

UNIVERSIDADE FEDERAL DE MATO GROSSO DO SUL
FACULDADE DE MEDICINA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM SAÚDE E DESENVOLVIMENTO NA
REGIÃO CENTRO-OESTE
GISELE MELO SANCHES

QUANTIFICAÇÃO DE METAIS E METALÓIDES EM AMOSTRAS COMERCIAIS
DE COLÍRIOS UTILIZADOS NO TRATAMENTO DE GLAUCOMA NO BRASIL

Campo Grande – MS
2025

GISELE MELO SANCHES

**QUANTIFICAÇÃO DE METAIS E METALÓIDES EM AMOSTRAS COMERCIAIS
DE COLÍRIOS UTILIZADOS NO TRATAMENTO DE GLAUCOMA NO BRASIL**

Dissertação 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 a obtenção do título de Mestre em Saúde e Desenvolvimento na Região Centro-Oeste. Linha de Pesquisa: Metabolismo mineral e nutrição.

Orientador: Prof. Dr. Valter Aragão do Nascimento.

**Campo Grande – MS
2025**



Ata de Defesa de Dissertação
Programa de Pós-Graduação em Saúde e Desenvolvimento na Região Centro-Oeste
Mestrado

Aos vinte e dois dias do mês de agosto do ano de dois mil e vinte e cinco, às treze horas, na Videoconferência, da Fundação Universidade Federal de Mato Grosso do Sul, reuniu-se a Banca Examinadora composta pelos membros: Valter Aragao do Nascimento (UFMS), Alexandra Maria Almeida Carvalho (UFMS) e Marcelo de Oliveira (UFMS), sob a presidência do primeiro, para julgar o trabalho da aluna: GISELE MELO SANCHES, CPF ***.286.131-**, Área de concentração em Tecnologia e Saúde, do Programa de Pós-Graduação em Saúde e Desenvolvimento na Região Centro-Oeste, Curso de Mestrado, da Fundação Universidade Federal de Mato Grosso do Sul, apresentado sob o título "QUANTIFICAÇÃO DE METAIS E METALÓIDES EM AMOSTRAS COMERCIAIS DE COLÍRIOS UTILIZADOS NO TRATAMENTO DE GLAUCOMA NO BRASIL" e orientação de Valter Aragao do Nascimento. O presidente da Banca Examinadora declarou abertos os trabalhos e agradeceu a presença de todos os Membros. A seguir, concedeu a palavra à aluna que expôs sua Dissertação. Terminada a exposição, os senhores membros da Banca Examinadora iniciaram as arguições. Terminadas as arguições, o presidente da Banca Examinadora fez suas considerações. A seguir, a Banca Examinadora reuniu-se para avaliação, e após, emitiu parecer expresso conforme segue:

EXAMINADOR(A)	ASSINATURA	AValiação
Dr. Valter Aragao do Nascimento (Interno) Presidente da Banca Examinadora	 Documento assinado digitalmente VALTER ARAGAO DO NASCIMENTO Data: 25/08/2025 19:47:11-0300 Verifique em https://validar.iti.gov.br	☒ Aprovação ☐ Aprovação c/ revisão ☐ Reprovação
Dra. Alexandra Maria Almeida Carvalho (Interno)	 Documento assinado digitalmente ALEXANDRA MARIA ALMEIDA CARVALHO Data: 25/08/2025 09:59:53-0300 Verifique em https://validar.iti.gov.br	☒ Aprovação ☐ Aprovação c/ revisão ☐ Reprovação
Dra. Elaine Silva de Padua Melo (Interno) (Suplente)		☐ Aprovação ☐ Aprovação c/ revisão ☐ Reprovação
Dr. Marcelo de Oliveira (Externo)	 Documento assinado digitalmente MARCELO DE OLIVEIRA Data: 26/08/2025 09:56:35-0300 Verifique em https://validar.iti.gov.br	☒ Aprovação ☐ Aprovação c/ revisão ☐ Reprovação

RESULTADO FINAL: ☒ APROVAÇÃO ☐ APROVAÇÃO COM REVISÃO ☐ REPROVAÇÃO

OBSERVAÇÕES: _____

Documento assinado digitalmente
 **GISELE MELO SANCHES**
Data: 27/08/2025 10:34:42-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Assinatura do(a) Aluno(a)

Nada mais havendo a ser tratado, o(a) Presidente declarou a sessão encerrada e agradeceu a todos pela presença.

Aos meus guias espirituais, pela luz, intuição e força invisível que me sustentaram nos momentos mais desafiadores desta caminhada.

À minha família, por ser meu alicerce, pela compreensão nos momentos de ausência e pelas palavras de apoio que tantas vezes renovaram minhas forças.

Ao meu companheiro de vida, por todo amor, paciência e por caminhar ao meu lado com tanto carinho, mesmo nos dias mais difíceis.

A cada um de vocês, minha mais profunda gratidão.

AGRADECIMENTOS

Ao meu orientador, Professor Valter Aragão do Nascimento, pela generosidade intelectual, paciência e pelas contribuições valiosas ao longo de todo o processo desta dissertação.

À CAPES pela concessão de fomento necessário ao desenvolvimento da pesquisa.

Nem sempre a ameaça é visível: há metais que escorrem em gotas silenciosas, atravessam o olhar e obscurecem a luz. O que toca os olhos, toca também o futuro da saúde.

(Autoria própria)

RESUMO

O glaucoma é uma das principais causas de cegueira irreversível no mundo, exigindo uso contínuo de colírios para controle da pressão intraocular. Entretanto, a presença de metais e metalóides em formulações oftálmicas ainda é pouco investigada. Neste estudo, quantificou-se 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 amostras comerciais de colírios para glaucoma. No total, foram adquiridas 50 amostras por meio de compras em pontos de venda comerciais, as quais foram analisadas utilizando espectrometria de emissão óptica com plasma indutivamente acoplado (ICP-OES). Os resultados obtidos foram comparados com os limites estabelecidos por órgãos regulatórios nacionais e internacionais. As concentrações variaram entre fabricantes, destacando-se, Al ($0,2636 \pm 0,0179$ - $0,1001 \pm 0,0050$ mg/kg), Cd ($0,0394 \pm 0,0054$ - $0,0093 \pm 0,0050$ mg/kg), Cr ($0,0385 \pm 0,0114$ - $0,0102 \pm 0,0115$ mg/kg), Mg ($4,3968 \pm 0,3553$ - $0,0093 \pm 0,0252$ mg/kg), Se ($0,1191 \pm 0,0029$ - $0,0290 \pm 0,0024$ mg/kg), e Zn ($0,1030 \pm 0,1247$ - $0,0589 \pm 0,0257$ mg/kg). Comparados aos limites estabelecidos pela Farmacopéia Brasileira e pela ICH Q3D (R2) para medicamentos parenterais, os valores encontrados para o Cd estavam bem acima do padrão. A exposição diária permitida (PDE) calculada indica a necessidade de padronização específica para produtos oftálmicos, visto que não há limites exclusivos para essa via de administração. Os resultados reforçam a importância de monitoramento sistemático, melhoria dos processos de fabricação e atualização da legislação para garantir a segurança do paciente.

Palavras-chave: Colírios; Glaucoma; Metais pesados; ICP-OES; Impurezas elementares.

ABSTRACT

Glaucoma is one of the leading causes of irreversible blindness worldwide, requiring continuous use of eye drops to control intraocular pressure. However, the presence of metals and metalloids in ophthalmic formulations has been little investigated. In this study, aluminum (Al), arsenic (As), barium (Ba), cadmium (Cd), cobalt (Co), chromium (Cr), copper (Cu), iron (Fe), magnesium (Mg), manganese (Mn), molybdenum (Mo), nickel (Ni), lead (Pb), selenium (Se), vanadium (V), and zinc (Zn) in commercial samples of eye drops for glaucoma. A total of 50 samples were purchased from commercial outlets and analyzed using inductively coupled plasma optical emission spectrometry (ICP-OES). The results obtained were compared with the limits established by national and international regulatory agencies. Concentrations varied between manufacturers, with the following standing out: Al (0.2636 ± 0.0179 and 0.1001 ± 0.0050 mg/kg), Cd (0.0394 ± 0.0054 and 0.0093 ± 0.0050 mg/kg), Cr (0.0385 ± 0.0114 and 0.0102 ± 0.0115 mg/kg), Mg (4.3968 ± 0.3553 and 0.0093 ± 0.0252 mg/kg), Se (0.1191 ± 0.0029 and 0.0290 ± 0.0024 mg/kg), and Zn (0.1030 ± 0.1247 and 0.0589 ± 0.0257 mg/kg). Compared to the limits established by the Brazilian Pharmacopoeia and ICH Q3D (R2) for parenteral drugs, the values found for Cd were well above the standard. The calculated permissible daily exposure (PDE) indicates the need for specific standardization for ophthalmic products, since there are no exclusive limits for this route of administration. The results reinforce the importance of systematic monitoring, improvement of manufacturing processes, and updating of legislation to ensure patient safety.

Keywords: Eye drops; Glaucoma; Heavy metals; ICP-OES; Elemental impurities.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Espectrometria de Emissão Óptica com Plasma Indutivamente Acoplado...	21
Figura 2. Soluções padrões utilizadas como padrão para obter a curva de calibração.....	23
Figura 3. Matrix Plot. Concentração Média de Al quantificada nas amostras de colírios estudadas.....	28
Figura 4. Matrix Plot. Concentração Média de Cd quantificada nas amostras de colírios estudadas... ..	33
Figura 5. Matrix Plot: Concentração Média de Cr quantificada nas amostras de colírios estudadas.....	34
Figura 6. Matrix Plot: Concentração Média de Mg quantificada nas amostras de colírios estudadas.....	35
Figura 7. Matrix Plot: Concentração Média de Se quantificada nas amostras de colírios estudadas.....	36
Figura 8. Matrix Plot: Concentração Média de Zn quantificada nas amostras de colírios estudadas.....	37

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Amostras Coletadas.....	21
Tabela 2. Parâmetros instrumentais para a determinação de elementos utilizando ICP-OES.....	22
Tabela 3. Limite de Detecção (LOD) e limite de quantificação (LOQ).....	23
Tabela 4. Colírio, volume de uma gota (mL), frequência máxima diária de instilações nos olhos e dose máxima diária (mL), conforme estabelecido na bula... ..	24
Tabela 5. Quantificação de elementos em colírios para glaucoma (mg/kg).....	27
Tabela 6. Exposição diária pela instilação de colírios comparados com os valores de PDE estabelecidos na diretriz ICH Q3D (R2) e na Farmacopéia Brasileira para via parenteral (ICH, 2022).....	35

LISTA DE LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

µg/dia	Microgramas por dia
AGPs	Análogos de Prostaglandinas
Al	Alumínio
ANVISA	Agência Nacional de Vigilância Sanitária
API	Ingrediente Farmacêutico Ativo
As	Arsênio
Ba	Bário
BAK	Cloreto de Benzalcônio
Cd	Cádmio
Co	Cobalto
Cr	Cromo
Cu	Cobre
DMRI	Degeneração Macular Relacionada à Idade
EO	Estresse Oxidativo
FAMED	Faculdade de Medicina
FB	Farmacopéia Brasileira
FDA	Food and Drug Administration
Fe	Ferro
GAA	Glaucoma de Ângulo Aberto
GPAA	Glaucoma Primário e Ângulo Aberto
H₂O₂	Peróxido de Hidrogênio
HNO₃	Ácido Nítrico
IACs	Inibidores da Anidrase Carbônica
ICH Q3D	Conselho Internacional para Harmonização de Requisitos Técnicos para Produtos Farmacêuticos de Uso Humano – Guia para Impurezas Elementares
ICP OES	Espectrometria de Emissão Óptica com Plasma Indutivamente Acoplado;
ICP-MS	Espectrometria de Massa com Plasma Indutivamente Acoplado
IE	Impurezas elementares
IUPAC	União Internacional de Química Pura e Aplicada
LOD	Limites de Detecção

LOQ	Limites de Quantificação
Mg	Magnésio
mg/L	Miligramas por Litro
mL	Mililitro
Mn	Manganês
Mo	Molibdênio
Ni	Níquel
OCT	Tomografia de Coerência Óptica
Pb	Chumbo
PDE	Exposição Diária Permitida
PIO	Pressão intraocular
ppm.	Partes por Milhão
R2	Versão 2 da Diretriz ICH Q3D
RF	Rádio Frequência
Se	Selênio
V	Vanádio
Zn	Zinco

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	7
2 REVISÃO DE LITERATURA	10
2.1 O GLAUCOMA	10
2.2 CLASSIFICAÇÃO	10
2.3 FISIOPATOLOGIA	11
2.4 EPIDEMIOLOGIA	11
2.5 PRINCIPAIS CAUSAS E FATORES DE RISCO ASSOCIADOS AO GLAUCOMA	11
2.6 SINAIS E SINTOMAS	12
2.7 DIAGNÓSTICO	13
2.8 TRATAMENTO	14
2.9 TRATAMENTO DO GLAUCOMA UTILIZANDO COLÍRIOS	15
2.10 IMPORTÂNCIA DO CONTROLE DE METAIS PESADOS EM COLÍRIOS PARA GLAUCOMA	16
2.10.1 Segurança do Paciente	16
2.10.2 Conformidade com Normas de Qualidade e Regulamentação	16
2.10.3 Preservação da Saúde Ocular	17
2.10.4 Desenvolvimento de Formulações Mais Seguras	17
2.10.5 Prevenção de Impactos no Tratamento	17
2.10.6 Proteção de Grupos Vulneráveis	17
2.10.7 Sustentabilidade e Responsabilidade Ambiental	18
3 OBJETIVOS	19
3.1 OBJETIVO GERAL	19
3.2 OBJETIVO ESPECÍFICOS	19
4 METODOLOGIA	20
4.1 COLETA DE AMOSTRAS	20
4.2 PREPARAÇÃO PARA ANÁLISE	20
4.3 DIGESTÃO ÁCIDA DAS AMOSTRAS	21
4.4 ANÁLISE ELEMENTAR POR ICP OES	21

4.5 CURVAS DE CALIBRAÇÃO	23
4.6 DETERMINAÇÃO DA DOSE DIÁRIA MÁXIMA DE COLÍRIO	25
4.7 ESTUDO COMPARATIVO	26
4.7.1 Concentrações Permitidas de Impurezas Elementares em Colírios	
Lubrificantes	26
4.7.2 PDE para Impurezas Elementares em Medicamentos Oftalmológicos.....	26
5 RESULTADOS E DISCUSSÃO	28
5.1 RESULTADOS	28
5.2 EXPOSIÇÃO DIÁRIA PERMITIDA (PDE) CONSIDERANDO A APLICAÇÃO OCULAR DOS COLÍRIOS.....	36
5.3 DISCUSSÃO	39
5.3.1 Alumínio (Al)	41
5.3.2 Cádmio (Cd)	42
5.3.3 Cromo (Cr)	43
5.3.4 Magnésio (Mg)	44
5.3.5 Selênio (Se).....	45
5.3.6 Zinco (Zn)	45
6 CONCLUSÃO	47
REFERÊNCIAS.....	48

1 INTRODUÇÃO

O glaucoma representa a principal causa de cegueira irreversível em nível global (Stein; Khawaja; Weizer, 2021). Esta condição engloba um conjunto heterogêneo de neuropatias ópticas progressivas, sensíveis à pressão intraocular (PIO), caracterizadas por um padrão específico de perda de células ganglionares da retina, descrito como neuropatia óptica glaucomatosa (Kolko *et al.*, 2023). Trata-se de uma neuropatia óptica crônica e progressiva, que se manifesta por danos ao nervo óptico e à camada de fibras nervosas da retina, podendo resultar em perda permanente da visão periférica ou central (Stein; Khawaja; Weizer, 2021).

O glaucoma é comumente classificado em duas categorias principais: glaucoma de ângulo aberto e glaucoma de ângulo fechado (Stein; Khawaja; Weizer, 2021). Projeções indicam que o número de pessoas afetadas por glaucoma pode alcançar 111,8 milhões até 2040, com impacto desproporcional sobre as populações da Ásia e da África (Tham *et al.*, 2014).

Os métodos diagnósticos para avaliação e monitoramento do glaucoma incluem a medição da PIO, perimetria e tomografia de coerência óptica (Stein; Khawaja; Weizer, 2021). O tratamento do glaucoma foca na redução da PIO, alcançada por meio de diferentes classes de medicamentos, procedimentos cirúrgicos a laser e incisões (Stein; Khawaja; Weizer, 2021). A progressão da doença pode ser controlada mediante a redução da PIO, frequentemente obtida com o uso de colírios (Hedengran; Kolko, 2023).

A abordagem terapêutica visa diminuir a PIO, seja reduzindo a produção de humor aquoso ou aumentando seu escoamento. Isso é usualmente realizado através da aplicação diária de colírios que contêm um princípio ativo farmacêutico (API) que atenua a produção de humor aquoso ou melhora o escoamento através das vias de drenagem (Hedengran; Kolko, 2023). Muitos desses colírios possuem conservantes para prevenir contaminações bacterianas após a abertura do frasco (Goldstein *et al.*, 2022).

No entanto, o uso prolongado de colírios contendo conservantes pode ocasionar danos aos tecidos oculares (Goldstein *et al.*, 2022; Nishiwaki-Dantas, 1999). Por outro lado, colírios isentos de conservantes podem minimizar os efeitos irritantes e a toxicidade ocular, embora sejam mais onerosos e apresentem frascos de difícil manuseio, especialmente para pacientes idosos (Baudouin *et al.*, 2010; Jones *et al.*,

2017).

Estudos indicam que metais e metalóides têm papel significativo na patogênese de diversas doenças oftalmológicas, incluindo 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 doença do olho seco (Chen; Chen; Lai, 2022; Choi *et al.*, 2020; Chung; Myong, 2016; Jung; Lee, 2019; Liou *et al.*, 2022). No entanto, há uma escassez de estudos clínicos que abordem a quantificação dos metais e metalóides em colírios, tanto com quanto sem conservantes, assim como são escassos estudos que envolvam os cálculos de riscos à saúde devido a utilização deste medicamento.

Nos colírios, podem ocorrer impurezas elementares (IE), contaminantes que podem ser introduzidos intencionalmente, por meio de reagentes e catalisadores, ou naturalmente, devido à contaminação ambiental dos excipientes ou do princípio ativo na formulação do medicamento (Silva, 2018).

Os níveis aceitáveis de metais e metalóides em produtos farmacêuticos são definidos por agências reguladoras, que baseiam suas decisões em dados toxicológicos para diferentes tipos de exposição, de modo a assegurar que os riscos não superem os benefícios terapêuticos (Brasil, 2019; Chawla *et al.*, 2020; EMA, 2018; ICH, 2022; Li *et al.*, 2015; Nageswara; Kumar, 2007; USP, 2017).

Diversos países possuem Farmacopéias que estabelecem parâmetros de qualidade e métodos de análise para insumos e medicamentos (Brasil, 2019; Kameyama *et al.*, 2019; WHO, 2022). Na ausência de informações nas Farmacopéias nacionais, alguns países adotam as diretrizes harmonizadas para impurezas elementares (ICH Q3D) estabelecidas pelo Conselho Internacional para Harmonização de Requisitos Técnicos para Medicamentos de Uso Humano (ICH) (Brasil, 2016; Canadá, 2016; EMA, 2018).

A diretriz ICH Q3D, atualmente na versão 2 (R2), apresenta um processo para avaliar e controlar as impurezas elementares (IEs) presentes em medicamentos administrados por via oral, parenteral e inalatória, estabelecendo as concentrações permitidas de impurezas em medicamentos, substâncias ativas e excipientes (ICH, 2022; Sanderson; Whitecotton, 2022; Silva, 2018), bem como os limites de Exposição Diária Permitida (PDE) para elementos de preocupação toxicológica. Entretanto, até o momento, não foram estabelecidos limites de concentração e exposição diária para

elementos químicos administrados por via oftálmica (Brasil, 2019; ICH, 2022; USP, 2017).

Motivado pelos resultados de estudos que sugerem a potencial associação entre a presença de metais pesados e riscos à saúde ocular (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), este estudo tem como objetivo 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 com e sem conservantes utilizados no tratamento do glaucoma no Brasil. Adicionalmente, os níveis desses elementos químicos nas amostras de colírios foram comparados com os limites de concentração de impurezas elementares estabelecidos pela Farmacopéia Brasileira (FB) (Brasil, 2019) e pela ICH Q3D (R2), e os valores de Exposição Diária Permitida (PDE) foram comparados com os valores recomendados pela ICH Q3D (R2) para a via parenteral (ICH, 2022).

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 O GLAUCOMA

O glaucoma é uma das principais causas de perda permanente da visão em nível mundial. Trata-se de é um grupo de neuropatias ópticas progressivas caracterizadas pela degeneração do nervo óptico, levando à perda gradual do campo visual e, eventualmente, à cegueira irreversível se não tratadas adequadamente (Weinreb, 2014; Jonas *et al.*, 2017).

Embora sua patogênese exata não seja completamente compreendida, a pressão intraocular (PIO) elevada é o principal fator de risco associado ao desenvolvimento e progressão da doença. O controle da PIO, por meio de colírios, procedimentos a laser ou cirurgias, é atualmente a única intervenção eficaz para retardar sua evolução (Nagstrup, 2023).

Devido à sua natureza frequentemente assintomática nos estágios iniciais, o diagnóstico costuma ser feito apenas nas fases mais avançadas (Weinreb, 2014). E na maioria dos casos, é uma condição crônica que exige tratamento contínuo ao longo da vida (Kang; Tanna, 2021). Embora o tratamento não reverta os danos já causados ao sistema visual, o diagnóstico e a intervenção precoce podem impedir a progressão da doença (Kang; Tanna, 2021).

2.2 CLASSIFICAÇÃO

O glaucoma pode ser classificado em duas categorias principais: glaucoma de ângulo aberto e glaucoma de ângulo fechado. Além disso, o glaucoma pode ser categorizado como primário ou secundário, dependendo de sua etiologia.

O glaucoma primário de ângulo aberto (GPAA) é a forma mais comum nos países ocidentais e caracteriza-se pela drenagem insuficiente do humor aquoso através da malha trabecular, resultando em um aumento gradual da PIO. Enquanto o glaucoma primário de ângulo fechado é mais prevalente em populações asiáticas e ocorre quando o ângulo entre a íris e a córnea é bloqueado, impedindo a drenagem do humor aquoso e causando um aumento súbito e perigoso da PIO, muitas vezes associado a dor intensa e emergência oftalmológica (Schuster *et al.*, 2021; Jonas *et al.*, 2017). Esses dois tipos de glaucoma são responsáveis por grande parte da

cegueira em países industrializados (Schuster *et al.*, 2021).

O glaucoma secundário resulta de diversas condições oculares ou sistêmicas que levam ao aumento da pressão intraocular (Lee; Higginbotham, 2005).

2.3 FISIOPATOLOGIA

A fisiopatologia do glaucoma envolve o aumento da pressão intraocular, o que leva à compressão e dano ao nervo óptico. Isso resulta em perda progressiva das células ganglionares da retina e em comprometimento do campo visual. A PIO elevada é causada por um desequilíbrio entre a produção e a drenagem do humor aquoso (Marquis; Whitson, 2005).

A PIO é o único fator de risco modificável para o glaucoma. O humor aquoso, líquido produzido na câmara anterior do olho, precisa ser adequadamente drenado para manter a pressão dentro dos limites normais. A falha nesse processo leva ao aumento da PIO, que danifica o nervo óptico, causando perda de visão (Kang; Tanna, 2021). O controle da PIO é essencial para retardar a progressão da doença (Quaranta *et al.*, 2023).

2.4 EPIDEMIOLOGIA

Em 2020, glaucoma foi a segunda maior causa de cegueira no mundo em pessoas de 50 anos ou mais, com 3,6 milhões de casos (Steinmetz *et al.*, 2021). No mundo, a prevalência de glaucoma para a população de 40 a 80 anos é de 3,54%, sendo maior na África (4,20%), e na região da América Latina e Caribe é de 3,65% (Tham *et al.*, 2014). Os autores estimaram que, até 2040, cerca de 111,8 milhões de pessoas serão afetadas pela doença em todo o mundo, principalmente devido ao envelhecimento populacional..

Apesar dos avanços no diagnóstico e tratamento, o glaucoma continua sendo a principal causa de cegueira irreversível globalmente, o que destaca a necessidade de estratégias eficazes de prevenção e manejo (Reis; Paula; Furtado, 2022).

2.5 PRINCIPAIS CAUSAS E FATORES DE RISCO ASSOCIADOS AO GLAUCOMA

As principais causas e fatores de risco para o desenvolvimento do glaucoma

incluem uma combinação de aspectos genéticos, ambientais e sistêmicos. Dentre eles, destaca-se a pressão intraocular elevada, considerada o principal fator de risco modificável para a doença (Stein; Khawaja; Weizer, 2020).

A idade avançada também desempenha um papel importante, pois a prevalência do glaucoma aumenta com o envelhecimento (Michels; Ivan, 2023). Além disso, o histórico familiar de glaucoma indica uma predisposição genética, tornando indivíduos com parentes diagnosticados mais propensos a desenvolver a condição (Saifi *et al.*, 2023).

Fatores raciais e étnicos também influenciam o risco da doença. Estudos mostram que indivíduos de ascendência africana, latino-americana e asiática apresentam maior probabilidade de desenvolver glaucoma (Jonas *et al.*, 2017).

Condições oculares e sistêmicas podem contribuir para o surgimento ou agravamento da doença. Entre elas, destacam-se diabetes mellitus tipo 2, miopia, hipermetropia, doenças cardiovasculares, hipotensão, hipotireoidismo e apneia obstrutiva do sono (Michels, Ivan, 2023).

Outro fator preocupante é a exposição a metais pesados, como cádmio, mercúrio e chumbo, que estão associados a um risco aumentado de glaucoma. Esses elementos podem contribuir para o desenvolvimento da doença por meio de mecanismos de estresse oxidativo e neurotoxicidade (Lee *et al.*, 2016; Lin; Singh, 2015; Park; Choi, 2016).

Além disso, o uso prolongado de corticosteroides pode levar ao aumento da pressão intraocular, favorecendo o surgimento da doença (Jonas *et al.*, 2017).

Por fim, o glaucoma secundário pode ocorrer devido a fatores externos, como o uso de certos medicamentos, traumas oculares ou cirurgias oftalmológicas prévias, que podem desencadear ou acelerar o desenvolvimento da condição (Lee; Higginbotham, 2005; Michels; Ivan, 2023).

2.6 SINAIS E SINTOMAS

O glaucoma é frequentemente assintomático nos estágios iniciais, especialmente nas formas crônicas de ângulo aberto. À medida que a doença progride, os pacientes podem apresentar perda gradual da visão periférica, levando ao estreitamento do campo visual (Lee; Higginbotham, 2005; Michels; Ivan, 2023).

No glaucoma de ângulo fechado agudo, os sintomas podem incluir dor ocular

intensa, náuseas, vômitos, visão turva e halos ao redor das luzes, caracterizando uma emergência oftalmológica. Entre os sinais de glaucoma de ângulo aberto estão uma relação escavação-disco superior a 0,3 e pressão intraocular acima de 21 mm Hg (Michels; Ivan, 2023).

Possuir um entendimento básico sobre a fisiopatologia, formas de diagnóstico e opções de tratamento da doença é essencial para que médicos de atenção primária possam identificar e encaminhar precocemente pacientes com maior risco para exames oftalmológicos aprofundados, além de permitir um acompanhamento mais eficaz dos indivíduos já acometidos pela condição (Weinreb; Aung; Medeiros, 2014).

2.7 DIAGNÓSTICO

O diagnóstico precoce do glaucoma é fundamental para prevenir a progressão da doença e minimizar a perda visual irreversível (Stein; Khawaja; Weizer, 2020). Para isso, é necessária uma combinação de exames clínicos e de imagem, que permitem a detecção de alterações estruturais e funcionais no olho.

Um dos principais exames é a tonometria, responsável por medir a pressão intraocular (PIO), um dos principais fatores de risco para o desenvolvimento da doença (Stein; Khawaja; Weizer, 2020). Além disso, a oftalmoscopia possibilita a avaliação do nervo óptico, analisando a relação escavação-disco, que pode indicar danos estruturais típicos do glaucoma (Michels; Ivan, 2023).

A campimetria visual é essencial para detectar defeitos no campo visual, permitindo a identificação de perdas visuais características da doença, mesmo em estágios iniciais. Já a tomografia de coerência óptica (OCT) é um exame avançado que analisa a espessura da camada de fibras nervosas da retina, auxiliando na detecção precoce da degeneração do nervo óptico (Michels; Ivan, 2023).

Outro exame importante é a gonioscopia, que permite a avaliação do ângulo da câmara anterior do olho, sendo fundamental para a classificação do tipo de glaucoma (Schuster *et al.*, 2021).

A realização desses exames de forma combinada possibilita a identificação precoce de alterações oculares características da doença, permitindo intervenções terapêuticas mais eficazes e reduzindo o risco de progressão do glaucoma (Weinreb; Aung; Medeiros, 2014).

2.8 TRATAMENTO

O principal objetivo do tratamento do glaucoma é reduzir a pressão intraocular (PIO) a níveis seguros, prevenindo danos adicionais ao nervo óptico e preservando a visão (Marquis; Whitson, 2005; Whitson, 2007). Diversos estudos clínicos demonstram a eficácia das opções terapêuticas disponíveis no controle da progressão da doença.

O tratamento pode ser realizado por meio de medicações tópicas, que atuam diminuindo a produção ou aumentando a drenagem do humor aquoso. As principais classes de colírios incluem: análogos de prostaglandinas (AGPs), considerados a primeira linha de tratamento devido à sua eficácia (Whitson, 2007); betabloqueadores, amplamente utilizados no passado como primeira escolha (Whitson, 2007); agonistas alfa-adrenérgicos, indicados como terapias complementares (Marquis; Whitson, 2005); inibidores da anidrase carbônica (IACs), disponíveis em formulações tópicas e orais (Marquis; Whitson, 2005); e colinérgicos, como a pilocarpina, que atuam como agentes parassimpaticomiméticos (Lee, 2005).

Além das medicações, há opções de terapias a laser, como a trabeculoplastia a laser de argônio e a trabeculoplastia seletiva a laser, ambas destinadas a aumentar a drenagem do humor aquoso pela malha trabecular (Marquis; Whitson, 2005; Saifi *et al.*, 2023).

Nos casos em que os tratamentos convencionais não são suficientes, recorrem-se a procedimentos cirúrgicos. A trabeculectomia consiste na criação de uma via alternativa para a drenagem do humor aquoso (Saifi *et al.*, 2023). Já o implante de dispositivos de drenagem é utilizado para controlar a PIO em casos refratários (Marquis; Whitson, 2005). Outra abordagem cirúrgica é a ciclodestruição do corpo ciliar, que reduz a produção do humor aquoso (Marquis; Whitson, 2005).

A adesão ao tratamento é fundamental para o sucesso terapêutico. No entanto, muitos pacientes enfrentam dificuldades em manter a regularidade no uso dos medicamentos, o que pode comprometer o controle da doença (Quaranta *et al.*, 2023). Além disso, efeitos adversos locais, como irritação ocular e olho seco, podem impactar negativamente a adesão ao tratamento (Nagstrup, 2023).

2.9 TRATAMENTO DO GLAUCOMA UTILIZANDO COLÍRIOS

Garantir a qualidade e a segurança dos colírios empregados no tratamento do glaucoma é de suma importância, especialmente no que diz respeito à prevenção da contaminação por metais pesados, minimizando os riscos de efeitos adversos. A escolha de colírios isentos de conservantes ou que utilizem conservantes menos tóxicos, aliada ao monitoramento regular da saúde ocular dos pacientes, é uma estratégia essencial para otimizar o manejo da doença e promover a adesão ao tratamento (Lewis; Phillips; Sassani, 1999; Nagstrup, 2023).

Entretanto, o tratamento tópico com colírios enfrenta desafios consideráveis, sobretudo devido aos efeitos colaterais que comprometem a adesão dos pacientes. Esses efeitos podem resultar tanto dos princípios ativos quanto dos aditivos presentes nos colírios, que, apesar de considerados inativos, podem causar danos à superfície ocular e aos tecidos subjacentes. Dentre os conservantes, o cloreto de benzalcônio (BAK) é particularmente problemático, pois é uma substância tóxica que agrava o desconforto ocular, prejudicando a adesão ao tratamento e, consequentemente, o controle da doença (Hedengra; Kolko, 2023).

A contaminação de colírios por metais pesados, como arsênio, cádmio e cobalto, constitui uma preocupação significativa, visto que pode acarretar efeitos adversos graves tanto para a saúde ocular quanto sistêmica. A exposição ao arsênio pode causar lesões na córnea e retina, enquanto o cádmio está associado à toxicidade retiniana e a alterações na pressão intraocular (PIO) (Abd-Elhakin *et al.*, 2019; Zhykibayev *et al.*, 2023). Esses metais pesados induzem estresse oxidativo, inflamação e apoptose celular, exacerbando o dano glaucomatoso e outros distúrbios oculares.

Portanto, a seleção de colírios de alta qualidade, livres de contaminantes como arsênio, cádmio e cobalto, é essencial para evitar complicações oculares e sistêmicas. A exposição a esses metais pode resultar em toxicidade retiniana, neuropatia periférica e até aumento do risco de câncer, sublinhando a importância de rigorosos controles de qualidade na fabricação de produtos oftálmicos (Abd-Elhakin *et al.*, 2019).

Além disso, estudos indicam que baixas concentrações de cobre no humor aquoso podem desempenhar um papel importante na regulação da PIO, sendo uma área promissora para novas pesquisas (Iqbal *et al.*, 2002).

Por fim, a adesão ao tratamento continua sendo um dos maiores desafios no

manejo eficaz do glaucoma. A detecção precoce da doença e a educação dos pacientes sobre sua natureza são fundamentais para melhorar os desfechos clínicos. A toxicidade de metais pesados presentes em colírios é uma questão que demanda mais investigações, dada sua importância para a saúde ocular e sistêmica (Quaranta *et al.*, 2023).

2.10 IMPORTÂNCIA DO CONTROLE DE METAIS PESADOS EM COLÍRIOS PARA GLAUCOMA

A quantificação de metais pesados e metalóides em colírios utilizados no tratamento do glaucoma é de extrema importância devido a fatores relacionados à segurança, eficácia e impacto na saúde ocular e sistêmica dos pacientes. Podemos destacar a seguir, os principais motivos que tornam esse estudo essencial.

2.10.1 Segurança do Paciente

Um dos principais motivos para o controle de metais pesados em colírios é a segurança do paciente, especialmente em relação à toxicidade ocular. A presença de metais como chumbo, cádmio e mercúrio em concentrações acima dos limites seguros pode causar efeitos adversos, incluindo irritação, inflamação e danos às células da córnea e retina (Aschner *et al.*, 2024).

Além dos riscos oculares, há também efeitos sistêmicos. Embora os colírios sejam aplicados topicamente, pequenas quantidades de metais podem ser absorvidas pela circulação sistêmica, potencialmente causando efeitos adversos, especialmente em tratamentos prolongados (Nordberg; Gunnar; Fowler, 2007).

2.10.2 Conformidade com Normas de Qualidade e Regulamentação

As agências reguladoras, como Anvisa, FDA, e ICH Q3D, estabelecem limites para contaminantes em medicamentos. A quantificação de metais pesados e metalóides garante que os colírios estejam em conformidade com essas normas, assegurando sua qualidade e segurança (Chemical Tests).

Produtos que atendem a esses padrões oferecem maior credibilidade, proporcionando mais segurança aos pacientes e confiança aos profissionais de

saúde.

2.10.3 Preservação da Saúde Ocular

O uso contínuo de colírios contaminados pode levar à acumulação de metais pesados nos tecidos oculares, aumentando o risco de danos ao nervo óptico, que já está comprometido no glaucoma.

Além disso, traços de metais podem interagir com os componentes da formulação, formando compostos irritantes ou prejudiciais, o que destaca a importância da prevenção de reações adversas.

2.10.4 Desenvolvimento de Formulações Mais Seguras

Estudos de quantificação de metais podem identificar fontes de contaminação, como matérias-primas ou processos de fabricação, permitindo ajustes na produção para eliminar contaminantes.

A análise detalhada também auxilia no desenvolvimento de colírios mais seguros, com excipientes livres de contaminantes, garantindo maior segurança para os pacientes.

2.10.5 Prevenção de Impactos no Tratamento

A presença de metais pesados pode comprometer a eficácia do colírio ao interferir na estabilidade química dos princípios ativos, reduzindo sua capacidade de controle da pressão intraocular.

Além disso, contaminantes metálicos podem causar reações alérgicas ou hipersensibilidade ocular, dificultando a adesão do paciente ao tratamento.

2.10.6 Proteção de Grupos Vulneráveis

Pacientes idosos, que representam a maioria dos indivíduos com glaucoma, podem ser mais vulneráveis aos efeitos adversos dos metais pesados devido a condições de saúde preexistentes. Como os colírios para glaucoma são usados por longos períodos, o monitoramento contínuo da presença de metais pesados é

essencial para evitar os riscos associados à exposição crônica.

2.10.7 Sustentabilidade e Responsabilidade Ambiental

A contaminação por metais pesados em medicamentos pode estar relacionada a processos industriais poluentes. A análise desses contaminantes contribui para a redução do impacto ambiental, promovendo uma produção mais sustentável e responsável.

3 OBJETIVOS

3.1 OBJETIVO GERAL

Quantificar Al, As, Ba, Cd, Co, Cr, Cu, Fe, Mg, Mn, Mo, Ni, Pb, Se, V e Zn em amostras de colírios utilizados para tratar glaucoma utilizando a técnica de Espectrometria de Emissão Óptica com Plasma Indutivamente Acoplado (ICP OES).

3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

a) comparar os níveis quantificados com os limites de impurezas elementares estabelecidos pela Farmacopéia Brasileira e pelas diretrizes ICH Q3D (R2) para administração parenteral;

b) Calcular a exposição diária permitida (PDE) para cada elemento considerando o uso ocular;

c) Verificar a conformidade dos valores obtidos com os limites preconizados para medicamentos oftálmicos, destacando lacunas na regulamentação específica para produtos oftálmicos; e

d) Contribuir com subsídios para atualização de normas, rotulagem e práticas de controle de qualidade na indústria de medicamentos oftálmicos.

4 METODOLOGIA

4.1 COLETA DE AMOSTRAS

Neste estudo, foram coletadas 50 amostras de colírios de princípios ativos diferentes e diferentes fabricantes, utilizados no tratamento do glaucoma, em farmácias localizadas na cidade de Campo Grande, Mato Grosso do Sul, durante o mês de abril de 2024 (Tabela 1). A pesquisa incluiu apenas colírios em frascos de 10 mL, no formato de gotas. As amostras do mesmo lote e fabricante foram combinadas para formar uma amostra representativa a ser utilizada nas análises.

Tabela 1. Amostras Coletadas

Fabricante	Amostra	Princípio Ativo	Quant. Amostras
A	A1	Tartarato de brimonidina	5 frascos
	A2	Cloridrato de dorzolamida	5 frascos
	A3	Tartarato de brimonidina e Maleato de timolol	5 frascos
	A4	Cloridrato de dorzolamida e maleato de timolol	5 frascos
B	B1	Cloridrato de dorzolamida	5 frascos
	B2	Cloridrato de dorzolamida e maleato de timolol	5 frascos
C	C1	Brinzolamida	5 frascos
D	D1	Bimatoprost	5 frascos
E	E1	Cloridrato de dorzolamida e maleato de timolol	5 frascos
F	F1	Travoprost	5 frascos

4.2 PREPARAÇÃO PARA ANÁLISE

Todos os materiais empregados na pesquisa, como tubos de vidros passaram por um processo de desmineralização antes do uso. Os itens foram submetidos a uma solução de Extran (5%, v/v) e ácido nítrico (concentração de 10%, Merck) por no mínimo 24 horas. Em seguida, foram lavados com água ultrapura e secos em estufa a 42°C.

4.3 DIGESTÃO ÁCIDA DAS AMOSTRAS

Aproximadamente 0,5 mL de cada amostra de colírio foi colocada em tubos de plásticos Falcon, e a elas foram adicionados 2,0 mL de ácido nítrico (HNO_3) (65%, Merck, Darmstadt, Alemanha) e 1,0 mL de peróxido de hidrogênio (H_2O_2) (35%, Merck, Darmstadt, Alemanha), totalizando 3,5 mL. Em seguida, utilizou-se um vórtex para homogeneizar as partículas presentes nas amostras.

As amostras passaram por um processo de digestão em sistema aberto, durante 40 minutos, a uma temperatura de 80 °C. Em seguida, o conteúdo dos tubos de ensaio de vidro foi transferido para tubos plásticos Falcon, e 2,5 mL de água ultrapura (com condutividade de 18,2 $\text{M}\Omega\cdot\text{cm}$, Millipore, Biocel, Alemanha) foram adicionados. Todas as etapas da digestão foram realizadas em triplicata, e os controles em branco foram preparados seguindo o mesmo procedimento das amostras.

4.4 ANÁLISE ELEMENTAR POR ICP OES

A concentração de magnésio (metaiselemento) e de vários metalóides (Al, As, Ba, Cd, Co, Cr, Cu, Fe, Mn, Mo, Ni, Pb, Se, V e Zn) foi determinada em amostras representativas de colírios. Para essa análise, utilizou-se a técnica ICP OES (Espectrometria de Emissão Óptica com Plasma Indutivamente Acoplado), com o equipamento iCAP 6300 Duo, da Thermo Fisher Scientific, Bremen, Alemanha, e o software Thermo Scientific iTEVA, versão 2.8.0.96 (Figura 1. Equipamento ICP OES utilizado na pesquisa, localizado na FAMED). As condições de operações do ICP OES estão apresentadas na Tabela 2.

Figura 1. Espectrometria de Emissão Óptica com Plasma Indutivamente Acoplado



Fonte: autor.

O ICP OES é uma técnica de detecção multielementar amplamente utilizada em diversas amostras, na qual o plasma de argônio, a alta temperatura, excita os átomos a emitirem fótons com comprimentos de onda característicos. A quantidade de fótons gerados é proporcional à concentração do elemento na amostra. Essa técnica permite identificar diversos elementos químicos, incluindo metais e terras raras (Hou *et al*, 2016; Khan *et al.*, 2014).

A escolha do ICP OES para os ensaios se deve à sua ampla faixa de quantificação linear, menores limites de detecção, menor interferência, e maior rapidez na análise, quando comparado à Espectrometria de Massa com Plasma Indutivamente Acoplado (ICP-MS) (Dolar-Szczasny *et al.*, 2019; Khan *et al.*, 2014), além de requerer um pequeno volume de amostra.

Tabela 2. Parâmetros instrumentais para a determinação de elementos utilizando ICP-OES.

Parâmetros	Configuração
Potência de rádio Frequência (RF)	1150 W
Fluxo do plasma	12 L min ⁻¹
Taxa de fluxo da amostra	0.45 L min ⁻¹
Fluxo auxiliar	0.5 L min ⁻¹
Nebulizador	20 psi
Integração	15 time(s)
Estabilização	20 time(s)
Gás (99.999%)	Argônio
Analitos/nm	Al 309,271 nm, As 189,042 nm, Cd 228.000 nm, Co 228,616 nm, Cr 267,716 nm, Cu 324,754 nm, Fe 259,940 nm, Mg 279,553 nm, Mn 257,610 nm, Mo 202,030 nm, Ni 221,647 nm, Se 196,00 nm, Zn 213,856 nm, V 309,311 nm, Pb 220,353 nm, Ba (455,403),

Foi realizado um teste de adição e recuperação de analito (teste Spike), no qual 0,15 mL de analito foram adicionados a 0,5 mL de uma amostra de colírio. Os testes de recuperação (Spike) e de linearidade de diluição são essenciais para validar e verificar a precisão da técnica ICP OES. Os experimentos de recuperação avaliam se a detecção do analito é influenciada pela diferença entre o diluente utilizado na preparação e a matriz da amostra experimental (Scientific, 2007).

4.5 CURVAS DE CALIBRAÇÃO

Soluções padrão estoque com concentração 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), foram utilizadas (Figura 2). As curvas de calibração de todos os analitos foram construídas a partir de 10 concentrações diferentes, variando de 0,001 a 2 ppm.

Figura 2. Soluções padrões utilizadas como padrão para obter a curva de calibração.



Fonte: autor.

O cálculo dos limites de detecção (LOD) e de quantificação (LOQ) foi realizado de acordo com as diretrizes analíticas da União Internacional de Química Pura e Aplicada (IUPAC) (Long; Winefordner, 2008). Para cada elemento identificado, foi obtido uma curva de calibração e obtidos os valores de LOD, LOQ e o coeficiente de correlação (Tabela 3)

Tabela 3. Limite de Detecção (LOD) e limite de quantificação (LOQ)

Elementos	Equação de calibração externa $Y = aX + b$	LOD (mg/L)	LOQ (mg/L)	Correlação R^2
Al	$y = 27,39x - 0,699$	0,0162	0,0539	0,995
As	$y = 368,2x + 7,559$	0,0043	0,0142	0,999
Ba	$y = 83187x + 9149$	0,0003	0,0009	0,999
Cd	$y = 14942x - 17,14$	0,0004	0,0014	0,999
Co	$y = 6410,9x + 60,34$	0,0009	0,0030	0,999
Cr	$y = 19501x - 4,268$	0,0010	0,0033	0,999
Cu	$y = 21528x + 213,3$	0,0016	0,0053	0,999
Fe	$y = 11287x + 104,1$	0,0011	0,0036	0,999
Mg	$y = 39274x + 6088$	0,0021	0,0071	0,999
Mn	$y = 63393x + 507,0$	0,0002	0,0008	0,999
Mo	$y = 3773,3x + 6,13$	0,0006	0,0021	0,999
Ni	$y = 4911, x + 44,29$	0,0010	0,0033	0,999

Tabela 3. Limite de Detecção (LOD) e limite de quantificação (LOQ)

Elementos	Equação de calibração externa $Y = aX + b$	LOD (mg/L)	LOQ (mg/L)	Correlação R^2
Pb	$y = 1110,9x + 25,11$	0,0037	0,0124	0,999
Se	$y = 350,9x + 3,039$	0,0048	0,0159	0,999
V	$y = 35801x + 281,6$	0,0010	0,0034	0,999
Zn	$y = 9743, x + 91,12$	0,0058	0,0193	0,999

Y = absorvância; a = slop; X = concentração ($\mu\text{g.L}^{-1}$); b = intercepto.

LOD – limite de detecção; LOQ – limite de quantificação e R^2 – coeficiente de correlação.

4.6 DETERMINAÇÃO DA DOSE DIÁRIA MÁXIMA DE COLÍRIO

A dose diária máxima (mL/dia) de colírio instilado nos olhos de um adulto foi calculada multiplicando o volume de 2 gotas (uma para cada olho) pela frequência máxima de aplicação diária, conforme Equação 1 e Tabela 4.

$$\text{Dose diária máxima} = \text{Volume de gotas} \times \text{Frequência máxima diária} \quad (1)$$

Aqui, a dose diária máxima (mL/dia) representa o volume total de colírio lubrificante aplicado nos olhos ao longo de um dia. O "volume de 2 gotas" refere-se à aplicação de uma gota em cada olho, e a "frequência máxima diária" corresponde ao número máximo de aplicações permitidas por dia. A frequência máxima diária foi definida para cada amostra de colírios analisando a indicação na bula do medicamento.

Tabela 5. Colírio, volume de uma gota (mL), frequência máxima diária de instilações nos olhos e dose máxima diária (mL), conforme estabelecido na bula.

Colírio	Volume: 1 gota (mL)	Frequência máxima diária	Dose máxima diária (2 olhos) (mL/dia)
A1	0,056	3	0,336
A2	0,042	2	0,168
A3	0,042	2	0,168
A4	0,042	2	0,168
B1	0,042	3	0,252
B2	0,048	2	0,192
C1	0,036	3	0,216
D1	0,028	1	0,056
E1	0,042	2	0,168
F1	0,032	1	0,064

4.7 ESTUDO COMPARATIVO

Assim como os colírios (Agrahari *et al.*, 2016; Bachu *et al.*, 2018; Del Amo; Urtti, 2008), medicamentos administrados por via parenteral também entram diretamente na circulação sistêmica, sem passar pelo efeito de primeira passagem ou pelo trato gastrointestinal. As seções 4.7.1 e 4.7.2 apresentam comparações das concentrações e da exposição a elementos por meio da aplicação diária de colírios nos olhos.

4.7.1 Concentrações Permitidas de Impurezas Elementares em Colírios Lubrificantes

Como as impurezas elementares (IEs) absorvidas pela via oftálmica não são contempladas nas Farmacopéias e nas diretrizes da ICH Q3D (R2) (ICH, 2022; Silva, 2018; USP, 2017). Neste estudo, as concentrações de metais e metalóides encontradas nos colírios para tratamento do glaucoma foram comparadas aos limites de IEs permitidos para medicamentos parenterais ($\mu\text{g/g}$), conforme a Farmacopéia Brasileira (FB) e as diretrizes da ICH Q3D (R2).

4.7.2 PDE para Impurezas Elementares em Medicamentos Oftalmológicos

A PDE (Exposição Diária Permitida, em inglês *Permitted Daily Exposure*) expressa em microgramas por dia ($\mu\text{g}/\text{dia}$), estabelece o limite máximo permitido para a presença de cada elemento em medicamentos administrados por via oral, inalatória ou parenteral (ICH, 2022; Silva, 2018; USP, 2017). Contudo, não há valores de referência para a via oftálmica. Por isso, a exposição diária a IEs por meio da aplicação de colírios foi comparada às PDEs para medicamentos parenterais, conforme definido na ICH Q3D (R2). Esta diretriz permite o uso dos valores de PDEs para a via parenteral sem necessidade de ajustes (ICH, 2022; Sanderson; Whitecotton, 2022; Silva, 2018).

A exposição diária dos Metais (Al, Ba, Cd, Co, Cr, Cu, Fe, Mg, Mn, Mo, Ni, Pb, Se, V e Zn) e Metalóides (Ar) decorrente do uso de colírios para tratamento do glaucoma, foi calculada a partir do produto entre a concentração dos metais e metalóides encontrados nos colírios (Tabela 6 e a dose máxima diária da amostra (Tabela 5), conforme descrito na Equação 2.

$$\text{Exposição diária} = \text{concentração ICP OE} \times \text{dose máxima diária} \quad (2)$$

Onde na Eq.2 os valores quantificados pelo ICP OES podem ser convertidos de mg/kg para mg/L de acordo com a Ref., e a frequência diária é aquela considerada na Tabela 6. Neste estudo consideraremos os valores máximos obtidos pela quantificação de elementos nas amostras de colírios.

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 RESULTADOS

Os elementos químicos quantificados nas amostras de colírios utilizados no tratamento de glaucoma estão apresentados na Tabela 6. Especificamente:

Para a amostras de colírios A1 - Tartarato de brimonidina, os valores de concentrações na tabela 5 diminuem como segue: $Mg > Al > Cd > Cr$, nestas amostras elementos como As, Ba, Co, Cu, Fe, Mn, Mo, Ni, Pb, Se, V e Zn estão abaixo do limite de detecção (LOD).

Em relação as amostras A2 - Cloridrato de dorzolamida, a ordem dos valores de concentração diminui na seguinte ordem: $Mg > Al > Se > Cd > Cr > Zn$, elementos como As, Ba, Cd, Co, Cu, Fe, Mg, Mn, Mo, Ni, Pb não foram detectados.

A ordem decrescente dos valores de concentrações nas amostras A3 - Tartarato de brimonidina e Maleato de timolol foram: $Al > Mg > Se > Zn > Cd > Co$. As, Ba, Co, Cu, Fe, Mn, Ni, Mo, Pb e V estão abaixo do LOD.

No caso das amostras de colírios A4 - Cloridrato de dorzolamida e maleato de timolol, a ordem decrescente foi $Mg > Al > Se > Cd > Cr$. Os elementos As, Ba, Co, Cu, Fe, Mn, Mo, Ni, Pb, V e Zn nestas amostras não foram quantificados.

Para as amostras B1 - Cloridrato de dorzolamida, temos a ordem decrescente $Mg > Cd > Cr > Al$, e não detectados os elementos As, Ba, Co, Cu, Fe, Mn, Mo, Ni, Pb, V e Zn.

Por outro lado, para a amostras B2 - Cloridrato de dorzolamida e maleato de timolol tem que $Al > Se > Cr > Cd > Mg$, os elementos As, Ba, Co, Cu, Fe, Mn, Mo, Ni, Pb, V e Zn estão abaixo do LOD.

A ordem dos elementos quantificados no colírio de C1 - Brinzolamida decresce como segue: $Al > Cd > Cr$. Demais elementos analisados estão abaixo do limite de detecção.

Para as amostras de colírios E1 - Cloridrato de dorzolamida e maleato de timolol, a ordem decrescente de elementos nestas amostras foi $Al > Se > Cd > Cr$. As, Ba, Co, Cu, Fe, Mn, Mo, Ni, Pb, V e Zn estão abaixo do limite de detecção.

Para as amostras de colírios F1 – Travoprostá, temos a seguinte ordem decrescente de valores de concentração: $Al > Cd > Cr$, onde As, Ba, Co, Cu, Fe, Mn, Mo, Ni, Pb, V e Zn não foram quantificados, ou seja, abaixo do LOD.

Amostras (colírio glaucoma)	Elementos							
	Al	As	Ba	Cd	Co	Cr	Cu	Fe
A1 - Tartarato de brimonidina	0,1306±0,0272	<LOD	<LOD	0,0254±0,0008	<LOD	0,0148± 0,0029	<LOD	<LOD
A2 - Cloridrato de dorzolamida	0,1230±0,0327	<LOD	<LOD	0,0297±0,0049	<LOD	0,0150± 0,0091	<LOD	<LOD
A3 - Tartarato de brimonidina e Maleato de timolol	0,2636±0,0179	<LOD	<LOD	0,0394±0,0054	<LOD	0,0385± 0,0114	<LOD	<LOD
A4 - Cloridrato de dorzolamida e maleato de timolol	0,1166±0,0091	<LOD	<LOD	0,0270±0,0011	<LOD	0,0246± 0,0051	<LOD	<LOD
B1 - Cloridrato de dorzolamida	0,1001±0,0050	<LOD	<LOD	0,0199±0,0021	<LOD	0,0130± 0,0024	<LOD	<LOD
B2 - Cloridrato de dorzolamida e maleato de timolol	0,1204±0,0462	<LOD	<LOD	0,0219±0,0015	<LOD	0,0260± 0,0021	<LOD	<LOD
C1 – Brinzolamida	0,1149±0,0016	<LOD	<LOD	0,0232±0,0080	<LOD	0,0102± 0,0115	<LOD	<LOD
D1 – Bimatoprost	0,1149±0,0169	<LOD	<LOD	0,0291±0,0005	<LOD	0,0159± 0,0098	<LOD	<LOD
E1 - Cloridrato de dorzolamida e maleato de timolol	0,1014±0,0090	<LOD	<LOD	0,0230±0,0010	<LOD	0,0132± 0,0029	<LOD	<LOD
F1 – Travoprost	0,1288±0,0215	<LOD	<LOD	0,0093±0,0050	<LOD	0,0060± 0,0066	<LOD	<LOD

Elementos	
-----------	--

[illegible]

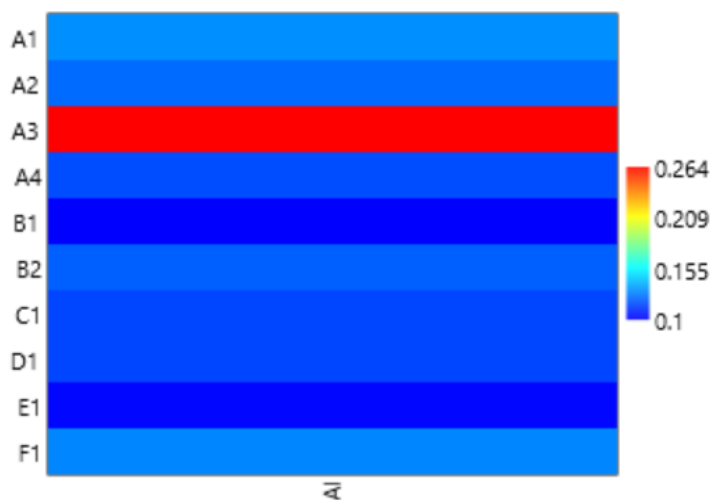
O valor da concentração média de cada elemento analisado nas dez (10) amostras foi comparado e o resultado é apresentado por meio de mapas de calor . Esse esse tipo de gráfico transforma valores numéricos ou frequências em cores, geralmente em uma escala que vai do frio (azul) ao quente (vermelho). Quanto maior o valor, mais quente (vermelho ou laranja) a cor — e quanto menor o valor, mais fria (azul ou verde) a cor, e valores médios de concentrações próximos, possuem cores similares.

O maior valor de concentração de Al foi obtido para a amostra A3 - Tartarato de brimonidina e Maleato de timolol (vermelho na Figura 3), além disso, a concentração de Al nas amostras de colírio variou de $0,1001 \pm 0,0050$ mg/kg a $0,2636 \pm 0,0179$ mg/kg.

Na Figura 3, como os valores médios das concentrações de A1 - Tartarato de brimonidina e F1 – Travoprostá são próximos, representados com uma cor azul claro, interpretação esta válida para os outros valores das amostras.

Por outro lado, não existem valores para incipientes de Al para medicamentos estabelecidos pela Farmacopéia Brasileira (BRASIL, 2019) e Diretriz ICH Q3D (R2) (ICH, 2022) para via parenteral. Entretanto, o valor de Al na Tabela 5 é maior que aquele obtido em estudos que quantificaram Al para amostras de colírios utilizados para o tratamento de olho seco, que por sua vez obtiveram uma concentração de Al em suas amostras de $0,090 \pm 0,020$ mg/kg (Oliveira, 2023).

Figura 3. Matrix plot. Concentração média de Al quantificada nas amostras de colírios estudadas.



Legenda: Amostras de Colírios: A1 - Tartarato de brimonidina; A2 - Cloridrato de dorzolamida; A3 - Tartarato de brimonidina e Maleato de timolol; A4 - Cloridrato de dorzolamida e maleato de timolol; B1

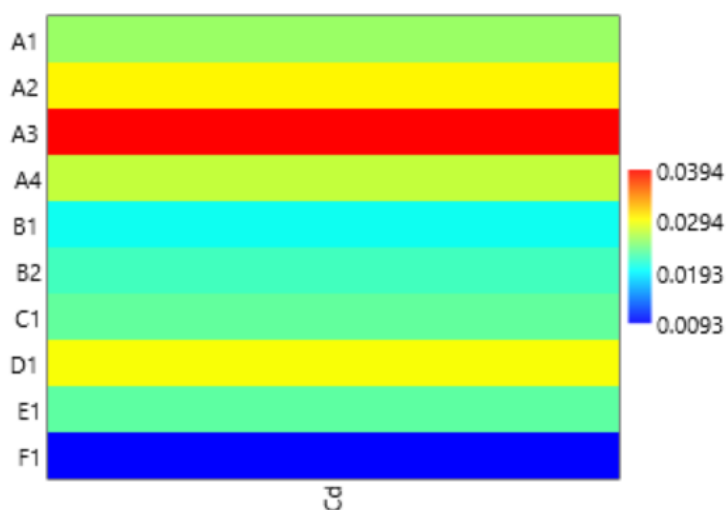
- Cloridrato de dorzolamida; B2 - Cloridrato de dorzolamida e maleato de timolol; C1 – Brinzolamida; D1 - Bimatoprost; E1 - Cloridrato de dorzolamida e maleato de timolol; F1 - Travoprost.

Os valores de AI na Tabela 6 obtidos para os colírios de tratamento de glaucoma são maiores que aqueles obtidos em pesquisas que quantificaram AI em amostras de colírios utilizados para o tratamento de olho seco, que por sua vez obtiveram uma concentração de AI em suas amostras de $0,090 \pm 0,020$ mg/kg (Oliveira, 2023). Não existem valores para incipientes de AI para medicamentos estabelecidos pela Farmacopéia Brasileira (BRASIL, 2019) e concentração de impurezas elementares em substâncias medicamentosas estabelecidos pela Diretriz ICH Q3D (R2) (ICH, 2022) para via parenteral.

De acordo com a Tabela 6, os valores das concentrações de Cd nas amostras de colírios estudados variaram de $0,0093 \pm 0,0050$ para $0,0394 \pm 0,0054$ mg/kg, os quais podem ser representados conforme a Figura 4, a partir da barra de cores (colorbar) constatou-se que a amostra A3 - Tartarato de brimonidina e Maleato de timolol em cor vermelha apresenta o maior valor médio concentração quantificado nas amostras, porém com a amostra F1 – Travoprost em cor azul possuindo a menor valor médio de concentração. Além disso, na Figura 4, a barra de cores (colorbar) à direita, vincula as cores aos valores de concentrações, onde as concentrações de menores valores estão na cor azul, posteriormente azul claro para valores maiores, verde, amarelo e vermelho com maior intensidade.

Na Figura 4, observa-se que as amostras A1 (Tartarato de brimonidina) e A4 (Cloridrato de dorzolamida e maleato de timolol) apresentam as mesmas cores, o que se deve à proximidade entre os valores médios de suas concentrações. Entretanto, os valores médios de Cd na Tabela 6, são menores que aqueles quantificados nos colírios lubrificantes utilizados para tratar olho seco ($0,046 \pm 0,001$ - $0,051 \pm 0,002$ mg/kg). Em relação à comparação com os valores estabelecidos pelos órgãos regulamentários, constatamos que os valores de médias das concentrações de Cd estão próximos dos valores limites para ingestão parental estabelecidos pela Farmacopéia Brasileira (0,05 mg/kg), porém são menores que os limites de impurezas para medicamentos estabelecidos Diretriz ICH Q3D (R2) (ICH, 2022) para via parenteral, cujo valor para Cd é 0,2 mg/kg.

Figura 4. Matrix plot. Concentração média de Cd quantificada nas amostras de colírios estudados.

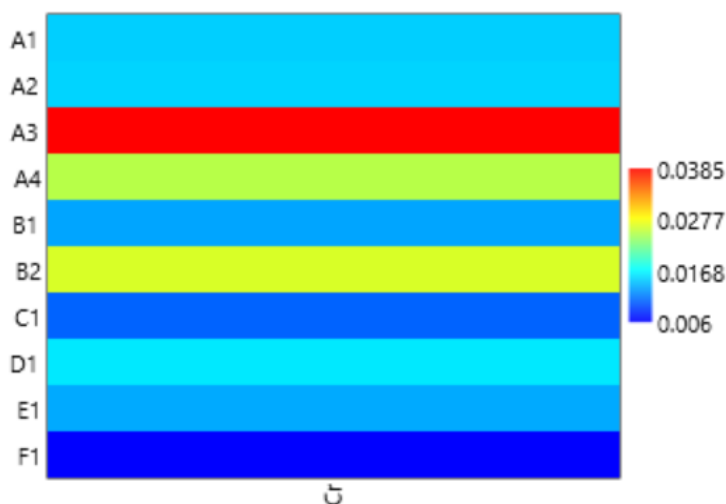


Legenda: Amostras de Colírios: A1 - Tartarato de brimonidina; A2 - Cloridrato de dorzolamida; A3 - Tartarato de brimonidina e Maleato de timolol; A4 - Cloridrato de dorzolamida e maleato de timolol; B1 - Cloridrato de dorzolamida; B2 - Cloridrato de dorzolamida e maleato de timolol; C1 – Brinzolamida; D1 - Bimatoprost; E1 - Cloridrato de dorzolamida e maleato de timolol; F1 - Travoprost.

De acordo com a Tabela 6, as concentrações de Cr nas amostras de colírios variaram de $0,0060 \pm 0,0066$ - $0,0385 \pm 0,0114$ mg/kg. Os dados apresentados na Tabela 6 para os valores de Cr quantificados nas amostras de colírios utilizados para tratar glaucoma podem ser melhor interpretados utilizando a Figura 5, onde as cores representam níveis ou intensidades de cada variável, ou seja, concentrações de Cr mensuráveis nas amostras, neste caso, as cores em azul representam as amostras com menores valores médios de concentrações, como F1 – Travoprost representado pela a cor azul escuro, C1 – Brinzolamida azul claro, B1 - Cloridrato de dorzolamida (azul claro) até A3 - Tartarato de brimonidina e Maleato de timolol representado pela cor vermelha que é a mais intensa. Ou seja, quando a variação de cores é gradual (do azul escuro ao claro), isso sugere uma mudança contínua ou progressiva nos valores de concentrações. Em nossos resultados foram quantificados Cr em amostras de colírios utilizados para tratar glaucoma, ao contrário do estudo realizado por Oliveira et. al., (2023) no qual este elemento estava abaixo do limite de detecção. Além disso, não foram encontrados estudos que quantificaram Cr em amostras de colírios utilizados para glaucoma ou olhos secos. Por outro lado, a concentração de Cr nas amostras estudadas na Tabela 6, estão abaixo daqueles valores estipulados pela Farmacopéia Brasileira (2,5 mg/kg) e impurezas estabelecidos pela ICH Q3D (R2)

para medicamentos (110 mg/kg)

Figura 5. Matrix plot: Concentração média de Cr quantificada nas amostras de colírios estudados.

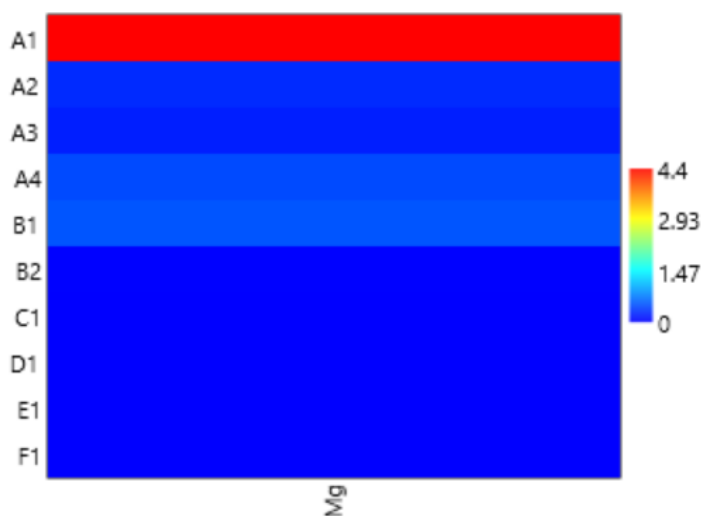


Legenda: Amostras de Colírios: A1 - Tartarato de brimonidina; A2 - Cloridrato de dorzolamida; A3 - Tartarato de brimonidina e Maleato de timolol; A4 - Cloridrato de dorzolamida e maleato de timolol; B1 - Cloridrato de dorzolamida; B2 - Cloridrato de dorzolamida e maleato de timolol; C1 – Brinzolamida; D1 - Bimatoprost; E1 - Cloridrato de dorzolamida e maleato de timolol; F1 - Travoprost.

Conforme apresentado na Tabela 6, a concentração de Mg nas amostras de colírios utilizados para tratar glaucoma variaram de $0,0093 \pm 0,0252$ mg/kg a $4,3968 \pm 0,3553$ mg/kg. A diferença entre valores de concentrações para este elemento é explícita na Figura 6, onde a cor em azul representa menores valores médios de concentrações para as amostras A2 - Cloridrato de dorzolamida, A3 - Tartarato de brimonidina e Maleato de timolol, A4 - Cloridrato de dorzolamida e maleato de timolol, B1 - Cloridrato de dorzolamida, B2 - Cloridrato de dorzolamida e maleato de timolol. A cor em vermelho representa a amostra A1 - Tartarato de brimonidina, que por sua vez é a que possui maior valor médio de concentração deste elemento.

As amostras de colírios A4 (Cloridrato de dorzolamida e maleato de timolol, $0,4287 \pm 0,1448$ mg/kg) e B1 (Cloridrato de dorzolamida, $0,4905 \pm 0,0337$ mg/kg) apresentam valores médios de concentração superiores aos obtidos para os colírios utilizados no tratamento do olho seco ($0,315 \pm 0,008$ mg/kg), entretanto, as amostras A2 (Cloridrato de dorzolamida, $0,2440 \pm 0,1184$ mg/kg) e A3 (Tartarato de brimonidina e maleato de timolol, $0,1774 \pm 0,0508$ mg/kg) possuem valores médios de concentração inferiores. Não existem valores de Mg para incipientes estabelecidos pela Farmacopéia Brasileira e e impurezas para medicamentos ICH Q3D (R2).

Figura 6. Matrix plot: Concentração média de Mg quantificada nas amostras de colírios estudados

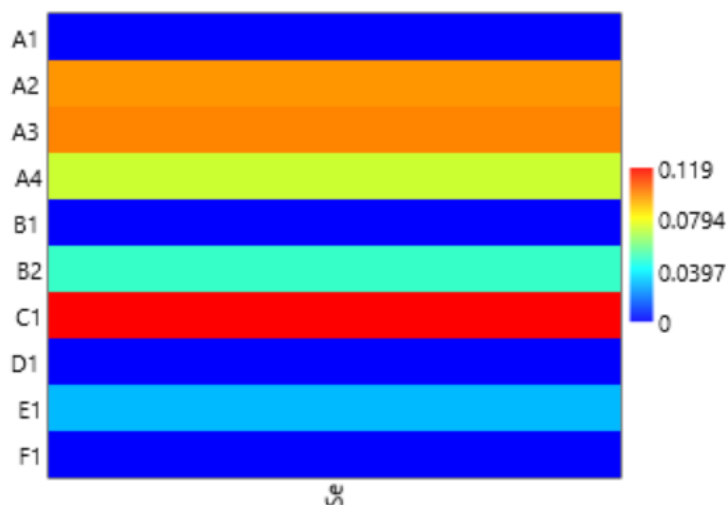


Legenda: Amostras de Colírios: A1 - Tartarato de brimonidina; A2 - Cloridrato de dorzolamida; A3 - Tartarato de brimonidina e Maleato de timolol; A4 - Cloridrato de dorzolamida e maleato de timolol; B1 - Cloridrato de dorzolamida; B2 - Cloridrato de dorzolamida e maleato de timolol; C1 – Brinzolamida; D1 - Bimatoprost; E1 - Cloridrato de dorzolamida e maleato de timolol; F1 - Travoprost.

As concentrações de selênio (Se) nas amostras de colírios utilizados para tratar glaucoma variou de $0,0290 \pm 0,0024$ mg/kg a $0,1191 \pm 0,0029$ mg/kg (Tabela 6). A Figura 7 ilustra essas diferenças de concentração por meio das cores em a azul escuro que representa os menores valores médios de concentração, observados na amostra E1 (Cloridrato de dorzolamida e maleato de timolol); a cor azul claro representa os valores médios das amostras B2 e A4 (ambas de Cloridrato de dorzolamida e maleato de timolol); por outro lado, a cor laranja escuro representa a maior concentração da amostra A3 (Tartarato de brimonidina e maleato de timolol), enquanto laranja claro corresponde à amostra A2 (Cloridrato de dorzolamida), com concentrações mais baixas; a cor em vermelho intenso representa a maior concentração de Se, quantificada na amostra C1 (Brinzolamida).

Os valores médios de concentração de Se, conforme a Tabela 6, são menores do que os obtidos em colírios para tratar olho seco ($0,303 \pm 0,01$ mg/kg). Vale ressaltar que não há valores estabelecidos pela Farmacopéia Brasileira para o selênio em medicamentos de uso parenteral. Por outro lado, as concentrações de Se amostras analisadas (Tabela 6) estão abaixo do limite estabelecido pela ICH Q3D (R2) para impurezas em medicamentos por via parenteral (8 mg/kg).

Figura 7. Matrix plot: Concentração média de Se quantificada nas amostras de colírios estudados.

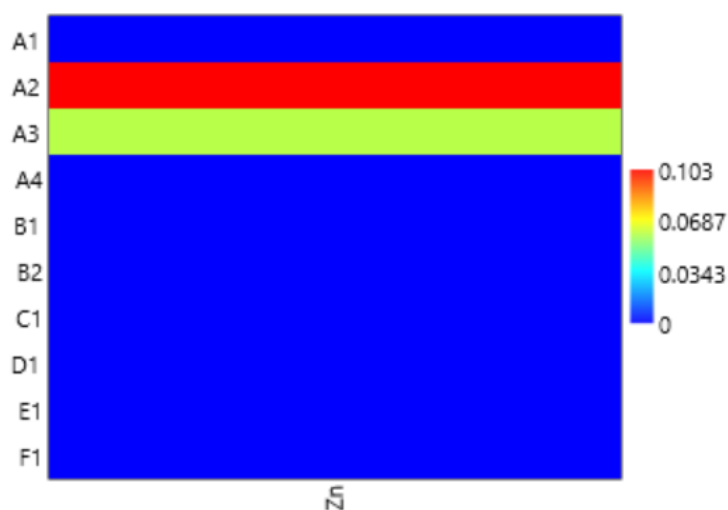


Legenda: Amostras de Colírios: A1 - Tartarato de brimonidina; A2 - Cloridrato de dorzolamida; A3 - Tartarato de brimonidina e Maleato de timolol; A4 - Cloridrato de dorzolamida e maleato de timolol; B1 - Cloridrato de dorzolamida; B2 - Cloridrato de dorzolamida e maleato de timolol; C1 – Brinzolamida; D1 - Bimatoprost; E1 - Cloridrato de dorzolamida e maleato de timolol; F1 - Travoprost.

Na Tabela 6, a concentração de Zn na amostra A2 (Cloridrato de dorzolamida) obtida foi $0,1030 \pm 0,1247$ mg/kg, enquanto para a amostras A3 (Tartarato de brimonidina e Maleato de timolol) o valor foi $0,0589 \pm 0,0257$ mg/kg. A Figura 8 possui o gráfico de cores que representa a média da concentração quantificada em cada amostra, neste caso azul representa os elementos que não foram quantificados nas amostras A1 (Tartarato de brimonidina), A4 (Cloridrato de dorzolamida e maleato de timolol), B1 (Cloridrato de dorzolamida), B2 (Cloridrato de dorzolamida e maleato de timolol), C1 (Brinzolamida), D1 (Bimatoprost), E1 (Cloridrato de dorzolamida e maleato de timolol) e F1 (Travoprost).

Por outro lado, a amostra A2 (Cloridrato de dorzolamida) é representada pela cor em vermelho devido a sua maior concentração, enquanto a amostra A3 (Tartarato de brimonidina e Maleato de timolol) é representada pela cor verde. A concentração de Zn na amostra A2 é menor que aqueles obtidos no estudo de Oliveira et. al., (2023) para colírios utilizados no tratamento do olho seco ($0,246 \pm 0,004$ mg/kg). Não existem valores de Zn estipulados pela Farmacopéia Brasileira e ICH Q3D (R2).

Figura 8. Matrix plot: Concentração média de Zn quantificada nas amostras de colírios estudados.



Legenda: Amostras de Colírios: A1 - Tartarato de brimonidina; A2 - Cloridrato de dorzolamida; A3 - Tartarato de brimonidina e Maleato de timolol; A4 - Cloridrato de dorzolamida e maleato de timolol; B1 - Cloridrato de dorzolamida; B2 - Cloridrato de dorzolamida e maleato de timolol; C1 – Brinzolamida; D1 - Bimatoprost; E1 - Cloridrato de dorzolamida e maleato de timolol; F1 - Travoprost.

5.2 EXPOSIÇÃO DIÁRIA PERMITIDA (PDE) CONSIDERANDO A APLICAÇÃO OCULAR DOS COLÍRIOS

A exposição diária aos elementos Macro (Mg) e Microelementos (Al, As, Ba, Cd, Co, Cr, Cu, Fe, Mn, Mo, Ni, Pb, Se, V e Zn) decorrente do uso de colírios para tratamento do glaucoma, foi calculada a partir do produto entre as maiores concentrações de macroelementos e microelementos quantificados nos colírios em unidades de mg/L (Tabela 6) e a dose máxima diária da amostra (Tabela 5), conforme a Equação 2.

A avaliação da exposição diária por via parenteral (Tabela 7) revelou diferenças relevantes entre os fabricantes (A1–F1) quanto às concentrações de elementos traço presentes nos colírios analisados.

No caso do alumínio (Al), embora tenham sido observados valores variando de 7,33 µg/dia (D1) a 53,0 µg/dia (A1), a ICH Q3D não estabelece um PDE parenteral para este elemento. Dessa forma, não é possível compará-lo diretamente a um limite oficial. Ainda assim, os níveis encontrados merecem atenção, já que o alumínio está associado a potenciais efeitos neurotóxicos e risco em pacientes com função renal comprometida ou em uso crônico de formulações parenterais, especialmente no contexto pediátrico.

Para o cádmio (Cd), observou-se que a maioria das amostras ultrapassou o PDE parenteral de 2 µg/dia, com destaque para A1 (11,0 µg/dia), A3 (7,52 µg/dia), E1 (40,32 µg/dia) e até mesmo valores intermediários em B1 e C1 (5 - 7 µg/dia). Esse achado é preocupante, uma vez que o cádmio é um elemento carcinogênico e bioacumulativo, cujo limite seguro é bastante restrito. Assim, algumas formulações avaliadas representam potencial risco toxicológico, especialmente em pacientes de uso contínuo.

Em relação ao cromo (Cr), todas as amostras apresentaram concentrações muito abaixo do PDE (1100 µg/dia). O valor mais elevado foi observado no fabricante F1 (716,8 µg/dia), representando 65% do limite estabelecido. Embora ainda dentro do aceitável, esse resultado merece atenção, já que diferentes estados de oxidação do Cr possuem toxicidade distinta, sendo o Cr(VI) reconhecidamente carcinogênico.

Para o magnésio (Mg), os resultados variaram amplamente, com A1 apresentando o maior valor (1595,93 µg/dia), enquanto em alguns fabricantes (C1–F1) não houve detecção. Apesar da alta concentração em A1, o magnésio é um elemento essencial, e não há PDE definido para ele como contaminante. Portanto, seu achado não representa risco toxicológico, mas evidencia diferenças na composição das formulações avaliadas.

No caso do selênio (Se), os valores encontrados foram consideravelmente abaixo do PDE (80 µg/dia). Entretanto, alguns fabricantes apresentaram valores próximos de 30% do limite, como A3 (29,63 µg/dia) e C1 (26,35 µg/dia). Embora o Se seja um elemento essencial, sua margem terapêutica é estreita, e exposições prolongadas podem levar à toxicidade (selenose).

Por fim, o zinco (Zn) apresentou um achado isolado no fabricante A3, com valor extremamente elevado (1421 µg/dia), não existem valores estabelecido para PDE par ao uso parenteral estabelecido. Nas demais amostras, o Zn não foi detectado.

De forma geral, os resultados indicam que, embora a maioria dos elementos esteja em conformidade com os valores de PDE, os valores de exposição diária ao cádmio ultrapassaram os limites estabelecidos pelos fabricantes, configurando risco potencial à segurança do paciente. Além disso, a grande variabilidade entre fabricantes sugere diferenças nos processos de produção e controle de qualidade, o que reforça a importância da monitorização contínua de elementos metálicos em formulações farmacêuticas, conforme preconizado pela ICH Q3D e pelas principais farmacopéias internacionais.

Tabela 7. Exposição diária pela instilação de colírios comparados com os valores de PDE estabelecidos na diretriz ICH Q3D (R2) e na Farmacopéia Brasileira para via parenteral (ICH, 2022).

Elemento	Amostra A1 (µg/dia)	Amostra A2 (µg/dia)	Amostra A3 (µg/dia)	Amostra A4 (µg/dia)	Amostra B1 (µg/dia)	FB (µg/dia)	ICH Q3D (R2) (µg/dia)
Al	53,0	26,15	47,92	34,6	37,8	NA	NA
Cd	11,0	5,81	7,52	4,72	5,54	0,05	2
Cr	5,49	4,04	8,38	4,98	3,88	2,5	1100
Mg	1.595,93	60,88	38,30	77,68	132,04	NA	NA
Se	<LD	17,9	29,63	14,64	<LOD	NA	80
Zn	<LD	38,25	1.421,0	<LOD	<LOD	NA	NA

Legenda: FB = Farmacopéia Brasileira. ICH Q3D (R2) = Diretrizes harmonizadas para impurezas elementares estabelecidas pelo Conselho Internacional para Harmonização de Requisitos Técnicos para Medicamentos de Uso Humano. NA = Não aplicável. <LOD = As concentrações estão abaixo dos limites detectáveis.

Tabela 6. Exposição diária pela instilação de colírios comparados com os valores de PDE estabelecidos na diretriz ICH Q3D (R2) para via parenteral (ICH, 2022).

Elemento	Amostra B2 (µg/dia)	Amostra C1 (µg/dia)	Amostra D1 (µg/dia)	Amostra E1 (µg/dia)	Amostra F1 (µg/dia)	FB (µg/dia)	ICH Q3D (R2) (µg/dia)
Al	51,84	25,16	7,33	18,54	9,61	NA	NA
Cd	4,49	6,73	1,9	40,32	6,27	0,05	2
Cr	5,39	2,41	14,39	2,7	716,8	2,5	1100
Mg	6,62	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	NA	NA
Se	20,79	26,35	<LOD	5,27	<LOD	NA	80
Zn	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	NA	NA

Legenda: FB = Farmacopéia Brasileira. ICH Q3D (R2) = Diretrizes harmonizadas para impurezas elementares estabelecidas pelo Conselho Internacional para para Medicamentos de Uso Humano. NA = Não aplicável. <LOD = As concentrações estão abaixo dos limites detectáveis.

5.3 DISCUSSÃO

A identificação de elementos como arsênio (As), cádmio (Cd), cromo (Cr), magnésio (Mg), selênio (Se) e zinco (Zn) em colírios oftálmicos utilizados no tratamento do glaucoma é essencial devido às suas possíveis implicações para a saúde ocular. A presença desses metais e metalóides pode indicar contaminação, o que pode comprometer tanto a eficácia terapêutica do medicamento quanto a segurança do paciente.

Estudos demonstram que elementos como Se, Cr, Mg e Zn apresentam uma associação significativa com o glaucoma primário de ângulo aberto (GPAA) (Choudhari et al., 2023). Hohberger et al. (2018) conduziram um estudo transversal para quantificar os níveis de cádmio (Cd), ferro (Fe), manganês (Mn), cobalto (Co), cobre (Cu) e zinco (Zn) no humor aquoso (AH) de pacientes com GPAA, glaucoma pseudoexfoliativo (PEXG) e catarata (controle). Os resultados sugerem que as concentrações de Zn e Fe podem estar relacionadas ao desenvolvimento do glaucoma, sendo que o aumento dos níveis de Zn pode inibir a absorção de Cu, gerando desequilíbrios na homeostase de Fe e Cu. Esses elementos desempenham um papel crucial no crescimento neuronal e no funcionamento do sistema imunológico. Além disso, a elevação dos níveis de Zn pode representar um mecanismo compensatório para neutralizar radicais livres, cuja produção é aumentada em condições de glaucoma (Cruz; de Oliveira; Marreiro, 2015; Ferreira et al., 2004). Estudos posteriores que analisaram a quantificação dos níveis séricos e do humor aquoso indicam que a disfunção da barreira hemato-ocular está associada ao PEXG (Ceylan et al., 2013; Yavrum et al., 2021). Dessa forma, a elevação da concentração de determinados elementos no humor aquoso pode ser um reflexo direto do aumento desses mesmos elementos na circulação sanguínea (Yavrum et al., 2021).

A quantificação desses elementos em colírios oftálmicos apresenta implicações relevantes, conforme demonstrado por Solomón e Nelson (2018), que analisaram os riscos associados à presença de metais e metalóides nesses produtos. A toxicidade de metais pesados como As e Cd, mesmo em concentrações residuais, pode levar a complicações severas, incluindo o desenvolvimento de catarata e outras patologias oculares (Solomón; Nelson, 2018). No estudo, os autores investigaram impurezas elementares provenientes do material plástico dos frascos de colírios oftálmicos por

meio de espectrometria de massa com plasma indutivamente acoplado (ICP-MS), evidenciando que a contaminação metálica pode causar alterações significativas no metaloma ocular.

Essa questão torna-se particularmente preocupante, uma vez que metais pesados podem ser tóxicos para os seres humanos mesmo em concentrações extremamente baixas. Além disso, essas impurezas podem interagir negativamente com outros fármacos ou processos enzimáticos oculares, levando a reações adversas. Um dos principais impactos biológicos dessas interações é a participação de metais redox-ativos na formação de catarata. A análise dos resultados do estudo indicou que condições inadequadas de armazenamento e transporte dos colírios influenciam diretamente a liberação de contaminantes elementares extraíveis e lixiviáveis dos frascos. Ademais, sugere-se que a liberação dessas impurezas pode desestabilizar o equilíbrio do metaloma ocular, potencializando efeitos tóxicos e contribuindo para o desenvolvimento de doenças oculares.

Estudos recentes destacam a influência de determinados metais na saúde ocular, indicando que a introdução desses elementos pode interferir no equilíbrio do metaloma ocular, potencialmente resultando em toxicidade e desenvolvimento de patologias (Solomon; Nelson, 2018). Elementos como magnésio (Mg) e zinco (Zn) têm sido associados à patogênese do glaucoma, uma vez que podem influenciar a pressão intraocular e a saúde ocular de modo geral (Choudhari; Chatterjee, 2023).

Embora a quantificação desses elementos seja essencial para garantir a segurança dos produtos oftálmicos, é igualmente importante reconhecer que nem todos os oligoelementos apresentam efeitos prejudiciais. Alguns, como zinco (Zn) e selênio (Se), desempenham funções essenciais na manutenção da saúde ocular e podem exercer efeitos protetores contra determinadas doenças. No entanto, o estudo conduzido por Oliveira *et al.* (2023) ressalta preocupações regulatórias ao identificar concentrações de arsênio (As) e cádmio (Cd) em colírios que ultrapassam os limites estabelecidos por Farmacopéias, o que gera alertas para as agências reguladoras. Essas descobertas reforçam a necessidade de monitoramento rigoroso da presença de metais em formulações oftálmicas, especialmente aquelas utilizadas no tratamento da doença do olho seco ("Quantificação de metais(lóides) em colírios transportados usados no tratamento da doença do olho seco", 2023).

Analisemos agora o papel de cada um desses elementos na saúde humana.

5.3.1 Alumínio (Al)

O alumínio por ter relação com diversas patologias oculares devido ao seu potencial de induzir danos celulares e processos inflamatórios. Evidências sugerem que a exposição prolongada a esse metal pode contribuir para a degeneração de células da retina e do nervo óptico, podendo agravar condições como a degeneração macular relacionada à idade (DMRI) e até mesmo estar associada à doença de Alzheimer, em razão de sua capacidade de se acumular nos tecidos oculares (Wijnants *et al.*, 2022; Chang *et al.*, 2023).

A atuação do alumínio em doenças oculares é complexa, pois envolve tanto seus efeitos deletérios como corpo estranho quanto suas aplicações terapêuticas. Embora possa estar relacionado a complicações oftalmológicas graves, como o descolamento de retina causado pela presença de corpos estranhos intraoculares, esse elemento também é utilizado no tratamento de conjuntivites. Dessa forma, compreender sua dupla influência é fundamental para aprimorar estratégias de diagnóstico e terapêutica na oftalmologia.

Quando presente como corpo estranho ocular, o alumínio pode desencadear descolamento de retina, especialmente em casos de descolamento regmatogênico associado a fragmentos metálicos intraoculares. A detecção dessas lesões é frequentemente desafiadora, uma vez que podem ser assintomáticas em estágios iniciais (Zhang *et al.*, 2023). Além disso, profissionais expostos a ambientes de risco, como trabalhadores da construção civil, apresentam maior vulnerabilidade à penetração inadvertida de partículas de alumínio nos olhos. Nesse sentido, a obtenção de um histórico ocupacional detalhado e a realização de exames oftalmológicos minuciosos são essenciais para um diagnóstico preciso e precoce (Zhang *et al.*, 2023).

Por outro lado, o alumínio também é utilizado em abordagens terapêuticas, sendo empregado no tratamento da conjuntivite. Estudos indicam que o pó de alumínio pode auxiliar na redução dos sintomas da condição ao atuar na quebra da película leitosa associada ao processo inflamatório (Hutchins, 1977).

Apesar de suas potenciais aplicações terapêuticas, a toxicidade do alumínio continua sendo uma preocupação significativa, particularmente em pacientes com insuficiência renal crônica. Nesses indivíduos, a exposição a níveis elevados desse metal pode resultar em complicações graves, incluindo encefalopatia (Henning, 1989;

Monteagudo *et al.*, 1988). Dessa maneira, torna-se essencial um controle rigoroso da exposição ao alumínio em contextos médicos e ambientais. No entanto, são necessárias investigações adicionais para compreender completamente os mecanismos subjacentes à sua influência nas doenças oculares e estabelecer diretrizes seguras para sua utilização.

5.3.2 Cádmio (Cd)

Os micronutrientes desempenham um papel fundamental na manutenção da homeostase dos tecidos oculares. No entanto, a exposição prolongada ao cádmio (Cd) ou seu acúmulo nos tecidos pode resultar em toxicidade ocular, intensificando o estresse oxidativo (EO) e contribuindo para o desenvolvimento de doenças como catarata e glaucoma (Wu *et al.*, 2014). O Cd é um agente inflamatório altamente reativo, capaz de amplificar o EO, e estudos experimentais demonstram que sua exposição compromete a neurogênese e prejudica o desenvolvimento axonal (Rai *et al.*, 2013).

Evidências científicas indicam que concentrações elevadas de Cd no sangue estão associadas a um risco aumentado de desenvolvimento de glaucoma, especialmente em homens com glaucoma de tensão normal e pressão intraocular (PIO) basal (Lin *et al.*, 2015; Lee *et al.*, 2016). Estudos demonstram que a presença de metais pesados, como o Cd, pode resultar em danos oculares significativos. A princípio, a deposição desse metal foi identificada em tecidos oculares, particularmente no epitélio pigmentar da retina e na coróide. Além disso, o acúmulo de Cd foi detectado na retina, no humor vítreo e na corrente sanguínea, embora sua presença não tenha sido constatada em meios aquosos (Erie *et al.*, 2005).

A relação entre a concentração de metais pesados e o glaucoma de ângulo aberto (GAA) foi amplamente investigada em populações sul-coreanas, com destaque para indivíduos que apresentam PIO basal média e elevada (Lee *et al.*, 2016). Observou-se que os níveis de Cd estavam significativamente aumentados em casos de GAA com PIO basal reduzida, sugerindo que a toxicidade desse metal pode exercer um papel relevante na fisiopatologia do glaucoma, particularmente em homens e em indivíduos com PIO basal baixa. Esses achados reforçam a importância de pesquisas adicionais sobre os efeitos tóxicos dos metais pesados nos tecidos oculares e sua possível contribuição para a etiologia de doenças oftalmológicas.

5.3.3 Cromo (Cr)

O cromo (Cr) é um elemento traço essencial para o organismo humano, desempenhando um papel fundamental no metabolismo da glicose e na regulação da sensibilidade à insulina. No entanto, em concentrações elevadas ou em formas tóxicas, como o cromo hexavalente (Cr^{6+}), sua presença está associada a diversos efeitos adversos à saúde, incluindo o desenvolvimento de patologias oftálmicas (Apel *et al.*, 2013).

As interações entre íons metálicos e os tecidos oculares podem desencadear diferentes efeitos tóxicos. No contexto neurológico, a toxicidade pode manifestar-se na forma de neuropatia periférica e perda auditiva neurossensorial, enquanto no sistema ocular, pode resultar em comprometimento visual. Entretanto, os mecanismos de regulação da toxicidade dos metais pesados por proteínas de choque térmico (HSP90) e proteínas da família S100 na retina ainda são pouco compreendidos. Buscando preencher essa lacuna, Kuzenko *et al.* (2018) analisaram a expressão das proteínas S100 e HSP90 na retina sob exposição ao íon cromo, utilizando um modelo experimental com 36 ratos albinos machos (72 olhos). Os resultados indicaram uma atividade basal da enzima HSP90aa1 no grupo controle. No grupo exposto ao íon cromo, observou-se um aumento significativo na atividade enzimática de HSP90aa1, sugerindo uma resposta ao estresse celular induzido pelo metal (Kuzenko *et al.*, 2018). Os autores concluíram que as proteínas HSP90aa1 e S100 exercem uma interação funcional na regulação das células da retina em resposta ao cromo, cuja toxicidade pode resultar em edema retiniano e potencial contribuição para o desenvolvimento de retinopatias. Esses achados reforçam a relevância do estudo dos efeitos do cromo na retina e a necessidade de pesquisas adicionais para elucidar seus mecanismos de toxicidade.

Apesar de ser um oligoelemento essencial, o Cr pode influenciar a saúde ocular mesmo em baixas concentrações. Evidências indicam uma correlação entre níveis reduzidos de Cr e um risco aumentado de glaucoma. Esse elemento parece estar envolvido na regulação da concentração ocular, na redução da pressão intraocular (PIO) e na estabilização dos níveis glicêmicos (Head, 2001). Em um experimento conduzido na Nova Zelândia, coelhos brancos receberam injeções intravenosas de cobalto (Co) isoladamente, cromo (Cr) isoladamente ou uma combinação de ambos. Os resultados mostraram que, enquanto o Cr e o Co isoladamente não causou

alterações significativas, a administração de ambos combinados resultou em danos ao nervo óptico e degeneração das células ciliadas cocleares (Apostoli *et al.*, 2013). Esses achados sugerem que a exposição ao Cr pode estar associada ao aumento da prevalência de glaucoma em áreas urbanizadas. Embora sejam necessários mais estudos, a possível relação entre a toxicidade de metais pesados e o desenvolvimento do glaucoma poderia indicar um fator de risco modificável para essa doença ocular (Vennam *et al.*, 2020).

5.3.4 Magnésio (Mg)

O magnésio (Mg) é o segundo cátion intracelular mais abundante, ficando atrás apenas do potássio (K), e ocupa a quarta posição entre os cátions mais prevalentes no organismo humano, precedido pelo sódio (Na) e pelo cálcio (Ca). Esse elemento desempenha um papel fundamental em diversos processos biológicos, incluindo a regulação enzimática, a síntese proteica, a produção de energia e o funcionamento do sistema nervoso. Além disso, é essencial para a manutenção da função muscular e óssea, bem como para a condução de impulsos nervosos e a estabilidade do DNA (McCrystal *et al.*, 2004).

No contexto da fisiologia ocular, o Mg exerce influência direta na condução dos impulsos nervosos, na contração muscular, na regulação do tônus vasomotor e na manutenção do ritmo cardíaco (Reddy *et al.*, 2020). A deficiência de Mg pode comprometer o equilíbrio dos íons cálcio e sódio no meio intracelular, resultando em alterações nas reações enzimáticas celulares, o que contribui para o desenvolvimento de patologias oculares, como glaucoma e catarata (Ekici *et al.*, 2020; Agarwal *et al.*, 2014). Além disso, a carência desse mineral está associada ao aumento do estresse oxidativo e à ativação do óxido nítrico sintase induzível (iNOS), fatores que podem agravar doenças oftálmicas, incluindo catarata, glaucoma e retinopatia diabética (Agarwal *et al.*, 2014).

Outro mecanismo pelo qual a deficiência de Mg pode influenciar a saúde ocular envolve a excitação excessiva dos receptores de glutamato e N-metil-D-aspartato (NMDA), levando à apoptose neuronal. Um estudo conduzido por Fick *et al.* (2019) demonstrou que a insuficiência de Mg pode aumentar a viscosidade sanguínea a ponto de comprometer o fluxo sanguíneo ocular, o que pode agravar o quadro de glaucoma. Esses achados reforçam a importância do equilíbrio de magnésio no

organismo para a preservação da saúde ocular e a necessidade de mais pesquisas para aprofundar o entendimento sobre seu papel na fisiopatologia das doenças oftálmicas.

5.3.5 Selênio (Se)

Evidências epidemiológicas indicam uma possível associação entre a suplementação de selênio (Se) e um risco aumentado de glaucoma e hipertensão ocular (Conley *et al.*, 2005). Estudos como o de Bruhn *et al.* (2009) analisaram a relação entre as concentrações plasmáticas e no humor aquoso (AH) de Se em pacientes com glaucoma primário de ângulo aberto (GPAA), identificando uma correlação entre níveis elevados desse elemento e um maior risco da doença. De forma semelhante, Najafi *et al.* (2013) observaram que indivíduos com GPAA apresentavam concentrações significativamente mais altas de Se tanto no soro quanto no AH, mesmo após o controle de variáveis de confusão.

Entretanto, resultados conflitantes foram relatados por Michalke *et al.* (2019), que, em um estudo transversal, não identificaram diferenças estatisticamente significativas nos níveis de Se no AH entre pacientes com GPAA e indivíduos do grupo controle, independentemente de fatores como idade e sexo. Esses achados sugerem que a relação entre Se e o desenvolvimento do glaucoma pode depender de diferentes fatores contextuais e metodológicos, destacando a necessidade de investigações adicionais para esclarecer o papel desse elemento na fisiopatologia da doença.

5.3.6 Zinco (Zn)

De acordo com estudo realizado, foram observadas concentrações elevadas de zinco (Zn) na retina, indicando sua função essencial neste tecido (Miao *et al.*, 2013). A literatura também aponta que a deficiência de zinco em alguns indivíduos pode resultar em alterações na adaptação à escuridão e em degeneração macular relacionada à idade (Ugarte *et al.*, 2013). A retina contém quantidades particularmente elevadas de zinco, sugerindo um papel fundamental desse elemento nesse tecido. Além disso, há indícios de que a deficiência de zinco em humanos pode afetar a adaptação ao escuro e/ou contribuir para o desenvolvimento da degeneração macular relacionada ao envelhecimento.

O zinco endógeno na retina, que é passível de quelação, localiza-se principalmente nos fotorreceptores e nas células epiteliais pigmentares da retina. A distribuição do zinco nos fotorreceptores varia dependendo da presença ou ausência de luz, sugerindo que ele desempenha um papel em processos regulados pela luz. Embora o zinco também seja encontrado em outras áreas da retina, não foram identificados neurônios específicos enriquecidos com zinco em determinadas regiões do cérebro. Em relação à isquemia retiniana, o papel do zinco foi investigado para entender sua participação nesse processo. Evidências indicam que, quando administrado em baixas concentrações, o zinco exerce um efeito benéfico sobre uma retina comprometida, como no caso da isquemia. No entanto, quando administradas concentrações mais altas, as consequências podem ser prejudiciais, exacerbando os danos e agindo de maneira tóxica. Portanto, o uso de suplementos de zinco na dieta deve ser cauteloso (Ugarte *et al.*, 2013; Ugarte *et al.*, 2001).

6 CONCLUSÃO

Esta dissertação evidenciou a presença de metais e metalóides, como alumínio, cádmio, cromo, magnésio, selênio e zinco, em colírios utilizados para o tratamento do glaucoma, destacando variações relevantes entre diferentes marcas, princípios ativos e lotes. Elementos como Al, e Cr foram detectados em níveis que, embora em geral dentro de limites internacionais para exposição sistêmica, levantam preocupações quanto ao risco cumulativo específico da via ocular, dada a frequência de uso desses medicamentos.

A variação de concentrações sugere possíveis falhas de padronização nos processos de fabricação, pureza de insumos e ausência de regulamentação específica para limites de impurezas em medicamentos oftálmicos. Além disso, reforça-se que alguns metais, mesmo quando essenciais (como Se e Zn), podem trazer riscos se desequilibrados, enquanto elementos tóxicos como As e Cd exigem monitoramento rigoroso.

Assim, os resultados obtidos ressaltam a importância de se incluir análises de metais pesados nos protocolos de controle de qualidade de colírios, promover estudos toxicológicos complementares focados em exposição ocular crônica, revisar normas regulatórias e estimular parcerias entre centros de pesquisa, indústria e agências reguladoras. Espera-se que estas evidências incentivem a inovação em formulações mais seguras e a conscientização de profissionais de saúde e usuários sobre a composição integral dos medicamentos, contribuindo para maior proteção da saúde ocular no Brasil.

Recomenda-se a ampliação deste estudo para incluir uma maior variedade de marcas, lotes e princípios ativos, além de investigações complementares sobre a biodisponibilidade ocular e sistêmica desses elementos. Estudos toxicológicos de longo prazo e avaliações de risco mais detalhadas poderão embasar futuras atualizações da Farmacopéia Brasileira, bem como subsidiar práticas de rotulagem mais transparentes e o desenvolvimento de formulações mais seguras para pacientes com glaucoma.

REFERÊNCIAS

- ABD-ELHAKIM, Y.M. *et al.* The impacts of individual and combined exposure to cadmium and lead on intraocular pressure, electroretinography, and residual changes in the rabbit eyes. **Environ Sci Pollut Res Int.** 2019 Nov;26(32):33321-33328. doi: 10.1007/s11356-019-06446-7. Epub 2019 Sep 13. PMID: 31520382.
- 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, R.; IEZHITSA. Pathogenetic role of magnesium deficiency in ophthalmic diseases. **Biometals** 2014;27:5-18.
- 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.
- APEL, W. *et al.* Cobalt-chromium toxic retinopathy case study. **Doc Ophthalmol** 2013 126(1):69–78.
- APOSTOLI, P. *et al.* High doses of cobalt induce optic and auditory neuropathy. **Exp Toxicol Pathol** 2013;65:719-27
- ASCHNER, M. *et al.* Retinal toxicity of heavy metals and its involvement in retinal pathology. **Food Chem Toxicol.** 2024 Jun;188:114685. doi: 10.1016/j.fct.2024.114685. Epub 2024 Apr 23. PMID: 38663763.
- 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.
- BAKER, B.A. *et al.* ACOEM Task Force on Arsenic Exposure. Arsenic Exposure, Assessment, Toxicity, Diagnosis, and Management: Guidance for Occupational and Environmental Physicians. **J Occup Environ Med.** 2018 Dec;60(12):e634-e639. doi: 10.1097/JOM.0000000000001485. PMID: 30358658.
- 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.
- 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>>
- BRASIL. **Brazilian Pharmacopoeia.** 6. ed. Brasília: National Health Surveillance Agency, 2019. v. I
- BRUHN, R. L. *et al.* Relationship between glaucoma and selenium levels in plasma and aqueous humour. **Br J Ophthalmol** 2009;93:1155-8
- 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. Government of Canada, 22 jul. 2016. Disponível em: <<https://www.canada.ca/en/health-canada/services/drugshealth-products/drug-products/applications-submissions/guidancedocuments/international-conference-harmonisation/quality/notice-health-canadarecommendations-implementation->

harmonised-guideline-elemental-impurities-newmarketed-products.html>. Acesso em: 15 junho. 2024.

CEYLAN, O. M. *et al.* Evaluation of essential and toxic trace elements in pseudoexfoliation syndrome and pseudoexfoliation glaucoma. **Biol Trace Elem Res** 2013;153:28-34

Chemical Tests. <232> Elemental impurities—limits. USP 39. Disponível em: <https://www.usp.org/sites/default/files/usp/document/our-work/chemical-medicines/key-issues/c232-usp-39.pdf>. Acesso em: 21 jan. 2025.

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: 15 junho. 2024

CHOUDHARI *et al.* Impact of trace elements and risk factor for glaucoma pathogenesis. **MGM Journal of Medical Sciences** 10(2):p 335-345, April-June 2023. | DOI: 10.4103/mgmj.MGMJ_253_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**, v. 6, n. 4, p. e010985, 1 abr. 2016.

CONLEY, S. M. *et al.* Alterations in human trabecular meshwork cell homeostasis by selenium. **Exp Eye Res** 2006;82:637-47

CRUZ, K. J. C.; DE OLIVEIRA, A.R. S.; DO NASCIMENTO, M. D. Antioxidant role of zinc in diabetes mellitus. **World J Diabetes** 2015;6:333.

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.

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.

EBRAHIMI M. *et al.* Environmental exposures to cadmium and lead as potential causes of eye diseases. **J Trace Elem Med Biol.** 2024 Mar;82:127358. doi: 10.1016/j.jtemb.2023.127358. Epub 2023 Dec 9. PMID: 38113800.

EKICI, F. *et al.* The role of magnesium in the pathogenesis and treatment of glaucoma. **Int Sch Res Notices** 2014;2014:1-7

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

ERIE, J. C. *et al.* Heavy metal concentrations in human eyes. **Am J Ophthalmol** 2005;139:888-93

FERREIRA, S. M. *et al.* Oxidative stress markers in aqueous humor of glaucoma patients. **Am J Ophthalmol** 2004;137:62-9

FICK A. *et al.* Levels of serum trace elements in patients with primary open-angle glaucoma. **J Trace Elem Med Biol**. 2019 May;53:129-134. doi: 10.1016/j.jtemb.2019.02.006. Epub 2019 Feb 15. PMID: 30910195.

FICK, A. *et al.* Levels of serum trace elements in patients with primary open-angle glaucoma. **J Trace Elem Med Biol** 2019;53:129-34

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.

GENCHI, G. *et al.* A. The Effects of Cadmium Toxicity. **Int J Environ Res Public Health**. 2020 May 26;17(11):3782. doi: 10.3390/ijerph17113782. PMID: 32466586; PMCID: PMC7312803.

GOLDSTEIN, M.H. *et al.* Ocular benzalkonium chloride exposure: problems and solutions. **Eye (Lond)**. 2022 Feb;36(2):361-368. doi: 10.1038/s41433-021-01668-x. Epub 2021 Jul 14. PMID: 34262161; PMCID: PMC8277985.

HEAD, K. A. Natural therapies for ocular disorders, part two: Cataracts and glaucoma. **Altern Med Rev J Clin Ther** 2001;6:141-66

HEDENGRAN, A.; KOLKO, M. The molecular aspect of anti-glaucomatous eye drops - are we harming our patients? **Mol Aspects Med**. 2023 Oct;93:101195. doi: 10.1016/j.mam.2023.101195. Epub 2023 Jul 15. PMID: 37459821.

HOHBERGER, B. *et al.* Levels of aqueous humor trace elements in patients with open-angle glaucoma. **J Trace Elem Med Biol** 2018;45:150-5

HOU, X. *et al.* **Inductively Coupled Plasma Optical Emission Spectrometry**. Em: Encyclopedia of Analytical Chemistry. John Wiley & Sons, Ltd, 2016. p. 1–25.

HUTCHINS, F. Treatment of conjunctivitis with powdered aluminum. United States Patent. disponível em: <https://patentimages.storage.googleapis.com/9a/2c/ff/9cf61bd2f83ad8/US4117115.pdf>.

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/Q3DR2_Guideline_Step4_2022_0308.pdf >. Acesso em: 15 jun. 2024.

IQBAL, Z. *et al.* Relationship between the concentration of copper and iron in the aqueous humour and intraocular pressure in rabbits treated with topical steroids. **Clin Exp Ophthalmol**. 2002 Feb;30(1):28-35. doi: 10.1046/j.1442-9071.2002.00480.x. PMID: 11885791.

JÄRUP L. Hazards of heavy metal contamination. **Br Med Bull**. 2003;68:167-82. doi: 10.1093/bmb/ldg032. PMID: 14757716.

JOMOVA, Klaudia. *et al.* Heavy metals: toxicity and human health effects. Archives of Toxicology. (2024) 99. 153-209. 10.1007/s00204-024-03903-2.

JONAS, J.B. *et al.* Glaucoma. **Lancet**. 2017 Nov 11;390(10108):2183-2193. doi: 10.1016/S0140-6736(17)31469-1. Epub 2017 May 31. PMID: 28577860.

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.

KANG, J.M.; TANNA, A.P. Glaucoma. **Med Clin North Am**. 2021 May;105(3):493-510. doi: 10.1016/j.mcna.2021.01.004. Epub 2021 Apr 2. PMID: 33926643.

KAMEYAMA, Y. et al. Comparative Study of Pharmacopoeias in Japan, Europe, and the United States: Toward the Further Convergence of International Pharmacopoeial 91 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.

KUZENKO, Y. V.; KUZENKO, O. V.; DYOMIN, Y. A. Eye retinal changes under the influence of chromium ions. **Journal of Ophthalmology** (Ukraine) - 2018 - Number 1 (480)

LEE, D.A.; HIGGINBOTHAM, E.J. Glaucoma and its treatment: a review. **Am J Health Syst Pharm**. 2005 Apr 1;62(7):691-9. doi: 10.1093/ajhp/62.7.691. PMID: 15790795.

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**. 2016 Oct 21;11(10):e0164983. doi: 10.1371/journal.pone.0164983. PMID: 27768724; PMCID: PMC5074541.

LEWIS, P. R.; PHILLIPS, T. G.; SASSANI, J. W. Topical therapies for glaucoma: what family physicians need to know. **Am Fam Physician**. 1999 Apr 1;59(7):1871-9, 1882. PMID: 10208706.

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

LIN, S. C.; SINGH, K. Association between body levels of trace metals and glaucoma prevalence. **JAMA Ophthalmol**. 2015 Oct;133(10):1144-50. doi: 10.1001/jamaophthalmol.2015.2438. PMID: 26248281.

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: 15 jun. 2024.

MARQUIS, R. E.; WHITSON, J.T. Management of glaucoma: focus on pharmacological therapy. **Drugs Aging**. 2005;22(1):1-21. doi: 10.2165/00002512-200522010-00001. PMID: 15663346.

MCCRISTAL, G. D. *et al.* The Challenge of Improving Donor Heart Preservation. doi:10.1016/j.hlc.2004.01.027

MIAO, X. *et al.* Zinc and diabetic retinopathy. **J Diabetes Res** 2013;2013:425854

MICHALKE, B. Trace elements in glaucoma—The impact of analytics. **Acta**

Ophthalmol (Copenh) 2019;99:343-343

MICHELS, T. C.; IVAN, O. Glaucoma: Diagnosis and Management. **Am Fam Physician**. 2023 Mar;107(3):253-262. PMID: 36920817.

MONTEAGUDO, F. S.; CASSIDY, M. J.; FOLB, P.I. Recent developments in aluminum toxicology. **Med Toxicol Adverse Drug Exp**. 1989 Jan-Feb;4(1):1-16. doi: 10.1007/BF03259899.

NAGSTRUP, A. H. The use of benzalkonium chloride in topical glaucoma treatment: An investigation of the efficacy and safety of benzalkonium chloride-preserved intraocular pressure-lowering eye drops and their effect on conjunctival goblet cells. **Acta Ophthalmol**. 2023 Dec;101 Suppl 278:3-21. doi: 10.1111/aos.15808. PMID: 38037546.

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.

NAJAFI, M. *et al.* Selenium and selenoprotein P1 levels are related to primary open-angle Glaucoma/Nivoi Selena I Selenoproteina P1 Povezani Su Sa Primarnim Glaukomom Otvorenog Ugla. **J Med Biochem** 2013;33:143-8

NORDBERG, M.; GUNNAR, F.; FOWLER, B. A. *Handbook on the Toxicology of Metals*. **Elsevier**, 2007. ISBN 978-0-12-369413-3. doi: 10.1016/B978-0-12-369413-3.X5052-6.

OLIVEIRA, M. Quantificação de metais e metalóides em colírios lubrificantes utilizados no tratamento da doença do olho seco. 2023. Dissertação (Mestrado em Saúde e Desenvolvimento na Região Centro-Oeste) — Universidade Federal de Mato Grosso do Sul, Campo Grande, 2023. Orientador: Valter Aragão do Nascimento. <https://repositorio.ufms.br/handle/123456789/8562>.

PAMPHLETT, R.; KUM, J. S; CHEREPANOFF, S. Mercury in the retina and optic nerve following prenatal exposure to mercury vapor. **PLoS One**. 2019 Aug 7;14(8):e0220859. doi: 10.1371/journal.pone.0220859. PMID: 31390377; PMCID: PMC6685637.

PARK, S.; CHOI, N. K. Associations of blood heavy metal levels with intraocular pressure. **Ann Epidemiol**. 2016 Aug;26(8):546-550.e1. doi: 10.1016/j.annepidem.2016.07.002. Epub 2016 Jul 14. PMID: 27497680.

QUARANTA, L. *et al.* Adherence and Persistence to Medical Therapy in Glaucoma: An Overview. **Ophthalmol Ther**. 2023 Oct;12(5):2227-2240. doi: 10.1007/s40123-023-00730-z. Epub 2023 Jun 14. PMID: 37311908; PMCID: PMC10441906.

RAI, N. K. *et al.* Exposure to As, Cd and Pb-mixture impairs myelin and axon development in rat brain, optic nerve and retina. **Toxicol Appl Pharmacol** 2013;273:242-58

REDDY, V. M. Risk factors and clinical outcome of hypomagnesemic patients in pediatric intensive care. **Int J Contemp Pediatr** 2020;7:790

REHMAN, K. *et al.* Fatima F, Waheed I, Akash MSH. Prevalence of exposure of heavy metals and their impact on health consequences. **J Cell Biochem**. 2018 Jan;119(1):157-184. doi: 10.1002/jcb.26234. Epub 2017 Aug 2. PMID: 28643849.

REIS, T. F.; PAULA, J. S.; FURTADO, J. M. Primary glaucomas in adults: Epidemiology and public health-A review. **Clin Exp Ophthalmol**. 2022 Mar;50(2):128-142. doi: 10.1111/ceo.14040. Epub 2022 Jan 26. PMID: 35037725.

ROSIN, L.M.; BELL, N. P. Preservative toxicity in glaucoma medication: clinical evaluation of benzalkonium chloride-free 0.5% timolol eye drops. **Clin Ophthalmol**. 2013;7:2131-5. doi: 10.2147/OPTH.S41358. Epub 2013 Oct 30. PMID: 24204115; PMCID: PMC3817055.

SAIFI, A. I. *et al*. Advancement in Understanding Glaucoma: A Comprehensive Review. **Cureus**. 2023 Sep 30;15(9):e46254. doi: 10.7759/cureus.46254. PMID: 37908941; PMCID: PMC10614105.

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: 15 jun. 2024

SCHUSTER, A. K. *et al*. Risk factors for open-angle glaucoma and recommendations for glaucoma screening. **Ophthalmologe**. 2021 Jul;118(Suppl 2):145-152. English. doi: 10.1007/s00347-021-01378-5. Epub 2021 Apr 21. PMID: 33881589.

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

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.

SOLOMON, P.; NELSON, J. Profiling extractable and leachable inorganic impurities in ophthalmic drug containers by ICP-MS. **Pharm Dev Technol**. 2018 Mar;23(3):247-254. doi: 10.1080/10837450.2017.1365370. Epub 2017 Aug 24. PMID: 28797192.

STEIN, J. D.; KHAWAJA, A. P.; WEIZER, J. S. Glaucoma in Adults-Screening, Diagnosis, and Management: A Review. **JAMA**. 2021 Jan 12;325(2):164-174. doi: 10.1001/jama.2020.21899. PMID: 33433580.

STEINMETZ, Jaimie D. *et al*. Causes of blindness and vision impairment in 2020 and trends over 30 years, and prevalence of avoidable blindness in relation to VISION 2020: the Right to Sight: an analysis for the Global Burden of Disease Study. *The Lancet Global Health*, [s. l.], v. 9, n. 2, p. e144–e160, 2021.

THAM, Y *et al*. Global Prevalence of Glaucoma and Projections of Glaucoma Burden through 2040: A Systematic Review and Meta-Analysis. **Ophthalmology**, Volume 121, Issue 11, 2014,Pages 2081-2090. <https://doi.org/10.1016/j.ophtha.2014.05.013>.

UGARTE, M. *et al*. Iron, zinc, and copper in retinal physiology and disease. **Surv Ophthalmol** 2013;58:585-609

UGARTE, M.; OSBORNE, N. N. Zinc in the retina. *Prog Neurobiol* 2001;64:219-49. [10.1016/s0301-0082\(00\)00057-5](https://doi.org/10.1016/s0301-0082(00)00057-5)

USP. <232> - Elemental Impurities - Limits. First Supplement to USP 40–NF 35.

The United States Pharmacopeial Convention, 1 dez. 2017. Disponível em: <<https://www.usp.org/sites/default/files/usp/document/our-work/chemicalmedicines/key-issues/232-40-35-1s.pdf>>. Acesso em: 8 mai. 2024.

VENNAM, S. *et al.* Heavy metal toxicity and the aetiology of glaucoma. **Eye (Lond)**. 2020 Jan;34(1):129-137. doi: 10.1038/s41433-019-0672-z. Epub 2019 Nov 19. PMID: 31745328; PMCID: PMC7002597.

VENNAM, S. *et al.* Heavy metal toxicity and the aetiology of glaucoma. **Eye** 2020;34:129-37

WEINREB, RN; AUNG, T.; MEDEIROS, F.A. The pathophysiology and treatment of glaucoma: a review. **JAMA**. 2014 May 14;311(18):1901-11. doi: 10.1001/jama.2014.3192. PMID: 24825645; PMCID: PMC4523637.

WHITSON, J. T. Glaucoma: a review of adjunctive therapy and new management strategies. **Expert Opin Pharmacother**. 2007 Dec;8(18):3237-49. doi: 10.1517/14656566.8.18.3237. PMID: 18035966.

WIJNANTS, D. *et al.* Late-onset toxic anterior segment syndrome after possible aluminum-contaminated and silicon-contaminated intraocular lens implantation. **J Cataract Refract Surg**. 2022 Apr 1;48(4):443-448. doi: 10.1097/j.jcrs.0000000000000783.

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-andstandards/index-ofpharmacopoeias_june_2022.pdf?sfvrsn=5445ecc8_1&download=true>.

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

WU, E. W.; SCHAUMBERG, D. A.; PARK, S. K. Environmental cadmium and lead exposures and age-related macular degeneration in US adults: The National Health and Nutrition Examination Survey 2005 to 2008. **Environ Res** 2014;133:178-84

YAVRUM, F. *et al.* Evaluation of aqueous humor and serum clusterin levels in patients with glaucoma. **BMC Ophthalmol** 2021;21:25

ZHANG, L. *et al.* Occult intraocular aluminium foreign body causing rhegmatogenous retinal detachment: a case report. **BMC Ophthalmol** **23**, 130 (2023). <https://doi.org/10.1186/s12886-023-02881-w>

ZHYLKIBAYEV, A. *et al.* M. Retinal injury mouse model and pathophysiological assessment of the effect of arsenical vesicants. **Exp Eye Res**. 2023 Jan;226:109354. doi: 10.1016/j.exer.2022.109354. Epub 2022 Dec 17. PMID: 36539053; PMCID: PMC10448564.