

UNIVERSIDADE FEDERAL DE ALAGOAS  
INSTITUTO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS E DA SAÚDE  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS DA SAÚDE

MARINA VIEGAS MOURA REZENDE RIBEIRO

**EFICÁCIA DO COLÍRIO DE CONCENTRADO DE PLAQUETAS EM OLHO SECO  
DE PACIENTES DIABÉTICOS**

Maceió - AL

2016

MARINA VIEGAS MOURA REZENDE RIBEIRO

**EFICÁCIA DO COLÍRIO DE CONCENTRADO DE PLAQUETAS EM OLHO SECO  
DE PACIENTES DIABÉTICOS**

Dissertação de Mestrado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde, da Universidade Federal de Alagoas (Maceió/AL), como requisito parcial para obtenção do grau de Mestre em Ciências da Saúde.

Orientadora: Prof.<sup>a</sup>. Dra. Êurica Adélia Nogueira Ribeiro

Coorientador: Prof. Dr. João Marcelo de Almeida Gusmão Lyra

Maceió - AL

2016

**Catálogo na fonte**  
**Universidade Federal de Alagoas**  
**Biblioteca Central**  
**Divisão de Tratamento Técnico**

Bibliotecário Responsável: Valter dos Santos Andrade

R484e Ribeiro, Marina Viegas Moura Rezende.  
Eficácia do colírio de concentrado de plaquetas em olho seco de pacientes diabéticos / Marina Viegas Moura Rezende Ribeiro. – 2016.  
106 f. : il.

Orientadora: Êurica Adélia Nogueira Ribeiro.  
Coorientador: João Marcelo de Almeida Gusmão Lyra.  
Dissertação (Mestrado em Ciências da Saúde) – Universidade Federal de Alagoas. Instituto de Ciências Biológicas e da Saúde. Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde. Maceió, 2016.

Bibliografia: f. 85-96.

Apêndices: f. 97-103.

Anexos: f. 104-106.

1. Olho seco - Tratamento. 2. Concentrado de plaquetas. 3. Diabetes.  
I. Título.

CDU: 617.7

## Folha de Aprovação

Marina Viegas Moura Rezende Ribeiro

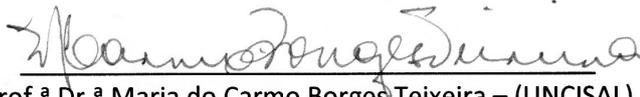
Eficácia do colírio de concentrado de plaquetas em olho seco de pacientes diabéticos

Dissertação submetida ao corpo docente do Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde da Universidade Federal de Alagoas e aprovada em 24 de fevereiro de 2016.



Prof.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup> Eurica Adélia Nogueira Ribeiro (Orientador)

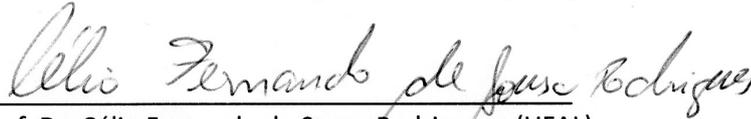
### Banca Examinadora



Prof.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup> Maria do Carmo Borges Teixeira – (UNCISAL)



Prof.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup> Eurica Adélia Nogueira Ribeiro – (UFAL)



Prof. Dr. Célio Fernando de Sousa Rodrigues - (UFAL)

A Deus por ter me iluminado para superar os obstáculos;

À Prof.<sup>a</sup> Dra. Êurica Adélia Nogueira Ribeiro pela confiança, orientação e compreensão;

Ao Prof. Dr. Fabiano Timbó Barbosa pela dedicação constante, pela atenção e colaboração;

Ao Prof. Dr. João Marcelo de Almeida Gusmão Lyra pelo apoio;

À Prof.<sup>a</sup> Dra. Celina Maria Costa Lacet pelo suporte e incentivo na elaboração deste trabalho;

A Prof.<sup>a</sup> e Mestre Patrícia Costa Pinto que me permitiu subsídios para executar minha pesquisa, assim como à Prof.<sup>a</sup> e diretora do Hemocentro de Alagoas (HEMOAL) Verônica Lima e toda a sua equipe;

Ao Dr. Tadeu Cvintal, do Instituto de Oftalmologia Tadeu Cvintal, em São Paulo, pelos conhecimentos oftalmológicos, os quais devo a ele;

Ao Dr. Nelson Tatsui, hematologista e diretor da Criogênese, São Paulo, que me orientou pela primeira vez na elaboração do concentrado de plaquetas;

Ao oftalmologista e mestre Daniel Fridman, que me cedeu material didático e me permitiu acesso à sua dissertação;

Aos corpos docente e discente do Programa de Pós-Graduação de Ciências da Saúde que me proporcionaram um ambiente ideal para meus estudos;

Aos meus pais Antônio Luiz e Marluce pelo carinho e por suprir a minha ausência aos filhos em momentos importantes; à minha sogra Maria Cecília por ter me ajudado a dar andamento em meu lar neste período, aos meus filhos Maria Eduarda e Luiz Antônio por serem o sentido de minha vida, e ao meu esposo Luiz Eduardo por todo apoio na revisão e redação de minha dissertação;

E a todos que contribuíram direta e indiretamente para esta etapa da minha vida, muito obrigada.

## RESUMO

O olho seco diabético tem uma prevalência muito variável e sua fisiopatologia envolve a hiperglicemia causando lesões metabólicas, neuropáticas e vasculares. O tratamento convencional com lubrificantes muitas vezes não é suficiente em casos moderados a severos o que pode levar a complicações como ceratopatias, opacidades corneais, perfurações oculares e perda de acuidade visual. O colírio de concentrado de plaquetas (CCP) já vem sendo utilizado em doenças da superfície ocular devido ao seu papel na reepitelização e à presença de fatores de crescimento e vitaminas que se assemelham à lágrima humana. Existem poucos estudos que relatam o seu uso em olho seco, e nenhum em olho seco diabético. O objetivo principal desta pesquisa foi avaliar a eficácia do CCP no olho seco diabético sintomático. Com tal intuito, foi realizado um ensaio clínico de série temporal, no qual 12 pacientes diabéticos refratários ao tratamento convencional utilizaram o CCP por um mês. As variáveis analisadas antes e depois do tratamento foram os sintomas de olho seco, os sinais clínicos da doença, a acuidade visual e os testes objetivos de Schirmer e o tempo de ruptura do filme lacrimal (TRFL), seguindo os critérios de gravidade do DEWS (*Dry Eye Workshop*), e o OSDI (*Ocular Surface Disease Index*). Os pacientes melhoraram nos seguintes aspectos: sintomas de olho seco ( $p=0,002$ ), 41,66% na acuidade visual ( $p=0,14$ ), 66,67% no teste de Schirmer ( $p=0,04$ ), 58,33% no TRFL ( $p=0,01$ ), e 100% no score do OSDI, com  $56,13 \pm 20,94$  antes do tratamento, que correspondia a olho seco severo, e  $13,15 \pm 11,40$  após, levando à ausência dos sintomas. Podemos então concluir que o CCP é uma terapia alternativa eficaz no olho seco diabético. Porém, mais ensaios clínicos são necessários para criar protocolos específicos e avaliar a eficácia deste tratamento.

**Palavras-chave:** Olho seco. Diabetes. Concentrado de plaquetas.

## ABSTRACT

The diabetic dry eye has a variable prevalence and pathophysiology involves hyperglycemia causing metabolic, vascular, and neuropathic injury. The conventional treatment with lubricants is often not sufficient in moderate to severe cases, which can lead to complications such as keratopathies, corneal opacities, ocular perforations and visual loss. Platelet-rich plasma eye drops (PRP) has already been used in ocular surface diseases due to their role in epithelialization and the presence of growth factors and vitamins that are similar to human tears. There are few studies using PRP in dry eye and none in diabetic dry eye. The main objective of this research is to evaluate if the efficacy of PRP in symptomatic diabetic dry eye. For this purpose, a clinical trial of temporal series was conducted, in which 12 diabetic patients unresponsive to conventional treatment, used the PRP for a month. The outcomes before and after treatment were dry eye symptoms, clinical signs of disease, visual acuity, Schirmer objective test and tear film breakup time (TFBUT), following the criteria of gravity DEWS (Dry Eye Workshop) and OSDI (Ocular Surface Disease Index). All patients had improvement in the following aspects: symptoms of dry eye ( $p=0.002$ ), 41.66% in visual acuity ( $p=0.14$ ), 66.67% in Schirmer test ( $p=0.04$ ), 58.33% in TFBUT ( $p=0.01$ ), and 100% improved in the OSDI score, which means was  $56.13 \pm 20.94$  before the treatment, classified in severe dry eye, and  $13.15 \pm 11.40$  after treatment, without dry eye symptoms. We can then conclude that the PRP is an alternative therapy that has proven effective in symptomatic diabetic dry eye. However, more clinical trials are needed to create specific protocols and evaluate the efficacy of treatment.

**Key Words:** Dry eye. Diabetes. Platelet-rich plasma.

## LISTA DE ILUSTRAÇÕES

<b>Figura 1-</b> Classificação do olho seco (DEWS).....	<b>28</b>
<b>Quadro 1-</b> Esquema de gradação de severidade (DEWS, modificado do Painel Delphi).....	<b>33</b>
<b>Figura 2-</b> Fluxograma de seleção dos pacientes.....	<b>53</b>

## LISTA DE TABELAS

<b>Tabela 1-</b> Comorbidades e uso de medicações dos 12 pacientes tratados .....	<b>54</b>
<b>Tabela 2-</b> Patologias, medicações e antecedentes oculares .....	<b>55</b>
<b>Tabela 3-</b> Gradação de severidade dos sintomas de olho seco .....	<b>57</b>
<b>Tabela 4-</b> Gradação de severidade dos sinais clínicos de olho seco .....	<b>59</b>
<b>Tabela 5-</b> Gradação de severidade dos testes objetivos .....	<b>60</b>
<b>Tabela 6-</b> Classificação final da severidade do olho seco.....	<b>62</b>

## LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

<b>AAS</b>	Ácido acetilsalicílico
<b>ADA</b>	Associação Americana de Diabetes, do inglês, <i>American Diabetes Association</i>
<b>ARA</b>	Antagonista do receptor de angiotensina
<b>ATP</b>	Adenosina Trifosfato
<b>BUT</b>	Tempo de ruptura, do inglês, <i>Break Up Time</i>
<b>CCP</b>	Colírio de concentrado de plaquetas
<b>CEP</b>	Comitê de Ética e Pesquisa
<b>CONEP</b>	Comitê Nacional de Ética e Pesquisa
<b>CP</b>	Concentrado de plaquetas
<b>DEWS</b>	Grupo de estudo de Olho Seco, do inglês, <i>Dry eye workshop</i>
<b>DEQ</b>	Questionário do Olho Seco, do inglês, <i>Dry Eye Questionnaire</i>
<b>DM</b>	Diabetes mellitus
<b>DNA</b>	Ácido desoxirribonucleico, do inglês, <i>deoxyribonucleic acid</i>
<b>DP</b>	Desvio Padrão
<b>DP</b>	Dioptrias
<b>EGF</b>	Fator de crescimento epitelial, do inglês, <i>Epithelial growth factor</i>
<b>FDA</b>	Administração de Alimentos e Medicamentos, do inglês, <i>Food and Drug Administration</i>
<b>HAS</b>	Hipertensão arterial sistêmica
<b>HEMOAL</b>	Hemocentro de Alagoas
<b>HEMOPROV</b>	Meios para hemocultura.
<b>HGF</b>	Fator de crescimento do hepatócito, do inglês, <i>Hepatocyte growth factor</i>
<b>HIV</b>	Vírus da Imunodeficiência Adquirida, do inglês, <i>Human Immunodeficiency Virus</i>
<b>IECA</b>	Inibidor da enzima conversora de angiotensinogênio
<b>IgA</b>	Imunoglobulina A

<b>IGF-1</b>	Fator de crescimento semelhante à insulina-1, do inglês, <i>Insulin-like growth factor</i>
<b>IgG</b>	Imunoglobulina G
<b>IRMA</b>	Alterações microvasculares intrarretinianas, do inglês, <i>Intraretinian microvascular alterations</i>
<b>LTDA</b>	Limitada
<b>MAP quinase</b>	Proteíno-quinases ativadas por mitógenos, do inglês, <i>Mitogen Activated Protein Kinases</i>
<b>MCS</b>	Sistema de coleção móvel, do inglês, <i>Mobile Collection System</i>
<b>MMP-9</b>	Metaloproteinase da matriz 9, do inglês, <i>Matrix metalloproteinase 9</i>
<b>NF-kB</b>	Fator nuclear kappa B, do inglês, <i>Nuclear Factor Kappa B</i>
<b>NGF</b>	Fator de crescimento neural, do inglês, <i>Neural growth factor</i>
<b>OMS</b>	Organização Mundial de Saúde
<b>TGF-β</b>	Fator de transformação do crescimento beta, do inglês, <i>Transforming growth factor beta</i>
<b>TNF</b>	Fator de Necrose Tumoral, do inglês, <i>Tumoral Necrosis Factor</i>
<b>OSDI</b>	Índice de Doença de Superfície Ocular, do inglês, <i>Ocular Surface Disease Index</i>
<b>PDGF-AB</b>	Fator de crescimento derivado de plaquetas AB, do inglês, <i>Platelet-derived growth factor AB</i>
<b>PF-4</b>	Fator plaquetário 4, do inglês, <i>Platelet factor 4</i>
<b>PRP</b>	Plasma Rico em Plaquetas, do inglês, <i>Platelet-rich plasma</i>
<b>PRK</b>	Ceratectomia fotorrefrativa, do inglês, <i>Photorefractive keratectomy</i>
<b>RD</b>	Retinopatia Diabética
<b>RDNP</b>	Retinopatia Diabética Não Proliferativa
<b>RDP</b>	Retinopatia Diabética Proliferativa
<b>REBEC</b>	Registro Brasileiro de Ensaio Clínicos
<b>SIDA</b>	Síndrome da Imunodeficiência Adquirida
<b>TCLE</b>	Termo de Consentimento Livre e Esclarecido
<b>TRFL</b>	Tempo de Ruptura do Filme Lacrimal
<b>TFBUT</b>	Tempo de Ruptura do Filme Lacrimal, do inglês, <i>Tear film break up time</i>
<b>VDRL</b>	Pesquisa Laboratorial para Doença Venérea, do inglês, <i>Venereal Disease Research Laboratory</i>

**VEGF** Fator de crescimento do endotélio vascular, do inglês, *Vascular endothelial growth factor*

## SUMÁRIO

<b>1</b>	<b>INTRODUÇÃO</b> .....	14
<b>1.1</b>	<b>Contexto</b> .....	14
<b>2</b>	<b>OBJETIVOS</b> .....	17
<b>2.1</b>	<b>Objetivo geral</b> .....	17
<b>2.2</b>	<b>Objetivos específicos</b> .....	17
<b>3</b>	<b>HIPÓTESE</b> .....	18
<b>4</b>	<b>REVISÃO DE LITERATURA</b> .....	19
<b>4.1</b>	<b>Diabetes mellitus e suas manifestações oculares</b> .....	19
<b>4.2</b>	<b>O olho seco</b> .....	21
4.2.1	A classificação do olho seco .....	25
4.2.2	Classificação baseada na severidade do olho seco .....	28
4.2.3	Diagnóstico clínico e laboratorial do olho seco .....	29
<b>4.3</b>	<b>Diabetes e olho seco</b> .....	32
<b>4.4</b>	<b>Tratamento convencional</b> .....	34
<b>4.5</b>	<b>O uso do soro autólogo</b> .....	35
<b>4.6</b>	<b>A composição do concentrado de plaquetas</b> .....	37
4.6.1	O uso do concentrado de plaquetas em olho seco .....	39
4.6.2	Métodos de obtenção do colírio de concentrado de plaquetas .....	40
<b>5</b>	<b>MÉTODO</b> .....	43
<b>5.1</b>	<b>Tipo de estudo</b> .....	43
		43
		43

<b>5.2</b>	<b>Local do estudo</b> .....	
<b>5.3</b>	<b>Aprovação do Comitê de Ética e Pesquisa</b> .....	
<b>5.4</b>	<b>Amostra</b> .....	
5.4.1	Critérios de inclusão .....	
5.4.2	Critérios de exclusão .....	43
5.4.3	Amostragem .....	43
5.4.3.1	Identificação dos pacientes .....	43
5.4.3.2	Seleção dos pacientes .....	44
<b>5.5</b>	<b>Termo de consentimento livre e esclarecido</b> .....	44
<b>5.6</b>	<b>Variáveis</b> .....	44
5.6.1	Variável primária .....	44
5.6.2	Variáveis secundárias .....	44
5.6.3	Dados complementares .....	44
5.6.4	Mensuração das variáveis .....	44
<b>5.7</b>	<b>Intervenção</b> .....	46
<b>5.8</b>	<b>Método estatístico</b> .....	47
<b>6</b>	<b>RESULTADOS</b> .....	49
<b>6.1</b>	<b>Os pacientes selecionados</b> .....	49
<b>6.2</b>	<b>O perfil epidemiológico dos pacientes</b> .....	50
<b>6.3</b>	<b>Os resultados dos sintomas</b> .....	51
<b>6.4</b>	<b>Os sinais clínicos</b> .....	52
<b>6.5</b>	<b>Os testes objetivos</b> .....	63
<b>6.6</b>	<b>A acuidade visual</b> .....	69
<b>6.7</b>	<b>O escore do questionário OSDI</b> .....	69
		69
		71
		84

<b>6.8</b>	<b>A classificação final de severidade do DEWS .....</b>	
<b>7</b>	<b>DISCUSSÃO .....</b>	
<b>8</b>	<b>CONCLUSÕES .....</b>	
	<b>REFERÊNCIAS.....</b>	
	<b>APÊNDICES .....</b>	<b>97</b>
	<b>ANEXOS .....</b>	<b>104</b>



# 1 INTRODUÇÃO

## 1.1 Contexto

O diabetes pode afetar vários órgãos, dentre eles, os olhos, podendo causar complicações oculares, como retinopatia diabética, catarata, paralisia muscular com estrabismo, miopia e também o olho seco (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2006; PEREIRA; ARCHER; RUIZ, 2009). O olho seco diabético pode evoluir para alterações da superfície ocular podendo levar a complicações irreversíveis como ceratopatas graves, com perfuração ocular, úlceras tróficas ou cicatrizes corneanas (RIORDAN-EVA; WHITCHER, 2008).

De acordo com consensos recentes, olho seco ou ceratoconjuntivite seca é uma doença multifatorial da lágrima e da superfície ocular que resulta em desconforto, distúrbios visuais e instabilidade do filme lacrimal, com riscos de danos potenciais (DRY EYE WORKSHOP, 2007a). Acomete 5% a 34% da população em geral sendo as mulheres e os idosos os grupos mais atingidos por essa síndrome. A grande variação se deve às variações nos estudos populacionais, variações geográficas, diferenças no método de estudo, e às próprias divergências na definição de olho seco. (MESSMER, 2015).

A prevalência de olho seco em pacientes diabéticos varia entre 8,4% em pacientes com menos de 60 anos a 19% em pacientes idosos (MOSS; KLEIN; KLEIN, 2004) e pode chegar a 54,3% em alguns estudos (MANAVIAT et al., 2008). A fisiopatologia envolve lesões metabólicas, neuropáticas e vasculares que levam a um processo inflamatório e degeneração funcional causados em decorrência da hiperglicemia, acúmulo de produtos finais de glicosilação avançada, estresse oxidativo e inflamação (ALVES et al., 2008).

O olho seco apresenta dois desafios: o diagnóstico controverso, visto que a sintomatologia em geral não tem uma correlação clínica com os testes objetivos existentes e o tratamento habitual, principalmente com lubrificantes oculares que podem não ser eficazes em casos mais severos (RAHMAN et al., 2007; LIU et al., 2005).

Na década de 80, com intuito de pesquisar um tratamento para olho seco que tivesse propriedades mais próximas da lágrima humana, Fox et al. relataram os benefícios do soro autólogo em pacientes com olho seco na síndrome de Sjogren. Porém isso só foi posto em prática quando Tsubota et al demonstraram a eficácia dessa terapêutica em um estudo com 12 pacientes com olho seco no fim da década (FOX et al., 1984; TSUBOTA et al., 1999a).

O soro ou plasma humano é rico em fator de crescimento epidérmico, vitamina A, fator de crescimento beta, fibronectina e citocinas que são encontradas na lágrima, e fatores bactericidas (imunoglobulinas IgG e IgA e lisozima) que ajudam a manter a superfície ocular

saudável (KOFFLER, 2006). Tem sido preconizado em várias patologias na oftalmologia, além do olho seco, como em defeitos epiteliais (TSUBOTA et al., 1999b; YOUNG et al., 2004; ALVARADO VALERO et al., 2004), erosões corneanas recorrentes (DEL CASTILLO et al., 2002; HOLZER et al., 2005; REIDY; PAULUS; GONA, 2000), ceratopatia neurotrófica (MATSUMOTO et al., 2004), ampolas de trabeculectomia (MATSUO et al., 2005), ceratoconjuntivite límbica superior (GOTO et al., 2001), doença enxerto versus hospedeiro (MIXON et al., 2014), pós cirurgia refrativa (NODA-TSURUYA et al., 2006), reconstrução da superfície ocular (TSUBOTA et al., 1996), úlcera de Mooren (MAVRAKANAS; KIEL; DOSSO, 2007) e ceratopatia da aniridia (LÓPEZ-GARCÍA et al., 2008).

Observou-se, entretanto, que o colírio de concentrado de plaquetas (CCP) apresenta maiores índices de EGF (fator de crescimento epitelial) e vitamina A, em relação ao soro autólogo, e com raros relatos de complicações. O soro autólogo também contém citocinas pro-inflamatórias derivadas de leucócitos e monócitos, o que, em pacientes com alterações ou doenças imunológicas, pode ser deletério; daí a vantagem do concentrado de plaquetas, por ser isento dessas imunoglobulinas inflamatórias (LIU et al., 2006; LÓPEZ-GARCÍA et al., 2014).

Tem sido relatado o uso do CCP em oftalmologia para doenças da superfície ocular assim como o soro autólogo (KIM; SHIN; KIM, 2012; REZENDE et al., 2007; ALIO et al., 2007b; PANDA et al., 2012; MARQUEZ DE ARACENA DEL CID; MONTERO DE ESPINOSA ESCORIAZA, 2009; JAVALOY et al., 2013), na restauração da função lacrimal (MY, 2014), em blefaroplastias (VICK et al., 2006), entre outras.

Recentemente, o seu uso em pacientes com olho seco, de diversas causas, foi relatado por Lopez-Plandolit et al., e Alio et al. No primeiro estudo que foi realizado com 16 pacientes com olho seco refratários ao tratamento habitual, foi observado que 75% dos pacientes obtiveram melhora no quadro sem precisar usar nenhum outro tratamento. O segundo estudo avaliou 18 pacientes que usaram o CCP e desses 89% obtiveram melhora dos sintomas, 86% melhora da hiperemia conjuntival e 72% melhora significativa da ceratite (ALIO et al., 2007a; LÓPEZ-PLANDOLIT et al., 2011). Em pacientes exclusivamente diabéticos, não existem, até então, ensaios clínicos utilizando o CCP.

Sendo o diabético um paciente que apresenta importante morbidade pelo olho seco, sendo onde geralmente os casos graves refratários aos medicamentos convencionais, este estudo visa pesquisar a eficácia do tratamento com CCP nesse grupo, visto que os estudos na

literatura demonstraram resultados significativos em olho seco de outras etiologias (HESS, 2015).

## **2 OBJETIVOS**

### **2.1 Objetivo geral:**

Observar a resposta terapêutica do CCP em pacientes diabéticos com olho seco sintomático.

### **2.2 Objetivos específicos:**

- Descrever o perfil epidemiológico dos pacientes com diabetes e olho seco tratados com CCP;
- Verificar a frequência de casos de olho seco sintomático (moderado a severo) em pacientes diabéticos;
- Analisar a severidade do olho seco nos pacientes diabéticos antes e depois do uso do CCP.

### **3 HIPÓTESE**

O uso do CCP em olho seco sintomático de diabéticos, refratários à terapêutica convencional, é eficaz tanto na sintomatologia (entre 70 e 100%), quanto nos sinais clínicos, e reduz as complicações inerentes a essa doença.

## 4 REVISÃO DE LITERATURA

### 4.1 Diabetes Mellitus e suas manifestações oculares

O diabetes é um grupo de doenças metabólicas que se manifestam por hiperglicemia e em geral cursam com disfunções e insuficiência de vários órgãos, especialmente alterações vasculares, nos olhos, rins, nervos, cérebro e coração. Ocorre devido a defeitos na secreção e/ou ação da insulina cuja patogênese envolve destruição das células beta do pâncreas (produtoras de insulina), resistência à ação da insulina, distúrbios da secreção da insulina, entre outros (PORTAL BRASIL, 2014).

O número de pacientes com diabetes no mundo era estimado em 250 milhões em 2012 (PORTAL BRASIL, 2014), e acredita-se que alcance 350 milhões em 2025 (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2006). Sua incidência vem aumentando nos países em desenvolvimento e estima-se um aumento de 60% da prevalência na população adulta acima de 30 anos em 2025, sendo mais comum na faixa dos 45 aos 64 anos, em torno de 11% acima de 40 anos na população brasileira (MARASCHIN et al., 2010).

De acordo com o Ministério da Saúde, existem mais de 10 milhões de diabéticos no Brasil, e destes, aproximadamente 33% estão entre 60 e 79 anos (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2006).

O diagnóstico do DM2 pode ser estabelecido a partir de um dos seguintes critérios: glicemia de jejum (de 8 horas)  $\geq 126$  mg/dl (2 medidas); glicemia de  $\geq 200$  mg/dl 120 minutos após sobrecarga oral de 75 g de glicose anidra; ou glicemia de  $\geq 200$  mg/dl em medição casual (sem considerar a última refeição) em indivíduo com sintomas sugestivos do diagnóstico (poliúria, polidipsia, emagrecimento) (AMERICAN DIABETES ASSOCIATION, 2015).

As patologias oculares causadas pelo diabetes são a principal causa de cegueira em países desenvolvidos. Estas incluem a miopia ou outros erros refrativos, as neuropatias e ceratopatias, catarata, glaucoma, oclusões vasculares, retinopatia diabética entre outras (JEGANATHAN; WANG; WONG, 2008; NEGI; VERNON, 2003).

A córnea, um dos segmentos mais afetados, sofre alteração da sensibilidade devido à neuropatia, podendo evoluir com ceratites, úlceras neurotróficas, infecções secundárias, até perfurações oculares e cicatrizes corneanas que levam à perda de acuidade visual (NEGI; VERNON, 2003).

O cristalino também pode ser acometido, devido à descompensação metabólica aguda, quando ocorre um acúmulo de sorbitol que leva à sua tumefação, conseqüentemente alterando seu poder dióptrico e causando uma hipermetropia. Os diabéticos também podem desenvolver

catarata mais precocemente. O diabético tipo I desenvolve uma catarata típica, a cortical em flocos de neve. O diabético tipo II pode apresentar qualquer tipo, mas é muito comum o tipo subcapsular (NEGI; VERNON, 2003).

Existem também peculiaridades na facectomia, que é a cirurgia de extração da catarata. Esses pacientes apresentam mais riscos, como infecção, edema macular, mais inflamação, retardo na cicatrização e uma piora na retinopatia diabética (NEGI; VERNON, 2003; JEGANATHAN; WANG; WONG, 2008).

Pacientes diabéticos têm ainda mais risco de desenvolver glaucoma de ângulo aberto, glaucoma de ângulo fechado devido ao aumento do cristalino ou de uma crise aguda de hiperglicemia causando edema lenticular; e glaucoma neovascular, pois ocorre neovascularização no ângulo e na íris em virtude do estímulo da retina isquêmica (NEGI; VERNON, 2003; JEGANATHAN; WANG; WONG, 2008).

Dentre as manifestações neuro-oftalmológicas, o diabetes pode levar a anomalias pupilares devido à neuropatia autonômica que leva a uma denervação dos músculos dilatador e esfíncter da pupila, contribuindo para pupilas que não respondem bem a medicamentos midriáticos (NEGI; VERNON, 2003).

O DM é causa de paresias óculo-motoras em 25-30% dos indivíduos acima dos 45 anos. Estas são habitualmente paresias isoladas do III, IV ou VI pares e surgem devido à oclusão microvascular. Entre os sintomas há a diplopia binocular, observando-se habitualmente uma recuperação espontânea em três meses, ainda que possa existir recidiva (NEGI; VERNON, 2003; JEGANATHAN; WANG; WONG, 2008).

Estima-se ainda que 25% dos indivíduos diabéticos também podem cursar com neuropatia óptica isquêmica anterior, cujos sinais e sintomas são baixa visual súbita, com defeito pupilar aferente relativo e edema do disco óptico (NEGI; VERNON, 2003; JEGANATHAN; WANG; WONG, 2008).

Estima-se que o número de pessoas com risco de desenvolver perda de visão decorrente do diabetes dobre nos próximos 30 anos (SERRARBASSA; DIAS; VIEIRA, 2008). A Organização Mundial da Saúde (OMS) estimou em 1997 que, após 15 anos de doença, 2% dos indivíduos acometidos estarão cegos e 10% terão deficiência visual grave (NEGI; VERNON, 2003; JEGANATHAN; WANG; WONG, 2008).

A retinopatia diabética (RD) é uma complicação muito comum do diabetes estando presente, em algum nível, nas pessoas com mais de 15 anos de evolução da doença. É considerada a principal causa de cegueira legal em adultos na idade produtiva (SERRARBASSA; DIAS; VIEIRA, 2008; BOSCO et al., 2005).

Um dos sinais clínicos mais precoces na RD é o aumento da permeabilidade vascular, com alteração no fator de crescimento endotelial vascular (VEGF), devido à quebra da barreira hemato-retiniana, que causa o edema macular, a principal causa de baixa acuidade visual em diabéticos (BOSCO et al., 2005; SHRESTHA, 2011).

A retinopatia pode ser não proliferativa e proliferativa. A não proliferativa é caracterizada pela presença e extensão das hemorragias intrarretinianas, microaneurismas, ensalsichamento venoso e anomalias microvasculares intrarretinianas (IRMA). Na retinopatia não proliferativa leve para moderada, aparecem poucas e pequenas hemorragias intrarretinianas e microaneurismas, alterações venosas mínimas, e IRMA. Já na retinopatia não proliferativa severa, ocorre aumento da isquemia (SERRARBASSA; DIAS; VIEIRA, 2008; BOSCO et al., 2005).

A retinopatia proliferativa é caracterizada pela neovascularização e pela ausência ou presença de hemorragia vítrea ou pré-retiniana, sendo a última mais grave, podendo evoluir com proliferação fibrovascular e descolamento de retina, ocorrendo perda visual (SHRESTHA, 2011). Um dos tratamentos principais da retinopatia proliferativa é a panfotocoagulação com laser de argônio e uso de injeções com anti-VEGF (antifatores de crescimento endotelial vascular), ou de corticoides como a triancinolona em casos de edema retiniano (FERRIS, 1996).

O olho seco é uma outra complicação muito frequente no diabetes. Estima-se que 8% a 54% dos pacientes diabéticos tenham olho seco. Esses pacientes, quando não diagnosticados e tratados adequadamente, desenvolvem úlceras corneanas neurotróficas, infecções, leucomas, perfuração ocular, podendo chegar à cegueira (MOSS; KLEIN; KLEIN, 2004; MOSS; KLEIN; KLEIN, 2008; MOSS; KLEIN; KLEIN, 2000; MANAVIAT et al., 2008).

#### **4.2 Olho seco**

A lágrima tem várias funções importantes como lubrificação ocular, transporte de oxigênio e gás carbônico e outros metabólitos, proteção contra infecções e toxicidade, além de eliminar resíduos prejudiciais ao olho, manter a superfície corneana regular e estável, entre outras. Ela é rica em lisozimas, imunoglobulinas, fatores de crescimento e vitamina A (YANG et al., 1997).

O filme lacrimal é dividido em 3 camadas. A camada lipídica, secretada pelas glândulas de Zeiss, meibomius, e Moll que se localizam nas pálpebras, protege a lágrima contra a evaporação e a mantém menos tensa para lubrificar melhor a superfície ocular (YANG et al., 1997).

A camada de mucina é fabricada pelas glândulas de Manz, criptas de Henle, células epiteliais corneanas e caliciformes conjuntivais e fica entre a superfície ocular hidrofóbica e a película hidrofílica aquosa da lágrima (XU et al., 1995).

A camada aquosa corresponde a mais de 99% do filme lacrimal; é a camada mais espessa e mais importante, produzida pelas glândulas lacrimais principais e acessórias (Krause e Wolfring) (FRIDMAN, 2004).

Portanto, quando existe desequilíbrio em alguma dessas camadas funcionais da lágrima, pode ocorrer a síndrome do olho seco (YANG et al., 1997; XU et al., 1995).

De acordo com consensos recentes, olho seco ou ceratoconjuntivite sicca é uma doença multifatorial das lágrimas e da superfície ocular que resulta em desconforto, distúrbios visuais e instabilidade do filme lacrimal, com dano potencial à superfície ocular (DRY EYE WORKSHOP, 2007a). É acompanhado de aumento da osmolaridade do filme lacrimal e inflamação da superfície ocular (TOMLINSON et al., 2006; MURUBE, 2006).

Trata-se de uma desordem comum, afetando uma porcentagem significativa da população, principalmente adultos acima de 40 anos e mulheres. Apesar de alguns estudos não demonstrarem disparidade na prevalência entre os sexos (GUO et al., 2010; TIAN et al., 2009), uma grande parte deles mostra predominância do olho seco em mulheres (GALOR et al., 2011; GAYTON, 2009).

A prevalência é similar em todo o mundo, com taxas variando entre 7% e 33% (SCHEIN et al., 1999; MUÑOZ B et al., 2000). A discrepância observada na literatura deve-se, provavelmente, à ausência de um consenso no diagnóstico do olho seco e à falta de padronização da metodologia aplicada nas pesquisas e dos parâmetros utilizados para classificação da doença (BREWITT; SISTANI, 2001).

As dificuldades na avaliação do olho seco se iniciam pelas divergências existentes entre as diversas definições encontradas na literatura. Na época de Hipócrates, o termo xeroftalmia (do grego: olho seco) significava o olho seco grave associado à cegueira. No século passado, olho seco se restringia apenas à síndrome de Sjogren, enquanto as outras patologias e etiologias permaneciam desconhecidas. Cinquenta anos atrás, von Roth introduziu o termo olho seco relativo a qualquer deficiência quantitativa lacrimal; atualmente, entendem-se como olho seco deficiências quantitativas ou composicionais da lágrima (MURUBE et al., 2003). Scarpi sugere que a síndrome está associada a anormalidades na relação entre a produção da lágrima e a manutenção da superfície córneo-conjuntival (BELFORT JR; KARA-JOSE, 1997).

Lemp defende que o olho seco associa-se a uma deficiência na produção lacrimal e/ou a um excesso em sua evaporação, causando desconforto ocular e danos especialmente à superfície interpalpebral ou além desta. Acrescenta-se ainda que a ausência de sintomas não exclui o diagnóstico de olho seco desde que haja sinais clínicos de instabilidade lacrimal ou alterações da superfície ocular, e ainda que pode haver olho seco sem que haja dano da superfície ocular, ocorrendo apenas os sintomas típicos e sinais de instabilidade lacrimal (LEMP, 1995).

Gomes et al. definem a síndrome como uma diminuição da quantidade, modificação da qualidade e/ou diminuição da estabilidade da lágrima (PEREIRA GOMES; LIMA; ADAN, 1999). Naranjo conceitua olho seco como uma síndrome, com sinais e sintomas diretamente relacionados à ausência ou à baixa qualidade de um ou mais componentes do filme lacrimal (NARANJO, 2000).

Stern et al. ressaltam que o olho seco é causado por disfunções da superfície ocular, das glândulas lacrimais principais ou acessórias, das glândulas meibomianas ou das conexões neurais que as interconectam (STERN et al., 1998). Por sua vez, Murube define a síndrome como um desajuste entre a qualidade ou composição da lágrima e as necessidades da superfície ocular. O autor sugere, inclusive, a substituição do termo “olho seco” por “disfunção lacrimal” (MURUBE, 2000).

A fisiopatogenia do olho seco tem como principal alteração a hiperosmolaridade. Ocorre ou por excesso de evaporação da camada aquosa ou por diminuição da secreção lacrimal. É referida como um parâmetro importante para o diagnóstico de olho seco e reconhecida como estímulo pró-inflamatório no desenvolvimento da doença. Envolve a via das MAP quinases e NFkB e a produção de citocinas inflamatórias, assim como metaloproteinases (DE PAIVA et al., 2006). Resulta em diferenciação anormal e perda acelerada das células epiteliais da superfície ocular, incluindo células caliciformes, levando à instabilidade do filme devido à ausência do glicocálice produzido por essas células, com consequente perda da camada hidrofílica na superfície corneal e alteração na barreira antimicrobiana. Além disso, a perda das células epiteliais deixa as terminações nervosas corneais expostas a insultos ambientais, levando ao desconforto ocular crônico (FARRIS, 1994).

A inflamação da superfície ocular pode ser tanto causa como consequência do olho seco: a disfunção das glândulas lacrimais altera a composição da lágrima, levando a um estado de hiperosmolaridade e estimulando a produção de mediadores inflamatórios, que, por sua vez levam à disfunção das glândulas secretórias. O processo inflamatório pode também

ser desencadeado por estresse irritativo crônico, como uso de lentes de contato, e doenças sistêmicas autoimunes (FONSECA; ARRUDA; ROCHA, 2010). Em estágios iniciais do olho seco, alteração da superfície ocular causada por estresse osmótico, mecânico ou inflamatório leva ao estímulo reflexo da glândula lacrimal através do nervo trigêmeo, causando aumento da secreção de lágrima e da taxa de piscamento, para compensar. Se a glândula lacrimal for insuficiente, como na Síndrome de Sjogren e não Sjogren, então isso não ocorrerá, agravando o olho seco. No olho seco evaporativo, provavelmente a doença de superfície leva à redução de sensibilidade corneana, o que não consegue ativar o estímulo reflexo de lágrima, havendo o agravamento da doença (DRY EYE WORKSHOP, 2007a).

Outro fator atualmente reconhecido na patogênese do olho seco é o estresse oxidativo, com liberação de radicais livres e espécies reativas ao oxigênio que podem causar apoptose e necrose celular. O stress oxidativo tem sido associado a várias condições sistêmicas, como doenças neurodegenerativas, cardiovasculares e câncer, além de atuar em doenças oculares como degeneração macular relacionada à idade, catarata, uveíte, retinopatia da prematuridade e alterações corneanas (WAKAMATSU; DOGRU; TSUBOTA, 2008).

Diversos são os fatores de risco para o olho seco, os quais também são muito controversos. O DEWS separa esses fatores como os mais relevantes, onde a maioria dos estudos epidemiológicos demonstra correlação, como por exemplo: o sexo feminino, terapia com estrógeno pós-menopausa, dieta pobre em aminoácidos como o ômega 6, pós-operatório de cirurgia refrativa, deficiência de vitamina A, uso de alguns medicamentos como os anti-histamínicos, hepatite C, e radioterapia; outros fatores são categorizados como sugestivos, como raça asiática, uso de antidepressivos, betabloqueadores, diuréticos, diabetes, infecção por HIV e HTLV1, quimioterapia, uso do ácido isotretinóico, incisões grandes de facectomia extracapsular, ambientes com baixa umidade, disfunção ovariana e sarcoidose; por último, temos os fatores de risco considerados “incertos”, como etnia hispânica, fumo, álcool, uso de ansiolíticos e antipsicóticos, menopausa, uso da toxina botulínica, anticoncepcionais, acne, gravidez e gota (DRY EYE WORKSHOP, 2007b). Um exemplo dessa controvérsia é evidenciado em um estudo de coorte, realizado por Moss et al, com 3722 participantes, o qual demonstrou que a história de artrite, o hábito de fumar, o uso de cafeína, doenças da tireoide, história de gota e colesterol alto tinham associação significativa com olho seco, enquanto massa corporal, pressão arterial, contagem de células brancas no sangue, osteoporose, acidente vascular, hematócrito, doença cardiovascular, alergia, uso de anti-histamínicos, parassimpaticomiméticos, antidepressivos, diuréticos, antieméticos, ou qualquer outra droga que tivesse efeito de ressecamento ocular, não foram estatisticamente

significativas na correlação com olho seco. O consumo de álcool, presença de doenças oculares como catarata, degeneração macular, e cirurgia de facectomia também não apresentaram significância (MOSS; KLEIN; KLEIN, 2000).

#### 4.2.1 A classificação do olho seco

Duas formas de classificação muito usadas são a classificação de Madrid e o relato do *Delphi panel*.

A classificação tripla de Madrid foi criada em 2003, no décimo quarto Congresso da Sociedade Oftalmológica Europeia, através de um estudo multicêntrico, baseada em três parâmetros: etiologia, histopatologia e severidade clínica do olho seco (MURUBE et al., 2003).

A classificação etiológica classifica a doença em causas dácric-exócrinas (neurológicas, traumáticas, digenéticas, inflamatórias e tantálicas) e pan-exócrinas (olho seco relacionado à idade, hormonais, farmacológicas, hiponutricionais, imunológicas).

A classificação histopatológica subdivide-se em deficiência aquosa, deficiência lipídica, deficiência mucosa, epiteliopática, e causas não oculares. Daí o acrônimo “ALMEN” (MURUBE et al., 2003).

A classificação da severidade clínica do olho seco, que vai do grau 1 (onde o paciente em geral é assintomático) ao grau 3 “mais”(onde o paciente tem sintomas constantes, e dano corneano severo com redução da acuidade visual) (MURUBE et al., 2003).

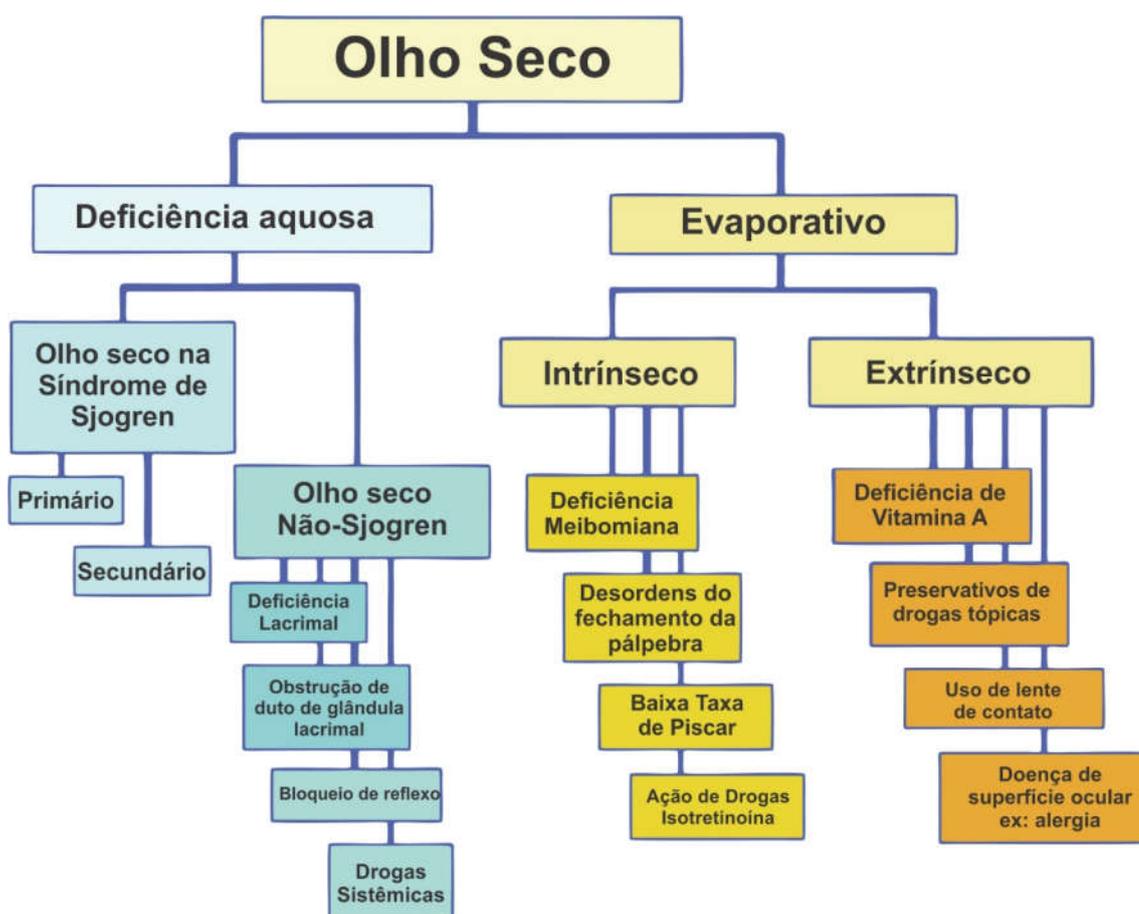
O Painel Delphi (*Delphi panel*) foi um consenso criado com a participação de um grupo de especialistas em olho seco. A classificação proposta e por um tempo utilizada era baseada na ausência ou presença de doença palpebral, e a definição apresentada consistia em mudar de doença do olho seco para síndrome da lágrima disfuncional. Esse grupo ainda criou uma classificação de severidade baseada nos sinais e sintomas do paciente.(BEHRENS et al., 2006).

Em 2007 deu-se o fato de o comitê do Dry Eye Workshop (DEWS) reunir-se, modificando a definição de “doença do olho seco”, sinônimo de ceratoconjuntivite seca. Sugeriu não utilizar a classificação baseada na ausência ou presença de patologia palpebral. Manteve a classificação anterior, de 1995, que subdivide o olho seco em duas grandes categorias: olho seco por deficiência aquosa da lágrima e olho seco evaporativo ; e adaptou a classificação de severidade do painel Delphi (LEMP, 1995).

A Classificação de DEWS divide o olho seco nas categorias acima: olho seco por deficiência aquosa lacrimal e olho seco evaporativo (DRY EYE WORKSHOP, 2007a). (Figura 1)

Primeiro são listados fatores que podem influenciar no risco de o paciente ter olho seco. Esses fatores podem ser “internos” ou “externos”. Fatores internos são, por exemplo, constitucionais, como a abertura maior da fenda palpebral que pode aumentar o risco de olho seco, a taxa de piscamento palpebral diminuída por motivos fisiológicos, psicológicos ou ocupacionais, o nível de hormônio como a diminuição de andrógenos e aumento de estrógeno e uso de medicações também são considerados fatores internos (DRY EYE WORKSHOP, 2007a).

Figura 1. Classificação do olho seco (DEWS)



Legenda: classificação de acordo com as duas principais categorias de olho seco

Fonte: *The definition and classification of dry eye disease, DEWS; 2007.* (Traduzido pela autora)

Fatores externos são aqueles ambientais ou ocupacionais, como lugares com baixa umidade, trabalho no ambiente com ar condicionado, ou pessoas expostas a muitas viagens aéreas, ou quem trabalha com computador, onde a taxa de piscamento diminui, entre outros (DRY EYE WORKSHOP, 2007a).

Com relação às duas grandes categorias de olho seco, o olho seco por deficiência aquosa ocorre por diminuição da secreção, tanto pela glândula lacrimal quanto por células da conjuntiva. Já o olho seco evaporativo ainda se subdivide entre aqueles ocasionados por influência de fatores externos ou ambientais, e aqueles advindos de fatores internos como os palpebrais e as alterações de superfície ocular (DRY EYE WORKSHOP, 2007a).

O olho seco em geral ainda pode ter várias causas associadas, o que dificulta, portanto, o diagnóstico e o tratamento, piorando a gravidade de alguns casos.

#### I) O olho seco por deficiência aquosa lacrimal

A redução da secreção lacrimal causa hiperosmolaridade, o que estimula uma cascata de eventos inflamatórios que envolvem as MAP quinases e a via do NFkB, gerando citocinas inflamatórias, como interleucina 1, TNF (fator de necrose tumoral) e MMP-9 (metaloproteinase da matriz extracelular). Quando ocorre uma inflamação ou infiltração da glândula lacrimal, os mediadores inflamatórios saem na lágrima para a superfície ocular. Mas não há como determinar se esses mediadores se originaram da glândula lacrimal ou da própria superfície ocular (DE PAIVA et al., 2006).

Há controvérsia se existe ou não maior evaporação nos casos de olho seco por deficiência lacrimal, pois algumas evidências mostram que há diminuição da camada lipídica nesses pacientes o que poderia aumentar a taxa evaporativa (DRY EYE WORKSHOP, 2007a).

O olho seco por deficiência lacrimal se subdivide em olho seco Sjogren e não Sjogren.

A síndrome de Sjogren (SS) é uma exocrinopatia em que ocorre deficiência da secreção lacrimal devido a um processo autoimune que acomete as glândulas lacrimais, salivares e outros órgãos do corpo. As glândulas são infiltradas por células T ativadas, o que causa a morte de células nos ácinos e ductos, ocasionado a hipossecreção (DRY EYE WORKSHOP, 2007a).

A SS secundária apresenta características da SS primária em conjunto com as características de uma autoimune tipo doença do colágeno, tal como artrite reumatóide, que é o mais comum, ou lúpus eritematoso sistêmico, poliartrite nodosa, Granulomatose de Wegener, esclerose sistêmica, esclerose biliar, entre outras (DRY EYE WORKSHOP, 2007a).

A síndrome não Sjogren inclui todas as causas em que a disfunção lacrimal ocorre sem interferência de qualquer fator autoimune. Estas são causas de disfunção da glândula lacrimal primárias (olho seco relacionado à idade, alacrimia congênita, disautonomia familiar), causas secundárias de disfunção da glândula lacrimal (sarcoidose, linfoma, SIDA, ablação ou denervação da glândula), obstrução das vias lacrimais (pênfigo, tracoma, eritema multiforme,

queimaduras químicas), hipossecreção reflexa (lesão do trigêmeo, diabetes, ceratopatia neurotrófica, uso de lentes de contato), bloqueio do reflexo motor por lesão do VII par, uso de medicações (betabloqueadores, anti-histamínicos, antiespasmódicos, diuréticos; antidepressivos tricíclicos, algumas drogas psicotrópicas. Inibidores da enzima conversora de angiotensinogênio tem se mostrado como um fator protetor pra olho seco, e bloqueadores de canal de cálcio e hipolipemiantes orais não têm mostrado relação com secreção lacrimal (MOSS; KLEIN; KLEIN, 2004; SCHEIN et al., 1999)). Já o olho seco evaporativo ocorre devido a excessiva perda evaporativa da camada aquosa. As causas podem ser intrínsecas e extrínsecas. Dentre as causas intrínsecas pode-se citar as disfunções de glândulas meibomianas, desordens de abertura palpebral, exposição ocular como a exoftalmia e lagofalmo, diminuição de taxa de piscamento entre outras, e dentre as extrínsecas existem as desordens da superfície ocular como a hipovitaminose A que leva a xeroftalmia, o uso crônico de colírios anestésicos ou outros com conservantes como os colírios antiglaucomatosos (TEI et al., 2000; PISELLA; POULIQUEN; BAUDOUIN, 2002; PHARMAKAKIS et al., 2002), o uso de lentes de contato e as conjuntivites alérgicas que também alteram bastante a superfície ocular (FUJISHIMA et al., 1996).

#### **4.2.2 Classificação baseada na severidade do olho seco**

Esta foi adaptada e modificada pelo DEWS (*Dry Eye Workshop*), a partir do esquema proposto pelo painel Delphi (DRY EYE WORKSHOP, 2007a; BEHRENS et al., 2006). Consiste na classificação do olho seco em graus 1 a 4 (leve a severo), que é a graduação baseada na frequência ou intensidade em que ocorrem os seguintes critérios: desconforto ocular (sintomas de olho seco), distúrbios visuais, coloração corneana e conjuntival, injeção conjuntival, alterações da lágrima, disfunção meibomiana, *But time (Break up time)* ou tempo de ruptura do filme lacrimal (TRFL), e teste de Schirmer. (Quadro 1)

Quadro 1. Classificação de severidade do DEWS

Categorização da gravidade do olho seco (baseado no DEWS)				
Gravidade do olho seco	1	2	3	4
Desconforto, gravidade e frequência	Leve e/ou episódico; ocorre sob estresse ambiental	Episódico moderado ou crônico; com ou sem estresse	Grave frequente ou constante; sem estresse	Grave e/ou incapacitante e constante
Sintomas visuais	Ausente ou episódicos leves	Incomodam ou limitam atividades; episódicos	Incomodam, limitam atividades constantemente e/ou cronicamente	Constante e/ou possivelmente incapacitante
Injeção conjuntival	Ausente ou leve	Ausente ou leve	+/-	+/**
Coloração conjuntival	Ausente ou leve	Variável	Moderada a acentuada	Acentuada
Coloração corneal	Ausente ou leve	Variável	Acentuada central	Erosões puntactas graves
Sinais em córnea e lágrima	Ausentes ou leves	Debris leves, diminuição menisco	Ceratite filamentar, adesão de muco, aumento debris lacrimais	Ceratite filamentar, adesão de muco, aumento debris lacrimais, ulceração
Pálpebras/Glândulas meibomianas	DGM* variavelmente presente	DGM* variavelmente presente	Frequente	Triquíase, queratinização, simbléfaro
TFBUT**	Variável	≤ 10	≤ 5	Imediato
Schirmer (mm/5min)	Variável	≤ 10	≤ 5	≤ 2
*DGM= disfunção de glândulas lacrimais				
**TFBUT= tear film break-up time (tempo de ruptura do filme lacrimal)				

Legenda: Classificação de severidade do olho seco, graduada de 1 a 4

Fonte: Fonseca, E.C., Arruda, G. V., Rocha, E. M. Olho seco: etiopatogenia e tratamento Arq. Bras. Oftalmol. 2010;73(2):197-203. Baseado no. DEWS: *The definition and classification of dry eye disease; 2007, reprinted from Behrens et al., 2006.*

#### 4.2.3 Diagnóstico clínico e laboratorial do olho seco

Não há padronização diagnóstica para o olho seco, inclusive a literatura enfatiza a ausência de correlação entre um teste objetivo e outro, e também entre os testes e a sintomatologia do paciente. Isso se deve provavelmente à heterogeneidade de causas do olho seco e a dificuldade que existe em compreender a fisiopatologia dessa doença (ALVES et al., 2014).

Recente avaliação de 2007, da Academia Americana de Oftalmologia, determinou diretrizes para abordagem do olho seco (AMERICAN ACADEMY OF OPHTHALMOLOGY, 2013), que consistem numa boa história clínica, exame clínico geral para detectar se há doenças sistêmicas (como as reumáticas) ou outras afecções, exame externo ocular das pálpebras, pele, nervos, acuidade visual e biomicroscopia.

A história inclui principalmente as queixas do paciente relacionadas a olho seco que são: sensação de peso nas pálpebras, queimação, prurido, irritação ocular, sensação de corpo estranho, fotofobia, ressecamento, visão borrada, lacrimejamento, entre outras. Estes pioram no decorrer do dia, com exposição ao ar frio ou à fumaça, à poluição, ao uso prolongado do computador, ao uso de lentes de contato e a permanência em ambiente seco. Caracterizar os sintomas e o efeito de medicações tópicas nesses casos se faz necessários. O sintoma mais

comum no olho seco tem sido a “fadiga” ocular, relatada em mais de 70% dos casos (AMERICAN ACADEMY OF OPHTHALMOLOGY, 2013).

Então, no histórico ocular, é importante lembrar-se de investigar sobre conjuntivites alérgicas, uso de lentes de contato, cirurgias oculares prévias como catarata, refrativas, transplantes de córnea, blefaroplastias e outras cirurgias palpebrais, doenças que afetam a superfície ocular como herpes, pênfigo ocular, Stevens-Johnsons (AMERICAN ACADEMY OF OPHTHALMOLOGY, 2013).

Na avaliação sistêmica faz-se necessário verificar se o paciente é tabagista ou se se expõe a algum tipo de poluente no trabalho, se tem alguma doença dermatológica como a rosácea. Verificar higienização dos cílios e pálpebras, existência de doença atópica, menopausa, doença inflamatória sistêmica como Lúpus, artrite, esclerodermia, linfoma, sarcoidose, entre outras.

Convém observar as medicações que usa pois várias classes podem, em alguns casos, causar olho seco.(anti-histamínicos, diuréticos, hormônios e antagonistas hormonais, antidepressivos, medicações antiarrítmicas, isotretinoína, difenoxilato/atropina, antagonistas beta-adrenérgicos, agentes quimioterápicos e qualquer outra droga com efeito anticolinérgico) (AMERICAN ACADEMY OF OPHTHALMOLOGY, 2013).

É pertinentetambém avaliar história prévia de traumas, como os químicos, infecções virais crônicas (por exemplo, hepatite C, vírus da imunodeficiência humana), cirurgia não ocular (por exemplo, transplante de medula óssea, cirurgia de cabeça e pescoço, cirurgia para neuralgia do trigêmeo), radioterapia (da órbita), condições neurológicas (doença de Parkinson, paralisia de Bell, neuralgia do trigêmeo), doenças orais com boca seca ou úlceras orais, entre outras doenças sistêmicas (AMERICAN ACADEMY OF OPHTHALMOLOGY, 2013).

Na avaliação do olho seco, são preconizados questionários validados como o OSDI (*Ocular Surface Disease Indice-Allergan*)(SCHIFFMAN et al., 2000) (Anexo A), o DEQ (*Dry Eye Questionnaire*)(BEGLEY et al., 2002), e o *McMonnies Questionnaire* (NICHOLS; NICHOLS; MITCHELL, 2004), entre outros. Estes muitas vezes não se correlacionam com os testes objetivos e devem ser usados em conjunto com outros dados da história clínica.

Após realizar exame oftalmológico, com acuidade visual, biomicroscopia (das pálpebras, pontos lacrimais, cílios, conjuntiva e córnea), exame externo (avaliar proptose, exoftalmia, como é a pele, as mãos, e a função dos pares de nervos cranianos) e fundoscopia, utilizam-se alguns testes objetivos para complementar a investigação, como, por exemplo, a taxa de piscamento do paciente que em geral é diminuída, a acuidade visual, a avaliação da

altura do menisco lacrimal (menor que 0,35mm é anormal), a qualidade do filme lacrimal (se há muco ou debris), exames para verificar se há alterações da superfície ocular, taxa de clearance lacrimal, estesiometria corneana, topografia da córnea, entre outros (FRIDMAN, 2004).

Os testes diagnósticos para olho seco em geral não são plenamente objetivos, não se correlacionam com os sintomas do paciente, nem existe um consenso de qual seria a melhor combinação diagnóstica. Porém o DEWS sugere uma combinação muito utilizada na prática clínica, com boa sensibilidade e acurácia da qual constam o teste de Schirmer, a coloração corneana e o TRFL(tempo de ruptura do filme lacrimal ou TFBUT(*tear film break up time*)) (DRY EYE WORKSHOP, 2007c).

Estabilidade lacrimal: é avaliada através do (TFBUT) ou tempo de ruptura do filme lacrimal (TRFL) que consiste em calcular em quanto tempo o filme de fluoresceína aplicado sofre ruptura. Quando após instilada aparecer a primeira mancha seca (dry spot), é o tempo anotado. Vários autores consideram como anormal os valores abaixo de 10 segundos. Autores encontraram uma especificidade de aproximadamente 72% em pacientes normais, e uma sensibilidade de 36% em média em casos de olho seco leve, e de 60 % aproximadamente em olho seco severo. O BUT pode gerar resultados falsos, quando realizado de forma inadequada como em casos de muita instilação de colírio, mau fechamento palpebral, uso prévio de pomadas oculares, blefarites com presença de muito muco na superfície ocular, alterações do epitélio corneano, entre outros que podem causar artefatos (FRIDMAN, 2004).

Coloração com fluoresceína: pode ser usada como alternativa à rosa bengala e ao verde lissamina. Esse corante preenche os espaços epiteliais quando há perda de integridade (DRY EYE WORKSHOP, 2007a).

Coloração com rosa bengala e verde lissamina: quando não cora com fluoresceína, pode-se tentar o rosa bengala ou o verde lissamina (menos tóxico, porém mais difícil de encontrar comercialmente). Nesse caso, quando há alteração na camada de mucina o muco se precipita e forma filamentos que se tingem com esse corante. Quando há alterações, a conjuntiva apresenta-se bem corada. O verde lissamina cora proteínas desvitalizadas (QUEIROGA; DINIZ, 2010; FRIDMAN, 2004).

Teste de Schirmer e suas variantes: introduzido por Schirmer em 1903, ele é muito importante na prática clínica. Traduz a aquodeficiência da lágrima. É realizado através de um papel filtro padrão milimetrado, no fórnix palpebral inferior, com os olhos abertos ou fechados. Após 5 minutos, mede-se o quanto do papel foi umedecido (VAN BIJSTERVELD, 1969).

O teste de Schirmer 1, que avalia a secreção lacrimal basal e reflexa, é feito sem colírio anestésico em ambientes não muito claros. Após 5 minutos, valores abaixo de 10mm ou acima de 30mm são considerados anormais. Segundo van Bijsterveld, valores de Schirmer abaixo de 5mm têm uma sensibilidade de 85% para olho seco, e especificidade de 83%. Quando abaixo de 10mm a especificidade varia em torno de 77% (VAN BIJSTERVELD, 1969).

No teste de Schirmer 2, introduz-se um cotonete na cavidade nasal para aumentar o estímulo reflexo, alguns autores consideram anormal quando o valor é inferior a 15mm em 5 minutos. Outros autores não consideram um teste importante pois a redução da secreção reflexa não tem tanto impacto clínico no olho seco. O teste de secreção lacrimal basal utiliza anestésico para eliminar o efeito de secreção reflexa, tendo resultados 40% inferiores ao do Schirmer 1 (FRIDMAN, 2004).

Existem ainda testes laboratoriais, menos disponíveis em nosso meio, às vezes dispendiosos e a baixa acurácia não os torna tão vantajosos, como a pesquisa de lisozima e lactoferrina lacrimal, avaliação da camada de mucina, osmolaridade lacrimal e citologia de impressão (FRIDMAN, 2004).

É da combinação da anamnese, exame oftalmológico e de resultado de um ou mais testes, com que se pode diagnosticar olho seco (DRY EYE WORKSHOP, 2007c). Até então não existe um exame que seja padrão ouro para olho seco.(PAN et al., 2013)

#### **4.3 Diabetes e olho seco**

O estudo de *Beaver Dam* mostrou que 18,1% de pacientes diabéticos tinham olho seco quando comparados a 14,1% em não diabéticos. Outro estudo similar mostrou uma diferença de 20,6% em diabéticos contra 13,8% em não diabéticos. Tem sido sugeridas alterações microvasculares nas glândulas lacrimais além das disfunções neuropáticas (KAISERMAN et al., 2005; MOSS; KLEIN; KLEIN, 2000; MOSS; KLEIN; KLEIN, 2004).

Há indícios de que o diabetes, através da resistência à insulina e hiperglicemia, possa causar um stress oxidativo causando olho seco. Pacientes com diabetes apresentam ceratopatas como as punctatas, com possibilidade de terem úlceras tróficas e defeitos epiteliais persistentes, podendo evoluir para complicações severas como cicatrizes e perfurações corneanas (MANAVIAT et al., 2008).

O mecanismo de olho seco provavelmente está relacionado à disfunção autonômica. A aldose reductase, primeira enzima na via do sorbitol, pode também estar envolvida. Já foi descrito em um estudo o aumento de hemoglobina glicosilada em pacientes diabéticos com olho seco (DRY EYE WORKSHOP, 2007a).

Outro estudo revelou que esses pacientes com DM têm também uma diminuição da secreção lacrimal e um TFBUT reduzido. Com relação à fisiopatogenia, acredita-se que a resistência à insulina e a hiperglicemia estejam envolvidas no olho seco diabético. A hiperglicemia e o stress oxidativo liberam produtos finais da glicação avançada, os quais modificam a matriz proteica de vários tecidos e ativam citocinas pró-inflamatórias levando ao dano celular, o que ocorre por exemplo nas glândulas lacrimais (MANAVIAT et al., 2008).

O DM então causa uma redução no filme lacrimal e sua instabilidade, pois também reduz a camada lipídica da lágrima, com aumento da metaplasia escamosa conjuntival e diminuição da sensibilidade corneana (ALVES et al., 2008).

A insulina tem papel importante em efeitos metabólicos e mitogênicos nos tecidos alvo, através da mediação de nutrientes, reserva de energia, expressão gênica e síntese proteica. As secreções exócrinas, como a saliva, a lágrima e o leite contém insulina que participam do metabolismo e crescimento dessas glândulas. Além disso, também foi citada a relevância da insulina na proliferação celular epitelial das glândulas e da córnea (ALVES et al., 2008).

Com relação à prevalência do olho seco no diabetes, esta varia na literatura. Manaviat et al demonstraram que em 199 pacientes diabéticos, 108 (54,3%) tinham olho seco, o que não variou em relação ao sexo nem à idade, mas se correlacionou com o tempo de duração do diabetes (MANAVIAT et al., 2008). Em um outro estudo com 3722 participantes, a prevalência variou entre 8% e 19%, aumentando com a idade (MOSS; KLEIN; KLEIN, 2000). Um outro estudo com 140 pacientes já revelou diferença entre sexo, apresentando 80% de olho seco em mulheres (SENDECKA; BARYLUK; POLZ-DACEWICZ, 2004). Alguns autores relataram aumento da incidência de olho seco em pacientes diabéticos que usavam medicação como diuréticos, anti-histamínicos, ou com outras comorbidades associadas (MOSS; KLEIN; KLEIN, 2004).

Hom e De Land demonstraram que pacientes com história familiar de diabetes tinham mais tendência a ter sintomas de olho seco, do que aqueles sem esse histórico (HOM; DE LAND, 2006). Já Kaiserman e coautores observaram que o uso de lubrificantes por pacientes diabéticos era muito maior do que em não diabéticos, 20,6% e 13,88% respectivamente (KAISERMAN et al., 2005).

Um estudo comparando crianças diabéticas e não diabéticas, avaliando sintomas de olho seco e testes objetivos (TBUT e Schirmer), demonstrou que 15,4% das crianças com diabetes tipo 1 queixavam-se de sintomas de olho seco, e destas, 7,7% apresentavam alterações nos testes objetivos. Em contrapartida, das crianças do grupo controle, apenas

1,9% tinham sintomas e destas 0,9% apresentavam alterações nos exames (AKINCI; CETINKAYA; AYCAN, 2007).

Existem estudos que demonstram que o TF BUT está diminuído nos diabéticos, e que o teste de Schirmer também, comparando com grupos controle (GOEBBELS, 2000; JIN et al., 2003). Já foi relatado também que o olho seco diabético está relacionado à retinopatia diabética (MANAVIAT et al., 2008). Em um outro estudo, não foi observada a relação entre olho seco e outras complicações diabéticas, como a neuropatia e a nefropatia (NAJAFI et al., 2013).

#### **4.4 Tratamento convencional**

Atualmente, não existe uma cura para o olho seco. Convém tratar quaisquer fatores causais que sejam passíveis de tratamento. No olho seco de grau leve as medidas importantes são orientações e modificações do ambiente, suspensão de medicações tópicas ou sistêmicas associadas à piora quando possível, lubrificação com lágrima artificial, pomada ou gel e higiene palpebral (PAN et al., 2013).

Existe uma grande variedade de lágrimas artificiais, que diferem uma da outra pelos eletrólitos que contém, pelos conservantes que possuem, pela viscosidade e pela osmolaridade (LEMP, 1995). Um estudo demonstrou que lágrimas artificiais contendo hialuronato de sódio a 1% sem conservantes, têm sido eficazes em casos de olho seco, melhorando a osmolaridade, a ceratopatia e o BUT desses pacientes (JONNES, 1984).

O advento de novas apresentações de lágrimas artificiais, incluindo também soluções hipotônicas, ou contendo lipídios que previnem a evaporação, substâncias com propriedades bioadesivas que aumentam a retenção de água, fórmulas que apresentam substâncias protetoras do stress celular causado pela hipertonicidade da lágrima, representa o avanço nessa área de tratamento (ARAGONA et al., 2013), mas essas lágrimas ainda estão longe de ter as propriedades da lágrima natural (KLENKLER; SHEARDOWN; JONES, 2007).

Para olho seco moderado, além dos tratamentos acima, as seguintes medidas são apropriadas: agentes anti-inflamatórios (ciclosporina tópica e corticosteroides, suplementos sistêmicos com ácidos graxos ômega-3, ou com ácido linoleico ou gama linoleico considerando as propriedades anti-inflamatórias, menor consumo de álcool e maior consumo de água, oclusores do ponto lacrimal e óculos próprios.

Corticosteroides têm melhorado os sintomas em alguns casos visto que diminuem a inflamação (DE PAIVA et al., 2006), porém seu uso prolongado pode estar relacionado ao aparecimento de catarata e ao aumento da pressão ocular (BLOMQUIST, 2011). A FDA aprovou, em 2002, a ciclosporina 0,05% para uso em olho seco, tendo bons resultados em

alguns casos com aumento da produção lacrimal (TOKER; ASFUROĞLU, 2010), portanto os efeitos adversos tais como a irritação ocular que pode limitar o tratamento (WANG et al., 2008).

Para olho seco severo, além dos tratamentos acima, as seguintes medidas são apropriadas: agonistas colinérgicos sistêmicos, agentes anti-inflamatórios sistêmicos, agentes mucolíticos, lágrimas com soro autólogo, lentes de contato, correção de anormalidades palpebrais, oclusão permanente do ponto lacrimal e tarsorrafia (AMERICAN ACADEMY OF OPHTHALMOLOGY, 2013).

#### **4.5 O uso do soro autólogo**

A terapia convencional mais utilizada para tratar o olho seco são as lágrimas artificiais. Infelizmente, esses colírios são isentos de substâncias que são fundamentais na lubrificação ocular, como por exemplo, fatores de crescimento, vitaminas, imunoglobulinas, entre outros presentes na lágrima natural. Outra desvantagem dos colírios lubrificantes artificiais são os conservantes que contêm, o que às vezes até piora os sintomas do paciente (LIU et al., 2005).

Além disso, muitos pacientes, principalmente os com olho seco severo, não respondem bem a essa terapia habitual. Foi descoberto ainda que as lágrimas artificiais não mantêm o ATP intracelular em níveis aceitáveis e nem a integridade da membrana celular (POON et al., 2001).

O soro ou plasma humano é rico em fator de crescimento epidérmico, vitamina A, fator de crescimento beta (factor- $\beta$ ), fibronectina e citocinas que são encontradas na lágrima, e fatores bactericidas (imunoglobulinas IgG, IgA, e lisozima) que ajudam a manter a superfície ocular saudável (KOFFLER, 2006).

Os componentes da lágrima, também presentes no soro, como fatores de crescimento epidérmico e vitamina A, são importantes para a proliferação, diferenciação e maturação do epitélio da superfície ocular. Estudos com culturas de fibroblastos da córnea humana e células endoteliais mostram que essas células expressam fator de crescimento epitelial e têm a síntese de seu DNA aumentada na presença desses fatores (WOOST et al., 1992).

De todos os fatores, os mais importantes são: o epitelial (EGF) o qual acelera o processo de migração das células epiteliais, o TGF- $\beta$ , (fibroblasto de crescimento fator beta) o qual está envolvido no processo de cicatrização estromal e epitelial a vitamina A que previne a metaplasia escamosa do epitélio, a fibronectina que promove a migração celular, a albumina que tem atividade antiapoptótica, a  $\alpha$ -2 macroglobulina que tem ação anticolidagenase, o fator de crescimento derivado de plaquetas (PDGF-AB) que promove a

cicatrização, o fator de crescimento do hepatócito, a substância P e o fator de crescimento “insulina-like” que auxiliam na migração e adesão do epitélio ao estroma (LÓPEZ-GARCÍA et al., 2007).

O Ebers Papyrus, 1534 AC, é a primeira referência na história do uso de um derivado do sangue no olho. Em 1975, foi aplicado o soro autólogo para olho seco pela primeira vez por Ralph et al (RALPH; DOANE; DOHLMAN, 1975).

Fox et al. relataram os benefícios do soro autólogo em pacientes com síndrome de Sjogren na década de 80, porém isso só foi posto em prática quando Tsubota et al demonstraram a eficácia num estudo com 12 pacientes com olho seco no fim da década (FOX et al., 1984) (TSUBOTA et al., 1999a). Durante estas décadas, soro fetal bovino, soro alogênico e soro do cordão umbilical têm sido utilizados, porém, como são produtos heterólogos, apresentam mais risco de reações alérgicas e transmissão de doenças infecciosas, e seu uso apenas é possível em alguns centros especializados (YOON et al., 2007; SHARMA et al., 2011).

Depois vários autores relataram o uso de soro autólogo em olho seco com bons resultados (NOBLE et al., 2004; TANANUVAT et al., 2001; HYON; LEE; YUN, 2007).

Kojima et al. compararam soro autólogo e colírio comercial em pacientes que os utilizaram por duas semanas, seis vezes ao dia. Na comparação dos valores de BUT (*Break up time*), foi significativamente maior no grupo de pacientes que usaram soro autólogo (KOJIMA et al., 2005).

Mais recentemente, em 2008, Lee e Chen avaliaram a eficácia e segurança a longo prazo da aplicação do soro autólogo a 20% em casos de olho seco grave em 23 pacientes acompanhados por 18 meses aproximadamente. 74% dos pacientes em média obtiveram melhora no padrão de coloração com fluoresceína, 76% relataram ótima melhora dos sintomas, e não houve complicações significativas nesse estudo (LEE; CHEN, 2008).

Outras indicações do uso de soro autólogo têm sido em defeitos epiteliais (TSUBOTA et al., 1999b; YOUNG et al., 2004; ALVARADO VALERO et al., 2004), erosões corneanas recorrentes (REIDY; PAULUS; GONA, 2000; DEL CASTILLO et al., 2002), ceratopatia neurotrófica (MATSUMOTO et al., 2004), ampolas de trabeculectomia (MATSUO et al., 2005), ceratoconjuntivite límbica superior (GOTO et al., 2001), doença enxerto versus hospedeiro (MIXON et al., 2014), pós cirurgia refrativa (NODA-TSURUYA et al., 2006) (JAVALOY et al., 2013), úlcera de Mooren (MAVRAKANAS; KIEL; DOSSO, 2007) e ceratopatia da aniridia (LÓPEZ-GARCÍA et al., 2008).

Com relação à estabilidade, Tsubota et al. relataram que a concentração de fatores de crescimento e vitamina A e fibronectina no soro autólogo diluído com cloreto de sódio e preservados a uma temperatura de 4 graus dura 1 mês, e a -20 graus dura 3 meses (TSUBOTA et al., 1999a).

O soro autólogo tem sido bem tolerado, apresentando poucas complicações. Na literatura, foram relatados raros casos de infecção (LEITE et al., 2006), foi relatado ainda depósito de imunoglobulinas na córnea e infiltrados ceráticos em um caso (MCDONNELL; SCHANZLIN; RAO, 1988). A desvantagem está no fato de alguns pacientes, principalmente os com comorbidades como anemia, não poderem fazer uso com frequência (LÓPEZ-GARCÍA et al., 2007). Nesse caso ainda existe a opção de usar soro rico em fatores de crescimento obtido através do cordão umbilical (VERSURA et al., 2015).

Não existe ainda uma padronização na produção do soro autólogo, mas convém ressaltar a importância de realizar sorologias prévias nos pacientes (para hepatites, Chagas, sífilis, e Hiv) e também usar condições estéreis no preparo dos colírios, devendo antes do uso pelo paciente submeter uma amostra à cultura para bactérias e outros microrganismos (QUINTO; CAMPOS; BEHRENS, 2008).

Uma revisão sistemática realizada para avaliar a eficácia do soro autólogo com relação à lágrima comercial (PAN et al., 2013) avaliou quatro ensaios clínicos que comparavam ambos os tratamentos (KOJIMA et al., 2005; NODA-TSURUYA et al., 2006; TANANUVAT et al., 2001; URZUA et al., 2012), e concluíram que, devido à grande heterogeneidade dos indivíduos selecionados, considerando também a confecção e manutenção do colírio, a forma como utilizá-lo, e também a avaliação objetiva e subjetiva do olho seco, são necessários novos estudos randomizados que padronizem esses itens. Porém, baseando-se em evidências atuais, observaram que os sintomas melhoraram nos pacientes que usaram o soro autólogo, mas não houve diferença importante com relação à melhora nos sinais objetivos.

#### **4.6 A composição do concentrado de plaquetas**

O CP (concentrado de plaquetas) consiste de uma suspensão de plaquetas em plasma, preparado mediante dupla centrifugação de uma unidade de sangue total. As plaquetas secretam alguns fatores de crescimento muito importantes para a lágrima, como o fator da angiogênese derivado de plaquetas, o fator de crescimento epitelial derivado de plaquetas, e o fator 4 plaquetário (RAZOUK; REICHE, 2004).

O fator de crescimento epidermal (epitelial) acelera o processo de cicatrização e migração epitelial na córnea, além de estimular a síntese de DNA das células epiteliais sendo também quimiotática para células humanas epiteliais e estromais. Esse fator tem um efeito

antiapoptótico e tem sido associado à produção de mucina -1 por algumas células da conjuntiva (LÓPEZ-PLANDOLIT et al., 2011).

O fator de crescimento transformador b1 (TGF -b1) tem seus níveis aumentados no epitélio durante processos de reparação estromal na córnea. É secretado por plaquetas, células endoteliais, linfócitos e macrófagos (LÓPEZ-PLANDOLIT et al., 2011).

Na córnea, O TGF-b1 diminui a migração de ceratócitos e favorece a migração de fibroblastos e a produção de matriz extracelular por um duplo mecanismo: estimulando a produção de colágeno, fibronectina e proteoglicanos, e diminuindo sua degradação por inibição das enzimas proteolíticas. Promove também, junto ao fator de crescimento derivado de plaquetas (PDGF) e integrinas, a diferenciação de miofibroblastos, assim exercendo importante ação anti-inflamatória (LÓPEZ-GARCÍA et al., 2008).

A Vitamina A é um dos principais fatores epiteliotróficos do soro autólogo, sendo 100 vezes maior a sua concentração do que na lágrima natural. Previne a metaplasia escamosa do epitélio (GEERLING; MACLENNAN; HARTWIG, 2004).

O fator de crescimento derivado das plaquetas foi um dos primeiros a ser caracterizados. É quimiotático para monócitos, macrófagos e fibroblastos e estimula a expressão de outros fatores como o TGF-b (GEERLING; MACLENNAN; HARTWIG, 2004).

A fibronectina é uma proteína solúvel que promove a cicatrização e a fagocitose. Na superfície ocular é um dos principais fatores presentes na reepitelização corneana. Tem sido usada por exemplo em úlceras corneanas e defeitos epiteliais com bons resultados (PHAN et al., 1991).

A Anexina A5 tem sido investigada como alternativa aos colírios de fibronectina. Interage com a quinase dominante de algumas integrinas mimetizando seu efeito. Também estimula a secreção de plasminogênio uroquinase (*plasminogen activator-type uroquinase*), cuja expressão é aumentada em defeitos epiteliais, facilitando, assim, a migração celular.

A albumina é uma das proteínas mais importantes do sangue. Ela reduz a degradação natural das citocinas e fatores de crescimento nas áreas de injúria tecidual e mostra atividade antiapoptótica. O efeito de cicatrização dessa proteína já foi demonstrado in vitro e in vivo (TSUBOTA et al., 1999b; UNTERLAUFT et al., 2009; SHIMMURA et al., 2003).

A alfa 2 macroglobulina neutraliza enzimas proteolíticas. É útil em queimaduras oculares e úlceras marginais (TSUBOTA et al., 1999b; POON et al., 2001).

O fator beta de crescimento do fibroblasto é um fator que promove a cicatrização corneana, não apenas aumentando a proliferação celular mas também a motilidade (ANDRESEN; EHLERS, 1998).

O fator de crescimento insulina-like 1 ajuda a promover migração celular epitelial (YAMADA et al., 2004). O seu uso tem sido eficaz em pacientes com ceratopatia neurotrófica (YAMADA et al., 2004). Pacientes com conjuntivite sazonal e vernal tem mostrado elevação de P-selectina na lágrima. O que sugere que a P-selectina deve estar relacionada a patogênese de conjuntivites alérgicas (MATSUURA et al., 2004).

O fator de crescimento neural (NGF) é a neurotrofina mais conhecida. Alguns relatos mostram sua eficácia em úlceras tróficas. Pode também restaurar a função de neurônios lesados. Também induz a produção de SP e peptídeo ligado à calcitonina (*calcitonin generelated peptide*) no sistema nervoso central e periférico. Os efeitos do NGF na superfície ocular são mediados por receptores específicos localizados nsa células corneanas e conjuntivais epiteliais (MATSUURA et al., 2004).

#### **4.6.1 O uso do concentrado de plaquetas em olho seco**

O concentrado de plaquetas já tem sido utilizado em outras áreas médicas como na ortopedia, cirurgia maxilofacial, dermatologia, entre outras. O colírio de concentrado de plaquetas (CCP) apresenta maiores índices de EGF (fator de crescimento epitelial) e vitamina A, em relação ao soro autólogo (ANITUA et al., 2004; ANITUA et al., 2005).

O soro autólogo também contém citocinas pro-inflamatórias derivadas de leucócitos e monócitos, o que pode ser deletério em pacientes com alterações ou doenças imunológicas. (GEERLING; MACLENNAN; HARTWIG, 2004; LÓPEZ-GARCÍA et al., 2007) ; por isso a vantagem do concentrado de plaquetas que não vão conter essas imunoglobulinas da inflamação. Freire et al observaram num estudo que o concentrado rico em fatores de crescimento regula a expressão de vários genes na comunicação e diferenciação celular, melhorando a atividade biológica das células epiteliais da córnea quando comparados com o soro autólogo (FREIRE et al., 2012).

E ainda em outro estudo foi observado que o colírio de plasma rico em fatores de crescimento protege mais a superfície ocular de formações de cicatrizes e opacidades corneanas devido à redução de miofibroblastos através da indução do TGF-b1 (ANITUA; TROYA; ORIVE, 2012). Anitua et al. (2013) observaram esse fato principalmente em pacientes que faziam PRK e diminuía a incidência de *haze* naqueles que usavam o colírio de plaquetas (ANITUA et al., 2013). Estudos observaram ainda em coelhos com úlcera de córnea

que houve aceleração na regeneração corneana e melhora na formação da fibra de colágeno no estroma corneano (KHAKSAR et al., 2011).

Ela é então excelente no processo de cicatrização epitelial corneana, pois adere ao tecido lesado atraindo citocinas e fatores de crescimento e transforma o fibroblasto em fibrina completando o processo de reparação (ALIO et al., 2007b). Também causa uma redução na inflamação por ação indireta, através da redução da osmolaridade, havendo, assim, a diluição dos fatores pró-inflamatórios existentes na superfície ocular. Isso também ocorre devido à presença do antagonista do receptor de interleucina-1 no plasma rico em fatores de crescimento, bem como a presença dos inibidores de metaloproteinases. (ALIO et al., 2007b).

Existem ainda outros fatores de crescimento, como o fator de crescimento epidermal, que auxilia na reepitelização corneana (ANITUA et al., 2004). Tem sido relatado seu uso em úlceras corneanas (KIM; SHIN; KIM, 2012; REZENDE et al., 2007; ALIO; RODRIGUEZ; WRÓBELDUDZIŃSKA, 2015), em queimaduras químicas (PANDA et al., 2012; MARQUEZ DE ARACENA DEL CID; MONTERO DE ESPINOSA ESCORIAZA, 2009), em síndrome da superfície ocular após cirurgia refrativa (JAVALOY et al., 2013), em um caso de restauração da função lacrimal (MY, 2014), em cirurgias de blefaroplastias (VICK et al., 2006), em casos de doenças de superfície ocular como em enxerto versus hospedeiro (PEZZOTTA et al., 2012) e recentemente Alio et al demonstraram, em um estudo com 18 pacientes com olho seco severo, que 89% obtiveram melhora dos sintomas com o colírio de concentrado de plaquetas (ALIO et al., 2007a).

Lopez –Plandolit et al. realizaram estudo prospectivo com 16 pacientes com olho seco moderado a severo, refratários às medicações convencionais, e observaram uma melhora estatisticamente significativa nos pacientes que usaram plasma rico em fatores de crescimento, porém sem alteração importante nas citologias de impressão desses pacientes (LÓPEZ-PLANDOLIT et al., 2011).

#### **4.6.2 Métodos de obtenção do colírio de concentrado de plaquetas**

Os dois principais métodos de obtenção de plaquetas são por doação autóloga e pela técnica de aférese de plaquetas. A vantagem da técnica de aférese é que a concentração de plaquetas é maior no concentrado final, devendo conter, pelo menos,  $5,5 \times 10^{10}$  plaquetas, enquanto sua desvantagem é o custo que é extremamente superior à técnica de doação total autóloga (RAZOUK; REICHE, 2004).

Na técnica de aférese para coleta de plaquetas, Rezende et al. utilizaram o separador celular automático Haemonetics MCS+ 9000 e o kit específico para plaqueta aférese 995-E (Haemonetics Corp.). Nesse sistema, por meio de uma punção venosa, o sangue do próprio

paciente é drenado para um dispositivo de separação. Um analisador de refração ótica separa a camada plaquetária e o sangue remanescente é totalmente devolvido ao paciente, determinando o fim de um ciclo. O citrato de sódio pode ser usado como anticoagulante na proporção de um para cada 9 ml de sangue total processado. Em dois ciclos, são coletados 72 ml de concentrado de plaquetas, sendo os índices hematimétricos do paciente avaliados antes e após o procedimento, e do concentrado de plaquetas (Coulter – ActDiff) (REZENDE et al., 2007).

A obtenção dos fatores de crescimento plaquetários em geral é feita em sala classificada, daí o manuseio do concentrado de plaquetas ter sido realizado dentro de uma cabine de segurança biológica categoria II-Tipo A. Então foram acrescentados 2800 microlitros de cloreto de cálcio 10% ao concentrado de plaquetas, tendo o produto final sido mantido a +37 graus Celsius por aproximadamente 30 minutos (REZENDE et al., 2007).

Posteriormente, a unidade foi submetida à centrifugação (900G) e o soro sobrenadante, que contém os fatores de crescimento plaquetário, foi transferido para 04 tubos do tipo falcon de 50 ml (Becton-Dickinson) e mantido a -80 graus Celsius (Revco). Pesquisa de bactérias, aeróbicas e anaeróbicas, e agentes fúngicos foram realizadas de forma sistemática (REZENDE et al., 2007).

A liberação do soro com fatores de crescimento plaquetário, no estudo de Rezende et al., foi feita da seguinte forma: semanalmente, descongelava-se 01 tubo falcon contendo aproximadamente 10 ml de soro autólogo com fatores de crescimento plaquetário que era transferido para frascos-colírio, sendo o paciente orientado a manter o medicamento biológico em temperatura inferior a -10 graus Celsius (freezer) e descongelá-lo de forma natural imediatamente antes de cada uso (REZENDE et al., 2007).

Já Alio et al., usaram a técnica de doação autóloga para obter plaquetas, quando os pacientes foram submetidos à venopunção e 80 a 100 ml de sangue coletados em tubos estéreis de 10ml, contendo 1ml de citrato de sódio para evitar coagulação. Esses tubos ficavam à temperatura ambiente por dez minutos e somente o sobrenadante (fração superior do tubo) era coletado como produto final. O concentrado de plaquetas era então preparado em condições estéreis numa sala de fluxo laminar. Dois a três mililitros desse concentrado era então colocado em frascos colírio estéreis. Os frascos colírio eram mantidos a -20 graus Celsius, e somente quando o paciente ia usar um frasco colírio, descongelava-o, e depois o mantinha a +4 graus Celsius, descartando esse frasco ao término de uma semana, quando descongelava um novo (ALIO et al., 2007a.).

Ambos os métodos exigem que o paciente realize uma doação de sangue autólogo. O sangue autólogo não transmite doenças, não há ocorrência de reações hemolíticas (aloimunização), alérgicas, imunológicas (imunomodulação) e nem lesão aguda pulmonar pela transfusão, complicações comuns em doações heterólogas (VANE; GANEM, 2006).

As contraindicações para doações autólogas são anemia ou outros tipos de hemodiluições patológicas, condições que acarretem queda de oxigênio e saturação de hemoglobina (menos que 11mg/dl), hepatopatias, nefropatias, coagulopatias, hemoglobinopatias, cardiopatias descompensadas, presença de doenças infecciosas como Chagas, sífilis, HIV, HTLV, hepatites B e C, e outras transmissíveis pelo sangue consideradas contraindicações “relativas”, visto que quem vai receber é o próprio paciente, porém pode haver contaminação da equipe de saúde no manuseio desse sangue, além de que, no HIV, pode haver reativação do vírus quando é reinfundido (VANE; GANEM, 2006; HOSPITAL SÍRIO LIBANÊS, 2010).

Complicações da doação autóloga são aquelas inerentes a um doador, como hipotensão, anemia, angina e contaminação do material das bolsas de sangue (VANE; GANEM, 2006).

## **5 MÉTODO**

### **5.1 Tipo de estudo**

O desenho do estudo foi um ensaio clínico de série de casos temporal, aberto, prospectivo, não randomizado.

### **5.2 Local do estudo**

Hospital Universitário Dr. Alberto Antunes e Unidade Básica de Saúde João Paulo II, Maceió-Alagoas-Brasil.

### **5.3 Aprovação do Comitê de Ética e Pesquisa**

O projeto foi aprovado pelo Comitê de Ética e Pesquisa (CEP) da Universidade Federal de Alagoas, e pelo Comitê Nacional de Ética e Pesquisa (CONEP) (Anexo B). Foi registrado também no Registro Brasileiro de Ensaio Clínicos (REBEC) (Anexo B). Foram seguidas as recomendações da Declaração de *Helsinki* (WORLD MEDICAL ASSOCIATION, 2013).

### **5.4 Amostra**

#### **5.4.1 Critérios de inclusão**

Olho seco sintomático, de moderado a severo (pelo menos um sintoma e um sinal dos graus 2 a 4) classificados através de tabela de severidade do *Dry Eye Workshop* (DRY EYE WORKSHOP, 2007a) a qual se baseia no Painel Delphi (BEHRENS et al., 2006) (Figura 2), refratários ou com baixa responsividade à terapia convencional.

#### **5.4.2 Critérios de exclusão**

Foram excluídos pacientes que apresentavam ceratopatias, infecção ativa ocular, alergia ocular, história de cirurgia refrativa, uso de lentes de contato, uso de colírios de glaucoma, corticosteroides ou antibióticos, diagnóstico de doença reumática anterior, como também os que tinham contra-indicações a serem submetidas à doação autóloga, como doenças transmissíveis pelo sangue (sorologias positivas), cardiopatias, nefropatias, hepatopatias, coagulopatias, acidente vascular cerebral recente (menos de 6 meses), anemia com hemoglobina menor que 11mg/dl, hematócrito menor que 33%, infecções ou neoplasias, e ainda pacientes que não tivessem um acesso venoso adequado para realizar a técnica.

Foram excluídos também indivíduos menores de 18 anos, os mentalmente incapacitados, mulheres grávidas, indígenas e estrangeiros.

#### **5.4.3 Amostragem**

##### **5.4.3.1 Identificação dos pacientes**

Foram avaliados 221 pacientes diabéticos diagnosticados pelos critérios da ADA (AMERICAN DIABETES ASSOCIATION, 2015), provenientes do Hospital Universitário de

Alagoas e da Unidade Básica de Referência João Paulo II, em Maceió-Alagoas-Brasil, com seguimento clínico através pelo setor de endocrinologia e clínica médica, e encaminhados ao setor de oftalmologia. Estes foram abordados pelo oftalmologista examinador, sobre se tinham queixas oculares de olho seco, orientados então sobre a pesquisa e questionados se tinham interesse em realizar um novo tratamento.

Os dados clínicos dos pacientes foram coletados como identificação, doenças coexistentes, uso de medicamentos e colírios, patologias, cirurgias ou tratamentos oculares prévios, antecedentes pessoais como tabagismo, através de questionário próprio (Apêndice A) ou dados já existentes em prontuário médico.

#### **5.4.3.2 Seleção dos pacientes**

Foram selecionados os pacientes com olho seco moderado a severo e que fossem refratários ou pouco responsivos à terapêutica convencional.

#### **5.5 Termo de consentimento livre e esclarecido**

Apenas os pacientes selecionados para o tratamento com CCP, e que aceitaram e demonstraram interesse em participar da pesquisa assinaram o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE) o qual lhes foi entregue no momento da consulta oftalmológica primária (prévia ao tratamento) (Apêndice B).

#### **5.6 Variáveis**

**5.6.1 Variáveis primárias:** Sintomatologia e sinais clínicos de olho seco.

**5.6.2 Variáveis secundárias:** Sintomas de desconforto ocular (ressecamento, ardor, queimação, visão turva, olhos grudados ou com muco ou crostas), injeção conjuntival, coloração conjuntival e corneana, disfunção meibomiana, alterações de pálpebras, alterações da lágrima e da superfície ocular, teste de Schirmer, teste do tempo de ruptura do filme lacrimal (TRFL) ou BUT (*Break Up Time*) e acuidade visual.

**5.6.3 Dados complementares:** idade, sexo, etnia, tempo de duração do diabetes, média da glicemia de jejum.

#### **5.6.4 Mensuração das variáveis**

Foi realizada através da tabela de classificação de severidade do olho seco do DEWS(DRY EYE WORKSHOP, 2007a) (figura 2), a qual segue o Painel Delphi, na qual basta um sinal e um sintoma de cada nível para corresponder ao mesmo (BEHRENS et al., 2006).

1.Sintomas:

a) Avaliação do desconforto ocular (sintomas como ardor, queimação, sensação de corpo estranho, ressecamento, prurido, olhos com muco, entre outros), através do questionário

específico (apêndice A) com gradação de 1 a 4, onde “1” significa que o desconforto ocorre raramente ou não ocorre, e vai aumentando a frequência até o nível “4” onde a queixa acontece quase que constantemente. Identificamos os sintomas típicos de olho seco isoladamente, caracterizadores de “desconforto ocular”, porém, na pontuação final, escolhemos o sintoma de maior gradação;

b) Turvação visual, também graduada de 1 a 4, respectivamente também de acordo com a intensidade desse sintoma e sua frequência;

2. Os sinais clínicos foram avaliados através de biomicroscopia em lâmpada de fenda (Topcon®), da seguinte forma:

a) Injeção conjuntival, considerada inexistente ou leve no grau 1, moderada ou regional no grau 2, difusa no grau 3 e severa com acometimento episcleral ou escleral no grau 4 (MCMONNIES; HO, 2009);

b) Coloração conjuntival a qual foi avaliada com rosa bengala 1% e fluoresceína sódica 1% (Ophthalmos-Ophthalmos® Indústria e Comércio de Produtos Farmacêuticos LTDA). Preferimos para essa gradação dividir a superfície ocular em três partes: conjuntiva bulbar temporal, conjuntiva nasal e área corneana, pontuando cada região de 0 a 3, sendo “0” a ausência de coloração, “1” a coloração leve, “2” a coloração difusa, mas sem preencher toda a área, e “3” a que preenche toda área. O total resulta no máximo em “9”, daí sugere-se fazer a média entre as 3 áreas (PEREIRA GOMES; LIMA; ADAN, 1999; VAN BIJSTERVELD, 1969). Então, se a média resultasse em um valor de “0 a 1”, a gradação no DEWS seria 1, de “1 a 2” seria grau 2 de DEWS, de “2 a 3” seria grau 3 de DEWS, e a pontuação de “3” seria grau “4” de DEWS.

c) Coloração corneana foi graduada como citado acima, porém a córnea foi dividida em 3 regiões: superior, média e inferior, e foi calculada também a média de cada região e graduada conforme o DEWS (VAN BIJSTERVELD, 1969).

d) outros sinais na córnea ou no filme lacrimal: no grau 1 não ocorrem ou são leves; no grau 2 ocorre redução do menisco lacrimal (menor que 0,35mm sugere olho seco) e aumento de debris; no grau 3 pode haver além dos sinais do grau 2, a ceratite filamentar; no grau 4 ocorrem todos os sinais do grau 3 e ainda pode haver ulceração corneana.

e) Alterações das pálpebras e glândulas meibomianas também podem surgir no grau de 1 a 4, podendo estar presentes ou não nos graus 1 a 2, sendo frequente no grau 3, enquanto no grau 4 já existem queratinização, triquíase, sendo possível simbléfaro.

f) TRFL (tempo de ruptura do filme lacrimal) ou TFBUT (*tear film break up time*), classificada de 1 a 4, onde grau 1 significa o tempo de ruptura do filme lacrimal variável ou

normal, grau 2 significa que o BUT é menor ou igual a 10 segundos, grau 3 é menor ou igual a 5 segundos, e grau 4 é imediata a quebra do filme lacrimal. O BUT é realizado instilando fluoresceína e solicitando que o paciente pisque e marcando-se quanto tempo surge o primeiro “defeito” ou “quebra” do filme lacrimal (CHO et al., 1998).

g) O teste de Schirmer também é avaliado na tabela de severidade, grau 1 seu valor (em milímetros) é variável ou normal, grau 2 é menor ou igual a 10mm, grau 3 é menor ou igual a 5mm, e no grau 4 é menor ou igual a 2mm. O teste de Schirmer usado foi o teste de Schirmer I que consiste em usar papel filtro padrão milimetrado #41 de 5 x 35mm (Ophthalmos-Ophthalmos® Indústria e Comércio de Produtos Farmacêuticos LTDA), no limite temporal do terço médio das pálpebras inferiores dos pacientes, sem uso do anestésico, avaliando-se quanto o papel fica umedecido após 5 minutos, o que reflete a secreção lacrimal (VAN BIJSTERVELD, 1969).

h) Acuidade visual: utilizando tabela de Snellen, e registrando a melhor acuidade visual corrigida de ambos os olhos;

Os pacientes foram avaliados também, de forma complementar, através do questionário OSDI (*Ocular Surface Disease Index*-Allergan), com escores registrados antes e depois do tratamento (SCHIFFMAN et al., 2000).

Todos esses pacientes foram ainda examinados para:

Tonometria de aplanção usando tonômetro de Goldmann, biomicroscopia (com lâmpada de fenda Topcon®), quando foram avaliados além dos sinais acima, outras alterações de superfície ocular e cristalino, fundoscopia (usando lente de 90DP de Volk®), realizada sob midríase com mydriacyl e fenilefrina 10% (Ophthalmos-Ophthalmos® Indústria e Comércio de Produtos Farmacêuticos LTDA), para detectar patologias vítreoretinianas ou coroideanas, principalmente retinopatia diabética.

## **5.7 Intervenção**

Avaliação clínica: os pacientes selecionados para o tratamento realizaram hemograma, sorologias para Chagas, sífilis, citomegalovírus, HTLV, HIV, e hepatites B e C. Com sorologias negativas e hemograma dentro dos parâmetros de normalidade, foram encaminhados para o Banco de Sangue do Estado (Hemocentro de Alagoas-HEMOAL) e submetidos a anamnese e exame físico com um único hematologista.

Devido à dificuldade de acesso venoso periférico escolhemos a técnica de doação autóloga ao invés da técnica de aférese de plaquetas, pois esta apesar de produzir um número final maior de plaquetas, necessita que o paciente tenha uma velocidade de fluxo sanguíneo

mínima para seu funcionamento, além de ter um custo de cerca de dez vezes maior que a técnica de doação.

Os pacientes considerados aptos foram submetidos à doação autóloga, através de venopunção da veia mediana do cotovelo sendo coletados 350 ml de sangue total, numa bolsa tripla previamente preparada com SAG manitol como anticoagulante e CPD (citrato de sódio, fosfato e dextrose) como conservante. O sangue foi processado numa centrífuga refrigerada (SORVALL-RC3BP+®), onde na primeira centrifugação, o plasma foi separado das hemácias numa frequência de 2000 rotações por 5 minutos, e na segunda centrifugação para separar o plasma das plaquetas, a frequência foi de 3800 rotações por 10 minutos. O produto final, que foi o concentrado de plaquetas randômicas, foi preparado em sala estéril de fluxo laminar e armazenado dentro dos frascos colírio estéreis, de 5 ml cada, com gluconato de cálcio como veículo. Os frascos colírios foram encaminhados para o Serviço de Microbiologia do CPML (Centro de Patologia Médica Laboratorial da Universidade de Ciências da Saúde de Alagoas (UNCISAL). Esse sangue foi submetido a cultura para bactérias e fungos nos meios de cultura tipo HEMOPROV®.

Os pacientes suspenderam o tratamento anterior para olho seco 5 dias antes de usar o CCP. Estes foram instruídos a lavar as mãos antes da aplicação do produto, para manter a área de aplicação limpa e para não tocar o conta-gotas. Foi recomendado ao paciente manter o frasco colírio em uso a +4 ° C e o restante à temperatura de -20 ° C.

Os pacientes foram aconselhados a descartar o colírio em uso após 7 dias e buscar um novo colírio para utilizar, congelado a -20 graus Celsius, o qual era mantido em congelador específico no Banco de Sangue (HEMOAL).

O paciente foi orientado a usar 1 gota de 6/6 horas em ambos os olhos, por 30 dias. Semanalmente esses pacientes foram examinados através de biomicroscopia e fundoscopia e após 30 dias, ocorreu nova avaliação através dos mesmos exames realizados antes do tratamento, para graduar a severidade do olho seco.

## **5.8 Método estatístico**

### **5.8.1 Cálculo do tamanho da amostra**

O tamanho da amostra foi definido por conveniência.

### **5.8.2 Análise estatística**

As médias e desvios-padrão da variável "idade" foram calculados como também a mediana e intervalo interquartil de todas as outras variáveis, utilizando software Biostat 5.3.(AYRES et al., [s.d.]).

Para análise do grau de severidade antes e depois do tratamento, cada variável da tabela do DEWS foi avaliada, utilizando o valor de um dos olhos (DRY EYE WORKSHOP, 2007c), o teste de Schirmer e o TRFL foi analisado pela média dos valores de ambos os olhos, e a acuidade visual foi calculada com os valores para cada olho separadamente, e para os sintomas, foram considerados ambos os olhos mutuamente.

Foi utilizado o teste de Wilcoxon para determinar a significância estatística, e os valores de  $p < 0,05$  foram considerados estatisticamente significativos. Já a acuidade visual foi avaliada usando os valores de ambos os olhos separadamente.

## 6 RESULTADOS

### 6.1 Os pacientes selecionados

Foram encaminhados para o serviço de Oftalmologia 221 pacientes diabéticos, entre os quais foram selecionados 58 pacientes que preenchiam os critérios para o tratamento de CCP, tendo olho seco sintomático, de moderado a severo, (que correspondem a um ou mais sintomas do nível 2 a 4 de severidade de DEWS, e um ou mais sinais clínicos ou teste objetivo positivo (teste de Schirmer menor ou igual a 10mm em 5 minutos ou TRFL (tempo de ruptura do filme lacrimal) menor que 10 segundos).

Dos 58, nove perderam o seguimento, tendo sido excluído um por causa de demência, dez por usarem colírio antiglaucomatoso, dois devido a ceratite e dois foram a óbito antes do tratamento começar. Dos 34 pacientes restantes nove não tinham interesse em fazer o tratamento, mesmo apesar de seus sintomas e sinais clínicos.

Os 25 pacientes restantes eram refratários ou pouco responsivos à terapia convencional para olho seco, sendo selecionados para tratamento com CCP. Estes passaram por avaliação para investigar condições que contraindicassem doações autólogas, tendo três sido excluídos por causa de condições clínicas (um paciente com doença cardíaca grave, um com crise hipertensiva, um com um acidente vascular cerebral recente, ou seja, com menos de seis meses), quatro por não terem um acesso venoso disponível para punção venosa, quatro foram excluídos por apresentarem sorologia positiva para doenças transmissíveis pelo sangue (um com HIV e sífilis, uma com HIV, um com doença de Chagas e HTLV, e um com hepatite B), um foi excluído porque a sua cultura de sangue para bactéria foi positiva. Um paciente abandonou o tratamento e acompanhamento. (Figura 3)

Figura 3. Fluxograma de seleção dos pacientes



## 6.2 O perfil epidemiológico dos pacientes

Dos 12 pacientes que foram submetidos ao tratamento com CCP e avaliados neste estudo, 11 eram mulheres e 01 homem. A idade média dos pacientes foi de  $59,5 \pm 11,58$  (DP).

Com relação à etnia dos pacientes selecionados, 04 (33,33%) eram brancos, 06 (50%) pardos e 02 (16,67%) negros. A média de glicemia de jejum desses pacientes era de  $195,42 \pm 95,95$  mg/dl. A média do tempo de duração da doença foi de  $11,25 \pm 7,04$  anos.

Quanto à escolaridade, 01 (8,33%) paciente relatou não ser alfabetizado, 01(8,33%) concluiu a alfabetização, 06 (50%) tinham o primeiro grau incompleto, 02 (16,67%) possuíam o segundo grau completo, 01(8,33%) tinha nível superior incompleto e 01 (8,33%) o superior completo.

Onze das pacientes eram donas de casa e um era técnico administrativo.

Com relação à renda familiar, 07 (58,33%) referiam receber um salário mínimo, 02 (16,67%) referiam receber dois salários mínimos, 02(16,67%) referiam receber entre dois e quatro salários mínimos.

Com relação a comorbidades sistêmicas e medicações, os resultados estão na Tabela 1.

Tabela 1. Comorbidades e uso de medicações dos 12 pacientes tratados.

Comorbidade/medicações	Prevalência (%)
HAS	50
Asma	16,67
Osteoartrose	16,67
Nódulo em tireoide	8,33
Hipoglicemiantes orais	100
ARA	25
Diuréticos	25
Insulina	16,67
IECA	16,67
Benzodiazepínicos	16,67
Inibidor de bomba de prótons	8,33

AAS	8,33
Hipolipemiantes	8,33
Bloqueador de canais de cálcio	8,33
Beta -bloqueador	8,33

Legenda: HAS= hipertensão arterial sistêmica, ARA= antagonistas do receptor de angiotensina, IECA= inibidores da enzima conversora de angiotensinogênio, AAS= ácido acetilsalicílico.

Fonte: autora.

Com relação a doenças oculares e uso de colírios os resultados estão descritos na Tabela 2.

Tabela 2. Patologias, medicações e antecedentes oculares.

Patologia/medicações/antecedentes oculares	Incidência (%)
Retinopatia diabética	50
Catarata	16,67
Glaucoma	16,67
Pterígio	8,33
Cirurgias oculares prévias	50
Uso de lubrificantes	100
Uso de ciclosporina	8,33

Fonte: autora.

### 6.3 Os resultados dos sintomas

Os resultados globais para os sintomas estão compilados na Tabela 3.

Na avaliação dos sintomas, houve uma melhora significativa em pacientes tratados com o CCP. Foram considerados como desconforto ocular a queixa de ressecamento, prurido ou sensação de corpo estranho, queimação, relato de olho vermelho (ou hiperemia), crostas e muco.

Quanto ao ressecamento ocular, os pacientes tiveram uma graduação com mediana de 3 (3-3) antes do CCP, e 1 (1-2) após um mês ( $p = 0,002$ ). Todos os pacientes (12/12) apresentaram diminuição na graduação de severidade para este sintoma e, desses, 66,67% (8/12) tiveram melhora total desse sintoma (grau 1) e 33,33% (4/12) tiveram melhora parcial.

Para a queixa de sensação de corpo estranho, os pacientes tiveram uma gradação com mediana de 3 (3-3) antes de CCP, e de 1,5 (1-2) após um mês ( $p = 0,002$ ). Todos (12/12) apresentaram diminuição na gradação de severidade para este sintoma e, desses, 50% (6/12) tiveram melhora total desse sintoma (grau 1) e 50% (6/12) tiveram melhora parcial.

Considerando o sintoma de queimação, os pacientes tiveram uma gradação com mediana de 3 (3-3) antes de CCP, e 1 (1-1) após um mês ( $p = 0,002$ ). Todos (12/12) tiveram melhora total desse sintoma (grau 1).

O relato de olho vermelho ou hiperemia entre os pacientes teve uma gradação com mediana de 3 (2-3) antes de CCP, e 1 (1-1) após um mês ( $p = 0,005$ ). Todos (12/12) apresentaram diminuição na gradação de severidade para este sintoma, 91,67% (11/12) tiveram melhora total deste sintoma (grau 1) e 8,33% (1/12) tiveram melhora parcial.

Com relação à queixa de crostas e muco, os pacientes tiveram uma gradação com mediana de 1 (1-1) antes de CCP, e 1 (1-1), um mês após ( $p = 0,17$ ), porém, apenas 16,67% (2/12) tinham esses sintomas antes do tratamento, logo os dois pacientes apresentaram melhora total (grau 1) de seus sintomas.

Depois do desconforto ocular, o outro item da classificação de severidade foi a queixa de visão turva. Os doentes tinham uma gradação com mediana de 2 (1,75-3) antes do CCP, e 2 (1-2) após um mês ( $p = 0,018$ ), 58,33% (7/12) apresentaram diminuição na gradação de severidade para esse sintoma. Porém, apenas 75% (9/12) tinham esse sintoma antes do CCP, logo, 77,78% (7/9) apresentaram diminuição na gradação de severidade, sendo que destes, 2 dos 9 apresentaram melhora total (grau 1) dos seus sintomas.

#### **6.4 Os sinais clínicos**

Após os tópicos de sintomas - desconforto ocular - e relato de visão turva ou embaçada, foram então registrados os resultados dos sinais clínicos e testes objetivos, ainda conforme a tabela de classificação de severidade de DEWS.

Os sinais que se seguem estão resumidos na Tabela 4 e alguns ilustrados nas fotos a seguir.

Tabela 3: Sintomas de olho seco caracterizando desconforto ocular segundo critérios de DEWS

	Olhos ressecados		Sensação de areia		Queimação ocular		Olhos vermelhos		Croscas nos cílios/olhos grudados pela manhã		Turvação visual	
	Antes	Depois de 1 mês	Antes	Depois de 1 mês	Antes	Depois de 1 mês	Antes	Depois de 1 mês	Antes	Depois de 1 mês	Antes	Depois de 1 mês
Paciente 1	3	2	3	2	3	1	1	1	1	1	1	1
Paciente 2	3	1	3	1	3	3	1	1	1	1	3	2
Paciente 3	3	1	3	1	3	3	1	1	1	1	3	2
Paciente 4	3	1	3	2	3	3	1	1	1	1	2	2
Paciente 5	3	1	3	1	3	3	1	1	3	1	3	2
Paciente 6	4	1	4	2	4	4	1	1	4	1	4	3
Paciente 7	3	2	3	2	3	3	2	2	1	1	3	2
Paciente 8	3	1	3	1	3	2	1	1	1	1	2	1
Paciente 9	3	1	3	1	3	2	1	1	1	1	1	1
Paciente 10	3	2	3	2	3	3	1	1	1	1	2	2
Paciente 11	3	1	3	1	3	2	1	1	1	1	1	1
Paciente 12	3	2	3	2	3	1	1	1	1	1	2	1
	p=0,002		p=0,002		p=0,002		p=0,005		p=0,17		p=0,018	

Legenda: 1: nunca, 2: poucas vezes, 3: frequente, 4: constante

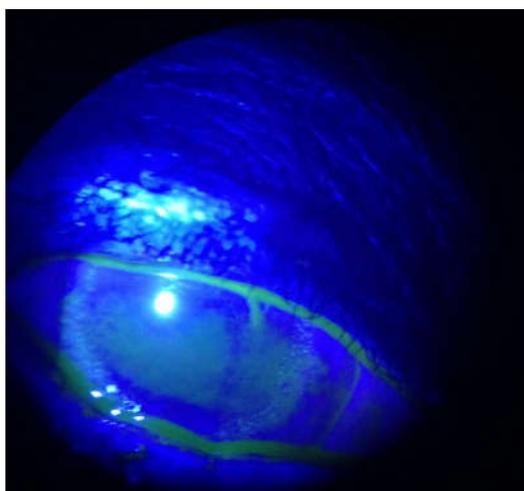
Fonte: autora

Com relação ao sinal clínico injeção conjuntival, os pacientes tinham uma gradação com mediana de 1(1-2) antes do CCP e 1(1-1) depois do CCP ( $p=0,07$ ). Dos 12 pacientes, 33,33% tiveram diminuição na gradação de severidade da hiperemia (4/12), e 66,67% permaneceram sem alterações. Porém, apenas 4 tinham hiperemia antes e, destes, 3 tiveram melhora total (grau 1).

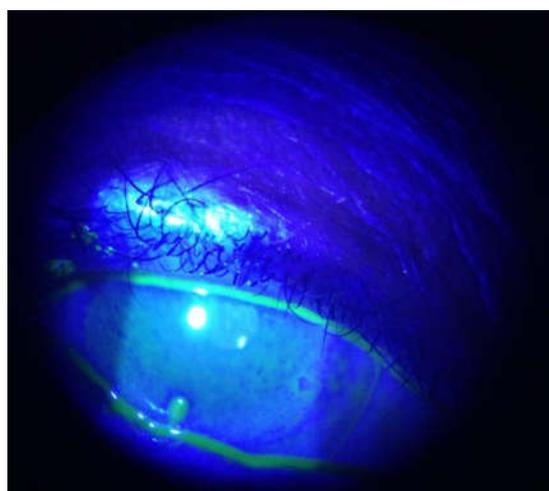
Quanto à coloração conjuntival, os pacientes tinham uma gradação com mediana de 1,5(1-2) antes do CCP, e 1(1-2) depois do CCP ( $p=0,03$ ). Dos 12 pacientes, 50% tiveram melhora da coloração (6/12), e 50% permaneceram sem alterações. Porém, apenas 6 tinham coloração antes e todos estes (100%) tiveram melhora total (grau 1).

Considerando a coloração da córnea, os pacientes tinham uma gradação com mediana de 1(1-1) antes do CCP e 1(1-1) depois do CCP ( $p=0,18$ ). Dos 12 pacientes, apenas 2 tinham alguma coloração corneana antes e, destes, ambos tiveram diminuição na gradação de severidade, porém apenas um dos dois obteve melhora total deste sinal (grau 1).

Paciente 6 – Coloração com fluoresceína antes e depois do tratamento com CCP.

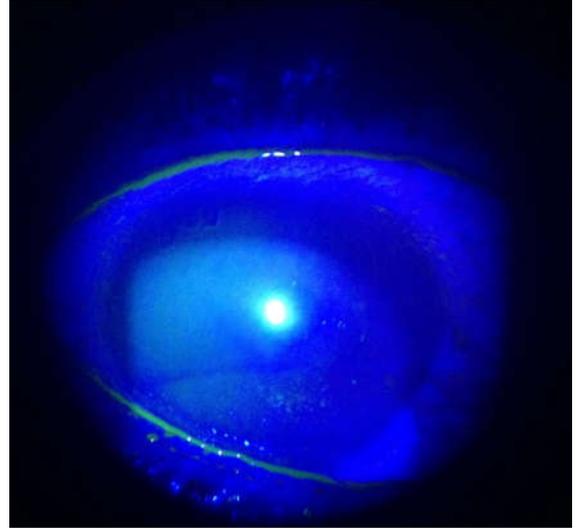
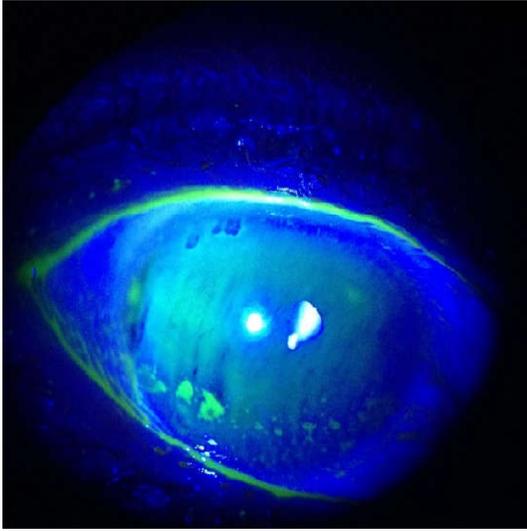


Antes , com coloração patológica.



Depois, com melhora na estabilidade lacrimal.

Paciente 8 – Coloração com fluoresceína antes e depois do tratamento com CCP.

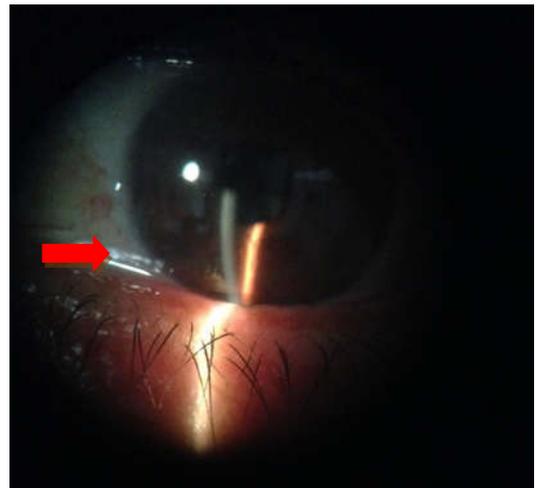
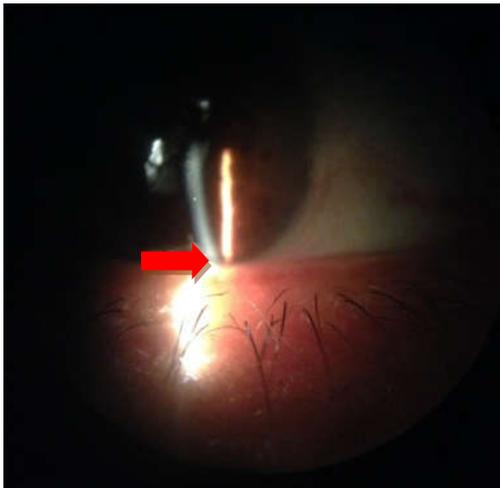


Antes, com coloração patológica.

Depois, com melhora na estabilidade lacrimal.

Quanto a outros sinais em lágrima e córnea, como a avaliação do menisco lacrimal, os pacientes tinham uma gradação com mediana de 2(2-2) antes do CCP, e 1(1-1,25) depois do CCP ( $p=0,005$ ). Dos 12 pacientes, 83,33% tiveram diminuição da gradação de severidade desses sinais (10/12), destes 9 dos 12 tiveram melhora total (grau 1) e 16,67% (2/12) permaneceram com as mesmas alterações.

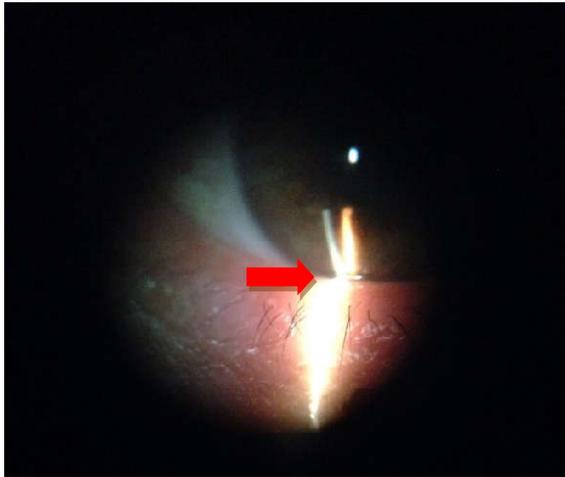
Paciente 1 – Menisco Lacrimal antes e depois do tratamento com CCP



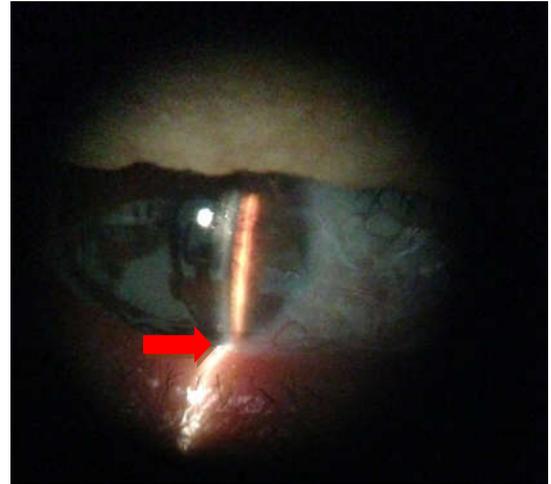
Antes, quase inexistente.

Depois, mais evidente.

Paciente 2 – Menisco Lacrimal antes e depois do tratamento com CCP.

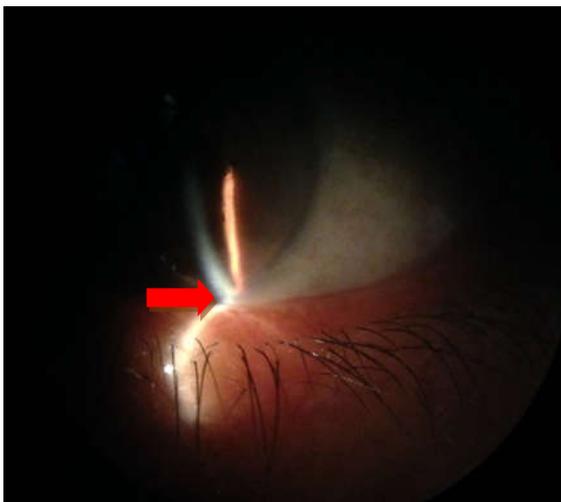


Antes, quase inexistente.

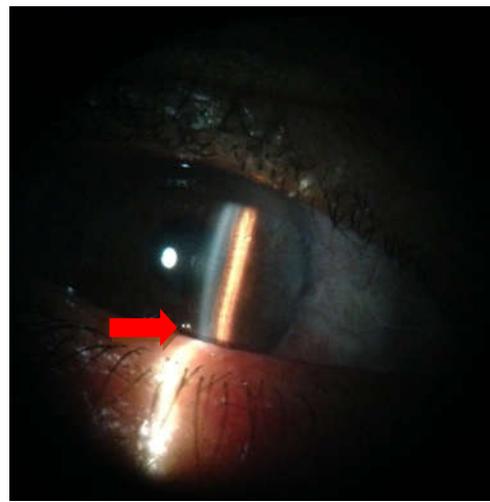


Depois, mais evidente.

Paciente 3 – Menisco Lacrimal antes e depois do tratamento com CCP.

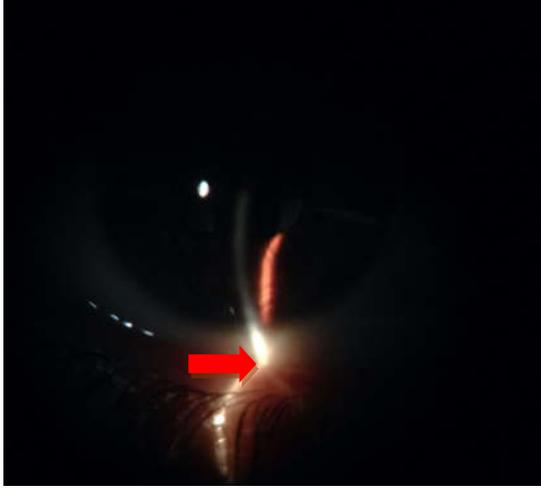


Antes, quase inexistente.

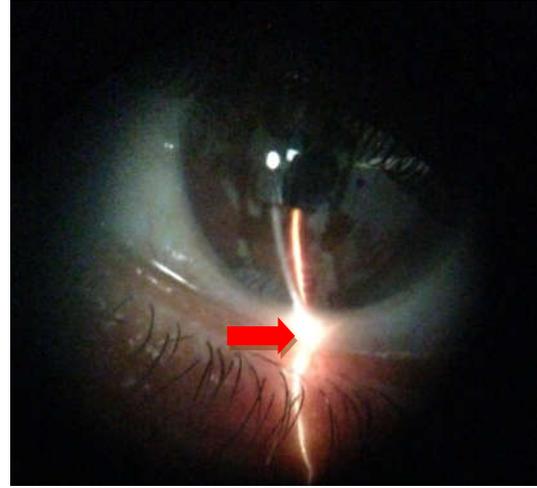


Depois, mais evidente.

Paciente 4 – Menisco Lacrimal antes e depois do tratamento com CCP.

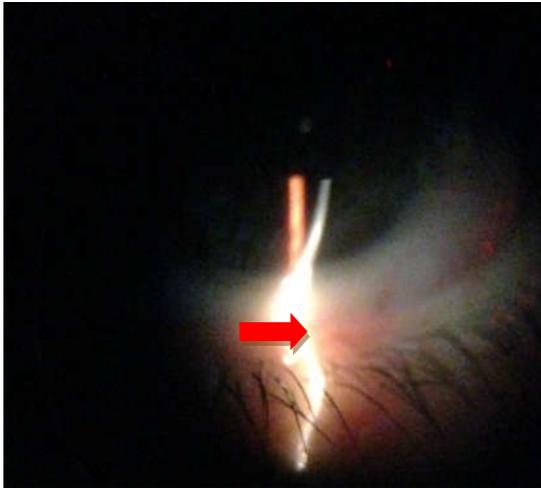


Antes, quase inexistente.

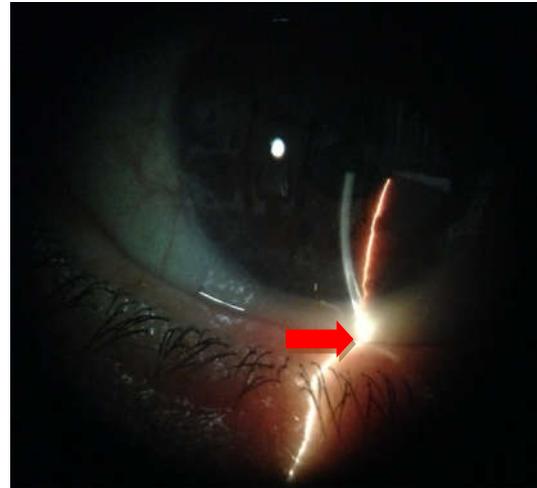


Depois, mais evidente.

Paciente 5 – Menisco Lacrimal antes e depois do tratamento com CCP.



Antes, quase inexistente.

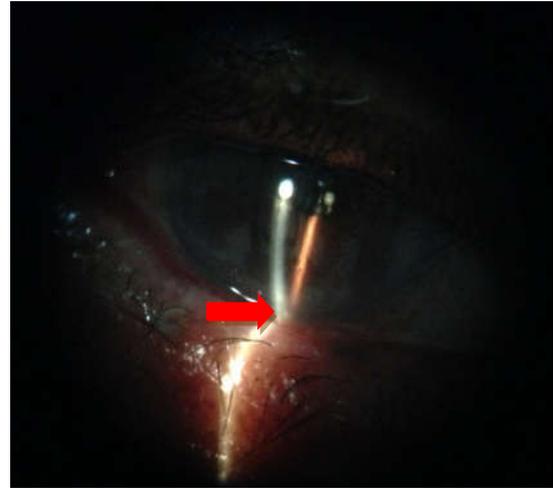


Depois, mais evidente.

Paciente 6 – Menisco Lacrimal antes e depois do tratamento com CCP.

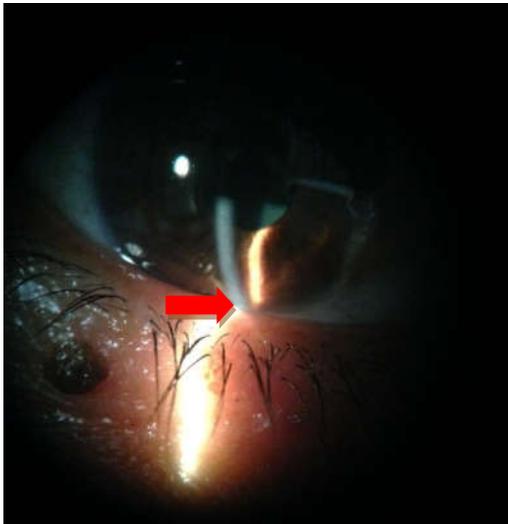


Antes, quase inevidente.

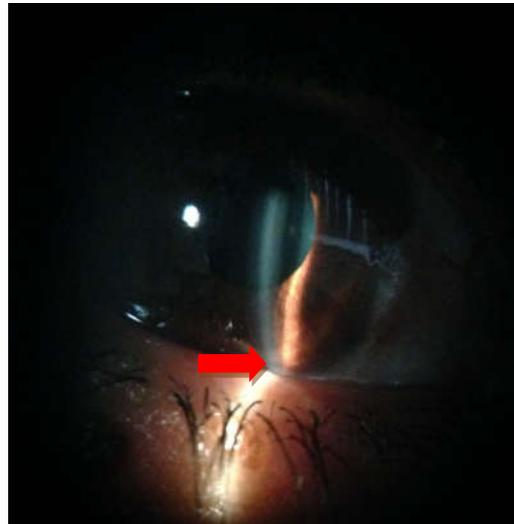


Depois, mais evidente.

Paciente 7 – Menisco Lacrimal antes e depois do tratamento com CCP.

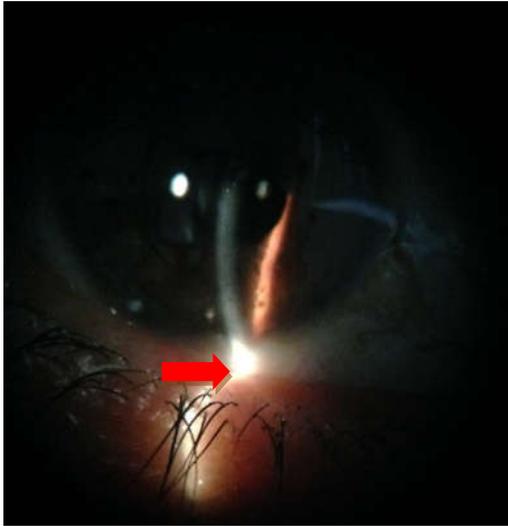


Antes, quase inevidente.

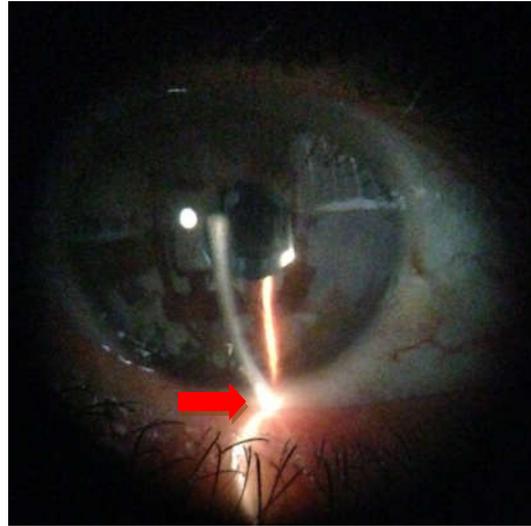


Depois, mais evidente.

Paciente 8 – Menisco Lacrimal antes e depois do tratamento com CCP.



Antes, quase inexistente.

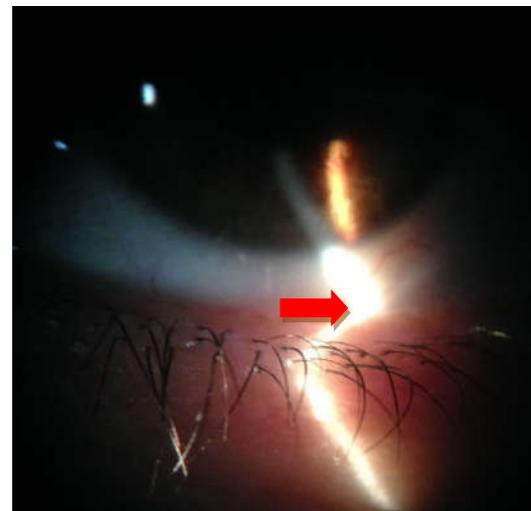


Depois, mais evidente.

Paciente 9 – Menisco Lacrimal antes e depois do tratamento com CCP.

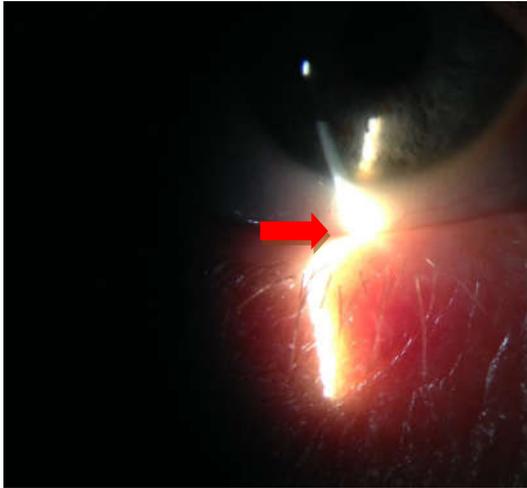


Antes, quase inexistente.

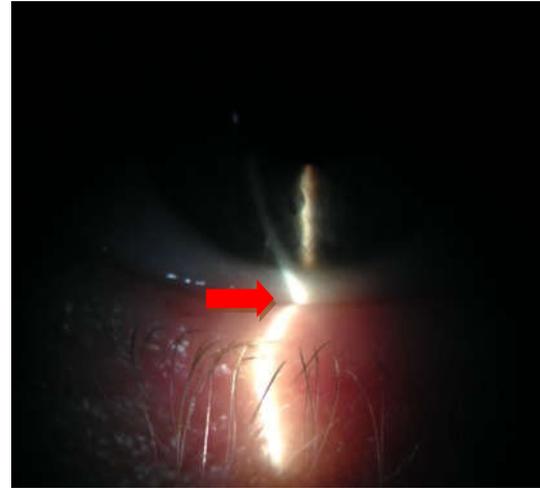


Depois, mais evidente.

Paciente 10 – Menisco Lacrimal antes e depois com CCP.

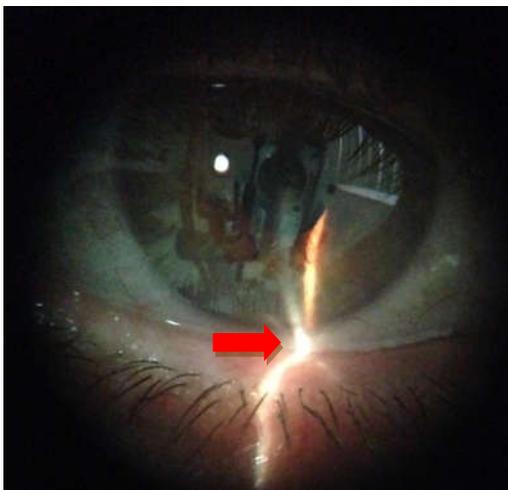


Antes, quase inexistente.

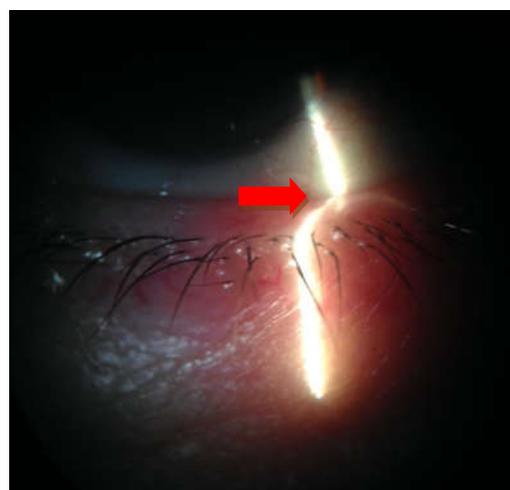


Depois, mais evidente.

Paciente 11 – Menisco Lacrimal antes e depois do tratamento com CCP.

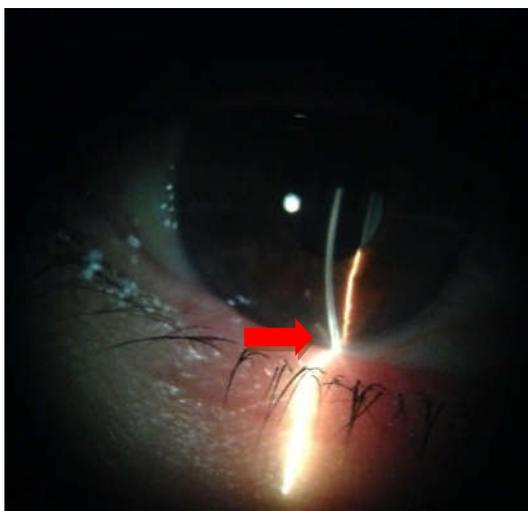


Antes, quase inexistente.

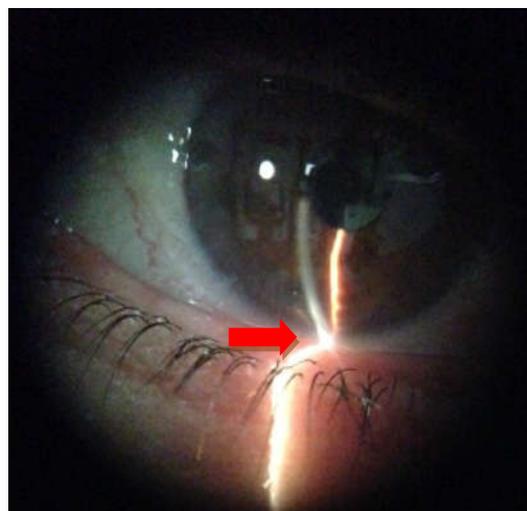


Depois, mais evidente.

Paciente 12 – Menisco Lacrimal antes e depois do tratamento com CCP.



Antes, quase inexistente.



Depois, mais evidente.

A disfunção de glândulas de Meibomius e as alterações palpebrais também foram avaliadas. Os pacientes tinham uma graduação com mediana de 1(1-1,5) antes do CCP e 1(1-1) depois do CCP ( $p=0,18$ ). Dos 12 pacientes, 16,67% tiveram melhora dessas alterações e (1/12) ou seja 8,33% permaneceram na mesma situação. Logo, apenas 3 tinham alterações antes, e destes, 66,67% (2/3) tiveram melhora total (grau 1), deste sinal.

Tabela 4. Sinais clínicos de olho seco segundo critérios de DEWS

	Hiperemia		Coloração conjuntival		Coloração corneana		Sinais em córnea e lágrima		Alterações nas pálpebras e glândulas	
	Antes	Depois de 1 mês	Antes	Depois de 1 mês	Antes	Depois de 1 mês	Antes	Depois de 1 mês	Antes	Depois de 1 mês
Paciente 1	1	1	1	1	1	1	2	1	1	1
Paciente 2	1	1	1	1	1	1	2	1	3	1
Paciente 3	1	1	1	1	1	1	2	1	1	1
Paciente 4	1	1	2	1	1	1	2	1	1	1
Paciente 5	1	1	1	1	1	1	2	1	1	1
Paciente 6	3	2	3	1	4	3	3	2	4	4
Paciente 7	1	1	2	1	1	1	2	1	1	1
Paciente 8	1	1	2	1	2	1	2	1	3	1
Paciente 9	1	1	1	1	1	1	2	2	1	1
Paciente 10	2	1	1	1	1	1	2	1	1	1
Paciente 11	2	1	2	1	1	1	2	1	1	1
Paciente 12	2	1	2	1	1	1	2	2	1	1

p=0,07

p=0,03

p=0,18

p=0,005

p=0,18

Legenda Hiperemia e Coloração Conjuntival 1: ausente, 2: leve, 3: moderada, 4: importante ou severo

Legenda Coloração corneana 1: ausente, 2: leve, 3: moderada predominando central, 4: importante ou severo (difusa)

Legenda sinais em córnea e lágrima 1: Ausente, 2: menisco lacrimal diminuído e debris na lágrima, 3: Presença de muco ou filamento, 4: Ceratite filamentar, muco e possível úlcera de córnea

Legenda Alterações nas pálpebras e glândulas 1: ausente, 2: Leve melbomite, 3: blefarite moderada, 4: Triquiasse, simbléfaro, cicatrizes

Fonte: autora

### 6.5. Os testes objetivos

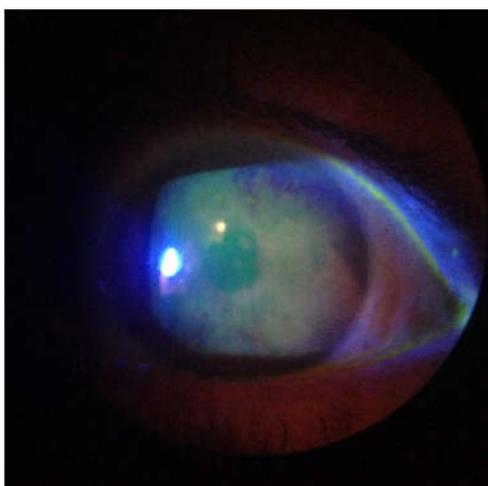
Os testes de Schirmer I e TRFL estão sintetizados na Tabela 5.

Quanto ao Teste de Schirmer, foram utilizadas as médias dos valores entre ambos os olhos. Considerando o valor de gradação no teste Schirmer (de 1 a 4 como citado nos métodos), os pacientes tiveram uma gradação com mediana de 3 (2-3) antes do CCP, e 2 (1-3) após um mês de tratamento ( $p = 0,11$ ). Dentre os 12 pacientes, 41,67% (5/12) obtiveram diminuição na gradação de severidade do teste, 50% (6/12) não tiveram nenhuma alteração nesta gradação e 8,33% (1/12) obteve um valor reduzido no teste após o tratamento.

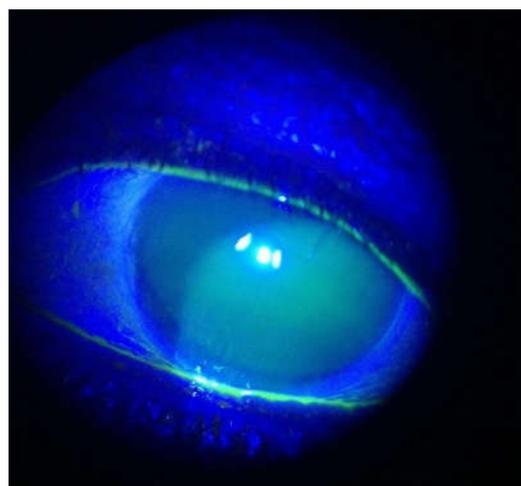
Porém, considerando o valor bruto em milímetros do teste de Schirmer, usando a média entre os dois olhos, a mediana foi de 5 (4-9,25) antes do CCP, e 8 (5-12,25) depois do tratamento. A média antes era  $6,75\text{mm} \pm 3,66$ , antes e  $8,96\text{mm} \pm 4,56$  após o tratamento. ( $P = 0,04$ ). Avaliando desta forma, 66,67% (8/12) apresentaram melhora neste teste, 25% (3/12) não teve alteração e 1 paciente (8,33%) evoluiu com um valor menor do teste após tratamento.

O teste do tempo de ruptura do filme lacrimal (TRFL) teve uma gradação com mediana de 2,5 (2-3) antes de CCP, e 2 (1,75-3) após um mês ( $p = 0,018$ ). Dentre os doze pacientes, 58,33% (7/12) tiveram diminuição na gradação de severidade do teste e 41,66% (12/05) não tiveram alteração nesta gradação, alguns achados estão registrados nas imagens a seguir.

Paciente 1 – Coloração com fluoresceína (estabilidade do filme lacrimal-TRFL) antes e depois do tratamento com CCP.

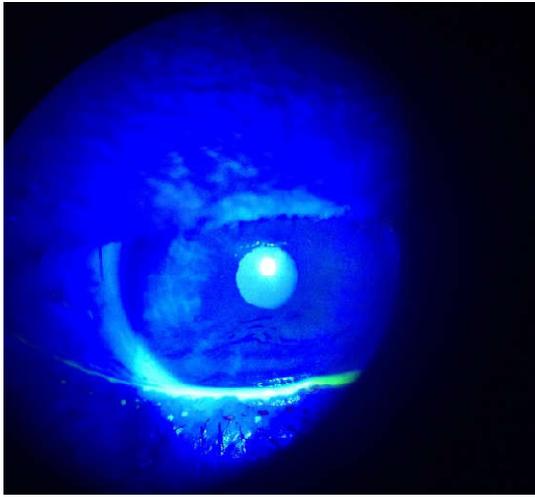


Antes, filme lacrimal instável.

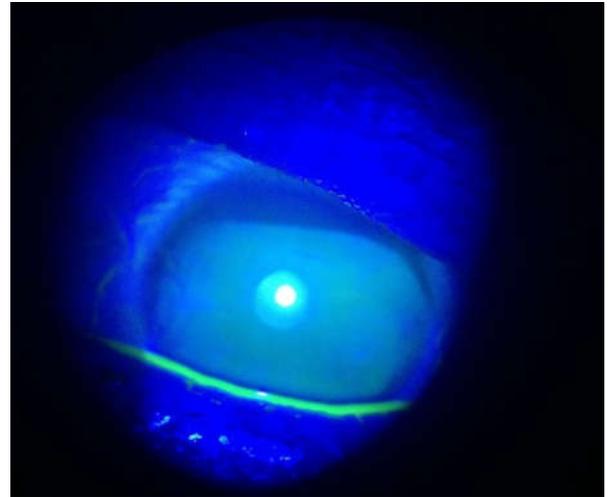


Depois, maior estabilidade

Paciente 2 – Coloração com fluoresceína (estabilidade do filme lacrimal-TRFL) antes e depois do tratamento com CCP.

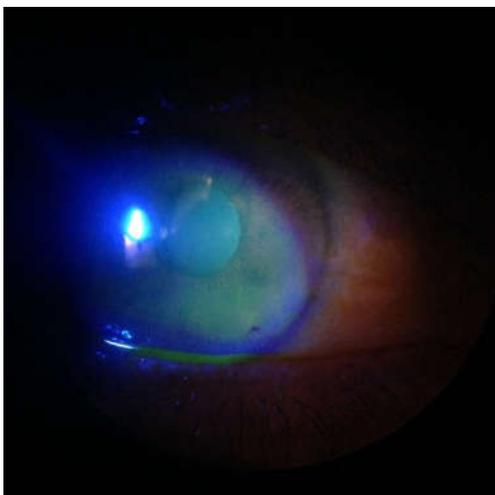


Antes, filme lacrimal instável.

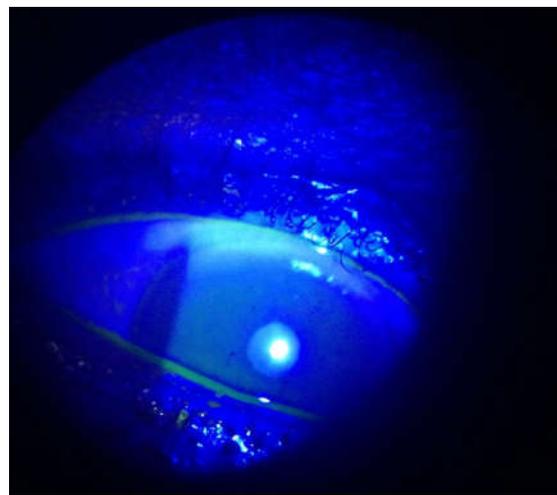


Depois, maior estabilidade.

Paciente 3 – Coloração com fluoresceína (estabilidade do filme lacrimal-TRFL) antes e depois do tratamento com CCP.

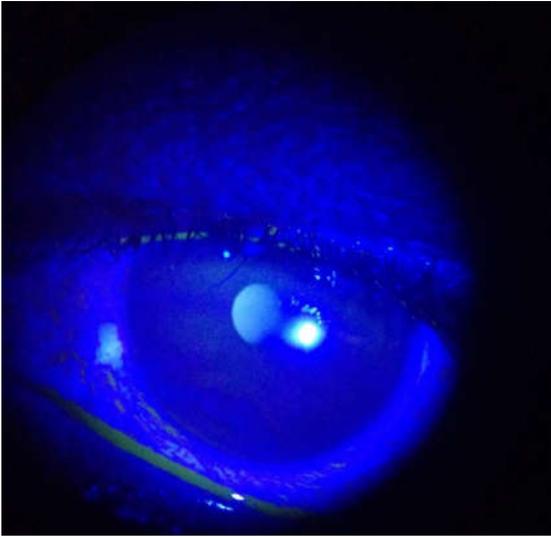


Antes, filme lacrimal instável.

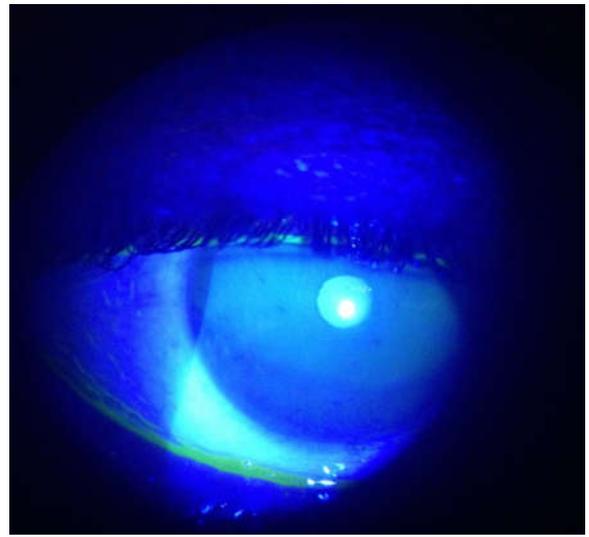


Depois, maior estabilidade.

Paciente 4 – Coloração com fluoresceína (estabilidade do filme lacrimal-TRFL) antes e depois do tratamento com CCP.

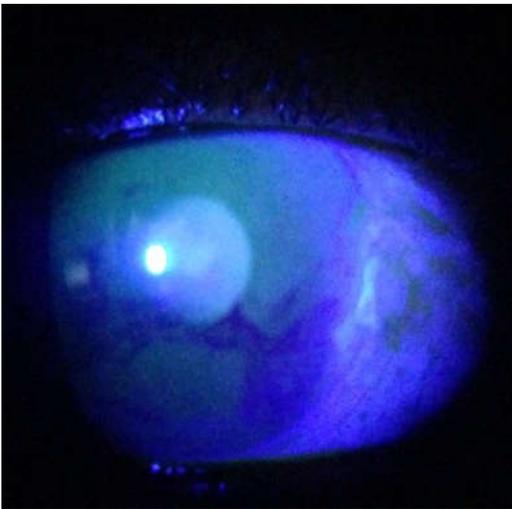


Antes, filme lacrimal instável.

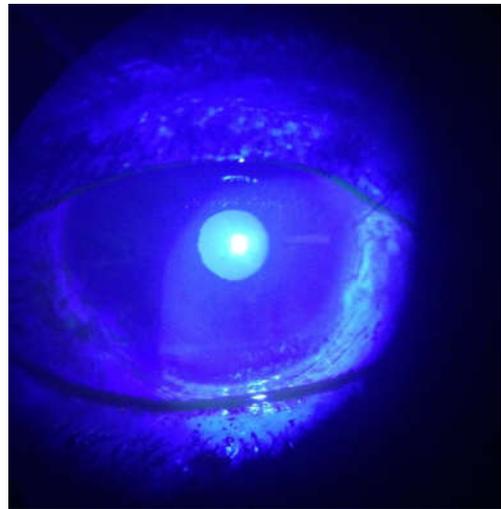


Depois, maior estabilidade.

Paciente 5 – Coloração com fluoresceína (estabilidade do filme lacrimal-TRFL) antes e depois do tratamento com CCP.

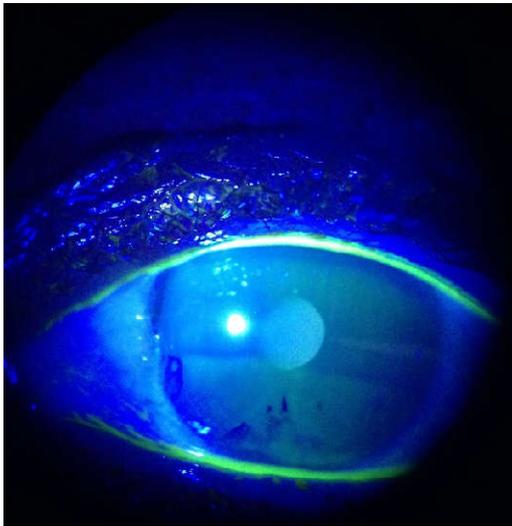


Antes, filme lacrimal instável.

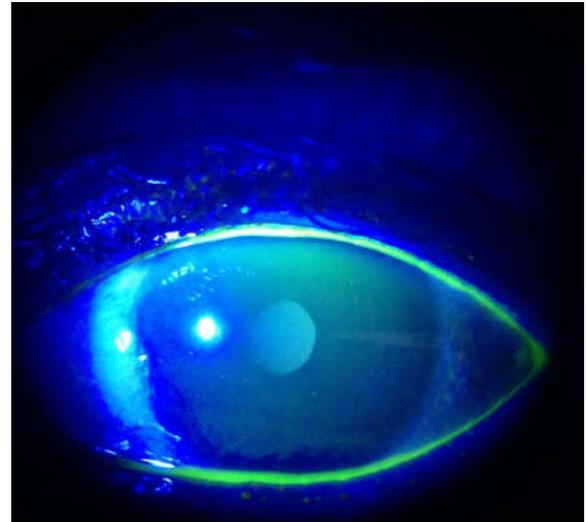


Depois, maior estabilidade.

Paciente 7 – Coloração com fluoresceína (estabilidade do filme lacrimal –TRFL) antes e depois do tratamento com CCP.

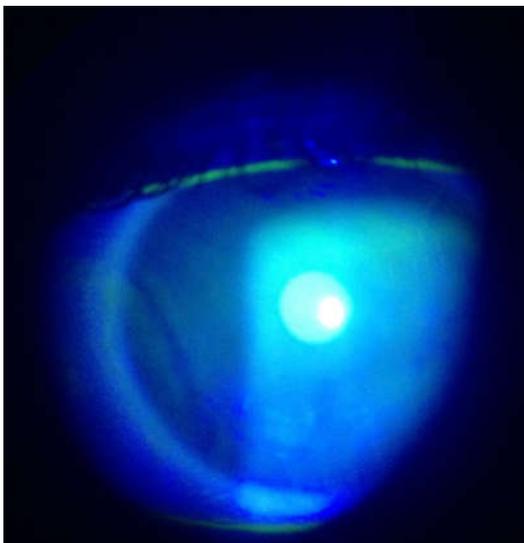


Antes, filme lacrimal instável.

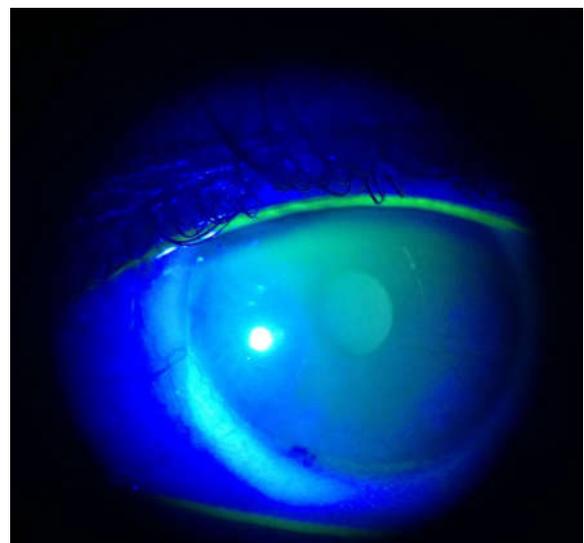


Depois, maior estabilidade.

Paciente 9 – Coloração com fluoresceína (estabilidade do filme lacrimal –TRFL) antes e depois do tratamento com CCP.

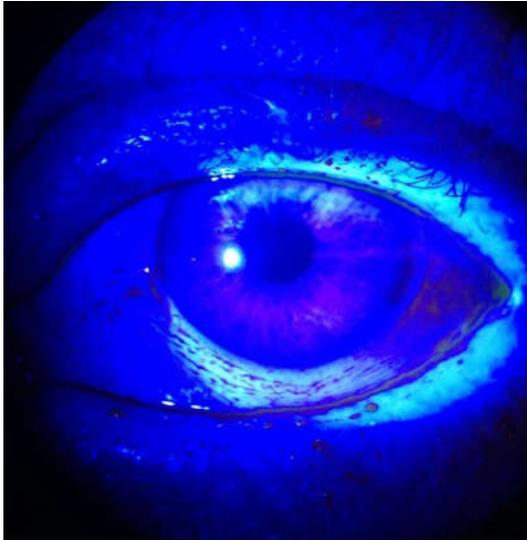


Antes, filme lacrimal instável.

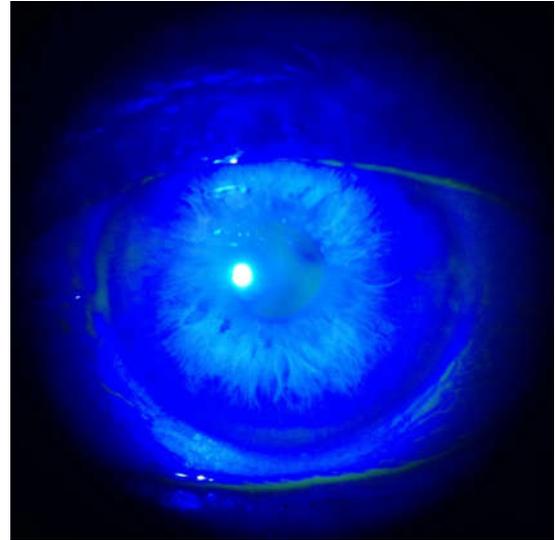


Depois, maior estabilidade.

Paciente 10 – Coloração com fluoresceína (estabilidade do filme lacrimal –TRFL) antes e depois do tratamento com CCP.

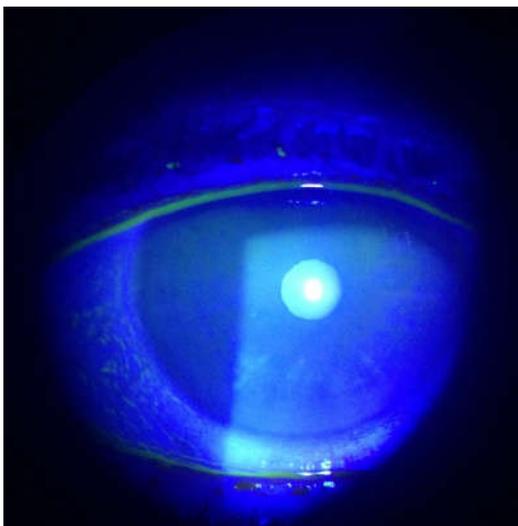


Antes, filme lacrimal instável.

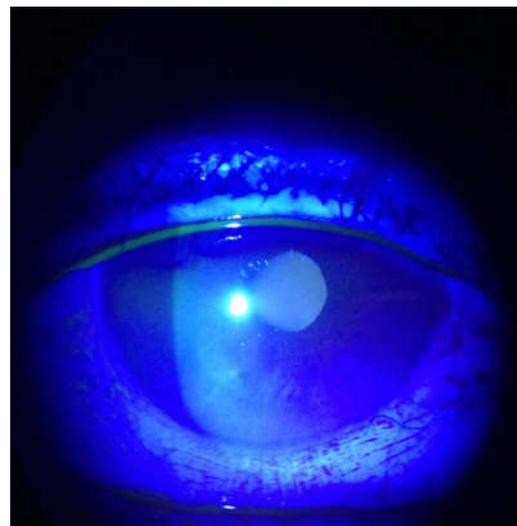


Depois, maior estabilidade.

Paciente 11 – Coloração com fluoresceína (estabilidade do filme lacrimal-TRFL) antes e depois do tratamento com CCP.

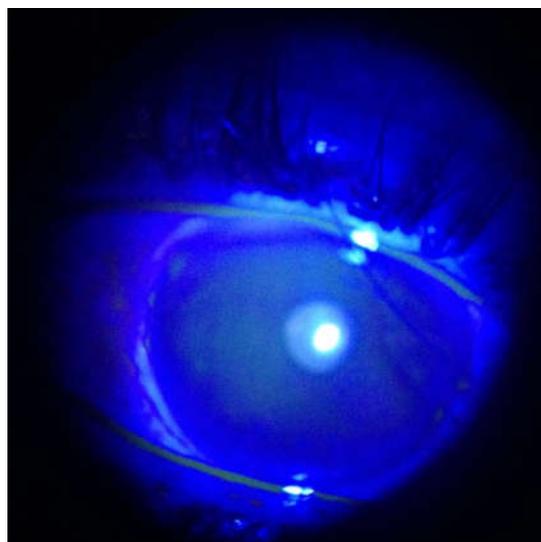
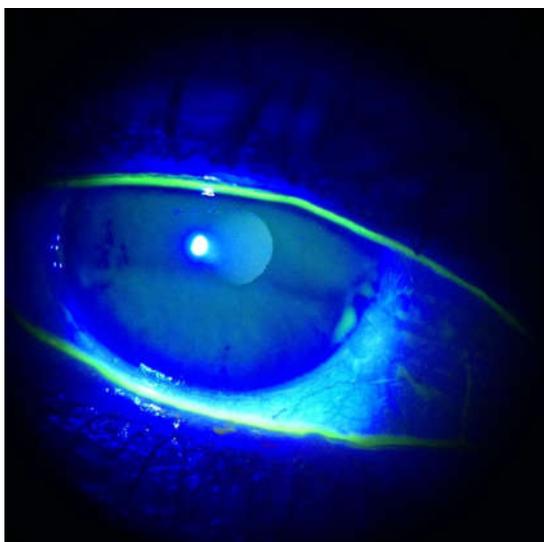


Antes, filme lacrimal instável.



Depois, maior estabilidade.

Paciente 12 – Coloração com fluoresceína (estabilidade do filme lacrimal-TRFL) antes e depois do tratamento com CCP.



Antes, filme lacrimal instável.

Depois, maior estabilidade.

Tabela 5. Testes Objetivos:  
gradação de severidade  
baseada no DEWS.

	Teste de Schirmer		BUT ou (TRFL)	
	Antes	Depois de 1 mês	Antes	Depois de 1 mês
Paciente 1	2	3	2	2
Paciente 2	4	1	2	2
Paciente 3	3	2	2	1
Paciente 4	3	3	2	2
Paciente 5	2	2	2	1
Paciente 6	3	2	3	2
Paciente 7	1	1	2	1
Paciente 8	3	2	2	1
Paciente 9	1	1	2	1
Paciente 10	3	3	2	2
Paciente 11	2	1	2	1
Paciente 12	3	3	2	2
	p=0,11		p=0,018	

Legenda: Schirmer 1: teste schirmer variável (maior ou igual a 15mm= "normal"); 2: teste schirmer menor ou igual a 10mm; 3: teste de schirmer menor ou igual que 5mm; 4: teste de schirmer menor ou igual que 2mm

Legenda BUT: break up time, 1: variável ou maior que 10 segundos (ou seja, "normal"); 2: menor ou igual a 10 segundos; 3: menor ou igual a 5 segundos; 4: imediato

TRFL: tempo de ruptura do filme lacrimal

Fonte: autora

## 6.6 A acuidade visual

A acuidade visual foi também avaliada de forma complementar, mas não para classificação. Considerando-se a melhora no número de linhas de acuidade visual no olho direito, 41,66% (5/12) dos pacientes tiveram melhora de uma ou mais linhas, 8,33% (1/12) tiveram redução de pelo menos uma linha e 50% (6/12) não tiveram alteração de acuidade no olho direito.

Com relação à melhora no número de linhas de acuidade visual no olho esquerdo, 41,66% (5/12) tiveram melhora de uma ou mais linhas e 58,33% (7/12) não tiveram alteração na acuidade do olho esquerdo.

## 6.7 O escore do questionário OSDI

Os 12 pacientes foram submetidos ao questionário OSDI antes e depois do uso do CCP. O questionário tem resultado que se baseia no seguintes em escores: 0 a 12 considerado normal, de 13 a 22 olho seco leve, de 23 a 32 olho seco moderado e de 33 a 100 olho seco severo (SCHIFFMAN et al., 2000).

Todos os pacientes (100%) obtiveram melhora dos índices após tratamento, ( $p=0,002$ ). Avaliando apenas por esse índice, antes do CCP, 11 pacientes dentre os 12 (91,67%) tinham olho seco grave e apenas 1 (8,33%) tinha olho seco moderado.

Após tratamento, 6 dos 12 pacientes (50%) tinham índices avaliados como normais, 25% (3/12) tinham olho seco classificado como leve, 2 (16,66%) tinham olho seco moderado e 1 (8,33%) ainda tinha olho seco severo. A mediana antes era 52,4(48,12-59,67), passado, após o tratamento, para 11,25(4,32-18,75). A média dos escores antes era  $56,13 \pm 20,94$  e depois foi encontrada  $13,15 \pm 11,40$  (Tabela 6).

## 6.8 A classificação final de severidade do DEWS

Considerando a classificação de DEWS (de 1 a 4), os pacientes se apresentaram antes e após tratamento conforme Tabela 6.

Os pacientes tiveram uma gradação com mediana de 3 (2-3) antes do CCP e de 2 (1-2) após um mês de tratamento ( $p = 0,005$ ). Dos 12 pacientes, 83,33% obtiveram alguma melhora no grau de severidade do olho seco, enquanto 16,67% (2/12) permaneceram com a mesma gradação.

Todos os pacientes utilizaram o tratamento por um mês e não houve nenhum caso de intolerância ou efeitos indesejáveis que poderiam ser atribuídos ao uso de CCP.

Tabela 6. Classificação final da severidade do olho seco

	Score do OSDI		Grau de Severidade DEWS	
	Antes	Depois de 1 mês	Antes	Depois de 1 mês
Paciente 1	42,5	12,5	2	2
Paciente 2	50	10	3	2
Paciente 3	32,5	0	3	2
Paciente 4	63,8	8,33	3	2
Paciente 5	58,3	27,7	2	2
Paciente 6	100	15,6	4	3
Paciente 7	90	5	2	1
Paciente 8	50	22,5	3	1
Paciente 9	27,2	0	2	1
Paciente 10	54,5	2,27	3	2
Paciente 11	52,3	36,4	2	1
Paciente 12	52,5	17,5	3	2
	p=0,002		p=0,005	

Legenda OSDI: 0 a 12: olho normal; 13 a 22: olho seco leve; 23 a 32: olho seco moderado; 33 a 100: olho seco severo

Legenda DEWS: Um sintoma e um sinal no maior grau referido já caracterizam o mesmo

Fonte: autora

## 7 DISCUSSÃO

O diabetes é uma das principais causas de cegueira no mundo, e o olho seco é uma das alterações oculares que podem contribuir para essa condição. O paciente diabético com olho seco pode evoluir com ceratopatias, úlceras neurotróficas, opacidades corneanas, perfuração e até perda de visão (MANAVIAT et al., 2008).

A prevalência de olho seco em diabetes tem variado entre 14 e 54% (CAFFERY et al., 1998)(SHIMMURA; SHIMAZAKI; TSUBOTA, 1999; MOSS; KLEIN; KLEIN, 2000 ;SCHEIN et al., 1997). Esse dado é compatível com nosso estudo que mostrou uma frequência de 26,2%, dentre os 221 diabéticos avaliados. A maior incidência do olho seco em geral é no sexo feminino e principalmente em idosas, provavelmente devido à diminuição do nível de andrógenos nessa fase da vida, o que causa alterações nas glândulas de Meibomius (SULLIVAN et al., 2009). Sendecka et al. encontraram uma prevalência de 80% de olho seco no sexo feminino das acima de 50 anos, o que corrobora com nosso estudo, em que 11 dos 12 pacientes eram mulheres (SENDECKA; BARYLUK; POLZ-DACEWICZ, 2004). Moss et al, em um estudo de 5 anos, observaram que a incidência do olho seco aumentava com a idade, e em nosso estudo, os pacientes tinham uma média de idade maior que 59 anos.

Alguns estudos não revelaram predileção entre grupos étnicos quando se trata de olho seco em geral (MISRA et al., 2014; SCHAUMBERG et al., 2009). Já um outro estudo realizado na Escócia, avaliando quatro grupos, chineses, indianos, africanos e caucasianos, demonstrou uma menor estabilidade do filme lacrimal em chineses, seguidos dos africanos, e uma melhor estabilidade do filme lacrimal em brancos (MISRA et al., 2014). Neste grupo de pacientes tratados, encontramos um maior número de indivíduos pardos (50%).Sabe-se que a classificação étnica em geral é difícil, arbitrária e imperfeita (CAVALLI-SFORZA, 2003), por essa razão há variáveis na literatura no que se refere a classificações étnicas, que se diferem com o momento e a razão dos estudos. Então, com base nessas informações, preferimos dividir nosso grupo de estudo em brancos, pardos (que incluiriam os mestiços) e negros. No Nordeste brasileiro, o censo de 2010 mostra que 50,7% da população são de negros e mestiços, o que está de acordo com nossos achados (IBGE, 2015).

Ainda do ponto de vista epidemiológico, não foram encontrados na literatura fatores de risco como escolaridade ou nível socioeconômico que pudessem influenciar no olho seco, e um estudo na Indonésia também mostrou que a profissão também não foi um fator de risco significativo (SMITH, 2007; LEE et al., 2002). Os pacientes deste estudo tinham uma escolaridade relativamente baixa, inclusive a maioria não chegou a concluir o primeiro grau (66,67%).

Nossos pacientes apresentaram também uma renda familiar baixa, com 75% recebendo até dois salários mínimos. Isto também não interferiu em nosso estudo, visto que os mesmos não precisaram arcar com custos durante esse tratamento.

Com relação aos fatores de risco para o olho seco diabético, alguns estudos mostram, por exemplo que o olho seco é mais frequente em pacientes com um controle glicêmico inadequado, principalmente ocorrendo nas fases de hiperglicemia devido à hiperosmolaridade extracelular que afeta a produção de lágrima (NEPP et al., 2000; BINDER et al., 1989; KAISERMAN et al., 2005; SEIFART; STREMPPEL, 1994). Em nosso estudo foi evidenciado que a glicemia de jejum teve uma média de  $195,42 \pm 95,95$  mg/dl entre os doze pacientes selecionados para o tratamento, o que pode ser considerado uma glicemia alta (AMERICAN DIABETES ASSOCIATION, 2015).

A média do tempo de duração da doença neste estudo foi de  $11,25 \pm 7,04$  anos. A média encontrada foi  $25,8 \pm 11,4$  anos em um dos estudos mais recentes na literatura, sobre perfil epidemiológico de olho seco diabético (MISRA et al., 2014). Essa disparidade poderá ser atribuída às condições sócioeconômicas desses pacientes, visto que a maioria deles vem de uma classe social baixa, inclusive 9 dos 12 não possuem plano de saúde e utilizam o Sistema Único de Saúde (SUS), onde o acesso aos exames é mais demorado, atrasando o diagnóstico.

Outros possíveis fatores de risco foram a presença de algumas comorbidades e o uso de determinadas medicações. A análise desses fatores varia muito na literatura, e um estudo de epidemiologia do olho seco, realizado pelo subcomitê do DEWS, elencou alguns fatores como relevantes e outros como incertos ou inconclusivos (SMITH, 2007). Em nosso estudo, 50% dos pacientes tinham hipertensão arterial (6/12). Schaumberg et al acharam que a relação entre hipertensão arterial e uso de anti-hipertensivos com olho seco foi estatisticamente significativa (SCHAUMBERG et al., 2009). Moss também encontrou em um estudo em 2000 relação importante entre hipertensão arterial, alergia e uso de diuréticos com olho seco. Em 2004, o mesmo autor não achou resultados relevantes para associação entre hipertensão arterial, doença de tireoide, alergia, entre outras, com o olho seco (MOSS; KLEIN; KLEIN, 2004; MOSS; KLEIN; KLEIN, 2000).

Devido a essa controvérsia, não excluimos pacientes com hipertensão arterial, nem em uso de medicações, visto que pacientes diabéticos em geral usam diversas medicações; e, além disso, sabemos que estas podem ter efeitos adversos diferentes de pessoa para pessoa. Em relação aos nossos pacientes, todos tomavam hipoglicemiantes orais, 2 pacientes (16,67%) usavam insulina. Dentre os anti-hipertensivos mais mencionados estavam os diuréticos e inibidores de enzima conversora de angiotensinogênio. Há um estudo que mostra

que essa última medicação teve inclusive um papel protetor no desenvolvimento de olho seco (MOSS; KLEIN; KLEIN, 2004; MOSS; KLEIN; KLEIN, 2000).

Com relação a patologias oculares associadas, observou-se que 50% dos pacientes tinham retinopatia diabética, o que é compatível com alguns dos estudos de prevalência de olho seco em diabetes, como o de Manaviat et al., que mostrou uma incidência de aproximadamente 70% de retinopatia nesses pacientes (MANAVIAT et al., 2008; NAJAFI et al., 2013).

Dos 12 pacientes, dois tinham catarata e dois tinham glaucoma, que são algumas das manifestações oculares no diabetes (NEGI; VERNON, 2003); 50% tinham realizado cirurgias oculares, principalmente a facectomia. Porém, Moss, em seu estudo, não encontrou relação entre cirurgia de catarata, nem catarata com olho seco (MOSS; KLEIN; KLEIN, 2000), enquanto Yao et al. observaram que a facectomia pode alterar a superfície ocular e contribuir para o olho seco (YAO et al., 2015); e os 6 pacientes que tinham sido submetidos à facectomia, em nosso estudo, não demonstravam severidade do olho seco muito diferente dos demais que não haviam realizado cirurgia previamente.

Pelo fato de a literatura evidenciar que os colírios antiglaucomatosos podem causar alterações de superfície ocular, então olho seco, o que também observamos na prática clínica, os pacientes que usavam esses medicamentos foram excluídos (GOMES et al., 2013).

No que se refere a diagnóstico do olho seco, sabe-se que, por ser uma doença multifatorial, este é controverso, pois os sintomas em geral não se correlacionam com os sinais nem com os testes clínicos (VERSURA; PROFAZIO; CAMPOS, 2010), existindo inúmeras maneiras de classificar, diagnosticar e avaliar o olho seco, as quais divergem bastante nos consensos mundiais (BEHRENS et al., 2006), pois os especialistas muitas vezes se utilizam de sua experiência clínica e do que lhes é disponível na prática diária.

Sabe-se que o diabetes mellitus é uma importante causa de olho seco, com disfunções tanto na quantidade de lágrima quanto em sua qualidade, e tudo isso pode levar a alterações severas de superfície ocular, como fragilidade epitelial, ceratopatia punctata, defeitos epiteliais persistentes e diminuição da sensibilidade corneana. O resultado final são complicações irreversíveis como desconforto ocular crônico, interferindo na qualidade de vida do paciente, ou perda visual. Todos os nossos pacientes queixavam-se de desconforto crônico e relatavam interferência nas atividades diárias (MISRA et al., 2014).

O DEWS recomenda que se obtenha um ou mais sintomas típicos de olho seco e um ou mais testes. Os mais comumente usados são a coloração com corantes vitais, o teste de

Schirmer e o TRFL positivos, o que seguimos em nosso estudo (DRY EYE WORKSHOP, 2007c).

Os testes diagnósticos em olho seco são então de pouca especificidade quando utilizados sozinhos, sem nenhuma combinação. Nosso principal critério para diagnosticar e ao mesmo tempo classificar o olho seco foi seguir a classificação de severidade do DEWS (DRY EYE WORKSHOP, 2007c), que é baseada em sinais e sintomas graduados de 1 a 4, onde apenas um sintoma associado a qualquer um dos sinais clínicos positivos de uma das graduações já configura a mesma.

Em um dos poucos estudos avaliando testes diagnósticos em pacientes diabéticos especificamente, os melhores testes para diagnosticar foram aqueles com melhor sensibilidade, especificidade e acurácia, destacando-se o OSDI, TRFL, teste de Schirmer, coloração com fluoresceína e osmolaridade lacrimal (NAJAFI et al., 2015). Todos esses testes foram utilizados em nosso estudo, exceto o teste de osmolaridade lacrimal, o qual é dispendioso, demorado e exige muita lágrima para ser avaliada, o que é difícil em olho seco, e o microchip, por ser mais recente para analisar a osmolaridade, não é disponível no Brasil (NAJAFI et al., 2015).

Aplicamos também em nosso estudo o questionário OSDI (*Ocular Surface Disease Index*-Allergan) (SCHIFFMAN et al., 2000), o qual se baseia em 12 questões sobre presença e frequência de sintomas clássicos de olho seco, interferência dos sintomas em realizar hábitos diários como ler, ver televisão, dirigir e usar computador, e a piora dos sintomas com a presença de fatores externos como vento forte, condições de baixa umidade ou exposição ao ar condicionado (anexo A). Este questionário gera um escore com pontuação, onde o olho seco é classificado entre normal, olho seco leve, moderado e severo. Na literatura, a sensibilidade e especificidade desse questionário para diagnosticar olho seco têm sido das melhores quando associado ao TRFL e ao teste de Schirmer (ALVES et al., 2014), que foram testes utilizados também em nosso estudo.

O tratamento do olho seco nesses pacientes, como em outras etiologias, tem sido difícil tanto por ser uma doença multifatorial, de diagnóstico controverso, como pelo fato de que, em casos severos, o resultado não tem sido satisfatório (DRY EYE WORKSHOP, 2007c).

A terapêutica convencional inclui várias opções como lágrimas artificiais, oclusão do ponto lacrimal, uso de lentes de contato terapêuticas e tratamento específico das doenças dos anexos oculares. Entretanto essas terapias não funcionam para todos os pacientes.

Procedimentos cirúrgicos como uso o de membrana amniótica e até transplantes de córnea têm sido realizados para restaurar danos da superfície ocular (ANITUA et al., 2015).

As lágrimas artificiais são de longe o tratamento mais utilizado. Dentre elas estão novas formulações como as livres de conservantes, as hipotônicas, as que contêm lipídios que impedem a evaporação, substâncias com propriedades bioadesivas para aumentar a retenção de água, e outras fórmulas com substâncias protetoras contra o estresse celular causado pela hipertonicidade da lágrima (ARAGONA et al., 2013).

Estudos demonstram uma melhora relativa em pacientes com olho seco, principalmente quando se trata de olho seco leve a moderado. Foi observado, em uma revisão sistemática realizada por Doughty et al., que dentre todos os tipos de lágrimas artificiais, como a hipromelose, o ácido poliacrílico e o ácido hialurônico, houve uma melhora nos sinais de olho seco em aproximadamente 25% dos casos, sem diferença significativa entre os diversos grupos de lubrificantes (DOUGHTY; GLAVIN, 2009). Observamos em nosso estudo que dos 58 pacientes com olho seco moderado e severo, apenas 9 (15,52%) apresentavam melhora nos sintomas com uso prévio de lubrificantes, diferença provavelmente atribuída ao fato de que nosso estudo utilizou apenas pacientes diabéticos, e os demais utilizaram diversas etiologias de olho seco.

Alguns estudos têm mostrado que o uso da ciclosporina em olho seco diminui a inflamação, mas provoca irritação ocular crônica. Barreto et al. fez um estudo comparando o uso de ciclosporina com um lubrificante (carboximetilcelulose), e não encontrou diferença estatisticamente significativa entre os dois grupos, em termo de sintomas, coloração corneana, nem no TRFL; apenas observaram uma melhora no teste de Schirmer com a ciclosporina (BARRETO et al., 2009). Apenas um de nossos pacientes utilizou previamente a ciclosporina, atribuímos tal fato ao alto custo desta medicação. Esta paciente não obteve melhora nem na sintomatologia, nem no teste de Schirmer com este colírio.

Os corticosteroides também têm tido bons resultados em alguns casos. Yang Chang et al. realizaram um estudo com 30 pacientes que obtiveram melhora com o uso de fluormetalona, porém os efeitos colaterais são importantes, como o risco de desenvolver catarata e glaucoma. (ANITUA et al., 2015; YANG; SUN; GU, 2006). Apenas um dos pacientes deste estudo havia utilizado esta medicação previamente, e este não obteve melhora no quadro de olho seco e ainda desenvolveu hipertensão ocular após seu uso.

O grande problema é que nenhum destes tratamentos contém as propriedades da lágrima humana principalmente sem as moléculas bioativas e fatores de crescimento (DOGRU; TSUBOTA, 2011). Então em 1975 Ralph et al relataram efeito satisfatório do soro

autólogo em doenças da superfície ocular, (RALPH; DOANE; DOHLMAN, 1975) reforçado em 1984 por Fox et al que utilizou o plasma em olho seco (FOX et al., 1984). Desde então, foi descoberto que o soro autólogo mantém o ATP intracelular e a integridade da membrana celular, o que não ocorre com lágrimas artificiais (POON et al., 2001).

Alguns autores já compararam o soro autólogo com as lágrimas artificiais e encontraram melhora dos sintomas e sinais clínicos de olho seco com o primeiro. Urzua et al por exemplo, realizaram um estudo randomizado duplo cego, comparando pacientes com lágrimas artificiais e soro, e avaliaram sintomas pelo OSDI, encontrando uma melhora de 50% para os pacientes que usavam soro autólogo, em contraste com 22% nos pacientes que utilizavam lágrima artificial (URZUA et al., 2012). Não existem até então ensaios randomizados comparando o concentrado de plaquetas com lágrimas artificiais em olho seco, nem comparando a eficácia do soro autólogo com o colírio de concentrado de plaquetas. Em nosso estudo, o que podemos observar foi que os doze pacientes apresentaram melhora total ou parcial com o CCP, e todos relatavam que comparando com os lubrificantes que usaram anteriormente, nunca haviam observado tal melhora em tão curto espaço de tempo.

Estudos mais recentes utilizaram plasma rico em fatores de crescimento ou plasma rico em plaquetas, visto que contribuem para a hemóstase, além de conterem inúmeros fatores de crescimento e citocinas com papel fundamental na regeneração tecidual. Foi relatado o seu uso em 1990 com função adesiva, semelhante à cola de fibrina (GIBBLE; NESS, 1990). Uma vez ativadas, as plaquetas liberam um número extenso de proteínas e fatores de crescimento como PDGF, TGF- $\beta$ , VEGF, IGF-I, HGF, PF-4, trombospodina, angiopoetina, entre outros, iniciando o processo de cicatrização. Além de ter muito mais fatores de crescimento que o soro autólogo, o concentrado de plaquetas possui a vantagem de ter maior número de plaquetas e não apresentar leucócitos, os quais são desencadeadores de resposta inflamatória (ANITUA et al., 2015).

Em 2007, Alio et al. relataram o uso de concentrado de plaquetas (CCP) num estudo piloto em 18 pacientes com olho seco sintomático, com excelente melhora nos sintomas e com redução da coloração corneana. Já em 2011, Lopez-Plandolit et al. descreveram o uso em 16 pacientes também com boa melhora dos sintomas e de alguns sinais clínicos. Ambos os estudos utilizaram pacientes com diversas causas de olho seco (ALIO et al., 2007a; LÓPEZ-PLANDOLIT et al., 2011). Porém, não existem até o momento estudos utilizando esse tratamento em pacientes diabéticos.

Em nossa metodologia, utilizamos 12 pacientes diabéticos, número semelhante aos dois estudos existentes com o uso do CCP em olho seco de outras causas. A estatística foi

trabalhada com pacientes e não com olhos, visto que a doença do olho seco é uma patologia que em geral ocorre simetricamente em ambos os olhos; e utilizou-se, em algumas variáveis, a média dos valores entre os dois olhos, o que proporciona uma menor variabilidade entre as medidas (RAY et al., 1985).

Foi calculado o tamanho da amostra para os 221 pacientes diabéticos, porém o tamanho da amostra final foi por conveniência. Não realizamos um estudo randomizado com grupo controle pois os pacientes já eram refratários aos tratamentos habituais, e apresentavam complicações da doença, portanto tínhamos a intenção de trata-los. E este trata-se de um estudo de ensaio clínico temporal pois utilizou-se um único grupo, com a patologia, os quais foram submetidos a um tratamento, e avaliados antes e depois do mesmo.

Outro tópico controverso, o qual foi usado como critério de exclusão, seria as sorologias positivas para doenças transmissíveis pelo sangue. Exceto no HIV, que já se sabe que o vírus pode sofrer reativação quando reinfundido, as demais doenças não seriam uma contraindicação formal, visto que a doação seria autóloga. Mas, em virtude de existir também o risco do manuseio do material contaminado pela equipe de saúde, optou-se por não fazer o tratamento nesses pacientes (GEERLING; MACLENNAN; HARTWIG, 2004).

Quatro pacientes dos 25 iniciais foram excluídos por sorologias positivas. Foi um índice relativamente alto, visto que, por exemplo, uma tese realizada para avaliar as sorologias positivas num banco de sangue revelou que de mais de 37 mil doadores, 0,07% tinham HBSAg positivo, 0,03% tinham HIV positivo, e 0,13% tinham VDRL positivos. Contrastando com achados deste estudo, observamos que 8% (2/25) tinham HIV, 4% (1/25) sífilis, e 4%(1/25) HBSAg positivo. Porém, a comparação é limitada pela diferença marcante entre as amostras (FERREIRA, 2007).

O diabetes mellitus não é uma contraindicação para doação autóloga desde que compensado clinicamente (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2001; BRASIL, 2013), mas uma limitação ao tratamento com CCP é o acesso venoso prejudicado; e 16% dos pacientes (4/25) foram impossibilitados de fazer o tratamento por não conseguirmos realizar a punção para doação. O mesmo já tem sido observado na literatura, e a dificuldade de acesso venoso ocorre mais frequentemente em idosos e diabéticos (KONNER, 2000).

Com relação à técnica de obtenção de concentrado de plaquetas, Alio et al., em seu estudo, utilizaram a técnica de doação autóloga (ALIO et al., 2007a). Já Rezende et al, em primeiro relato do uso do concentrado de plaquetas no Brasil em úlcera neurotrófica pós transplante de córnea, utilizaram a técnica de aférese de plaquetas (REZENDE et al., 2007).

Sabe-se que existem mais de 30 técnicas para obtenção do CCP, muitas delas são até comercializadas. Há uma grande variação na composição, conteúdo proteico, quantidade de plaquetas, presença ou não de leucócitos, e indicações também diversas para cada um. Isso faz com que os resultados tanto em eficácia quanto em segurança variem na literatura (ANITUA et al., 2015).

As formas que o concentrado de plaquetas pode ser usado, além do CCP, são de forma injetável e como bioadesivos de fibrina ou membrana de fibrina, com propriedade selante, sendo aplicadas em úlceras ou ferimentos na superfície ocular (ANITUA; TROYA; ORIVE, 2012).

Com relação aos resultados clínicos, 100% dos nossos pacientes apresentaram uma melhora nas queixas dos sintomas, como ressecamento, ardor, queimação, sensação de corpo estranho, visão borrada e queixa de hiperemia; somente em um sintoma que foi o de crostas e muco, houve melhora nos dois únicos pacientes que apresentavam a queixa. Esse sintoma de crostas e muco, pode também ser devido a blefarite associada, a qual pode também contribuir para o olho seco.

Os dois únicos estudos que relatam o uso de CCP em olho seco de diversas causas (mas não especificamente em diabéticos) tiveram achados semelhante; Alio et al observaram que 89% dos 18 pacientes evoluíram com alguma melhora, total ou parcial, dos sintomas; e Lopez-Plandolit et al acharam que 14 dos 16 pacientes avaliados (87,5%) (ALIO et al., 2007a; LÓPEZ-PLANDOLIT et al., 2011) obtiveram melhora no escore do SDEQ 3 (*modified Dry Eye Questionnaire*), difícil de comparar pois o método utilizado para avaliar foi diferente entre o presente estudo e esses dois últimos, além do que essas pesquisas foram realizadas com pacientes com outras etiologias de olho seco, principalmente Síndrome de Sjogren e Stevens Jonhsons, cujos mecanismos de olho seco são diferentes dos que ocorrem em pacientes diabéticos.

Seguindo a tabela de severidade do DEWS, após avaliados os sintomas, são então avaliados os sinais e realizados os testes objetivos que são o TRFL e o teste de Schirmer.

No item “injeção conjuntival”, dos critérios de severidade do DEWS, que significa em geral inflamação da superfície ocular, avaliamos o grau de hiperemia de nossos pacientes antes e depois. Semelhante ao estudo de Alio et al (ALIO et al., 2007a), encontramos apenas 33,3% de pacientes que apresentavam esse sinal clínico antes do tratamento, compatível com o primeiro estudo que encontrou 38,9% de pacientes que possuíam o sinal antes do tratamento. Destes, 86% (6/7) melhoraram após o tratamento, enquanto em nosso estudo, todos os 4 pacientes que apresentavam o sintoma antes (100%) obtiveram melhora clínica.

Muito provável que tenha ocorrido a diminuição da inflamação da superfície nesses pacientes, não somente por diluição dos fatores pró-inflamatórios existentes na superfície ocular como também devido a inibidores da inflamação como antagonistas dos receptores da interleucina -1 , inibidores das metaloproteinases e fator de crescimento epitelial (ANITUA et al., 2004).

A coloração conjuntival pode ser avaliada com os três corantes vitais, embora, se usarmos a fluoresceína, o ideal seria utilizar um filtro amarelo específico para melhorar o contraste. A fluoresceína cora os espaços em que há perda de integridade celular. A rosa bengala pode ser utilizada assim como a verde lissamina; ambas coram células desvitalizadas, muco e filamentos. A rosa bengala cora bem a conjuntiva, porém é mais tóxica e irritativa que a verde lissamina (QUEIROGA; DINIZ, 2010).

Em nosso estudo, apenas 6 pacientes tinham alguma coloração conjuntival, usando rosa bengala 1% e fluoresceína sódica 1%. Todos os seis tiveram alguma melhora, seguindo a gradação de severidade do DEWS (DRY EYE WORKSHOP, 2007c). Esse tópico não foi avaliado em nenhum dos dois estudos com CCP em olho seco.

Já a coloração da córnea com fluoresceína é um parâmetro importante no diagnóstico e manejo do olho seco, visto que essa doença pode alterar a superfície ocular e causar danos ao epitélio corneano devido à instabilidade lacrimal (GAYTON, 2009). A presença de ceratite foi avaliada no estudo de Alio et al., tendo sido encontrada uma melhora em 72% dos pacientes, e todos tinham esse sinal antes do tratamento. Em nosso estudo só dois pacientes tinham esse sinal clínico, e ambos tiveram melhora, avaliando-os pelos critérios de severidade de DEWS (DRY EYE WORKSHOP, 2007c).

Outros sinais em córnea e filme lacrimal incluem os *debris* na lágrima, muco e filamentos que são indícios de instabilidade lacrimal e também alterações nas camadas de mucina e lipídica. Nesse critério também é considerado a altura do menisco lacrimal o qual é medido na lâmpada de fenda e consiste na distância entre a margem da pálpebra inferior e o limite entre a superfície ocular e a borda da lágrima. Muitos autores consideram diminuído quando abaixo de 0,35mm, (FRIDMAN, 2004), que foi o parâmetro utilizado neste estudo.

Dentre os 12 pacientes deste estudo, 83,33% tiveram melhora no aspecto do filme lacrimal, em contraste com os 56% dos casos de Alio et al. Atribui-se essa diferença talvez às diferentes etiologias dos casos naquele estudo, onde foram avaliados muitos pacientes com Síndrome de Sjogren e Síndrome de Stevens Jonhson.

Com relação à disfunção de glândulas de Meibomius ou alterações palpebrais, sabe-se que os pacientes com olho seco podem ter alguma doença de pálpebra ou glândulas com

possibilidade de influenciar no olho seco, seja causando aumento da evaporação ou diminuição da secreção lacrimal (BEHRENS et al., 2006). Apenas 3 tinham alterações antes, e destes, (2/3) ou 66,67% tiveram melhora. Uma paciente não melhorou, pois tinha grau 4 desse sinal, com triquíase e cicatrizes palpebrais. Esse critério não foi avaliado em nenhum dos dois outros estudos com uso de CCP em olho seco.

O teste de Schirmer é um teste que avalia em geral a quantidade de secreção lacrimal. Em diabéticos esse teste tem se mostrado alterado (GOEBBELS, 2000; RAMOS-REMUS; SUAREZ-ALMAZOR; RUSSELL, 1994). Alguns autores não o consideram um bom teste em casos de olho seco evaporativo (MCGINNIGLE; NAROO; EPERJESI, 2012), porém outros estudos mostram que ainda continua sendo um dos melhores testes, dentre os mais comumente usados na prática clínica diária, para detectar olho seco, principalmente em pacientes diabéticos (ALVES et al., 2014).

Preferimos avaliar o teste de Schirmer de duas formas, tanto seguindo a gradação de 1 a 4 da tabela de severidade de DEWS (DRY EYE WORKSHOP, 2007c), como também analisando a média entre os dois olhos, da medida em milímetros. Foi realizado o teste basal sem anestésico. O valor de Schirmer, considerando a gradação de 1 a 4, teve melhora em 41,66% dos pacientes, tendo em vista que a média do valor de Schirmer antes foi de  $6,75\text{mm} \pm 3,66$ , e  $8,96\text{mm} \pm 4,56$  após o tratamento ( $P = 0,04$ ).

Avaliando dessa forma, 66,67% (8/12) apresentaram melhora nesse teste, 25% (3/12) não tiveram alteração e 1 paciente (8,33%) evoluiu com um valor menor do teste após tratamento. Esses resultados, quando comparados ao estudo de Lopez-Plandolit et al. (LÓPEZ-PLANDOLIT et al., 2011), são similares, visto que encontraram valores médios de  $4.67 \pm 5.14$  antes e  $6.91 \pm 6.36$  depois.

O tempo de ruptura do filme lacrimal (TRFL) ou TBUT relaciona-se com a estabilidade lacrimal, ou seja, um teste apropriado em pacientes diabéticos pois há instabilidade do filme lacrimal, que já foi relatada por alguns autores (JIN et al., 2003). Inclusive é considerado um dos melhores testes em sensibilidade e especificidade para triagem de olho seco em diabético (NAJAFI et al., 2015). Observamos que 58,33% obtiveram melhora no TRFL, semelhante ao estudo de Alio et al., onde 50% tiveram melhora (ALIO et al., 2007a).

A acuidade visual também foi analisada em todos os pacientes, utilizando a melhor acuidade visual corrigida, e sabe-se que quaisquer que sejam as alterações de superfície ocular podem levar à baixa acuidade visual, inclusive em casos de olho seco severo onde podem

ocorrer lesões como úlceras, leucomas e perfurações, com danos visuais irreversíveis (MANAVIAT et al., 2008).

Em nosso estudo o ganho de linhas de acuidade visual ocorreu em 41,66% dos pacientes. No estudo de Alio et al. esse ganho de linhas foi de 28 %, disparidade que pode ser explicada mais uma vez pela diversidade de etiologias de olho seco, as quais estão sendo aqui comparadas (ALIO et al., 2007a).

Dos 12 pacientes que foram submetidos também ao questionário OSDI antes e depois do uso do CCP, todos (100%) obtiveram melhora dos índices após tratamento. Pela média do escore, antes do tratamento, os pacientes tinham olho seco severo e, após o tratamento, a média correspondia ao escore de olho seco leve. Observou-se também que 50% evoluíram de algum grau de olho seco para olho “normal” após tratamento.

No estudo de Lopez-Plandolit foi utilizado um outro tipo de questionário, o SDEQ3, como citado acima, ficando difícil comparar os resultados, todavia esses autores encontraram uma melhora de 87,5% dos sintomas, após tratamento, sendo que destes, 43,75% tiveram uma melhora avaliada como “substancial”, a qual corresponde em seu estudo a uma diminuição de mais de 50% no valor do resultado de seu escore (LÓPEZ-PLANDOLIT et al., 2011).

No estudo de Alio et al, havia 6 pacientes com olho seco severo (33,33%) e 12 (66,67%) com olho seco moderado antes do tratamento, classificados pelos critérios de Madrid, porém não os classificou após o tratamento. Lopez-Plandolit et al., embora tenham exposto em seu artigo o valor dos escores de seu questionário antes e depois, abordam a melhora do escore com o CCP, porém não descrevem a classificação final de severidade desses pacientes antes e depois. Em nosso estudo, tínhamos a princípio 12 pacientes, dos quais 5 (41,67%) pertenciam ao grau 2 da tabela de severidade do DEWS ,6 pacientes (50%) ao grau ou nível 3 e 1 paciente (8,33%) ao grau 4.

O DEWS recomenda que deva existir pelo menos um sintoma e um sinal clínico de cada nível para que possa caracterizá-lo. Observamos que 04 pacientes do nível 2, por exemplo, poderiam também estar classificados em grau “3”, visto que tinham sintomas grau 3, porém todos os sinais e testes objetivos eram grau 2 ou menor. Já utilizando apenas o OSDI, tivemos um paciente com olho seco moderado, e 11 com olho seco severo.

Após tratamento, avaliados pelos critérios de DEWS, 33,33% (4/12) tinham olho seco grau 1, 4 (58,33%) tinham grau 2, e 1 paciente (8,33%) tinha olho seco grau 3. Avaliando pelo OSDI, após o tratamento, 6 pacientes dos 12(50%) avaliados tiveram um escore classificado como “normal”, 4 deles (33,33%) para olho seco leve, 2 deles (16,67%) para olho seco moderado e um deles (8,33%) evoluiu olho seco severo. Seria impossível comparar

nossos resultados com os dois estudos acima, visto que ambos utilizam diferentes instrumentos e métodos de classificação, e mais uma vez com pacientes de etiologias totalmente diferentes.

A classificação, a abordagem geral, a triagem e o seguimento dos pacientes com olho seco são muito subjetivas (DRY EYE WORKSHOP, 2007c), mesmo na avaliação dos testes clínicos, como avaliação da coloração conjuntival, TFRL, injeção conjuntival, coloração corneana, presença e severidade de disfunção meibomiana. Neste estudo dois oftalmologistas avaliaram os pacientes para tentar diminuir essa parcialidade.

A importância clínica deste estudo é que, como o paciente diabético já apresenta agravamento de outras comorbidades associadas, pode o olho seco nele tornar-se mais grave em virtude das alterações vasculares e neuropáticas que ocorrem, com a possibilidade de evoluir para perda visual severa pelas complicações do diabetes.

Portanto, é visível o quão grande é o número de pacientes com olho seco sintomático que testam inúmeras terapêuticas sem sucesso. O que não é diferente em diabéticos, onde uma grande parcela dos pacientes é refratária a lubrificantes e outros tratamentos convencionais.

Já é comprovada desde a década de 90 na literatura a eficácia do plasma rico em plaquetas em várias áreas na oftalmologia, com o intuito de regeneração e cicatrização tecidual. E o seu uso em olho seco foi descrito em dois ensaios clínicos, com resultados muito promissores. Além das vantagens inúmeras pelo fato de conter vários fatores de crescimento, o CCP autólogo ainda tem a vantagem de evitar transmissão de doenças e reações imunogênicas (OGINO et al., 2005).

Não há na literatura estudos utilizando CCP exclusivamente em olho seco de pacientes diabéticos, e observamos nesta pesquisa que pode ser uma opção promissora para proporcionar a esses pacientes uma melhor qualidade de vida e diminuir a morbidade do olho seco nessa população que já é tão susceptível.

Com relação às complicações relatadas na literatura com o uso do CCP, elas são extremamente raras. Foram relatados dois casos de infecção (LEITE et al., 2006), depósito de imunoglobulinas na córnea e infiltrados ceráticos em um caso (MCDONNELL; SCHANZLIN; RAO, 1988). Em nosso estudo nenhuma complicação foi evidenciada. E houve boa tolerância em todos os casos, tanto que os pacientes, quando questionados se repetiriam o tratamento, todos afirmaram que sim.

Uma limitação da técnica em nosso estudo foi o fato de os pacientes diabéticos terem um acesso venoso periférico mais difícil, o que excluiu 4 pacientes por esse motivo. Outra limitação seria por exemplo em pacientes com comorbidades graves que contraindiquem a

doação autóloga, inclusive a anemia (VANE; GANEM, 2006) (LÓPEZ-GARCÍA et al., 2007), entretanto ainda existe a opção de usar soro rico em fatores de crescimento, obtido através do cordão umbilical (VERSURA et al., 2015), ou seja, heterólogo.

Outra limitação deste estudo foi o fato de que de uma amostra de 221 pacientes, apenas 12 puderam ser submetidos ao tratamento, pois a amostra teve perdas devido exclusões já discutidas. Porém, isto tem sido compatível com a literatura, na qual Alio et al estudou uma amostra de 18 pacientes, e Lopez-Plandolit et al avaliou 16 pacientes.

O fato de ser um tratamento invasivo, onde os pacientes tiveram que ser submetidos a punção venosa para doação de sangue, poderia realmente ser uma desvantagem, porém o que se observou neste estudo foi que, diante da gravidade dos sintomas de olho seco, que realmente interferia nas atividades diárias dos pacientes e na qualidade de vida, nenhum deles desistiu do tratamento por esse motivo; e muito pelo contrário, sabendo que a doação pode ser repetida a cada 4 meses (VANE; GANEM, 2006) , todos os doze afirmaram estar dispostos a repetir quantas vezes fossem necessárias.

Neste estudo, a resposta à pergunta foi positiva: observamos que o tratamento com CCP foi eficaz neste grupo de pacientes, melhorando os sintomas e a severidade do olho seco em grande parcela deles.

## 8 CONCLUSÕES

Epidemiologicamente, os pacientes com olho seco diabético que chegaram ao nosso serviço tinham média de idade de  $59,5 \pm 11,58$  anos, mais prevalente no sexo feminino, com metade dos pacientes eram pardos e tinham primeiro grau incompleto e aproximadamente 60% ganhavam até um salário mínimo.

O olho seco sintomático teve incidência em aproximadamente um quarto (58/221) dos diabéticos que compareceram ao serviço de oftalmologia no período deste estudo

Após o tratamento com CCP, houve uma melhora significativa na severidade do olho seco desses pacientes, tanto avaliando-os pelo OSDI, onde metade dos pacientes evoluíram para “normalidade”, quanto pelo DEWS, onde aproximadamente 83,33% tiveram melhora parcial ou total na gradação.

Pode-se concluir, diante desses achados, que a resposta terapêutica com CCP foi realmente satisfatória nos olhos secos de pacientes diabéticos, que não respondem à terapia convencional. São necessários, no entanto, ensaios clínicos randomizados, para que assim possam ser criados protocolos padronizados de produção e utilização desse tratamento, e que estes pacientes possam ser avaliados a longo prazo.

## REFERÊNCIAS

- AKINCI, A.; CETINKAYA, E.; AYCAN, Z. Dry eye syndrome in diabetic children. **European Journal of Ophthalmology**, v. 17, n. 6, p. 873–878, dez. 2007.
- ALIO, J. L. et al. Symptomatic dry eye treatment with autologous platelet-rich plasma. **Ophthalmic Research**, v. 39, n. 3, p. 124–129, 2007a.
- ALIO, J. L. et al. Use of autologous platelet-rich plasma in the treatment of dormant corneal ulcers. **Ophthalmology**, v. 114, n. 7, p. 1286–1293.e1, jul. 2007b.
- ALIO, J. L.; RODRIGUEZ, A. E.; WRÓBELDUDZIŃSKA, D. Eye platelet-rich plasma in the treatment of ocular surface disorders. **Current Opinion in Ophthalmology**, v. 26, n. 4, p. 325–332, jul. 2015.
- ALVARADO VALERO, M. C. et al. Treatment of persistent epithelial defects using autologous serum application. **Archivos De La Sociedad Española De Oftalmología**, v. 79, n. 11, p. 537–542, nov. 2004.
- ALVES, M. et al. Comparison of diagnostic tests in distinct well-defined conditions related to dry eye disease. **PloS One**, v. 9, n. 5, p. e97921, 2014.
- ALVES, M. DE C. et al. Tear film and ocular surface changes in diabetes mellitus. **Arquivos Brasileiros de Oftalmologia**, v. 71, n. 6, p. 96–103, dez. 2008.
- AMERICAN ACADEMY OF OPHTHALMOLOGY. **Dry Eye Syndrome Preferred Practice Pattern**: Preferred Practice Pattern. Estados Unidos: AAO, 2013. Disponível em: <<http://www.aao.org/preferred-practice-pattern/dry-eye-syndrome-ppp--2013>>.
- AMERICAN DIABETES ASSOCIATION. (2) Classification and diagnosis of diabetes. **Diabetes Care**, v. 38 Suppl, p. S8–S16, jan. 2015.
- ANDRESEN, J. L.; EHLERS, N. Chemotaxis of human keratocytes is increased by platelet-derived growth factor-BB, epidermal growth factor, transforming growth factor-alpha, acidic fibroblast growth factor, insulin-like growth factor-I, and transforming growth factor-beta. **Current Eye Research**, v. 17, n. 1, p. 79–87, jan. 1998.
- ANITUA, E. et al. Autologous platelets as a source of proteins for healing and tissue regeneration. **Thrombosis and Haemostasis**, v. 91, n. 1, p. 4–15, jan. 2004.
- ANITUA, E. et al. Autologous preparations rich in growth factors promote proliferation and induce VEGF and HGF production by human tendon cells in culture. **Journal of Orthopaedic Research: Official Publication of the Orthopaedic Research Society**, v. 23, n. 2, p. 281–286, mar. 2005.
- ANITUA, E. et al. Plasma rich in growth factors (PRGF-Endoret) stimulates corneal wound healing and reduces haze formation after PRK surgery. **Experimental Eye Research**, v. 115, p. 153–161, out. 2013.
- ANITUA, E. et al. Autologous serum and plasma rich in growth factors in ophthalmology: preclinical and clinical studies. **Acta Ophthalmologica**, 2 abr. 2015.

ANITUA, E.; TROYA, M.; ORIVE, G. Plasma rich in growth factors promote gingival tissue regeneration by stimulating fibroblast proliferation and migration and by blocking transforming growth factor- $\beta$ 1-induced myodifferentiation. **Journal of Periodontology**, v. 83, n. 8, p. 1028–1037, ago. 2012.

ARAGONA, P. et al. Effects of amino acids enriched tears substitutes on the cornea of patients with dysfunctional tear syndrome. **Acta Ophthalmologica**, v. 91, n. 6, p. e437–444, set. 2013.

AYRES, M. et al. BioEstat aplicações estatísticas nas áreas das ciências bio-médicas, versão 3.0. 2003. **Belém: Sociedade Civil Mamirauá/MCT CNPq.**[Links], [s.d.].

BARRETO, R. DE P. P. et al. Uso de ciclosporina 0,05% tópica no tratamento do olho seco de pacientes portadores do vírus HIV. **Revista Brasileira de Oftalmologia**, v. 68, n. 2, p. 83–89, abr. 2009.

BEGLEY, C. G. et al. Use of the dry eye questionnaire to measure symptoms of ocular irritation in patients with aqueous tear deficient dry eye. **Cornea**, v. 21, n. 7, p. 664–670, out. 2002.

BEHRENS, A. et al. Dysfunctional tear syndrome: a Delphi approach to treatment recommendations. **Cornea**, v. 25, n. 8, p. 900–907, set. 2006.

BELFORT JR, R.; KARA-JOSE, N. **Córnea: clínica-cirúrgica**. São Paulo: Roca, 1997.

BINDER, A. et al. Sjögren's syndrome: association with type-1 diabetes mellitus. **British Journal of Rheumatology**, v. 28, n. 6, p. 518–520, dez. 1989.

BLOMQUIST, P. H. Ocular complications of systemic medications. **The American Journal of the Medical Sciences**, v. 342, n. 1, p. 62–69, jul. 2011.

BOSCO, A. et al. Diabetic retinopathy. **Arquivos Brasileiros de Endocrinologia & Metabologia**, v. 49, n. 2, p. 217–227, abr. 2005.

BRASIL. Ministério da Saúde. Portaria 2712, de 12 de Novembro de 2013. **Diário Oficial da União**. n 221. Brasília, 13 de novembro de 2013.

BREWITT, H.; SISTANI, F. Dry eye disease: the scale of the problem. **Survey of Ophthalmology**, v. 45 Suppl 2, p. S199–202, mar. 2001.

BRON, A. J.; TIFFANY, J. M. The contribution of meibomian disease to dry eye. **The Ocular Surface**, v. 2, n. 2, p. 149–165, abr. 2004.

CAFFERY, B. E. et al. CANDEES. The Canadian Dry Eye Epidemiology Study. **Advances in Experimental Medicine and Biology**, v. 438, p. 805–806, 1998.

CAVALLI-SFORZA, L. L. **Genes, povos e línguas**. São Paulo: Companhia das Letras, 2003.

CHO, P. et al. Tear break-up time: clinical procedures and their effects. **Ophthalmic & Physiological Optics: The Journal of the British College of Ophthalmic Opticians (Optometrists)**, v. 18, n. 4, p. 319–324, jul. 1998.

DEL CASTILLO, J. M. B. et al. Treatment of recurrent corneal erosions using autologous serum. **Cornea**, v. 21, n. 8, p. 781–783, nov. 2002.

DE PAIVA, C. S. et al. Corticosteroid and doxycycline suppress MMP-9 and inflammatory cytokine expression, MAPK activation in the corneal epithelium in experimental dry eye. **Experimental Eye Research**, v. 83, n. 3, p. 526–535, set. 2006.

DOGRU, M.; TSUBOTA, K. Pharmacotherapy of dry eye. **Expert Opinion on Pharmacotherapy**, v. 12, n. 3, p. 325–334, fev. 2011.

DOUGHTY, M. J.; GLAVIN, S. Efficacy of different dry eye treatments with artificial tears or ocular lubricants: a systematic review. **Ophthalmic & Physiological Optics: The Journal of the British College of Ophthalmic Opticians (Optometrists)**, v. 29, n. 6, p. 573–583, nov. 2009.

DRY EYE WORKSHOP. The definition and classification of dry eye disease: report of the Definition and Classification Subcommittee of the International Dry Eye WorkShop. **The Ocular Surface**, v. 5, n. 2, p. 75–92, abr. 2007a.

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

DRY EYE WORKSHOP. Methodologies to diagnose and monitor dry eye disease: report of the Diagnostic Methodology Subcommittee of the International Dry Eye WorkShop. **The Ocular Surface**, v. 5, n. 2, p. 108–152, abr. 2007c.

FARRIS, R. L. Tear osmolarity--a new gold standard? **Advances in Experimental Medicine and Biology**, v. 350, p. 495–503, 1994.

FERREIRA, O. **Estudo de doadores de sangue com sorologia reagente para hepatites B e C, HIV e sífilis no Hemocentro de Ribeirão Preto**. text—[s.l.] Universidade de São Paulo, 27 abr. 2007.

FERRIS, F. Early photocoagulation in patients with either type I or type II diabetes. **Transactions of the American Ophthalmological Society**, v. 94, p. 505–537, 1996.

FONSECA, E. C.; ARRUDA, G. V.; ROCHA, E. M. Olho seco: etiopatogenia e tratamento. **Arq Bras Oftalmol**, p. 197–203, 2010.

FOX, R. I. et al. Beneficial effect of artificial tears made with autologous serum in patients with keratoconjunctivitis sicca. **Arthritis and Rheumatism**, v. 27, n. 4, p. 459–461, abr. 1984.

FREIRE, V. et al. In vitro effects of three blood derivatives on human corneal epithelial cells. **Investigative Ophthalmology & Visual Science**, v. 53, n. 9, p. 5571–5578, 2012.

FRIDMAN, D. **Associação entre hipoestesia corneana, olho seco e outros fatores em portadores de diabetes melito tipo 2**. Tese de Mestrado—Porto Alegre: Universidade Federal do Rio Grande do Sul, 2004.

- FUJISHIMA, H. et al. Allergic conjunctivitis and dry eye. **The British Journal of Ophthalmology**, v. 80, n. 11, p. 994–997, nov. 1996.
- FUNG, M. K. et al. **Technical manual**. Bethesda, Md.: American Association of Blood Banks, 2014.
- GALOR, A. et al. Prevalence and risk factors of dry eye syndrome in a United States veterans affairs population. **American Journal of Ophthalmology**, v. 152, n. 3, p. 377–384.e2, set. 2011.
- GAYTON, J. L. Etiology, prevalence, and treatment of dry eye disease. **Clinical Ophthalmology (Auckland, N.Z.)**, v. 3, p. 405–412, 2009.
- GEERLING, G.; MACLENNAN, S.; HARTWIG, D. Autologous serum eye drops for ocular surface disorders. **The British Journal of Ophthalmology**, v. 88, n. 11, p. 1467–1474, nov. 2004.
- GIBBLE, J. W.; NESS, P. M. Fibrin glue: the perfect operative sealant? **Transfusion**, v. 30, n. 8, p. 741–747, out. 1990.
- GOEBBELS, M. Tear secretion and tear film function in insulin dependent diabetics. **The British Journal of Ophthalmology**, v. 84, n. 1, p. 19–21, jan. 2000.
- GOMES, B. et al. Signs and symptoms of ocular surface disease in patients on topical intraocular pressure-lowering therapy. **Arquivos Brasileiros de Oftalmologia**, v. 76, n. 5, p. 282–287, out. 2013.
- GOTO, E. et al. Treatment of superior limbic keratoconjunctivitis by application of autologous serum. **Cornea**, v. 20, n. 8, p. 807–810, nov. 2001.
- GUO, B. et al. Prevalence of dry eye disease in Mongolians at high altitude in China: the Henan eye study. **Ophthalmic Epidemiology**, v. 17, n. 4, p. 234–241, ago. 2010.
- HESS, K. The vulnerable blood. Coagulation and clot structure in diabetes mellitus. **Hamostaseologie**, p. 25–33, 2015.
- HOLZER, M. P. et al. Combination of transepithelial phototherapeutic keratectomy and autologous serum eyedrops for treatment of recurrent corneal erosions. **Journal of Cataract and Refractive Surgery**, v. 31, n. 8, p. 1603–1606, ago. 2005.
- HOM, M.; DE LAND, P. Self-reported dry eyes and diabetic history. **Optometry (St. Louis, Mo.)**, v. 77, n. 11, p. 554–558, nov. 2006.
- HOSPITAL SÍRIO LIBANÊS. **Guia de Condutas Hemoterápicas**. São Paulo: Hospital Sírio Libanês, 2010.
- HYON, J. Y.; LEE, Y. J.; YUN, P.-Y. Management of ocular surface inflammation in Sjögren syndrome. **Cornea**, v. 26, n. 9 Suppl 1, p. S13–15, out. 2007.
- IBGE. **Censo Demográfico 2010**. Disponível em: <<http://www.censo2010.ibge.gov.br/>>. Acesso em: 18 ago. 2015.

JAVALOY, J. et al. Effect of platelet-rich plasma in nerve regeneration after LASIK. **Journal of Refractive Surgery (Thorofare, N.J.: 1995)**, v. 29, n. 3, p. 213–219, mar. 2013.

JEGANATHAN, V. S. E.; WANG, J. J.; WONG, T. Y. Ocular associations of diabetes other than diabetic retinopathy. **Diabetes Care**, v. 31, n. 9, p. 1905–1912, set. 2008.

JIN, J. et al. [Tear film function in non-insulin dependent diabetics]. [**Zhonghua Yan Ke Za Zhi**] **Chinese Journal of Ophthalmology**, v. 39, n. 1, p. 10–13, jan. 2003.

JONNES, N. **Substantially neutral aqueous lubricant**. Estados Unidos, U.S. Patent 4.461.712, 1984, Jul 24.

KAISERMAN, I. et al. Dry eye in diabetic patients. **American Journal of Ophthalmology**, v. 139, n. 3, p. 498–503, mar. 2005.

KHAKSAR, E. et al. The effect of sub-conjunctival platelet-rich plasma in combination with topical acetylcysteine on corneal alkali burn ulcer in rabbits. **Comparative Clinical Pathology**, v. 22, n. 1, p. 107–112, 13 dez. 2011.

KIM, K. M.; SHIN, Y.-T.; KIM, H. K. Effect of autologous platelet-rich plasma on persistent corneal epithelial defect after infectious keratitis. **Japanese Journal of Ophthalmology**, v. 56, n. 6, p. 544–550, nov. 2012.

KLENKLER, B.; SHEARDOWN, H.; JONES, L. Growth factors in the tear film: role in tissue maintenance, wound healing, and ocular pathology. **The Ocular Surface**, v. 5, n. 3, p. 228–239, jul. 2007.

KOFFLER, B. H. Autologous serum therapy of the ocular surface with novel delivery by platelet concentrate gel. **The Ocular Surface**, v. 4, n. 4, p. 188–195, out. 2006.

KOJIMA, T. et al. The effect of autologous serum eyedrops in the treatment of severe dry eye disease: a prospective randomized case-control study. **American Journal of Ophthalmology**, v. 139, n. 2, p. 242–246, fev. 2005.

KONNER, K. Primary vascular access in diabetic patients: an audit. **Nephrology Dialysis Transplantation**, v. 15, n. 9, p. 1317–1325, 9 jan. 2000.

LAWRENCE, M. S. et al. The D1 receptor antagonist, SCH 23390, induces signs of parkinsonism in African green monkeys. **Life Sciences**, v. 49, n. 25, p. PL229–234, 1991.

LEE, A. J. et al. Prevalence and risk factors associated with dry eye symptoms: a population based study in Indonesia. **The British Journal of Ophthalmology**, v. 86, n. 12, p. 1347–1351, dez. 2002.

LEE, G. A.; CHEN, S. X. Autologous serum in the management of recalcitrant dry eye syndrome. **Clinical & Experimental Ophthalmology**, v. 36, n. 2, p. 119–122, mar. 2008.

LEITE, S. C. et al. Risk factors and characteristics of ocular complications, and efficacy of autologous serum tears after haematopoietic progenitor cell transplantation. **Bone Marrow Transplantation**, v. 38, n. 3, p. 223–227, ago. 2006.

LEMP, M. A. Report of the National Eye Institute/Industry workshop on Clinical Trials in Dry Eyes. **The CLAO journal: official publication of the Contact Lens Association of Ophthalmologists, Inc**, v. 21, n. 4, p. 221–232, out. 1995.

LIU, L. et al. An optimised protocol for the production of autologous serum eyedrops. **Graefe's Archive for Clinical and Experimental Ophthalmology**, v. 243, n. 7, p. 706–714, jul. 2005.

LIU, L. et al. Corneal epitheliotropic capacity of three different blood-derived preparations. **Investigative Ophthalmology & Visual Science**, v. 47, n. 6, p. 2438–2444, jun. 2006.

LÓPEZ-GARCÍA, J. S. et al. Use of autologous serum in ophthalmic practice. **Archivos De La Sociedad Española De Oftalmología**, v. 82, n. 1, p. 9–20, jan. 2007.

LÓPEZ-GARCÍA, J. S. et al. Autologous serum eyedrops in the treatment of aniridic keratopathy. **Ophthalmology**, v. 115, n. 2, p. 262–267, fev. 2008.

LÓPEZ-GARCÍA, J. S. et al. Autologous serum eye drops diluted with sodium hyaluronate: clinical and experimental comparative study. **Acta Ophthalmologica**, v. 92, n. 1, p. e22–29, fev. 2014.

LÓPEZ-PLANDOLIT, S. et al. Efficacy of plasma rich in growth factors for the treatment of dry eye. **Cornea**, p. 1312–7, 2011.

MANAVIAT, M. R. et al. Prevalence of dry eye syndrome and diabetic retinopathy in type 2 diabetic patients. **BMC Ophthalmology**, v. 8, p. 10, 2 jun. 2008.

MARASCHIN, J. DE F. et al. Diabetes mellitus classification. **Arquivos Brasileiros de Cardiologia**, v. 95, n. 2, p. 40–46, ago. 2010.

MARQUEZ DE ARACENA DEL CID, R.; MONTERO DE ESPINOSA ESCORIAZA, I. Subconjunctival application of regenerative factor-rich plasma for the treatment of ocular alkali burns. **European Journal of Ophthalmology**, v. 19, n. 6, p. 909–915, dez. 2009.

MATSUMOTO, Y. et al. Autologous serum application in the treatment of neurotrophic keratopathy. **Ophthalmology**, v. 111, n. 6, p. 1115–1120, jun. 2004.

MATSUO, H. et al. Topical application of autologous serum for the treatment of late-onset aqueous oozing or point-leak through filtering bleb. **Eye**, v. 19, n. 1, p. 23–28, jan. 2005.

MATSUURA, N. et al. Predominance of infiltrating IL-4-producing T cells in conjunctiva of patients with allergic conjunctival disease. **Current Eye Research**, v. 29, n. 4-5, p. 235–243, nov. 2004.

MAVRAKANAS, N. A.; KIEL, R.; DOSSO, A. A. Autologous serum application in the treatment of Mooren's ulcer. **Klinische Monatsblätter Für Augenheilkunde**, v. 224, n. 4, p. 300–302, abr. 2007.

MCDONNELL, P. J.; SCHANZLIN, D. J.; RAO, N. A. Immunoglobulin deposition in the cornea after application of autologous serum. **Archives of Ophthalmology**, v. 106, n. 10, p. 1423–1425, out. 1988.

MCGINNIGLE, S.; NAROO, S. A.; EPERJESI, F. Evaluation of dry eye. **Survey of Ophthalmology**, v. 57, n. 4, p. 293–316, ago. 2012.

MCMONNIES, C. W.; HO, A. Conjunctival hyperaemia in non-contact lens wearers. **Acta Ophthalmologica**, v. 69, n. 6, p. 799–801, 27 maio 2009.

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

MINISTÉRIO DA SAÚDE. Coordenação Nacional de Doenças Sexualmente Transmissíveis e Aids. **Triagem Clínica de Doadores de Sangue**. Brasília: Ministério da Saúde, 2001.

MINISTÉRIO DA SAÚDE. Secretaria de Atenção à Saúde. Departamento de Atenção Básica. **Diabetes Mellitus**. Brasília: Ministério da Saúde, 2006.

MISRA, S. L. et al. Peripheral Neuropathy and Tear Film Dysfunction in Type 1 Diabetes Mellitus. **Journal of Diabetes Research**, v. 2014, 2014.

MIXON, B. et al. Autologous serum eye drops for severe dry eye syndrome in a patient with chronic graft-versus-host disease: a case report. **International Journal of Pharmaceutical Compounding**, v. 18, n. 5, p. 370–377, out. 2014.

MÓDULO, C. M. et al. Influence of insulin treatment on the lacrimal gland and ocular surface of diabetic rats. **Endocrine**, v. 36, n. 1, p. 161–168, ago. 2009.

MOSS, S. E.; KLEIN, R.; KLEIN, B. E. Prevalence of and risk factors for dry eye syndrome. **Archives of Ophthalmology**, v. 118, n. 9, p. 1264–1268, set. 2000.

MOSS, S. E.; KLEIN, R.; KLEIN, B. E. K. Incidence of dry eye in an older population. **Archives of Ophthalmology**, v. 122, n. 3, p. 369–373, mar. 2004.

MOSS, S. E.; KLEIN, R.; KLEIN, B. E. K. Long-term incidence of dry eye in an older population. **Optometry and Vision Science: Official Publication of the American Academy of Optometry**, v. 85, n. 8, p. 668–674, ago. 2008.

MUÑOZ B et al. Causes of blindness and visual impairment in a population of older americans: The salisbury eye evaluation study. **Archives of Ophthalmology**, v. 118, n. 6, p. 819–825, 1 jun. 2000.

MURUBE, J. **Classificação do Olho Seco**. In: SIMPÓSIO OLHO SECO. São Paulo: Medicopea, 2000

MURUBE, J. et al. The Madrid triple classification of dry eye. **Archivos De La Sociedad Española De Oftalmología**, v. 78, n. 11, p. 587–593; 595–601, nov. 2003.

MURUBE, J. Tear osmolarity. **The Ocular Surface**, v. 4, n. 2, p. 62–73, abr. 2006.

MY, A. Restoration of human lacrimal function following platelet-rich plasma injection. **Cornea**, p. 18–21, 2014.

NAJAFI, L. et al. Dry eye and its correlation to diabetes microvascular complications in people with type 2 diabetes mellitus. **Journal of Diabetes and Its Complications**, v. 27, n. 5, p. 459–462, out. 2013.

NAJAFI, L. et al. Dry eye disease in type 2 diabetes mellitus; comparison of the tear osmolarity test with other common diagnostic tests: a diagnostic accuracy study using STARD standard. **Journal of Diabetes and Metabolic Disorders**, v. 14, p. 39, 2015.

NARANJO, R. **Olho seco: conceito e tratamento**. In: SIMPÓSIO OLHO SECO. São Paulo: Medicopea, 2000

NEGI, A.; VERNON, S. A. An overview of the eye in diabetes. **Journal of the Royal Society of Medicine**, v. 96, n. 6, p. 266–272, jun. 2003.

NEPP, J. et al. Is there a correlation between the severity of diabetic retinopathy and keratoconjunctivitis sicca? **Cornea**, v. 19, n. 4, p. 487–491, jul. 2000.

NICHOLS, J. J. et al. The performance of the contact lens dry eye questionnaire as a screening survey for contact lens-related dry eye. **Cornea**, v. 21, n. 5, p. 469–475, jul. 2002.

NICHOLS, K. K.; NICHOLS, J. J.; MITCHELL, G. L. The reliability and validity of McMonnies Dry Eye Index. **Cornea**, v. 23, n. 4, p. 365–371, maio 2004.

NOBLE, B. A. et al. Comparison of autologous serum eye drops with conventional therapy in a randomised controlled crossover trial for ocular surface disease. **The British Journal of Ophthalmology**, v. 88, n. 5, p. 647–652, maio 2004.

NODA-TSURUYA, T. et al. Autologous serum eye drops for dry eye after LASIK. **Journal of Refractive Surgery (Thorofare, N.J.: 1995)**, v. 22, n. 1, p. 61–66, fev. 2006.

OGINO, Y. et al. The effect of platelet-rich plasma on the cellular response of rat bone marrow cells in vitro. **Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology, Oral Radiology, and Endodontics**, v. 100, n. 3, p. 302–307, set. 2005.

PANDA, A. et al. Topical autologous platelet-rich plasma eyedrops for acute corneal chemical injury. **Cornea**, v. 31, n. 9, p. 989–993, set. 2012.

PAN, Q. et al. Autologous serum eye drops for dry eye. **The Cochrane Database of Systematic Reviews**, v. 8, p. CD009327, 2013.

PEREIRA, G. A. B.; ARCHER, R. L. B.; RUIZ, C. A. C. Evaluation of the knowledge that patients with diabetes mellitus demonstrate about ocular changes due to this illness. **Arquivos Brasileiros de Oftalmologia**, v. 72, n. 4, p. 481–485, ago. 2009.

PEREIRA GOMES, J. A.; LIMA, A. L.; ADAN, C. B. Avaliação Normal da Superfície Ocular. In: ALVES, M. R.; LIMA, A. L. H.; DANTAS, M. C. N. (Eds.). **Manual do CBO - Doenças externas oculares e córnea**. São Paulo: Cultura Médica, 1999.

PEZZOTTA, S. et al. Autologous platelet lysate for treatment of refractory ocular GVHD. **Bone Marrow Transplantation**, v. 47, n. 12, p. 1558–1563, dez. 2012.

- PHAN, T. M. et al. Topical fibronectin in an alkali burn model of corneal ulceration in rabbits. **Archives of Ophthalmology**, v. 109, n. 3, p. 414–419, mar. 1991.
- PHARMAKAKIS, N. M. et al. Corneal complications following abuse of topical anesthetics. **European Journal of Ophthalmology**, v. 12, n. 5, p. 373–378, out. 2002.
- PISELLA, P. J.; POULIQUEN, P.; BAUDOUIN, C. Prevalence of ocular symptoms and signs with preserved and preservative free glaucoma medication. **The British Journal of Ophthalmology**, v. 86, n. 4, p. 418–423, abr. 2002.
- POON, A. C. et al. Autologous serum eyedrops for dry eyes and epithelial defects: clinical and in vitro toxicity studies. **The British Journal of Ophthalmology**, v. 85, n. 10, p. 1188–1197, out. 2001.
- PORTAL BRASIL. **Diabetes**. Notícia. Disponível em: <<http://www.brasil.gov.br/saude/2012/04/diabetes>>. Acesso em: 19 jul. 2015.
- QUEIROGA, I. B. W. D.; DINIZ, M. D. F. F. M. Coloração da Superfície Ocular por Rosa Bengala e o Diagnóstico do Olho Seco. **Revista Brasileira de Ciências da Saúde**, v. 12, n. 1, p. 95–102, 31 mar. 2010.
- QUINTO, G. G.; CAMPOS, M.; BEHRENS, A. Autologous serum for ocular surface diseases: [review]. **Arquivos Brasileiros de Oftalmologia**, p. 47–54, 2008.
- RAHMAN, A. et al. Diagnostic value of tear films tests in type 2 diabetes. **JPMA. The Journal of the Pakistan Medical Association**, v. 57, n. 12, p. 577–581, dez. 2007.
- RALPH, R. A.; DOANE, M. G.; DOHLMAN, C. H. Clinical experience with a mobile ocular perfusion pump. **Archives of Ophthalmology**, v. 93, n. 10, p. 1039–1043, out. 1975.
- RAMOS-REMUS, C.; SUAREZ-ALMAZOR, M.; RUSSELL, A. S. Low tear production in patients with diabetes mellitus is not due to Sjögren's syndrome. **Clinical and Experimental Rheumatology**, v. 12, n. 4, p. 375–380, ago. 1994.
- RAY, W. A. et al. Statistical analysis for experimental models of ocular disease: continuous response measures. **Current Eye Research**, v. 4, n. 5, p. 585–597, maio 1985.
- RAZOUK, F. H.; REICHE, E. M. V. Characterization, production and indication of the principal blood components. **Revista Brasileira de Hematologia e Hemoterapia**, v. 26, n. 2, p. 126–134, jan. 2004.
- REIDY, J. J.; PAULUS, M. P.; GONA, S. Recurrent erosions of the cornea: epidemiology and treatment. **Cornea**, v. 19, n. 6, p. 767–771, nov. 2000.
- REZENDE, M. S. V. M. et al. Uso do concentrado de plaquetas em doença da superfície ocular. **Revista Brasileira de Oftalmologia**, p. 257–261, 2007.
- RIORDAN-EVA, P.; WHITCHER, J. **Vaughan & Asbury's general ophthalmology**. [s.l.] Wiley Online Library, 2008.

- SCHAUMBERG, D. A. et al. Prevalence of dry eye disease among US men: estimates from the Physicians' Health Studies. **Archives of Ophthalmology**, v. 127, n. 6, p. 763–768, jun. 2009.
- SCHEIN, O. D. et al. Prevalence of dry eye among the elderly. **American Journal of Ophthalmology**, v. 124, n. 6, p. 723–728, dez. 1997.
- SCHEIN, O. D. et al. Dry eye and dry mouth in the elderly: a population-based assessment. **Archives of Internal Medicine**, v. 159, n. 12, p. 1359–1363, 28 jun. 1999.
- SCHIFFMAN, R. M. et al. Reliability and validity of the Ocular Surface Disease Index. **Archives of Ophthalmology**, v. 118, n. 5, p. 615–621, maio 2000.
- SEIFART, U.; STREMPPEL, I. [The dry eye and diabetes mellitus]. **Der Ophthalmologe: Zeitschrift Der Deutschen Ophthalmologischen Gesellschaft**, v. 91, n. 2, p. 235–239, abr. 1994.
- SENDECKA, M.; BARYLUK, A.; POLZ-DACEWICZ, M. [Prevalence and risk factors of dry eye syndrome]. **Przegląd Epidemiologiczny**, v. 58, n. 1, p. 227–233, 2004.
- SERRARBASSA, P. D.; DIAS, A. F. G.; VIEIRA, M. F. New concepts on diabetic retinopathy: neural versus vascular damage. **Arquivos Brasileiros de Oftalmologia**, v. 71, n. 3, p. 459–463, jun. 2008.
- SHARMA, N. et al. Evaluation of umbilical cord serum therapy in acute ocular chemical burns. **Investigative Ophthalmology & Visual Science**, v. 52, n. 2, p. 1087–1092, fev. 2011.
- SHIMMURA, S. et al. Albumin as a tear supplement in the treatment of severe dry eye. **The British Journal of Ophthalmology**, v. 87, n. 10, p. 1279–1283, out. 2003.
- SHIMMURA, S.; SHIMAZAKI, J.; TSUBOTA, K. Results of a population-based questionnaire on the symptoms and lifestyles associated with dry eye. **Cornea**, v. 18, n. 4, p. 408–411, jul. 1999.
- SHRESTHA, R. K. Ocular manifestations in diabetes, a hospital based prospective study. **Nepal Medical College journal: NMCJ**, v. 13, n. 4, p. 254–256, dez. 2011.
- SMITH, J. The epidemiology of dry eye disease. **Acta Ophthalmologica Scandinavica**, v. 85, 2007.
- STERN, M. E. et al. The pathology of dry eye: the interaction between the ocular surface and lacrimal glands. **Cornea**, v. 17, n. 6, p. 584–589, nov. 1998.
- SULLIVAN, D. A. et al. Do sex steroids exert sex-specific and/or opposite effects on gene expression in lacrimal and meibomian glands? **Molecular Vision**, v. 15, p. 1553–1572, 2009.
- TANANUVAT, N. et al. Controlled study of the use of autologous serum in dry eye patients. **Cornea**, v. 20, n. 8, p. 802–806, nov. 2001.
- TEI, M. et al. Vitamin A deficiency alters the expression of mucin genes by the rat ocular surface epithelium. **Investigative Ophthalmology & Visual Science**, v. 41, n. 1, p. 82–88, jan. 2000.

- TIAN, Y.-J. et al. [Epidemiologic study of dry eye in populations equal or over 20 years old in Jiangning District of Shanghai]. [**Zhonghua Yan Ke Za Zhi**] **Chinese Journal of Ophthalmology**, v. 45, n. 6, p. 486–491, jun. 2009.
- TOKER, E.; ASFUROĞLU, E. Corneal and conjunctival sensitivity in patients with dry eye: the effect of topical cyclosporine therapy. **Cornea**, v. 29, n. 2, p. 133–140, fev. 2010.
- TOMLINSON, A. et al. Tear film osmolarity: determination of a referent for dry eye diagnosis. **Investigative Ophthalmology & Visual Science**, v. 47, n. 10, p. 4309–4315, out. 2006.
- TSUBOTA, K. et al. Surgical reconstruction of the ocular surface in advanced ocular cicatricial pemphigoid and Stevens-Johnson syndrome. **American Journal of Ophthalmology**, v. 122, n. 1, p. 38–52, jul. 1996.
- TSUBOTA, K. et al. Treatment of dry eye by autologous serum application in Sjögren's syndrome. **The British Journal of Ophthalmology**, v. 83, n. 4, p. 390–395, abr. 1999a.
- TSUBOTA, K. et al. Treatment of persistent corneal epithelial defect by autologous serum application. **Ophthalmology**, v. 106, n. 10, p. 1984–1989, out. 1999b.
- UNTERLAUFT, J. D. et al. Albumin eye drops for treatment of ocular surface diseases. **Der Ophthalmologe: Zeitschrift Der Deutschen Ophthalmologischen Gesellschaft**, v. 106, n. 10, p. 932–937, out. 2009.
- URZUA, C. A. et al. Randomized double-blind clinical trial of autologous serum versus artificial tears in dry eye syndrome. **Current Eye Research**, v. 37, n. 8, p. 684–688, ago. 2012.
- VAN BIJSTERVELD, O. P. Diagnostic tests in the Sicca syndrome. **Archives of Ophthalmology**, v. 82, n. 1, p. 10–14, jul. 1969.
- VANE, L. A.; GANEM, E. M. Doação Homóloga versus Autóloga e Substitutos da Hemoglobina. In: CAVALCANTI, I. L.; CANTINHO, F. A. DE F.; ASSAD, A. (Eds.). . **Medicina Perioperatória**. Rio de Janeiro: SAERJ, 2006. p. 291–306.
- VERSURA, P. et al. Targeting growth factor supply in keratopathy treatment: comparison between maternal peripheral blood and cord blood as sources for the preparation of topical eye drops. **Blood Transfusion**, p. 1–7, 9 jul. 2015.
- VERSURA, P.; PROFAZIO, V.; CAMPOS, E. C. Performance of Tear Osmolarity Compared to Previous Diagnostic Tests for Dry Eye Diseases. **Current Eye Research**, v. 35, n. 7, p. 553–564, 1 jul. 2010.
- VICK, V. L. et al. Use of autologous platelet concentrate in blepharoplasty surgery. **Ophthalmic Plastic and Reconstructive Surgery**, v. 22, n. 2, p. 102–104, abr. 2006.
- WAKAMATSU, T. H.; DOGRU, M.; TSUBOTA, K. Tearful relations: oxidative stress, inflammation and eye diseases: [review]. **Arquivos Brasileiros de Oftalmologia**, p. 72–79, 2008.

WANG, Y. et al. Ocular surface and tear functions after topical cyclosporine treatment in dry eye patients with chronic graft-versus-host disease. **Bone Marrow Transplantation**, v. 41, n. 3, p. 293–302, fev. 2008.

WOOST, P. G. et al. Growth factors and corneal endothelial cells: II. Characterization of epidermal growth factor receptor from bovine corneal endothelial cells. **Cornea**, v. 11, n. 1, p. 11–19, jan. 1992.

WORLD MEDICAL ASSOCIATION. World Medical Association Declaration of Helsinki: ethical principles for medical research involving human subjects. **JAMA**, v. 310, n. 20, p. 2191–2194, 27 nov. 2013.

XU, K. P. et al. Tear function index. A new measure of dry eye. **Archives of Ophthalmology**, v. 113, n. 1, p. 84–88, jan. 1995.

YAMADA, N. et al. Role of the C domain of IGFs in synergistic promotion, with a substance P-derived peptide, of rabbit corneal epithelial wound healing. **Investigative Ophthalmology & Visual Science**, v. 45, n. 4, p. 1125–1131, abr. 2004.

YANG, C.; SUN, W.; GU, Y. A clinical study of the efficacy of topical corticosteroids on dry eye. **Journal of Zhejiang University. Science. B**, v. 7, n. 8, p. 675–678, ago. 2006.

YANG, H. Y. et al. Lacrimal punctal occlusion for the treatment of superior limbic keratoconjunctivitis. **American Journal of Ophthalmology**, v. 124, n. 1, p. 80–87, jul. 1997.

YAO, K. et al. Efficacy of 1% carboxymethylcellulose sodium for treating dry eye after phacoemulsification: results from a multicenter, open-label, randomized, controlled study. **BMC ophthalmology**, v. 15, p. 28, 2015.

YOON, K.-C. et al. Comparison of autologous serum and umbilical cord serum eye drops for dry eye syndrome. **American Journal of Ophthalmology**, v. 144, n. 1, p. 86–92, jul. 2007.

YOUNG, A. L. et al. The use of autologous serum tears in persistent corneal epithelial defects. **Eye**, v. 18, n. 6, p. 609–614, jun. 2004.

## APÊNDICE A - Questionário

Pacientes diabéticos –uso de concentrado de plaquetas em Olho seco.

GLICEMIA JEJUM

HGB GLICADA

PROTEINURIA

### Questionário

Nome:

Prontuário e local:

idade

Sexo:

Cor:

Fone:

Endereço:

- |                                                               |       |       |
|---------------------------------------------------------------|-------|-------|
| 1. Cardiopata grave ou revascularizado recente:               | S ( ) | N ( ) |
| 2. Usuário de lentes de contato                               | S ( ) | N ( ) |
| 3. Doença córnea (como edema)                                 | S ( ) | N ( ) |
| 4. AVC                                                        | S ( ) | N ( ) |
| 5. Demência ou doença neurológica /psiquiátrica incapacitante | S ( ) | N ( ) |
| 6. Uso de medicamentos. Qual                                  | S ( ) | N ( ) |
| 7. Já fez laser para retinopatia diabética                    | S ( ) | N ( ) |
| 8. Fez cirurgias oculares                                     | S ( ) | N ( ) |
| 9. Usa algum colírio                                          | S ( ) | N ( ) |
| 10. Fuma                                                      | S ( ) | N ( ) |
| 11. Doença reumática                                          | S ( ) | N ( ) |
| 12. Doença tireoide                                           | S ( ) | N ( ) |
| 13. Doença inflamatória intestinal                            | S ( ) | N ( ) |
| 14. Bronquite /asma/alergias                                  | S ( ) | N ( ) |
| 15. Boca ou outra mucosa sec                                  | S ( ) | N ( ) |
| 16. Doenças oculares                                          | S ( ) | N ( ) |

#### SINTOMAS DE OLHO SECO / DEWS

- |                               |       |              |           |           |
|-------------------------------|-------|--------------|-----------|-----------|
| a) Olhos ressecados           | nunca | poucas vezes | frequente | constante |
| b) Ardência/sensação de areia | nunca | poucas vezes | frequente | constante |
| c) Queimação                  | nunca | poucas vezes | frequente | constante |
| d) Vermelhidão                | nunca | poucas vezes | frequente | constante |
| e) Crostas nos cílios         | nunca | poucas vezes | frequente | constante |
| f) Olhos grudados de manhã    | nunca | poucas vezes | frequente | constante |
| g) Sintomas visuais           | nunca | poucas vezes | frequente | constante |

#### AO EXAME / DEWS

- |                                             |                  |                      |                        |               |
|---------------------------------------------|------------------|----------------------|------------------------|---------------|
| INJEÇÃO CONJUNTIVAL                         | AUSENTE ( )      | LEVE ( )             | MODERADO ( )           | GRAVE ( )     |
| COLORAÇÃO CONJUNTIVAL (flúor)               | AUSENTE ( )      | LEVE ( )             | MODERADO ( )           | GRAVE ( )     |
| COLORAÇÃO CORNEANA                          | AUSENTE ( )      | LEVE ( )             | MODERADO ( )           | GRAVE/CEP ( ) |
| SINAIS Córnea /LÁGRIMA                      | AUSENTE ( )      | LEVE/DIM.MENISCO ( ) | MODERADO ( )           | GRAVE ( )     |
| PÁLPEBRAS/GLDS.MEIBOMIUS                    | DGM VARIÁVEL ( ) | DGM FREQUENTE ( )    | TRIQU/SIMBL/QUERAT ( ) |               |
| TFBUT                                       | Variável ( )     | menor 10 ( )         | menor 5 ( )            | imediate ( )  |
| Teste de Schirmmer I e II (Basal e reflexo) | variável ( )     | menor 10 ( )         | menor 5 ( )            | menor 2 ( )   |
| Outros sinais ao exame AV CC OD             | OE               |                      |                        |               |

**Ectoscopia** : exoft ( ) retração palp ( ) ectrópio ( ) lagoftalmo ( ) entropio ( )

**Bio:**

Pálpebras : cir.palp ( ) blefarite ( ) meibomite ( ) triquiase ( ) alt. Bordas palp.( ) AADL ( )

Conjuntiva: cir.conj ( ) ptg/pinguecula ( ) hiperemia conj ( )

Córnea: cir. Córnea ( ) ptg ( ) dellén ( ) edema ( ) opacidades ( )

Catarata : s ( ) n ( )

**Bio c flúor/ rosa bengala** : menisco normal ( ) menisco diminuído ( ) muco ( ) filamentos ( ) debris ( )

**Tonometria:**

**Fundoscopia:** sem RD ( ) RDNP ( ) RDP ( )

Estadiamento da RD: Leve ( ) moderada ( ) severa ( )

**DEWS GRAU:**

**2ª avaliação** : 1 semana após tratamento

Sintomas de OSE nunca ( ) poucas vezes ( ) frequente ( ) incapacitante ( )

Sintomas visuais nunca ( ) poucas vezes ( ) frequente ( ) incapacitante ( )

INJEÇÃO CONJUNTIVAL **AUSENTE** ( ) LEVE ( ) MODERADO ( ) GRAVE ( )

COLORAÇÃO CONJUNTIVAL (flúor) **AUSENTE** ( ) LEVE ( ) MODERADO ( ) GRAVE ( )

COLORAÇÃO CORNEANA **AUSENTE** ( ) LEVE ( ) MODERADO ( ) GRAVE /CEP ( )

SINAIS CÓRNEA /LÁGRIMA **AUSENTE** ( ) LEVE/DIM.MENISCO ( ) MODERADO ( ) GRAVE ( )

PÁLPEBRAS/GLDS.MEIBOMIUS DGM VARIÁVEL ( ) DGM FREQUENTE ( ) TRIQ/SIMBL/QUERAT ( )

**Bio c flúor/ rosa bengala:** menisco normal ( ) menisco diminuído ( ) muco ( ) filamentos ( ) debris ( )

**DEWS GRAU :**

**3ª avaliação** : 2 semanas após tratamento

Sintomas de OSE nunca ( ) poucas vezes ( ) frequente ( ) incapacitante ( )

Sintomas visuais nunca ( ) poucas vezes ( ) frequente ( ) incapacitante ( )

INJEÇÃO CONJUNTIVAL **AUSENTE** ( ) LEVE ( ) MODERADO ( ) GRAVE ( )

COLORAÇÃO CONJUNTIVAL (flúor) **AUSENTE** ( ) LEVE ( ) MODERADO ( ) GRAVE ( )

COLORAÇÃO CORNEANA **AUSENTE** ( ) LEVE ( ) MODERADO ( ) GRAVE /CEP ( )

SINAIS CÓRNEA /LÁGRIMA **AUSENTE** ( ) LEVE/DIM.MENISCO ( ) MODERADO ( ) GRAVE ( )

PÁLPEBRAS/GLDS.MEIBOMIUS DGM VARIÁVEL ( ) DGM FREQUENTE ( ) TRIQ/SIMBL/QUERAT ( )

**Bio c flúor/ rosa bengala:** menisco normal ( ) menisco diminuído ( ) muco ( ) filamentos ( ) debris ( )

**DEWS GRAU:**

**4ª avaliação** : 3 semanas após tratamento

Sintomas de OSE nunca ( ) poucas vezes ( ) frequente ( ) incapacitante ( )

Sintomas visuais nunca ( ) poucas vezes ( ) frequente ( ) incapacitante ( )

INJEÇÃO CONJUNTIVAL **AUSENTE** ( ) LEVE ( ) MODERADO ( ) GRAVE ( )

COLORAÇÃO CONJUNTIVAL (flúor)      **AUSENTE** ( ) LEVE ( )      MODERADO ( ) GRAVE ( )  
 COLORAÇÃO CORNEANA                      **AUSENTE** ( ) LEVE ( )      MODERADO ( ) GRAVE /CEP ( )  
 SINAIS Córnea /LÁGRIMA      **AUSENTE** ( ) LEVE/DIM.MENISCO ( ) MODERADO ( ) GRAVE ( )  
 PÁLPEBRAS/GLDS.MEIBOMIUS      DGM VARIÁVEL ( ) DGM FREQUENTE ( ) TRIQ/SIMBL/QUERAT ( )  
**Bio c flúor/ rosa bengala:** menisco normal ( ) menisco diminuído ( ) muco ( ) filamentos ( ) debris ( )

#### **DEWS GRAU:**

5ª avaliação : 4 semanas após tratamento

Sintomas de OSE    nunca ( ) poucas vezes ( ) frequente ( ) incapacitante ( )

Sintomas visuais    nunca ( ) poucas vezes ( ) frequente ( ) incapacitante ( )

INJEÇÃO CONJUNTIVAL                      **AUSENTE** ( ) LEVE ( )      MODERADO ( ) GRAVE ( )  
 COLORAÇÃO CONJUNTIVAL (flúor)      **AUSENTE** ( ) LEVE ( )      MODERADO ( ) GRAVE ( )  
 COLORAÇÃO CORNEANA                      **AUSENTE** ( ) LEVE ( )      MODERADO ( ) GRAVE /CEP ( )  
 SINAIS Córnea /LÁGRIMA      **AUSENTE** ( ) LEVE/DIM.MENISCO ( ) MODERADO ( ) GRAVE ( )  
 PÁLPEBRAS/GLDS.MEIBOMIUS      DGM VARIÁVEL ( ) DGM FREQUENTE ( ) TRIQ/SIMBL/QUERAT ( )

**Bio c flúor/ rosa bengala:** menisco normal ( ) menisco diminuído ( ) muco ( ) filamentos ( ) debris ( )

#### **DEWS GRAU**

**Eu autorizo que meus dados sejam publicados ou apresentados em qualquer evento científico, desde que preservando minha identidade, contribuindo para a pesquisa sobre olho seco em pacientes diabéticos,**

**Autorizo também o tratamento que for necessário para o meu caso, e este exame oftalmológico e anamnese,**

**Sabendo que posso desistir de ser incluído no projeto a qualquer momento, e também que se eu for submetido ao tratamento com concentrado de plaquetas não terei nenhum ônus.**

**Assinatura:**

## APÊNDICE B – Termo de Consentimento Livre e Esclarecido

**Termo de Consentimento Livre e Esclarecido**

Convidamos o (a) paciente, \_\_\_\_\_ abaixo identificado (a),

atendido (a) no Setor de Córnea do Serviço de Oftalmologia do Hospital Universitário Dr. Alberto Antunes, em Maceió - AL, o (a) qual declara ter sido informado (a) de estar participando da pesquisa científica intitulada “O uso de concentrado de plaquetas em olho seco de pacientes diabéticos”. A justificativa do projeto é principalmente devido a morbidade, com alto risco de complicações devido olho seco grave (dor crônica, opacidades de córnea, úlceras de córnea, baixa visual), o que ocorre com frequência em pacientes diabéticos. O projeto será aprovado pelo comitê de ética e pesquisa que é um colegiado interdisciplinar e independente, que existe nas instituições que realizam pesquisas envolvendo seres humanos no Brasil, criado para defender os interesses dos sujeitos em sua integridade e dignidade e para contribuir no desenvolvimento da pesquisa dentro dos padrões éticos (Normas e Diretrizes Regulamentadoras da Pesquisa Envolvendo Seres Humanos). Após aprovação em Comitê de Ética em Pesquisa (Av. Lourival Melo Mota, s/n, Cidade Universitária - Maceió - AL, tel. (82) 32141069, horário de funcionamento segunda a sexta de 08hs as 13:30hs,) e pela CONEP (SEPN 510 Norte Bloco A, Brasília-DF, tel. (61) 3315587, horário de funcionamento de 08hs as 20hs), o (a) paciente será primeiramente submetido a anamnese e exame oftalmológico de rotina para diagnosticar olho seco. O paciente acima eleito para participar do projeto, será submetido à punção venosa para coleta de sangue no HEMOAL (Hemocentro de Alagoas). Será realizada aférese de plaquetas, e após hemocultura e sorologias, será confeccionado colírio de concentrado de plaquetas (CCP) o qual irá utilizar visando tratamento do olho seco durante 1 mês e será avaliado semanalmente. A amostra de material biológico que não for utilizada será descartada. Tal pesquisa tem como objetivo principal determinar a prevalência de olho seco em pacientes diabéticos e avaliar a melhora clínica com o uso do CCP, nos pacientes refratários ao tratamento convencional. O tratamento alternativo existente, são lubrificantes em colírio ou em gel, tendo já o participante utilizado deste tratamento, e tendo sido o mesmo refratário a esta terapêutica habitual.

O paciente participante será informado (a) que pode ter todas as informações que desejar sobre o estudo, agora ou a qualquer momento e que as informações serão fornecidas pela coordenadora da pesquisa: Profa. Eurica A N. Ribeiro que poderá ser localizada na Universidade Federal de Alagoas – UFAL, localizada na Av. Lourival de Melo Mota s/n, Cidade Universitária, telefone (82)32141069, e pela pesquisadora Dra. Marina Viegas Moura Rezende Ribeiro, oftalmologista e mestranda da Ufal localizada na Av. Lourival de Melo Mota s/n, Cidade Universitária, telefone (82)32141069.

O participante será informado (a) do risco de acidente durante a coleta do sangue, o qual poderá formar uma mancha vermelha no meu braço, que desaparecerá dentro de alguns dias, sem maiores problemas.

Será informado (a) que os riscos de infecção com uso deste colírio são raros na literatura, visto que é realizada hemocultura no seu sangue, antes de preparar o colírio, e este será congelado a baixas temperaturas. Além do que, usará associado a este tratamento um colírio antibiótico profilático. Porém, caso haja algum tipo de infecção ocular, o mesmo será imediatamente tratado com antibioticoterapia específica e o tratamento com o CCP será suspenso.

O paciente será informado de que todas as informações serão coletadas, protegidas e arquivadas em local seguro pelo pesquisador responsável, mantidas em segredo e que seu nome não irá aparecer em nenhum lugar. Que a qualquer momento poderá recusar sua participação na pesquisa, ou retirar seu consentimento, sem penalidade alguma ou prejuízo.

Será esclarecido de que **não há despesas pessoais** para o participante desta pesquisa em qualquer momento do estudo. Também **não há compensação financeira**

relacionada à sua participação. Em caso de dano pessoal, diretos ou indiretos, imediatos ou tardios, garantimos ao participante da pesquisa indenização legalmente estabelecida e tratamento gratuito pelo tempo que for necessário. Ressarciremos o paciente e seu acompanhante quando necessário, de todos os gastos referentes a participação no projeto, como transporte para ida as consultas e alimentação nestas datas.

Concordando, voluntariamente, com a participação neste estudo, autoriza o pesquisador, a fazer uso dos resultados destes exames, para fins de pesquisa, desde que assegurado o anonimato.

Declara ter compreendido e concordado com todos os termos deste consentimento livre e informado.

Este termo será assinado em duas vias, onde uma das vias ficará com o pesquisador responsável e a outra via com o paciente ou seu responsável legal. Todas as páginas deverão ser rubricadas pelo pesquisador responsável e pelo participante.

Maceió, \_\_\_\_\_ de \_\_\_\_\_ de 2014.

\_\_\_\_\_

Assinatura

\_\_\_\_\_

Pesquisador Coordenador

\_\_\_\_\_

Pesquisador Colaborador

\_\_\_\_\_

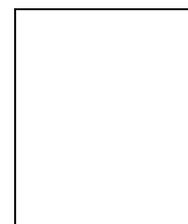
Coorientador

\_\_\_\_\_

Colaborador

\_\_\_\_\_

Colaborador



IMPRESSÃO DIGITAL

## APÊNDICE C – Artigos aceitos para publicação

On Wed, Oct 7, 2015 at 6:52 PM, Jeanette Pearce <Jeanette@dovepress.com> wrote:

Dear Dr Moura Rezende Ribeiro,

I am pleased to inform you that your submission, "Platelet-rich plasma in diabetic dry eye disease", has been accepted for publication in "Clinical Ophthalmology". The publication processing fee is now payable and an invoice is accessible here: [https://www.dovepress.com/invoice.php?pa=edit&invoice\\_id=17183&lc=U4iYMr9MSbAmRt7eugcpgzC4583313](https://www.dovepress.com/invoice.php?pa=edit&invoice_id=17183&lc=U4iYMr9MSbAmRt7eugcpgzC4583313) (If you require any amendments to your invoice, or to process the payment online by bank transfer, please reply to this email.)

The fee can be paid by credit card (Visa, MasterCard or AMEX) or bank transfer\*. Instructions are given below, which we strongly recommend you read before organizing payment.

Please note that we do NOT accept payment by check.

**Paying by credit card:**  
Click on the URL given above to be taken to our secure credit card payment gateway. Because credit card payments are immediate, we recommend using this method to ensure that processing of your paper continues promptly.

**Paying by bank transfer:**  
Please forward the invoice accessible through the URL given above together with this information to your organization's accounts administrator:

Dove Medical Press Ltd.  
Bank of Scotland  
36 Castle Street, Liverpool, L2 0NT, United Kingdom.  
Account name: Dove Medical Press Ltd NO2 A.C.  
Account No. 06024718 Sort Code: 12-17-40.  
VAT No. GB 834 5642 20  
IBAN: GB08 BOFS 1217 4006 0247 18.

[RBO] OSSER\_413 - SUGESTÕES DE CORREÇÕES DA NORMALIZAÇÃO

RBO <rbo@sboportal.org.br> to me, fabianoimbo, dr.ribeiro, cmilcat, joasmyria, eulicanogueira

Portuguese > English Translate message Turn off for Portuguese x

Prezado(a) Dr (a) Marina Moura Rezende Ribeiro,

Artigo: "Diabetic dry eye epidemiological profile in a community in Macaé", está aprovado para publicação, porém precisa antes de algumas correções, sugeridas por nossos normalizadores, em anexo no arquivo anexo e também que aprove as modificações marcadas em vermelho.

Solicitamos que as correções sejam feitas no próprio arquivo que envio anexo e devolvido por e-mail guardamos resposta o mais breve possível (artigo selecionado para publicação mar/abr 2016).

Atenciosamente,  
Marcelo Diniz,RBO

413-1845-1-ED-3...

## Association between visual impairment and depression in the elderly: a systematic review

### *Associação entre deficiência visual e depressão em idosos: uma revisão sistemática*

MARINA VIEGAS MOURA REZENDE RIBEIRO<sup>1</sup>, HERMANN NOGUEIRA HASTEN-REITER JÚNIOR<sup>1</sup>, EURICA ADÉLIA NOGUEIRA RIBEIRO<sup>1</sup>, MARIO JORGE JUCA<sup>1</sup>,  
FABIANO TIMBÓ BARBOSA<sup>1</sup>, CÉLIO FERNANDO DE SOUSA-RODRIGUES<sup>1</sup>

#### ABSTRACT

A systematic review was conducted to investigate the relationship between visual impairment and depression in the elderly. We searched electronic databases (LILACS, SciELO, MEDLINE, and Cochrane Central Register of Controlled Trials) from inception to August 2014 and researched the described references. The search strategy used the following terms: (visual impairment or blindness) and (elderly) and (depression). Of the 641 electronics, 42 works were selected in full and another 20 were identified as being possibly relevant. Ten studies were included. The studies ranged in sample size from 31 to 21,995 participants. Depression was associated with visual impairment in all studies; however, without standardization of diagnostic tests, we could not conduct a meta-analysis or establish a relationship between visual impairment and depression in the elderly.

**Keywords:** Visual impairment; Depression; Aging; Blindness; Vision loss

#### RESUMO

A revisão sistemática foi realizada para investigar a correlação entre deficiência visual e depressão em idosos. Foram pesquisados nas bases eletrônicas (LILACS, SCIELO, MEDLINE e Cochrane Central Register of Controlled Trials) do início até agosto de 2014 e pesquisas de referências descritas. A estratégia de busca utilizou os termos: (deficiência visual ou cegueira) e (idosos) e (depressão). Dos 641 eletrônicos, 42 trabalhos na íntegra foram selecionados e mais 20 trabalhos foram identificados como possivelmente relevantes da lista destes. Do total de estudos, 10 foram incluídos. Os estudos variaram entre 31 e 21.995 participantes. A depressão foi relacionada com deficiência visual em todos os estudos, mas sem padronização de testes diagnósticos não foi possível realizar a metanálise, nem estabelecer relação entre deficiência visual e depressão em idosos.

**Descritores:** Deficiência visual; Depressão; Idoso; Cegueira; Perda visual

ANEXO A – Questionário de OSDI

**Ocular Surface Disease Index<sup>®</sup> (OSDI<sup>®</sup>)<sup>2</sup>**

Ask your patient the following 12 questions, and circle the number in the box that best represents each answer. Then, fill in boxes A, B, C, D, and E according to the instructions beside each.

**HAVE YOU EXPERIENCED ANY OF THE FOLLOWING DURING THE LAST WEEK:**

	All of the time	Most of the time	Half of the time	Some of the time	None of the time
1. Eyes that are sensitive to light?	4	3	2	1	0
2. Eyes that feel gritty?	4	3	2	1	0
3. Painful or sore eyes?	4	3	2	1	0
4. Blurred vision?	4	3	2	1	0
5. Poor vision?	4	3	2	1	0

Subtotal score for answers 1 to 5

**HAVE PROBLEMS WITH YOUR EYES LIMITED YOU IN PERFORMING ANY OF THE FOLLOWING DURING THE LAST WEEK:**

	All of the time	Most of the time	Half of the time	Some of the time	None of the time	
6. Reading?	4	3	2	1	0	N/A
7. Driving at night?	4	3	2	1	0	N/A
8. Working with a computer or bank machine (ATM)?	4	3	2	1	0	N/A
9. Watching TV?	4	3	2	1	0	N/A

Subtotal score for answers 6 to 9

**HAVE YOUR EYES FELT UNCOMFORTABLE IN ANY OF THE FOLLOWING SITUATIONS DURING THE LAST WEEK:**

	All of the time	Most of the time	Half of the time	Some of the time	None of the time	
10. Windy conditions?	4	3	2	1	0	N/A
11. Places or areas with low humidity (very dry)?	4	3	2	1	0	N/A
12. Areas that are air conditioned?	4	3	2	1	0	N/A

Subtotal score for answers 10 to 12

**ADD SUBTOTALS A, B, AND C TO OBTAIN D (D = SUM OF SCORES FOR ALL QUESTIONS ANSWERED)**

**TOTAL NUMBER OF QUESTIONS ANSWERED (DO NOT INCLUDE QUESTIONS ANSWERED N/A)**

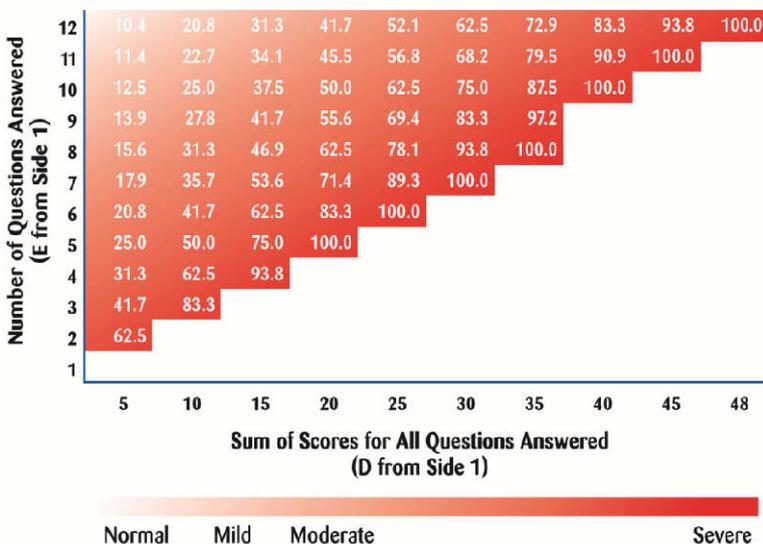
Please turn over the questionnaire to calculate the patient's final OSDI<sup>®</sup> score.

## Evaluating the OSDI® Score<sup>1</sup>

The OSDI® is assessed on a scale of 0 to 100, with higher scores representing greater disability. The index demonstrates sensitivity and specificity in distinguishing between normal subjects and patients with dry eye disease. The OSDI® is a valid and reliable instrument for measuring dry eye disease severity (normal, mild to moderate, and severe) and effect on vision-related function.

## Assessing Your Patient's Dry Eye Disease<sup>1,2</sup>

Use your answers **D** and **E** from **Side 1** to compare the sum of scores for all questions answered (**D**) and the number of questions answered (**E**) with the chart below.\* Find where your patient's score would fall. Match the corresponding shade of red to the key below to determine whether your patient's score indicates normal, mild, moderate, or severe dry eye disease.



\*Values to determine dry eye disease severity calculated using the OSDI® formula:  
 $OSDI^{\circledR} = \frac{(\text{sum of scores}) \times 25}{(\# \text{ of questions answered})}$

Patient's Name: \_\_\_\_\_ Date: \_\_\_\_\_

How long has the patient experienced dry eye? \_\_\_\_\_

Eye Care Professional's Comments: \_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_  
 \_\_\_\_\_  
 \_\_\_\_\_  
 \_\_\_\_\_

Reference: 1. Schiffman RM, Christianson MD, Jacobsen G, Hirsch JD, Reis BL. Reliability and validity of the Ocular Surface Disease Index. *Arch Ophthalmol*. 2000;118:615-621. 2. Data on file, Allergan, Inc.



*Tear and place in patient's chart for follow-up care on next visit.*

## ANEXO B – Aprovação pelo comitê de ética

CONEP: 30435114.6.0000.5013

**Trial Registration:** Use of platelet-rich plasma in diabetic patients with dry eye disease

Institution: Brazilian Clinical Trials Registry (Rebec)

Registry number: RBR-96t463

URL (trial URL): <http://www.ensaiosclinicos.gov.br/rg/RBR-96t463/>