

Nathalia Mayumi Thomaz De Aquino

**APLICAÇÃO DE MODELOS EPIDEMIOLÓGICOS PARA
DETERMINAR FATORES ASSOCIADOS A QUALIDADE DE
CÓRNEAS EM BANCO DE OLHOS**

Tese preparada e apresentada no Departamento de Oftalmologia e Ciências Visuais da Universidade Federal de São Paulo – Escola Paulista de Medicina, para obtenção do título de Mestrado Profissional em Oftalmologia.

São Paulo

2016

Nathalia Mayumi Thomaz De Aquino

**APLICAÇÃO DE MODELOS EPIDEMIOLÓGICOS PARA
DETERMINAR FATORES ASSOCIADOS A QUALIDADE DE
CÓRNEAS EM BANCO DE OLHOS**

Tese preparada e apresentada no Departamento de Oftalmologia e Ciências Visuais da Universidade Federal de São Paulo – Escola Paulista de Medicina, para obtenção do título de Mestrado Profissional em Oftalmologia.

Orientador: Prof. Dr. Flávio Eduardo Hirai

São Paulo

2016

Aquino, Nathalia Mayumi Thomaz de

Aplicação de modelos epidemiológicos para determinar fatores associados a qualidade de córneas em Banco de olhos // Nathalia Mayumi Thomaz de Aquino – São Paulo, 2016

Tese (Mestrado Profissional) – Universidade Federal de São Paulo - Escola Paulista de Medicina. Programa de Pós-Graduação em Oftalmologia e Ciências Visuais.

Título em Inglês: Application of epidemiologic models to determine associated factors to corneal quality in eye banks

1. Estudos de Casos e Controles. 2. Transplante de Córnea. 3. Banco de Olhos; Doenças da Córnea. 4. Preservação de Tecido.

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE SÃO PAULO
OFTALMOLOGIA E CIÊNCIAS VISUAIS - ESCOLA PAULISTA DE
MEDICINA
MESTRADO PROFISSIONAL**

Chefe do Departamento: Prof. Dr. Paulo Schor

Coordenação do Curso: Prof. Dr. Marinho Jorge Scarpi

Nathalia Mayumi Thomaz De Aquino

**APLICAÇÃO DE MODELOS EPIDEMIOLÓGICOS PARA
DETERMINAR FATORES ASSOCIADOS A QUALIDADE DE
CÓRNEAS EM BANCO DE OLHOS**

Presidente da Banca:

Prof. Dr. _____

Banca Examinadora:

Prof. Dr. _____

Prof. Dr. _____

Prof. Dr. _____

Dedicatória

À Deus, em sua esplendorosa sabedoria, que guia o meu caminho, me orienta e me oportuniza o convívio com pessoas admiráveis que agregam conhecimento e sabedoria no meu viver.

Aos meus pais Mônica e Leonardo, exemplos de garra e perseverança, que me ensinaram a continuar caminhando mesmo diante das dificuldades, e sempre me acolhendo e me confortando.

Ao meu noivo, Marcelo, pelo apoio e compreensão em toda a minha jornada.

Agradecimentos

Ao Prof. Dr. Flávio Eduardo Hirai e ao Prof. Dr. Élcio Sato pela oportunidade e incentivo à pós-graduação. Agradeço pelo inestimável auxílio no desenvolvimento deste estudo, por dividir seus conhecimentos, mediar meu aprendizado e contribuir com a minha formação.

À Universidade Federal de São Paulo e ao Departamento de Oftalmologia e Ciências Visuais, por sediarem e alimentarem meus estudos e minhas conquistas acadêmicas e profissionais.

Ao coordenador Prof. Dr. Marinho Jorge Scarpi à secretária Joelma Silva por me atenderem sempre solícitamente e pela dedicação ao Curso de Pós-Graduação em Oftalmologia e Ciências Visuais da Universidade Federal de São Paulo.

Ao Prof. Dr. Paulo Schor, pelo intenso e valioso trabalho como chefe do Departamento de Oftalmologia e Ciências Visuais da Universidade Federal de São Paulo.

Sumário

Dedicatória.....	v
Agradecimentos.....	vi
Resumo.....	viii
Abstract.....	ix
1. INTRODUÇÃO.....	1
2. OBJETIVOS.....	3
2.1 Primário.....	3
2.2 Secundário.....	3
3.MÉTODOS.....	4
3.1 População de estudo.....	4
3.2 Análise Estatística.....	4
4. RESULTADOS.....	6
5. DISCUSSÃO.....	9
6. CONCLUSÃO.....	16
7. REFERÊNCIAS.....	17
Anexos.....	20

Resumo

Objetivo: Desenvolver uma metodologia usando modelos epidemiológicos para identificar fatores relacionados a qualidade de córneas transplantadas em Banco de Olhos. **Métodos:** Foi realizado um estudo do tipo caso controle para determinar fatores relacionados a falência primária de transplante de córneas no estado de São Paulo entre Janeiro de 2010 e Dezembro de 2013. Casos de falência primária foram definidos como edema de córnea irreversível no período pós operatório imediato, não responsivo ao tratamento tópico. Controles foram selecionados de forma randomizada a partir de transplantes de córnea realizados uma semana antes ou depois dos casos. Foram avaliados dados do doador como causa da morte, sexo, idade, contagem de células endoteliais, tempo entre a morte e a enucleação, tempo até a preservação corneana e tempo de preservação até a cirurgia. Análise estatística entre os grupos foi realizada e o odds ratio foi calculado para determinar fatores relacionados a falência primária. **Resultados:** Trinta e oito casos de falência primária de córnea foram reportados ao Centro de Transplante do Estado de São Paulo durante o período avaliado, levando a seleção de 152 controles. Os casos tiveram idade variando entre 16 anos a 79 anos, com média de 46,1 anos (dp = 16,5 anos) e os controles de 4 a 79 anos, com média de 39,8 anos (dp = 16,5 anos) ($p = 0,037$). Houve mais homens nos dois grupos, sendo 60,5% entre os casos e 66,4% entre os controles ($p = 0,493$). Tempo entre a morte e a enucleação foi 4,6 horas para os casos (dp = 3,7 horas) e 3,5 horas para os controles (dp = 5,8 horas), $p = 0,255$. Tempo entre a enucleação e a preservação do tecido foi de 5,7 horas (dp = 3,5 horas) para os casos e 4,6 horas (dp = 5,1 horas) para os controles, $p = 0,238$. Verificou-se também que o tempo entre a preservação e o transplante para os casos foi em média 9,5 dias (dp = 2,7 dias) e para os controles 7,9 dias (dp = 2,8

dias) ($p = 0,001$). Na análise multivariada, cada dia a mais de preservação aumentou risco de falência primária em 23%. Em relação a contagem endotelial, foram verificados 2518,3 células/mm² (dp = 259,4 células/mm²) nos casos e 2627,0 células/mm² (dp= 346,1 células/mm²) nos controles ($p = 0,084$). A principal causa de morte nos dois grupos foram as doenças cardiovasculares (50,0% entre os casos e 49,3% entre os controles). Morte por causas externas foram encontradas em 18,4% dos casos e 45,4% dos controles. Outras causas, como câncer, representaram 31,6% das mortes entre os casos e 5,3% entre os controles. As córneas daqueles que faleceram por outras causas que não as doenças cardiovasculares tiveram 6,6 vezes mais chance de desenvolver falência primária após ajuste para outras variáveis (odds ratio 6,6 (2,1 - 20,5)). **Conclusão:** O estudo do tipo caso controle foi útil para determinar fatores associados a falência primária de transplantes de córnea e poderia ser usado como uma ferramenta para controle de qualidade no banco de olhos. Nesse estudo, a falência primária de enxertos foi de causa multifatorial e reflete de forma direta o tecido e a qualidade de seu processamento. Fatores como sexo, contagem de células endoteliais, tempo entre a morte e a enucleação e tempo entre a enucleação e a preservação não estiveram associados a falência. No entanto, idade, tempo entre preservação e a cirurgia e a causa da morte poderiam influenciar na qualidade do tecido, levando a maiores taxas de falência primária, podendo ser fatores a serem considerados na seleção de córneas em banco de olhos.

Palavras-chave: Estudos de Casos e Controles; Transplante de Córnea; Banco de Olhos; Doenças da Córnea; Preservação de Tecido.

Abstract

Objective: To develop a methodology using epidemiological models to identify factors related to transplanted cornea's quality in Eye Banks. **Methods:** A case-control study was conducted to determine factors related to primary graft failure in the state of São Paulo between January 2010 and December 2013. Primary graft failure cases were defined as irreversible corneal edema in the immediately postoperative period, unresponsive to topical treatment. Controls were randomly selected from corneal transplants performed one week before or after the cases. Donors data were evaluated as cause of death, sex, age, endothelial cell count, time between death and enucleation, time to corneal preservation and preservation time before surgery. Statistical analysis between groups was performed and the odds ratio was calculated to determine factors related to primary failure. **Results:** Thirty-eight cases of primary graft failure were reported to the São Paulo State Transplant Center during the study period, leading to a selection of 152 controls. The cases had between 16 years to 79 years, averaging 46.1 years (SD = 16.5 years) and controls 4-79 years, mean 39.8 years (SD = 16.5 years) ($p = 0.037$). There were more men in both groups, 60.5% among cases and 66.4% among controls ($p = 0.493$). Time between death and enucleation was 4.6 hours for cases (sd = 3.7 hours) and 3.5 hours for controls (sd = 5.8horas), $p = 0.255$. Time between enucleation and tissue preservation was 5.7 hours (SD = 3.5 hours) for cases and 4.6 hours (SD = 5.1 hours) for controls, $p = 0.238$. It was also verified that the time between the preservation and transplantation in cases averaged 9.5 days (SD = 2.7 days) and controls 7.9 days (SD = 2.8 days) ($p = 0.001$). In the multivariate analysis, each extra day of preservation increased the risk of primary failure by 23%. Regarding endothelial cell count, were verified 2518.3 cells / mm² (SD = 259.4 cells / mm²) in

cases and 2627.0 cells / mm² (SD = 346.1 cells / mm²) in controls ($p = 0.084$). The main cause of death in both groups were cardiovascular disease (50.0% of cases and 49.3% among controls). Death from external causes were found in 18.4% of cases and 45.4% of controls. Other causes, such as cancer, accounted for 31.6% of deaths among cases and 5.3% among controls. The corneas of those who died from other causes than cardiovascular disease were 6.6 times more likely to develop primary graft failure after adjusting for other variables (odds ratio 6.6 (2.1 to 20.5)).

Conclusion: The case-control study was useful to determine factors associated with primary graft failure and could be used as a tool for quality control in Eye Banks. In this study, primary graft failure was multifactorial and reflects directly the tissues quality and its processing. Factors such as gender, endothelial cell count, time between death and enucleation and time between enucleation and preservation were not associated with the morbidity. However, age, time between preservation and surgery and cause of death could influence the tissue's quality, leading to higher rates of primary graft failure. Therefore, may be factors to be considered during the selection of corneas in Eye Banks.

Keywords: Case-Controls Studies, Corneal Transplantation, Eye Banks, Corneal Diseases, Tissue preservation.

1 INTRODUÇÃO

O estudo do tipo caso controle é um estudo epidemiológico longitudinal, observacional, analítico e, em geral, retrospectivo. É útil principalmente para identificar fatores de risco, especialmente para doenças raras. Apesar de falhar em demonstrar de forma certa relações de causa e efeito, pode evidenciar associações. Os primeiros estudos começaram a ser realizados por volta de 1920, no Estados Unidos ⁽¹⁾. Em 1951, Cornfield publicou o primeiro estudo sobre este método, demonstrando que medidas de fácil obtenção, como as frequências de exposição entre casos e controles, podem estimar um parâmetro de amplo interesse epidemiológico⁽²⁾. Demonstrou que a razão do odds ratio de exposição entre casos e controles é um bom estimador do risco relativo, desde que a frequência da doença em estudo seja baixa.

O transplante de córnea é o transplante mais realizado no Brasil, representando mais da metade do número total de transplantes realizados no país no ano de 2014⁽³⁾. A falência primária de córneas transplantadas é uma de suas complicações mais temidas e resulta do mau funcionamento do endotélio tecidual. Caracteriza-se por desenvolvimento de edema não responsivo a esteróides ou a soluções hipertônicas nos primeiros dias de pós-operatório ⁽⁴⁾. A complicação pode ser consequência de um botão corneano com células endoteliais já danificadas, de preservação inadequada do tecido ou de trauma cirúrgico.

A incidência da falência primária, em estudos recentes, é em média de 3,9%, no entanto, pode chegar a 12,8% ^(6,7,8).

Os principais fatores de risco para o desfecho até hoje descritos na literatura incluem: idade do doador, doenças endoteliais prévias da córnea doada, técnica de

preservação inadequada, tempo entre a enucleação e a preservação, tempo de preservação e traumas cirúrgicos ⁽⁹⁾. Também Já foi aventada a possibilidade do vírus do herpes simples ter participação no desenvolvimento de falência primária nos botões, após isolamento do vírus em amostras teciduais através de reação em cadeia da polimerase (PCR) ⁽¹⁰⁾.

No Brasil, o tempo máximo preconizado entre a morte e a retirada do tecido é de 6 horas ou 12 horas para córneas refrigeradas. É responsabilidade dos Banco de Tecidos Oculares (BTO) a captação dos tecidos oculares, além de seus processamentos, avaliações e armazenamento. A avaliação inicial de um possível doador envolve quatro etapas: verificação da história clínica do doador, seu exame físico, testes sorológicos e finalmente a análise do tecido captado.

A análise do tecido não segue uma padronização nacional, sendo responsabilidade de cada banco de olhos a criação de seu próprio protocolo. Em geral são verificados dados do doador, tais como idade, causa de óbito e história médica pregressa, e, então o tecido é submetido a um exame clínico detalhado onde se observam possíveis alterações que possam comprometer a qualidade do tecido tais como contagem e avaliação endotelial, dobras de Descemet, opacidades corneanas, sinais prévios de cirurgias ou doenças oculares, entre outros. Após processamento e análise, o tecido é armazenado na maioria no meio de conservação Optisol GS por até 14 dias.

2 OBJETIVOS

2.1 Primário

Desenvolver uma metodologia usando modelos epidemiológicos para identificar fatores relacionados a qualidade de córneas transplantadas em Banco de Olhos.

2.2 Secundário

Identificar fatores de risco vinculados ao desenvolvimento de falência primária de córneas transplantadas visando avaliar a validade dos critérios atuais de seleção de córneas adotados pelos Banco de Tecidos Oculares e dos limites de tempo empregados hoje para captação, transporte e armazenamento dos tecidos.

3 MÉTODOS

3.1 População de Estudo

Foi realizado um estudo retrospectivo, do tipo caso-controle, através de revisão de prontuários de transplantes de córnea reportados a Central de Transplantes de Córnea do Estado de São Paulo, no período de Janeiro de 2010 a Dezembro de 2013.

Definiu-se como falência primária, fracasso do botão em atingir transparência após a cirurgia, com edema de córnea persistente por 90 dias relacionado a dano ou disfunção das células endoteliais. Dessa forma, foram escolhidos como casos, córneas que desenvolveram falência primária e foram reportados a central de transplantes no período.

Como controles, foram selecionadas 4 córneas que não tiveram o mesmo desfecho, de forma aleatorizada para cada caso, entre os transplantes realizados dentro do período de uma semana antes ou após cada caso.

Dados do doador como causa da morte, sexo e idade, contagem de células endoteliais nas córneas doadas, tempo entre a morte e a enucleação, tempo entre a enucleação e preservação e tempo de preservação tecidual foram coletados.

3.2 Análise estatística

Comparações de variáveis contínuas e categóricas entre casos e controles foi realizado pelo teste de T de Student e teste do Qui-Quadrado, respectivamente.

Análise univariada foi realizada para avaliar fatores de risco associados à falência primária assim como análise multivariada por regressão logística para investigar a associação destes fatores controlando por fatores de confusão. Valores de p menores que 0,05 foram considerados estatisticamente significantes. Toda análise foi realizada com Stata v.11 (College Station, Texas, EUA).

4 RESULTADOS

Trinta e oito casos de falência primária de botões corneanos foram reportados a Central de Transplante no período do estudo, sendo selecionados 152 controles. A idade dos casos variou de 16 anos a 79 anos, com uma média (desvio-padrão) de 46,1 anos (16,5 anos) e, entre os controles, a idade variou entre 4 anos e 79 anos, com uma média (desvio-padrão) de 39,8 anos (16,5 anos) ($p = 0,037$).

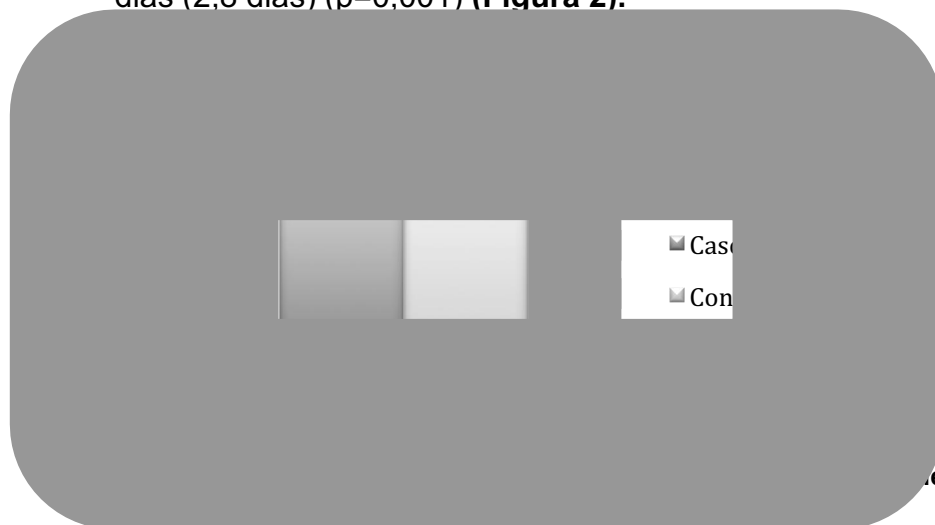
Em relação ao sexo, havia mais homens em ambos os grupos: 60,5% entre os casos e 66,4% entre os controle, $p = 0,493$.

Observou-se que o tempo médio entre a morte e a enucleação dos olhos foi 4,6 horas (3,7 horas) para os casos e 3,5 horas (5,8 horas) para os controles ($p = 0,255$). O tempo entre a enucleação e a preservação do tecido foi de 5,7 horas (3,5 horas) para os casos e 4,6 horas (5,1 horas) para os controles ($p = 0,238$) (**Figura 1**).



Gráfico 1 Tempo entre a enucleação e a preservação entre os grupos.

Verificou-se também que o intervalo de tempo entre a preservação e o transplante para os casos foi em média 9,5 dias (2,7 dias) e para os controles 7,9 dias (2,8 dias) ($p=0,001$) (**Figura 2**).



neano nos casos e controles.

Em relação a contagem endotelial, a média do número de células endoteliais do botão corneano foi 2518,3 células/mm² (259,4 células/mm²) nos casos e 2627,0 células/mm² (346,1 células/mm²) nos controle ($p=0,084$). Entre os casos, 2 prontuários não disponibilizavam o dado (5,3%) e , entre os controles, 37 (24,3%).

A principal causa de morte em ambos os grupos foi doença cardiovascular (50,0% entre os casos e 49,3% entre os controles). Causas externas foram motivos de óbito para 18,4% dos casos e para 45,4%, dos controles. Outras causas, como câncer e doenças crônicas, representaram 31,6% das mortes entre os casos e 5,3% entre os controles (**Tabela 1**).

A análise univariada mostrou 3 fatores associados a falência primária: idade do doador ($p=0,037$), causa mortis ($p<0,001$) e tempo de preservação ($p=0,001$).

A análise multivariada mostrou que, um dia a mais entre a preservação e a cirurgia, leva ao aumento da chance de falência primária da córnea em 23% (odds ratio e intervalo de confiança de 95%, 1,23 (1,05 - 1,44)) controlando outros fatores de confusão. A análise também mostrou que os que faleceram por outras causas

que não as cardiovasculares, tiveram 6,6 vezes mais chance de desenvolver falência primária, após o ajuste de outras variáveis (odds ratio e IC 95%, 6,6 (2,1 - 20,5)). Já o fator idade passou a não ter uma associação estatisticamente quando controlados outros fatores de confusão (1,00 (0,98-1,03)). (Tabela 1)

Tabela 1 - Características dos casos e controles

Característica	Controles (n=152)	Casos (n=38)	Valor p
Idade, anos	39,8 (16,5)	46,1 (16,5)	<u>0,037</u>
Sexo, %			
Homens	66,4	60,5	0,493
Mulheres	33,6	39,5	
Causa de morte, %			<u><0,001</u>
Cardiovascular	49,3	50,0	
Causas externas	45,4	18,4	
Outros	5,3	31,6	
Tempo até enucleação, horas	3,5 (5,8)	4,6 (3,7)	0,255
Tempo até preservação, horas	4,6 (5,1)	5,7 (3,5)	0,239
Tempo de preservação, dias	7,9 (2,8)	9,5 (2,7)	<u>0,001</u>
Contagem endotelial, células/mm ²	2518,3 (259,4)	2627,0 (346,1)	<u>0,084</u>

4 DISCUSSÃO

Segundo dados coletados pelo Sistema Nacional de Transplantes foram realizados no país 13.456 transplantes de córneas no ano de 2014, 4.661 apenas no estado de São Paulo. A falência primária de córneas transplantadas é uma complicação rara mas de alta importância considerando o crescente número de transplantes realizados no país. A utilização da metodologia caso-controle para identificar fatores associados à falência primária mostra-se adequada na busca de um indicador de qualidade dos serviços de banco de olhos.

A incidência da falência primária pode refletir a qualidade das córneas doadas, considerando que são casos em que o tecido não chegou a ser funcional no receptor. Identificar seus fatores de risco pode ajudar na avaliação dos critérios utilizados hoje para selecionar doadores e limites de tempo aceitos entre a morte do doador e captação do órgão, armazenamento e transplante.

Atualmente a avaliação da qualidade do tecido coletado é feito pelo Banco de Tecidos Oculares (BTO), o qual também responsável pela captação, transporte, processamento e distribuição dos tecidos.

A história clínica e social dos potenciais doadores devem ser avaliados com o intuito de excluir tecidos inadequados. Os critérios de exclusão da córnea doada têm por objetivo garantir a segurança do receptor em relação a exposição a doenças e a alta qualidade dos tecidos doados. São baseados nos critérios adotados pela EBAA (Eye Bank Association of America), os quais são aprovados pela Academia Americana de Oftalmologia e também seguidos pela Associação Pan-Americana de Banco de Olhos e pela Agência Nacional de Vigilância Sanitária.

São critérios de exclusão atuais: morte de causa desconhecida; doença de Creutzfeldt-Jacob; morte por doença neurológica com diagnóstico não estabelecido; pan-encefalite esclerosante subaguda; leucoencefalopatia progressiva multifocal; rubéola congênita, Síndrome de Reye; Encefalite viral ativa, encefalite de origem desconhecida ou progressiva; septicemia ativa; endocardite ativa; hepatite viral ativa; HIV (vírus da imunodeficiência adquirida) e pacientes de alto risco; HTLV-1 ou 2 (Vírus T-Linfotrófico humano); leucemia; linfoma disseminado; meningite; receptores de hormônio de crescimento derivado da hipófise humana (entre 1963 e 1985) ; doenças oculares (adenocarcinoma primário ou metastático; cirurgia intraocular prévia exceto se microscopia especular for adequada; cirurgia refrativa; doenças corneanas que comprometam o resultado cirúrgico ; processo inflamatório ocular ativo; retinoblastoma; tumores malignos do segmento anterior do olho).

Após a confirmação sobre a ausência de critérios de exclusão no doador, o tecido é então enucleado e levado ao banco de tecidos oculares, onde será inicialmente preparado em câmara de fluxo laminar e avaliado para posterior conservação.

Cada banco de olhos tem um protocolo para avaliação da córnea. Em geral verifica-se inicialmente dados do doador (idade, causa de óbito e história clínica pregressa) e depois examina-se o tecido na lâmpada de fenda. Durante o exame observa-se alterações de conjuntiva, esclera, limbo, epitélio, estroma e endotélio corneano. Após avaliação é determinado o destino do tecido: transplante tectônico ou óptico, podendo ser lamelar ou penetrante.

De acordo com as normas vigentes da Agência Nacional de Vigilância Sanitária, a retirada do tecido ocular deve ser feita em 6 a 12 horas após a parada cardiorrespiratória do doador ou até 12 horas se o corpo tiver sido mantido sob refrigeração de 2 a 8 graus Celsius.

O limite mínimo e máximo de idade do doador determinado no Brasil é de 2 a 80 anos, mas entidades regionais podem estreitar a faixa etária. A idade máxima do doador nos BTOs varia entre 60 e 75 anos^(12,13). Verificou-se no presente estudo, um risco significativo maior de falência primária em doadores de idade mais avançada. É bem estabelecida a diminuição de células endoteliais com a idade^(14,15,16). Alguns autores inclusive defendem que, a queda da contagem de células endoteliais após o transplante, também já bem estabelecida por estudos prospectivos, ocorreria de forma discretamente mais acentuada em indivíduos de idade avançada^(17,18), apesar de outros estudos demonstrarem taxas de sucesso similares com uso desses doadores⁽¹⁹⁾. Dessa forma, a menor taxa de células endoteliais nesses pacientes poderiam resultar em maior risco de falência primária. No entanto, outros trabalhos sugerem que córneas de doadores mais velhos também estariam associadas a menor chance de falência e rejeição, provavelmente por maior estabilidade celular e menor indução de resposta imunológica⁽²⁰⁾.

Em relação a contagem endotelial, todos os transplantes que disponibilizavam o dado apresentavam contagem endotelial adequada para realização do transplante. Não houve diferença significativa entre os casos e controles em questão. No entanto, estudos sugerem que há maior chance de perda endotelial durante a conservação em córneas de doadores que morreram de causas não traumáticas do que traumáticas, provavelmente pelas alterações metabólicas associadas a causa da morte⁽²¹⁾. Dessa forma, conforme melhor discutido adiante, apesar da contagem inicial ser parecida entre os grupos, é possível que nos casos, os quais tiveram maiores taxas de óbito por causas não traumáticas, a contagem endotelial imediatamente antes do transplante tivesse sido menor pela maior perda durante o

período de preservação. Além disso, quase um quarto dos controles não tinham a contagem endotelial disponível em prontuário, dificultando a avaliação da contribuição desse fator.

A preservação do tecido em meio Optisol GS é o método mais utilizado, inclusive no Brasil, sendo composto de sulfato de condroitina a 2,5%, dextran a 1%, vitaminas, adenosina, inosina, adenina e antibióticos. Demonstrou manter o tecido viável por 14-21 dias quando mantido a 4 graus Celsius ^(22,23). No entanto, o tempo de preservação do tecido poderia influenciar no resultado final do transplante. No presente estudo, foi verificado maior risco significativo de falência primária em casos de preservação prolongada. Na análise multivariada foi verificada aumento do risco de falência primária em 23% a cada dia de atraso entre a preservação e a cirurgia. Estudos anteriores demonstraram que a preservação em meio Optisol GS a 4 graus Celsius, esta associada a queda do número de células endoteliais com o tempo. Um menor período está associado a melhor qualidade do tecido por evitar alterações metabólicas e/ou anatômicas ^(6,24,25). Sibayan et al avaliou a contagem diária de células endoteliais de tecidos preservados em Optisol e evidenciou queda de células endoteliais de forma linear, atingindo níveis significativamente menores após o nono dia de preservação, o qual poderia comprometer a viabilidade do tecido. Chen et al, da mesma forma, demonstrou uma disrupção de 42% das células endoteliais após 11 dias de preservação em Optisol. O estudo realizou uma comparação entre córneas preservadas no meio de Chen e no meio Optisol, de forma que cada córnea de 5 doadores ficasse em um meio de preservação. Após acompanhamento de 4,6 anos, todas as córneas permaneceram transparentes, porém a contagem endotelial dos tecidos preservados em Optisol era 37% menor em 22 meses 57% em 55 meses após o transplante quando comparado aos resultados de córneas preservadas no outro meio avaliado. Wilhelmus et al realizou um amplo estudo caso-

controle retrospectivo com 147 casos de falência primária e 7240 controles para identificar fatores de risco relacionados a morbidade, sendo evidenciado risco significativamente maior de falência primária em córneas preservadas por mais de uma semana.

Com esse dado pode-se inferir que, apesar da contagem endotelial dos dois grupos terem sido parecidas, esse procedimento é feito durante o processamento inicial do tecido e o número de células pode ter declinado com o tempo, principalmente no grupo em estudo.

A causa da morte tem sido aventada como importante fator para a qualidade do tecido. Apesar da causa do óbito apenas ilustrar parcialmente a condição de saúde do doador ela fornece informações sobre o status metabólico da córnea antes do falecimento do doador e de sua saúde em geral. Estudos sugerem que causas súbitas como traumas ou doenças cardiovasculares agudas, como infarto agudo do miocárdio, estão associadas a melhores tecidos do que córneas obtidas de pacientes que faleceram de complicações de doenças sistêmicas crônicas, tais como neoplasias^(21,27). No estudo de Redbrake C, foram avaliadas trinta córneas através de dosagens de adenosina trifosfato (ATP), adenosina difosfato (ADP), glicose, e lactato no endotélio. Percebeu-se que pacientes falecidos de mortes súbitas apresentam bom status metabólico mesmo após 24 horas do óbito. No entanto, os pacientes mortos por neoplasias ou sepse apresentaram piora das condições metabólicas teciduais. Entretanto, outro autor demonstrou que células endoteliais de doadores mortos por causa traumática tiveram maior chance de morte durante cultura tecidual quando comparado aos falecidos por morte não traumática⁽²⁶⁾. Esse achado pode ter sido devido ao fato de terem sido consideradas mortes traumáticas traumas envolvendo a cabeça, o que poderia levar a dano direto do tecido.

Nesses casos, a idade poderia se torna um fator de confusão já que pacientes mais jovens, e teoricamente com maior contagem de células endoteliais, tendem a morrer de causas externas. Além disso, com a idade há uma redução da velocidade dos processos metabólicos corneanos o que também poderia influenciar.

Krohn J. demonstrou em sua casuística de 946 córneas transplantadas que, além da idade avançada estar relacionada com menor contagem endotelial, ela também agravaria as alterações relacionadas a causa da morte, de forma que pacientes mais idosos seriam mais susceptíveis. Também confirmou a associação entre causas rápidas de morte e maior contagem endotelial⁽²⁷⁾.

Hirai et al realizou um estudo retrospectivo com 870 córneas no Banco de Olhos do Hospital São Paulo com intuito de determinar fatores relacionados a qualidade dos tecidos. Verificou-se resultados consistentes com o estudo atual, verificando melhores resultados em córneas de doadores de menor idade e causa de morte traumática⁽²⁸⁾.

Em nosso estudo, aqueles que tiveram morte por outras causas que não cardiovasculares ou externas tiveram uma chance maior de falência primária quando comparados aqueles por doenças cardiovasculares. O agrupamento de várias causas em um único grupo deveu-se a grande variedade de causa mortis nessa amostra o que impede uma análise mais detalhada sobre o assunto.

Estudos prévios também aventam a possibilidade da participação do vírus Herpes simples no desenvolvimento de falência primária em transplantes de córnea. O vírus foi isolado em botões com a morbidade através de PCR⁽¹⁰⁾. De Kesel et al demonstrou a presença do vírus Herpes simples em todos os 4 casos de falência primária avaliados através de PCR tecidual ou humor aquoso e cultura de swab conjuntival ou lente de contato terapêutica. Avaliação imunopatológica também foi positiva em 3 casos⁽²⁹⁾. Apesar da contaminação por fontes externas não poder ser

descartada, é possível que o vírus tenha participação no desfecho sendo necessários maiores estudos sobre o assunto.

Nosso estudo possui algumas limitações como a falta de algumas informações (por exemplo, contagem endotelial) e dependência de dados de prontuários por ser um estudo retrospectivo o que pode ter introduzido algum tipo de viés de informação. Entretanto, o Banco de Olhos do Hospital São Paulo e a Secretaria da Saúde do estado de São Paulo, devido às exigências vigentes na legislação do país, mantém todas as informações atualizadas. Dentre os pontos fortes de nosso estudo destacam-se a metodologia empregada com aplicabilidade prática e rápida como ferramenta de avaliação de qualidade de córneas em banco de olhos.

5 CONCLUSÃO

Concluí-se que o uso do estudo do tipo caso-controle foi útil em determinar fatores de risco independentes associados a falência primária de córneas transplantadas.

Vê-se que essa metodologia poderia ser usada como uma ferramenta de controle qualidade em banco de olhos no país.

A falência primária de enxertos corneanos parece ser multifatorial e reflete de modo direto a qualidade do tecido e de seu processamento. No presente estudo, fatores como sexo, contagem de células endoteliais, tempo entre a morte e a enucleação e tempo entre a enucleação e a preservação não estiveram associados a falência. No entanto, idade, tempo entre preservação e a cirurgia e causa da morte podem influenciar na qualidade do tecido, levando a maiores taxas de falência primária, podendo ser fatores a serem considerados na seleção de córneas em banco de olhos.

6. REFERÊNCIAS

1. Schlesselman JJ. Case-control studies - Design, conduct, analysis. New York: Oxford University Press, 1982.
2. Cornfield J. A method of estimating comparative rates from clinical data. Applications to cancer of the lung, breast and cervix. Journal of the National Cancer Institute 1951;11:1269-75
3. Ministério da Saúde. Transplantes realizados no ano 2014. [citado em 2015 Mar 23] Disponível em:
<http://portalsaude.saude.gov.br/images/pdf/2015/marco/23/transplantes-2014-u.pdf>
4. Scharf BH. Early postoperative complications. In: Krachmer JH, Mannis MJ, Holland EJ (editors). Cornea. St Louis: Mosby; 1997. p.1659-75
5. Mead MD, Hyman L, Grimson R, et al. Primary graft failure: a case control investigation of a purported cluster. Cornea 1994;13:310-6.
6. Wilhelmus KR, Stulting RD, Sugar J, et al. Primary corneal graft failure. A national reporting system. Comment On: Arch Ophthalmol 1995; 113:1497-502. Arch Ophthalmol 1995;113:1497-502.
7. Hirai, FE, Klatt S, Pacine K, et al. Falência primária pós-transplante de córnea em serviço universitário. Arq Bras Oftalmol, Dez 2002, vol.65, no.6, p.655-657.
8. Van Rensburg PD, Raber IM, Laibson PR, et al. Management of primary corneal graft failure. Cornea 1998;17:208-11
9. Moreira H, Souza LB, Sato EH, et al. Banco de Olhos, Transplante de Córnea/ editores Hamilto Moreira, [et al].: coordenador: Milton Ruiz Alves – 3.ed. – Rio de Janeiro: Culrua Médica: Guanabara Koogan, 2013.
10. Cockerham GC, Kraft AE, McLean IW. Herpes simplex virus in primary graft failure. Arch Ophthalmol 1997;115:586-9.

11. Probst LE, Halfaker BA, Holland EJ. Quality of corneal donor tissue in the greater-than-75-year age group. *Cornea*. 1997;16(5):507-11.
12. Beck RW, Gal RL, Mannis MJ, et al. Is donor age an important determinant of graft survival? *Cornea*. 1999;18(5): 503-10. Comment in: *Cornea*. 2000;19(3):412
13. Borderie VM, Scheer S, Touzeau O, et al. Donor organ cultured corneal tissue selection before penetrating keratoplasty. *Br J Ophthalmol*. 1998;82(4):382-8.
14. Laule A, Cable MK, Hoffman CE, et al. Endothelial cell population changes of human cornea during lofe. *Arch Ophthalmol*. 1978 Nov;96(11):2031-5
15. Bourne WM, Nelson LR, Hodge DO. Central Corneal endothelial cells changes over a ten-year period. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 1997 Mar;38(3):779-82
16. Murphy C, Alvarado J, Juster R, et al. Prenatal and postnatal cellularity of the human corneal endothelium. A quantitative histologic study. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 1984; 25:312-22.
17. Musch DC, Meyer RF, Sugar A, Predictive factor for endothelial cell loss after penetrating keratoplasty. *Arch Ophthalmol*. 1993;111:80-3
18. Cornea Donor Study Investigator Group, Lass JH, Gal RL, Dontchev M, et al. Donor age and corneal endothelial cell loss 5 years after successful corneal transplantation. Specular microscopy ancillary study results. *Ophthalmology*. 2008 Apr,115(4):627-632.
19. Cornea Donor Study Investigator Group, Gal RL, Dontchev M, Beck RW, et al. The effect of donor age on corneal transplantation outcome results of the cornea donor study. *Ophthalmology*. 2008 Apr,115(4):615-626.
20. Forster RK, Fine M. Relation of donor age to success in penetrating keratoplasty. *Arch Ophthalmol*. 1971;85:42-7.
21. Redbrake C, Becker J, Salla S, et al. The influence of the cause of death and age on human corneal metabolism. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 1994;35(9):3553-6. Comment in: *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 1995; 36(2):259.
22. Kaufman HE, Beuerman RW, Steinemann TL, et al. Optisol Corneal Storage Medium. *Arch Ophthalmol*. 1991 Jun;109(6)864-8

- 23 Means TL, Geroski DH, Hadley A, et al. Viability of human corneal endothelium following Optisol-GS storage. *Arch Ophthalmology*. 1995;113:805-809
24. Sibayan SAB, Garcia-Arenal MCP, Corpus KD, et al. Serial Endothelial Cell Count of Donor Corneal Buttons in Optisol-GS. *Procedia Chemistry* 14 (2015) 394 – 397
25. Chen CH, Rama P, Chen EH, et al. Efficacy of media enriched with nonlactate-generating substrate for maintaining donor tissues. *Transplantation*. 1994;57:1778-85.
26. Sobottka Ventura AC, Rodokanak-von Schrenk A, et al. Endothelial cell death in organ-cultured donor corneae: the influence of traumatic versus nontraumatic cause of death. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol*. 1997;235(4):230-3.
27. Krohn J, Hovding G. The influence of donor age and cause of death on corneal endothelial cell density. *Acta Ophthalmol Scand*. 2005;83(6):746-50.
28. Hirai FE, Ádan CBD, Sato EH. Fatores associados a qualidade da córnea doada pelo Banco de Olhos do Hospital São Paulo. *Arq, Bras. Oftalmol*. 2009, vol 72, n.1, pp.57-61.
29. De Kesel RJ, Koppen C, Ieven M, Zeyen T. Primary graft failure caused by herpes simplex vírus type 1. *Cornea*. 2001;20(2):187-90.
30. BRASIL. Resolução RDC nº 55, de 14 de dezembro de 2015. Dispõe sobre as boas práticas em tecidos humanos para uso terapêutico. Órgão emissor: ANVISA – Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Disponível em: <http://www.cvs.saude.sp.gov.br/zip/RDC%2055,%2011%2012%202015.pdf>. Acesso em 21 de dezembro de 2016

Anexos

Anexo 1 – Aprovação do Comitê de Ética em Pesquisa

UNIVERSIDADE FEDERAL DE
SÃO PAULO - UNIFESP/
HOSPITAL SÃO PAULO



PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

DADOS DO PROJETO DE PESQUISA

Título da Pesquisa: Fatores de risco associados à falência primária em amostra de transplantes de córnea na cidade de São Paulo

Pesquisador: Nathalia Mayumi Thomaz de Aquino

Área Temática:

Versão: 2

CAAE: 20512013.6.0000.5505

Instituição Proponente: Departamento de Oftalmologia

Patrocinador Principal: Financiamento Próprio

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 424.131

Data da Relatoria: 18/10/2013

Apresentação do Projeto:

Conforme parecer CEP. 385.652 de 13/9/2013

Objetivo da Pesquisa:

Conforme parecer CEP. 385.652 de 13/9/2013

Avaliação dos Riscos e Benefícios:

Conforme parecer CEP. 385.652 de 13/9/2013

Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:

Conforme parecer CEP. 385.652 de 13/9/2013

Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:

Respostas de pendências apontadas no parecer CEP. 385.652 de 13/9/2013

JUSTIFICATIVA PARA NÃO OBTENÇÃO DO TCLE: Será realizada apenas revisão de dados do Sistema Estadual de Transplantes de São Paulo, de forma a manter sigilo absoluto sobre qualquer informação que possa ser utilizada para identificação dos envolvidos. Ressalta-se que não haverá abordagem direta ou intervenção de nenhuma forma de forma que os indivíduos não serão afetados ou prejudicados. Além disso, não há seguimento dos pacientes envolvidos no banco de dados em questão, impossibilitando a obtenção de TCLE.

Endereço: Rua Botucatu, 572 1º Andar Conj. 14

Bairro: VILA CLEMENTINO

CEP: 04.023-061

UF: SP

Município: SAO PAULO

Telefone: (11)5539-7162

Fax: (11)5571-1062

E-mail: cepunifesp@unifesp.br

UNIVERSIDADE FEDERAL DE
SÃO PAULO - UNIFESP/
HOSPITAL SÃO PAULO



Continuação do Parecer: 424.131

Recomendações:

nã se aplica

Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:

pendencias apontadas no parecer CEP. 385.652 de 13/9/2013

1-Apresentar as autorizações dos responsáveis locais que participarão da pesquisa: Banco de Olhos do Hospital São Paulo (será o centro coordenador??), do Banco de Olhos do Hospital Municipal de Tatuapé e do Banco de Olhos da Santa Casa de São Paulo ou incluir na plataforma brasil como instituições coparticipantes para que após aprovação do CEP-Unifesp (centro coordenador??) possa se replicar aos seus respectivos CEPs participantes.

RESPOSTA; Foi apresentada a carta do responsável pelo Sistema Estadual de Transplantes-SET (Dr. Agenor Spallini Ferraz) e carta da Coordenação do Banco de Olhos da UNIFESP- Dra. Consuelo B D Adan.
PENDENCIA ATENDIDA

2- Apresentar a justificativa para não obtenção do TCLE, uma vez que o CEP só aceita não serem reconvidados se os pacientes não são mais acompanhados na instituição, ou por difícil contato ou morte).
RESPOSTA: a justificativa para a não obtenção do TCLE foi apresentada e aceita por este CEP.
PENDENCIA ATENDIDA

Situação do Parecer:

Aprovado

Necessita Apreciação da CONEP:

Não

Considerações Finais a critério do CEP:

Projeto Aprovado. Solicita-se apresentação de relatórios parciais (semestralmente) a partir da data de aprovação do projeto e relatório final ao término do estudo.

Endereço: Rua Botucatu, 572 1º Andar Conj. 14
Bairro: VILA CLEMENTINO **CEP:** 04.023-061
UF: SP **Município:** SAO PAULO
Telefone: (11)5539-7162 **Fax:** (11)5571-1062 **E-mail:** cepunifesp@unifesp.br

UNIVERSIDADE FEDERAL DE
SÃO PAULO - UNIFESP/
HOSPITAL SÃO PAULO



Continuação do Parecer: 424.131

SÃO PAULO, 14 de Outubro de 2013

Assinador por:
José Osmar Medina Pestana
(Coordenador)

Endereço: Rua Botucatu, 572 1º Andar Conj. 14
Bairro: VILA CLEMENTINO **CEP:** 04.029-061
UF: SP **Município:** SÃO PAULO
Telefone: (11)5539-7162 **Fax:** (11)5571-1062 **E-mail:** cspunifesp@unifesp.br

Página 02 de 02