

Avaliação de córneas doadoras em lâmpada de fenda e microscopia especular durante o período de armazenamento

Evaluation of corneal tissue by slit lamp and specular microscopy during the preservation period

Roberta Jansen de Mello Farias¹
Karen Miyuki Kubokawa²
Maurício Schirmer³
Luciene Barbosa de Sousa⁴

RESUMO

Objetivo: Analisar as mudanças de notas de avaliação por meio da biomicroscopia e microscopia eletrônica de córneas doadas, e desta forma assegurar córnea doadora de padrão satisfatório ao paciente. **Métodos:** Foram avaliadas prospectivamente 203 córneas entre setembro de 2002 e fevereiro de 2003, doadas ao Banco de Olhos de Sorocaba. A avaliação constava de graduação de 0 a 3 que variava mediante os seguintes fatores: exposição e defeito epitelial, opacidade e infiltrado estromal, dobras ou estrias de Descemet, pleomorfismo, polimegatismo e guttata, “endothelial snail track”, edema, refletividade. Os dados encontrados foram correlacionados com o intervalo entre óbito e preservação, contagem de células endoteliais e idade dos doadores. **Resultados:** Duzentos e três córneas foram avaliadas. A idade média dos doadores foi de 55 anos (dp=14,8 anos). O tempo médio do óbito à preservação foi de 9,1 h (mínimo de 2 horas e máximo de 25 horas). Oitenta e seis córneas sofreram pioras de avaliação, sendo que 66,3% delas tinham até 2.500 células endoteliais e 59,3% delas tinham tempo superior a 6 horas entre o óbito e a preservação. O dia da mudança teve por mediana 5. **Conclusões:** Córneas de doadores mais jovens possuem significativamente avaliações melhores que doadores mais velhos. O tempo médio de mudança de avaliação foi com 5 dias em 50% das córneas, entretanto, expressiva parcela de córneas apresentou alteração nos dias 6^o, 7^o e 8^o. Córneas preservadas após 6 horas do óbito têm maior tendência à perda de células e redução dos índices de avaliação.

Descritores: Transplante de córnea; Sobrevivência de enxerto; Fatores de risco; Doadores de tecidos; Microscopia/métodos; Técnicas de diagnóstico oftalmológico/instrumentação

Trabalho realizado no Banco de Olhos de Sorocaba.

¹ Médica oftalmologista, pós-graduanda nível doutorado da Universidade Federal de São Paulo - UNIFESP - São Paulo (SP) - Brasil.

² Médica oftalmologista e preceptora do Setor de Catarata Congênita do Banco de Olhos de Sorocaba - Sorocaba (SP) - Brasil.

³ Fellow do setor de retina do Banco de Olhos de Sorocaba - Sorocaba (SP) - Brasil.

⁴ Chefe da Residência Médica do Banco de Olhos de Sorocaba - Sorocaba (SP) - Brasil e Médica Assistente do Setor de Córnea da UNIFESP - São Paulo (SP) - Brasil.

Endereço para correspondência: Rua Mairinque, 261 - Apto. 152 - São Paulo (SP) CEP 04037-020
E-mail: robertafarias@bol.com.br

Recebido para publicação em 12.10.2005
Última versão recebida em 08.05.2006
Aprovação em 09.07.2006

INTRODUÇÃO

A responsabilidade de assegurar uma córnea doadora de padrão satisfatório sempre coube ao cirurgião. Com o desenvolvimento dos bancos de olhos e o aumento no número de córneas armazenadas por períodos mais longos, a avaliação da córnea tornou-se procedimento mandatório dos bancos de olhos⁽¹⁾. Atualmente um grande enfoque é dado para a preservação e avaliação de córneas doadoras para que haja controle na qualidade do tecido⁽²⁾.

O banco de olhos tem a função de captar, avaliar, preservar e distribuir córneas e tecido ocular⁽²⁾.

O tempo prolongado de armazenamento da córnea doadora foi referido em muitos trabalhos como importante fator de risco para falência primária⁽²⁻⁴⁾.

O objetivo deste trabalho é avaliar por meio de biomicroscopia e micros-

cópia eletrônica, possíveis mudanças na classificação das córneas doadoras preservadas, com o intuito de assegurar córneas de qualidade.

MÉTODOS

Durante o período de setembro de 2002 a fevereiro de 2003 foram avaliadas prospectivamente 203 córneas doadas ao Banco de Olhos de Sorocaba. As córneas foram submetidas à avaliação na lâmpada de fenda modelo Topcon 7E após a preservação em meio de Optisol GS e classificadas diariamente durante o período de armazenamento. A contagem de células foi realizada no globo, antes da preservação em Optisol GS, através do microscópio especular modelo Iconan Eye Bank Kerato Analyzer.

A avaliação de córneas foi feita por residentes do terceiro ano e estagiários da córnea do Hospital Oftalmológico de Sorocaba.

Os fatores analisados foram: exposição e defeito epitelial, opacidade e infiltrado estromal, dobras ou estrias de Desemet, pleomorfismo, polimegatismo e guttata, "snail treck endothelial", edema e refletividade. A contagem de células por microscopia especular foi feita no globo antes da preservação e classificada como <2.000 cel/mm², entre 2.000 - 2.500 cel/mm², 2.500 - 3.000 cel/mm² e >3.000 cel/mm². Posteriormente foi dada uma classificação geral, variando de 0 a 3. A classificação utilizada foi baseada nos fatores acima relatados em: excelente (0), bom (1), razoável (2) e ruim (3). Excelente ocorre quando não há alterações detectadas ou as mesmas são mínimas, bom quando as alterações não ultrapassam 1/3 do botão, razoável quando as alterações ultrapassam 1/3 e ocorrem em até metade do botão e ruim, quando mais da metade da córnea apresenta alterações. As córneas foram avaliadas e classificadas diariamente, sendo que as classificadas como ruim (3) foram excluídas do trabalho.

Foi verificada a associação das córneas avaliadas com a idade do doador, tempo do óbito à preservação (TOP), causa do óbito e número de células endoteliais no 1º dia de avaliação. As córneas que tiveram alguma piora de avaliação durante o período de armazenamento também foram correlacionadas com os fatores acima descritos.

Para análise dos dados foi usado o programa SPSS for Windows versão 10.0.1 e os testes utilizados foram teste do Qui-quadrado ou teste Exato de Fisher para a análise de associação entre piora na graduação e os parâmetros de interesse e prova de Mann-Whitney ou prova de Kruskal-Wallis para comparar a distribuição das graduações das córneas divididas segundo os parâmetros de interesse.

RESULTADOS

A média de tempo de armazenamento foi de 8,28 dias (dp= 2,28 dias) com mediana de 9 dias, variando entre 2 e 13 dias.

A amostra foi composta por 203 córneas de 103 doadores, 40 (38,8%) mulheres e 63 (61,2%) homens, com média de idade de

55 anos (dp= 14,8 anos), variando entre 6 e 80 anos. A distribuição dos doadores quanto à idade foi: apenas 1 (1,0%) com idade até 12 anos, 3 (2,9%) com idade entre 12 e 21 anos, 57 (55,3%) entre 22 e 60 anos e 42 (40,8%) com idade acima de 60 anos.

A média do tempo de óbito à preservação foi de 9,1 h (dp= 4,7 h) e na amostra de doadores variou entre 2 e 25 h. A distribuição dos doadores quanto ao tempo de óbito à preservação foi: 28 (27,2%) com tempo abaixo de 6 h, 47 (45,6%) com tempo entre 6 e 12 h e 28 (27,2%) acima de 12 h.

As causas de óbito dos doadores foram: 8 (7,8%) por acidente, 27 (26,2%) de alterações cardíacas, 6 (5,8%) de alterações do aparelho digestivo, 6 (5,8%) de alterações hepáticas, 4 (3,9%) de infecção, 15 (14,6%) de doenças neoplásicas, 9 (8,7%) de alterações renais, 8 (7,8%) de alterações do aparelho respiratório, 18 (17,5%) de alterações do aparelho vascular e 2 (1,9%) de causas indeterminadas.

Quanto ao número de células endoteliais, a média foi de 2.402 células (dp=343), variando entre 1.795 e 4.145 células/mm². A distribuição quanto ao número de células foi: 14 (6,9%) córneas com até 2.000 células/mm², 120 (59,1%) entre 2.001 e 2.500 células/mm² e 60 (29,5%) entre 2.501 e 3.000 células/mm² e 9 (4,4%) córneas com mais de 3.000 células/mm².

Na avaliação das córneas no D1 (1º dia), 90 (44,3%) foram consideradas grau 0, 102 (50,2%) de grau 1 e 11 (5,4%) de grau 2.

Foi avaliada a associação entre as características das córneas e o resultado da avaliação no D1 e os resultados se encontram descritos nas tabelas de 1 a 6.

A tabela 1 representa a avaliação da associação entre a idade dos doadores e a graduação das córneas. Nenhum teste estatístico pode ser aplicado devido ao pequeno número de córneas das faixas de idade ≤ 12 anos e entre 13 e 21 anos.

Reagrupando-se as menores faixas de idade e reanalisando, foi encontrada diferença estatisticamente significativa entre os grupos etários em relação à distribuição da graduação das córneas ($p=0,025$), onde o grupo de córneas de doadores com idade até 60 anos apresentaram graduações significativamente mais baixas do que o grupo de córneas de doadores com idade acima de 60 anos no 1º dia de avaliação - D1 (Tabela 2).

Como mostra a tabela 3 não foi encontrada diferença estatisticamente significativa entre os grupos de córneas divididos segundo o tempo entre óbito e preservação em relação à distribuição da graduação das córneas no D1 ($p=0,316$).

A tabela 4 representa a avaliação da associação entre a causa de óbito e a graduação das córneas no D1. Nenhum teste estatístico pode ser aplicado devido ao pequeno número de córneas em algumas causas.

Tabela 1. Avaliação entre graduação da córnea e idade dos doadores

Graduação da córnea	Idade do doador (anos)			
	≤ 12	13 - 21	22 - 60	> 60
0	2 (100,0)	2 (33,3)	59 (52,2)	27 (32,9)
1		4 (66,7)	46 (40,7)	52 (63,4)
2			8 (7,1)	3 (3,7)
Total	2 (100,0)	6 (100,0)	113 (100,0)	82 (100,0)

Tabela 2. Avaliação entre graduação da córnea e idade dos doadores

Graduação da córnea	Idade do doador (anos)	
	≤ 60	> 60
0	63 (52,1)	27 (32,9)
1	50 (41,3)	52 (63,4)
2	8 (6,6)	3 (3,7)
Total	121 (100,0)	82 (100,0)

Prova de Mann-Whitney: p=0,025*

Tabela 3. Associação entre graduação da córnea e tempo de óbito à preservação

Graduação da córnea	Tempo entre óbito e preservação (horas)		
	< 6	6 – 12	> 12
0	29 (52,7)	39 (41,9)	22 (40,0)
1	24 (43,6)	48 (51,6)	30 (54,5)
2	2 (3,6)	6 (6,5)	3 (5,5)
Total	55 (100,0)	93 (100,0)	55 (100,0)

Prova de Kruskal-Wallis: p=0,316

Reagrupando-se as causas de óbito diferentes de acidente em um único grupo e reanalisando-as, não foi encontrada diferença estatisticamente significativa entre os grupos de córneas de doadores com óbito por acidente ou por outras causas em relação à distribuição da graduação das córneas (p=0,841). Utilizando a técnica de análise de sobrevivência conseguimos mostrar que as córneas de pacientes com óbito por infecção, tipo pneumonia (sepsis não entra para avaliação) pioram mais precocemente do que as vindas de pacientes com óbito por outras causas.

A tabela 5 representa a avaliação da associação entre o número de células endoteliais e a graduação das córneas. Nenhum teste estatístico pode ser aplicado devido ao pequeno número de córneas das faixas de células ≤2.000 e >3.000.

Reagrupando-se as faixas de número de células e reanalisando, não foi encontrada diferença estatisticamente significativa entre os grupos de células divididos segundo o número de células endoteliais em relação à distribuição da graduação das córneas (p=0,222) (Tabela 6).

Comparando-se a graduação das córneas no decorrer das avaliações, 102 (50,2%) córneas não apresentaram alteração na graduação, sendo 24 (11,8%) de grau 0, 73 (36,0%) de grau 1 e 5 (2,5%) de grau 2.

Foi encontrada piora na graduação em 86 (43,4%) córneas, sendo 10 (4,9%) no D2, 6 (3,0%) no D3, 7 (3,4%) no D4, 13 (6,4%) no D5, 18 (8,9%) no D6, 15 (7,4%) no D7, 11 (5,4%) no D8, 3 (1,5%) no D9, 2 (1,0%) no D10 e 1 (0,5%) no D11. Destas 86 córneas que pioraram a avaliação, 66,3% delas tinham até 2.500 células endoteliais e 59,3% delas tinham tempo superior a 6 horas entre o óbito e a preservação.

Um total de 18 (7,4%) córneas apresentou melhora na graduação, sendo 1 (0,5%) no D2, 3 (1,5%) no D3, 4 (2,0%) no D4, 7 (3,4%) no D5, 2 (1,0%) no D6 e 1 (0,5%) no D8. Dessas 18, 6 passaram de 2 para 1 e 12 passaram de 1 para 0.

A média do tempo das mudanças nas 104 córneas foi de 5,46 dias (dp=2,07 dias) e mediana de 5 dias. Vale destacar que apesar de 50% das córneas que apresentaram alteração o fizeram com até 5 dias de avaliação, uma expressiva parcela de córneas apresentou alteração nos dias 6 (17,8%), 7 (14,9%) e 8 (11,9%). A partir daí diminui a ocorrência de alterações entretanto diminuiu também o número de córneas em armazenamento.

Considerando a amostra de 194 córneas avaliadas até o D5, 159 (82,0%) não apresentaram alteração na graduação e 35 (18,0%) apresentaram piora na graduação até a avaliação no D5.

Não foi encontrada associação estatisticamente significativa entre os parâmetros de interesse: idade do doador, tempo entre óbito e preservação, causa de óbito e número de células endoteliais e a piora na avaliação da graduação até o D5 (p > 0,05 em todas as avaliações).

Considerando a amostra de 125 córneas avaliadas até o D8, 68 (54,4%) não apresentaram alteração na graduação e 57 (45,6%) apresentaram piora na graduação até a avaliação no D8.

Não foi encontrada associação estatisticamente significativa entre os parâmetros de interesse: idade do doador, tempo entre óbito e preservação, causa de óbito e número de células endoteliais e a piora na avaliação da graduação até o D8 (p > 0,05 em todas as avaliações).

Tabela 4. Associação entre graduação da córnea e causa de óbito

Graduação da córnea	Causa de óbito									
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
0	7 (43,8)	25 (48,1)	4 (33,3)	8 (66,7)	4 (50,0)	13 (44,8)	4 (22,2)	8 (50,0)	15 (41,7)	2 (50,0)
1	9 (56,3)	26 (50,0)	6 (50,0)	4 (33,3)	2 (25,0)	14 (48,3)	14 (77,8)	6 (37,5)	19 (52,8)	2 (50,0)
2		1 (1,9)	2 (16,7)		2 (25,0)	2 (6,9)		2 (12,5)	2 (5,6)	
Total	16 (100,0)	52 (100,0)	12 (100,0)	12 (100,0)	8 (100,0)	29 (100,0)	18 (100,0)	16 (100,0)	36 (100,0)	4 (100,0)

Legenda: 1= Acidente; 2= Alterações cardíacas; 3= Alterações do aparelho digestivo; 4= Alterações hepáticas; 5= Infecção; 6= Doenças neoplásicas; 7= Alterações renais; 8= Alterações do aparelho respiratório; 9= Alterações do aparelho vascular; 10= Causas indeterminadas

Tabela 5. Associação entre graduação da córnea e número de células endoteliais

Graduação da córnea	Número de células endoteliais (cel/mm ²)			
	≤ 2.000	2.001 – 2.500	2.501 – 3.000	> 3.000
0	5 (35,7)	53 (44,2)	30 (50,0)	2 (22,2)
1	6 (42,9)	62 (51,7)	27 (45,0)	7 (77,8)
2	3 (21,4)	5 (4,2)	3 (5,0)	
Total	14 (100,0)	120 (100,0)	60 (100,0)	9 (100,0)

Tabela 6. Graduação da córnea X número de células endoteliais

Graduação da córnea	Número de células endoteliais (cel/mm ²)	
	≤ 2.500	> 2.500
0	58 (43,3)	32 (46,4)
1	68 (50,7)	34 (49,3)
2	8 (6,0)	3 (4,3)
Total	134 (100,0)	69 (100,0)

Prova de Mann-Whitney: p=0,222

DISCUSSÃO

As técnicas de avaliação e classificação de córneas doadoras em lâmpada de fenda e pela microscopia especular utilizadas neste trabalho seguem as normas do EBAA (Eye bank Association of América) e os padrões utilizados em outros estudos^(1,5).

Dos doadores 61,2% eram homens, semelhante aos 59% de doadores do sexo masculino e a razão de 2,03:1 encontrada em outras pesquisas⁽⁶⁻⁷⁾.

A idade média dos doadores foi de 55 anos (dp=14,8 anos), semelhante aos 52 e 55 anos encontrados em outros trabalhos⁽⁶⁻⁷⁾.

O grupo de córneas de doadores com idade até 60 anos apresentaram graduações significativamente mais baixas, ou seja, melhores avaliações, do que o grupo de córneas de doadores com idade acima de 60 anos (p=0,025). Este dado está de acordo com outras referências na literatura^(5,7).

No Banco de Olhos de Sorocaba adota-se uma avaliação diária das córneas até a data da cirurgia. O maior número de mudanças foi encontrado no 5º dia. Observa-se ainda uma redução no tempo de sobrevivência com o aumento do tempo de armazenamento.

Das 86 córneas que pioraram, 30 (66,3%) apresentavam menos que 2.500 células/mm² na primeira avaliação. Wilhelmus⁽²⁾ em seu trabalho sobre falência primária observou que as 60 córneas do seu estudo que apresentaram falência primária possuíam uma densidade endotelial média de 2.685 cel/mm² (2.000 - 3.700 cel/mm²).

Levando-se em consideração que as córneas transplantadas sofrerão uma redução na contagem de células >50% ao final de 5 anos do transplante⁽⁸⁾, são consideradas de melhor prognóstico córneas que à microscopia especular apresentem mais que 2.500 cel/mm².

O intervalo de tempo entre óbito e preservação (Δt OP) recomendável é de 6 horas. Em nosso estudo encontramos

valores de 9,1 h (dp=4,7 h) com mínimo de 2 horas e máximo de 25 horas. Georgiadis et al.⁽⁶⁾ obteve um intervalo de tempo variando de 15 minutos a 12 horas (média de 4 horas) enquanto Sit et al.⁽⁷⁾ de 6 horas.

Apesar das melhores avaliações terem sido encontradas em córneas com tempo de óbito à preservação <6 horas, este dado não influenciou as córneas durante o período de preservação.

Em resumo, relatamos a avaliação diária de 203 córneas que foram para transplante entre setembro de 2002 e fevereiro de 2003 e observamos que córneas de doadores mais jovens, com contagem de células >2.500 cel/mm² e cuja causa de óbito não fosse infecção teriam melhor avaliação no D1. As córneas têm uma maior chance de alteração a partir do 5º dia de preservação. Entretanto, tais achados devem ser comparados com o resultado final dos transplantes realizados com estas córneas ao final de 5 anos de estudo.

ABSTRACT

Purpose: To analyze changes evaluation of corneal grafts by slit lamp and electron microscopy examination in order to ensure a donor cornea of good quality level for the patient.

Methods: 203 corneas donated to the Sorocaba Eye Bank between September 2002 and February 2003 were prospectively evaluated. The evaluation was graded from 0 to 3 according to the following factors: exposure and epithelial damage, stromal opacity, Descemet folds, pleomorphism, polymegatism and guttata, endothelial snail track, edema, reflectivity. The data were correlated with time between death and preservation, endothelial cell count and donor's age. **Results:** 203 corneas were evaluated. The mean age of donors was 55 years (dp= 14.8 years). The mean time between death and preservation was 9.1 h (minimum of 2 h and maximum of 25 h). Eighty-six corneas suffered worsening of evaluation, whereby 66.3% had less than 2,500 endothelial cell count and 59.3% presented time between death and preservation over 6 hours. The mean day of the grading change was the 5th. **Conclusions:** Corneal grafts from younger donors had significantly better evaluation than those of older donors. The mean time of the evaluation change was on the 5th day in 50% of the corneas, however, an expressive number of corneas suffered changes on the 6th, 7th and 8th day. Corneal graft preserved after 6 hours of death had a greater tendency to lower cell count and to decrease in evaluation grades.

Keywords: Corneal transplantation; Graft survival; Risk factors; Tissue donors; Microscopy/methods; Diagnostic techniques, ophthalmological/instrumentation

REFERÊNCIAS

1. Eye Bank Association of America. Medical Standards. Washington, DC: Eye Bank Association of America, 1993.

2. Wilhelmus KR, Stulting RD, Sugar J, Khan MM. Primary corneal graft failure. A national reporting system. Medical Advisory Board of the Eye Bank Association of America. Arch Ophthalmol. 1995;113(12):1497-502.
3. Buxton JN, Seedor JA, Perry HD, Eagle RC, Pecego JA. Donor failure after corneal transplantation surgery. Cornea. 1998;7(2):89-95.
4. Van Rensburg PD, Raber IM, Laibson PR, Eagle RC Jr. Management of primary corneal graft failure. Cornea. 1998;17(2):208-11.
5. Gain P, Rizzi P, Thuret G, Chiquet C, Michel-Valanconny C, Pugniet JL, et al. Prélèvements de cornées après 85 ans: issue des greffons après organo-culture et devenir des greffés. J Fr Ophtalmol. 2002;25(3):274-89.
6. Georgiadis N, Kardasopoulos A, Bufidis T. The evaluation of corneal graft tissue by the use of trypan blue. Ophthalmologica. 1999;213(1):8-11.
7. Sit M, Weisbrod DJ, Naor J, Slomovic AR. Corneal graft outcome study. Cornea. 2001;20(2):129-33.
8. Bourne WM, Hodge DO, Nelson LR. Corneal endothelium five years after transplantation. Am J Ophthalmol. 1994;118(2):185-96.

VII Congresso da Sociedade Caipira de Oftalmologia*

15 e 16 de Junho de 2007
**Quality Resort &
Convention Center Itupeva**

ITUPEVA – SP

*Participação neste evento conta 8 pontos para a revalidação
do título de especialista em oftalmologia

INFORMAÇÕES

Tel.: (17) 3225-7017

www.cenacon.com.br ou

www.sociedadecalpira.com.br