o metabolismo da glicose e assim diminuir a sua tolerância

(ALLAN, 1997; SILVA, 2017a) (ALLAN, 1997; SILVA 2017). A toxicidade ao Ni provoca cefaleias, náuseas, vômitos, apatia, diarreia, febre e afeções da pele. A exposição a altas concentrações pode causar doenças oculares (ABERAMI et al., 2019; BOCCA et al., 2020), carcinomas a nível das fossas nasais e vias respiratórias inferiores (SEGANTINI, 1996; SILVA, 2017a).

2.5.14 Selênio (Se)

Em humanos, o Se é um nutriente essencial, faz parte da enzima glutationala peroxidase que promove a neutralização do peróxido de hidrogênio, precursor direto dos radicais hidroxila. Praticamente todas suas funções no organismo estão relacionadas a ação antioxidante, previne o câncer, atua no metabolismo dos eritrócitos, mantém a integridade dos cromossomos, previne doenças cardiovasculares, atua como imunoestimulante, protege dos metais pesados e outras toxinas, aumenta a fertilidade masculina e aumenta a expectativa de vida. A sua deficiência está relacionada a altas incidências de câncer e doenças cardiovasculares. Além disso, outras doenças estão associadas à sua deficiência, como infarto do miocárdio, hipertensão arterial, aterosclerose, deficiência imunológica, miopatias diversas, alcoolismo e cirrose, fibrose cística, anemia hemolítica, doença celíaca, infertilidade e impotência, catarata, retinopatia diabética, degeneração macular; artrite reumatoide, psoríase e esclerose múltipla. As funções inorgânicas do Se são mais tóxicas e os sintomas mais comuns relacionados ao excesso no organismo são: problemas visuais, musculares e cardíacos, aumento da incidência de cáries dentárias, calvície, eczemas, vômitos e fadiga. Em casos agudos, pode haver febre, sintomas gastrointestinais e disfunção hepatorrenal (CARVALHO, 2002).

2.5.15 Vanádio (V)

O V está envolvido com o metabolismo dos lipídios, das catecolaminas e da glicose. Além disso, tem papel importante na eritropoese, no metabolismo do cálcio e da insulina. Atua no controle e síntese do colesterol, na formação de ossos e dentes, auxilia a insulina no controle da glicemia, atua no processo de síntese da coenzima A, mantém o metabolismo muscular do iodo e às funções tireoidianas. Sua deficiência está relacionada a altos níveis de colesterol e triglicerídeos no sangue e um aumento na incidência de doenças cardíacas, obesidade, diabetes e câncer (CARVALHO, 2002). As pessoas que sofrem intoxicação por vanádio apresentam os seguintes sintomas: dor de cabeça, tremores nas mãos, hipertensão, tosse, palpitações,

respiração ofegante, irritação dos ouvidos e garganta (EMEA, 2008), erupções cutâneas (FALLAHI et al., 2018) e doenças oculares (BARCELOUX; BARCELOUX, 1999).

2.5.16 Zinco (Zn)

O Zn é um elemento essencial no organismo, participa de reações que envolvem a síntese e degradação de metabólitos (carboidratos, lipídios e proteínas) e ácidos nucleicos (DNA e RNA) (TOGNON, 2012), tem função na transcrição gênica, integridade das membranas, atua na defesa do organismo, na cicatrização e na visão noturna, tem ação antioxidante e anti-inflamatória (COMINETTI; COZZOLINO, 2020). No que diz respeito à visão ocular, o zinco desempenha papéis vitais na sobrevivência das células da retina, é importante para o funcionamento das enzimas antioxidantes e protege as estruturas oculares dos efeitos nocivos da luz e do estresse oxidativo. Os sintomas de deficiência de Zn incluem: diminuição de paladar, má cicatrização de feridas, fadiga, aumento da susceptibilidade a infecções, lesões de pele, deficiência imunológica com atrofia tímica e linfopenia, intolerância à glicose e manchas brancas nas unhas (CARVALHO, 2002). A depleção de zinco intracelular pode aumentar a vulnerabilidade das células do epitélio pigmentar da retina (EPR), induzir a apoptose ou aumentar indiretamente a vulnerabilidade dessas células à lesão ultravioleta (UV) (HYUN et al., 2001). A toxicidade aguda de zinco pode apresentar os seguintes sintomas: desidratação, letargia, vertigens, dores abdominais, náuseas, vômitos e descoordenação muscular. A exposição crônica de ZN a doses elevadas pode interferir na absorção de cobre levar a processos carcinogênicos (SILVA, 2017a) e distúrbios oftalmológicos (BOCCA et al., 2020; NRIAGU, 2007).

2.5.17 Macro e microelementos associados a distúrbios oftalmológicos

Estudos sugerem que a presença e o aumento significativo do teor dos elementos químicos no organismo, apresentados na Tabela 1, estão relacionados ao desenvolvimento de doenças oftalmológicas em humanos.

Evidências científicas também relatam a presença significativa de metais pesados em processos de intoxicação crônica no humor aquoso (BOCCA et al., 2020; DOLAR-SZCZASNY et al., 2019; JÜNEMANN et al., 2013; MICUN et al., 2022), no cristalino (CEKIC, 1998; GARNER et al., 2000; HADDAD, 2012; MICUN et al., 2022), no EPR, na coróide, na retina (ABERAMI et al., 2019; EKINCI et al., 2014; ERIE et al., 2005; NELKE et al., 2015), no cabelo, nas unhas (BAIDYA et al., 2006), no sangue

(CHOI et al., 2020; LEE et al., 2016; PARK et al., 2015), na urina (LIOU et al., 2022) e nas lágrimas (CHEN; CHEN; LAI, 2022). Entretanto, são escassos os estudos clínicos sobre a toxicidade de macro e microelementos em colírios com conservantes e sem conservantes no Brasil e em outros países.

Tabela 1 - Principais minerais que estão associados a distúrbios oftalmológicos.

Elemento	Distúrbios oftalmológicos	Concentrações (µg/g)	Referências
Al	Catarata	Humor aquoso: 2,427	(DOLAR-SZCZASNY et al., 2019)
	Conjuntivite	<u>Pessoa 1</u> Cabelo: 1,727 Unhas: 1,35	(BAIDYA et al., 2006)
		<u>Pessoa 2</u> Cabelo: 4,738 Unhas: 3,279	
	DMRI	<u>EPR - coróide</u> DMRI inicial: 0,022 DMRI tardia: 0,054 Controle: 0,0015	(ABERAMI et al., 2019)
		<u>Retina</u> DMRI inicial: 0,0107 DMRI tardia: 0,0240 Controle: 0,0014	
Ba	Perdas visuais	Biópsia de cólon: 0,0059	(FREUND et al., 2020)
	Perdas visuais	NI	(NEW JERSEY DEPARTAMENT, 2002)
	Catarata	Cristalino: 0,99	(CEKIC, 1998)
	DED	<u>Sangue</u> DED: 0,00096 Sem DED: 0,00065	(CHOI et al., 2020)
		<u>Urina</u> DED: 0,55 Sem DED: 0,37	
Cd	DMRI	Urina: 0,00108	(LIOU et al., 2022)
		<u>EPR - coróide</u> DMRI inicial: 0,088 DMRI tardia: 0,114 Controle: 0,024	(ABERAMI et al., 2019)
		<u>Retina</u> DMRI inicial: 0,057 DMRI tardia: 0,128 Controle: 0,026	
		Humor aquoso: 0,0281 Controle: 0,0024 µg/g	(JÜNEMANN et al., 2013)
	Glaucoma	<u>Sangue</u> DMRI tardia: 0,019	(PARK et al., 2015)
		<u>Sangue</u> Homens: 0,011 Adolescentes: 0,0112	(LEE et al., 2016)

Tabela 1 - Continuação.

Elemento	Distúrbios oftalmológicos	Concentrações (µg/g)	Referências
Co	DMRI	Humor aquoso: 0,1242 Controle: 0,0469 µg/g	(JÜNEMANN et al., 2013)
	Perdas visuais	Sangue: > 1	(GARCIA et al., 2020)
		Sangue: 0,0856	(NG; EBNETER; GILHOTRA, 2013)
Cr	DMRI	<u>EPR - coroide</u> DMRI inicial: 4,064 DMRI tardia: 6,549 Controle: 1,928 <u>Retina</u> DMRI inicial: 3,312 DMRI tardia: 13,06 Controle: 1,638	(ABERAMI et al., 2019)
Cu	Catarata	Cristalino: 2,11	(CEKIC, 1998)
	Catarata	Cristalino: 0,832	(EROL; OZALP; ATALAY, 2021)
	DMRI	Humor aquoso: 12,4643 Controle: 5,1701 ug/g	(JÜNEMANN et al., 2013)
Fe	Glaucoma	<u>Humor aquoso</u> GPAA (Todos): 0,0507 Apenas GPAA: 0,0485 GPAA e outras doenças: 0,0587 Controle: 0,0255	(BOCCA et al., 2020)
		<u>Humor aquoso</u> Glaucoma primário de ângulo aberto (GPAA): 0,00021 Glaucoma pseudoexfoliativo (PEG): -0,0009	(HOHBERGER et al., 2018)
Mn	Síndrome de pseudoexfoliação (PEX)	<u>Sangue</u> PEX: 0,0022 PEG: 0,0018 Controle: 0,0017	(CEYLAN et al., 2013)
Mo	Glaucoma pseudoexfoliativo (PEG)	<u>Sangue</u> PEX: 0,00198 PEG: 0,00195 Controle: 0,0017	(CEYLAN et al., 2013)
Ni	DMRI	<u>EPR - coroide</u> DMRI tardia: 4,575 Controle: 0,962 <u>Retina</u> DMRI inicial: 1,644 DMRI tardia: 3,831 Controle: 0,7782	(ABERAMI et al., 2019)

Tabela 1 - Continuação.

Elemento	Distúrbios oftalmológicos	Concentrações (µg/g)	Referências
Pb	Catarata	Cristalino: 5,17	(CEKIC, 1998)
		Humor aquoso: 2,427	(DOLAR-SZCZASNY et al., 2019)
	DED	<u>Lágrimas</u> Grupo exposição: 0,02358 Controle: 0,00342	(CHEN; CHEN; LAI, 2022)
		Unhas dos pés: 0,34	(LIOU et al., 2022)
	DMRI	<u>EPR - coroide</u> DMRI inicial: 0,832 DMRI tardia: 0,939 Controle: 0,219	(ABERAMI et al., 2019)
		<u>Retina</u> DMRI inicial: 1,644 DMRI tardia: 3,831 Controle: 0,7782	
Se	Catarata	<u>Sangue</u> DMRI inicial: 0,029 DMRI tardia: 0,0366	(PARK et al., 2015)
	DMRI	<u>Cristalino</u> : 5,43 Controle: 4,43	(KARAKÜÇÜK et al., 1995)
Se	DMRI	<u>EPR - coroide</u> DMRI tardia: 0,1116 Controle: 0,0566	(ABERAMI et al., 2019)
		<u>Retina</u> DMRI tardia: 0,0501 Controle: 0,0201	
	Glaucoma	<u>Humor aquoso</u> (faixa) 1ª: 0,03847 – 0,04405 2ª: 0,04406 – 0,04756 3ª: 0,0477 – 0,05765 <u>Selênio plasmático</u> (faixa) 1ª: 0,1273 – 0,1826 2ª: 0,1835 – 0,2159 3ª: 0,2185 – 0,3988	(BRUHN et al., 2009)
V	Conjuntivite	NI	(ZENZ; BARTLETT; THIEDE, 1962)
Zn	Catarata	Humor aquoso: 0,243 Controle: 0,154	(NOURMOHAMMADI; MODARRESS; PAKDEL, 2006)
	Glaucoma	<u>Humor aquoso</u> GPAA (Todos): 0,0891 Apenas GPAA: 0,0725 GPAA e outras doenças: 0,186 Controle: 0,0255 Humor aquoso: 0,0003 Controle: -0,00083	(BOCCA et al., 2020) (HOHBERGER et al., 2018)

Nota: NI - Não Informado.

3 OBJETIVOS

3.1 Objetivo geral

Avaliar a presença dos elementos Al, As, Ba, Cd, Co, Cr, Cu, Fe, Mg, Mn, Mo, Ni, Pb, Se, V e Zn em colírios lubrificantes com e sem conservantes utilizados no tratamento da DED no Brasil.

3.2 Objetivos específicos

- Quantificar o macroelemento (Mg) e os microelementos (Al, As, Ba, Cd, Co, Cr, Cu, Fe, Mn Mo, Ni, Pb, Se, V e Zn) por meio da técnica de Espectrometria de Emissão Óptica com Plasma Indutivamente Acoplado (ICP OES);
- Avaliar se os teores dos elementos químicos nas amostras de colírios lubrificantes estão de acordo com os valores de concentrações permitidas de impurezas elementares estabelecidos na Farmacopeia Brasileira (FB) e na diretriz ICH Q3D (R2) para via parenteral;
- Calcular a exposição diária por meio da instilação dos colírios lubrificantes nos olhos;
- Avaliar se os valores calculados da exposição diária estão de acordo com os PDEs estabelecidos na diretriz ICH Q3D (R2) para via parenteral.

4 MATERIAIS E MÉTODOS

4.1 Coleta de amostras

Neste estudo, 95 amostras de colírios lubrificantes utilizadas no tratamento da DED e pertencentes a 19 medicamentos distintos foram adquiridas em farmácias da cidade de Campo Grande, estado de Mato Grosso do Sul, no mês de dezembro de 2021.

Foram selecionadas apenas amostras de colírios lubrificantes com volume de 10 mL e disponíveis em gotas, sendo 70 amostras de colírios com conservantes (5 exemplares de mesmo lote e 14 colírios diferentes) e 25 amostras de colírios sem conservantes (5 exemplares de mesmo lote e 5 colírios diferentes). As amostras de mesmo lote e mesmo fabricante foram misturadas (*pool*) para obter uma amostra representativa para análise.

4.2 Preparação para a análise

Todos os materiais utilizados no estudo, como vidrarias e tubos plásticos do tipo Falcon, passaram por processo químico de desmineralização antes de serem utilizados. Os materiais foram colocados em solução de Extran (5%, v/v) e ácido nítrico (10% de concentração, Merck) por um período mínimo de 24 horas, depois foram enxaguados em água ultrapura e secos em estufa a 42 °C.

4.3 Digestão ácida das amostras

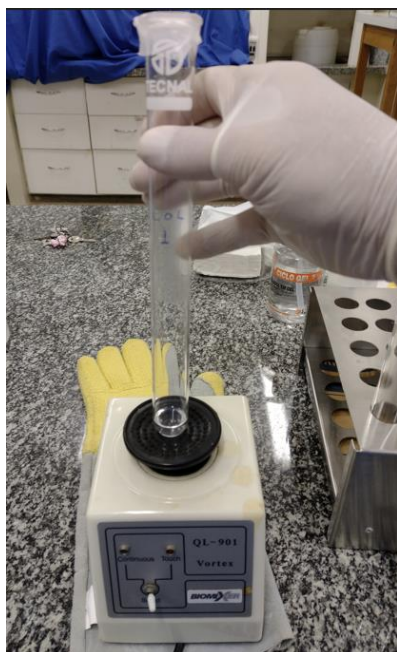
Aproximadamente 0,5 mL de cada amostra representativa de colírio lubrificante foi colocada em tubo de ensaio de vidro e, posteriormente, foram adicionados 2,0 mL de ácido nítrico (HNO₃) (65%, Merck, Darmstadt, Alemanha) e 1,0 mL de peróxido de hidrogênio (H₂O₂) (35%, Merck, Darmstadt, Alemanha), totalizando 3,5 mL (Figura 3). Depois, utilizou-se o vórtex para homogeneizar as partículas nas amostras (Figura 4).

Figura 3 - Adição de ácido nítrico (HNO_3) e peróxido de hidrogênio (H_2O_2) nas amostras.



Fonte: Elaborado pelo autor.

Figura 4 - Homogeneização das partículas na amostra.



Fonte: Elaborado pelo autor.

As amostras foram digeridas em sistema de digestão aberto durante 40 min e temperatura de 80 °C (Figura 5). Posteriormente, todas as amostras foram transferidas dos tubos de ensaio de vidro para tubos plásticos do tipo Falcon (Figura 6), onde foram

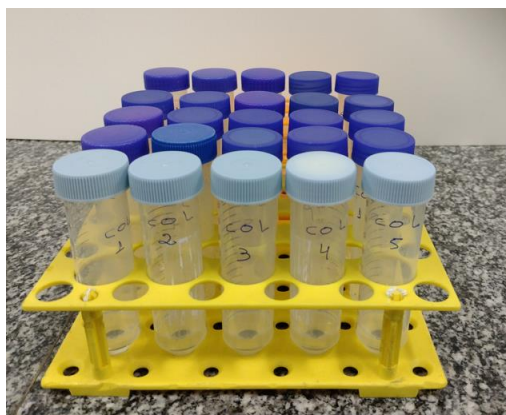
adicionados 2,5 mL de água ultrapura (condutividade 18,2 MΩcm (Millipore), Biocel, Alemanha).

Figura 5 - Sistema de digestão aberto.



Fonte: Elaborado pelo autor.

Figura 6 - Amostras nos tubos Falcon.



Fonte: Elaborado pelo autor.

4.4 Procedimentos de calibração

As curvas de calibração externas foram obtidas a partir de soluções estoque padrão de 100 mg/L contendo os elementos Al, As, Ba, Cd, Co, Cr, Cu, Fe, Mg, Mn, Mo, Ni, Pb, Se, V e Zn (Specsol, São Paulo, Brasil). Para cada elemento, utilizou-se 1 branco analítico e 11 intervalos de concentração (ppm), onde os valores de calibração variaram na faixa de 0,001 a 2 ppm.

O limite de detecção (LOD) foi calculado multiplicando o desvio padrão do sinal do branco (SB) por 3 e dividindo o resultado pela inclinação da curva de calibração (C), conforme apresentado na equação 1.

(1)

$$LOD = 3 * SB/C$$

Da mesma forma que LOD, o limite de quantificação (LOQ) foi obtido multiplicando o desvio padrão do branco (SB) por 10 e dividindo o resultado pela inclinação da curva (equação 2).

(2)

$$LOQ = 10 * SB/C$$

O cálculo dos LOD e LOQ seguiu os padrões analíticos estabelecidos pela União Internacional de Química Pura e Aplicada (IUPAC) (LONG; WINEFORDNER, 2008) e a linearidade das curvas foi avaliada por meio do coeficiente de correlação (R^2). A Tabela 2 apresenta os parâmetros da curva de calibração e os valores obtidos para LOD, LOQ e R^2 . Os valores de LOD, LOQ e R^2 para os elementos detectados variaram de 0,0002 - 0,0363 ($\mu\text{g/g}$), 0,0007 - 0,1211 ($\mu\text{g/g}$) e 0,9968 - 0,9996, respectivamente.

Tabela 2 - Equações de calibração ($y = ax + b$)*, R^2 , LOD e LOQ obtidos por calibração externa.

Elemento	Equação de Calibração Externa $y = ax + b$	LOD ($\mu\text{g/g}$)	LOQ ($\mu\text{g/g}$)	R^2
Al	$y = 5875x - 44,236$	0,0363	0,1211	0,9996
As	$y = 449,7x + 1,2977$	0,0036	0,0121	0,9996
Ba	$y = 813519x - 1440$	0,0003	0,0010	0,9995
Cd	$y = 14392x - 47,211$	0,0005	0,0018	0,9994
Co	$y = 5674,7x - 0,31$	0,0010	0,0033	0,9995
Cr	$y = 17967x + 30,812$	0,0011	0,0037	0,9994
Cu	$y = 22046x + 10,232$	0,0020	0,0067	0,9996
Fe	$y = 10379x + 18,352$	0,0065	0,0217	0,9994
Mg	$y = 381472x + 1439$	0,0017	0,0057	0,9994
Mn	$y = 63173x - 33,596$	0,0002	0,0007	0,9994
Mo	$y = 3475,6x - 5,3857$	0,0006	0,0019	0,9993
Ni	$y = 5121,1x - 4,011$	0,0011	0,0038	0,9994
Pb	$y = 995,99x + 9,5888$	0,0050	0,0168	0,9993
Se	$y = 357,79x - 3,0524$	0,0045	0,0149	0,9968
V	$y = 32973x - 18,426$	0,0010	0,0032	0,9995
Zn	$y = 10718x - 37,313$	0,0016	0,0052	0,9989

* y = intensidade; a = *slope*; x = concentração ($\mu\text{g/g}$); b = *intercept*.

Para validar e avaliar a precisão do ICP OES (SCIENTIFIC, 2007), foi realizado um ensaio de adição e recuperação de analitos (teste *Spike*), no qual foram adicionados 0,15 mL de cada elemento em 0,5 mL de uma amostra de colírio

lubrificante. Os resultados obtidos proporcionaram uma recuperação na faixa de 90,23 a 99,05% (Tabela 3) e estão dentro do intervalo de 80 a 120% estabelecido pela IUPAC (THOMPSON; ELLISON; WOOD, 2002).

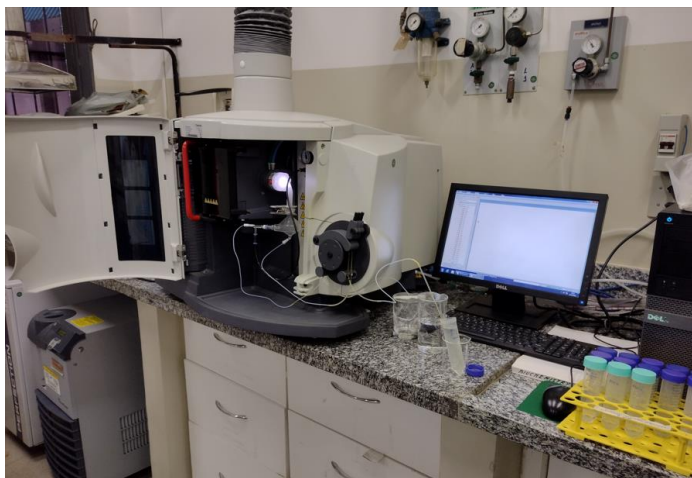
Tabela 3 - Teste de adição e recuperação (*Spike*).

Analito	<i>Spike</i> (%)
Al	91,37
As	90,86
Ba	95,38
Cd	96,12
Co	90,57
Cr	99,05
Cu	91,69
Fe	96,19
Mg	97,13
Mn	95,31
Mo	90,23
Ni	92,70
Pb	95,85
Se	97,10
V	91,12
Zn	98,17

4.5 Análise elementar usando ICP OES

A concentração do macroelemento (Mg) e dos microelementos (Al, As, Ba, Cd, Co, Cr, Cu, Fe, Mn Mo, Ni, Pb, Se, V e Zn) foi quantificada em 14 amostras representativas de colírios lubrificantes com conservantes (amostras 1-14) e 5 sem conservantes (amostras 15-19) pela técnica de ICP OES utilizando o equipamento *Thermo Fisher Scientific*, Bremen, Alemanha, modelo iCAP 6300 Duo e o *software Thermo Scientific iTEVA*, versão 2.8.0.96, disponibilizado pelo fabricante (Figura 7).

Figura 7 - Equipamento de ICP OES do Laboratório de Metabolismo Mineral e Biomateriais/FAMED/UFMS.



Fonte: Elaborado pelo autor.

Todas as análises foram realizadas em triplicata e os parâmetros instrumentais e operacionais para ICP OES são mostrados na Tabela 4.

Tabela 4 - Parâmetros instrumentais do ICP OES.

Parâmetros	Valores
Potência de RF	1250 W
Taxa de Bomba de Lavagem	0,45 L/min
Taxa de fluxo de gás de plasma	12 L/min
Tempo de integração	5 s
Tempo de estabilização	20 s
Pressão do nebulizador	20 psi
Visualização do plasma	axial
Analitos/comprimento de onda (nm)	Al (309,271); As (189,042); Ba (455,403); Cd (228,802); Co (228,616); Cr (283,563); Cu (324,754); Fe (259,940); Mg (279,553); Mn (257,610); Mo (202,030); Ni (221,647); Pb (220,353); Se (196,090); V (309,311); Zn (213,856)

4.6 Determinação da dose máxima diária de colírio lubrificante

A dose máxima diária de colírio lubrificante representa o volume de colírio que é instilado nos olhos diariamente considerando a frequência máxima informada na bula do medicamento.

Neste estudo, considerou que a dose máxima diária (mL/dia) de colírio lubrificante instilada nos olhos de uma pessoa adulta foi obtida pela multiplicação do volume de 2 gotas do colírio (equivalente a 1 gota em cada olho) pela frequência máxima de instilação diária, conforme equação 3. Para os casos que a bula do colírio não apresentava essa informação, adotou-se 5 vezes ao dia.

$$\text{Dose máxima diária} = \text{volume 2 gotas} \times \text{frequência máxima diária} \quad (3)$$

Onde, a Dose máxima diária (mL/dia) consiste no volume máximo diário de colírio lubrificante instilado nos olhos, volume 2 gotas (ml) equivale ao volume de 1 gota de colírio instilado em cada olho (2x) e frequência máxima diária (dia) consiste na quantidade máxima de instilação de colírio nos olhos em um dia.

4.7 Exposição diária a macro e microelementos pela instilação de colírio lubrificante

A exposição diária a macro e microelementos pela instilação de colírios lubrificantes equivale à quantidade (concentração) que cada elemento (Al, As, Ba, Cd, Co, Cr, Cu, Fe, Mg, Mn, Mo, Ni, Pb, Se, V e Zn) pode estar contida num colírio administrado diariamente e foi obtida multiplicando-se a concentração dos macro e microelementos quantificados nos colírios lubrificantes com conservantes e sem conservantes pela dose diária máxima da amostra (GERONIMO et al., 2021), conforme apresentado na equação 4.

$$\text{Exposição diária} = \text{concentração ICP OES} \times \text{dose máxima diária} \quad (4)$$

Onde, Exposição diária (µg/dia) representa a exposição ao elemento pela instilação diária de colírio lubrificante nos olhos, a concentração ICP OES é a concentração quantificada no ICP OES (µg/g) e a dose máxima diária (mL/dia) equivale a dose máxima diária do colírio instilada nos olhos. Convencionou-se que 1 g = 1 mL.

4.8 Estudo comparativo

Da mesma forma que os colírios (AGRAHARI et al., 2016; BACHU et al., 2018; DEL AMO; URTTI, 2008), os medicamentos administrados pela via parenteral também entram diretamente na circulação sistêmica e não estão sujeitos ao efeito de primeira

passagem ou trato gastrointestinal. Neste sentido, as subseções 4.8.1 e 4.8.2 apresentam os estudos comparativos realizados para concentrações e exposição aos elementos pela instilação diária de colírio nos olhos.

4.8.1 Concentrações permitidas de impurezas elementares em colírios lubrificantes

Como as IEs absorvidas pela via oftálmica não são consideradas nas farmacopeias e na diretriz ICH Q3D (R2) (ICH, 2022; SILVA, 2018; USP, 2017), em nosso estudo, as concentrações dos macro e microelementos quantificadas nas amostras de colírios lubrificantes foram comparadas com os valores das concentrações permitidas de IEs em medicamentos parenterais ($\mu\text{g/g}$) estabelecidos pela FB e diretriz ICH Q3D (R2).

4.8.2 PDE para impurezas elementares em medicamentos oftalmológicos

A PDE estabelece a quantidade máxima permitida que cada elemento pode estar em um medicamento administrado diariamente na via oral, inalatória e parenteral ($\mu\text{g}/\text{dia}$) (ICH, 2022; SILVA, 2018; USP, 2017). Da mesma forma que a concentração, não existem valores de referência para comparar a PDE na via oftálmica.

Portanto, em nosso estudo, a exposição diária às IEs, através da instilação de colírios lubrificantes nos olhos, foi comparada às PDEs para medicamentos parenterais definidos na diretriz ICH Q3D (R2). Além disso, esta orientação permite o uso de valores de PDEs administrados na via parenteral sem modificação (ICH, 2022; SANDERSON; WHITECOTTON, 2022; SILVA, 2018).

4.9 Análise estatística

A análise de variância de uma via (*One-Way ANOVA*) e o teste de comparação múltipla *post hoc* de Tukey foram utilizados para testar as diferenças significativas nas concentrações entre as marcas de colírios e as diferenças significativas nos valores de exposição diária via instilação de colírios lubrificantes com conservantes e sem conservantes. Todas as análises estatísticas foram realizadas utilizando o *software* estatístico GraphPad Prism 9.0 (San Diego, Califórnia, Estados Unidos) e o nível de significância foi estabelecido em $p < 0,05$.

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados e a discussão foram apresentados da seguinte forma: a subseção 5.1 apresenta as concentrações do macroelemento (Mg) e dos microelementos (Al, As, Ba, Cd, Co, Cr, Cu, Fe, Mn Mo, Ni, Pb, Se, V e Zn) quantificadas ($\mu\text{g/g}$) nas amostras de colírios lubrificantes; as doses máximas diárias de colírios lubrificantes instiladas nos olhos são apresentadas na subseção 5.2; os valores das exposições diárias aos elementos pela instilação de colírios lubrificantes são apresentados na subseção 5.3. Na subseção 5.4 é apresentado a comparação das concentrações detectadas com os valores de concentração permitida de impurezas elementares estabelecidos na via parenteral da FB (BRASIL, 2019) e diretriz ICH Q3D (R2) (ICH, 2022) e a comparação dos valores de exposição diária com os valores de PDE estabelecidos pela diretriz ICH Q3D (R2) para via parenteral.

5.1 Concentração de macro e microelementos em colírios lubrificantes

A concentração de Al nas amostras de colírio 2-11, 16, 17 e 19, Cr nas amostras 1-8,10, 12-18, Fe nas amostras 2, 4, 5, 7, 9-11, 14, 16, 17, Mg nas amostras 4, 6, 17, 18 e 19, Pb nas amostras 1, 3-7, 14-19 estão abaixo do limite de detecção (<LOD).

As concentrações de Al, As, Ba, Cd, Co, Cr, Cu, Fe, Mg, Mn, Mo, Ni, Pb, Se, V e Zn detectadas nos colírios lubrificantes diminuem na seguinte ordem:

Colírio 1 (com conservante): $\text{Mg} > \text{Zn} > \text{Se} > \text{Fe} > \text{As} > \text{Al} > \text{Cd} > \text{Ni} > \text{Mo} > \text{Ba} > \text{Co} > \text{Cu} > \text{V} > \text{Mn}$;

Colírio 2 (com conservante): $\text{Se} > \text{Mg} > \text{As} > \text{Zn} > \text{Ni} > \text{Cd} > \text{Mo} > \text{Pb} = \text{Co} > \text{Ba} > \text{V} > \text{Mn} > \text{Cu}$;

Colírio 3 (com conservante): $\text{Se} > \text{Mg} > \text{Fe} > \text{As} > \text{Z} > \text{Cd} > \text{Ba} > \text{Mo} > \text{Ni} > \text{Co} > \text{Cu} > \text{V} > \text{Mn}$;

Colírio 4 (com conservante): $\text{Se} > \text{As} > \text{Zn} > \text{Cd} > \text{Mo} > \text{Ni} > \text{Ba} > \text{Co} = \text{V} > \text{Cu} > \text{Mn}$;

Colírio 5 (com conservante): $\text{Mg} > \text{Co} > \text{Se} > \text{As} > \text{Cd} > \text{Zn} > \text{V} > \text{Mo} > \text{Ni} > \text{Ba} > \text{Mn} > \text{Cu}$;

Colírio 6 (com conservante): $\text{Se} > \text{As} > \text{Zn} > \text{Cd} > \text{Mo} > \text{Ni} > \text{Co} > \text{Fe} > \text{Ba} > \text{V} = \text{Cu} > \text{Mn}$;

Colírio 7 (com conservante): $\text{Mg} > \text{Se} > \text{As} > \text{Zn} > \text{Ni} = \text{Cd} > \text{Mo} > \text{V} > \text{Co} > \text{Ba} > \text{Mn} > \text{Cu}$;

Colírio 8 (com conservante): Mg > Se > Zn > As > Ni > Cd > Mo > Co > Ba > Pb > V > Cu > Mn > Fe;

Colírio 9 (com conservante): Mg > Se > As > V > Ni > Zn > Cd > Pb > Mo > Co > Ba > Cu > Mn > Cr;

Colírio 10 (com conservante): Mg > Se > Zn > As > Ni > Cd > Mo > Pb > Co > Ba > V > Mn > Cu;

Colírio 11 (com conservante): Mg > Zn > Se > As > Ni > Cd > Mo > Co > Ba > V > Pb > Mn > Cr > Cu;

Colírio 12 (com conservante): Mg > Al > Fe > Se > As > Ni > V > Zn = Cd > Mo > Co = Ba > Pb > Mn > Cu;

Colírio 13 (com conservante): Al > Fe > Se > Mg > Zn > As > Ni > Cd > V > Mo > Ba > Co > Pb > Mn > Cu;

Colírio 14 (com conservante): Se > Mg > As > Al > Cd > Ni = Zn > Mo > Ba > Co > Mn > V > Cu;

Colírio 15 (sem conservante): Se > Al > Fe > As > Cd > Co > Ni = Mo > Ba = Mg > Zn > V > Cu = Mn;

Colírio 16 (sem conservante): Se > As > Cd > Ni > Ba > Mo > Zn > Co > V > Mn > Cu;

Colírio 17 (sem conservante): Se > As > Ba > Cd > Mo = Ni > Zn > Cu > Co > V > Mn;

Colírio 18 (sem conservante): Al > Fe > Se > Mg > Cd > Zn > As > Ni > Co > V > Mo > Ba > Cu = Mn;

Colírio 19 (sem conservante): Se > Zn > As > Fe > Cd > Co > Ba = Ni > Mo > Cr > V > Mn > Cu.

Nas Tabelas 5 e 6 são apresentadas as concentrações de Al, As, Ba, Cd, Co, Cr, Cu, Fe, Mg, Mn, Mo, Ni, Pb, Se, V e Zn quantificadas ($\mu\text{g/g}$) nos colírios lubrificantes com conservantes e sem conservantes, respectivamente, sendo que as maiores concentrações foram obtidas para os elementos Mg, Al, Co e Se (Figura 8).

Tabela 5 - Concentração de macro e microelementos quantificadas nos colírios lubrificantes com conservantes (µg/g).

Elemento	Colírio 1	Colírio 2	Colírio 3	Colírio 4	Colírio 5	Colírio 6	Colírio 7
Al	0,090±0,020	< LOD	< LOD	< LOD	< LOD	< LOD	< LOD
As	0,091±0,006	0,169±0,009	0,077±0,017	0,088±0,005	0,079±0,007	0,072±0,008	0,108±0,011
Ba	0,027±0,003	0,024±0,001	0,042±0,001	0,021±0,001	0,021±0,001	0,021±0,001	0,024±0,002
Cd	0,049±0,001	0,051±0,002	0,051±0,002	0,046±0,001	0,047±0,002	0,048±0,0005	0,048±0,0005
Co	0,026±0,004	0,032±0,002	0,029±0,004	0,014±0,001	1,085±0,019	0,024±0,003	0,025±0,005
Cr	< LOD	< LOD	< LOD	< LOD	< LOD	< LOD	< LOD
Cu	0,015±0,001	0,012±0,001	0,021±0,002	0,008±0,001	0,004±0,002	0,011±0,014	0,007±0,002
Fe	0,167±0,009	< LOD	0,170±0,020	< LOD	< LOD	0,022±0,003	< LOD
Mg	0,315±0,008	0,272±0,01	0,194±0,01	< LOD	8,224±0,248	< LOD	5,346±0,162
Mn	0,013±0,002	0,012±0,001	0,009±0,001	0,007±0,001	0,006±0,001	0,008±0,001	0,008±0,001
Mo	0,033±0,002	0,043±0,002	0,032±0,002	0,026±0,001	0,028±0,003	0,029±0,001	0,033±0,002
Ni	0,040±0,003	0,060±0,005	0,030±0,004	0,023±0,002	0,026±0,003	0,028±0,002	0,048±0,002
Pb	< LOD	0,032±0,006	< LOD	< LOD	< LOD	< LOD	< LOD
Se	0,245±0,007	0,303±0,01	0,256±0,013	0,248±0,006	0,245±0,014	0,229±0,008	0,261±0,01
V	0,014±0,001	0,017±0,005	0,018±0,003	0,014. ± 0,005	0,029±0,003	0,011±0,004	0,026±0,007
Zn	0,246±0,004	0,087±0,003	0,066±0,002	0,052±0,001	0,037±0,002	0,059±0,003	0,065±0,001

Tabela 5 - Continuação.

Elemento	Colírio 8	Colírio 9	Colírio 10	Colírio 11	Colírio 12	Colírio 13	Colírio 14
Al	< LOD	< LOD	< LOD	< LOD	0,934±0,109	1,255±0,034	0,073±0,025
As	0,204±0,008	0,195±0,004	0,184±0,004	0,124±0,002	0,147±0,004	0,147±0,008	0,129±0,001
Ba	0,028±0,001	0,031±0,002	0,025±0,001	0,023±0,002	0,025±0,00	0,023±0,001	0,021±0,001
Cd	0,049±0,001	0,051±0,001	0,049±0,001	0,045±0,002	0,049±0,002	0,046±0,002	0,044±0,001
Co	0,031±0,002	0,037±0,002	0,029±0,003	0,026±0,007	0,025±0,005	0,019±0,002	0,013±0,001
Cr	< LOD	0,004±0,001	< LOD	0,004±0,001	< LOD	< LOD	< LOD
Cu	0,015±0,003	0,016±0,002	0,008±0,001	0,003±0,001	0,005±0,002	0,005±0,001	0,002±0,001
Fe	0,013±0,004	< LOD	< LOD	< LOD	0,31±0,022	0,427±0,026	< LOD
Mg	0,653±0,036	24,284±0,769	0,489±0,024	6,004±0,224	5,431±0,178	0,258±0,016	0,225±0,009
Mn	0,014±0,001	0,014±0,001	0,011±0,0003	0,008±0,001	0,01±0,0004	0,012±0,001	0,009±0,0003
Mo	0,043±0,001	0,046±0,001	0,044±0,002	0,035±0,002	0,037±0,001	0,033±0,001	0,03±0,002
Ni	0,071±0,002	0,065±0,001	0,067±0,003	0,047±0,002	0,056±0,004	0,052±0,004	0,034±0,001
Pb	0,019±0,003	0,049±0,011	0,037±0,012	0,009±0,001	0,013±0,006	0,015±0,0002	< LOD
Se	0,311±0,013	0,358±0,006	0,317±0,01	0,268±0,014	0,308±0,003	0,299±0,018	0,278±0,011
V	0,018±0,004	0,083±0,005	0,017±0,002	0,022±0,006	0,055±0,004	0,043±0,003	0,008±0,002
Zn	0,219±0,001	0,058±0,001	0,186±0,002	0,552±0,008	0,049±0,001	0,200±0,002	0,034±0,002

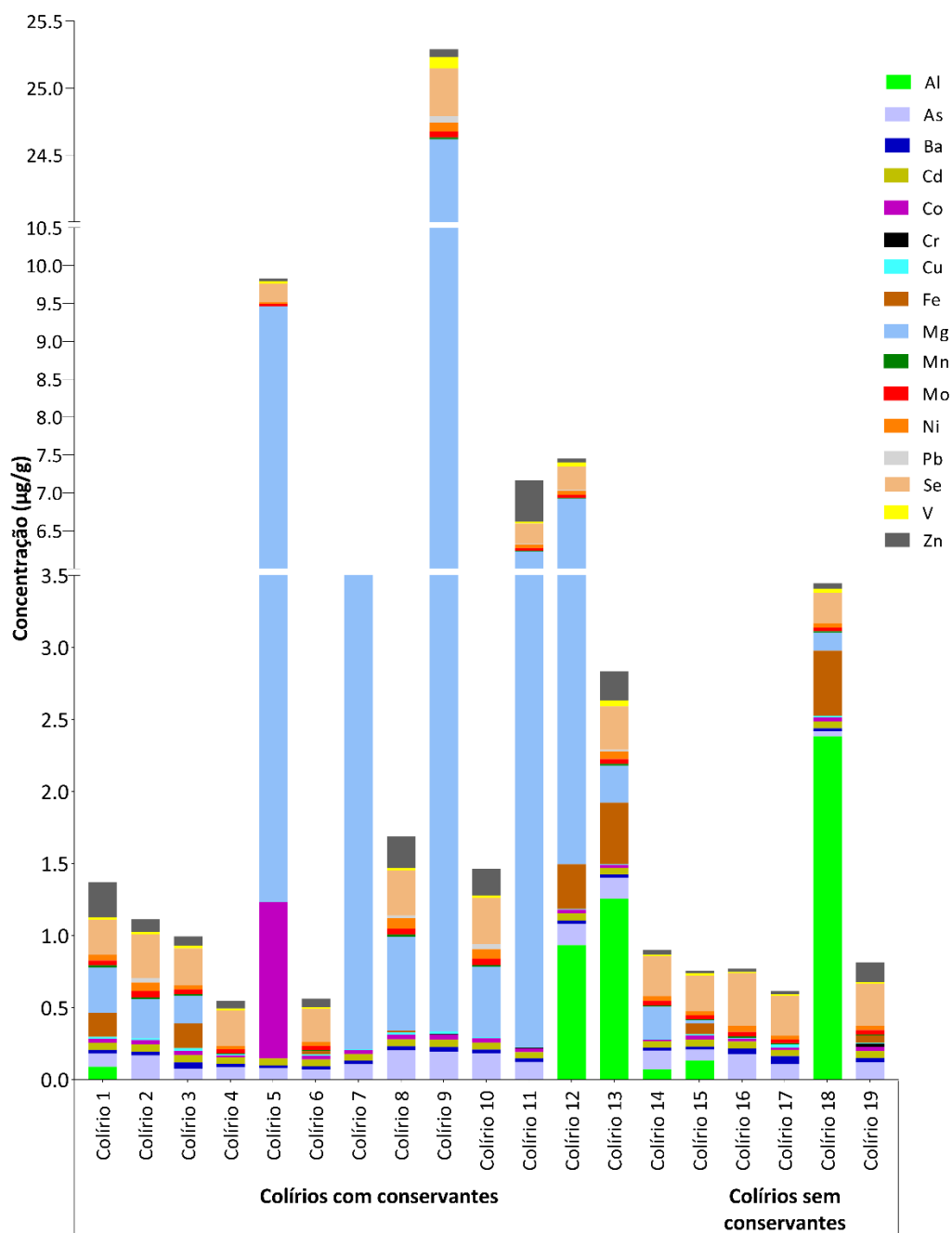
Notas: dados apresentados como média ± desvio padrão; < LOD - As concentrações do analito estavam abaixo dos limites de detecção.

Tabela 6 - Concentração de macro e microelementos quantificadas nos colírios lubrificantes sem conservantes (µg/g).

Elemento	Colírio 15	Colírio 16	Colírio 17	Colírio 18	Colírio 19
Al	0,134±0,039	< LOD	< LOD	2,382±0,219	< LOD
As	0,075±0,003	0,178±0,002	0,108±0,009	0,036±0,013	0,122±0,008
Ba	0,021±0,001	0,039±0,001	0,056±0,002	0,021±0,002	0,03±0,001
Cd	0,049±0,001	0,048±0,002	0,044±0,002	0,047±0,001	0,046±0,001
Co	0,028±0,003	0,021±0,003	0,015±0,004	0,028±0,009	0,031±0,002
Cr	< LOD	< LOD	< LOD	< LOD	0,020±0,003
Cu	0,008±0,003	0,006±0,003	0,023±0,006	0,011±0,009	0,006±0,002
Fe	0,076±0,005	< LOD	< LOD	0,453±0,032	0,051±0,011
Mg	0,021±0,007	< LOD	< LOD	0,124±0,014	< LOD
Mn	0,008±0,0004	0,007±0,001	0,007±0,001	0,011±0,001	0,008±0,001
Mo	0,027±0,002	0,032±0,002	0,026±0,001	0,025±0,002	0,029±0,001
Ni	0,027±0,003	0,043±0,004	0,026±0,004	0,031±0,003	0,03±0,002
Pb	< LOD	< LOD	< LOD	< LOD	< LOD
Se	0,250±0,004	0,365±0,01	0,277±0,011	0,211±0,009	0,295±0,001
V	0,014±0,004	0,009±0,004	0,011±0,008	0,026±0,007	0,011±0,003
Zn	0,019±0,002	0,022±0,002	0,024±0,001	0,039±0,002	0,136±0,003

Notas: dados apresentados como média ± desvio padrão; < LOD - As concentrações do analito estavam abaixo dos limites de detecção.

Figura 8 - Concentrações de macro e microelementos nos colírios lubrificantes.



Fonte: Elaborado pelo autor.

A Tabela A-1 do Apêndice 1 apresenta o resultado dos testes estatísticos utilizados considerando as concentrações quantificadas nas amostras de colírios com conservantes (Tabela 5) e sem conservantes (Tabela 6). De acordo com o teste *One-Way ANOVA*, há diferença estatística significativa nas médias de concentração dos elementos Al, As, Ba, Cd, Co, Cr, Cu, Fe, Mg, Mn, Mo, Ni, Pb, Se, V e Zn em todos os

colírios lubrificantes. Por meio do teste de Tukey foi possível identificar quais médias são diferentes das demais. Quando as letras são iguais na mesma linha, não há diferenças estatísticas. Por outro lado, quando as letras são diferentes, existe diferença estatística entre os valores ($p < 0,05$). Além disso, as comparações entre as concentrações dos colírios lubrificantes resultaram em $p < 0,0001$ para os elementos Al, As, Ba, Cd, Co, Cu, Fe, Mn, Mo, Ni, Pb, Se, V e Zn e $p = 0,0001$ para os elementos Cr e Mg.

5.2 Dose máxima diária de colírio lubrificante

A dose máxima diária (mL/dia) de colírio lubrificante instilada nos olhos de uma pessoa adulta apresentada na Tabela 7 foi calculada considerando as informações da bula para as 19 amostras representativas de colírios lubrificantes com conservantes (Tabela 5) e sem conservantes (Tabela 6). Observou-se que não há um padrão nos conta-gotas comerciais dos colírios lubrificantes analisados e o volume da gota variou de 0,033 a 0,061 mL. Além disso, os colírios 1 e 6-15 não informaram a frequência máxima diária de instilações nos olhos nas suas bulas.

Tabela 7 - Colírio lubrificante com conservante e sem conservante, volume de uma gota (mL), frequência máxima diária de instilações nos olhos e dose máxima diária (mL), conforme estabelecido na bula.

Colírio	Conservante	Volume: 1 gota (mL)	Frequência máxima diária	Dose máxima diária (2 olhos) (mL/dia)
1	sim	0,045	5 *	0,454
2	sim	0,051	4	0,408
3	sim	0,051	3	0,306
4	sim	0,040	5	0,400
5	sim	0,051	5	0,510
6	sim	0,045	5 *	0,454
7	sim	0,053	5 *	0,526
8	sim	0,049	5 *	0,490
9	sim	0,045	5 *	0,454
10	sim	0,059	5 *	0,589
11	sim	0,048	5 *	0,480
12	sim	0,061	5 *	0,610
13	sim	0,060	5 *	0,600
14	sim	0,051	5 *	0,510
15	não	0,049	5 *	0,490
16	não	0,033	3	0,200
17	não	0,033	3	0,200
18	não	0,042	4	0,333
19	não	0,033	3	0,200

* Na bula do colírio lubrificante não contém a frequência máxima diária de instilações nos olhos.

5.3 Valores da exposição diária a macro e microelementos pela instilação de colírios lubrificantes

A exposição diária obtida ($\mu\text{g}/\text{dia}$) pela instilação de colírios lubrificantes com conservantes e sem conservantes é apresentada nas Tabela 8 e 9, respectivamente. Ressalta-se que os valores elevados da exposição apresentados na Figura 9 são resultados das concentrações mais elevadas dos elementos Mg, Al, Co e Se.

Tabela 8 - Exposição diária pela instilação de colírios lubrificantes com conservantes ($\mu\text{g}/\text{dia}$).

Elemento	Colírio 1	Colírio 2	Colírio 3	Colírio 4	Colírio 5	Colírio 6	Colírio 7
Al	0,041	< LOD	< LOD	< LOD	< LOD	< LOD	< LOD
As	0,041	0,069	0,023	0,035	0,040	0,033	0,057
Ba	0,012	0,010	0,013	0,009	0,010	0,010	0,013
Cd	0,022	0,021	0,016	0,018	0,024	0,022	0,025
Co	0,012	0,013	0,009	0,006	0,554	0,011	0,013
Cr	< LOD	< LOD	< LOD	< LOD	< LOD	< LOD	< LOD
Cu	0,007	0,005	0,006	0,003	0,002	0,005	0,004
Fe	0,076	< LOD	0,052	< LOD	< LOD	0,010	< LOD
Mg	0,143	0,111	0,060	< LOD	4.194	< LOD	2.812
Mn	0,006	0,005	0,003	0,003	0,003	0,003	0,004
Mo	0,015	0,017	0,010	0,010	0,014	0,013	0,017
Ni	0,018	0,024	0,009	0,009	0,013	0,012	0,025
Pb	< LOD	0,013	< LOD	< LOD	< LOD	< LOD	< LOD
Se	0,111	0,124	0,078	0,099	0,125	0,104	0,137
V	0,007	0,007	0,005	0,006	0,015	0,005	0,014
Zn	0,111	0,036	0,020	0,021	0,019	0,027	0,034

Tabela 8 - Continuação.

Elemento	Colírio 8	Colírio 9	Colírio 10	Colírio 11	Colírio 12	Colírio 13	Colírio 14
Al	< LOD	< LOD	< LOD	< LOD	0,570	0,753	0,037
As	0,100	0,088	0,109	0,059	0,090	0,088	0,066
Ba	0,014	0,014	0,015	0,011	0,015	0,014	0,011
Cd	0,024	0,023	0,029	0,021	0,030	0,028	0,022
Co	0,015	0,017	0,017	0,013	0,015	0,011	0,007
Cr	< LOD	0,002	< LOD	0,002	< LOD	< LOD	< LOD
Cu	0,007	0,007	0,005	0,001	0,003	0,003	0,001
Fe	0,006	< LOD	< LOD	< LOD	0,189	0,256	< LOD
Mg	0,320	11,025	0,288	2,882	3,313	0,155	0,115
Mn	0,007	0,006	0,006	0,004	0,006	0,007	0,004
Mo	0,021	0,021	0,026	0,017	0,023	0,020	0,016
Ni	0,035	0,029	0,040	0,023	0,034	0,031	0,018
Pb	0,009	0,022	0,022	0,004	0,008	0,009	< LOD
Se	0,152	0,163	0,187	0,128	0,188	0,179	0,142
V	0,009	0,038	0,010	0,010	0,034	0,026	0,004
Zn	0,107	0,026	0,110	0,265	0,030	0,120	0,018

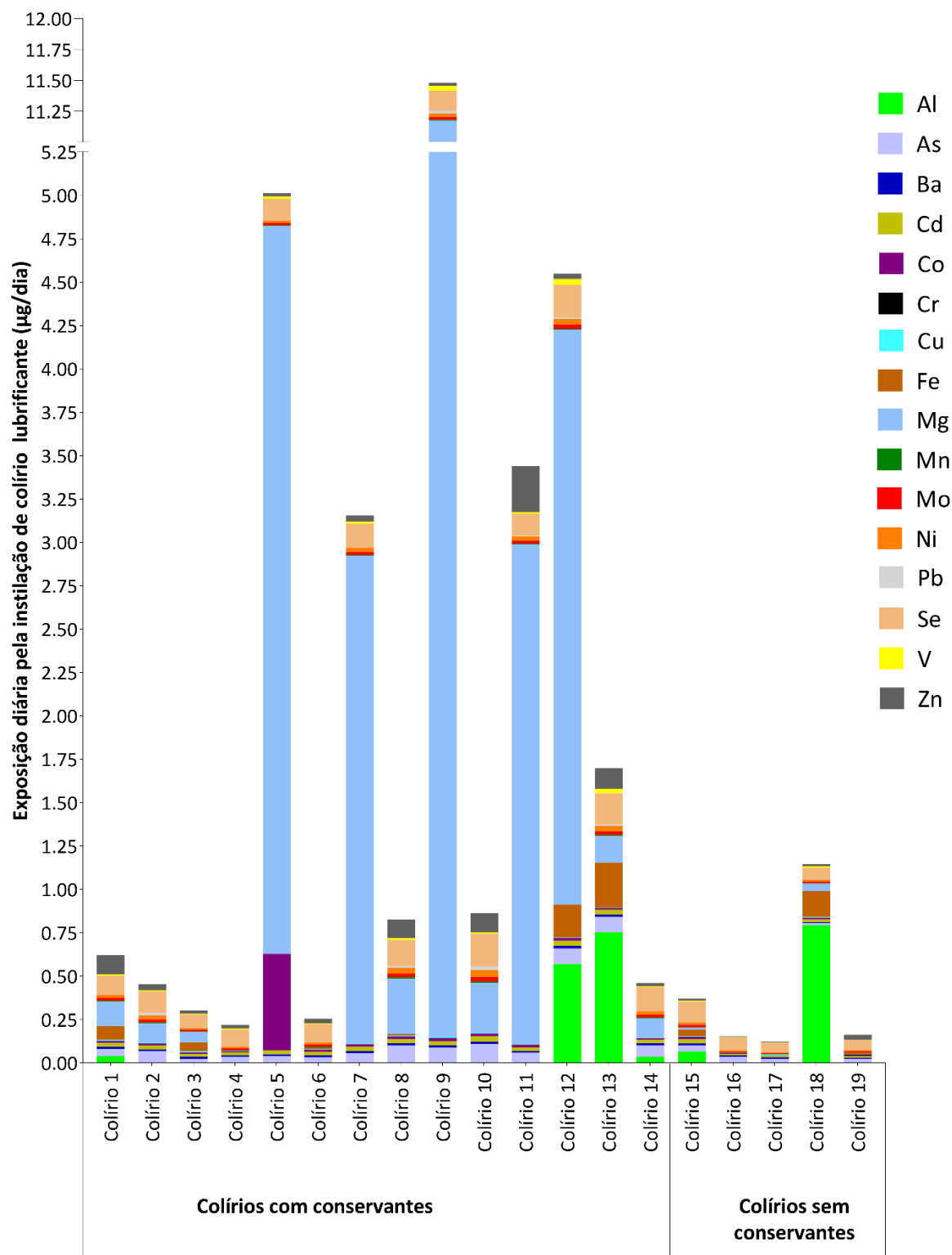
Notas: dados apresentados como média; < LOD - As concentrações do analito estavam abaixo dos limites de detecção.

Tabela 9 - Exposição diária pela instilação de colírios lubrificantes sem conservantes (µg/dia).

Elemento	Colírio 15	Colírio 16	Colírio 17	Colírio 18	Colírio 19
Al	0,066	< LOD	< LOD	0,793	< LOD
As	0,037	0,036	0,022	0,012	0,024
Ba	0,010	0,008	0,011	0,007	0,006
Cd	0,024	0,009	0,009	0,016	0,009
Co	0,014	0,004	0,003	0,009	0,006
Cr	< LOD	< LOD	< LOD	< LOD	0,004
Cu	0,004	0,001	0,005	0,004	0,001
Fe	0,037	< LOD	< LOD	0,151	0,010
Mg	0,010	< LOD	< LOD	0,041	< LOD
Mn	0,004	0,001	0,001	0,004	0,002
Mo	0,013	0,006	0,005	0,008	0,006
Ni	0,013	0,009	0,005	0,010	0,006
Pb	< LOD	< LOD	< LOD	< LOD	< LOD
Se	0,122	0,073	0,055	0,070	0,059
V	0,007	0,002	0,002	0,009	0,002
Zn	0,009	0,004	0,005	0,013	0,027

Notas: dados apresentados como média; < LOD - As concentrações do analito estavam abaixo dos limites de detecção.

Figura 9 - Exposição diária a macro e micro elementos pela instilação de colírios lubrificantes.



Fonte: Elaborado pelo autor.

Na Tabela A-2 do Apêndice 1 são apresentados os resultados dos testes estatísticos da exposição diária pela instilação de colírios lubrificantes. O teste

estatístico *One-Way* ANOVA mostrou que existem diferenças significativas nos valores médios de exposição diária a macro e microelementos entre as amostras de colírios lubrificantes ($p < 0,05$) e o teste de Tukey permitiu identificar quais valores diferem um dos outros, sendo que as letras diferentes na mesma linha representam as diferenças estatísticas entre as amostras ($p < 0,05$). Os valores de p referente as comparações das exposições diárias calculadas são: $p < 0,0001$ para os elementos Al, As, Ba, Cd, Co, Fe, Mg, Mn, Mo, Ni, Se, V e Zn, $p = 0,0062$ para o Cr, $p = 0,0002$ para o Fe e $p = 0,0001$ para o Pb.

5.4 Estudo comparativo

Com base na literatura publicada, estima-se que a biodisponibilidade intraocular de medicamentos oculares tópicos é inferior a 5% (BACHU et al., 2018; CHOLKAR et al., 2013; DAVIES, 2000; JÄRVINEN; JÄRVINEN; URTTI, 1995; KARASULU, 2008; KIM et al., 2014; KOMPELLA; KADAM; LEE, 2010; PATEL et al., 2013) e depende do volume da gota (KEISTER et al., 1991).

Cerca de 50-100% da dose instilada de colírio nos olhos pode atingir a circulação sistêmica, principalmente pela conjuntiva e ducto nasolacrimal, e causar efeitos colaterais graves (AGRAHARI et al., 2016; DEL AMO, 2022; JÄRVINEN; JÄRVINEN; URTTI, 1995).

Diante da ausência de limites de concentração e exposição diária permitida para via oftálmica adotou-se a via parenteral porque a maioria da absorção dos colírios ocorre semelhante aos medicamentos administrados na via parenteral (AGRAHARI et al., 2016; BACHU et al., 2018; DEL AMO; URTTI, 2008).

Neste sentido, a Tabela 10 mostra as concentrações de Al, As, Ba, Cd, Co, Cr, Cu, Fe, Mg, Mn, Mo, Ni, Pb, Se, V e Zn quantificadas nos colírios lubrificantes com conservantes e sem conservantes em comparação com as concentrações permitidas de impurezas elementares estabelecidas pela FB (BRASIL, 2019) e diretriz ICH Q3D (R2) para administração parenteral (ICH, 2022).

Na Tabela 11 é apresentada a comparação dos valores de exposição diária pela instilação de colírios lubrificantes com os valores de PDE para IEs definidos na diretriz ICH Q3D (R2) para via parenteral.

Tabela 10 - Concentração de macro e microelementos quantificadas nos colírios lubrificantes em comparação com a concentração permitida de IEs estabelecida pela FB (BRASIL, 2019) e diretriz ICH Q3D (R2) para administração parenteral (ICH, 2022).

Elemento	Colírio 1* (µg/g)	Colírio 2* (µg/g)	Colírio 3* (µg/g)	Colírio 4* (µg/g)	Colírio 5* (µg/g)	Colírio 6* (µg/g)	Colírio 7* (µg/g)	FB (µg/g)	ICH Q3D (R2) (µg/g)
Al	0,090±0,020	< LOD	< LOD	< LOD	< LOD	< LOD	< LOD	NA	NA
As	0,091±0,006	0,169±0,009	0,077±0,017	0,088±0,005	0,079±0,007	0,072±0,008	0,108±0,011	0,15	1,5
Ba	0,027±0,003	0,024±0,001	0,042±0,001	0,021±0,001	0,021±0,001	0,021±0,001	0,024±0,002	NA	70
Cd	0,049±0,001	0,051±0,002	0,051±0,002	0,046±0,001	0,047±0,002	0,048±0,0005	0,048±0,0005	0,05	0,2
Co	0,026±0,004	0,032±0,002	0,029±0,004	0,014±0,001	1,085±0,019	0,024±0,003	0,025±0,005	NA	0,5
Cr	< LOD	< LOD	< LOD	< LOD	< LOD	< LOD	< LOD	2,5	110
Cu	0,015±0,001	0,012±0,001	0,021±0,002	0,008±0,001	0,004±0,002	0,011±0,014	0,007±0,002	25	30
Fe	0,167±0,009	< LOD	0,170±0,020	< LOD	< LOD	0,022±0,003	< LOD	NA	NA
Mg	0,315±0,008	0,272±0,01	0,194±0,01	< LOD	8,224±0,248	< LOD	5,346±0,162	NA	NA
Mn	0,013±0,002	0,012±0,001	0,009±0,001	0,007±0,001	0,006±0,001	0,008±0,001	0,008±0,001	25	NA
Mo	0,033±0,002	0,043±0,002	0,032±0,002	0,026±0,001	0,028±0,003	0,029±0,001	0,033±0,002	2,5	150
Ni	0,040±0,003	0,060±0,005	0,030±0,004	0,023±0,002	0,026±0,003	0,028±0,002	0,048±0,002	2,5	2
Pb	< LOD	0,032±0,006	< LOD	< LOD	< LOD	< LOD	< LOD	0,1	0,5
Se	0,245±0,007	0,303±0,01	0,256±0,013	0,248±0,006	0,245±0,014	0,229±0,008	0,261±0,01	NA	8
V	0,014±0,001	0,017±0,005	0,018±0,003	0,014 ± 0,005	0,029±0,003	0,011±0,004	0,026±0,007	2,5	1
Zn	0,246±0,004	0,087±0,003	0,066±0,002	0,052±0,001	0,037±0,002	0,059±0,003	0,065±0,001	NA	NA

Tabela 10 - Continuação.

Elemento	Colírio 8*	Colírio 9*	Colírio 10*	Colírio 11*	Colírio 12*	Colírio 13*	FB	ICH Q3D (R2)
	(µg/g)	(µg/g)	(µg/g)	(µg/g)	(µg/g)	(µg/g)	(µg/g)	(µg/g)
Al	< LOD	< LOD	< LOD	< LOD	0,934±0,109	1,255±0,034	NA	NA
As	0,204±0,008	0,195±0,004	0,184±0,004	0,124±0,002	0,147±0,004	0,147±0,008	0,15	1,5
Ba	0,028±0,001	0,031±0,002	0,025±0,001	0,023±0,002	0,025±0,00	0,023±0,001	NA	70
Cd	0,049±0,001	0,051±0,001	0,049±0,001	0,045±0,002	0,049±0,002	0,046±0,002	0,05	0,2
Co	0,031±0,002	0,037±0,002	0,029±0,003	0,026±0,007	0,025±0,005	0,019±0,002	NA	0,5
Cr	< LOD	0,004±0,001	< LOD	0,004±0,001	< LOD	< LOD	2,5	110
Cu	0,015±0,003	0,016±0,002	0,008±0,001	0,003±0,001	0,005±0,002	0,005±0,001	25	30
Fe	0,013±0,004	< LOD	< LOD	< LOD	0,31±0,022	0,427±0,026	NA	NA
Mg	0,653±0,036	24,284±0,769	0,489±0,024	6,004±0,224	5,431±0,178	0,258±0,016	NA	NA
Mn	0,014±0,001	0,014±0,001	0,011±0,0003	0,008±0,001	0,01±0,0004	0,012±0,001	25	NA
Mo	0,043±0,001	0,046±0,001	0,044±0,002	0,035±0,002	0,037±0,001	0,033±0,001	2,5	150
Ni	0,071±0,002	0,065±0,001	0,067±0,003	0,047±0,002	0,056±0,004	0,052±0,004	2,5	2
Pb	0,019±0,003	0,049±0,011	0,037±0,012	0,009±0,001	0,013±0,006	0,015±0,0002	0,1	0,5
Se	0,311±0,013	0,358±0,006	0,317±0,01	0,268±0,014	0,308±0,003	0,299±0,018	NA	8
V	0,018±0,004	0,083±0,005	0,017±0,002	0,022±0,006	0,055±0,004	0,043±0,003	2,5	1
Zn	0,219±0,001	0,058±0,001	0,186±0,002	0,552±0,008	0,049±0,001	0,200±0,002	NA	NA

Tabela 10 - Continuação.

Elemento	Colírio 14*	Colírio 15**	Colírio 16**	Colírio 17**	Colírio 18**	Colírio 19**	FB	ICH Q3D (R2)
	(µg/g)	(µg/g)	(µg/g)	(µg/g)	(µg/g)	(µg/g)	(µg/g)	(µg/g)
Al	0,073±0,025	0,134±0,039	< LOD	< LOD	2,382±0,219	< LOD	NA	NA
As	0,129±0,001	0,075±0,003	0,178±0,002	0,108±0,009	0,036±0,013	0,122±0,008	0,15	1,5
Ba	0,021±0,001	0,021±0,001	0,039±0,001	0,056±0,002	0,021±0,002	0,03±0,001	NA	70
Cd	0,044±0,001	0,049±0,001	0,048±0,002	0,044±0,002	0,047±0,001	0,046±0,001	0,05	0,2
Co	0,013±0,001	0,028±0,003	0,021±0,003	0,015±0,004	0,028±0,009	0,031±0,002	NA	0,5
Cr	< LOD	< LOD	< LOD	< LOD	< LOD	0,020±0,003	2,5	110
Cu	0,002±0,001	0,008±0,003	0,006±0,003	0,023±0,006	0,011±0,009	0,006±0,002	25	30
Fe	< LOD	0,076±0,005	< LOD	< LOD	0,453±0,032	0,051±0,011	NA	NA
Mg	0,225±0,009	0,021±0,007	< LOD	< LOD	0,124±0,014	< LOD	NA	NA
Mn	0,009±0,0003	0,008±0,0004	0,007±0,001	0,007±0,001	0,011±0,001	0,008±0,001	25	NA
Mo	0,03±0,002	0,027±0,002	0,032±0,002	0,026±0,001	0,025±0,002	0,029±0,001	2,5	150
Ni	0,034±0,001	0,027±0,003	0,043±0,004	0,026±0,004	0,031±0,003	0,03±0,002	2,5	2
Pb	< LOD	< LOD	< LOD	< LOD	< LOD	< LOD	0,1	0,5
Se	0,278±0,011	0,250±0,004	0,365±0,01	0,277±0,011	0,211±0,009	0,295±0,001	NA	8
V	0,008±0,002	0,014±0,004	0,009±0,004	0,011±0,008	0,026±0,007	0,011±0,003	2,5	1
Zn	0,034±0,002	0,019±0,002	0,022±0,002	0,024±0,001	0,039±0,002	0,136±0,003	NA	NA

Notas: dados apresentados como média ± desvio padrão; *com conservante; ** sem conservante; < LOD - As concentrações do analito estavam abaixo dos limites de detecção; NA - Não aplicável.

Concentração próxima ao limite da FB

Concentração acima do limite da FB

Concentração acima do limite da diretriz ICH Q3D (R2)

Tabela 11 - Exposição diária pela instilação de colírios lubrificantes comparada com os valores de PDE estabelecidos na diretriz ICH Q3D (R2) para via parenteral (ICH, 2022).

Elemento	Colírio 1* (µg/dia)	Colírio 2* (µg/dia)	Colírio 3* (µg/dia)	Colírio 4* (µg/dia)	Colírio 5* (µg/dia)	Colírio 6* (µg/dia)	PDE da diretriz ICH Q3D (R2) para via parenteral (µg/dia)
Al	0,041	< LOD	< LOD	< LOD	< LOD	< LOD	NA
As	0,041	0,069	0,023	0,035	0,040	0,033	15
Ba	0,012	0,010	0,013	0,009	0,010	0,010	700
Cd	0,022	0,021	0,016	0,018	0,024	0,022	2
Co	0,012	0,013	0,009	0,006	0,554	0,011	5
Cr	< LOD	< LOD	< LOD	< LOD	< LOD	< LOD	1100
Cu	0,007	0,005	0,006	0,003	0,002	0,005	300
Fe	0,076	< LOD	0,052	< LOD	< LOD	0,010	NA
Mg	0,143	0,111	0,060	< LOD	4.194	< LOD	NA
Mn	0,006	0,005	0,003	0,003	0,003	0,003	NA
Mo	0,015	0,017	0,010	0,010	0,014	0,013	1500
Ni	0,018	0,024	0,009	0,009	0,013	0,012	20
Pb	< LOD	0,013	< LOD	< LOD	< LOD	< LOD	5
Se	0,111	0,124	0,078	0,099	0,125	0,104	80
V	0,007	0,007	0,005	0,006	0,015	0,005	10
Zn	0,111	0,036	0,020	0,021	0,019	0,027	NA

Tabela 11 - Continuação.

Elemento	Colírio 7* (µg/dia)	Colírio 8* (µg/dia)	Colírio 9* (µg/dia)	Colírio 10* (µg/dia)	Colírio 11* (µg/dia)	Colírio 12* (µg/dia)	PDE da diretriz ICH Q3D (R2) para via parenteral (µg/dia)
Al	< LOD	< LOD	< LOD	< LOD	< LOD	0,570	NA
As	0,057	0,100	0,088	0,109	0,059	0,090	15
Ba	0,013	0,014	0,014	0,015	0,011	0,015	700
Cd	0,025	0,024	0,023	0,029	0,021	0,030	2
Co	0,013	0,015	0,017	0,017	0,013	0,015	5
Cr	< LOD	< LOD	0,002	< LOD	0,002	< LOD	1100
Cu	0,004	0,007	0,007	0,005	0,001	0,003	300
Fe	< LOD	0,006	< LOD	< LOD	< LOD	0,189	NA
Mg	2.812	0,320	11.025	0,288	2.882	3.313	NA
Mn	0,004	0,007	0,006	0,006	0,004	0,006	NA
Mo	0,017	0,021	0,021	0,026	0,017	0,023	1500
Ni	0,025	0,035	0,029	0,040	0,023	0,034	20
Pb	< LOD	0,009	0,022	0,022	0,004	0,008	5
Se	0,137	0,152	0,163	0,187	0,128	0,188	80
V	0,014	0,009	0,038	0,010	0,010	0,034	10
Zn	0,034	0,107	0,026	0,110	0,265	0,030	NA

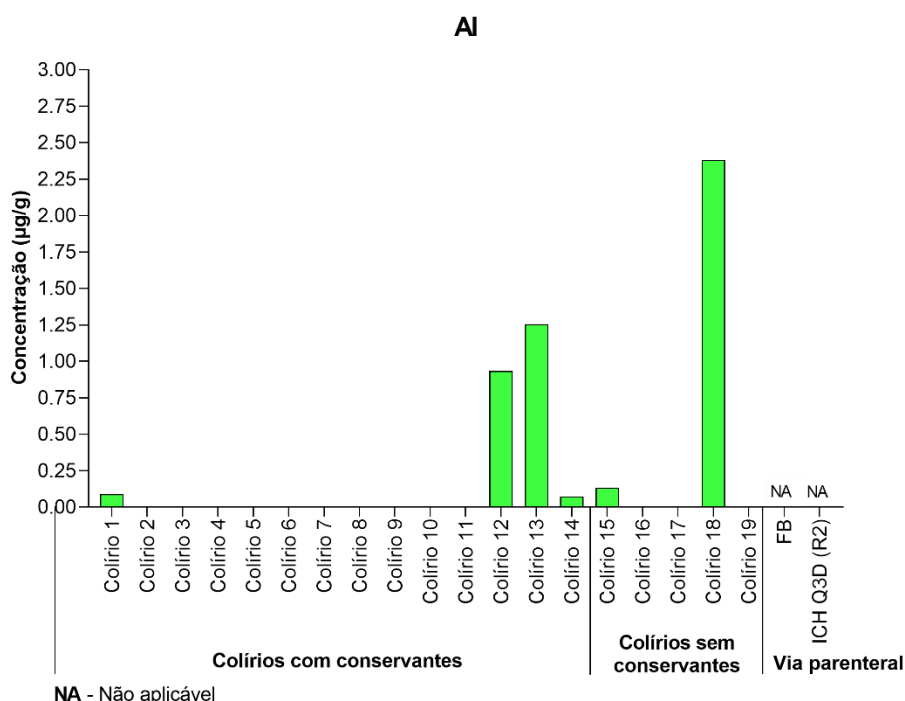
Tabela 11 - Continuação.

Elemento	Colírio 13*	Colírio 14*	Colírio 15**	Colírio 16**	Colírio 17**	Colírio 18**	Colírio 19 **	PDE da diretriz ICH Q3D (R2) para via parenteral (µg/dia)
	(µg/dia)	(µg/dia)	(µg/dia)	(µg/dia)	(µg/dia)	(µg/dia)	(µg/ dia)	
Al	0,753	0,037	0,066	< LOD	< LOD	0,793	< LOD	NA
As	0,088	0,066	0,037	0,036	0,022	0,012	0,024	15
Ba	0,014	0,011	0,010	0,008	0,011	0,007	0,006	700
Cd	0,028	0,022	0,024	0,009	0,009	0,016	0,009	2
Co	0,011	0,007	0,014	0,004	0,003	0,009	0,006	5
Cr	< LOD	< LOD	< LOD	< LOD	< LOD	< LOD	0,004	1100
Cu	0,003	0,001	0,004	0,001	0,005	0,004	0,001	300
Fe	0,256	< LOD	0,037	< LOD	< LOD	0,151	0,010	NA
Mg	0,155	0,115	0,010	< LOD	< LOD	0,041	< LOD	NA
Mn	0,007	0,004	0,004	0,001	0,001	0,004	0,002	NA
Mo	0,020	0,016	0,013	0,006	0,005	0,008	0,006	1500
Ni	0,031	0,018	0,013	0,009	0,005	0,010	0,006	20
Pb	0,009	< LOD	< LOD	< LOD	< LOD	< LOD	< LOD	5
Se	0,179	0,142	0,122	0,073	0,055	0,070	0,059	80
V	0,026	0,004	0,007	0,002	0,002	0,009	0,002	10
Zn	0,120	0,018	0,009	0,004	0,005	0,013	0,027	NA

Notas: dados apresentados como média; *com conservante; ** sem conservante; < LOD - As concentrações do analito estavam abaixo dos limites de detecção; NA - Não aplicável.

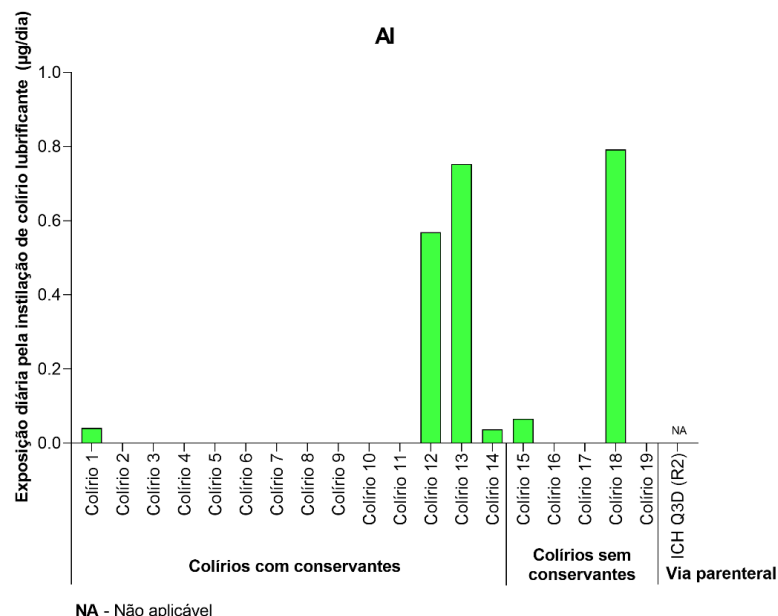
Conforme apresentado na Tabela 10, o teor de Al variou de 0,073 µg/g a 2,382 µg/g. O Al foi detectado nos colírios com conservantes 1, 12, 13 e 14 e nos colírios sem conservantes 15 e 18 (Figura 10), mas não existem valores concentração permitida de Al na FB e diretriz ICH Q3D (R2) para via parenteral. Por outro lado, a exposição ao Al pela instilação diária de colírio lubrificante variou de 0,037 µg/dia (colírio com conservante 14) a 0,793 µg/dia (colírio sem conservante 18) (Figura 11), mas não há valores de PDE para IEs na diretriz ICH Q3D (R2) para via parenteral. Entretanto, a exposição a concentrações altas de Al pode causar doenças em humanos, dentre elas destacamos a catarata (DOLAR-SZCZASNY et al., 2019). Em estudos envolvendo animais, a aplicação intraperitoneal diária de 0,3 ml de cloreto de alumínio a 4% durante 16 semanas causou toxicidade retiniana, com consequente afinamento do EPR e perda de segmentos externos dos fotorreceptores (LU; GONG; AMEMIYA, 2002).

Figura 10 - Concentração de Al quantificada nos colírios lubrificantes comparada com a FB e diretriz ICH Q3D (R2) para via parenteral.



Fonte: Elaborado pelo autor.

Figura 11 - Exposição diária ao Al pela instilação de colírio lubrificante comparada com a diretriz ICH Q3D (R2) para via parenteral.



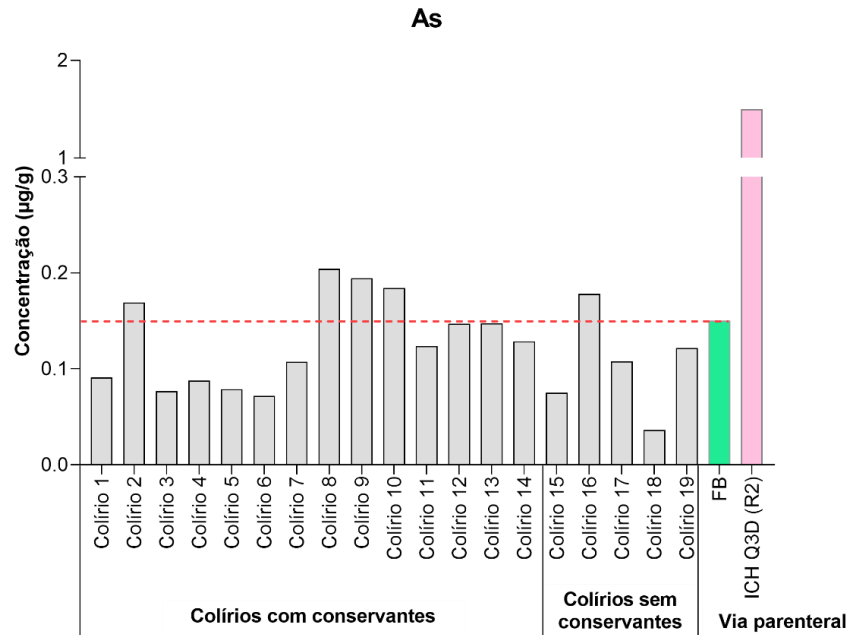
Fonte: Elaborado pelo autor.

A concentração de As nos colírios variou de 0,036 µg/g a 0,204 µg/g (Tabela 10). Nos colírios 12 (0,147 µg/g) e 13 (0,147 µg/g), ambos com conservantes, os valores de concentração de As estão próximos aos valores de concentrações permitidas de IEs estabelecidas pela FB para via parenteral (0,15 µg/g), enquanto as concentrações nos colírios com conservantes 2 (0,169 µg/g), 8 (0,204 µg/g), 9 (0,195 µg/g) e 10 (0,184 µg/g) e colírio sem conservante 16 (0,178 µg/g) g estão acima do valor definido na FB para administração parenteral. Além disso, todos os colírios apresentaram concentrações de As abaixo do limite estabelecido pela diretriz ICH Q3D (R2) para esse elemento na via parenteral (1,5 µg/g) (Figura 12). Ressalta-se também que as concentrações de As quantificadas nos colírios possuem valores maiores que os resultados encontrados nos estudos que associam esse elemento a DMRI no EPR, na coroide, na retina (ABERAMI et al., 2019) e a perda de acuidade visual central de forma progressiva (FREUND et al., 2020).

Conforme apresentado na Figura 13, o colírio sem conservante 18 (0,012 µg/dia) e o colírio com conservante 10 (0,109 µg/dia) apresentaram os menores e maiores valores de exposição diária ao As pela instilação de colírio nos olhos. Os valores de exposição ao As em todas as amostras de colírios ficaram abaixo dos limites de PDE estabelecidos pela diretriz ICH Q3D (R2) (15 µg/dia). Apesar do valor da exposição diária ao As pela instilação de colírios lubrificantes estar abaixo do valor

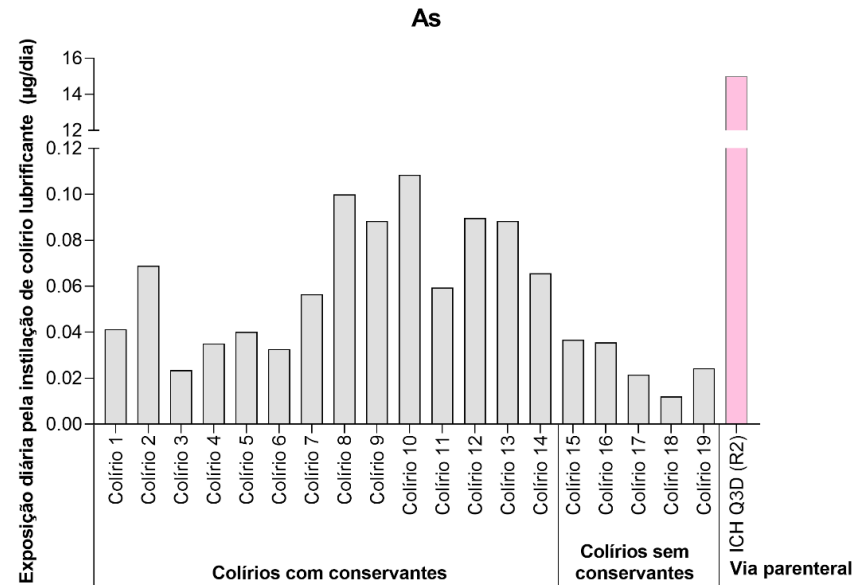
estabelecido pela diretriz ICH Q3D (R2) na via parenteral, o As é um elemento tóxico, carcinogênico e existem estudos que associaram sua presença no organismo ao desenvolvimento de doenças oculares (ABERAMI et al., 2019; BAIDYA et al., 2006; FREUND et al., 2020).

Figura 12 - Concentração de As quantificada nos colírios lubrificantes comparada com a FB e diretriz ICH Q3D (R2) para via parenteral.



Fonte: Elaborado pelo autor.

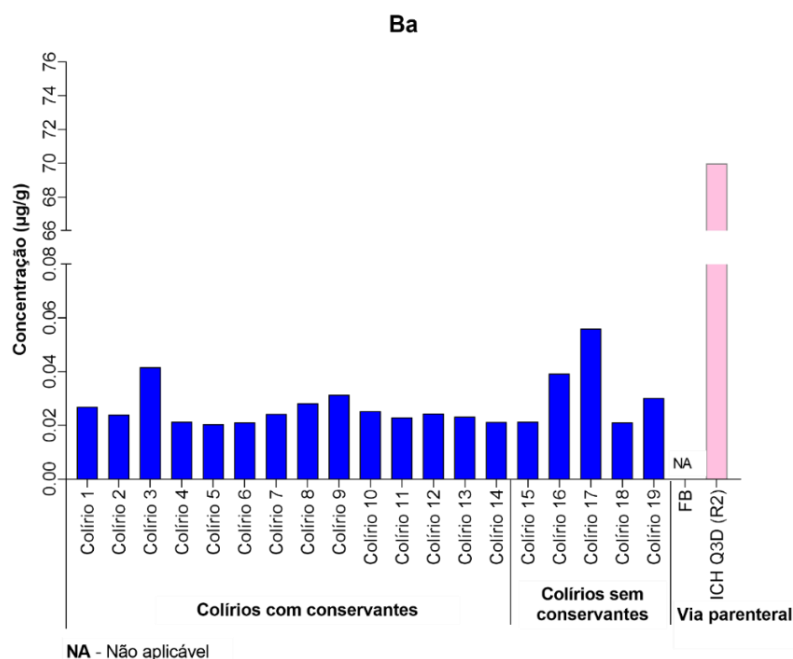
Figura 13 - Exposição diária ao As pela instilação de colírio lubrificante comparada com a diretriz ICH Q3D (R2) para via parenteral.



Fonte: Elaborado pelo autor.

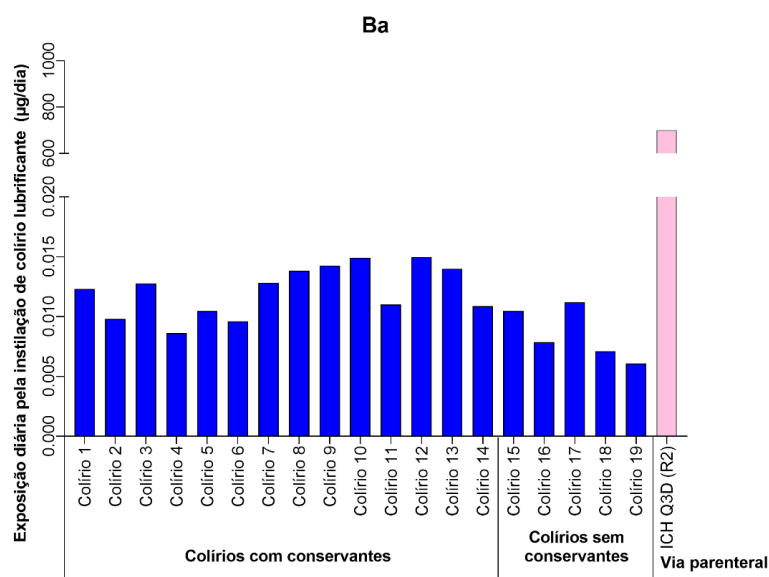
Na Tabela 10, o teor de Ba nos colírios variou de 0,021 $\mu\text{g/g}$ (colírios com conservantes 4, 5, 6 e 14 e sem conservante 18) a 0,056 $\mu\text{g/g}$ (colírio sem conservante 17), mas não há valores de Ba para IEs na FB para administração parenteral. No entanto, todas as amostras apresentaram concentrações de Ba nos colírios abaixo dos valores permitidos pela diretriz ICH Q3D (R2) para via parenteral (70 $\mu\text{g/g}$) (Figura 14). De acordo com a Tabela 11, a exposição ao Ba causada pela instilação diária de colírio lubrificante variou de 0,006 $\mu\text{g/dia}$ (colírio sem conservante 19) a 0,015 $\mu\text{g/dia}$ (colírios com conservantes 10 e 12) (Figura 15). Além disso, esses valores estão abaixo da PDE (700 $\mu\text{g/dia}$) estabelecida pela diretriz ICH Q3D (R2) para via parenteral. Entretanto, mesmo em baixas concentrações, o Ba é tóxico e pode causar riscos à saúde humana. Se ingerido entre 1 e 15 g pode ser fatal. O contato com os olhos causa irritação, vermelhidão e dor (KHOKHAR et al., 2011). Há relatos de perdas visuais após contato com óxido de bário (NEW JERSEY DEPARTAMENT, 2002) e de um caso de síndrome tóxica do segmento anterior no olho de uma mulher que ocorreu após cirurgia de implante de glaucoma de Baerveldt (BGI), induzida pela dissolução do bário do BGI e à sua entrada no olho (MATSUSHITA et al., 2021). Em coelhos, aplicações tópicas e oculares de nitrato de bário e óxido de bário durante 24 horas causaram irritação leve na pele e irritação ocular grave (LEWIS; SWEET, 1985).

Figura 14 - Concentração de Ba quantificada nos colírios lubrificantes comparada com a FB e diretriz ICH Q3D (R2) para via parenteral.



Fonte: Elaborado pelo autor.

Figura 15 - Exposição diária ao Ba pela instilação de colírio lubrificante comparada com a diretriz ICH Q3D (R2) para via parenteral.

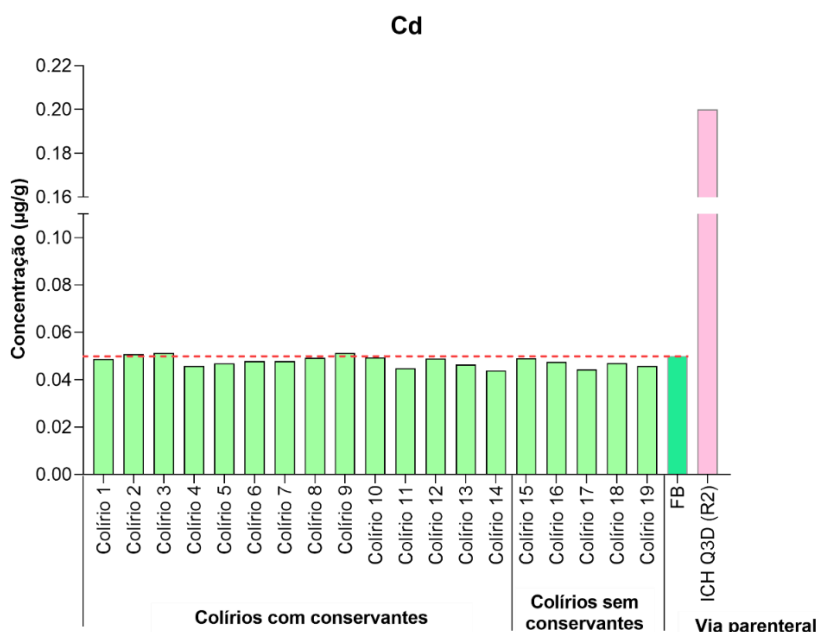


Fonte: Elaborado pelo autor.

A concentração de Cd nos colírios variou de 0,044 µg/g (colírio com conservante 14 e sem conservante 17) a 0,051 µg (colírios com conservantes 3 e 9) (Tabela 10). A concentração de Cd nos colírios com conservantes 1 (0,049 µg/g), 6 (0,048 µg/g), 7 (0,048 µg/g), 8 (0,049 µg/g), 10 (0,049 µg/g) e 12 (0,049 µg /g) e nos colírios sem conservantes 15 (0,049 µg/g) e 16 (0,048 µg/g) estão próximas aos valores de concentração de IEs permitidos na FB para via parenteral (0,05 µg/g), enquanto as concentrações nos colírios com conservantes 2, 3 e 9 (0,051 µg/g) estão acima do valor permitido para IEs na FB para via parenteral (Figura 16). Ressalta-se que os colírios com conservantes 2 e 9 também apresentaram concentrações de As acima da FB para via parenteral. Em relação a diretriz ICH Q3D (R2), todas as amostras apresentaram concentrações de Cd abaixo do valor de concentração permitido para via parenteral (0,2 µg/g). Por fim, as concentrações de Cd detectadas foram maiores que os valores dos estudos envolvendo pessoas com diagnóstico de DED, por meio de exames de sangue (0,00096 µg/g) (CHOI et al., 2020) e urina (0,00108 µg/g) (LIOU et al., 2022); e estudos que associaram a presença de metais pesados a DMRI, no sangue (0,019 µg/g) (PARK et al., 2015) e no humor aquoso (0,0281 µg/g) (JÜNEMANN et al., 2013), e glaucoma em homens (0,011 µg/g) e adolescentes (0,0112 µg/g) (LEE et al., 2016).

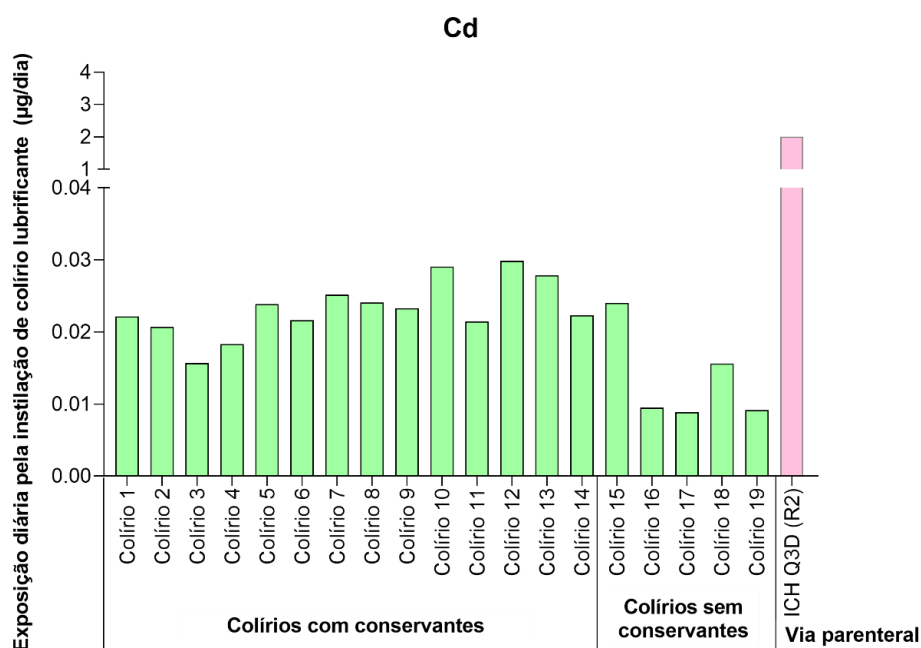
Em relação a exposição diária ao Cd, variou de 0,009 µg/dia (colírio sem conservante 16, 17 e 19) a 0,030 µg/dia (colírio com conservante 12) e está abaixo do PDE estabelecido pela diretriz ICH Q3D (R2) (2 µg/dia) (Figura 17). O Cd é um elemento altamente tóxico e foi associado ao desenvolvimento de doenças oculares, como catarata (CEKIC, 1998), DMRI (ABERAMI et al., 2019; JÜNEMANN et al., 2013; PARK et al., 2015) e glaucoma (LEE et al., 2016). Erie e colaboradores (2005) mediram a concentração de metais pesados tóxicos nos fluidos e tecidos dos 16 olhos humanos de autópsia e constataram que metais pesados como o Cd ($0,002358 \pm 0,001522$ µg/g) e Pb ($0,432 \pm 0,485$ µg/g) acumulam-se nos tecidos dos olhos humanos adultos, concentrando-se a maior parte no EPR e na coroide. O estudo de Haddad (2012) mediu as concentrações de metais pesados tóxicos (Cd, Cr e Fe) nos olhos humanos de fumantes e não fumantes e constatou um aumento significativo dos níveis de Cd em pacientes fumantes, logo ratifica os resultados encontrados por Erie e colaboradores (2005). Cekic (1998) correlacionou o tabagismo e o acúmulo de Cd, Cu e Pb no cristalino. No estudo verificou que houve acúmulo de Cd ($0,99 \pm 0,21$ ug/g), Cu ($2,11 \pm 0,47$ ug/g) e Pb ($5,17 \pm 1,43$ ug/g) nos cristalinos com catarata e concluiu que o tabagismo pode ser um fator de risco significativo na catarogênese.

Figura 16 - Concentração de Cd quantificada nos colírios lubrificantes comparada com a FB e diretriz ICH Q3D (R2) para via parenteral.



Fonte: Elaborado pelo autor.

Figura 17 - Exposição diária ao Cd pela instilação de colírio lubrificante comparada com a diretriz ICH Q3D (R2) para via parenteral.



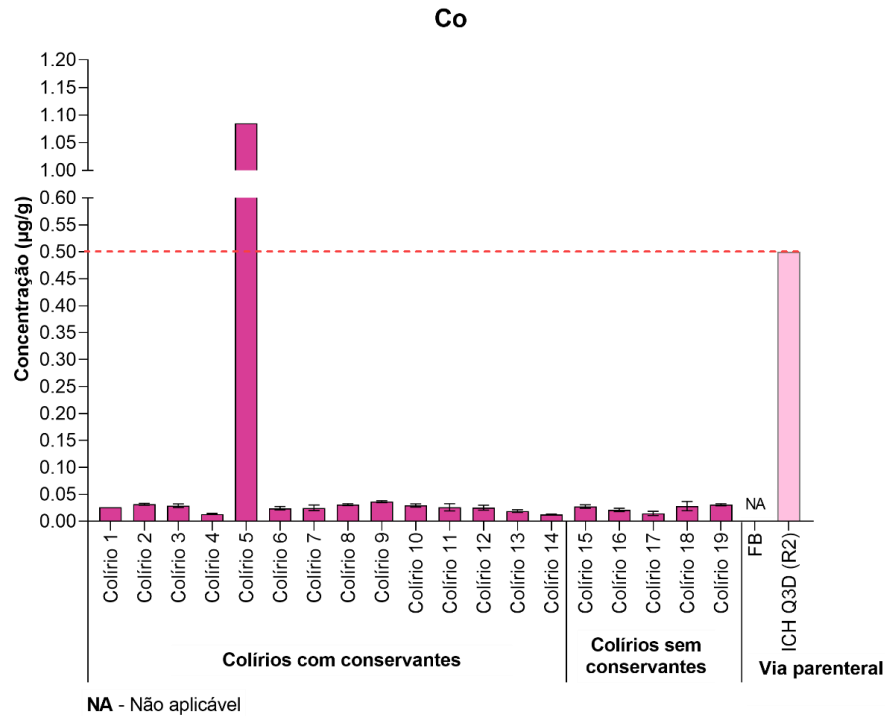
Fonte: Elaborado pelo autor.

Conforme mostrado na Tabela 10, o teor de Co nos colírios variou de 0,013 µg/g (colírio sem conservante 14) a 1,085 µg/g (colírio sem conservante 5), mas não foi possível comparar as concentrações quantificadas com a FB para via parenteral, pois não há limites estabelecidos. Em relação a diretriz ICH Q3D (R2) para referida via de administração, apenas o colírio com conservante 5 apresentou valor de concentração superior (0,5 µg/g) (Figura 18). Ressalta-se também que o colírio com conservante 5 apresentou concentração maior que o resultado do estudo relacionado a perdas visuais por intoxicação de Co (NG; EBNETER; GILHOTRA, 2013).

Na Tabela 11, os valores de exposição ao Co, considerando a instilação diária de colírio, variaram de 0,003 µg/dia (colírio sem conservante 17) a 0,554 µg/dia (colírio com conservante 5) e estão abaixo dos valores de PDE para IEs estabelecidos pela diretriz ICH Q3D (R2) na via parenteral (5 µg/dia) (Figura 19). No entanto, níveis excessivos de Co no organismo podem causar doenças. Em 2020, Garcia e colaboradores (2020), publicaram um relato de caso de uma mulher de 59 anos que apresentou sintomas como visão turva, manchas brancas em ambos os olhos, hipotireoidismo, cardiomiopatia e neuropatia após recolocação de implante de prótese de quadril com peça Co e Cr. Descobriu-se posteriormente que ela tinha um nível sérico de cobalto > 1 µg/g.

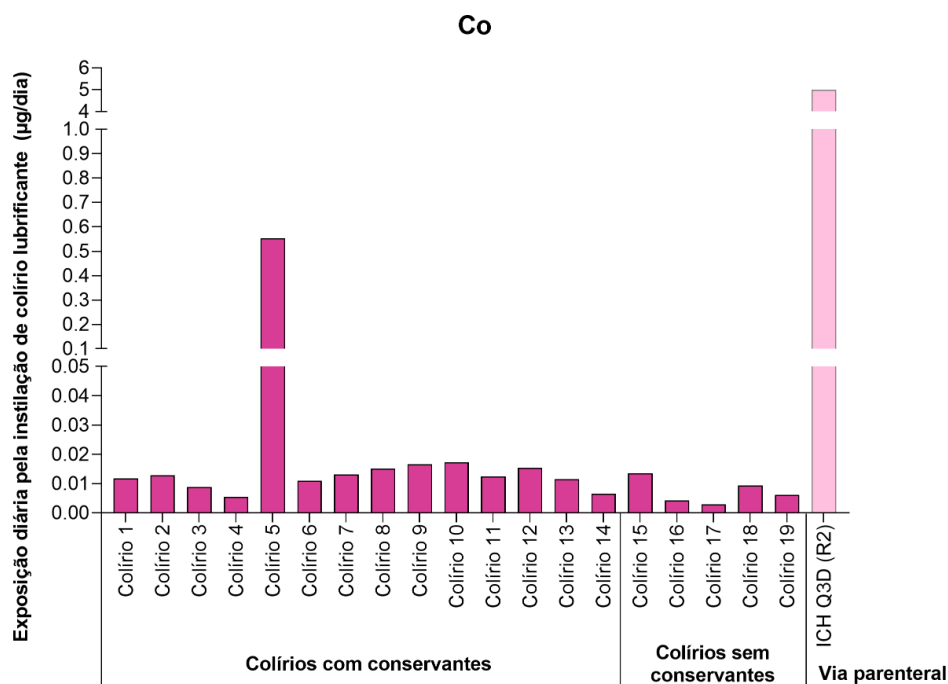
Em outro estudo, Jünemann e colaboradores (2013) quantificaram os níveis de íons metálicos selecionados no humor aquoso de olhos afetados pela DMRI usando espectrometria de massa com plasma indutivamente acoplado por injeção de fluxo (FI-ICP-MS) e observaram que pacientes com DMRI apresentaram níveis elevados de Cd (0,0281 µg/g), Co (0,1242 µg/g) e Fe (12,4643 µg/g) quando comparados aos grupos controles. Finalmente, Lim e colaboradores (2015) relataram que níveis séricos elevados de Co podem estar relacionados a danos reversíveis e irreversíveis que levam à perda visual, como neuropatia e atrofia do nervo óptico, funcionamento eletrofisiológico anormal do tecido retiniano e do EPR, além de perfusão coroidal anormal.

Figura 18 - Concentração de Co quantificada nos colírios lubrificantes comparada com a FB e diretriz ICH Q3D (R2) para via parenteral.



Fonte: Elaborado pelo autor.

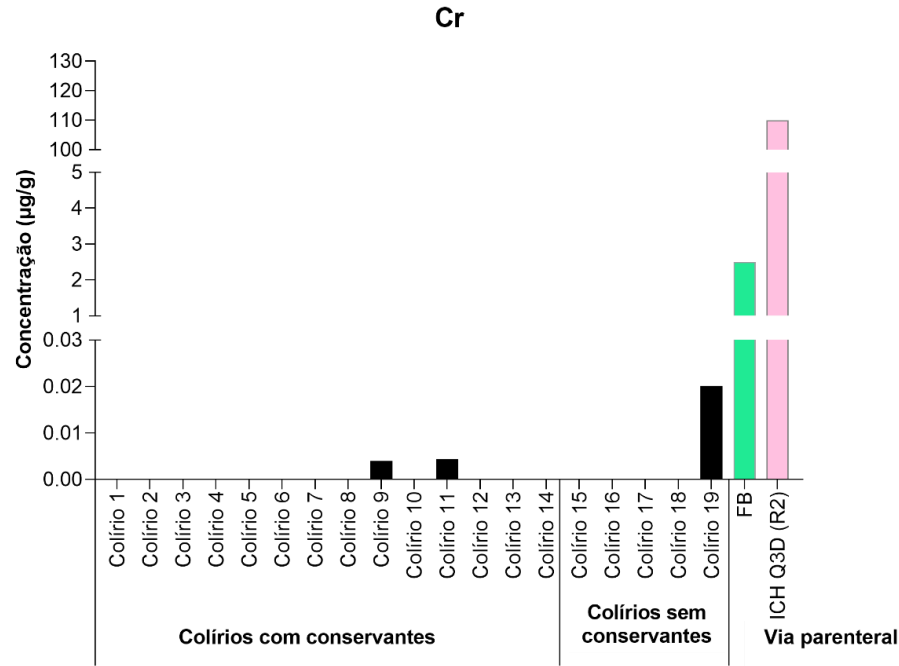
Figura 19 - Exposição diária ao Co pela instilação de colírio lubrificante comparada com a diretriz ICH Q3D (R2) para via parenteral.



Fonte: Elaborado pelo autor.

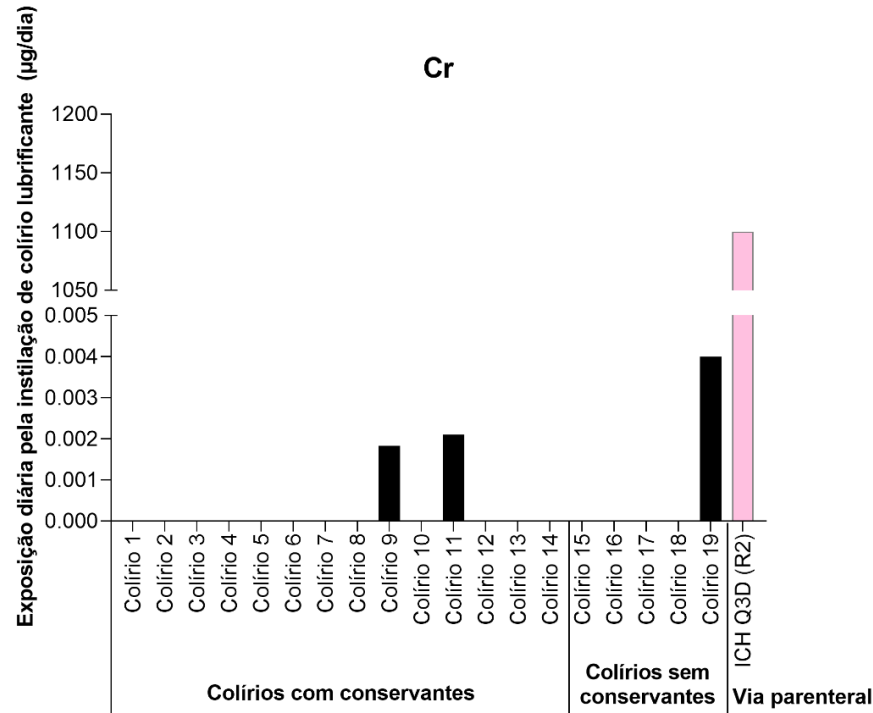
A concentração de Cr nos colírios 1-8, 10 e 12-18 está abaixo do limite de detecção (Tabela 10). Entretanto, o teor de Cr nos colírios com conservantes 9 (0,004 µg/g) e 11 (0,004 µg/g) e no colírio sem conservante 19 (0,020 µg/g) está abaixo da concentração permitida na FB (2,5 µg/g) e diretriz ICH Q3D (R2) para via parenteral (110 µg/g) (Figura 20). De acordo com os resultados apresentados na Tabela 11, a exposição ao Cr variou de 0,002 µg/dia (colírios com conservantes 9 e 11) a 0,004 µg/dia (colírio sem conservante 19) e os valores de exposição para instilação de colírios considerando o Cr estão abaixo do PDE para IEs definido pela diretriz ICH Q3D (R2) para via parenteral (1100 µg/dia) (Figura 21). Embora as concentrações sejam baixas quando comparadas aos limites estabelecidos pelo FB e ICH Q3D (R2) para via parenteral, a exposição ao Cr está associada ao desenvolvimento de DMRI (ABERAMI et al., 2019) e ao Cr hexavalente pode causar irritação, corrosão e ulceração nos olhos (KAPARWAN, 2023; VON BURG; LIU, 1993).

Figura 20 - Concentração de Cr quantificada nos colírios lubrificantes comparada com a FB e diretriz ICH Q3D (R2) para via parenteral.



Fonte: Elaborado pelo autor.

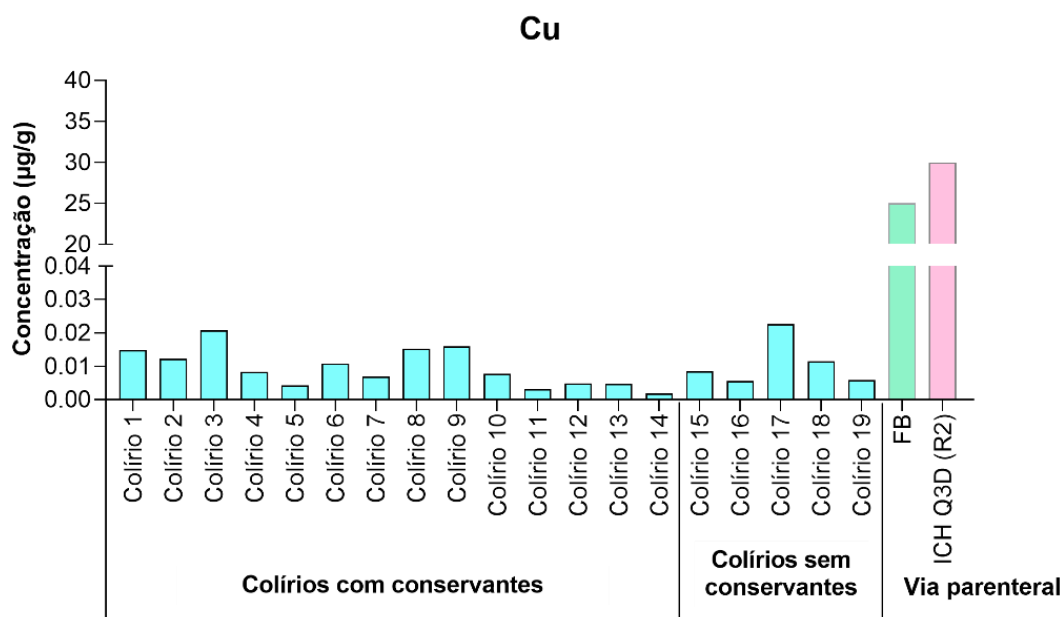
Figura 21 - Exposição diária ao Cr pela instilação de colírio lubrificante comparada com a diretriz ICH Q3D (R2) para via parenteral.



Fonte: Elaborado pelo autor.

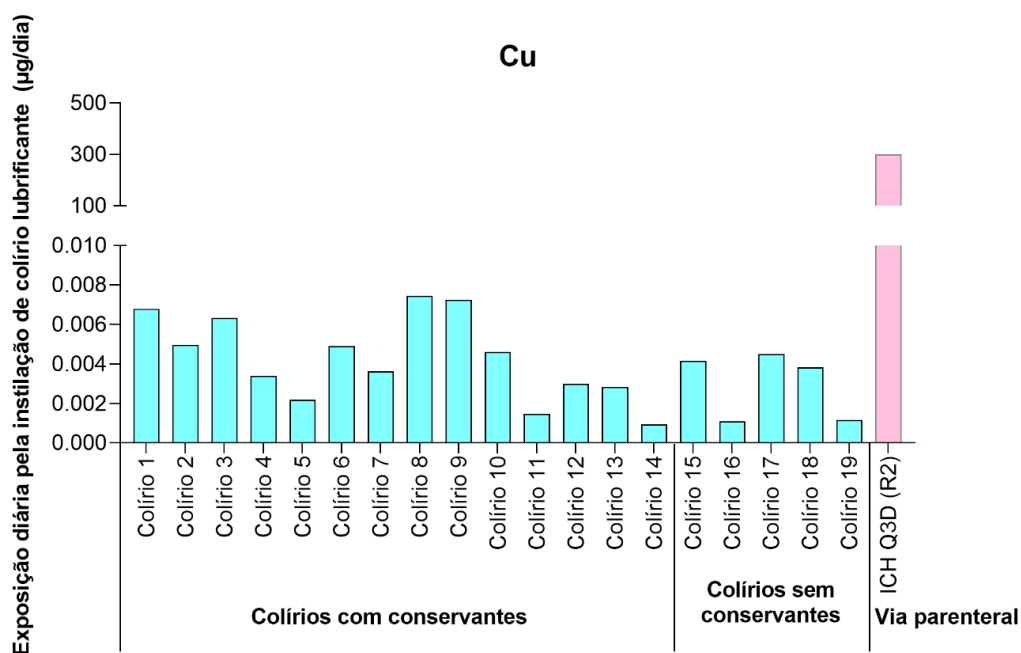
O teor de Cu nos colírios variou de 0,002 $\mu\text{g/g}$ (colírio com conservante 14) a 0,023 $\mu\text{g/g}$ (colírio sem conservante 17) e está abaixo do valor de concentração permitida estabelecido pela FB (25 $\mu\text{g/g}$) e diretriz ICH Q3D (R2) para via parenteral (30 $\mu\text{g/g}$) (Tabela 10). A instilação diária de colírio devido à exposição ao elemento Cu, cujos valores variaram de 0,001 $\mu\text{g/dia}$ (colírios com conservantes 11 e 14 e colírios sem conservantes 16 e 19) a 0,007 $\mu\text{g/dia}$ (colírios com conservantes 1, 8 e 9) estão abaixo do PDE para IEs definido pela diretriz ICH Q3D (R2) na via parenteral (300 $\mu\text{g/dia}$) (Tabela 11). Essas informações podem ser melhor observadas nas Figuras 22 e 23 que contemplam as concentrações quantificadas e exposições diárias ao Cu, respectivamente. O Cu desempenha um papel fundamental na bioquímica do sistema nervoso humano (WAGGONER; BARTNIKAS; GITLIN, 1999), sendo importante para a cura e retardamento do crescimento da catarata (HADDAD; ALASADI; HADDAD, 2012). Por outro lado, corpos estranhos intraoculares contendo Cu podem causar inflamação e lesão nas membranas celulares e mitocôndrias da retina (BOCCA et al., 2020), opacidades corneanas (AYENIMO et al., 2010), abscessos assépticos, catarata, hipotensão ocular, liquefação e retração do vítreo, dano e descolamento da retina (MCGAHAN; BITO; MYERS, 1986).

Figura 22 - Concentração de Cu quantificada nos colírios lubrificantes comparada com a FB e diretriz ICH Q3D (R2) para via parenteral.



Fonte: Elaborado pelo autor.

Figura 23 - Exposição diária ao Cu pela instilação de colírio lubrificante comparada com a diretriz ICH Q3D (R2) para via parenteral.

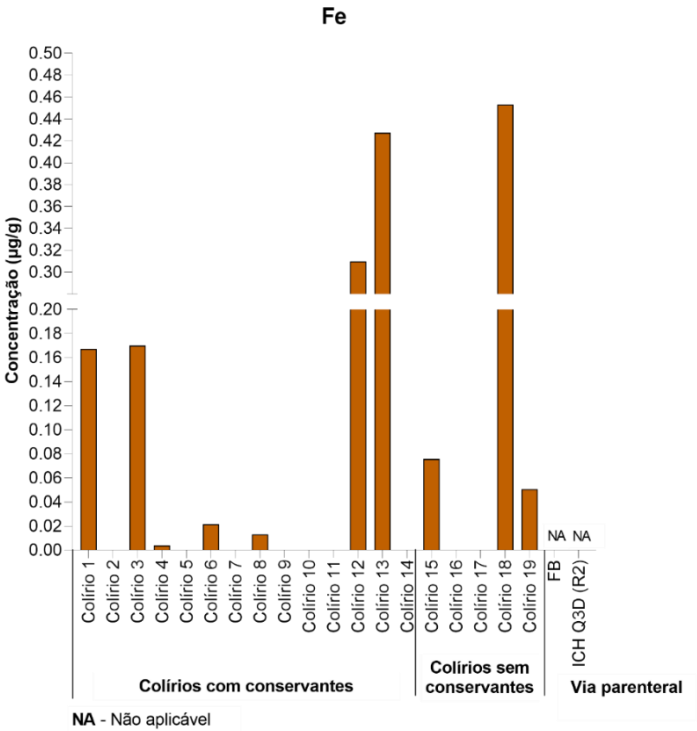


Fonte: Elaborado pelo autor.

Na Tabela 10, o teor de Fe variou de 0,013 µg/g (colírio com conservante 8) a 0,453 µg/g (colírio sem conservante 18), mas não foi possível comparar os valores quantificados com a FB e diretriz ICH Q3D (R2) para via parenteral (Figura 24). No entanto, todas concentrações de Fe quantificadas são maiores que os valores do estudo de Hohberger e colaboradores (2018) para esse elemento e, com exceção dos colírios com conservantes 6 e 8 e sem conservante 19, as demais concentrações também são maiores que os valores do estudo de Bocca e pesquisadores (2020). Ambos estudos avaliaram os níveis de oligoelementos no humor aquoso em pacientes com glaucoma de ângulo aberto.

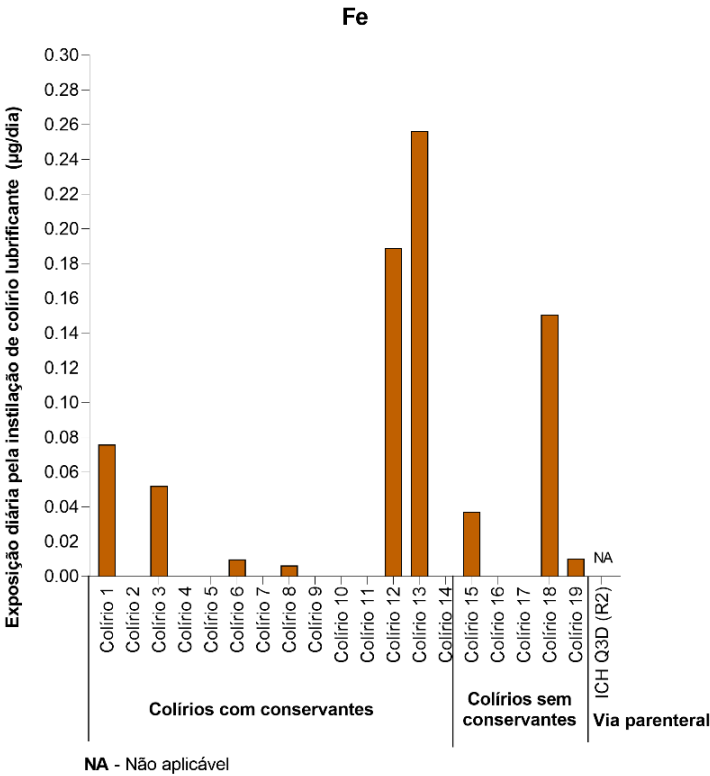
Conforme mostrado na Tabela 11, os colírios com conservantes 8 e 13 apresentaram o menor (0,006 µg/dia) e maior valor de exposição (0,256 µg/dia) (Figura 25). Entretanto, não foi possível comparar os valores de exposição diária ao Fe com a diretriz ICH Q3D (R2), pois esse guia não contempla esse elemento. O Fe está envolvido em vários processos biológicos, mas o acúmulo crônico pode contribuir para o desenvolvimento de DMRI e glaucoma, conforme já relatado, e também influenciar outras condições oculares, como aceruloplasminemia hereditária, neurodegeneração associada à pantotenato quinase, hemorragia intraocular (WONG et al., 2007) e catarata (EROL; OZALP; ATALAY, 2021).

Figura 24 - Concentração de Fe quantificada nos colírios lubrificantes comparada com a FB e diretriz ICH Q3D (R2) para via parenteral.



Fonte: Elaborado pelo autor.

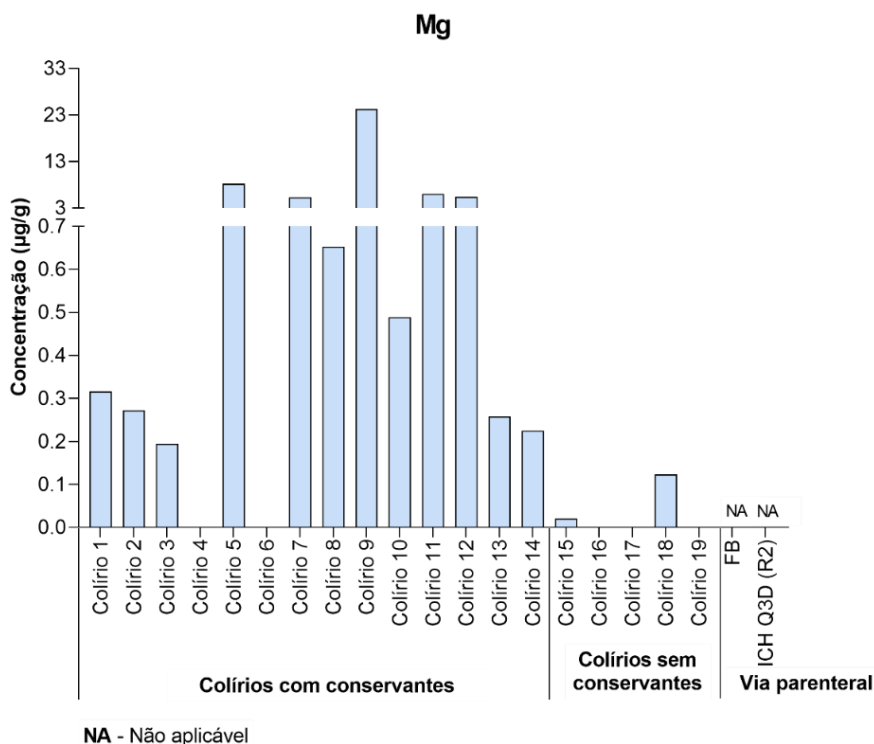
Figura 25 - Exposição diária ao Fe pela instilação de colírio lubrificante comparada com a diretriz ICH Q3D (R2) para via parenteral.



Fonte: Elaborado pelo autor.

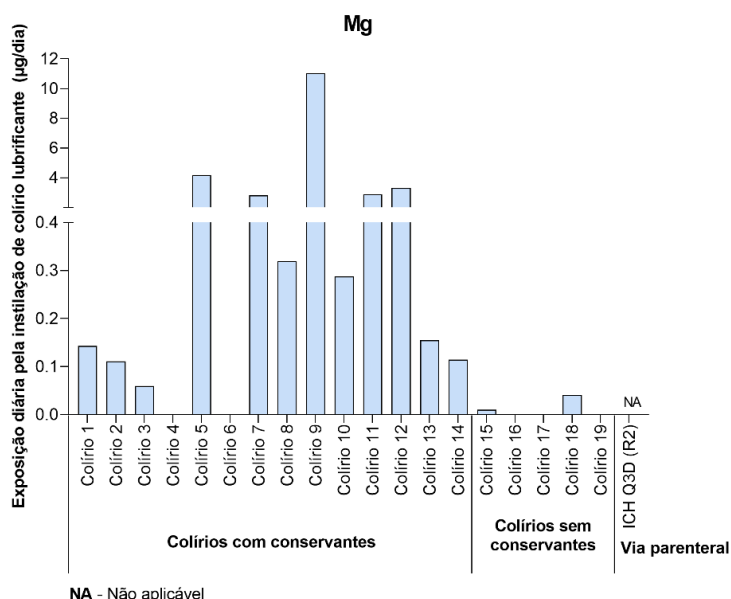
A concentração de Mg variou de 0,021 µg/g (colírio sem conservante 15) a 24,284 µg/g (colírio com conservante 9) (Tabela 10), mas não foi possível comparar os valores quantificados com a FB e ICH Q3D (R2) para via parenteral, pois esse elemento não é contemplado nos referidos documentos (Figura 26). De acordo com a Tabela 11, a exposição ao Mg devido à instilação diária de colírio variou de 0,010 µg/dia (colírio sem conservante 15) a 11,025 µg/dia (colírio com conservante 9) e, da mesma forma que a concentração, não foi possível compara-la com diretriz ICH Q3D (R2) (Figura 27). Neste estudo, os maiores valores encontrados para concentração e exposição por instilação diária de colírio foram de Mg. O Mg é importante para a manutenção da integridade estrutural e funcional do cristalino, mas seu excesso no organismo pode causar toxidades. Diferente dos outros elementos, a deficiência de Mg leva ao acúmulo de Ca no cristalino, podendo causar catarata e a liberação de óxido nítrico, que produz radicais livres de nitrogênio e são capazes de causar danos oxidativos (AJITH, 2019; KORKMAZ et al., 2013; MICUN et al., 2022). Além disso, o glaucoma, a catarata senil e a retinopatia diabética foram associadas a baixos níveis de Mg^{+2} extracelular (AJITH, 2019).

Figura 26 - Concentração de Mg quantificada nos colírios lubrificantes comparada com a FB e diretriz ICH Q3D (R2) para via parenteral.



Fonte: Elaborado pelo autor.

Figura 27 - Exposição diária ao Mg pela instilação de colírio lubrificante comparada com a diretriz ICH Q3D (R2) para via parenteral.



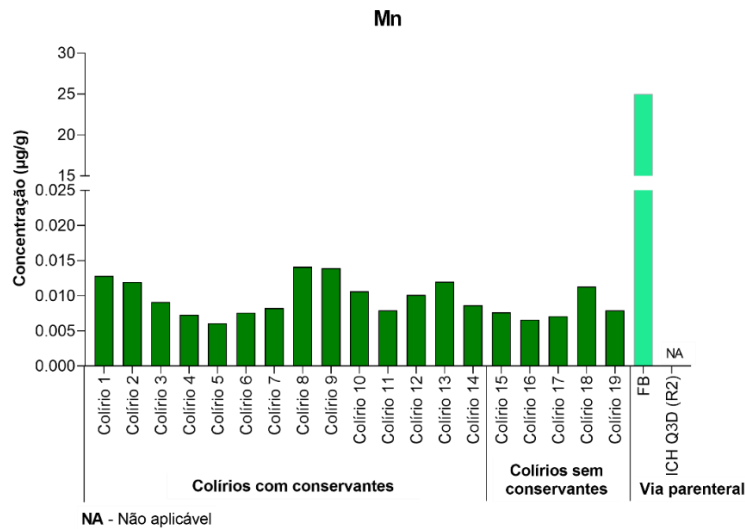
Fonte: Elaborado pelo autor.

Os níveis de Mn nos colírios com conservantes 5 (0,006 µg/g) e nos colírios sem conservantes 8 e 9 (0,014 µg/g) apresentaram os menores e maiores valores, respectivamente, e estão abaixo do valor estabelecido pela FB para IEs na via parenteral (25 µg/g) (Tabela 10). Não foi possível compará-los com diretriz ICH Q3D (R2) para via parenteral, pois não o Mn não é contemplado neste documento. Entretanto, os colírios 1-19 apresentaram concentrações de Mn maiores que o estudo de Ceylan e colaboradores (2013), que verificaram se os níveis de Al, As, Cd, Co, Cr, Cu, Hg, Mn, Mo, Ni, Se, V e Zn possuíam papéis no desenvolvimento de PEX e/ou PEG usando ICP MS. Os autores constataram que os níveis séricos elevados de Mn (0,0022 µg/g), Mo (0,00198 µg/g) e Hg (0,0024 µg/g) podem influenciar na patobiologia da PEX.

A Tabela 11 mostra que a exposição ao Mn devido à instilação diária do colírio variou de 0,001 µg/dia nas amostras sem conservantes 16 e 17, por outro lado, nos colírios com conservantes 8 e 13 foi de 0,007 µg/dia. Não foi possível comparar os valores de exposição diária ao Mn com a diretriz ICH Q3D (R2), pois o guia não contempla esse elemento. Essas informações podem ser melhor observadas nas Figuras 28 e 29 que abordam os teores quantificados nos colírios e as exposições diárias ao Mn, respectivamente. No corpo humano, o Mn é importante para a cicatrização e retardando o crescimento da catarata (HADDAD; ALASADI; HADDAD,

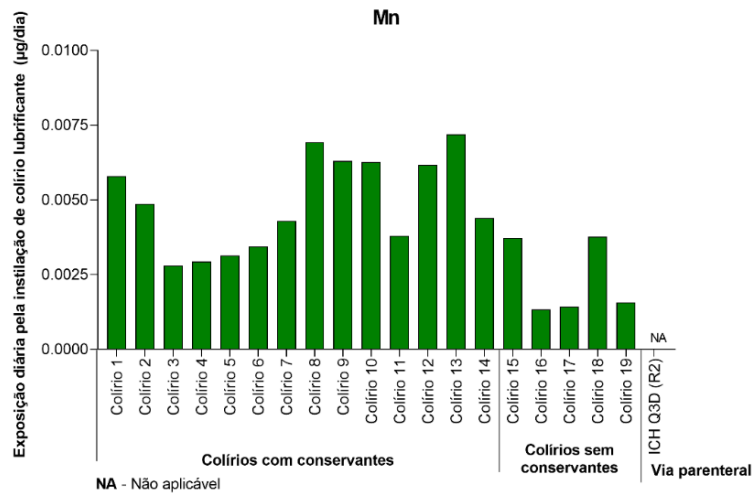
2012), mas concentrações elevadas podem causar toxidades (ATSDR, 2012; CARVALHO, 2002; CEYLAN et al., 2013; SILVA, 2017a). Khosla, Karki e Gahlot (1983) estudaram o efeito do Mn, Mo e Zn na retina de 36 coelhos. Os animais foram divididos por elemento (9 animais para cada grupo) e grupo controle. Foi administrado doses de 1 ml de cloreto de sódio 0,9% ao grupo controle, sulfato de manganês 0,2% ao grupo Mn, molibdato de sódio 0,2% ao grupo Mo e sulfato de zinco 0,5% ao grupo Zn por via intraperitoneal durante 2 semanas, 4 semanas e 8 semanas. Os autores descobriram que esses elementos são potencialmente retinotóxico, causando efeito seletivo em fotorreceptores e células ganglionares.

Figura 28 - Concentração de Mn quantificada nos colírios lubrificantes comparada com a FB e diretriz ICH Q3D (R2) para via parenteral.



Fonte: Elaborado pelo autor.

Figura 29 - Exposição diária ao Mn pela instilação de colírio lubrificante comparada com a diretriz ICH Q3D (R2) para via parenteral.

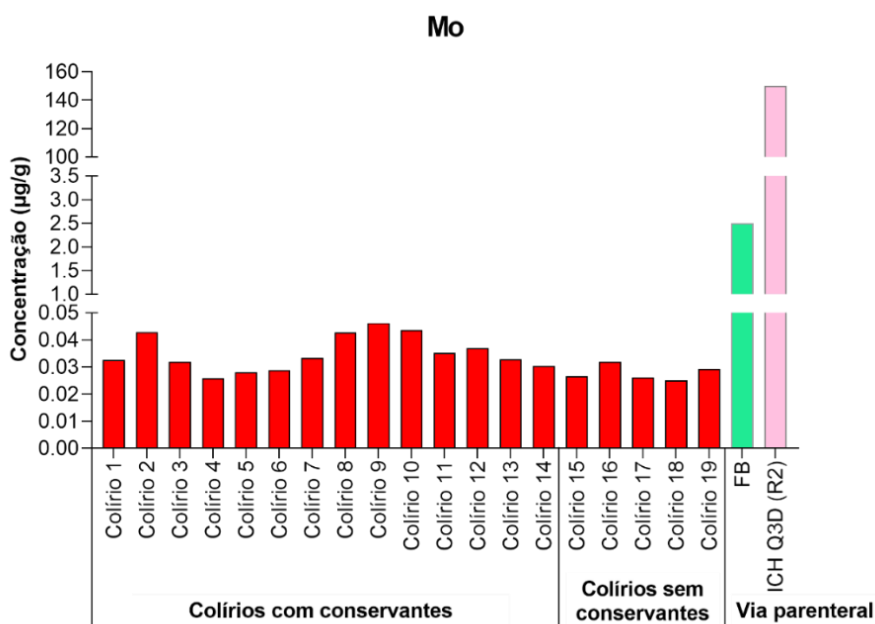


Fonte: Elaborado pelo autor.

O teor de Mo no colírio variou de 0,025 µg/g (colírio sem conservante 18) a 0,046 µg/g (colírio com conservante 9) e todos os valores quantificados estão abaixo da concentração permitida estabelecida na FB (2,5 µg/g) e diretriz ICH Q3D (R2) para via parenteral (150 µg/g) (Figura 30). No entanto, as concentrações quantificadas nos colírios são maiores que o teor de Mo (0,00195 µg/g) do estudo de Ceylan e colaboradores (2013).

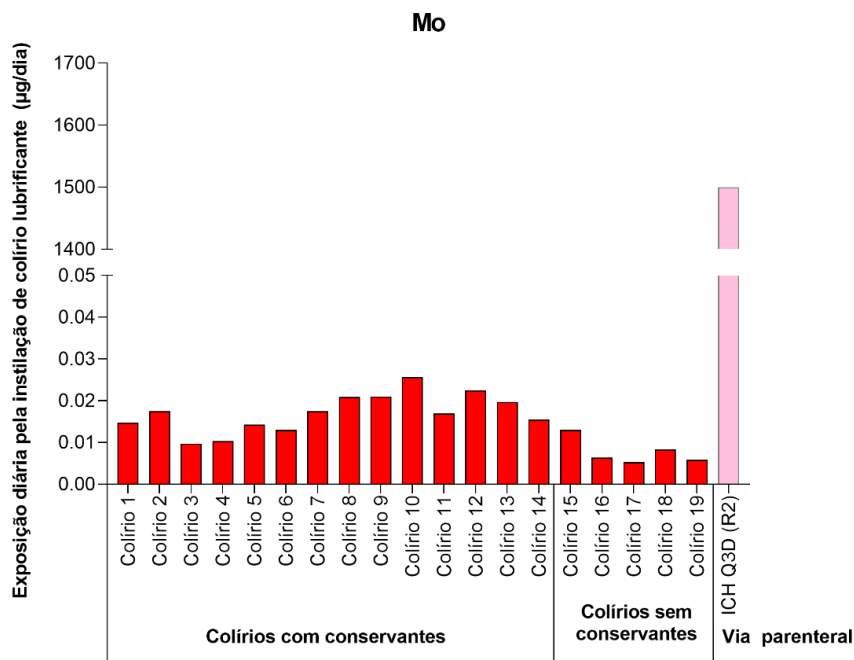
A exposição ao Mo considerando a instilação diária de colírio variou de 0,005 µg/dia (colírio sem conservante 17) a 0,026 µg/dia (colírio com conservante 10) (Figura 31). Portanto, os valores de exposição ao Mo estão abaixo dos PDE estabelecidos pela diretriz ICH Q3D (R2) para via parenteral (1500 µg/dia). Porém, os níveis elevados de Mo no organismo podem causar glaucoma pseudoexfoliativo (PEG) (CEYLAN et al., 2013) e irritação ocular (JONMAIRE, 2015). Conforme relatado, em coelhos, o Mo também apresentou efeito retinotóxico na retina (KHOSLA; KARKI; GAHLOT, 1983).

Figura 30 - Concentração de Mo quantificada nos colírios lubrificantes comparada com a FB e diretriz ICH Q3D (R2) para via parenteral.



Fonte: Elaborado pelo autor.

Figura 31 - Exposição diária ao Mo pela instilação de colírio lubrificante comparada com a diretriz ICH Q3D (R2) para via parenteral.

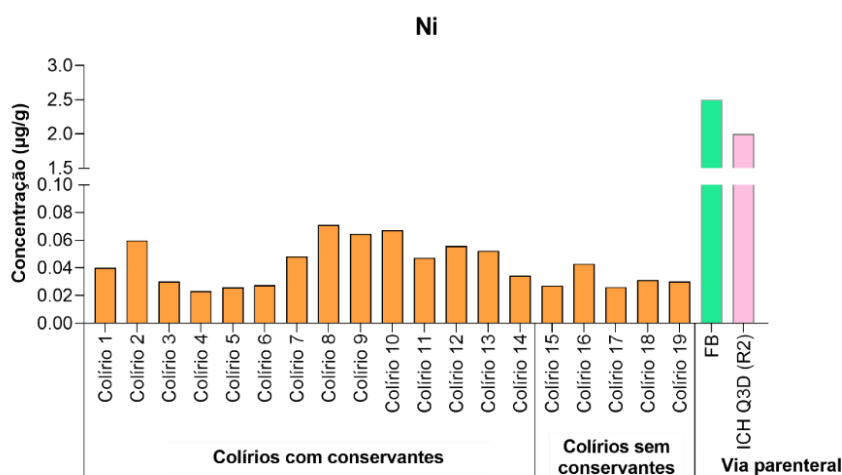


Fonte: Elaborado pelo autor.

Na Tabela 10, a concentração de Ni variou de 0,023 µg/g (colírio com conservante 4) a 0,071 µg/g (colírio com conservante 8), mas esses valores estão abaixo do valor de concentração permitida de IEs em medicamentos estabelecido pela FB (2,5 µg/g) e diretriz ICH Q3D (R2) para administração parenteral (2 µg/g) (Figura 32). Considerando a instilação diária dos colírios, apresentada na Tabela 11, os resultados mostram que a exposição ao Ni variou de 0,005 µg/dia (colírio sem conservante 17) a 0,040 µg/dia (colírio com conservante 10). Entretanto, esses valores diários de instilação de colírio estão abaixo do PDE estabelecido pela diretriz ICH Q3D (R2) para via parenteral (20 µg/dia) (Figura 33). Embora o Ni seja essencial ao organismo, em situações de toxicidade pode causar doenças, como DMRI (ABERAMI et al., 2019), doenças cardiovasculares, fibrose pulmonar e insuficiência renal. A exposição prolongada ao Ni⁺² e seus sais pode causar conjuntivite, inflamação das membranas mucosas das vias aéreas superiores e eczema (HOŁYŃSKA-IWAN et al., 2023). Em estudo em animais, anomalias celulares na retina de olhos de peixes expostos ao Ni por 30 dias afetaram a função primária da retina e levaram à perda visual ou baixa visão em alevinos (*Mugil cephalus*). Com base no teste de toxicidade crônica realizado durante 30 dias, observou as seguintes situações para as concentrações encontradas: $2,9 \pm 0,14$ µg/g (nenhum efeito adverso foi observado),

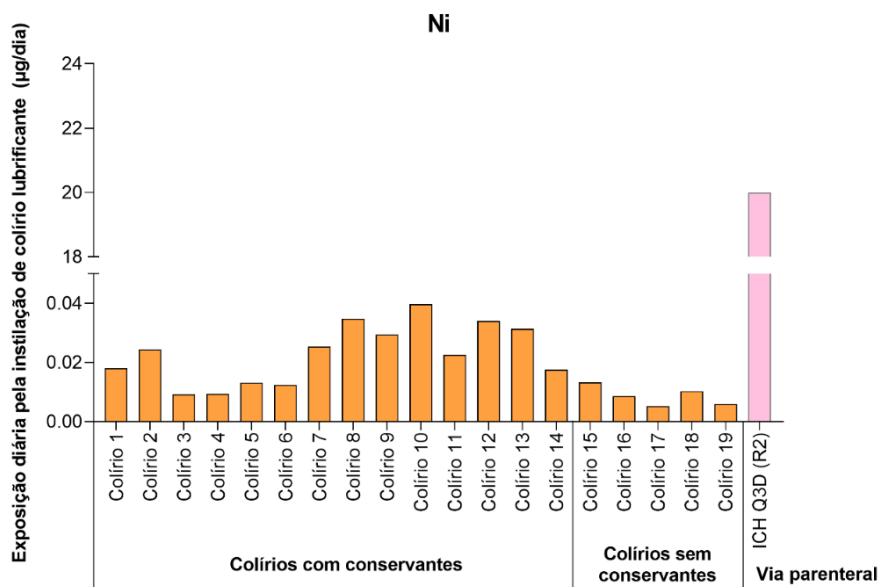
$4,7 \pm 0,14 \mu\text{g/g}$ (pouco efeito adverso foi observado) e $3,7 \pm 0,14 \mu\text{g/g}$ (valor crônico). Além disso, verificou que a concentração letal de 96 horas (CL_{50}) para Ni foi de $42,2 \pm 3,9 \mu\text{g/g}$ (NAGARJUNA; MOHAN, 2017).

Figura 32 - Concentração de Ni quantificada nos colírios lubrificantes comparada com a FB e diretriz ICH Q3D (R2) para via parenteral.



Fonte: Elaborado pelo autor.

Figura 33 - Exposição diária ao Ni pela instilação de colírio lubrificante comparada com a diretriz ICH Q3D (R2) para via parenteral.



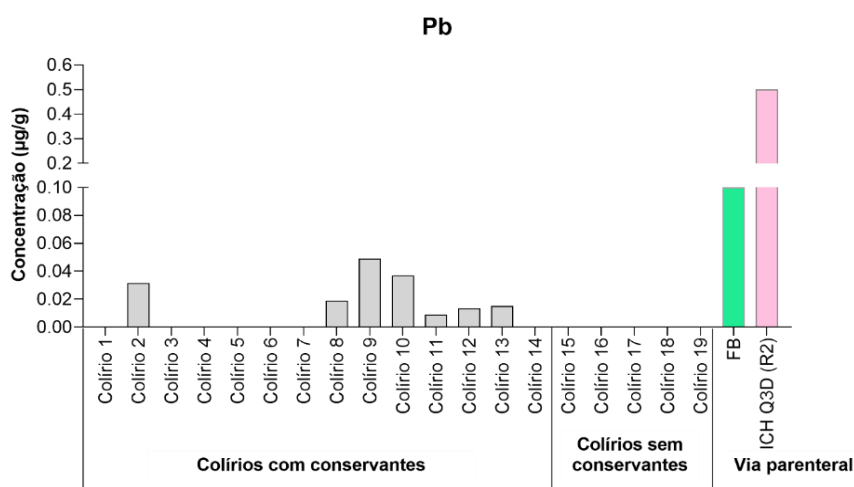
Fonte: Elaborado pelo autor.

A concentração de Pb nas amostras de colírio apresentada na Tabela 10 variou de $0,009 \mu\text{g/g}$ (colírio com conservante 11) a $0,049 \mu\text{g/g}$ (colírio com conservante 9). Estas concentrações estão abaixo da concentração permitida para

IEs em medicamentos estabelecida pela FB (0,1 µg/g) e diretriz ICH Q3D (R2) para via parenteral (0,5 µg/g) (Figura 34). No entanto, os colírios com conservantes 2 (0,032 µg/g), 9 (0,049 µg/g) e 10 (0,037 µg/g) apresentaram concentrações de Pb maiores que o estudo de Chen, Chen e Lai (2022), que investigou a associação entre a exposição a vestígios de metais em amostras de lágrimas e a presença de métricas de DED na indústria de estaleiros (grupo exposto ao Pb: 0,02358 µg/g). Os colírios com conservantes 9 e 10 também apresentaram concentrações maiores que o estudo de Park e colaboradores (2015), que investigaram a relação entre os metais pesados e a DMRI, e constaram que pessoas com DMRI inicial e tardia possuíam concentrações de Pb 0,029 µg/g e 0,0366 µg/g, respectivamente. Além disso, o colírio com conservante 2 apresentou concentração de Pb maior que o grupo com DMRI inicial (0,029 µg/g).

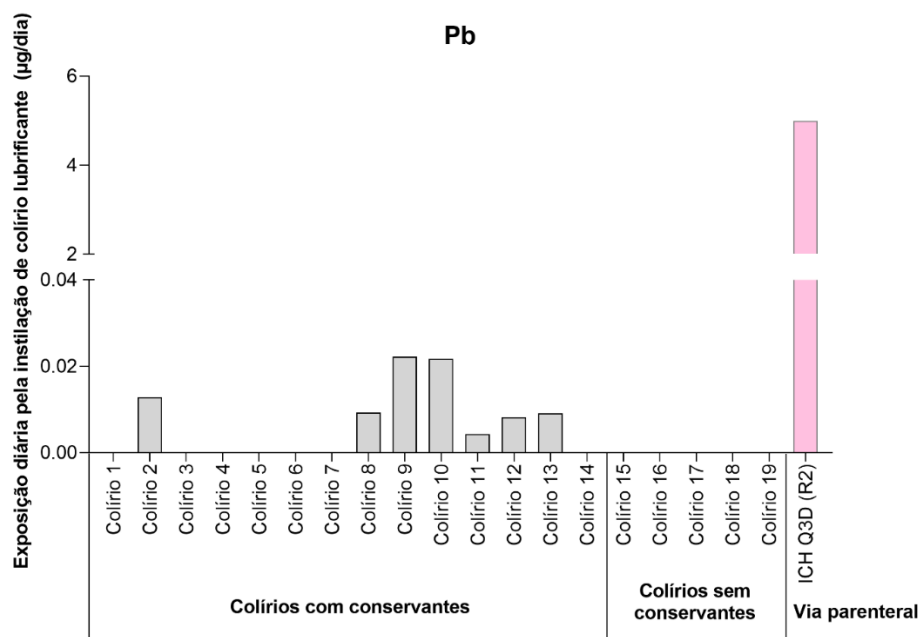
Conforme os resultados da instilação diária dos colírios (Tabela 11), a exposição ao Pb variou de 0,004 µg/dia a 0,022 µg/dia nos colírios com conservantes 2, 8-12 e 13 e está abaixo do PDE estabelecido pela diretriz ICH Q3D (R2) na via parenteral (5 µg/dia) (Figura 35). Ressalta-se que o Pb é muito tóxico, carcinogênico e o acúmulo no organismo pode estar associado a doenças oculares (BOCCA et al., 2020; EKINCI et al., 2014; NELKE et al., 2015), como catarata (CEKIC, 1998; DOLAR-SZCZASNY et al., 2019), DMRI (ABERAMI et al., 2019; PARK et al., 2015) e DED (CHEN; CHEN; LAI, 2022; LIOU et al., 2022).

Figura 34 - Concentração de Pb quantificada nos colírios lubrificantes comparada com a FB e diretriz ICH Q3D (R2) para via parenteral.



Fonte: Elaborado pelo autor.

Figura 35 - Exposição diária ao Pb pela instilação de colírio lubrificante comparada com a diretriz ICH Q3D (R2) para via parenteral.

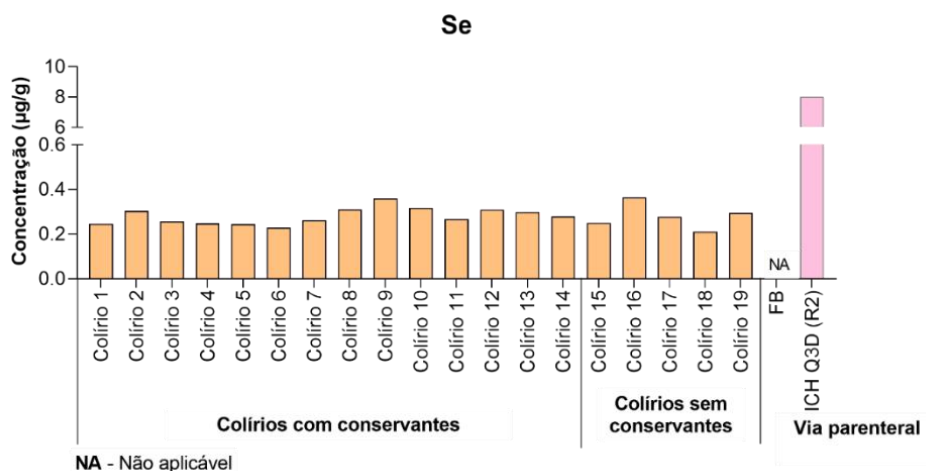


Fonte: Elaborado pelo autor.

O teor de Se apresentado na Tabela 10 variou de 0,211 µg/g (colírio sem conservante 18) a 0,365 µg/g (colírio sem conservante 16). Não existem valores de Se para IEs em medicamentos estabelecidos pela FB para via parenteral e todas as amostras de colírios apresentaram concentrações abaixo da concentração permitida estabelecida pela diretriz ICQ Q3D (R2) (8 µg/g) para via parenteral (Figura 36). Entretanto, as concentrações de Se quantificadas nas amostras foram maiores que os valores dos estudos que associam esse elemento a DMRI tardia, no EPR, na coroide (0,1116 µg/g) e retina (0,0501 µg/g) (ABERAMI et al., 2019), e ao glaucoma no humor aquoso (1ª a 3ª faixa) e no plasma (3ª faixa) (BRUHN et al., 2009).

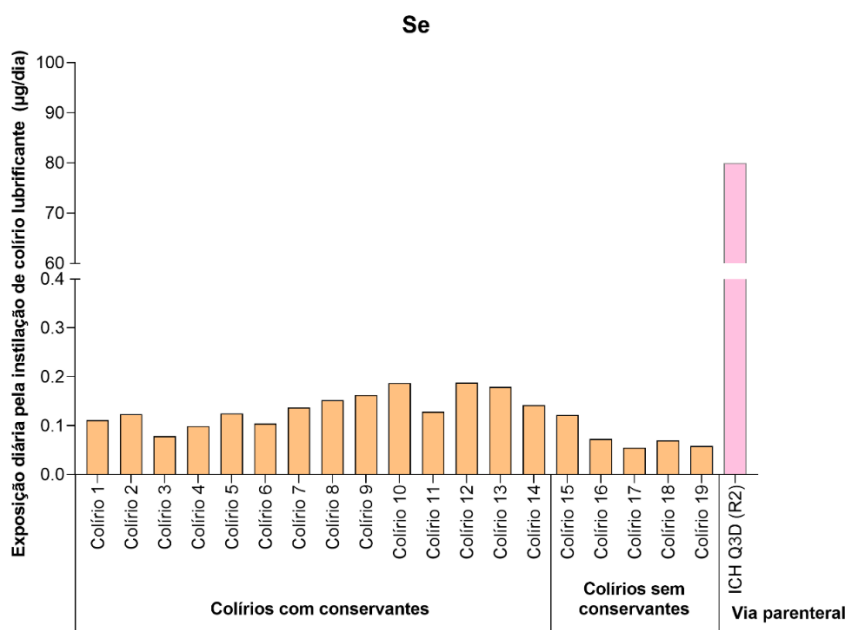
A exposição diária ao Se variou de 0,055 µg/dia (colírio sem conservante 17) a 0,188 µg/dia (colírio com conservante 12) e os valores obtidos estão abaixo do PDE para Se (80 µg/dia) definido pela diretriz ICH Q3D (R2) para via parenteral (Figura 37). Porém, níveis aumentados de Se ou compostos no organismo podem causar catarata (KARAKÜÇÜK et al., 1995), irritação ocular e conjuntival, lacrimejamento, visão turva e córneas embaçadas (MIDDLETON, 1947).

Figura 36 - Concentração de Se quantificada nos colírios lubrificantes comparada com a FB e diretriz ICH Q3D (R2) para via parenteral.



Fonte: Elaborado pelo autor.

Figura 37 - Exposição diária ao Se pela instilação de colírio lubrificante comparada com a diretriz ICH Q3D (R2) para via parenteral.

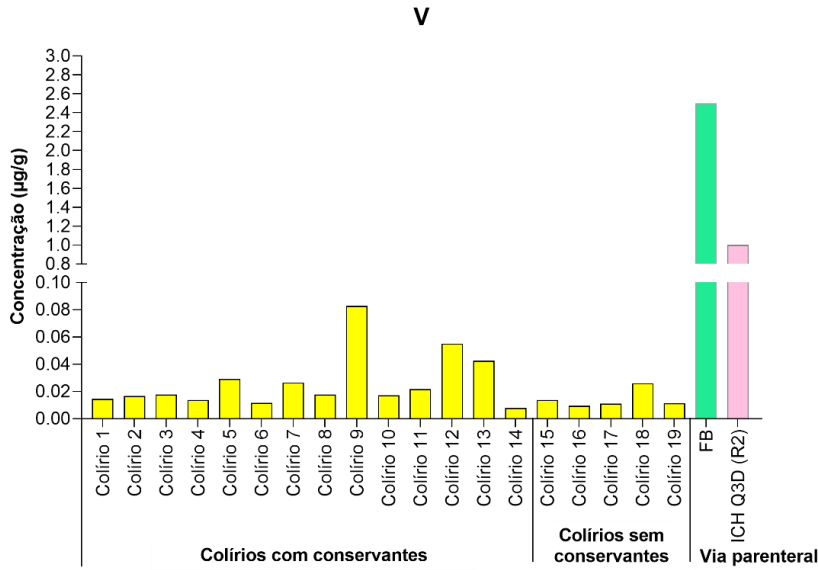


Fonte: Elaborado pelo autor.

Os níveis de V nos colírios variaram de 0,008 µg/g (colírio com conservante 14) a 0,083 µg/g (colírio com conservante 9) (Tabela 10) e estão abaixo dos valores estabelecidos para IEs em medicamentos definidos na FB (2,5 µg/g) e na diretriz ICH Q3D (R2) para via parenteral (1 µg/g) (Figura 38). A Tabela 11 mostra que a exposição ao V devido à instilação diária variou de 0,002 µg/dia (colírios sem conservantes 16, 17 e 19) a 0,038 µg/dia (colírio com conservante 9) e os valores de PDE são inferiores aos estabelecidos pela diretriz ICH Q3D (R2) na via parenteral (10 µg/dia) (Figura 39).

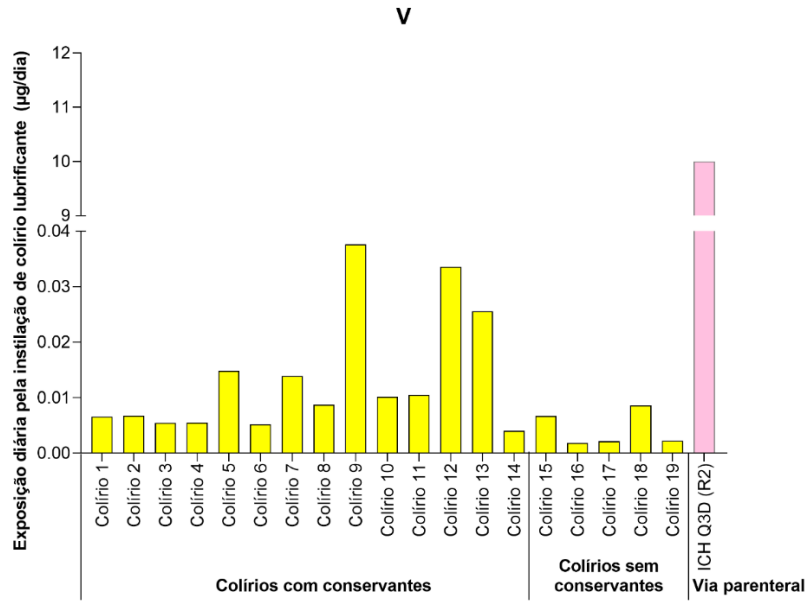
Entretanto, em situações de intoxicação por V, as pessoas podem apresentar problemas oculares, como irritação ocular (BARCELOUX; BARCELOUX, 1999) e conjuntivite (ZENZ; BARTLETT; THIEDE, 1962). Em animais, verificou que a inalação de V causou danos à retina e pode interferir na visão (CERVANTES-YÉPEZ; LÓPEZ-ZEPEDA; FORTOUL, 2018).

Figura 38 - Concentração de V quantificada nos colírios lubrificantes comparada com a FB e diretriz ICH Q3D (R2) para via parenteral.



Fonte: Elaborado pelo autor.

Figura 39 - Exposição diária ao V pela instilação de colírio lubrificante comparada com a diretriz ICH Q3D (R2) para via parenteral.

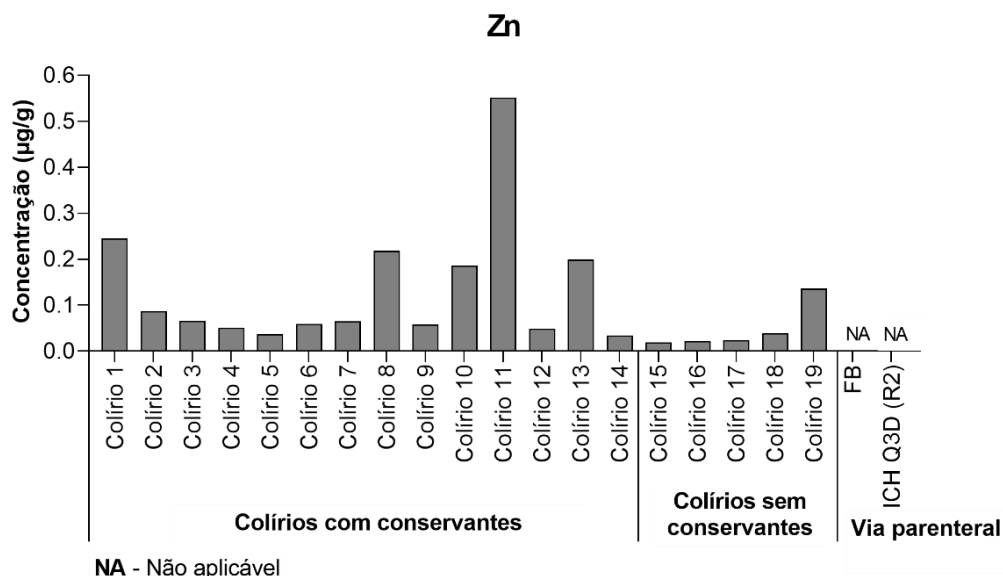


Fonte: Elaborado pelo autor.

A concentração de Zn variou de 0,019 µg/g (colírio sem conservante 15) a 0,552 µg/g (colírio com conservante 11) (Tabela 10), mas não foi possível comparar os valores quantificados com a FB e ICH Q3D (R2) para via parenteral, pois esse elemento não é abordado nesses documentos (Figura 40). No entanto, observamos que as concentrações de Zn nos colírios com conservantes 1 (0,246 µg/g) e 11 (0,552 µg/g) foram maiores que no estudo de Nourmohammadi, Modarress e Pakdel (2006), que determinaram a concentração desse elemento no humor aquoso de pacientes com catarata (0,243 µg/g). Ao compararmos com o estudo de Bocca e colaboradores (2020) sobre glaucoma, já apresentado, os colírios com conservantes 1 (0,246 µg/g), 8 (0,219 µg/g), 10 (0,186 µg/g), 11 (0,552 µg/g) e 13 (0,200 µg/g) apresentaram concentrações de Zn maiores que nos 3 grupos experimentais analisados ("GPAA - Todos": 0,0891 µg/g, "GPAA": 0,0725 µg/g e "GPAA e outras doenças": 0,186 µg/g). A concentração do colírio com conservante 2 (0,087 µg/g) foi maior apenas em relação ao grupo experimental ("GPAA") e os colírios com conservante 10 (0,186 µg/g) e sem conservante 19 (0,136 µg/g) apresentaram valores maiores que os grupos experimentais "GPAA - Todos" e "Apenas GPAA". Além disso, todos colírios apresentaram concentrações de Zn com valores maiores que o estudo de Hohberger e colaboradores (2018) (0,0003 µg/g).

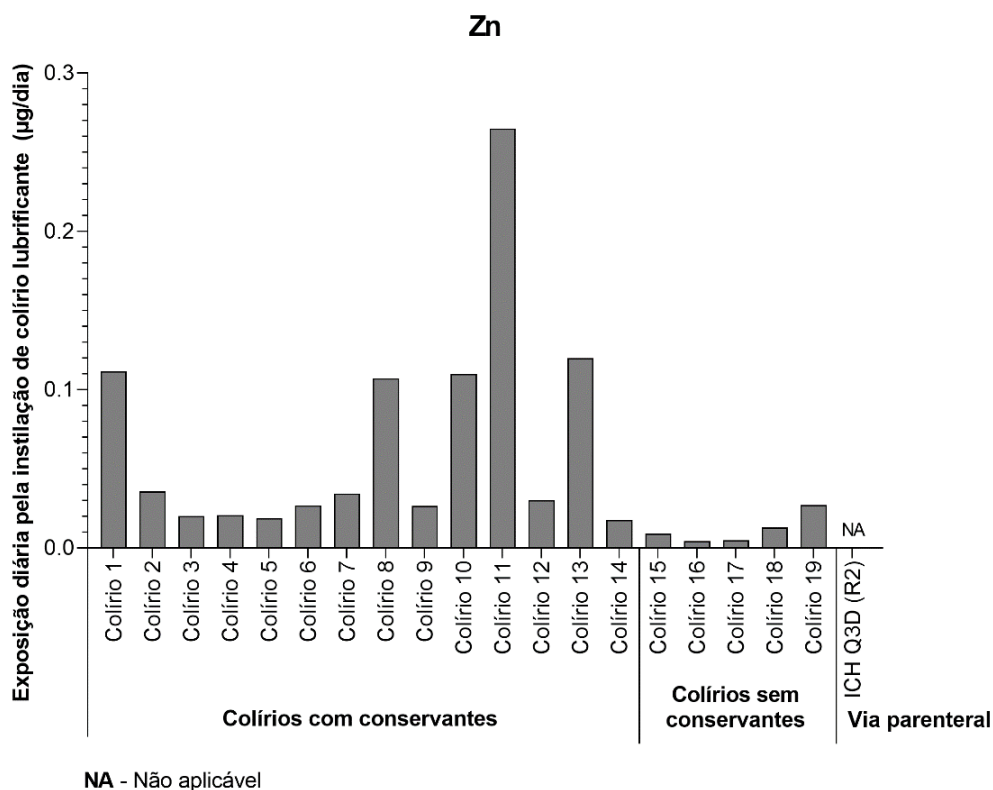
Em relação a exposição ao Zn, variou de 0,004 (colírio sem conservante 16) a 0,265 µg/dia (colírio com conservante 11) (Tabela 11), mas não há valores de PDE estabelecidos na diretriz ICH Q3D (R2) para via parenteral (Figura 41). O Zn é essencial para o sistema imunológico (SILVA, 2017a), atua na prevenção da progressão da DMRI em estágios avançados (PARK et al., 2015; VISHWANATHAN; CHUNG; JOHNSON, 2013) e tem influência na função muscular e na visão (NELKE et al., 2015). Entretanto, pode causar distúrbios oftalmológicos, como irritação, dor, ulcerações da córnea, edema e queimaduras, hiperemia, hemorragia, ceratopatia bolhosa, glaucoma, catarata, lacrimejamento, redução significativa da acuidade visual com hemorragia e inflamação conjuntival. (NRIAGU, 2007). Além disso, o acúmulo no cristalino pode estar relacionado à presença de proteínas de alto peso molecular que são consideradas precursoras de agregados proteicos insolúveis que causam opacificação do cristalino (MICUN et al., 2022).

Figura 40 - Concentração de Zn quantificada nos colírios lubrificantes comparada com a FB e diretriz ICH Q3D (R2) para via parenteral.



Fonte: Elaborado pelo autor.

Figura 41 - Exposição diária ao Zn pela instilação de colírio lubrificante comparada com a diretriz ICH Q3D (R2) para via parenteral.



Fonte: Elaborado pelo autor.

Conforme observamos nos resultados e discussão acima, embora a concentração de alguns macro e microelementos esteja abaixo dos valores limites

estabelecidos por agências reguladoras como a FB e a diretriz ICH Q3D (R2), isso não significa que seu uso seja seguro. Eles podem ser perigosos para a saúde humana porque têm meia-vida biológica longa, não são biodegradáveis e alguns são tóxicos mesmo em concentrações muito baixas (AMARTEY et al., 2011; EZEABARA et al., 2014; RAI et al., 2019).

O estudo mostra a presença de elementos tóxicos nos colírios lubrificantes brasileiros utilizados no tratamento da DED, portanto, as agências reguladoras devem estabelecer um nível de PDE em microgramas por dia ($\mu\text{g}/\text{dia}$) para instilação de colírios lubrificantes nos olhos.

6 CONCLUSÕES

No presente estudo, as 19 amostras representativas de colírios lubrificantes brasileiros, com conservantes e sem conservantes, utilizadas para tratar a DED apresentaram evidências de macro e microelementos na sua formulação.

Foram detectadas concentrações de As e Cd acima do valor estabelecido pela FB para administração parenteral e valor de Co superior ao definido pela diretriz ICH Q3D (R2) para referida via. Por outro lado, as concentrações de Ba, Cr, Cu, Mn, Mo, Ni, Pb, Se e V nos colírios lubrificantes quantificados estão abaixo dos valores estabelecidos pela FB ou pela diretriz ICH Q3D (R2) para via parenteral.

Existem colírios lubrificantes analisados com concentrações de As, Cd, Co, Fe, Mn, Mo, Pb, Se e Zn maiores que outros estudos envolvendo a associação de metais pesados a doenças oftalmológicas e que os valores de referência de concentração da FB e diretriz ICH Q3D (R2) na via parenteral para os elementos As, Cd, Cr e Mo possuem diferenças significativas.

Os valores da exposição diária aos elementos As, Ba, Cd, Co, Cr, Cu, Mo, Ni, Pb, Se e V pela instilação de colírios estavam abaixo dos limites de PDE estabelecidos pela diretriz ICH Q3D (R2) para via parenteral. No entanto, o acúmulo desses elementos no organismo podem ser prejudiciais à saúde.

Os elementos Al, Fe, Mg e Zn foram detectados nas amostras, mas não foram avaliados segundo a FB e diretriz ICH Q3D (R2), pois não são contemplados nesses documentos.

Em vários países, as agências reguladoras devem realizar a fiscalização dos colírios utilizados no tratamento de doenças oftalmológicas. Portanto, são necessários estudos complementares que investiguem os possíveis riscos de toxicidade devido à instilação diária de colírios lubrificantes contendo metais pesados.

REFERÊNCIAS

- ABERAMI, S. et al. Elemental concentrations in Choroid-RPE and retina of human eyes with age-related macular degeneration. **Experimental Eye Research**, v. 186, p. 107718, 1 set. 2019.
- AGARWAL, P.; CRAIG, J. P.; RUPENTHAL, I. D. Formulation Considerations for the Management of Dry Eye Disease. **Pharmaceutics**, v. 13, n. 2, p. 207, fev. 2021.
- AGRAHARI, V. et al. A comprehensive insight on ocular pharmacokinetics. **Drug Delivery and Translational Research**, v. 6, n. 6, p. 735–754, 1 dez. 2016.
- AJIB, F. A.; CHILDRESS, J. M. **Magnesium Toxicity**. Treasure Island/FL: StatPearls Publishing, 2021.
- AJITH, T. A. Possible therapeutic effect of magnesium in ocular diseases. **Journal of Basic and Clinical Physiology and Pharmacology**, v. 31, n. 2, p. /j/jbcpp.2020.31.issue-2/jbcpp-2019-0107/jbcpp-2019-0107.xml, 14 nov. 2019.
- AL OSMAN, M.; YANG, F.; MASSEY, I. Y. Exposure routes and health effects of heavy metals on children. **Biomaterials: An International Journal on the Role of Metal Ions in Biology, Biochemistry, and Medicine**, v. 32, n. 4, p. 563–573, ago. 2019.
- ALLAN, R. Introduction: Mining and metals in the environment. **Journal of Geochemical Exploration**, v. 58, n. 2, p. 95–100, 1 abr. 1997.
- AMARTEY E. O. et al. Determination of Heavy Metals Concentration in Hair Pomades on the Ghanaian Market Using Atomic Absorption Spectrometry Technique. **British Journal of Pharmacology and Toxicology**, v. 2, n. 4, p. 192–198, out. 2011.
- ATSDR, D. OF T. AND H. H. S., Atlanta, GA. Toxicological Profile for Manganese. p. 556, set. 2012.
- AYENIMO, J. G. et al. Heavy Metal Exposure from Personal Care Products. **Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology**, v. 84, n. 1, p. 8–14, 1 jan. 2010.
- BACHU, R. D. et al. Ocular Drug Delivery Barriers - Role of Nanocarriers in the Treatment of Anterior Segment Ocular Diseases. **Pharmaceutics**, v. 10, n. 1, p. 28, mar. 2018.
- BAIDYA, K. et al. Persistent Conjunctivitis Associated with Drinking Arsenic-Contaminated Water. **Journal of Ocular Pharmacology and Therapeutics**, v. 22, n.3, p. 208–211, jun. 2006.
- BALARAM, V. Recent advances in the determination of elemental impurities in pharmaceuticals – Status, challenges and moving frontiers. **TrAC Trends in Analytical Chemistry**, v. 80, p. 83–95, 1 jun. 2016.
- BARCELOUX, D. G.; BARCELOUX, D. Vanadium. **Journal of Toxicology: Clinical Toxicology**, v. 37, n. 2, p. 265–278, 1 jan. 1999.

BARRA, C. M. et al. Especificação de Arsênio - uma revisão. **Química Nova**, v. 23, p. 58–70, fev. 2000.

BARTLETT, J. D. et al. Associations between signs and symptoms of dry eye disease: a systematic review. **Clinical Ophthalmology (Auckland, N.Z.)**, v. 9, p. 1719–1730, 16 set. 2015.

BAUDOUIN, C. et al. Preservatives in eyedrops: The good, the bad and the ugly. **Progress in Retinal and Eye Research**, v. 29, n. 4, p. 312–334, 1 jul. 2010.

BECARIA, A.; CAMPBELL, A.; BONDY, S. Aluminum as a toxicant. **Toxicology and Industrial Health**, v. 18, n. 7, p. 309–320, 1 ago. 2002.

BJØRKLUND, G. et al. Interactions of iron with manganese, zinc, chromium, and selenium as related to prophylaxis and treatment of iron deficiency. **Journal of trace elements in medicine and biology: organ of the Society for Minerals and Trace Elements (GMS)**, v. 41, p. 41–53, maio 2017.

BOCCA, B. et al. A pilot study to evaluate the levels of aqueous humor trace elements in open-angle glaucoma. **Journal of Trace Elements in Medicine and Biology**, v. 61, p. 126560, 1 set. 2020.

BOYD, K. Lubricating Eye Drops for Dry Eyes. **American Academy of Ophthalmology**, 9 feb. 2022. Disponível em: <<https://www.aao.org/eyehealth/treatments/lubricating-eye-drops>>. Acesso em: 25 set. 2023.

BRASIL. **Brazilian Pharmacopoeia**. 6. ed. Brasília: National Health Surveillance Agency, 2019. v. I

BRASIL, N. H. S. A. **Implementation of the addendum to the ICH Good Clinical Practice E6 guide**. , ago. 2016. Disponível em: <<http://antigo.anvisa.gov.br/documents/33836/2492430/INFORME+-+Adendo+ICH+E6/f59e4e6d-677b-495c-9b08-1108a637b483?version=1.1>>

BRON, A. J. et al. Predicted Phenotypes of Dry Eye: Proposed Consequences of Its Natural History. **The Ocular Surface**, v. 7, n. 2, p. 78–92, 1 abr. 2009.

BRON, A. J. et al. Rethinking Dry Eye Disease: A Perspective on Clinical Implications. **The Ocular Surface**, v. 12, n. 2, Supplement, p. S1–S31, 1 abr. 2014.

BRON, A. J. et al. TFOS DEWS II pathophysiology report. **The Ocular Surface**, v. 15, n. 3, p. 438–510, jul. 2017.

BROWN, A.; ADDISON, B. **Eye disorders: understanding the causes, symptoms and management**. Disponível em: <<https://pharmaceutical-journal.com/article/ld/eye-disorders-understanding-the-causes-symptoms-and-management>>. Acesso em: 23 out. 2023.

BRUHN, R. L. et al. Relationship between glaucoma and selenium levels in plasma and aqueous humour. **British Journal of Ophthalmology**, v. 93, n. 9, p. 1155–1158, 1 set. 2009.

BRUSCOLINI, A. et al. Dry Eye Syndrome in Non-Exophthalmic Graves' Disease. **Seminars in Ophthalmology**, v. 30, n. 5–6, p. 372–376, 2 nov. 2015.

CALDERÓN, J. et al. Human exposure to metals. Pathways of exposure, biomarkers of effect, and host factors. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 56, n. 1, p. 93–103, set. 2003.

CANADA, H. **Q3D Notice: Health Canada recommendations for implementation of the ICH Harmonised Guideline for Elemental Impurities (Q3D) for new and marketed products**. transparency - other; notices. Disponível em: <<https://www.canada.ca/en/health-canada/services/drugs-health-products/drug-products/applications-submissions/guidance-documents/international-conference-harmonisation/quality/notice-health-canada-recommendations-implementation-harmonised-guideline-elemental-impurities-new-marketed-products.html>>. Acesso em: 18 maio. 2023.

CARVALHO, P. R. C. **Medicina Ortomolecular: um guia completo sobre os nutrientes e suas propriedades terapêuticas**. 2. ed. Rio de Janeiro/RJ: Record: Nova Era, 2002.

CASTRO, M. C. et al. Estudo da influência do estágio de lactação na concentração dos principais ácidos graxos de lactante com bebê nascido a termo. **Research, Society and Development**, v. 10, n. 14, p. e308101422174–e308101422174, 2 nov. 2021.

CEKIC, O. Effect of cigarette smoking on copper, lead, and cadmium accumulation in human lens. **British Journal of Ophthalmology**, v. 82, n. 2, p. 186–188, 1 fev. 1998.

CERVANTES-YÉPEZ, S.; LÓPEZ-ZEPEDA, L. S.; FORTOUL, T. I. Vanadium inhalation induces retinal Müller glial cell (MGC) alterations in a murine model. **Cutaneous and Ocular Toxicology**, v. 37, n. 2, p. 200–206, 3 abr. 2018.

CEYLAN, O. et al. Evaluation of Essential and Toxic Trace Elements in Pseudoexfoliation Syndrome and Pseudoexfoliation Glaucoma. **Biological trace element research**, v. 153, 20 mar. 2013.

CHAWLA, R. K. et al. Risk Assessment, Screening and Control of Elemental Impurities in Pharmaceutical Drug Products: A Review. **Current Pharmaceutical Analysis**, v. 16, n. 7, p. 801–805, 1 nov. 2020.

CHEN, W. et al. Changes in Rabbit Corneal Innervation Induced by the Topical Application of Benzalkonium Chloride. **Cornea**, v. 32, n. 12, p. 1599, dez. 2013.

CHEN, Y.; CHEN, Y.; LAI, C. Clinical association between trace elements of tear and dry eye metrics. **Scientific Reports**, v. 12, n. 1, p. 18052, 27 out. 2022.

CHOI, M. R. et al. **Comparison of Environmental Phthalates and Heavy Metals Exposures by Dry Eye Disease Status**. Korean Society of Environmental Health Conference Materials. **Anais**. nov. 2020. Disponível em: <<https://scholar.kyobobook.co.kr/article/detail/4010028378373>>. Acesso em: 18 maio. 2023.

CHOLKAR, K. et al. Eye: anatomy, physiology and barriers to drug delivery. Em: **Ocular Transporters and Receptors**. Sawston, Reino Unido: Woodhead Publishing, 2013. p. 1–36.

CHRAI, S. S. et al. Lacrimal and instilled fluid dynamics in rabbit eyes. **Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 62, n. 7, p. 1112–1121, jul. 1973.

CHUNG, S.; MYONG, J. Are higher blood mercury levels associated with dry eye symptoms in adult Koreans? A population-based cross-sectional study. **BMJ Open**, v. 6, n. 4, p. e010985, 1 abr. 2016.

COMINETTI, C.; COZZOLINO, S. M. F. Bases bioquímicas e fisiológicas da nutrição: nas diferentes fases da vida, na saúde e na doença. 2020.

CONRAD, J. et al. Influence of tonicity and PH on lacrimation and ocular drug bioavailability. **J Parenter Drug Assoc**, v. 32, n. 4, p. 149–61, 1978.

COROI, M. C.; BUNGAU, S.; TIT, M. Preservatives from the eye drops and the ocular surface. **Romanian Journal of Ophthalmology**, v. 59, n. 1, p. 2–5, 2015.

COSTA, A. X. DA et al. Volume da gota dos colírios lubrificantes: estudo farmacoeconômico. **Revista Brasileira de Oftalmologia**, v. 74, p. 339–344, dez. 2015.

CRAIG, J. P. et al. TFOS DEWS II Definition and Classification Report. **The Ocular Surface**, v. 15, n. 3, p. 276–283, jul. 2017.

CUNHA, F. G. DA; MACHADO, G. J. **Estudos de geoquímica ambiental e o impacto na saúde pública no município de São Gonçalo do Piauí, Estado do Piauí**. Brasília: CPRM, 2004. Disponível em: <<http://rigeo.sgb.gov.br/jspui/handle/doc/4864>>. Acesso em: 2 dez. 2023.

DARTT, D.; WILLCOX, M. Complexity of the tear film: Importance in homeostasis and dysfunction during disease. **Experimental eye research**, v. 117, p. 1–3, dez. 2013.

DAVIES, M. J. The pathophysiology of acute coronary syndromes. **Heart**, v. 83, n. 3, p. 361–366, 1 mar. 2000.

DAWCZYNSKI, J. et al. Increased content of zinc and iron in human cataractous lenses. **Biological Trace Element Research**, v. 90, n. 1, p. 15–23, 1 dez. 2002.

DE MIGUEL, E. et al. Risk-based evaluation of the exposure of children to trace elements in playgrounds in Madrid (Spain). **Chemosphere**, v. 66, n. 3, p. 505–513, 1 jan. 2007.

DEBBASCH, C. et al. Mitochondrial Activity and Glutathione Injury in Apoptosis Induced by Unpreserved and Preserved β -Blockers on Chang Conjunctival Cells. **Investigative Ophthalmology & Visual Science**, v. 42, n. 11, p. 2525–2533, 1 out. 2001.

DEL AMO, E. M. Topical ophthalmic administration: Can a drug instilled onto the ocular surface exert an effect at the back of the eye? **Frontiers in Drug Delivery**, v. 2, 2022.

DEL AMO, E. M.; URTTI, A. Current and future ophthalmic drug delivery systems: A shift to the posterior segment. **Drug Discovery Today**, v. 13, n. 3, p. 135–143, 1 fev. 2008.

DEWS CLINICAL TRIALS. Design and Conduct of Clinical Trials: Report of the Clinical Trials Subcommittee of the International Dry Eye WorkShop (2007). **The Ocular Surface**, v. 5, n. 2, p. 153–162, 1 abr. 2007.

DOGRU, M. et al. Changing trends in the treatment of dry-eye disease. **Expert Opinion on Investigational Drugs**, v. 22, n. 12, p. 1581–1601, 1 dez. 2013.

DOLAR-SZCZASNY, J. et al. Levels of Trace Elements in the Aqueous Humor of Cataract Patients Measured by the Inductively Coupled Plasma Optical Emission Spectrometry. **Molecules**, v. 24, n. 22, p. 4127, jan. 2019.

DRY EYE WORKSHOP. The epidemiology of dry eye disease: report of the Epidemiology Subcommittee of the International Dry Eye WorkShop (2007). **The Ocular Surface**, v. 5, n. 2, p. 93–107, abr. 2007.

EKINCI, M. et al. Occupational Exposure to Lead Decreases Macular, Choroidal, and Retinal Nerve Fiber Layer Thickness in Industrial Battery Workers. **Current Eye Research**, v. 39, n. 8, p. 853–858, 1 ago. 2014.

EMA. **ICH Q3D Elemental impurities**. Text. Disponível em: <<https://www.ema.europa.eu/en/ich-q3d-elemental-impurities>>. Acesso em: 4 nov. 2022.

EMA, E. M. A. **Guideline on the Specification Limits for Residues of Metal Catalysts or Metal Reagents**. Committee For Medicinal Products For Human Use (CHMP), , 21 fev. 2008. Disponível em: <https://www.ema.europa.eu/en/documents/scientific-guideline/guideline-specification-limits-residues-metal-catalysts-metal-reagents_en.pdf>

ERIE, J. C. et al. Heavy Metal Concentrations in Human Eyes. **American Journal of Ophthalmology**, v. 139, n. 5, p. 888–893, 1 maio 2005.

EZEABARA, C. et al. Heavy Metal Contamination of Herbal Drugs: Implication for Human Health-A Review. **International Journal of Tropical Disease & Health**, v. 4, p. 1044–1058, 10 jan. 2014.

FALLAHI, P. et al. Induction of Th1 chemokine secretion in dermal fibroblasts by vanadium pentoxide. **Molecular Medicine Reports**, v. 17, n. 5, p. 6914–6918, 1 maio 2018.

FARKOUH, A.; FRIGO, P.; CZEJKA, M. Systemic side effects of eye drops: a pharmacokinetic perspective. **Clinical Ophthalmology (Auckland, N.Z.)**, v. 10, p. 2433–2441, 2016.

FONSECA, E. C.; ARRUDA, G. V.; ROCHA, E. M. Dry eye: etiopathogenesis and treatment. **Brazilian Archives of Ophthalmology**, v. 73, p. 197–203, abr. 2010.

FOULKES, G. N. Challenges and Pitfalls in Clinical Trials of Treatments for Dry Eye. **The Ocular Surface**, v. 1, n. 1, p. 20–30, 1 jan. 2003.

FRAGA, C. G.; OTEIZA, P. I. Iron toxicity and antioxidant nutrients. **Toxicology**, v. 180, n. 1, p. 23–32, 30 out. 2002.

FRAUNFELDER, F. W.; RICH, L. F. Possible adverse effects of drugs used in refractive surgery. **Journal of Cataract & Refractive Surgery**, v. 29, n. 1, p. 170–175, 1 jan. 2003.

FREUND, P. et al. Clinicopathological Correlates: Chronic Arsenic Toxicity Causing Bilateral Symmetric Progressive Optic Neuropathy. **Journal of Neuro-Ophthalmology: The Official Journal of the North American Neuro-Ophthalmology Society**, v. 40, n. 3, p. 423–427, set. 2020.

GARCIA, M. D. et al. Cobalt toxic optic neuropathy and retinopathy: Case report and review of the literature. **American Journal of Ophthalmology Case Reports**, v. 17, p. 100606, 1 mar. 2020.

GARNER, B. et al. Distribution of Ferritin and Redox-active Transition Metals in Normal and Cataractous Human Lenses. **Experimental Eye Research**, v. 71, n. 6, p. 599–607, 1 dez. 2000.

GERONIMO, A. C. R. et al. Human Health Risk Assessment of Heavy Metals and Metalloids in Herbal Medicines Used to Treat Anxiety: Monitoring of Safety. **Frontiers in Pharmacology**, v. 12, p. 772928, 2021.

GOLDEN, M. I.; MEYER, J. J.; PATEL, B. C. **Dry Eye Syndrome**. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing, 2022.

GOLDSTEIN, M. H. et al. Ocular benzalkonium chloride exposure: problems and solutions. **Eye**, v. 36, n. 2, p. 361–368, fev. 2022.

GOMES, J. A. P. et al. TFOS DEWS II iatrogenic report. **The Ocular Surface**, TFOS International Dry Eye WorkShop (DEWS II). v. 15, n. 3, p. 511–538, 1 jul. 2017.

GOMES, M. R.; ROGERO, M. M.; TIRAPEGUI, J. Considerações sobre cromo, insulina e exercício físico. **Revista Brasileira de Medicina do Esporte**, v. 11, p. 262–266, out. 2005.

GROPPER, S. S.; SMITH, J. L.; CARR, T. P. **Advanced Nutrition and Human Metabolism**. 6. ed. Boston, Massachusetts, EUA: Cengage Learning, 2012.

GUO, B. et al. Prevalence of Dry Eye Disease in Mongolians at High Altitude in China: The Henan Eye Study. **Ophthalmic Epidemiology**, v. 17, n. 4, p. 234–241, 1 ago. 2010.

HADDAD, H. H. The Effect of Heavy Metals Cadimium, Chromium and Iron Accumulation in Human Eyes. **American Journal of Analytical Chemistry**, v. 3, n. 10, p. 710–713, 30 out. 2012.

HADDAD, N.; ALASADI, S.; HADDAD, H. Contamination of Heavy Metals (Lead, Zinc, Magnesium and Manganese) Concentrations in Human Eyes. **American Journal of Analytical Chemistry**, v. 337065, p. 491–494, 6 jul. 2012.

HAN, S. B. et al. Prevalence of Dry Eye Disease in an Elderly Korean Population. **Archives of Ophthalmology**, v. 129, n. 5, p. 633–638, 9 maio 2011.

HASHEMI, H. et al. Prevalence of dry eye syndrome in an adult population. **Clinical & Experimental Ophthalmology**, v. 42, n. 3, p. 242–248, 2014.

HOHBERGER, B. et al. Levels of aqueous humor trace elements in patients with open-angle glaucoma. **Journal of Trace Elements in Medicine and Biology**, v. 45, p. 150–155, 1 jan. 2018.

HOŁYŃSKA-IWAN, I. et al. Nickel ions influence the transepithelial sodium transport in the trachea, intestine and skin. **Scientific Reports**, v. 13, n. 1, p. 6931, 28 abr. 2023.

HYUN, H. J. et al. Depletion of intracellular zinc and copper with TPEN results in apoptosis of cultured human retinal pigment epithelial cells. **Investigative Ophthalmology & Visual Science**, v. 42, n. 2, p. 460–465, fev. 2001.

ICH. **Guideline for Elemental Impurities Q3D (R2)**. The International Council for Harmonisation of Technical Requirements for Pharmaceuticals for Human, 26 abr. 2022. Disponível em: <https://database.ich.org/sites/default/files/Q3D-R2_Guideline_Step4_2022_0308.pdf>. Acesso em: 28 out. 2022.

JACOBS, D. S. **Conjunctivitis**. Disponível em: <<https://www.uptodate.com/contents/conjunctivitis>>. Acesso em: 17 out. 2023.

JAENEN, N. et al. Ocular Symptoms and Signs with Preserved and Preservative-Free Glaucoma Medications. **European Journal of Ophthalmology**, v. 17, n. 3, p. 341–349, 1 maio 2007.

JÄRVINEN, K.; JÄRVINEN, T.; URTTI, A. Ocular absorption following topical delivery. **Advanced Drug Delivery Reviews**, Ocular Drug Delivery. v. 16, n. 1, p. 3–19, 1 ago. 1995.

JIE, Y. et al. Prevalence of dry eye among adult Chinese in the Beijing Eye Study. **Eye**, v. 23, n. 3, p. 688–693, mar. 2009.

JOMOVA, K. et al. Arsenic: toxicity, oxidative stress and human disease. **Journal of Applied Toxicology**, v. 31, n. 2, p. 95–107, 2011.

JONES, L. et al. TFOS DEWS II Management and Therapy Report. **The Ocular Surface**, TFOS International Dry Eye WorkShop (DEWS II). v. 15, n. 3, p. 575–628, 1 jul. 2017.

JONMAIRE, P. Molybdenum. Em: **Hamilton & Hardy's Industrial Toxicology**. [s.l.] John Wiley & Sons, Ltd, 2015. p. 167–172.

JÜNEMANN, A. G. M. et al. Levels of Aqueous Humor Trace Elements in Patients with Non-Exsudative Age-related Macular Degeneration: A Case-control Study. **PLOS ONE**, v. 8, n. 2, p. e56734, 15 fev. 2013.

JUNG, S. J.; LEE, S. H. Association between Three Heavy Metals and Dry Eye Disease in Korean Adults: Results of the Korean National Health and Nutrition Examination Survey. **Korean Journal of Ophthalmology**, v. 33, n. 1, p. 26–35, 1 fev. 2019.

KAMEYAMA, Y. et al. Comparative Study of Pharmacopoeias in Japan, Europe, and the United States: Toward the Further Convergence of International Pharmacopoeial Standards. **Chemical and Pharmaceutical Bulletin**, v. 67, n. 12, p. 1301–1313, 1 dez. 2019.

KAN, E. et al. Presence of Dry Eye in Patients with Hashimoto's Thyroiditis. **Journal of Ophthalmology**, v. 2014, p. e754923, 14 dez. 2014.

KANNAN, R. et al. Tear proteomics in dry eye disease. **Indian Journal of Ophthalmology**, v. 71, n. 4, p. 1203–1214, abr. 2023.

KAPARWAN, A. Hexavalent Chromium Induced Toxicity in Nature and Living Beings. **International Educational Scientific Research Journal**, v. 9, n. 2, fev. 2023.

KARAKÜÇÜK, S. et al. Selenium concentrations in serum, lens and aqueous humour of patients with senile cataract. **Acta Ophthalmologica Scandinavica**, v. 73, n. 4, p. 329–332, 1995.

KARASULU, H. Y. Microemulsions as novel drug carriers: the formation, stability, applications and toxicity. **Expert Opinion on Drug Delivery**, v. 5, n. 1, p. 119–135, jan. 2008.

KEISTER, J. C. et al. Limits on optimizing ocular drug delivery. **Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 80, n. 1, p. 50–53, jan. 1991.

KHOKHAR, Z. ULLAH et al. Study of laboratory scale preparation and development of a process for barium peroxide. **Science International, Lahore**, v. 23, p. 269–274, 1 jan. 2011.

KHOSLA, P. K.; KARKI, D. B.; GAHLOT, D. K. Retinotoxic effect of zinc, manganese and molybdenum on rabbit retina (an experimental study). **Indian Journal of Ophthalmology**, v. 31, n. 5, p. 545–547, set. 1983.

KIM, Y. C. et al. Ocular delivery of macromolecules. **Journal of Controlled Release**, 30th Anniversary Special Issue. v. 190, p. 172–181, 28 set. 2014.

KLOTZ, K. et al. The Health Effects of Aluminum Exposure. **Deutsches Ärzteblatt International**, v. 114, n. 39, p. 653–659, set. 2017.

KOMAROVA, T. et al. Trace Element Analysis in Whole Blood and Plasma for Reference Levels in a Selected Queensland Population, Australia. **International Journal of Environmental Research and Public Health**, v. 18, n. 5, p. 2652, 6 mar. 2021.

KOMPELLA, U. B.; KADAM, R. S.; LEE, V. H. L. Recent advances in ophthalmic drug delivery. **Therapeutic Delivery**, v. 1, n. 3, p. 435–456, set. 2010.

KORKMAZ, Ş. et al. Magnesium: Effect on ocular health as a calcium channel antagonist. **Journal of Clinical and Experimental Investigations**, v. 4, n. 2, p. 244–251, 13 jun. 2013.

KOVAL'SKII, V. V.; IAROVAIA, G. A.; SHMAVONIAN, D. M. [Modification of human and animal purine metabolism in conditions of various molybdenum bio-geochemical areas]. **Zhurnal Obshchei Biologii**, v. 22, p. 179–191, 1961.

LEE, S. H. et al. Three Toxic Heavy Metals in Open-Angle Glaucoma with Low-Teen and High-Teen Intraocular Pressure: A Cross-Sectional Study from South Korea. **PLOS ONE**, v. 11, n. 10, p. e0164983, 21 out. 2016.

LEMP, M. A. Advances in Understanding and Managing Dry Eye Disease. **American Journal of Ophthalmology**, v. 146, n. 3, p. 350- 356.e1, 1 set. 2008.

LEWIS, R. L.; SWEET, D. V. **Registry of Toxic effects of Chemical Substances, 1983-84 cumulative supplement to the 1981-82 edition. Volumes 1 and 2.** [s.l.] Advanced Engineering and Planning Corp., Inc., Rockville, MD (USA), 1 nov. 1985. Disponível em: <<https://www.osti.gov/biblio/6680409>>. Acesso em: 24 jan. 2024.

LI, G. et al. Elemental Impurities in Pharmaceutical Excipients. **Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 104, n. 12, p. 4197–4206, 1 dez. 2015.

LI, M. et al. Assessment of Vision-Related Quality of Life in Dry Eye Patients. **Investigative Ophthalmology & Visual Science**, v. 53, n. 9, p. 5722–5727, 17 ago. 2012.

LIENERT, J. P. et al. Long-term Natural History of Dry Eye Disease from the Patient's Perspective. **Ophthalmology**, v. 123, n. 2, p. 425–433, 1 fev. 2016.

LIM, C. A. et al. The effect of cobalt on the human eye. **Documenta Ophthalmologica**, v. 130, n. 1, p. 43–48, 1 fev. 2015.

LIOU, Y. et al. Associations between Biomarkers of Metal Exposure and Dry Eye Metrics in Shipyard Welders: A Cross-Sectional Study. **International Journal of Environmental Research and Public Health**, v. 19, n. 4, p. 2264, jan. 2022.

LONG, G. L.; WINEFORDNER, J. D. **Limit of detection. A closer look at the IUPAC definition.** research-article. Disponível em: <<https://pubs.acs.org/doi/pdf/10.1021/ac00258a001>>. Acesso em: 7 nov. 2022.

LOZI, A. A. **Toxicidade comparada dos metais pesados, arsênio, cádmio, chumbo, cromo e níquel, sobre parâmetros reprodutivos de camundongos**

machos adultos após exposição aguda. Dissertação (Mestrado em Biologia Animal) - Viçosa: Universidade Federal de Viçosa, 28 fev. 2019.

LU, P. et al. Dry Eye Syndrome in Elderly Tibetans at High Altitude: A Population-based Study in China. **Cornea**, v. 27, n. 5, p. 545, jun. 2008.

LU, Z.-Y.; GONG, H.; AMEMIYA, T. Aluminum Chloride Induces Retinal Changes in the Rat. **Toxicological Sciences**, v. 66, n. 2, p. 253–260, 1 abr. 2002.

MAHAN, L. K.; RAYMOND, J. L. **Krause Alimentos, Nutrição e Dietoterapia**. 14ª edição ed. Rio de Janeiro/RJ: GEN Guanabara Koogan, 2018.

MAHURPAWAR, M. Effects of Heavy Metals on Human Health. **International Journal of Research -GRANTHAALAYAH**, v. 3, n. 9SE, p. 1–7, 30 set. 2015.

MALET, F. et al. Dry eye disease in French elderly subjects: the Alienor Study. **Acta Ophthalmologica**, v. 92, n. 6, p. e429–e436, 2014.

MANI, P.; VIJAYAVATHI, B. S. Nickel as an essential element and a toxicant. **International Journal of Environmental Sciences**, v. 1, p. 285–288, 1 jan. 2012.

MARSHALL, L. L.; ROACH, J. M. Treatment of Dry Eye Disease. **The Consultant Pharmacist**, v. 31, n. 2, p. 96–106, 1 fev. 2016.

MARTIN, S.; GRISWOLD, W. Human Health Effects of Heavy Metals. **Center for Hazardous Substance Research**, 15. mar. 2009.

MATSUSHITA, K. et al. Barium-induced toxic anterior segment syndrome. **European Journal of Ophthalmology**, p. 11206721211069223, 30 dez. 2021.

MCGAHAN, M. C.; BITO, L. Z.; MYERS, B. M. The pathophysiology of the ocular microenvironment. II. Copper-induced ocular inflammation and hypotony. **Experimental Eye Research**, v. 42, n. 6, p. 595–605, 1 jun. 1986.

MEHRI, A. Trace Elements in Human Nutrition (II) – An Update. **International Journal of Preventive Medicine**, v. 11, p. 2, 3 jan. 2020.

MESSMER, E. M. The Pathophysiology, Diagnosis, and Treatment of Dry Eye Disease. *Deutsches Ärzteblatt International*, v. 112, n. 5, p. 71–82, jan. 2015.

NEW JERSEY DEPARTMENT. **Barium Oxide**. Trenton, NJ: New Jersey Department of Health and Senior Services, jun. 2002. Disponível em: <<https://www.nj.gov/health/eoh/rtkweb/documents/fs/0187.pdf>>. Acesso em: 10 out. 2023.

MICUN, Z. et al. Levels of Trace Elements in the Lens, Aqueous Humour, and Plasma of Cataractous Patients—A Narrative Review. **International Journal of Environmental Research and Public Health**, v. 19, n. 16, p. 10376, jan. 2022.

MIDDLETON, J. M. Selenium burn of the eye: Report of a Case, with Review of the Literature. **Archives of Ophthalmology**, v. 38, n. 6, p. 806–811, 1 dez. 1947.

MOFFETT, D.; SMITH-SIMON, C.; STEVENS, Y.-W. **Toxicological profile for barium and barium compounds**. Disponível em:

<<https://stacks.cdc.gov/view/cdc/6955>>. Acesso em: 2 dez. 2023.

MOSS, S. E.; KLEIN, R.; KLEIN, B. E. K. Long-term Incidence of Dry Eye in an Older Population. **Optometry and Vision Science**, v. 85, n. 8, p. 668, ago. 2008.

MUN, E. A. et al. On the Barrier Properties of the Cornea: A Microscopy Study of the Penetration of Fluorescently Labeled Nanoparticles, Polymers, and Sodium Fluorescein. **Molecular Pharmaceutics**, v. 11, n. 10, p. 3556–3564, 6 out. 2014.

NAGARJUNA, A.; MOHAN, D. Biochemical and Histopathological Changes Induced by Nickel in the Striped Mullet, *Mugil cephalus* (Linnaeus 1758). **Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology**, v. 98, n. 1, p. 33–40, 1 jan. 2017.

NAGESWARA, R.; KUMAR, T. M. V. N. An overview of recent applications of inductively coupled plasma-mass spectrometry (ICP-MS) in determination of inorganic impurities in drugs and pharmaceuticals. **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**, v. 43, n. 1, p. 1–13, 4 jan. 2007.

NELKE, K. et al. Occurrence and exposure to lead and cadmium and their environmental influence on eye sight. **Polish Journal of Environmental Studies**, 4, v. 24, p. 1491–1496, 1 jan. 2015.

NG, S. K.; EBNETER, A.; GILHOTRA, J. S. Hip-implant related chorio-retinal cobalt toxicity. **Indian Journal of Ophthalmology**, 1, v. 61, p. 35–37, 23 jan. 2013.

NISHIWAKI-DANTAS, M. C. Olho seco. **Arquivos Brasileiros de Oftalmologia**, v. 62, n. 1, 1999.

NRIAGU, J. Zinc Toxicity in Humans. **Elsevier B. V.**, 2007.

OFFENBACHER, E. G. et al. Metabolic chromium balances in men. **The American Journal of Clinical Nutrition**, v. 44, n. 1, p. 77–82, jul. 1986.

O'NEIL, E. C. et al. Advances in dry eye disease treatment. **Current Opinion in Ophthalmology**, v. 30, n. 3, p. 166–178, maio 2019.

OSKARSSON, A. Chapter 4 - Barium. Em: NORDBERG, G. F.; COSTA, M. (Eds.). **Handbook on the Toxicology of Metals (Fifth Edition)**. Academic Press, 2022. p. 91–100.

PARK, S. J. et al. Five Heavy Metallic Elements and Age-Related Macular Degeneration: Korean National Health and Nutrition Examination Survey, 2008–2011. **Ophthalmology**, v. 122, n. 1, p. 129–137, 1 jan. 2015.

PATEL, A. et al. Ocular drug delivery systems: An overview. **World Journal of Pharmacology**, v. 2, n. 2, p. 47–64, 2013.

PAULSEN, F. P. et al. Animal Model for the Absorption of Lipophilic Substances from Tear Fluid by the Epithelium of the Nasolacrimal Ducts. **Investigative Ophthalmology & Visual Science**, v. 43, n. 10, p. 3137–3143, 1 out. 2002.

PERTOVAARA, M. et al. Clinical follow up study of 87 patients with sicca symptoms (dryness of eyes or mouth, or both). **Annals of the Rheumatic Diseases**, v. 58, n. 7, p. 423–427, 1 jul. 1999.

PINHEIRO, R. et al. The Impact of Glaucoma Medications on Corneal Wound Healing. **Journal of Glaucoma**, v. 25, n. 1, p. 122, jan. 2016.

PIVETA, L. C. et al. Vias de administração ocular e sistema de liberação modificada: revisão de literatura. Em: **Ebook - Ações de Saúde e Geração de Conhecimento nas Ciências Médicas 3**. Ponta Grossa/PR: Atena Editora, 2020.

PORFÍRIO, D. M. **Determinação de macro e microelementos em adoçantes dietéticos por ICP OES**. Dissertação (Mestrado em Química), São Paulo: Universidade de São Paulo, 2004.

PRIME, A. Elemental impurity analysis in regulated pharmaceutical laboratories. **Agilent Technologies, Inc**, 2012.

PUCKER, A. D.; NG, S. M.; NICHOLS, J. J. Over the counter (OTC) artificial tear drops for dry eye syndrome. **Cochrane Database of Systematic Reviews**, n. 2, 2016.

RAGHURAM, P. et al. Heavy metals testing in active pharmaceutical ingredients: an alternate approach. **Die Pharmazie - An International Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 65, n. 1, p. 15–18, 1 jan. 2010.

RAI, P. K. et al. Heavy metals in food crops: Health risks, fate, mechanisms, and management. **Environment International**, v. 125, p. 365–385, 1 abr. 2019.

RAMOS-CASALS, M.; TZIOUFAS, A. G.; FONT, J. Primary Sjögren's syndrome: new clinical and therapeutic concepts. **Annals of the Rheumatic Diseases**, v. 64, n. 3, p. 347–354, mar. 2005.

RAMSAY, E. et al. Impact of Chemical Structure on Conjunctival Drug Permeability: Adopting Porcine Conjunctiva and Cassette Dosing for Construction of In Silico Model. **Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 106, n. 9, p. 2463–2471, 1 set. 2017.

RAMSAY, E. et al. Corneal and conjunctival drug permeability: Systematic comparison and pharmacokinetic impact in the eye. **European Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 119, p. 83–89, 1 jul. 2018.

RIBEIRO, M. V. M. R. O uso de colírios lubrificantes sem preservativos comparado aos lubrificantes com preservativos no tratamento do olho seco: revisão sistemática com metanálise. 1 jul. 2019.

ROETTO, A. et al. Pathogenesis of Hyperferritinemia Cataract Syndrome. **Blood Cells, Molecules, and Diseases**, v. 29, n. 3, p. 532–535, 1 nov. 2002.

ROSA, A. **Descubra tudo sobre a síndrome do olho seco | RetinaPro**. Disponível em: <<https://retinapro.com.br/blog/doenca-ocular/descubra-tudo-sobre-a-sindrome-do-olho-seco/>>. Acesso em: 28 abr. 2023a.

ROSA, R. H. **Determinação e Macro e Microelementos na Inflorescência da Musa paradisiaca L.: Planta Alimentícia não Convencional (PANC)**. Dissertação (Mestrado em Saúde e Desenvolvimento na Região Centro-Oeste)—Campo Grande/MS: Universidade Federal de Mato Grosso do Sul, 2019b.

ROSA, R. H. et al. Determination of Macro- and Microelements in the Inflorescences of Banana Tree Using ICP OES: Evaluation of the Daily Recommendations of Intake for Humans. **The Scientific World Journal**, v. 2020, p. 8383612, 16 nov. 2020.

SALMINEN, L. Review: Systemic Absorption of Topically Applied Ocular Drugs in Humans. **Journal of Ocular Pharmacology and Therapeutics**, v. 6, n. 3, p. 243–249, jan. 1990.

SANDERSON, J.; WHITECOTTON, L. **Analysis of Artificial Tear Eye Drops For Elemental Impurities. Using an ICP-MS and USP <232>/<233> and ICH Q3D(R2)/Q2(R1) protocols.** , 22 jul. 2022. Disponível em: <<https://www.agilent.com/cs/library/applications/application-elemental-impurity-sated-7900-icp-ms-5994-1561en-agilent.pdf>>. Acesso em: 28 out. 2022

SAVAZZI, E. A. **Determination of the presence of Barium, Lead and Chromium in groundwater samples collected from the Bauru Aquifer**. Thesis (Master's degree)—Brazil: University of Sao Paulo, 27 mar. 2009.

SCHAUMBERG, D. A. et al. The International Workshop on Meibomian Gland Dysfunction: Report of the Subcommittee on the Epidemiology of, and Associated Risk Factors for, MGD. **Investigative Ophthalmology & Visual Science**, v. 52, n. 4, p. 1994–2005, mar. 2011.

SCHRAGE, N.; FRENTZ, M.; SPOELER, F. The Ex Vivo Eye Irritation Test (EVEIT) in evaluation of artificial tears: Purite®-preserved versus unpreserved eye drops. **Graefe's Archive for Clinical and Experimental Ophthalmology**, v. 250, n. 9, p. 1333–1340, 1 set. 2012.

SCIENTIFIC, T. F. Spike and Recovery and Linearity of Dilution Assessment. **Thermo Scientific Tech Tip**, v. 58, 2007.

SEGANTINI, E. **Aspectos toxicológicos da contaminação por metais pesados no ser humano**. Instituto de Tecnologia em Alimentos: Instituto de Tecnologia em Alimentos, 1996. v. 8

SHARMA, A.; JAIN, S. Elemental impurities in drug product. v. 2, p. 31–38, 2017.

SHTEIN, R. M. **Dry eye disease**. Disponível em: <<https://www.uptodate.com/contents/dry-eye-disease>>. Acesso em: 17 out. 2023.

SILVA, M. F. DE J. **Avaliação de riscos para a saúde resultantes de misturas de metais potencialmente presentes em medicamentos**. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas), Portugal: Instituto Superior de Ciências da Saúde Egas Moniz, mar. 2017a.

SILVA, R. F. T. **Range and output simulation for elemental impurities in drug products**. Dissertation (Masters in Pharmaceutical Engineering), Portugal: University of Lisbon, 5 dez. 2018.

ŞİMŞEK, C. et al. Current Management and Treatment of Dry Eye Disease. **Turkish Journal of Ophthalmology**, v. 48, n. 6, p. 309–313, 1 dez. 2018.

SOUSA, C. I. P. DE. **Caracterização dos parâmetros da película lacrimal e da topografia corneal na população adulta portuguesa: um estudo piloto**. Dissertação (Mestrado em Optometria Avançada), Portugal: Universidade do Minho, 2014.

SOUZA, I. D. DE. **Determinação de macro, microelementos e avaliação de risco à saúde humana a partir do consumo de plantas medicinais: Bauhinia forficata, Eleusine indica, Synadenium grantii e Orthosiphon stamineus**. Tese (Doutorado em Saúde e Desenvolvimento na Região Centro-Oeste), Campo Grande: Universidade Federal de Mato Grosso do Sul, 2021.

STAPLETON, F. et al. TFOS DEWS II Epidemiology Report. **The Ocular Surface**, TFOS International Dry Eye WorkShop (DEWS II). v. 15, n. 3, p. 334–365, 1 jul. 2017.

SY, A. et al. Expert opinion in the management of aqueous Deficient Dry Eye Disease (DED). **BMC Ophthalmology**, v. 15, n. 1, p. 133, 13 out. 2015.

TAN, L. L. et al. Prevalence of and risk factors for symptomatic dry eye disease in Singapore. **Clinical and Experimental Optometry**, v. 98, n. 1, p. 45–53, 1 jan. 2015.

TCHEGNON, E. et al. Epithelial stem cell homeostasis in Meibomian gland development, dysfunction, and dry eye disease. **JCI insight**, v. 6, n. 20, p. e151078, 22 out. 2021.

THOMPSON, M.; ELLISON, S. L. R.; WOOD, R. Harmonized Guidelines for Single-Laboratory Validation of Methods of Analysis: (IUPAC Technical Report). **Pure and Applied Chemistry**, 5. v. 74, p. 167–172, 2002.

TOGNON, A. L. **Quantificação e avaliação da bioacessibilidade in vitro de micro e macroelementos em frutas, hortaliças e cereais**. Dissertação (Mestrado em Ciências), Ribeirão Preto/SP: Universidade de São Paulo, 20 abr. 2012.

TONG, L. et al. A Questionnaire-Based Assessment of Symptoms Associated with Tear Film Dysfunction and Lid Margin Disease in an Asian Population. **Ophthalmic Epidemiology**, v. 16, n. 1, p. 31–37, 1 jan. 2009.

TONG, L. et al. Assessment and Management of Dry Eye Disease and Meibomian Gland Dysfunction: Providing a Singapore Framework. **The Asia-Pacific Journal of Ophthalmology**, v. 10, n. 6, p. 530, dez. 2021.

UCHINO, M. et al. Dry Eye Disease and Work Productivity Loss in Visual Display Users: The Osaka Study. **American Journal of Ophthalmology**, v. 157, n. 2, p. 294–300, 1 fev. 2014.

UGARTE, M. et al. Iron, zinc, and copper in retinal physiology and disease. **Survey of Ophthalmology**, v. 58, n. 6, p. 585–609, 1 nov. 2013.

USP. <232> - Elemental Impurities - Limits. First Supplement to USP 40–NF 35. [s.l.] The United States Pharmacopeial Convention, 1 dez. 2017. Disponível em: <<https://www.usp.org/sites/default/files/usp/document/our-work/chemical-medicines/key-issues/232-40-35-1s.pdf>>. Acesso em: 5 set. 2023.

UTER, W. et al. Current patch test results with the European baseline series and extensions to it from the 'European Surveillance System on Contact Allergy' network, 2007–2008. **Contact Dermatitis**, v. 67, n. 1, p. 9–19, 2012.

VEHOF, J. et al. The Heritability of Dry Eye Disease in a Female Twin Cohort. **Investigative Ophthalmology & Visual Science**, v. 55, n. 11, p. 7278–7283, 13 nov. 2014a.

VEHOF, J. et al. Prevalence and risk factors of dry eye disease in a British female cohort. **British Journal of Ophthalmology**, v. 98, n. 12, p. 1712–1717, 1 dez. 2014b.

VISHWANATHAN, R.; CHUNG, M.; JOHNSON, E. J. A Systematic Review on Zinc for the Prevention and Treatment of Age-Related Macular Degeneration. **Investigative Ophthalmology & Visual Science**, v. 54, n. 6, p. 3985–3998, 12 jun. 2013.

VISO, E.; RODRIGUEZ-ARES, M. T.; GUDE, F. Prevalence of and Associated Factors for Dry Eye in a Spanish Adult Population (The Salnes Eye Study). **Ophthalmic Epidemiology**, v. 16, n. 1, p. 15–21, 1 jan. 2009.

VOLPE, M. G. et al. Determination and assessments of selected heavy metals in eye shadow cosmetics from China, Italy, and USA. **Microchemical Journal**, v. 101, p. 65–69, 1 mar. 2012.

VON BURG, R.; LIU, D. Chromium and hexavalent chromium. **Journal of Applied Toxicology**, v. 13, n. 3, p. 225–230, 1993.

VYSKOCIL, A.; VIAU, C. Assessment of molybdenum toxicity in humans. **Journal of applied toxicology: JAT**, v. 19, n. 3, p. 185–192, 1999.

WAGGONER, D. J.; BARTNIKAS, T. B.; GITLIN, J. D. The Role of Copper in Neurodegenerative Disease. **Neurobiology of Disease**, v. 6, n. 4, p. 221–230, 1 ago. 1999.

WALRAVENS, P. A. et al. Biochemical Abnormalities in Workers Exposed to Molybdenum Dust. **Archives of Environmental Health: An International Journal**, v. 34, n. 5, p. 302–308, 1 set. 1979.

WAN, K. H.; CHEN, L. J.; YOUNG, A. L. Efficacy and Safety of Topical 0.05% Cyclosporine Eye Drops in the Treatment of Dry Eye Syndrome: A Systematic Review and Meta-analysis. **The Ocular Surface**, v. 13, n. 3, p. 213–225, 1 jul. 2015.

WANG, N. et al. Potential Ecological Risk and Health Risk Assessment of Heavy Metals and Metalloid in Soil around Xunyang Mining Areas. **Sustainability**, v. 11, n. 18, p. 4828, jan. 2019.

WARD, M. F. et al. Racial and Ethnic Differences in the Association Between Diabetes Mellitus and Dry Eye Disease. **Ophthalmic Epidemiology**, v. 26, n. 5, p. 295–300, 3 set. 2019.

WHO. **World report on vision**. Geneva: World Health Organization, 2019.

WHO. **Index of World Pharmacopoeias and Pharmacopoeial Authorities**. World Health Organization, jun. 2022. Disponível em: <https://cdn.who.int/media/docs/default-source/medicines/norms-and-standards/index-of-pharmacopoeias_june_2022.pdf?sfvrsn=5445ecc8_1&download=true>.

WILLCOX, M. D. P. et al. TFOS DEWS II Tear Film Report. **The Ocular Surface**, v. 15, n. 3, p. 366–403, jul. 2017.

WILLIAMSON, J. F. et al. Perceptions of Dry Eye Disease Management in Current Clinical Practice. **Eye & contact lens**, v. 40, n. 2, p. 111–115, mar. 2014.

WOLFFSOHN, J. S. et al. TFOS DEWS II Diagnostic Methodology report. **The Ocular Surface**, TFOS International Dry Eye WorkShop (DEWS II). v. 15, n. 3, p. 539–574, 1 jul. 2017.

WONG, R. W. et al. Iron toxicity as a potential factor in AMD. **RETINA**, v. 27, n. 8, p. 997–1003, out. 2007.

ZENZ, C.; BARTLETT, J. P.; THIEDE, W. H. Acute Vanadium Pentoxide Intoxication. **Archives of Environmental Health: An International Journal**, v. 5, n. 6, p. 542–546, 1 dez. 1962.

APÊNDICE 1 – Testes estatísticos utilizados considerando os resultados das concentrações e das exposições diárias.

Tabela A-1 - Testes estatísticos utilizados considerando os resultados das concentrações de macro e microelementos quantificadas nos colírios lubrificantes apresentados nas Tabelas 5 e 6.

Elemento	Colírio 1*	Colírio 2*	Colírio 3*	Colírio 4*	Colírio 5*	Colírio 6*	Colírio 7*
Al	a	< LOD	< LOD	< LOD	< LOD	< LOD	< LOD
As	a	b	ac	acd	acde	acdef	adg
Ba	a	ab	c	bd	bde	bdef	abdefg
Cd	a	ab	abc	ad	acde	acdef	abcdefg
Co	a	ab	abc	bcd	e	abcdf	abcdfg
Cr	< LOD	< LOD	< LOD	< LOD	< LOD	< LOD	< LOD
Cu	a	ab	abc	abcd	abde	abcdef	abdefg
Fe	a	< LOD	ac	< LOD	< LOD	df	< LOD
Mg	a	ab	Abc	< LOD	e	< LOD	g
Mn	a	ab	Bc	cd	cde	cdef	cdefg
Mo	a	b	Ac	d	acde	acdef	acefg
Ni	a	b	C	cd	cde	cdef	ag
Pb	< LOD	b	< LOD	< LOD	< LOD	< LOD	< LOD
Se	a	b	Ac	acd	acde	acdef	acdeg
V	a	ab	Abc	acd	bce	acdf	abcdeg
Zn	a	b	c	d	e	cdf	cdg

Tabela A-1 - Continuação.

Elemento	Colírio 8*	Colírio 9*	Colírio 10*	Colírio 11*	Colírio 12*	Colírio 13*
Al	< LOD	< LOD	< LOD	< LOD	l	m
As	h	hi	bhij	gk	bkl	bklm
Ba	abgh	ahi	abdfghj	abdefgjk	abdefgjkl	abdefgjklm
Cd	abcdefgh	abcfghi	abdefghij	adefghk	abdefghijkl	abdefghijklm
Co	abdfgh	abcfghi	abdefghij	abdefghijk	abdefghijkl	abdefghijklm
Cr	< LOD	i	< LOD	ik	< LOD	< LOD
Cu	abcdefgh	abdefghi	abdefghij	abdefghijk	abdefghijkl	abdefghijklm
Fe	dfh	< LOD	< LOD	< LOD	l	m
Mg	abch	i	abchj	gk	gkl	abchjm
Mn	abh	abhi	abcfgj	cdefgjk	abdefgjkl	abchijlm
Mo	bh	bhi	bhij	acgk	acgkl	acefgklm
Ni	h	bhi	bhij	agk	bgikl	bgklm
Pb	bh	bi	bhij	hk	bhkl	bhklm
Se	bh	i	bhj	acdegk	bhjl	bhjklm
V	abcdefgh	i	abdefghj	abdefghijk	l	elm
Zn	h	cdfigi	j	k	dl	m

Tabela A-1 - Continuação.

Elemento	Colírio 14*	Colírio 15**	Colírio 16**	Colírio 17**	Colírio 18**	Colírio 19**
Al	an	ano	< LOD	< LOD	r	< LOD
As	gklmn	acdefo	bijp	adgknq	r	gknqs
Ba	bdefgklmn	bdefgjmno	cp	q	bdefgklmnor	ahis
Cd	defgkmn	abcdefghijklmo	abcdefghijklmnp	adefgklmnpq	abcdefghijklmnopqr	adefghijklmnopqrs
Co	abcdfgjklmn	abcdfgghijklmno	abcdfgghijklmnop	abcdfgghijklmnopq	abcdfgghijklmnopqr	abcdfgghijklmnopqrs
Cr	< LOD	< LOD	< LOD	< LOD	< LOD	s
Cu	abdefghijklmn	abcdefghijklmno	abdefghijklmnop	abcfhiq	abcdefghijklmnopqr	abdefghijklmnoprs
Fe	< LOD	o	< LOD	< LOD	mr	dfhos
Mg	abchjmn	abchjmno	< LOD	< LOD	abchjmnor	< LOD
Mn	cdefgjkln	cdefgjkln	cdefgknop	cdefgklmnopq	abchijlmnr	cdefgklmnopqs
Mo	acdefgkmn	defno	acefklmnop	defgnoq	defoqr	acdefgmnopqrs
Ni	acefn	cefno	adgknp	cdefnoq	acdefnoqr	cdefnoqrs
Pb	< LOD	< LOD	< LOD	< LOD	< LOD	< LOD
Se	bcdgklmn	acdefgkno	ip	abcdgklmnoq	fr	bhijklmnqs
V	abcdfhjkn	abcdfghjkno	abcdfhjknop	abcdfhjknopq	abcdfghjkor	abcdfhjknopqs
Zn	en	o	op	opq	enr	s

Notas: *com conservante; ** sem conservante; < LOD - As concentrações do analito estavam abaixo dos limites de detecção; One-Way ANOVA com teste *post hoc* de Tukey; letras diferentes na mesma linha representam diferenças estatísticas.

Tabela A-2 - Testes estatísticos utilizados considerando os valores da exposição diária pela instilação de colírios lubrificantes apresentados nas Tabelas 8 e 9.

Elemento	Colírio 1*	Colírio 2*	Colírio 3*	Colírio 4*	Colírio 5*	Colírio 6*	Colírio 7*
Al	a	< LOD	< LOD	< LOD	< LOD	< LOD	< LOD
As	a	b	c	Ad	ade	acdef	g
Ba	a	b	ac	bd	abde	bdef	acg
Cd	a	ab	c	d	ae	abf	eg
Co	a	ab	abc	abcd	de	abcdf	abcdfg
Cr	< LOD	< LOD	< LOD	< LOD	< LOD	< LOD	< LOD
Cu	a	ab	abc	abcd	abcde	abcdef	abcdefg
Fe	a	< LOD	c	< LOD	< LOD	f	< LOD
Mg	a	ab	abc	< LOD	e	< LOD	g
Mn	a	b	c	cd	cde	cdef	befg
Mo	a	b	c	cd	ae	aef	bg
Ni	a	b	c	cd	cde	cdef	bg
Pb	< LOD	b	< LOD	< LOD	< LOD	< LOD	< LOD
Se	a	ab	c	ad	ae	adf	beg
V	a	ab	abc	abcd	e	abcdf	eg
Zn	a	b	c	cd	cde	f	bg

Tabela A-2 - Continuação.

Elemento	Colírio 8*	Colírio 9*	Colírio 10*	Colírio 11*	Colírio 12*	Colírio 13*
Al	< LOD	< LOD	< LOD	< LOD	l	m
As	h	i	Hj	bgk	il	ilm
Ba	acgh	acghi	Hij	abcefgk	hijl	acghijm
Cd	aegh	aefghi	J	abfik	jl	jlm
Co	abcfgh	abcfghi	abcfghij	abcfghijk	abcfghijkl	abcfghijklm
Cr	< LOD	i	< LOD	ik	< LOD	< LOD
Cu	abcdefgh	abcdefghi	abcdefghij	abcdefgjk	abcdefghijkl	abcdefghijklm
Fe	fh	< LOD	< LOD	< LOD	l	m
Mg	abch	i	abchj	gk	l	abchjm
Mn	ah	ahi	hij	bcdefgk	ahijl	hijlm
Mo	h	hi	j	abgk	hil	bghim
Ni	h	gi	j	bgk	hl	him
Pb	bh	bi	bij	bhk	bhkl	bhklm
Se	h	hi	j	begk	jl	ilm
V	abcfgh	i	abcfghj	abcfghijk	il	m
Zn	h	fi	hj	k	fil	m

Tabela A-2 - Continuação.

Elemento	Colírio 14*	Colírio 15**	Colírio 16**	Colírio 17**	Colírio 18**	Colírio 19**
Al	an	ano	< LOD	< LOD	mr	< LOD
As	bgkn	adefo	adefop	cq	qr	fqs
Ba	abcefgkln	abdefkno	bdfp	abcefgknoq	dpr	prs
Cd	abefhikn	aeghino	p	pq	cr	pqs
Co	abcdfghkln	abcd,fghijklmno	acdfkmp	cdfmnpq	abcdfghijklmnopqr	abcdfgklnopqrs
Cr	< LOD	< LOD	< LOD	< LOD	< LOD	s
Cu	bcdefgijklmn	abcdefgijklmno	bcdefgijklmnop	abcdfghijklmnopq	abcdfghijklmnopqr	bcdefgijklmnopqrs
Fe	< LOD	co	< LOD	< LOD	r	fhs
Mg	abchjmn	abchjmno	< LOD	< LOD	abchjmnor	< LOD
Mn	bfgkn	bcdefgkno	p	pq	bcdefgknor	cpqs
Mo	abegkn	aefo	p	pq	cdpr	pqs
Ni	an	cdefo	cdfp	cdpq	cdefopr	cdpqs
Pb	< LOD	< LOD	< LOD	< LOD	< LOD	< LOD
Se	ghkn	abeko	cp	q	cpqr	pqrs
V	abcdfhn	abcdfhjkno	abcdfnop	abcdfnoq	abcdfghjknor	abcdfnopqs
Zn	cden	o	p	pq	or	fls

Notas: *com conservante; ** sem conservante; < LOD - As concentrações do analito estavam abaixo dos limites de detecção; One-Way ANOVA com teste *post hoc* de Tukey; letras diferentes na mesma linha representam diferenças estatísticas.

APÊNDICE 2 - Artigo publicado

Artigo: Quantification of metal(loid)s in lubricating eye drops used in the treatment of dry eye disease.

Autores: Marcelo de Oliveira, Elaine S. de Pádua Melo, Thaís Carvalho da Silva, Carla Maiara Lopes Cardozo, Igor Valadares Siqueira, Mariana Pereira Hamaji, Vanessa Torres Braga, Luiz Fernando Taranta Martin, Alessandro Fonseca, Valter Aragão do Nascimento.

Molecules 2023, Volume 28, Issue 18, 6508. DOI: <https://doi.org/10.3390/molecules28186508>.

Article

Quantification of Metal(loid)s in Lubricating Eye Drops Used in the Treatment of Dry Eye Disease

Marcelo de Oliveira ^{1,2} , Elaine S. de Pádua Melo ² , Thaís Carvalho da Silva ², Carla Maiara Lopes Cardozo ^{1,2}, Igor Valadares Siqueira ², Mariana Pereira Hamaji ², Vanessa Torres Braga ¹, Luiz Fernando Taranta Martin ², Alessandro Fonseca ²  and Valter Aragão do Nascimento ^{1,2,*} 

¹ Graduate Program in Health and Development in the Central-West Region of Brazil, Federal University of Mato Grosso do Sul, Campo Grande 79079-900, Brazil; mdeoliveira@gmail.com (M.d.O.); nutricarlalopes@gmail.com (C.M.L.C.); nessatorresb@hotmail.com (V.T.B.)

² Group of Spectroscopy and Bioinformatics Applied to Biodiversity and Health, Postgraduation Program in Health and Development in the Midwest Region, School of Medicine, Faculty of Medicine, Federal University of Mato Grosso do Sul, Campo Grande 79079-900, Brazil; elainespmdelo@hotmail.com (E.S.d.P.M.); tata.silva1772@gmail.com (T.C.d.S.); igorvaladares@gmail.com (I.V.S.); marihamaji@gmail.com (M.P.H.); luiztaranta@gmail.com (L.F.T.M.); acfms2005@gmail.com (A.F.)

* Correspondence: aragao60@hotmail.com

Abstract: The aim of the study was to evaluate the presence of metal(loid)s in lubricating eye drops used in the treatment of dry eye disease. The concentrations of Al, As, Ba, Cd, Co, Cu, Cr, Pb, Fe, Mg, Mn, Mo, Ni, Se, V, and Zn were determined in 19 eye drop samples using inductively coupled plasma optical emission spectrometry (ICP OES). The limit of detection (LOD) and limit of quantification (LOQ) values for the quantified elements ranged from 0.0002–0.0363 (mg/L) and 0.0007–0.1211 (mg/L), respectively. High values of concentrations of Al (2.382 µg/g), As (0.204 µg/g), Ba (0.056 µg/g), Cd (0.051 µg/g), Co (1.085 µg/g), Cr (0.020 µg/g), Cu (0.023 µg/g), Fe (0.453 µg/g), Mg (24.284 µg/g), Mn (0.014 µg/g), Mo (0.046 µg/g), Ni (0.071 µg/g), Pb (0.049 µg/g), Se (0.365 µg/g), V (0.083 µg/g), and Zn (0.552 µg/g) were quantified in samples of eye drops with and without preservatives. The concentrations of As (5 samples) and Cd (3 samples) were higher than those allowed by the Brazilian Pharmacopoeia for impurities (parenteral use). The value of Co content (µg/g) in a sample was higher than the value established by the International Council for Harmonization of Technical Requirements for Pharmaceuticals for Human Use (ICH Q3D (R2)) in the parenteral route. The daily eye drop instillation exposure (µg/day) was below the values from the parenteral-permitted daily exposure (PDE) set by the ICH Q3D guideline (R2). The presence of heavy metals in eye drops is an alert to regulatory agencies in several countries so that control and inspections can be carried out.

Keywords: heavy metals; metalloids; lubricating eye drops; dry eye disease



Citation: Oliveira, M.d.; Melo, E.S.d.P.; Silva, T.C.d.; Cardozo, C.M.L.; Siqueira, I.V.; Hamaji, M.P.; Braga, V.T.; Martin, L.F.T.; Fonseca, A.; Nascimento, V.A.d. Quantification of Metal(loid)s in Lubricating Eye Drops Used in the Treatment of Dry Eye Disease. *Molecules* **2023**, *28*, 6508. <https://doi.org/10.3390/molecules28186508>

Academic Editor: Victoria Samanidou

Received: 17 August 2023

Revised: 1 September 2023

Accepted: 3 September 2023

Published: 7 September 2023



Copyright: © 2023 by the authors. Licensee MDPI, Basel, Switzerland. This article is an open access article distributed under the terms and conditions of the Creative Commons Attribution (CC BY) license (<https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>).

1. Introduction

According to the World Health Organization (WHO, 2019), eye conditions that do not typically cause vision impairment, such as dry eye (DE), must not be overlooked [1]. Therefore, several countries have sought solutions to prevent and treat this disease [2]. Dry eye disease, also called dry eye syndrome, dysfunctional tear syndrome, and keratitis sicca, is a multifactorial disease of the ocular surface characterized by the loss of tear film homeostasis [3,4], which affects millions of people [4], with adults over 40 years of age and women being the most affected [5]. The most common causes of dry eye disease are age, menopause, hormonal changes, autoimmune diseases, inflamed eyelid glands, and allergic eye diseases. Further causes include the constant or excessive use of computers, exposure to air conditioning, the use of contact lenses, and the ingestion of drugs, such as benzodiazepines, antidepressants, antihistamines, and analgesics [3].

The diagnosis of DE is made from the identification of the symptoms and clinical tests. However, this disease has multiple symptoms and signs that often do not correlate with one another. As a result, greater attention is being paid to diagnosing and imaging technologies to assess the type and severity of dry eye disease [5–7]. Conventional treatments incorporate lubricating eye drops or artificial tears, which can be effective in mild and moderate cases [8]. In addition, lubricating eye drops have different levels of osmolarity, pH, and viscosity; however, they contain the same aqueous component that is important in lubricating the ocular surface [9].

The eye drops used in dry eye disease may contain preservatives in order to avoid contamination of bacteria in the vials after opening [10]. Although, chronic use of preservatives can cause significant damage to the eye tissues [11]. On the other hand, lubricating eye drops without preservatives can minimize the effects of irritation and ocular toxicity; however, they are expensive and the bottle is difficult to handle, especially for elderly patients [12].

Previous studies have reported that metals and metalloids play an important role in the pathogenesis of several ophthalmological disorders, such as Cd, Cu, Fe, Hg, Ni, and Zn in glaucoma [13,14], as well as the elements As, Cd, Co, Cr, Cu, Fe, Hg, Ni, and Pb in age-related macular degeneration (AMD) [15–17], Al, Bi, Cd, Cs, Fe, Pb, Te, and Tl in cataracts [18,19], and Cd, Hg, and Pb in dry eye disease [20–24]. Furthermore, there is a significant level of heavy metals in the aqueous humor [14,25], as well as in the lens [19,25,26], and in the pigment epithelium of the retina and choroid [17,27]. However, clinical studies on the toxicity of heavy metals and metalloids in eye drops with preservatives and without preservatives are scarce.

The impurities present in eye drops can be organic, inorganic, and residual solvents. Most of these impurities occur due to manufacturing processes, degradation, storage conditions, excipients, or contamination [28–30]. In this context, some countries have pharmacopoeias that establish quality parameters and analysis methods for supplies and medicines [31–33]. However, in the absence of information in their pharmacopoeias, some countries resort to the guidelines for elemental impurities (ICH Q3D), which are established by the International Council for Harmonization of Technical Requirements for Pharmaceuticals for Human Use (ICH) [34–36].

Since metals have various oxidation states, their toxicities are different [37]. Cr (III) is essential to health human, while Cr (VI) is highly toxic [38]. In addition, pentavalent methylated arsenicals are less toxic, while trivalent methylated species are highly cytotoxic [38]. Various transition metal ions are toxic and produce various types of diseases in the body. Metal ions are present in water, soil, sediment, and blood samples and their valence state plays a crucial role for absorption and dynamics behavior in the biological context [37,39]. In light of the above, it has been observed that more research is needed to investigate the values of the concentrations of metal(loid)s in various types of medication and compare them with the values established by the regulatory agencies.

The ICH Q3D guideline, currently in version 2 (R2), presents a process to assess and control elemental impurities in the drug product administered orally, parenterally, and inhaled; that is, it establishes the limits of permitted daily exposure (PDE) in $\mu\text{g}/\text{day}$ for each element of toxicological concern and the concentration-permitted levels of impurities in drugs, drug substances, and excipients [40–42]. However, to date, permitted concentrations and daily exposure of metal(loid)s for the ophthalmic route have not been established [31,40,43].

Motivated by the results published in Refs. [13–24], who demonstrated that potential risks to ocular health may be related to the presence of heavy metals, our study aimed to evaluate, for the first time, the presence of Al (aluminum), As (arsenium), Ba (barium), Cd (cadmium), Co (cobalt), Cr (chromium), Cu (copper), Fe (iron), Mg (magnesium), Mn (manganese), Mo (molybdenum), Ni (nickel), Pb (lead), Se (selenium), V (vanadium), and Zn (zinc) in Brazilian lubricating eye drops with and without preservatives used in the treatment of dry eye disease. In addition, the contents of chemical elements in the

studied eye drop samples were compared with the values of allowed concentrations of permitted concentration of elemental impurities established by the Brazilian Pharmacopoeia (BP) [31], as well as elemental impurity values set by the ICH Q3D (R2) [40], and PDE values recommended by the ICH Q3D guideline (R2) in the parenteral route [40].

2. Results

The results were presented as follows: Section 2.1 outlines the results of the analyte addition and recovery test; the result of the calibration curve is shown in Section 2.2; in Section 2.3, data on the concentrations of heavy metals and metalloids quantified ($\mu\text{g/g}$) in samples of lubricating eye drops and the comparison with the values of permissible concentrations of elemental impurities established in the parenteral route of Brazilian Pharmacopoeia (BP) [31] and ICH guideline Q3D (R2) [40] are presented. The latter data (Section 2.4) provides data on the exposure to heavy metals and metalloids during the daily instillation of lubricating eye drops in the eyes ($\mu\text{g/day}$) and the comparison with the PDE values established by the ICH Q3D guideline (R2) via the parenteral route.

2.1. Analyte Addition and Recovery Test

A spike was generated by adding a known amount (0.5 mg/L) of analyte to a sample, testing the spiked sample. The recovery results were as follows: Al 91.37%, As 90.86%, Ba 95.38%, Cd 96.12%, Co 90.57%, Cr 99.05%, Cu 91.69%, Fe 96.19%, Mg 97.13%, Mn 95.31%, Mo 90.23%, Ni 92.70%, Pb 95.85%, Se 97.10%, V 91.12%, and Zn 98.17%.

2.2. Calibration Curves

The range values of the detection limits (LOD), quantification limits (LOQ), and correlation coefficients (R^2) for the detected elements were 0.0002–0.0363 (mg/L), 0.0007–0.1211 (mg/L), and 0.9968–0.9996, respectively. Table 1 presents the parameters of the calibration curve and the values obtained for the LOD, LOQ, and R^2 .

Table 1. Calibration equations ($y = ax + b$), R^2 , LOD, and LOQ obtained through external calibration.

Element	Calibration Equations $y = ax + b$	LOD (mg/L)	LOQ (mg/L)	R^2
Al	$y = 5875x - 44.236$	0.0363	0.1211	0.9996
As	$y = 449.7x + 1.2977$	0.0036	0.0121	0.9996
Ba	$y = 813,519x - 1440$	0.0003	0.0010	0.9995
Cd	$y = 14,392x - 47.211$	0.0005	0.0018	0.9994
Co	$y = 5674.7x - 0.31$	0.0010	0.0033	0.9995
Cr	$y = 17,967x + 30.812$	0.0011	0.0037	0.9994
Cu	$y = 22,046x + 10.232$	0.0020	0.0067	0.9996
Fe	$y = 10,379x + 18.352$	0.0065	0.0217	0.9994
Mg	$y = 381,472x + 1439$	0.0017	0.0057	0.9994
Mn	$y = 63,173x - 33.596$	0.0002	0.0007	0.9994
Mo	$y = 3475.6x - 5.3857$	0.0006	0.0019	0.9993
Ni	$y = 5121.1x - 4.011$	0.0011	0.0038	0.9994
Pb	$y = 995.99x + 9.5888$	0.0050	0.0168	0.9993
Se	$y = 357.79x - 3.0524$	0.0045	0.0149	0.9968
V	$y = 32,973x - 18.426$	0.0010	0.0032	0.9995
Zn	$y = 10,718x - 37.313$	0.0016	0.0052	0.9989

* y = intensity; a = slope; x = concentration (mg/L); and b = intercept.

2.3. Concentration of Metal(loid)s in Lubricating Eye Drops

In this study, the concentrations of metal(loid)s in 19 commercial samples of lubricating eye drops used in the treatment of dry eye disease in Brazil were analyzed using optical emission spectrometry with inductively coupled plasma (ICP OES). A total of fourteen samples with preservatives (samples 1–14) and five without preservatives (samples 15–19) were analyzed. Table 2 shows the concentrations of Al, As, Ba, Cd, Co, Cr, Cu, Fe, Mg, Mn, Mo, Ni, Pb, Se, V, and Zn quantified in lubricating eye drops with

preservatives and without preservatives compared with the permitted concentrations of elemental impurities established by the BP [31] and ICH Q3D (R2) guideline for parenteral administration [40]. Figure 1 shows the values of metal(loid) concentrations quantified in the eye drop samples with and without preservatives. The concentration of Al in the eye drop samples 2–11, 16, 17, and 19, Cr in samples 1–8, 10, and 12–18, Fe in samples 2, 4, 5, 7, 9–11, 14, 16, and 17, Mg in samples 4, 6, 17, 18, and 19, and Pb in samples 1, 3–7, and 14–19 are all below the limit of detection (<LOD).

Table 2. Concentration of quantified metal(loid)s in lubricating eye drops compared with the permitted concentration of elemental impurities established by the BP [31] and ICH Q3D (R2) guideline for parenteral administration [40].

Element	Eye Drops 1 * (µg/g)	Eye Drops 2 * (µg/g)	Eye Drops 3 * (µg/g)	Eye Drops 4 * (µg/g)	Eye Drops 5 * (µg/g)	Eye Drops 6 * (µg/g)	Eye Drops 7 * (µg/g)	BP (µg/g)	ICH Q3D (R2) (µg/g)
Al	0.090 ± 0.020	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	NA	NA
As	0.091 ± 0.006	0.169 ± 0.009	0.077 ± 0.017	0.088 ± 0.005	0.079 ± 0.007	0.072 ± 0.008	0.108 ± 0.011	0.15	1.5
Ba	0.027 ± 0.003	0.024 ± 0.001	0.042 ± 0.001	0.021 ± 0.001	0.021 ± 0.001	0.021 ± 0.001	0.024 ± 0.002	NA	70
Cd	0.049 ± 0.001	0.051 ± 0.002	0.051 ± 0.002	0.046 ± 0.001	0.047 ± 0.002	0.048 ± 0.0005	0.048 ± 0.0005	0.05	0.2
Co	0.026 ± 0.004	0.032 ± 0.002	0.029 ± 0.004	0.014 ± 0.001	1.085 ± 0.019	0.024 ± 0.003	0.025 ± 0.005	NA	0.5
Cr	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	2.5	110
Cu	0.015 ± 0.001	0.012 ± 0.001	0.021 ± 0.002	0.008 ± 0.001	0.004 ± 0.002	0.011 ± 0.014	0.007 ± 0.002	25	30
Fe	0.167 ± 0.009	<LOD	0.170 ± 0.020	<LOD	<LOD	0.022 ± 0.003	<LOD	NA	NA
Mg	0.315 ± 0.008	0.272 ± 0.01	0.194 ± 0.01	<LOD	8.224 ± 0.248	<LOD	5.346 ± 0.162	NA	NA
Mn	0.013 ± 0.002	0.012 ± 0.001	0.009 ± 0.001	0.007 ± 0.001	0.006 ± 0.001	0.008 ± 0.001	0.008 ± 0.001	25	NA
Mo	0.033 ± 0.002	0.043 ± 0.002	0.032 ± 0.002	0.026 ± 0.001	0.028 ± 0.003	0.029 ± 0.001	0.033 ± 0.002	2.5	150
Ni	0.040 ± 0.003	0.060 ± 0.005	0.030 ± 0.004	0.023 ± 0.002	0.026 ± 0.003	0.028 ± 0.002	0.048 ± 0.002	2.5	2
Pb	<LOD	0.032 ± 0.006	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	0.1	0.5
Se	0.245 ± 0.007	0.303 ± 0.01	0.256 ± 0.013	0.248 ± 0.006	0.245 ± 0.014	0.229 ± 0.008	0.261 ± 0.01	NA	8
V	0.014 ± 0.001	0.017 ± 0.005	0.018 ± 0.003	0.014 ± 0.005	0.029 ± 0.003	0.011 ± 0.004	0.026 ± 0.007	2.5	1
Zn	0.246 ± 0.004	0.087 ± 0.003	0.066 ± 0.002	0.052 ± 0.001	0.037 ± 0.002	0.059 ± 0.003	0.065 ± 0.001	NA	NA
Element	Eye Drops 8 * (µg/g)	Eye Drops 9 * (µg/g)	Eye Drops 10 * (µg/g)	Eye Drops 11 * (µg/g)	Eye Drops 12 * (µg/g)	Eye Drops 13 * (µg/g)		BP (µg/g)	ICH Q3D (R2) (µg/g)
Al	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	0.934 ± 0.109	1.255 ± 0.034		NA	NA
As	0.204 ± 0.008	0.195 ± 0.004	0.184 ± 0.004	0.124 ± 0.002	0.147 ± 0.004	0.147 ± 0.008		0.15	1.5
Ba	0.028 ± 0.001	0.031 ± 0.002	0.025 ± 0.001	0.023 ± 0.002	0.025 ± 0.00	0.023 ± 0.001		NA	70
Cd	0.049 ± 0.001	0.051 ± 0.001	0.049 ± 0.001	0.045 ± 0.002	0.049 ± 0.002	0.046 ± 0.002		0.05	0.2
Co	0.031 ± 0.002	0.037 ± 0.002	0.029 ± 0.003	0.026 ± 0.007	0.025 ± 0.005	0.019 ± 0.002		NA	0.5
Cr	<LOD	0.004 ± 0.001	<LOD	0.004 ± 0.001	<LOD	<LOD		2.5	110
Cu	0.015 ± 0.003	0.016 ± 0.002	0.008 ± 0.001	0.003 ± 0.001	0.005 ± 0.002	0.005 ± 0.001		25	30
Fe	0.013 ± 0.004	<LOD	<LOD	<LOD	0.31 ± 0.022	0.427 ± 0.026		NA	NA
Mg	0.653 ± 0.036	24.284 ± 0.769	0.489 ± 0.024	6.004 ± 0.224	5.431 ± 0.178	0.258 ± 0.016		NA	NA
Mn	0.014 ± 0.001	0.014 ± 0.001	0.011 ± 0.0003	0.008 ± 0.001	0.01 ± 0.0004	0.012 ± 0.001		25	NA
Mo	0.043 ± 0.001	0.046 ± 0.001	0.044 ± 0.002	0.035 ± 0.002	0.037 ± 0.001	0.033 ± 0.001		2.5	150
Ni	0.071 ± 0.002	0.065 ± 0.001	0.067 ± 0.003	0.047 ± 0.002	0.056 ± 0.004	0.052 ± 0.004		2.5	2
Pb	0.019 ± 0.003	0.049 ± 0.011	0.037 ± 0.012	0.009 ± 0.001	0.013 ± 0.006	0.015 ± 0.0002		0.1	0.5
Se	0.311 ± 0.013	0.358 ± 0.006	0.317 ± 0.01	0.268 ± 0.014	0.308 ± 0.003	0.299 ± 0.018		NA	8
V	0.018 ± 0.004	0.083 ± 0.005	0.017 ± 0.002	0.022 ± 0.006	0.055 ± 0.004	0.043 ± 0.003		2.5	1
Zn	0.219 ± 0.001	0.058 ± 0.001	0.186 ± 0.002	0.552 ± 0.008	0.049 ± 0.001	0.200 ± 0.002		NA	NA
Element	Eye Drops 14 * (µg/g)	Eye Drops 15 ** (µg/g)	Eye Drops 16 ** (µg/g)	Eye Drops 17 ** (µg/g)	Eye Drops 18 ** (µg/g)	Eye Drops 19 ** (µg/g)		BP (µg/g)	ICH Q3D (R2) (µg/g)
Al	0.073 ± 0.025	0.134 ± 0.039	<LOD	<LOD	2.382 ± 0.219	<LOD		NA	NA
As	0.129 ± 0.001	0.075 ± 0.003	0.178 ± 0.002	0.108 ± 0.009	0.036 ± 0.013	0.122 ± 0.008		0.15	1.5
Ba	0.021 ± 0.001	0.021 ± 0.001	0.039 ± 0.001	0.056 ± 0.002	0.021 ± 0.002	0.03 ± 0.001		NA	70
Cd	0.044 ± 0.001	0.049 ± 0.001	0.048 ± 0.002	0.044 ± 0.002	0.047 ± 0.001	0.046 ± 0.001		0.05	0.2
Co	0.013 ± 0.001	0.028 ± 0.003	0.021 ± 0.003	0.015 ± 0.004	0.028 ± 0.009	0.031 ± 0.002		NA	0.5
Cr	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	0.020 ± 0.003		2.5	110
Cu	0.002 ± 0.001	0.008 ± 0.003	0.006 ± 0.003	0.023 ± 0.006	0.011 ± 0.009	0.006 ± 0.002		25	30
Fe	<LOD	0.076 ± 0.005	<LOD	<LOD	0.453 ± 0.032	0.051 ± 0.011		NA	NA
Mg	0.225 ± 0.009	0.021 ± 0.007	<LOD	<LOD	0.124 ± 0.014	<LOD		NA	NA
Mn	0.009 ± 0.0003	0.008 ± 0.0004	0.007 ± 0.001	0.007 ± 0.001	0.011 ± 0.001	0.008 ± 0.001		25	NA
Mo	0.03 ± 0.002	0.027 ± 0.002	0.032 ± 0.002	0.026 ± 0.001	0.025 ± 0.002	0.029 ± 0.001		2.5	150
Ni	0.034 ± 0.001	0.027 ± 0.003	0.043 ± 0.004	0.026 ± 0.004	0.031 ± 0.003	0.03 ± 0.002		2.5	2
Pb	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD		0.1	0.5
Se	0.278 ± 0.011	0.250 ± 0.004	0.365 ± 0.01	0.277 ± 0.011	0.211 ± 0.009	0.295 ± 0.001		NA	8
V	0.008 ± 0.002	0.014 ± 0.004	0.009 ± 0.004	0.011 ± 0.008	0.026 ± 0.007	0.011 ± 0.003		2.5	1
Zn	0.034 ± 0.002	0.019 ± 0.002	0.022 ± 0.002	0.024 ± 0.001	0.039 ± 0.002	0.136 ± 0.003		NA	NA

Notes: data are presented as mean ± standard deviation. * With preservative; ** without preservative; <LOD—analyte concentrations were below detection limits; and NA—not applicable.

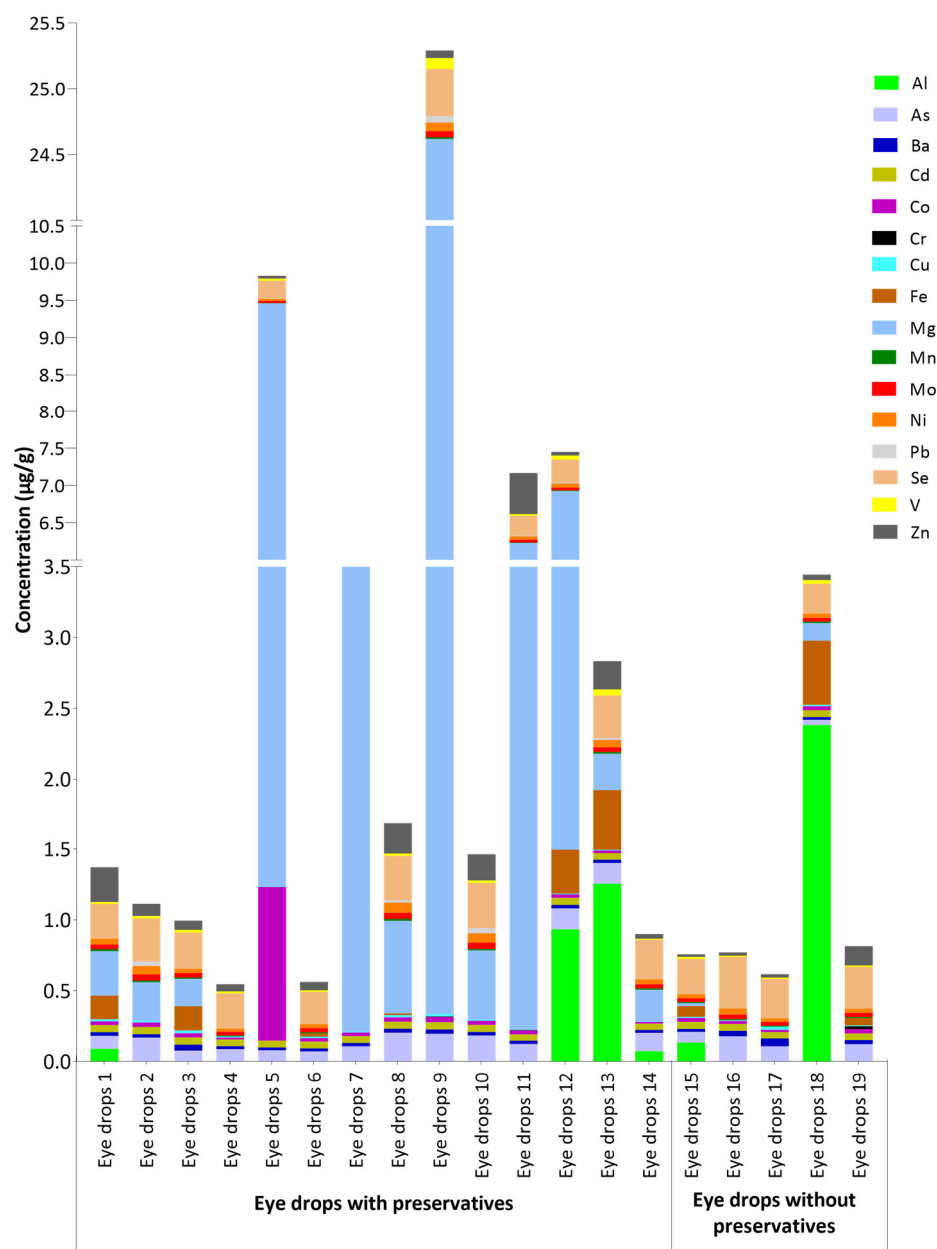


Figure 1. Values of concentrations of metal(loid)s in lubricating eye drops with and without preservatives.

2.4. Exposure to Metal(loid)s by Daily Instillation of Lubricating Eye Drops

Exposure to metal(loid)s through the daily instillation of lubricating eye drops was obtained by multiplying the concentration of quantified elements in the eye drops (Table 2) by the maximum daily dose of the sample [44]. In addition, the results obtained regarding the exposure to metal(loid)s through the daily instillation of lubricating eye drops were compared with the PDE for elemental impurities of the ICH Q3D (R2) guideline for the parenteral route (Table 3). Figure 2 shows the values obtained through the daily instillation of lubricating eye drops in the eyes ($\mu\text{g}/\text{day}$) with and without preservatives.

Table 3. Values of daily instillation of lubricating eye drops compared with the PDE of ICH Q3D (R2) for parenteral administration [40].

Element	Eye Drops 1 * (µg/day)	Eye Drops 2 * (µg/day)	Eye Drops 3 * (µg/day)	Eye Drops 4 * (µg/day)	Eye Drops 5 * (µg/day)	Eye Drops 6 * (µg/day)	PDE of ICH Q3D (R2) for Parenteral Administration (µg/day)
Al	0.041	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	NA
As	0.041	0.069	0.023	0.035	0.040	0.033	15
Ba	0.012	0.010	0.013	0.009	0.010	0.010	700
Cd	0.022	0.021	0.016	0.018	0.024	0.022	2
Co	0.012	0.013	0.009	0.006	0.554	0.011	5
Cr	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	1100
Cu	0.007	0.005	0.006	0.003	0.002	0.005	300
Fe	0.076	<LOD	0.052	<LOD	<LOD	0.010	NA
Mg	0.143	0.111	0.060	<LOD	4.194	<LOD	NA
Mn	0.006	0.005	0.003	0.003	0.003	0.003	NA
Mo	0.015	0.017	0.010	0.010	0.014	0.013	1500
Ni	0.018	0.024	0.009	0.009	0.013	0.012	20
Pb	<LOD	0.013	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	5
Se	0.111	0.124	0.078	0.099	0.125	0.104	80
V	0.007	0.007	0.005	0.006	0.015	0.005	10
Zn	0.111	0.036	0.020	0.021	0.019	0.027	NA

Element	Eye Drops 7 * (µg/day)	Eye Drops 8 * (µg/day)	Eye Drops 9 * (µg/day)	Eye Drops 10 * (µg/day)	Eye Drops 11 * (µg/day)	Eye Drops 12 * (µg/day)	PDE of ICH Q3D (R2) for Parenteral Administration (µg/day)
Al	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	0.570	NA
As	0.057	0.100	0.088	0.109	0.059	0.090	15
Ba	0.013	0.014	0.014	0.015	0.011	0.015	700
Cd	0.025	0.024	0.023	0.029	0.021	0.030	2
Co	0.013	0.015	0.017	0.017	0.013	0.015	5
Cr	<LOD	<LOD	0.002	<LOD	0.002	<LOD	1100
Cu	0.004	0.007	0.007	0.005	0.001	0.003	300
Fe	<LOD	0.006	<LOD	<LOD	<LOD	0.189	NA
Mg	2.812	0.320	11.025	0.288	2.882	3.313	NA
Mn	0.004	0.007	0.006	0.006	0.004	0.006	NA
Mo	0.017	0.021	0.021	0.026	0.017	0.023	1500
Ni	0.025	0.035	0.029	0.040	0.023	0.034	20
Pb	<LOD	0.009	0.022	0.022	0.004	0.008	5
Se	0.137	0.152	0.163	0.187	0.128	0.188	80
V	0.014	0.009	0.038	0.010	0.010	0.034	10
Zn	0.034	0.107	0.026	0.110	0.265	0.030	NA

Element	Eye Drops 13 * (µg/day)	Eye Drops 14 * (µg/day)	Eye Drops 15 ** (µg/day)	Eye Drops 16 ** (µg/day)	Eye Drops 17 ** (µg/day)	Eye Drops 18 ** (µg/day)	Eye Drops 19 ** (µg/day)	PDE of ICH Q3D (R2) for Parenteral Administration (µg/day)
Al	0.753	0.037	0.066	<LOD	<LOD	0.793	<LOD	NA
As	0.088	0.066	0.037	0.036	0.022	0.012	0.024	15
Ba	0.014	0.011	0.010	0.008	0.011	0.007	0.006	700
Cd	0.028	0.022	0.024	0.009	0.009	0.016	0.009	2
Co	0.011	0.007	0.014	0.004	0.003	0.009	0.006	5
Cr	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	0.004	1100
Cu	0.003	0.001	0.004	0.001	0.005	0.004	0.001	300
Fe	0.256	<LOD	0.037	<LOD	<LOD	0.151	0.010	NA
Mg	0.155	0.115	0.010	<LOD	<LOD	0.041	<LOD	NA
Mn	0.007	0.004	0.004	0.001	0.001	0.004	0.002	NA
Mo	0.020	0.016	0.013	0.006	0.005	0.008	0.006	1500
Ni	0.031	0.018	0.013	0.009	0.005	0.010	0.006	20
Pb	0.009	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	5
Se	0.179	0.142	0.122	0.073	0.055	0.070	0.059	80
V	0.026	0.004	0.007	0.002	0.002	0.009	0.002	10
Zn	0.120	0.018	0.009	0.004	0.005	0.013	0.027	NA

Notes: data are presented as mean. * With preservative; ** without preservative; <LOD—analyte concentrations were below detection limits; and NA—not applicable.

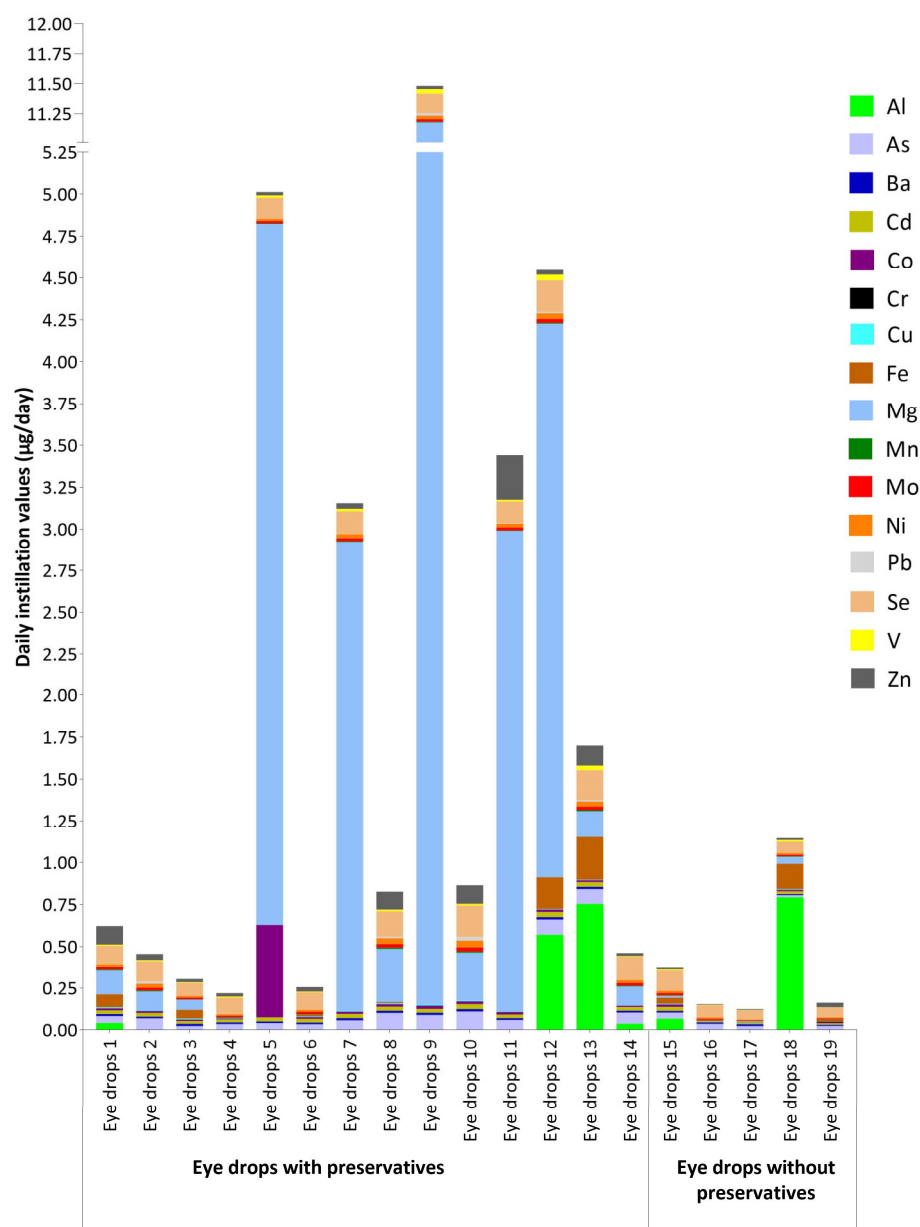


Figure 2. Values of daily instillation of lubricating eye drops with and without preservatives.

3. Discussion

Spike tests generated information about the recovery of the spiked samples. Since there are no certified reference metal and metalloids samples in eye drops, spike recovery tests must be used for quality control. The values of LOD and LOQ are displayed in Table 1. As can be seen, the LODs and LOQs allowed for the determination of both metals and metalloids at the required levels based on the IUPAC [45].

The concentrations of Al, As, Ba, Cd, Co, Cr, Cu, Fe, Mg, Mn, Mo, Ni, Pb, Se, V, and Zn in lubricating eye drops from different manufacturers (Table 2) decreased in values as follows:

eye drops 1 (with preservatives): $Mg > Zn > Se > Fe > As > Al > Cd > Ni > Mo > Ba > Co > Cu > V > Mn$;

eye drops 2 (with preservatives): $Se > Mg > As > Zn > Ni > Cd > Mo > Pb = Co > Ba > V > Mn > Cu$;

eye drops 3 (with preservatives): Se > Mg > Fe > As > Z > Cd > Ba > Mo > Ni > Co > Cu > V > Mn; eye drops 4 (with preservatives): Se > As > Zn > Cd > Mo > Ni > Ba > Co = V > Cu > Mn;

eye drops 5 (with preservatives): Mg > Co > Se > As > Cd > Zn > V > Mo > Ni > Ba > Mn > Cu;

eye drops 6 (with preservatives): Se > As > Zn > Cd > Mo > Ni > Co > Fe > Ba > V = Cu > Mn;

eye drops 7 (with preservatives): Mg > Se > As > Zn > Ni = Cd > Mo > V > Co > Ba > Mn > Cu;

eye drops 8 (with preservatives): Mg > Se > Zn > As > Ni > Cd > Mo > Co > Ba > Pb > V > Cu > Mn > Fe;

eye drops 9 (with preservatives): Mg > Se > As > V > Ni > Zn > Cd > Pb > Mo > Co > Ba > Cu > Mn > Cr;

eye drops 10 (with preservatives): Mg > Se > Zn > As > Ni > Cd > Mo > Pb > Co > Ba > V > Mn > Cu;

eye drops 11 (with preservatives): Mg > Zn > Se > As > Ni > Cd > Mo > Co > Ba > V > Pb > Mn > Cr > Cu;

eye drops 12 (with preservatives): Mg > Al > Fe > Se > As > Ni > V > Zn = Cd > Mo > Co = Ba > Pb > Mn > Cu;

eye drops 13 (with preservatives): Al > Fe > Se > Mg > Zn > As > Ni > Cd > V > Mo > Ba > Co > Pb > Mn > Cu;

eye drops 14 (with preservatives): Se > Mg > As > Al > Cd > Ni = Zn > Mo > Ba > Co > Mn > V > Cu;

eye drops 15 (without preservatives): Se > Al > Fe > As > Cd > Co > Ni = Mo > Ba = Mg > Zn > V > Cu = Mn;

eye drops 16 (without preservatives): Se > As > Cd > Ni > Ba > Mo > Zn > Co > V > Mn > Cu;

eye drops 17 (without preservatives): Se > As > Ba > Cd > Mo = Ni > Zn > Cu > Co > V > Mn;

eye drops 18 (without preservatives): Al > Fe > Se > Mg > Cd > Zn > As > Ni > Co > V > Mo > Ba > Cu = Mn;

and eye drops 19 (without preservatives): Se > Zn > As > Fe > Cd > Co > Ba = Ni > Mo > Cr > V > Mn > Cu.

Values of the concentrations of metal(loid)s quantified in lubricating eye drops with preservatives and without preservatives are shown in Figure 1. Higher concentrations were obtained for several elements, such as Mg, Al, and Co. The statistical results for all data in Table 2 are shown in Supplementary Materials Table S1. According to the ANOVA, there is a statistically significant difference in the concentration means of Al, As, Ba, Cd, Co, Cr, Cu, Fe, Mg, Mn, Mo, Ni, Pb, Se, V, and Zn in all eye drops with preservatives and without preservatives. Tukey's test identifies which means are significantly different from the others. In Table S1 (Supplementary Materials), when the letters are the same, there are no statistical differences; on the other hand, when the letters are different, there is a statistical difference between the values.

Figure 2 shows the values of exposure to metal(loid)s through the daily instillation of lubricating eye drops with and without preservatives. Elevated exposure values were deemed to be due to higher concentrations of the elements Mg, Al, and Co.

Table S2 (Supplementary Materials) shows the statistical test used in view of the results of Table 3. According to the ANOVA statistical test and Tukey's test, there are significant differences in the average values of daily exposure to metal(loid)s between the samples of lubricating eye drops with preservatives and the samples without preservatives ($p < 0.05$) (Table S2 in the Supplementary Materials). For all values of daily instillation with the same letter, the difference between the means is not statistically significant.

According to Table 2, the content of Al ranged from 0.073 µg/g to 2.382 µg/g. There were levels of Al detected in eye drop samples 1, 12, 13, and 14 with preservatives, and in

eye drops 15 and 18 without preservatives. As shown in Table 2, there were no values of Al detected in the parenteral drugs established by the BP and ICH Q3D guideline (R2). On the other hand, exposure to Al through the daily instillation of lubricating eye drops in Table 3 ranged from 0.037 µg/day (eye drops 14 with preservatives) to 0.793 µg/day (eye drops 18 without preservatives). There were no PDE values for the elemental impurities established by the ICH Q3D (R2) parenteral guideline. Nevertheless, Al can potentiate oxidative, inflammatory events and cause eventual tissue damage [46]. According to research involving animals, intraperitoneal application of aluminum chloride causes retinal toxicity and loss of the outer segments of photoreceptors [47].

The concentration of As in the eye drop samples ranged from 0.036 µg/g to 0.204 µg/g (Table 2). In eye drops 12 (0.147 µg/g) and 13 (0.147 µg/g), both with preservatives, the concentration values for As were close to the permitted concentrations of elemental impurities established by the BP for the parenteral route (0.15 µg/g), while the contents in eye drops 2 (0.169 µg/g), 8 (0.204 µg/g), 9 (0.195 µg/g), and 10 (0.184 µg/g) with preservatives and eye drops 16 without preservatives (0.178 µg/g) were all above the concentration value defined in the BP for parenteral use (See Table 2). In addition, all eye drops had concentrations of As below the limit established by the ICH Q3D guideline (R2) for this element in the parenteral route (1.5 µg/g). According to Table 3, the values of exposure to As due to the daily instillation of eye drops ranged from 0.012 µg/day (eye drops 18 without preservatives) to 0.109 µg/day (eye drops 10 without preservatives). The values of exposure to As in all eye drop samples were below the PDE limits established by the ICH Q3D guideline (R2) (15 µg/day). However, although the value of daily exposure to As through the instillation of lubricating eye drops is below the value established by the ICH Q3D guideline (R2), chronic exposure to this element can cause dermal effects, cardiovascular diseases, diabetes, cancers [48], eye irritation [49], conjunctivitis [50], and visual loss [51].

In Table 2, the content of Ba in the eye drop samples ranged from 0.021 µg/g to 0.056 µg/g. There are no Ba values established by the BP for impurities in parenteral drug administration. However, all eye drop samples showed concentrations of Ba below the values allowed by the ICH Q3D guideline (R2) via the parenteral route (70 µg/g). According to Table 3, the exposure to Ba caused by the daily instillation of lubricating eye drops ranged from 0.006 µg/day (eye drops 19 without preservatives) to 0.015 µg/day (eye drop samples 10 and 12 with preservatives); moreover, these values are below the PDE (700 µg/day) established by the ICH Q3D guideline (R2) in the parenteral route. The exposure to barium compounds can cause hypokalemia, cardiovascular diseases, muscle weakness and paralysis [52,53], and eye pain [54], as well as a toxic ocular inflammatory reaction (toxic anterior segment syndrome—TASS) [55]. In rabbits, topical administration of Ba resulted in mild skin irritation and severe eye irritation [56].

The concentration of Cd in the eye drop samples ranged from 0.044 µg/g to 0.051 µg (Table 2). The Cd contents in eye drops 1 (0.049 µg/g), 6 (0.048 µg/g), 7 (0.048 µg/g), 8 (0.049 µg/g), 10 (0.049 µg/g), and 12 (0.049 µg/g) with preservatives, and eye drops 15 (0.049 µg/g) and 16 (0.048 µg/g) without preservatives were close to the concentration values of impurities in drugs allowed by the parenteral BP (0.05 µg/g), while the concentrations in eye drops 2, 3, and 9 (0.051 µg/g) with preservatives are above the allowed concentration of impurities established by the BP for parenteral use. All samples showed cadmium concentrations below the concentration value allowed by the ICH Q3D guideline (R2) parenterally (0.2 µg/g) (Table 2). Regarding Cd exposure, daily instillation values ranged from 0.009 µg/day (eye drops 16, 17, and 19 without preservatives) to 0.030 µg/day (eye drops 12 with preservatives); all daily instillation values were below the PDE defined by the ICH Q3D guideline (R2) (2 µg/day) (Table 3). In the body, Cd can cause health risks, such as acute and chronic intoxication, pathological changes in the organs, and cardiovascular, kidney, bone, liver disease, cancer [57], and eye problems [13,16–18], such as cataracts [26] and glaucoma, especially in men [13]. Park et al. [15] suggested that Cd, Pb, and Hg may negatively influence AMD. On the other hand, the study by Liou et al. [20],

involving 59 welders and 25 administrative staff from a shipyard in northern Taiwan, concluded that Cd found in urine and Pb in welders' toenails (exposed group) may be related to dry eye disease. In fact, according to a study carried out by Choi et al. [23], considering the exposure of women to phthalates and heavy metals and diagnosed and non-diagnosed with dry eye disease, women diagnosed with dry eye disease have higher concentrations of Cd in their urine and blood compared to those not diagnosed.

As shown in Table 2, the content of Co in the eye drops ranged from 0.013 µg/g to 1.085 µg/g. In addition, there are no limits for Co concentrations established by the BP. Only eye drops 5, containing preservatives, had a concentration value greater than that established by the ICH Q3D guideline (R2) parenterally (0.5 µg/g). In Table 3, the values of exposure to Co considering the daily instillation of eye drops ranged from 0.003 µg/day (eye drops 17 without preservatives) to 0.554 µg/day (eye drops 5 with preservatives). The PDE values for elemental impurities established by the ICH Q3D guideline (R2) in the parenteral route are 5 µg/day. After comparison, it was observed that the daily instillation values considering Co in Table 3 were below those established by the ICH Q3D guideline (R2). However, excessive levels of Co in the body can cause cancer [58], peripheral neuropathy, hearing loss, cognitive deficits, cardiomyopathy, hypothyroidism, and visual changes [59,60]. Junemann et al. [16] quantified the levels of selected metal ions in the aqueous humor of eyes affected by AMD using flow injection inductively coupled plasma mass spectrometry (FI-ICP-MS) and observed that patients with AMD had significant levels of Cd, Co, Fe, and Zn, in addition to reduced levels of Cu, when compared to patients without AMD. One study reported that a 39-year-old woman presented with blurred vision in the left eye and bilateral ocular discomfort following the bilateral implantation of hip prostheses that had Co in their constitution [61]. In 2020, Garcia and collaborators published a case report of a 59-year-old woman who presented symptoms, such as blurred vision, white spots in both eyes, hypothyroidism, cardiomyopathy, and neuropathy, after reattachment of a hip prosthesis implant with a Co piece [59]. In both cited studies, the hypothesis was that implant-related Co toxicity occurred. Finally, Lim et al. [62] reported that elevated serum Co levels may be related to reversible and irreversible damage that leads to visual loss, such as neuropathy and atrophy of the optic nerve and abnormal electrophysiological functioning of the retinal tissue and the retinal pigment epithelium, in addition to abnormal choroidal perfusion.

As shown in Table 2, the content of Cr in eye drops 1–8, 10, 12–18, and 19 are below the detection limit. However, the Cr content in eye drops 9 (0.004 µg/g) and 11 (0.004 µg/g) with preservatives and eye drops 19 (0.020 µg/g) without preservatives were all below the permissible BP concentration (2.5 µg/g) and ICH guideline Q3D guideline (R2) through the parenteral route (110 µg/g). According to the results shown in Table 3, exposure to Cr ranged from 0.002 µg/day (eye drops 9 and 11 with preservatives) to 0.004 µg/day (eye drops 19 without preservatives). In Table 3, the exposure values for the instillation of eye drops considering Cr were all below the PDE for elemental impurities defined by the ICH Q3D guideline (R2) parenterally (1100 µg/day). Although these concentrations are low when compared to the limits established by the BP and ICH Q3D guideline (R2), exposure to Cr can cause hepatotoxicity, nephrotoxicity, dermatotoxicity, carcinogenicity [63], and inflammation of the digestive tract followed by necrosis, dermatitis, chronic painless ulcers, teeth and tongue am-amery, irritation of the mucous membranes, respiratory allergies, and cancer at the level of the respiratory system [64]. Exposure to hexavalent Cr can cause eye irritation, corrosion, and ulceration. [65,66].

The contents of Cu in the eye drops ranged from 0.002 µg/g (eye drops 14 with preservative) to 0.023 µg/g (eye drops 17 without preservative), being below the concentration allowed by the BP (25 µg/g) and ICH Q3D guideline (R2) parenterally (30 µg/g) (Table 2). Exposure to Cu due to the daily instillation of eye drops, whose values ranged from 0.001 µg/day (eye drops 11 and 14 with preservatives, and 16 and 19 without preservatives) to 0.007 µg/day (eye drops 1, 8 and 9 with preservatives), were below the PDE for elemental impurities defined by the ICH Q3D guideline (R2) in the parenteral route

(300 µg/day) (Table 3). Cu plays a key role in the biochemistry of the human nervous system [67], being important for healing and slowing cataract growth [68]. On the other hand, intraocular foreign bodies containing Cu can cause inflammation, damage to the cell membranes and mitochondria in the retina [14], aseptic abscesses, cataracts, vitreous liquefaction and retraction, retinal damage and detachment, ocular hypotension [69], and corneal opacities [70].

In Table 2, the contents of Fe ranged from 0.013 µg/g (eye drops 8 with preservatives) to 0.453 µg/g (eye drops 18 without preservatives). However, there are no Fe concentration values in drugs allowed by the BP and ICH Q3D guideline (R2) parenterally. As shown in Table 3, exposure to Fe due to the daily instillation of eye drops ranged from 0.006 µg/day to 0.256 µg/day (drops 8 and 13 with preservatives). However, there are no Fe values established by the ICH Q3D (R2) parenteral guideline for parenteral Fe. This element is involved in several biological processes, but the cerebral accumulation or the decrease in intracellular Fe can impair the functioning of several functions in the central nervous system (CNS) and cause cell death [71]. Fe affects the retina [72] and its overload augments stage I and stage II of tumor promotion in murine skin [73]. Chronic accumulation of Fe in the retina can cause AMD and also influence other ocular conditions, such as hereditary aceruloplasminemia, pantothenate kinase-associated neurodegeneration, intraocular hemorrhage [74], and glaucoma [14].

The concentration of Mg ranged from 0.021 µg/g (eye drops 15 without preservatives) to 24.284 µg/g (eye drops 9 with preservatives). However, there are no Mg concentration values in drugs allowed by the BP and ICH Q3D guideline (R2) parenterally. According to Table 3, exposure to Mg due to the daily instillation of eye drops ranged from 0.010 µg/day (eye drops 15 without preservatives) to 11,025 µg/day (eye drops 9 with preservatives). There are no PDE values for Mg as elemental impurities established by the ICH Q3D (R2) guideline for the parenteral route. In addition, the exposure of eye drops 9 with preservatives was higher in relation to the other heavy metals and metalloids analyzed. In this study, the highest values found for concentration and exposure through the daily instillation of eye drops were in relation to Mg. In the human body, Mg is important for maintaining the structural and functional integrity of the lens, in addition to playing a significant role as a cofactor for enzymes involved in the production and hydrolysis of adenosine triphosphate (ATP). Mg deficiency leads to the accumulation of Ca in the lens, which can cause opacification, along with the release of nitric oxide that produces nitrogen free radicals that are capable of causing oxidative damage [25]. In toxic situations, the most common symptoms are diarrhea, nausea and vomiting, muscle weakness, and low blood pressure, but as levels increase there is a loss of deep tendon reflexes, blockages of the sinus or atrioventricular node, respiratory paralysis, and, eventually, cardiac arrest [75].

Mn levels in eye drops 5 (0.006 µg/g), 8, and 9 (0.014 µg/g) with preservatives are below the concentration value established by the BP for impurities in parenteral drugs (25 µg/g). However, there are no values for Mn established by the ICH Q3D (R2) guideline for parenteral administration. Table 3 shows that exposure to Mn due to the daily instillation of eye drops ranged from 0.001 µg/day in samples 16 and 17 without preservatives; on the other hand, in eye drops 8 and 13 with preservatives it was 0.007 µg/day. There are no PDE values for elemental impurities set out in the ICH Q3D (R2) parenteral guideline. However, in the human body, Mn is important for healing and in delaying cataract growth [68]; meanwhile under high concentrations, Mn can cause toxicity to the reproductive, cardiac, respiratory, and central nervous systems [64]. According to animal studies, there are toxic effects of manganese ion eye drops to the ocular anterior segment [76]. Khosla et al. [77] studied the effect of Mn on the retina of rabbits and found that it is potentially retinotoxic, causing a selective effect on photoreceptors and ganglion cells. In addition, studies involving humans proved that patients with age-related ocular disorders have higher Mn concentrations when compared to a control group [78].

The Mo content in eye drops ranged from 0.025 µg/g (eye drops 18 without preservatives) to 0.046 µg/g (eye drops 9 with preservatives); however, such values were below

the permissible BP concentration (2.5 µg/g) and ICH Q3D guideline (R2) for the parenteral route (150 µg/g). Exposure to Mo considering the daily instillation of eye drops ranged from 0.005 µg/day (eye drops 17 without preservatives) to 0.026 µg/day (eye drops 10 with preservatives). Therefore, Mo exposure values (Table 3) were found to be below those of the PDE established by the ICH Q3D guideline (R2) for the parenteral route (1500 µg/day). However, in studies involving workers exposed to high levels of Mo, it was found that the inhalation of dust containing this metal can cause lung problems [79]. According to Khosla et al. [77], retinotoxic effects of molybdenum on rabbit retina were observed (in an experimental study). Results involving humans corroborate those published with animal models [77]. In fact, Ceylan et al. [78] found an elevated Mo level in patients with pseudoexfoliation syndrome. In another study, molybdenum trioxide, a soluble molybdenum compound, was found to have an irritating effect on the skin, as well as the mucous and eyes [80].

The concentration of Ni ranged from 0.023 µg/g to 0.071 µg/g, but these values were found to be below the concentration value of impurities in drugs established by the BP (2.5 µg/g) and ICH Q3D guideline (R2) for parenteral administration (2 µg/g) (Table 2). Considering the daily instillation of eye drops (Table 3), the results indicate that exposure to Ni ranged from 0.005 µg/day (eye drops 17 without preservatives) to 0.040 µg/day (eye drops 10 with preservatives). However, these daily eye drop instillation values were found to be below the PDE for Ni (20 µg/day) established by the ICH Q3D guideline (R2) for the parenteral route. Ni is essential for the human body and is part of enzymatic and hormonal activity, and aids in promoting the structural stability of biological macromolecules and metabolism. Its toxicity causes headaches, nausea, vomiting, apathy, diarrhea, fever, skin disorders, carcinomas in the nasal cavities and lower respiratory tract [64], and conjunctivitis [81]. According to an animal study, cellular anomalies in the retina of fish eyes exposed to Ni affect the primary functions of the retina and lead to visual loss or low vision [82]. A study with eyeballs from human cadavers found that the levels of Ni, As, Cd, Cr, and Pb were elevated in late AMD when compared to the control groups [17].

In Table 2, the concentration of Pb in the eye drop samples ranged from 0.009 µg/g (eye drops 11 with preservatives) to 0.049 µg/g (eye drops 9 with preservatives). However, this concentration was below the allowed concentration for impurities in drugs established by the BP (0.1 µg/g) and ICH Q3D guideline (R2) for the parenteral route (0.5 µg/g). According to these results, considering the daily instillation of eye drops (Table 3), the exposure to Pb that varied from 0.004 µg/day to 0.022 µg/day in eye drops 2, 8–12, and 13, all with preservatives, were below the PDE for Pb (5 µg/day) established by the ICH Q3D guideline (R2) in the parenteral route. However, the accumulation of Pb in the body can cause health risks and be associated with eye diseases [14,27,83], such as cataracts [18], AMD [15,17], and dry eye disease [20,24].

As shown in Table 2, the contents of Se ranged from 0.211 µg/g to 0.365 µg/g. There are no Se values for impurities in drugs established by the BP for the parenteral route. In addition, all eye drop samples had concentrations below the concentration allowed in the parenteral route (8 µg/g) established by the ICQ Q3D guideline (R2). Daily exposure to Se ranged from 0.055 µg/day (eye drops 17 without preservatives) to 0.188 µg/day (eye drops 12 with preservatives) (Table 3). Furthermore, the Se exposure values in Table 3 were all below the PDE for Se (80 µg/day) defined by the ICH guideline Q3D (R2) for the parenteral route. However, exposure to Se at high levels can cause selenosis, respiratory tract irritation, bronchitis, difficulty breathing, stomach pains, and coughing [84]. In studies with mice, it was observed that after topical application of selenium sulfide erythema, skin irritation, acanthosis, and severe skin damage occurred [85]. According to the results of the study by Bruhn et al. [86], there is a relationship between glaucoma and selenium levels in plasma and the aqueous humor. In another experimental study involving animals, it was verified that any amount of Se above the concentrations necessary for the synthesis of selenoproteins is toxic and can cause cataracts [87].

The concentration values of V in the eye drops ranged from 0.008 µg/g (eye drops 14 with preservatives) to 0.083 µg/g (eye drops 9 with preservatives) (Table 2). In addition, this concentration was below that allowed by the BP for impurities in drugs (2.5 µg/g) and by the ICH Q3D guideline (R2) for the parenteral route (1 µg/g). Table 3 shows that exposure to V due to daily instillation ranged from 0.002 µg/day (eye drops 16, 17, and 19 without preservatives) to 0.038 µg/day (eye drops 9 with preservatives). Furthermore, these values were found to be lower than those established by the ICH Q3D (R2) guideline for Se (10 µg/day). In situations of V poisoning, people may have symptoms, such as headaches, hand tremors, high blood pressure, green tongue, cough, palpitations, wheezing, ear and throat irritation [88], skin rash [89], eye irritation, and conjunctivitis [90]. Furthermore, studies have shown that inhalation of V produces damage to the retina detected through the damage markers GFAP (glial fibrillary acidic protein) and GS (glutamine synthetase) and might interfere with vision [91,92].

The concentration of Zn ranged from 0.019 µg/g (eye drops 15 without preservatives) to 0.552 µg/g (eye drops 11 with preservatives) (Table 2). However, there are no established concentration values for Zn in impurities in drugs established by the BP and ICH Q3D (R2) guideline for the parenteral route. Exposure to Zn ranged from 0.004 µg/day (eye drops 16 without preservatives) to 0.265 µg/day (eye drops 11 with preservatives) (Table 3). There are no PDE values for Zn established by the ICH Q3D guideline (R2) considering the parenteral route. Zn is essential for the immune system [64] and acts to prevent the progression of AMD in advanced stages [15,93], in addition to influencing muscle function and vision [83]. However, its excess in the lens may be related to the presence of high molecular weight proteins that are considered precursors of insoluble protein aggregates that cause lens opacification [25]. Ocular exposure to zinc salts can cause irritation, pain, corneal ulcerations, edema and burns, hyperemia, hemorrhage, bullous keratopathy, glaucoma, cataract formation, discrete gray spots on the lens, tearing, significant reduction in acuity visual with hemorrhage, and conjunctival inflammation [94].

As we observed in the results and discussion above, although the concentrations of several elements are below the limit values that have been established by regulatory agencies, such as the BP and ICH Q3D (R2), it does not mean that their use is safe. Metals and metalloids can be dangerous for human health as they have a long biological half-life and are not biodegradable, and some are toxic even at very low concentrations [95–97].

This study shows that there is a presence of toxic metals in eye drops used in the treatment of dry eye; therefore, regulatory agencies must establish a PDE level in micrograms per day (µg/day) through the instillation of lubricating eye drops in the eyes.

4. Materials and Methods

4.1. Sample Collection

In this study, a total of 95 eye drop samples from different manufacturers were purchased in December 2021 from pharmacies in the city of Campo Grande, state of Mato Grosso do Sul, Brazil. Only samples of lubricating eye drops with a volume of 10 mL and available in drops were selected, with 5 samples of manufacturers without preservatives (25 samples from each batch and same eye drop manufacturer) and 14 samples of manufacturers with preservatives (70 samples from each eye drop manufacturer). From each company, 5 copies of the same batch were purchased; however, samples from each batch and from the same company were mixed to obtain a representative sample for analysis.

4.2. Preparation for the Analysis

All materials used in the study, such as Falcon glassware and plastic tubes, underwent a chemical demineralization process before being used. The materials were placed in a solution of Extran (5%, *v/v*) and nitric acid (10% concentration, Merck, Darmstadt, Germany) for a minimum period of 24 h, following which they were rinsed in ultrapure water and dried in an oven at 42 °C.

4.3. Acid Digestion of Samples

Approximately 0.5 mL of each sample was placed in a glass test tube, followed with the additions of 2.0 mL of HNO₃ (65%, Merck, Darmstadt, Germany), and 1.0 mL of H₂O₂ (35%, Merck, Darmstadt, Germany).

The samples were digested in an open digestion system for 40 min at a temperature of 80 °C. Subsequently, all samples were transferred from glass test tubes to Falcon tubes, where 2.5 mL of ultrapure water (conductivity 18.2 MΩcm (Millipore), Biocel, Germany) was added.

All steps of the digestion analysis were performed in triplicate and the analytical blanks were prepared following the same procedure used in the samples.

4.4. Elementary Analysis Using ICP OES

The contents of 16 elements (Al, As, Ba, Cd, Co, Cu, Cr, Pb, Fe, Mg, Mn, Mo, Ni, Se, V, and Zn) were quantified using ICP OES (Thermo Fisher Scientific, Bremen, Germany, model iCAP 6300 Duo). Instrumental and operational parameters for ICP OES are shown in Table 4.

Table 4. ICP OES instrumental parameters.

Parameter	Setting
RF power	1250 W
Sample flow	0.45 L/min
Plasma flow rate	12 L/min
Integration time	5 s
Stabilization time	20 s
Nebulization pressure	30 psi
Plasma view	Axial
Analytes/ λ (nm)	Al (309.271); As (189.042); Ba (455.403); Cd (228.802); Co (228.616); Cr (283.563); Cu (324.754); Fe (259.940); Mg (279.553); Mn (257.610); Mo (202.030); Ni (221.647); Pb (220.353); Se (196.090); V (309.311); and Zn (213.856).

An analyte addition and recovery test (spike test) was performed, in which 0.15 mL of analytes were added to 0.5 mL of a sample of lubricating eye drops. Spike-and-recovery and linearity-of-dilution experiments are important methods for validating and assessing the accuracy of ICP OES. Spike and recovery are used to determine whether analyte detection is affected by differences in the standard curve diluent and organic sample matrix.

4.5. Calibration Curves

Elementary standard stock solutions of 100 mg/L of Al, Co, Ca, Cr, Cu, Fe, K, Mg, Mn, Na, Ni, P, Se, and Zn (Specsol, São Paulo, Brazil) were utilized. In addition, calibration curves for all analytes were obtained using eleven different concentrations in the range from 0.001 ppm to 2 ppm.

The LOD and LOQ followed the analytical standards established by the IUPAC [45]. For each element detected, the LOD, LOQ, and R² values were determined.

4.6. Determination of the Maximum Daily Dose of Lubricating Eye Drops

For the maximum daily dose (mL/day) of lubricating eye drop instilled in the eyes of an adult person, it was considered that it could be obtained through multiplying the volume of 2 drops (equivalent to 1 drop in each eye) by the maximum frequency of daily instillation (5 times a day) (See Table 5).

Table 5. Lubricating eye drops with (yes) or without (no) preservatives, volume of one drop (mL), and maximum daily frequency of instillations in the eyes and maximum daily dose (mL) (as established in the package inserts).

Eye Drops	Preservative	Volume: One Drop (mL)	Maximum Daily Frequency	Maximum Daily Dose (Two Eyes) (mL/day)
1	Yes	0.045	5 *	0.454
2	Yes	0.051	4	0.408
3	Yes	0.051	3	0.306
4	Yes	0.040	5	0.400
5	Yes	0.051	5	0.510
6	Yes	0.045	5 *	0.454
7	Yes	0.053	5 *	0.526
8	Yes	0.049	5 *	0.490
9	Yes	0.045	5 *	0.454
10	Yes	0.059	5 *	0.589
11	Yes	0.048	5 *	0.480
12	Yes	0.061	5 *	0.610
13	Yes	0.060	5 *	0.600
14	Yes	0.051	5 *	0.510
15	No	0.049	5 *	0.490
16	No	0.033	3	0.200
17	No	0.033	3	0.200
18	No	0.042	4	0.333
19	No	0.033	3	0.200

* The lubricating eye drop package insert does not contain the maximum daily frequency of instillations in the eyes.

4.7. Comparative Study

Upon instillation, part of the eye drops on the ocular surface is absorbed by the cornea, conjunctiva, and sclera, and most of it goes to the systemic circulation via the mucous membrane and rhinopharynx. That is, only a small percentage of the applied dose is released into the intraocular tissues, while about 50–100% of the administered dose may reach the systemic circulation via the conjunctiva and nasolacrimal duct [98–100].

Parenterally administered drugs also enter the systemic circulation directly and are not subjected to the first-pass effect or the gastrointestinal environment. Therefore, concentrations of metals in the eye drops, as well as the daily application, can be compared with the values of concentrations established by the Brazilian Pharmacopoeia (BP) and ICH Q3D guideline (R2) for the parenteral route.

4.7.1. Permissible Concentrations of Elemental Impurities in Lubricating Eye Drops

Since the elemental impurities (EIs) absorbed through the ophthalmic route are not considered in the pharmacopoeias and in the ICH Q3D (R2) guideline [40,41,43], in our study, the concentrations of heavy metals and metalloids quantified in the samples of lubricating eye drops were compared with the values of allowed concentrations of EIs in parenteral drugs ($\mu\text{g/g}$) established by the BP and ICH Q3D guideline (R2).

4.7.2. PDE to Elemental Impurities in Ophthalmic Medications

The PDE in micrograms per day ($\mu\text{g/day}$) give the maximum permitted quantity of each element that may be, in a medication, administered through the oral, inhaled, and parenteral routes [40,41,43]. However, there are no reference values for comparing the PDE in the ophthalmic pathway.

Therefore, in our study, the daily exposure to elemental impurities (EIs) through the instillation of lubricating eye drops in the eyes ($\mu\text{g/day}$) was compared to the PDEs for parenteral drugs defined in the ICH Q3D guideline (R2). In addition, the ICH Q3D (R2) guide-

line allows for the use of parenterally administered PDE values without modification [40–42].

4.8. Statistical Analysis

One-way analysis of variance (ANOVA) and Tukey's post hoc multiple comparison test were used to test for significant differences in concentrations between eye drop brands and significant differences in values of daily instillation of lubricating eye drops with and without preservatives. All statistical analyzes were performed using the GraphPad Prism 9.0 statistical package (San Diego, CA, United States). The significance level was set at $p < 0.05$.

5. Conclusions

In the present study, samples of 19 brands of Brazilian eye drops used to treat dry eye with and without preservatives showed different concentration values of As, Ba, Cd, Co, Cu, Mn, Mo, Ni, Se, V, Zn, Al, Cr, Fe, Mn, and Pb.

There are no concentration limit values for Al, Se, Fe, Mg, Ba, Co, and Se in drugs established by the BP and Mn defined by the ICH Q3D guideline (R^2) for the parenteral route. However, the contents of As in the eye drops with preservatives (four different samples) and one eye drop without preservatives, as well as Cd in three eye drops with preservatives are all above the concentration value defined in the BP for parenteral use. One eye drop with preservatives had a Co concentration value greater than that established by the ICH Q3D guideline (R^2) parenterally. On the other hand, the concentrations of Ba, Cr, Cu, Mn, Mo, and Ni in the eye drops were below the values established by the BP or set by the ICH Q3D (R^2) parenteral guideline.

The concentrations of As, Ba, Co, Cd, Cr, Cu, Mo, Ni, V, Pb, and Se in some samples of eye drops was below the limits of the PDE set by the ICH Q3D guideline (R^2).

In several countries, regulatory agencies must carry out the inspection of eye drops used in the treatment of ophthalmic diseases. Therefore, complementary studies are needed to investigate the possible risks of toxicity due to the daily instillation of lubricating eye drops containing heavy metals and metalloids.

Supplementary Materials: The following supporting information can be downloaded at: <https://www.mdpi.com/article/10.3390/molecules28186508/s1>, Table S1: Statistical test used in view of the results of Table 2 on the concentration of quantified metal(loid)s in lubricating eye drops; Table S2: Statistical test used in view of the results of Table 3 on values of the daily instillation of lubricating eye drops.

Author Contributions: Conceptualization, M.d.O., I.V.S., M.P.H. and L.F.T.M.; methodology, E.S.d.P.M., C.M.L.C., A.F. and M.d.O.; software, M.d.O.; validation, E.S.d.P.M. and M.d.O.; formal analysis, M.d.O., E.S.d.P.M. and V.A.d.N.; investigation, M.d.O., V.T.B. and T.C.d.S.; resources, E.S.d.P.M., V.A.d.N. and M.d.O.; data curation, M.d.O.; writing—original draft preparation, M.d.O.; writing—review and editing, V.A.d.N. and M.d.O.; visualization, M.d.O. and V.A.d.N.; project administration, V.A.d.N.; supervision, V.A.d.N. All authors have read and agreed to the published version of the manuscript.

Funding: This research was financially supported by the Brazilian Research Council (CNPq) (CNPq: Process No 310621/2020-8) and the Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior-Brasil (CAPES)-Finance Code 001.

Institutional Review Board Statement: Not applicable.

Informed Consent Statement: Not applicable.

Data Availability Statement: The data used to support the findings of this study are available from the corresponding author upon request.

Conflicts of Interest: The authors declare no conflict of interest.

Sample Availability: Not applicable.

References

1. WHO. *World Report on Vision*; World Health Organization: Geneva, Switzerland, 2019; ISBN 978-92-4-151657-0.
2. Tchegnon, E.; Liao, C.-P.; Ghotbi, E.; Shipman, T.; Wang, Y.; McKay, R.M.; Le, L.Q. Epithelial Stem Cell Homeostasis in Meibomian Gland Development, Dysfunction, and Dry Eye Disease. *JCI Insight* **2021**, *6*, e151078. [\[CrossRef\]](#)
3. Golden, M.I.; Meyer, J.J.; Patel, B.C. *Dry Eye Syndrome*; StatPearls Publishing: Treasure Island, FL, USA, 2022.
4. Şimşek, C.; Doğru, M.; Kojima, T.; Tsubota, K. Current Management and Treatment of Dry Eye Disease. *Turk. J. Ophthalmol.* **2018**, *48*, 309–313. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
5. Kannan, R.; Das, S.; Shetty, R.; Zhou, L.; Ghosh, A.; Deshpande, V. Tear Proteomics in Dry Eye Disease. *Indian J. Ophthalmol.* **2023**, *71*, 1203–1214. [\[CrossRef\]](#)
6. Wolffsohn, J.S.; Arita, R.; Chalmers, R.; Djalilian, A.; Dogru, M.; Dumbleton, K.; Gupta, P.K.; Karpecki, P.; Lazreg, S.; Pult, H.; et al. TFOS DEWS II Diagnostic Methodology Report. *Ocul. Surf.* **2017**, *15*, 539–574. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
7. Messmer, E.M. The Pathophysiology, Diagnosis, and Treatment of Dry Eye Disease. *Dtsch. Arztebl. Int.* **2015**, *112*, 71–82. [\[CrossRef\]](#)
8. Fonseca, E.C.; Arruda, G.V.; Rocha, E.M. Dry eye: Etiopathogenesis and treatment. *Arq. Bras. Oftalmol.* **2010**, *73*, 197–203. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
9. Jones, L.; Downie, L.E.; Korb, D.; Benitez-del-Castillo, J.M.; Dana, R.; Deng, S.X.; Dong, P.N.; Geerling, G.; Hida, R.Y.; Liu, Y.; et al. TFOS DEWS II Management and Therapy Report. *Ocul. Surf.* **2017**, *15*, 575–628. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
10. Gomes, J.A.P.; Azar, D.T.; Baudouin, C.; Efron, N.; Hirayama, M.; Horwath-Winter, J.; Kim, T.; Mehta, J.S.; Messmer, E.M.; Pepose, J.S.; et al. TFOS DEWS II Iatrogenic Report. *Ocul. Surf.* **2017**, *15*, 511–538. [\[CrossRef\]](#)
11. Goldstein, M.H.; Silva, F.Q.; Blender, N.; Tran, T.; Vantipalli, S. Ocular Benzalkonium Chloride Exposure: Problems and Solutions. *Eye* **2022**, *36*, 361–368. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
12. Baudouin, C.; Labbé, A.; Liang, H.; Pauly, A.; Brignole-Baudouin, F. Preservatives in Eyedrops: The Good, the Bad and the Ugly. *Prog. Retin. Eye Res.* **2010**, *29*, 312–334. [\[CrossRef\]](#)
13. Lee, S.H.; Kang, E.M.; Kim, G.A.; Kwak, S.W.; Kim, J.M.; Bae, H.W.; Seong, G.J.; Kim, C.Y. Three Toxic Heavy Metals in Open-Angle Glaucoma with Low-Teen and High-Teen Intraocular Pressure: A Cross-Sectional Study from South Korea. *PLoS ONE* **2016**, *11*, e0164983. [\[CrossRef\]](#)
14. Bocca, B.; Forte, G.; Pisano, A.; Farace, C.; Giancipoli, E.; Pinna, A.; Dore, S.; Madeddu, R. A Pilot Study to Evaluate the Levels of Aqueous Humor Trace Elements in Open-Angle Glaucoma. *J. Trace Elem. Med. Biol.* **2020**, *61*, 126560. [\[CrossRef\]](#)
15. Park, S.J.; Lee, J.H.; Woo, S.J.; Kang, S.W.; Park, K.H. Five Heavy Metallic Elements and Age-Related Macular Degeneration: Korean National Health and Nutrition Examination Survey, 2008–2011. *Ophthalmology* **2015**, *122*, 129–137. [\[CrossRef\]](#)
16. Jünemann, A.G.M.; Stopa, P.; Michalke, B.; Chaudhri, A.; Reulbach, U.; Huchzermeyer, C.; Schlötzer-Schrehardt, U.; Kruse, F.E.; Zrenner, E.; Rejdak, R. Levels of Aqueous Humor Trace Elements in Patients with Non-Exsudative Age-Related Macular Degeneration: A Case-Control Study. *PLoS ONE* **2013**, *8*, e56734. [\[CrossRef\]](#)
17. Aberami, S.; Nikhalashree, S.; Bharathselvi, M.; Biswas, J.; Sulochana, K.N.; Coral, K. Elemental Concentrations in Choroid-RPE and Retina of Human Eyes with Age-Related Macular Degeneration. *Exp. Eye Res.* **2019**, *186*, 107718. [\[CrossRef\]](#)
18. Dolar-Szczasny, J.; Świąch, A.; Flieger, J.; Tatarczak-Michalewska, M.; Niedzielski, P.; Proch, J.; Majerek, D.; Kawka, J.; Mackiewicz, J. Levels of Trace Elements in the Aqueous Humor of Cataract Patients Measured by the Inductively Coupled Plasma Optical Emission Spectrometry. *Molecules* **2019**, *24*, 4127. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
19. Garner, B.; Roberg, K.; Qian, M.; Eaton, J.W.; Truscott, R.J.W. Distribution of Ferritin and Redox-Active Transition Metals in Normal and Cataractous Human Lenses. *Exp. Eye Res.* **2000**, *71*, 599–607. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
20. Liou, Y.; Chen, Y.; Chen, W.; Li, K.; Chou, T.; Huang, Y.; Wang, C.; Lai, C. Associations between Biomarkers of Metal Exposure and Dry Eye Metrics in Shipyard Welders: A Cross-Sectional Study. *Int. J. Environ. Res. Public Health* **2022**, *19*, 2264. [\[CrossRef\]](#)
21. Jung, S.J.; Lee, S.H. Association between Three Heavy Metals and Dry Eye Disease in Korean Adults: Results of the Korean National Health and Nutrition Examination Survey. *Korean J. Ophthalmol.* **2019**, *33*, 26–35. [\[CrossRef\]](#)
22. Chung, S.; Myong, J. Are Higher Blood Mercury Levels Associated with Dry Eye Symptoms in Adult Koreans? A Population-Based Cross-Sectional Study. *BMJ Open* **2016**, *6*, e010985. [\[CrossRef\]](#)
23. Choi, M.R.; Ju, M.J.; Kim, D.H.; Choi, Y. Comparison of Environmental Phthalates and Heavy Metals Exposures by Dry Eye Disease Status. In Proceedings of the Korean Society of Environmental Health Conference Materials, Seoul, Republic of Korea, 13 November 2020; Volume 23, p. 142.
24. Chen, Y.; Chen, Y.; Lai, C. Clinical Association between Trace Elements of Tear and Dry Eye Metrics. *Sci. Rep.* **2022**, *12*, 18052. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
25. Micun, Z.; Falkowska, M.; Młynarczyk, M.; Kochanowicz, J.; Socha, K.; Konopińska, J. Levels of Trace Elements in the Lens, Aqueous Humour, and Plasma of Cataractous Patients—A Narrative Review. *Int. J. Environ. Res. Public Health* **2022**, *19*, 10376. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
26. Cekic, O. Effect of Cigarette Smoking on Copper, Lead, and Cadmium Accumulation in Human Lens. *Br. J. Ophthalmol.* **1998**, *82*, 186–188. [\[CrossRef\]](#)
27. Ekinci, M.; Ceylan, E.; Çağatay, H.H.; Keleş, S.; Altınkaynak, H.; Kartal, B.; Koban, Y.; Hüseyinoğlu, N. Occupational Exposure to Lead Decreases Macular, Choroidal, and Retinal Nerve Fiber Layer Thickness in Industrial Battery Workers. *Curr. Eye Res.* **2014**, *39*, 853–858. [\[CrossRef\]](#)

28. Sharma, A.; Jain, S. Elemental Impurities in Drug Product. *Int. J. Pharm. Sci. Res.* **2017**, *2*, 31–38.
29. Raghuram, P.; Raghuram, P.; Raju, I.V.S.; Raju, I.V.S.; Sriramulu, J. Heavy Metals Testing in Active Pharmaceutical Ingredients: An Alternate Approach. *Die Pharm.-Int. J. Pharm. Sci.* **2010**, *65*, 15–18. [CrossRef]
30. Balaram, V. Recent Advances in the Determination of Elemental Impurities in Pharmaceuticals—Status, Challenges and Moving Frontiers. *TrAC Trends Anal. Chem.* **2016**, *80*, 83–95. [CrossRef]
31. BRASIL. *Brazilian Pharmacopoeia*, 6th ed.; National Health Surveillance Agency: Brasília, Brazil, 2019; Volume 1.
32. Kameyama, Y.; Matsuhama, M.; Mizumaru, C.; Saito, R.; Ando, T.; Miyazaki, S. Comparative Study of Pharmacopoeias in Japan, Europe, and the United States: Toward the Further Convergence of International Pharmacopoeial Standards. *Chem. Pharm. Bull.* **2019**, *67*, 1301–1313. [CrossRef]
33. WHO. *Index of World Pharmacopoeias and Pharmacopoeial Authorities*; World Health Organization: Geneva, Switzerland, 2022.
34. Brazil, N.H.S.A. Implementation of the Addendum to the ICH Good Clinical Practice E6 Guide 2016. August 2017. Available online: <http://antigo.anvisa.gov.br/documents/33836/2492430/INFORME+-+Adendo+ICH+E6/f59e4e6d-677b-495c-9b08-1108a637b483?version=1.1> (accessed on 28 July 2023).
35. EMA ICH Q3D Elemental Impurities. Available online: <https://www.ema.europa.eu/en/ich-q3d-elemental-impurities> (accessed on 4 November 2022).
36. CANADA, H. Q3D Notice: Health Canada Recommendations for Implementation of the ICH Harmonised Guideline for Elemental Impurities (Q3D) for New and Marketed Products. Available online: <https://www.canada.ca/en/health-canada/services/drugs-health-products/drug-products/applications-submissions/guidance-documents/international-conference-harmonisation/quality/notice-health-canada-recommendations-implementation-harmonised-guideline-elemental-impurities-new-marketed-products.html> (accessed on 18 May 2023).
37. Gupta, V.K.; Ali, I.; Khurana, U.; Dhagarra, N. TLC Separation of Transition Metal Ions and Their Quantitative Estimation by Atomic Absorption Spectroscopy. *J. Liq. Chromatogr.* **1995**, *18*, 1671–1681. [CrossRef]
38. Ali, I.; Aboul-Enein, H.Y. Speciation of Metal Ions by Capillary Electrophoresis. *Crit. Rev. Anal. Chem.* **2002**, *32*, 337–350. [CrossRef]
39. Ali, I.; Aboul-Enein, H.Y. Determination of Metal Ions in Water, Soil, and Sediment by Capillary Electrophoresis. *Anal. Lett.* **2002**, *35*, 2053–2076. [CrossRef]
40. ICH Guideline for Elemental Impurities Q3D (R2); The International Council for Harmonisation of Technical Requirements for Pharmaceuticals for Human: Geneva, Switzerland, 2022.
41. Silva, R.F.T. Range and Output Simulation for Elemental Impurities in Drug Products. Master Thesis, University of Lisbon, Lisbon, Portugal, 2018.
42. Sanderson, J.; Whitecotton, L. Analysis of Artificial Tear Eye Drops for Elemental Impurities. Using an ICP-MS and USP <232>/<233> and ICH Q3D(R2)/Q2(R1) Protocols. Agilent Technologies, Inc. 2022. Available online: <https://www.agilent.com/cs/library/applications/application-elemental-impurity-sated-7900-icp-ms-5994-1561en-agilent.pdf> (accessed on 28 July 2023).
43. USP <232>-Elemental Impurities-Limits. In *First Supplement to USP 40–NF 35*; The United States Pharmacopeial Convention: Rockville, MD, USA, 2017.
44. Geronimo, A.C.R.; Melo, E.S.P.; Silva, K.R.N.; Pereira, H.S.; Nascimento, V.A.; Machate, D.J.; do Nascimento, V.A. Human Health Risk Assessment of Heavy Metals and Metalloids in Herbal Medicines Used to Treat Anxiety: Monitoring of Safety. *Front. Pharmacol.* **2021**, *12*, 772928. [CrossRef]
45. Long, G.L.; Winefordner, J.D. Limit of Detection. A Closer Look at the IUPAC Definition. Available online: <https://pubs.acs.org/doi/pdf/10.1021/ac00258a001> (accessed on 7 November 2022).
46. Becaria, A.; Campbell, A.; Bondy, S. Aluminum as a Toxicant. *Toxicol. Ind. Health* **2002**, *18*, 309–320. [CrossRef] [PubMed]
47. Lu, Z.-Y.; Gong, H.; Amemiya, T. Aluminum Chloride Induces Retinal Changes in the Rat. *Toxicol. Sci.* **2002**, *66*, 253–260. [CrossRef] [PubMed]
48. Jomova, K.; Jenisova, Z.; Feszterova, M.; Baros, S.; Liska, J.; Hudecova, D.; Rhodes, C.J.; Valko, M. Arsenic: Toxicity, Oxidative Stress and Human Disease. *J. Appl. Toxicol.* **2011**, *31*, 95–107. [CrossRef] [PubMed]
49. Das, D.; Bindhani, B.; Mukherjee, B.; Saha, H.; Biswas, P.; Dutta, K.; Prasad, P.; Sinha, D.; Ray, M.R. Chronic Low-Level Arsenic Exposure Reduces Lung Function in Male Population without Skin Lesions. *Int. J. Public Health* **2014**, *59*, 655–663. [CrossRef] [PubMed]
50. Barra, C.M.; Santelli, R.E.; Abrão, J.J.; de la Guardia, M. Especificação de Arsênio-uma revisão. *Quím. Nova* **2000**, *23*, 58–70. [CrossRef]
51. Freund, P.; Al-Shafai, L.; Mankovskii, G.; Howarth, D.; Margolin, E. Clinicopathological Correlates: Chronic Arsenic Toxicity Causing Bilateral Symmetric Progressive Optic Neuropathy. *J. Neuroophthalmol.* **2020**, *40*, 423–427. [CrossRef]
52. Oskarsson, A. Chapter 4—Barium. In *Handbook on the Toxicology of Metals*, 5th ed.; Nordberg, G.F., Costa, M., Eds.; Academic Press: Cambridge, MA, USA, 2022; pp. 91–100. ISBN 978-0-12-822946-0.
53. Savazzi, E.A. Determination of the Presence of Barium, Lead and Chromium in Groundwater Samples Collected from the Bauru Aquifer. Master’s Thesis, University of Sao Paulo, Sao Paulo, Brazil, 2009.
54. Young, J.A. Barium Nitrate. *J. Chem. Educ.* **2006**, *83*, 34. [CrossRef]
55. Matsushita, K.; Kawashima, R.; Hashida, N.; Hamano, Y.; Harada, K.; Higashisaka, K.; Baba, K.; Sato, S.; Huang, W.; Matsumoto, H.; et al. Barium-Induced Toxic Anterior Segment Syndrome. *Eur. J. Ophthalmol.* **2021**, *33*, NP31–NP35. [CrossRef]

56. WHO. International Programme on Chemical Safety. In *Barium: Health and Safety Guide*; Health and safety guide; World Health Organization: Geneva, Switzerland, 1991; ISBN 978-92-4-151046-2.
57. Volpe, M.G.; Nazzaro, M.; Coppola, R.; Rapuano, F.; Aquino, R.P. Determination and Assessments of Selected Heavy Metals in Eye Shadow Cosmetics from China, Italy, and USA. *Microchem. J.* **2012**, *101*, 65–69. [\[CrossRef\]](#)
58. The International Agency for Research on Cancer. Chlorinated Drinking-Water, Chlorination by-Products, Some Other Halogenated Compounds, Cobalt and Cobalt Compounds. In *Proceedings of the Chlorinated Drinking-Water, Chlorination By-Products, Some Other Halogenated Compounds, Cobalt and Cobalt Compounds*; International Agency for Research on Cancer: Lyon, France, 1991.
59. Garcia, M.D.; Hur, M.; Chen, J.J.; Bhatti, M.T. Cobalt Toxic Optic Neuropathy and Retinopathy: Case Report and Review of the Literature. *Am. J. Ophthalmol. Case Rep.* **2020**, *17*, 100606. [\[CrossRef\]](#)
60. Vennam, S.; Georgoulas, S.; Khawaja, A.; Chua, S.; Strouthidis, N.G.; Foster, P.J. Heavy Metal Toxicity and the Aetiology of Glaucoma. *Eye* **2020**, *34*, 129–137. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
61. Ng, S.K.; Ebnetter, A.; Gilhotra, J.S. Hip-Implant Related Chorio-Retinal Cobalt Toxicity. *Indian J. Ophthalmol.* **2013**, *61*, 35–37. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
62. Lim, C.A.; Khan, J.; Chelva, E.; Khan, R.; Unsworth-Smith, T. The Effect of Cobalt on the Human Eye. *Doc. Ophthalmol.* **2015**, *130*, 43–48. [\[CrossRef\]](#)
63. Lozi, A.A. Comparative Toxicity of Heavy Metals, Arsenic, Cadmium, Lead, Chromium and Nickel, on Reproductive Parameters of Adult Male Mice after Acute Exposure. Master Thesis, Federal University of Viçosa, Viçosa, Brazil, 2019.
64. Silva, M.F.d.J. Assessment of health risks resulting from mixtures of metals potentially present in medicines. In *Integrated Master in Pharmaceutical Sciences*; Higher Institute of Health Sciences Egas Moniz: Caparica, Portugal, 2017.
65. Kaparwan, A. Hexavalent Chromium Induced Toxicity in Nature and Living Beings. *Int. Educ. Sci. Res. J.* **2023**, *9*, 3–9.
66. Von Burg, R.; Liu, D. Chromium and Hexavalent Chromium. *J. Appl. Toxicol.* **1993**, *13*, 225–230. [\[CrossRef\]](#)
67. Waggoner, D.J.; Bartnikas, T.B.; Gitlin, J.D. The Role of Copper in Neurodegenerative Disease. *Neurobiol. Dis.* **1999**, *6*, 221–230. [\[CrossRef\]](#)
68. Haddad, N.; Alasadi, S.; Haddad, H. Contamination of Heavy Metals (Lead, Zinc, Magnesium and Manganese) Concentrations in Human Eyes. *Am. J. Anal. Chem.* **2012**, *337065*, 491–494. [\[CrossRef\]](#)
69. McGahan, M.C.; Bito, L.Z.; Myers, B.M. The Pathophysiology of the Ocular Microenvironment. II. Copper-Induced Ocular Inflammation and Hypotony. *Exp. Eye Res.* **1986**, *42*, 595–605. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
70. Ayenimo, J.G.; Yusuf, A.M.; Adekunle, A.S.; Makinde, O.W. Heavy Metal Exposure from Personal Care Products. *Bull. Environ. Contam. Toxicol.* **2010**, *84*, 8–14. [\[CrossRef\]](#)
71. Benarroch, E.E. Brain Iron Homeostasis and Neurodegenerative Disease. *Neurology* **2009**, *72*, 1436–1440. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
72. Ugarte, M.; Osborne, N.N.; Brown, L.A.; Bishop, P.N. Iron, Zinc, and Copper in Retinal Physiology and Disease. *Surv. Ophthalmol.* **2013**, *58*, 585–609. [\[CrossRef\]](#)
73. Bhasin, G.; Kauser, H.; Athar, M. Iron Augments Stage-I and Stage-II Tumor Promotion in Murine Skin. *Cancer Lett.* **2002**, *183*, 113–122. [\[CrossRef\]](#)
74. Wong, R.W.; Richa, D.C.; Hahn, P.; Green, W.R.; Dunaief, J.L. Iron Toxicity as a Potential Factor in AMD. *Retina* **2007**, *27*, 997–1003. [\[CrossRef\]](#)
75. Ajib, F.A.; Childress, J.M. *Magnesium Toxicity*; StatPearls Publishing: Treasure Island, FL, USA, 2021.
76. Lei, M.; Zhu, Y.; Liang, S. Toxic effects of manganese ion eyedrops to ocular anterior segment. *Health Environ. Res. Online (HERO)* **2016**, *34*, 510–515.
77. Khosla, P.K.; Karki, D.B.; Gahlot, D.K. Retinotoxic Effect of Zinc, Manganese and Molybdenum on Rabbit Retina (an Experimental Study). *Indian J. Ophthalmol.* **1983**, *31*, 545–547.
78. Ceylan, O.; Can Demirdöğen, B.; Mumcuoglu, T.; Aykut, O. Evaluation of Essential and Toxic Trace Elements in Pseudoexfoliation Syndrome and Pseudoexfoliation Glaucoma. *Biol. Trace Elem. Res.* **2013**, *153*, 28–34. [\[CrossRef\]](#)
79. Ott, H.C.; Prior, C.; Herold, M.; Riha, M.; Laufer, G.; Ott, G. Respiratory Symptoms and Bronchoalveolar Lavage Abnormalities in Molybdenum Exposed Workers. *Wien. Klin. Wochenschr.* **2004**, *116*, 25–30.
80. Jonmaire, P. Molybdenum. In *Hamilton & Hardy's Industrial Toxicology*; John Wiley & Sons, Ltd.: Hoboken, NJ, USA, 2015; pp. 167–172. ISBN 978-1-118-83401-5.
81. Mani, P.; Vijayavathi, B.S. Nickel as an Essential Element and a Toxicant. *Int. J. Environ. Sci.* **2012**, *1*, 285–288.
82. Nagarjuna, A.; Mohan, D. Biochemical and Histopathological Changes Induced by Nickel in the Striped Mullet, Mugil Cephalus (Linnaeus 1758). *Bull. Environ. Contam. Toxicol.* **2017**, *98*, 33–40. [\[CrossRef\]](#)
83. Nelke, K.; Mulak, M.; Luczak, K.; Pawlak, W.; Nienartowicz, J.; Szumny, D.; Morawska-Kochman, M.; Gerber, H. Occurrence and Exposure to Lead and Cadmium and Their Environmental Influence on Eye Sight. *Pol. J. Environ. Stud.* **2015**, *24*, 1491–1496. [\[CrossRef\]](#)
84. Martin, S.; Griswold, W. *Human Health Effects of Heavy Metals*; Center for Hazardous Substance Research: Manhattan, KS, USA, 2009.
85. ATSDR. *Toxicological Profile for Selenium*; Agency for Toxic Substances and Disease Registry, U.S.: Atlanta, GA, USA, 2003.
86. Bruhn, R.L.; Stamer, W.D.; Herrygers, L.A.; Levine, J.M.; Noecker, R.J. Relationship between Glaucoma and Selenium Levels in Plasma and Aqueous Humour. *Br. J. Ophthalmol.* **2009**, *93*, 1155–1158. [\[CrossRef\]](#)
87. Karaküçük, S.; Mirza, G.E.; Ekinciler, Ö.F.; Saraymen, R.; Karaküçük, İ.; Üstüdal, M. Selenium Concentrations in Serum, Lens and Aqueous Humour of Patients with Senile Cataract. *Acta Ophthalmol. Scand.* **1995**, *73*, 329–332. [\[CrossRef\]](#)

88. EMEA. *Guideline on the Specification Limits for Residues of Metal Catalysts or Metal Reagents*; European Medicines Agency: London, UK, 2008.
89. Fallahi, P.; Foddiss, R.; Elia, G.; Ragusa, F.; Patrizio, A.; Guglielmi, G.; Frenzilli, G.; Benvenega, S.; Cristaudo, A.; Antonelli, A.; et al. Induction of Th1 Chemokine Secretion in Dermal Fibroblasts by Vanadium Pentoxide. *Mol. Med. Rep.* **2018**, *17*, 6914–6918. [[CrossRef](#)]
90. Barceloux, D.G.; Barceloux, D. Vanadium. *J. Toxicol. Clin. Toxicol.* **1999**, *37*, 265–278. [[CrossRef](#)]
91. Cervantes-Yépez, S.; López-Zepeda, L.S.; Fortoul, T.I. Vanadium Inhalation Induces Retinal Müller Glial Cell (MGC) Alterations in a Murine Model. *Cutan. Ocul. Toxicol.* **2018**, *37*, 200–206. [[CrossRef](#)]
92. Rojas-Lemus, M.; López-Valdez, N.; Bizarro-Nevarés, P.; González-Villalva, A.; Ustarroz-Cano, M.; Zepeda-Rodríguez, A.; Pasos-Nájera, F.; García-Peláez, I.; Rivera-Fernández, N.; Fortoul, T.I. Toxic Effects of Inhaled Vanadium Attached to Particulate Matter: A Literature Review. *Int. J. Environ. Res. Public Health* **2021**, *18*, 8457. [[CrossRef](#)]
93. Vishwanathan, R.; Chung, M.; Johnson, E.J. A Systematic Review on Zinc for the Prevention and Treatment of Age-Related Macular Degeneration. *Investig. Ophthalmol. Vis. Sci.* **2013**, *54*, 3985–3998. [[CrossRef](#)]
94. Nriagu, J. *Zinc Toxicity in Humans*; Elsevier B. V.: Amsterdam, The Netherlands, 2007.
95. Amartey, E.O.; Asumadu-Sakyi, A.B.; Adjei, C.A.; Quashie, F.K.; Duodu, G.O.; Bentil, N.O. Determination of Heavy Metals Concentration in Hair Pomades on the Ghanaian Market Using Atomic Absorption Spectrometry Technique. *Br. J. Pharmacol. Toxicol.* **2011**, *2*, 192–198.
96. Ezeabara, C.; Ogochukwu, O.; Emeka, A.; Okeke, C.; Mbaekwe, E. Heavy Metal Contamination of Herbal Drugs: Implication for Human Health—A Review. *Int. J. Trop. Dis. Health* **2014**, *4*, 1044–1058. [[CrossRef](#)]
97. Rai, P.K.; Lee, S.S.; Zhang, M.; Tsang, Y.F.; Kim, K.-H. Heavy Metals in Food Crops: Health Risks, Fate, Mechanisms, and Management. *Environ. Int.* **2019**, *125*, 365–385. [[CrossRef](#)]
98. Bachu, R.D.; Chowdhury, P.; Al-Saedi, Z.H.F.; Karla, P.K.; Boddu, S.H.S. Ocular Drug Delivery Barriers—Role of Nanocarriers in the Treatment of Anterior Segment Ocular Diseases. *Pharmaceutics* **2018**, *10*, 28. [[CrossRef](#)]
99. Del Amo, E.M.; Urtti, A. Current and Future Ophthalmic Drug Delivery Systems: A Shift to the Posterior Segment. *Drug Discov. Today* **2008**, *13*, 135–143. [[CrossRef](#)]
100. Agrahari, V.; Mandal, A.; Agrahari, V.; Trinh, H.M.; Joseph, M.; Ray, A.; Hadji, H.; Mitra, R.; Pal, D.; Mitra, A.K. A Comprehensive Insight on Ocular Pharmacokinetics. *Drug Deliv. Transl. Res.* **2016**, *6*, 735–754. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]

Disclaimer/Publisher’s Note: The statements, opinions and data contained in all publications are solely those of the individual author(s) and contributor(s) and not of MDPI and/or the editor(s). MDPI and/or the editor(s) disclaim responsibility for any injury to people or property resulting from any ideas, methods, instructions or products referred to in the content.

Supplementary material

Quantification of Metal(loid)s in Lubricating Eye Drops Used in the Treatment of Dry Eye Disease

Marcelo de Oliveira ^{1,2}, Elaine S. de Pádua Melo ², Thaís Carvalho da Silva ², Carla Maiara Lopes Cardozo ^{1,2}, Igor Valadares Siqueira ², Mariana Pereira Hamaji ², Vanessa Torres Braga ¹, Luiz Fernando Taranta Martin ², Alessandro Fonseca ² and Valter Aragão do Nascimento ^{1,2,*}

¹ Graduate Program in Health and Development in the Central-West Region of Brazil, Federal University of Mato Grosso do Sul, Campo Grande 79079-900, Brazil; mdeoliveira@gmail.com (M.d.O.); nutricarlalopes@gmail.com (C.M.L.C.); nessatorresb@hotmail.com (V.T.B.)

² Group of Spectroscopy and Bioinformatics Applied to Biodiversity and Health, School of Medicine, Postgraduation Program in Health and Development in the Midwest Region, Faculty of Medicine, Federal University of Mato Grosso do Sul, Campo Grande 79079-900, Brazil; elainesp Melo@hotmail.com (E.S.d.P.M.); tata.silva1772@gmail.com (T.C.d.S.); igorvaladares@gmail.com (I.V.S.); marihamaji@gmail.com (M.P.H.); luiztaranta@gmail.com (L.F.T.M.); acfms2005@gmail.com (A.F.)

* Correspondence: aragao60@hotmail.com

Table S1. Statistical test used in view of the results of the Table 2 on concentration of quantified metal(loid)s in lubricating eye drops.

Element	Eye drops 1*	Eye drops 2*	Eye drops 3*	Eye drops 4*	Eye drops 5*	Eye drops 6*	Eye drops 7*
Al	a	< LOD	< LOD	< LOD	< LOD	< LOD	< LOD
As	a	b	ac	acd	acde	acdef	adg
Ba	a	ab	c	bd	bde	bdef	abdefg
Cd	a	ab	abc	ad	acde	acdef	abcdefg
Co	a	ab	abc	bcd	e	abcdf	abcdfg
Cr	< LOD	< LOD	< LOD	< LOD	< LOD	< LOD	< LOD
Cu	a	ab	abc	abcd	abde	abcdef	abdefg
Fe	a	< LOD	ac	< LOD	< LOD	df	< LOD
Mg	a	ab	abc	< LOD	e	< LOD	g
Mn	a	ab	bc	cd	cde	cdef	cdefg
Mo	a	b	ac	d	acde	acdef	acefg
Ni	a	b	c	cd	cde	cdef	ag
Pb	< LOD	b	< LOD	< LOD	< LOD	< LOD	< LOD
Se	a	b	ac	acd	acde	acdef	acdeg
V	a	ab	abc	acd	bce	acdf	abcdeg
Zn	a	b	c	d	e	cdf	cdg
Element	Eye drops 8*	Eye drops 9*	Eye drops 10*	Eye drops 11*	Eye drops 12*	Eye drops 13*	
Al	< LOD	< LOD	< LOD	< LOD	l	m	
As	h	hi	bhij	gk	bkl	bklm	
Ba	abgh	ahi	abdfghj	abdefgjk	abdefgjkl	abdefgjklm	
Cd	abcdefgh	abcfghi	abcdefghij	adefghk	abcdefghijkl	abdefghjklm	
Co	abcdfgh	abcfghi	abcdfghij	abcdfghijk	abcdfghijkl	abcdfghijklm	
Cr	< LOD	i	< LOD	ik	< LOD	< LOD	
Cu	abcdefgh	abcfghi	abcdefghij	abdefghijk	abdefghijkl	abdefghijklm	
Fe	dfh	< LOD	< LOD	< LOD	l	m	
Mg	abch	i	abchj	gk	gkl	abchjm	

Mn	abh	abhi	abcfgj	cdefgjk	abcdfgjkl	abchijlm
Mo	bh	bhi	bhij	acgk	acgkl	acefgklm
Ni	h	bhi	bhij	agk	bgikl	bgklm
Pb	bh	bi	bhij	hk	bhkl	bhklm
Se	bh	i	bhj	acdegk	bhjl	bhjklm
V	abcdefgh	i	abcdefghj	abcdefghjk	l	elm
Zn	h	cdgi	j	k	dl	m
Element	Eye drops 14*	Eye drops 15**	Eye drops 16**	Eye drops 17**	Eye drops 18**	Eye drops 19**
Al	an	ano	< LOD	< LOD	r	< LOD
As	gklmn	acdefo	bijp	adgknq	r	gknqs
Ba	bdefgijklmn	bdefgikmno	cp	q	bdefgijklmnor	ahis
Cd	defgkmn	abcdefghijklmo	abcdefghijklmnp	adefgklmnpq	abcdefghijklmnopqr	adefghijklmnopqrs
Co	abdefgijklmn	abdefghijklmno	abdefghijklmnop	abdefghijklmnopq	abdefghijklmnopqr	abdefghijklmnopqrs
Cr	< LOD	< LOD	< LOD	< LOD	< LOD	s
Cu	abdefghijklmn	abdefghijklmno	abdefghijklmnop	abcfhiq	abdefghijklmnopqr	abdefghijklmnoprs
Fe	< LOD	o	< LOD	< LOD	mr	dfhos
Mg	abchjmn	abchjmno	< LOD	< LOD	abchjmnor	< LOD
Mn	cdefgklmn	cdefgiklno	cdefgknop	cdefgklmnopq	abchijlmnr	cdefgklmnopqs
Mo	acdefgkmn	defno	acefklmnop	defgnoq	defoqr	acdefgmnopqrs
Ni	acefn	cefno	adgknp	cdefnoq	acdefnoqr	cdefnoqrs
Pb	< LOD	< LOD	< LOD	< LOD	< LOD	< LOD
Se	bcdgklmn	acdefgkno	ip	abcdgklmnoq	fr	bhjklmnqs
V	abcdfhjkn	abcdfghjkno	abcdfhjknop	abcdfhjknopq	abcdeghjkor	abcdfhjknopqs
Zn	en	o	op	opq	enr	s

Notes: * With preservative; ** without preservative; < LOD - Analyte concentrations were below detection limits; different letters on the same line represent statistical differences between samples ($p < 0.05$) by one-way ANOVA with post hoc Tukey's test; P value in the line referring to the comparisons between the concentrations of lubricating eye drops for the elements Al, As, Ba, Cd, Co, Cr, Cu, Fe, Mn, Mo, Ni, Pb, Se, V and Zn ($p < 0.0001$), Cr and Mg ($p = 0.0001$).

Table S2. Statistical test used in view of the results of the Table 3 on values of daily instillation of lubricating eye drops.

Element	Eye drops 1*	Eye drops 2*	Eye drops 3*	Eye drops 4*	Eye drops 5*	Eye drops 6*	Eye drops 7*
Al	a	< LOD	< LOD	< LOD	< LOD	< LOD	< LOD
As	a	b	c	ad	ade	acdef	g
Ba	a	b	ac	bd	abde	bdef	acg
Cd	a	ab	c	d	ae	abf	eg
Co	a	ab	abc	abcd	de	abcdf	abcdfg
Cr	< LOD	< LOD	< LOD	< LOD	< LOD	< LOD	< LOD
Cu	a	ab	abc	abcd	abcde	abcdef	abcdefg
Fe	a	< LOD	c	< LOD	< LOD	f	< LOD
Mg	a	ab	abc	< LOD	e	< LOD	g
Mn	a	b	c	cd	cde	cdef	befg
Mo	a	b	c	cd	ae	aef	bg
Ni	a	b	c	cd	cde	cdef	bg
Pb	< LOD	b	< LOD	< LOD	< LOD	< LOD	< LOD
Se	a	ab	c	ad	ae	adf	beg
V	a	ab	abc	abcd	e	abcdf	eg
Zn	a	b	c	cd	cde	f	bg
Element	Eye drops 8*	Eye drops 9*	Eye drops 10*	Eye drops 11*	Eye drops 12*	Eye drops 13*	
Al	< LOD	< LOD	< LOD	< LOD	l	m	
As	h	i	hj	bgk	il	ilm	
Ba	acgh	acghi	hij	abcefgk	hijl	acghijm	
Cd	aegh	aefghi	j	abfik	jl	jlm	
Co	abcfgh	abcfghi	abcfghij	abcdfghijk	abcfghijkl	abcdfghijklm	
Cr	< LOD	i	< LOD	ik	< LOD	< LOD	
Cu	abcdefgh	abcdefghi	abcdefghij	abcdefgjk	abcdefghijkl	abcdefghijklm	
Fe	fh	< LOD	< LOD	< LOD	l	m	
Mg	abch	i	abchj	gk	l	abchjm	
Mn	ah	ahi	hij	bcdefgk	ahijl	hjlm	
Mo	h	hi	j	abgk	hil	bghim	

Ni	h	gi	j	bgk	hl	him
Pb	bh	bi	bij	bhk	bhkl	bhkml
Se	h	hi	j	begk	jl	ilm
V	abcdfgh	i	abcdefghj	abcdefghjk	il	m
Zn	h	fi	hj	k	fil	m
Element	Eye drops 14*	Eye drops 15**	Eye drops 16**	Eye drops 17**	Eye drops 18**	Eye drops 19**
	an	ano	< LOD	< LOD	mr	< LOD
As	bgkn	adefo	adefop	cq	qr	fqs
Ba	abcefgkln	abdefkno	bdfp	abcefgknoq	dpr	prs
Cd	abefhikn	aeghino	p	pq	cr	pqs
Co	abcdfghkmn	abcd,fghijklmno	acdfkmnp	cdfmnpq	abcdfghijklmnopqr	abcdfgkmlnopqrs
Cr	< LOD	< LOD	< LOD	< LOD	< LOD	s
Cu	bcdefgijklmn	abcdefgijklmno	bcdefgijklmnop	abcdefghijklmnopq	abcdefghijklmnopqr	bcdefgijklmnopqrs
Fe	< LOD	co	< LOD	< LOD	r	fhs
Mg	abchjmn	abchjmno	< LOD	< LOD	abchjmnor	< LOD
Mn	bfgkn	bcdefgkno	p	pq	bcdefgknor	cpqs
Mo	abegkn	aefo	p	pq	cdpr	pqs
Ni	an	cdefo	cdfp	cdpq	cdefopr	cdpqs
Pb	< LOD	< LOD	< LOD	< LOD	< LOD	< LOD
Se	ghkn	abeko	cp	q	cpqr	pqrs
V	abcdfhn	abcdfhjkno	abcdfnop	abcdfnopq	abcdfghjknor	abcdfnopqs
Zn	cden	o	p	pq	or	fils

Notes: * With preservative; ** without preservative; < LOD - Analyte concentrations were below detection limits; different letters on the same line represent statistical differences between samples ($p < 0.05$) by one-way ANOVA with post hoc Tukey's test; P value in the line referring to comparisons between daily exposures by instillation of lubricating eye drops for the elements Al, As, Ba, Cd, Co, Fe, Mg, Mn, Mo, Ni, Se, V and Zn ($p < 0.0001$), Cr ($p = 0.0062$), Fe ($p = 0.0002$) and Pb ($p = 0.0001$).