

DESENVOLVIMENTO DE SISTEMA ESTRUTURADO COM INTELIGÊNCIA ARTIFICIAL PARA APOIO NO DIAGNÓSTICO DE PARASITOSES INTESTINAIS

DEVELOPMENT OF A STRUCTURED ARTIFICIAL INTELLIGENCE SYSTEM TO SUPPORT THE DIAGNOSIS OF INTESTINAL PARASITOSES

Eduardo Ottobelli Chielle¹, Eliseu Luiz Kuiava²,
Guilherme Augusto Faust¹, Ana Paula Ottobelli Chielle¹,
Victor Antônio Kuiava³, Roberson Junior Fernandes Alves⁴

RESUMO

Clin Biomed Res. 2020;40(3):148-153

1 Departamento de Ciências da Vida e Saúde, Universidade do Oeste de Santa Catarina. São Miguel do Oeste, SC, Brasil.

2 Departamento de Engenharia Elétrica, Centro Universitário Internacional. São Miguel do Oeste, SC, Brasil.

3 Faculdade de Medicina, Universidade de Passo Fundo. Passo Fundo, RS, Brasil.

4 Departamento de Ciências da Computação, Universidade do Oeste de Santa Catarina. São Miguel do Oeste, SC, Brasil.

Autor correspondente:

Eduardo Ottobelli Chielle
eduardo.chielle@unoesc.edu.br
Departamento de Ciências da Vida e Saúde, Universidade do Oeste de Santa Catarina
Rua Oiapoc, 211.
89900-000, São Miguel do Oeste, SC, Brasil.

Introdução: Sistemas de inteligência artificial são tecnologias promissoras de assistência em saúde e diagnóstico laboratorial, que podem ser implementados como métodos de suporte para o diagnóstico de parasitoses intestinais. Este estudo objetivou desenvolver um *software* de IA que auxilia no diagnóstico laboratorial de parasitoses intestinais, com alta sensibilidade e especificidade.

Métodos: O *software* foi desenvolvido utilizando duas redes neurais, Inception e MobileNet. Primeiro imagens de ovos dos parasitas *Ascaris lumbricoides*, *Trichiuris trichiura*, *Taenia sp.*, *Hymenolepis nana*, *Schistosoma mansoni* e larvas de *Strongyloides stercoralis*, foram utilizados para treinar o banco de dados. Posteriormente 2.740 imagens cedidas pelo Laboratório de Parasitologia da Universidade do Oeste de Santa Catarina foram testadas no *software*.

Resultados: O *software* apresentou sensibilidade de 82,3% (95% intervalo de confiança (IC), 71,9%-89,1%) e especificidade de 95,1% (95% IC, 94,3%-97,8%) para MobileNet e sensibilidade de 72,1% (95% IC, 52,6%-115%) e especificidade de 92,1% (95% IC, 91,7%-97,7%) para Inception.

Conclusão: O *software* apresentou resultados promissores na análise de parasitas intestinais, reforçando que, no futuro, a presença de sistemas de suporte de diagnóstico das parasitoses pode vir a se tornar mais rápido e eficiente.

Palavras-chave: Parasitas; inteligência artificial; diagnóstico

ABSTRACT

Introduction: Artificial intelligence systems are promising technologies for health care and laboratory diagnosis, which can be implemented as support methods for the diagnosis of intestinal parasitoses. This study aimed to develop an artificial intelligence *software* that assists the laboratory diagnosis of intestinal parasitoses with high sensitivity and specificity.

Methods: The *software* was developed using two neural networks, Inception and MobileNet. First, images of eggs from the parasites *Ascaris lumbricoides*, *Trichuris trichiura*, *Taenia sp.*, *Hymenolepis nana*, *Schistosoma mansoni* and *Strongyloides stercoralis* larvae were used to train the database. Then, 2,740 images provided by the Parasitology Laboratory of the Universidade do Oeste de Santa Catarina were tested in the *software*.

Results: The *software* had a sensitivity of 82.3% (95% confidence interval [CI], 71.9% – 89.1%) and a specificity of 95.1% (95% CI, 94.3% – 97.8%) for MobileNet and a sensitivity of 72.1% (95% CI, 52.6% – 115%) and a specificity of 92.1% (95% CI, 91.7% – 97.7%) for Inception.

Conclusion: The software showed promising results in the analysis of intestinal parasites, reinforcing that, in the future, the presence of diagnostic support systems for parasitoses may become faster and more efficient.

Keywords: Parasites; artificial intelligence; diagnosis

INTRODUÇÃO

Os sistemas de saúde ao redor do mundo precisam enfrentar numerosos e simultâneos desafios para conseguir prover à população formas de prevenção, diagnóstico e tratamento das mais variadas doenças e condições parasitológicas. Tais desafios se apresentam em diversas esferas, e estão geralmente ligados às demandas da população, falta de eficiência sistemas de saúde e condições precárias da população¹.

Isto se torna evidente, especialmente em países subdesenvolvidos e em desenvolvimento onde as parasitoses intestinais apresentam uma marcante incidência e constituem um problema de saúde pública, contribuindo para o agravamento de problemas econômicos, sociais e de saúde². Estudos feitos no Brasil apontam uma significativa prevalência de parasitoses nas diferentes populações que habitam o país^{3,4}. A prevalência e o tipo de parasita se apresentam bastante variados, pois sofrem influência da diversidade geográfica, etnias, culturas e costumes⁵. Do ponto de vista parasitológico, pessoas de baixa classe econômica e social, que vivem em áreas com más condições de higiene, estão mais suscetíveis para infecção por enteroparasitoses, de modo que a qualidade de vida, e os hábitos de higiene são fatores determinantes para o aparecimento das doenças⁶.

Existe uma elevada incidência de doenças parasitárias, principalmente em indivíduos que vivem em condições expostas ou que estejam em desvantagem social. Enteroparasitoses atingem indivíduos de todas as faixas etárias, causando anemia, diarreia, emagrecimento, má absorção dos nutrientes, dificuldade para aprendizado, diminuição no rendimento do trabalho e retardo no desenvolvimento físico e cognitivo⁷.

No entanto, os avanços tecnológicos e científicos associados ao diagnóstico destas parasitoses pararam no tempo, e atualmente não há disponível no mercado equipamentos ou *softwares* que auxiliem no diagnóstico mais rápido e preciso destas parasitoses. O diagnóstico em sua grande maioria, ainda se limita a observação microscópica e individual de cada amostra, tornando a prática laboratorial em parasitologia desgastante e cansativa⁸. Nesse contexto, o uso de técnicas computacionais estruturada com Inteligência Artificial (IA), para o diagnóstico, torna-se uma ferramenta importante que auxilia os profissionais de saúde e especialmente os pacientes, aprimorando e agilizando os diagnósticos⁹.

A IA tem sido alvo de muita discussão atualmente, pois consiste em um conjunto de tecnologias computacionais que são inspiradas em sistemas neurais com a finalidade de sentir, aprender, reagir e criar ações. Ao contrário do ser humano elas diferem em velocidade, autonomia e generalidade. Seu papel na sociedade tem sido ainda pouco expressivo, contudo estimativas preveem maior uso delas em poucos anos, com grande ênfase para sistemas de transportes autônomos, diagnósticos médicos, tratamentos e assistência física para pessoas mais velhas^{10,11}. Na área de saúde, a utilização de sistemas de IA tem obtido grande avanço, sendo vista como uma das principais áreas de atuação, podendo muito bem assistir diagnósticos e procedimentos em saúde¹⁰.

Nesse sentido, um importante segmento de atuação da IA consiste no auxílio do diagnóstico laboratorial, uma vez que o sistema de reconhecimento visual e o *deep learning* dos aplicativos de IA já estão bem estruturados, podendo ser de grande valia o desenvolvimento de sistemas que pudessem ajudar os profissionais de saúde com os diagnósticos¹⁰. Assim, este estudo objetivou desenvolver um software de IA que auxilia no diagnóstico laboratorial de parasitoses intestinais, com alta sensibilidade e especificidade, o qual pode ser utilizado por laboratórios, especialmente os que trabalham para o Sistema Único de Saúde (SUS), agilizando e aumentando os diagnósticos das parasitoses intestinais, tanto na distinção de normalidade e patologia.

MÉTODOS

Desenvolvimento do software

Um software de IA foi desenvolvido usando a técnica de aprendizado profundo. Este software foi estruturado em um conjunto de algoritmos que modelam abstrações de dados de alto nível usando um gráfico profundo com várias camadas de processamento, compostas por transformações lineares e não lineares. Foi estabelecido uma interface de comunicação das características das imagens de parasitas intestinais (ovos e larvas) organizadas sob uma cadeia de análise que definiu um padrão lógico de classificação de imagens com e sem estruturas parasitárias.

A linguagem de programação Python versão 3 foi adotada. Essa linguagem promove um método sistemático de programação baseado no conceito

de software estruturado em blocos, facilitando a identificação das características no banco de dados. É uma linguagem dinâmica, interpretada, robusta, multiplataforma e multiparadigma (orientação a objetos, funcional, reflexiva e imperativa). As linguagens de programação PHP versão 7 e Javascript permitiram criar uma interface de fácil manipulação, favorecendo a implementação de botões e barras de rolagem para escolher alternativas e os comandos necessários.

O software desenvolvido foi denominado de ParasitAI (Parasites Artificial Intelligence).

Desenvolvimento do banco de dados e seleção de imagens parasitológicas

As imagens parasitológicas foram removidas de sites especializados em parasitologia clínica,

com diferentes resoluções. As imagens foram analisadas pelos pesquisadores e classificadas de acordo com a estrutura e seu gênero e espécie por Farmacêutico-Bioquímico com mais de 10 anos de experiência em análises parasitológicas. Estas imagens posteriormente foram utilizadas para o treinamento do banco de imagens do software.

Para o desenvolvimento do banco de dados do sistema, foram utilizadas 95 imagens selecionadas, redimensionadas, recortadas e trabalhadas de modo geral, possibilitando a geração de 4.224 imagens. Ao final do processo foram obtidas 704 imagens de Ovos de *Ascaris lumbricoides*, 704 imagens de *Trichiuris trichiura*, 704 imagens de larvas de *Strongyloides stercoralis*, 704 imagens de ovos de *Taenia* sp., 704 imagens de *Schistosoma mansoni* e 704 imagens de *Hymenolepis nana*, conforme Figura 1.

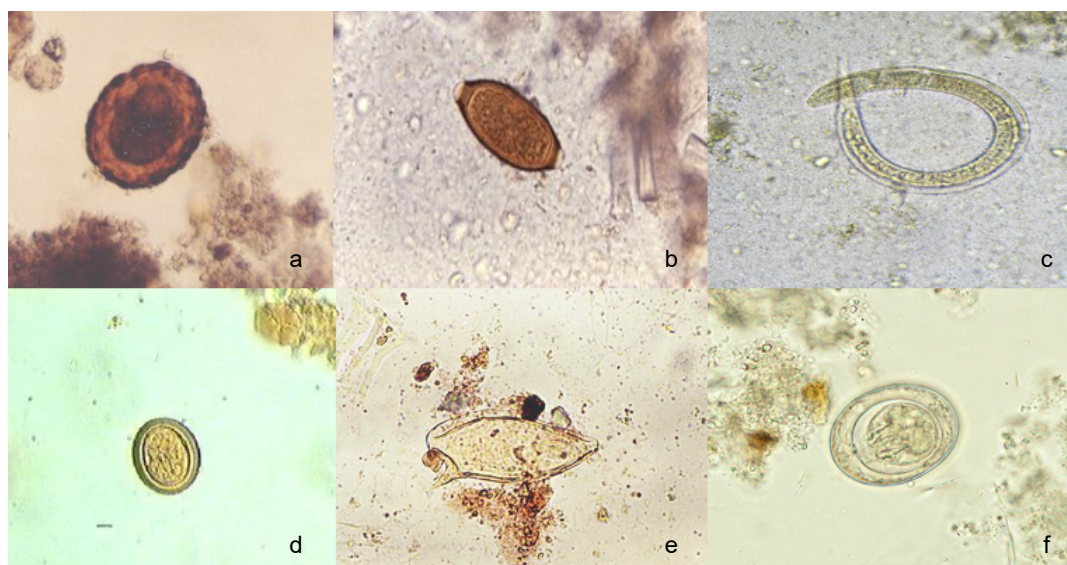


Figura 1: Modelo de imagem usado para o desenvolvimento do banco de dados de software. a: Ovos de *Ascaris lumbricoides*; b: Ovos de *Trichiuris trichiura*; c: Larvas de *Strongyloides stercoralis* com primórdio genital evidente; d: Ovos de *Taenia* sp.; e: Ovos de *Schistosoma mansoni*; f: Ovos de *Hymenolepis nana*.

Todas as imagens selecionadas foram analisadas pelo *software* de inteligência artificial para criar um padrão de reconhecimento. A resolução da imagem do sistema é 224x224 pixels para o MobileNet e 299x299 para o Inception. Utilizou-se análise de imagem com três canais R, G e B.

Treinamento do algoritmo de inteligência artificial

A técnica *Deep Learning* com treinamento em rede neural convolucional foi aplicada através da biblioteca TensorFlow de código aberto. Dois modelos de redes neurais pré-treinados, Mobilenet versão 1.0 e Inception versão 3, foram utilizados para treinar a classificação das imagens. Ambos os modelos foram arquitetados a partir de um conjunto de imagens de uso geral pré-analisadas, disponíveis pelo Google Inc.

O treinamento do algoritmo de inteligência artificial utilizou as 4224 imagens selecionadas e classificadas pelos pesquisadores nos modelos de rede neural pré-treinados MobileNet e Inception. Dez por cento (422) das imagens foram usadas como um conjunto de dados para a validação interna do próprio sistema, a fim de permitir o cálculo dos níveis de confiabilidade.

As configurações usadas para calibrar o MobileNet e obter o melhor desempenho foram: 1200 interações foram configuradas, com uma taxa de aprendizado de 0,001, cujo nível de confiabilidade oferecido pelo sistema foi de 86%.

Para o Inception, a melhor configuração encontrada foi uma série de interações de 5000, com uma taxa de aprendizado de 0,1, cujo nível de confiabilidade oferecido pelo sistema foi de 81,9%.

Validação de software

Após o treinamento do software, este foi submetido a um teste de eficiência, que ocorreu em três etapas:

Primeiro: foram selecionadas 120 imagens dos parasitas testados, que geraram 685 imagens de diferentes aumentos microscópicos de 40 e 100x (432 imagens sem estruturas parasitárias, 268 de larvas *Strongyloides stercoralis*, 520 de ovos de *Ascaris lumbricoides*, 412 ovos de *Taenia* sp., 540 de *Schistosoma mansoni*, 568 de *Trichiuris trichiura* e 249 de *Hymenolepis nana*). As lâminas e imagens foram cedidas pelo Laboratório de Parasitologia da Universidade do Oeste de Santa Catarina – São Miguel do Oeste – Brasil.

Segundo: o diagnóstico das lâminas foi reconfirmado por Farmacêutico-Bioquímico e as 685 imagens foram convertidas para o formato JPEG e inseridas no programa.

As 685 imagens fornecidas pelo Laboratório de Parasitologia, passaram por rotações de 90, 180 e 270 graus para aumentar o número do banco de dados de imagens que foram testadas pelo sistema. Assim, 2.740 imagens foram usadas para validar externamente o sistema.

Terceiro: as imagens no formato JPEG foram analisadas pelo software ParasiAI, que liberou o diagnóstico em um arquivo de texto que posteriormente foi tabulado no Microsoft Excel.

RESULTADOS

O software foi desenvolvido para verificar imagens de estruturas parasitárias presentes em Exames Parasitológicos de Fezes, treinado para realizar diagnósticos, diferenciando os parasitas intestinais de alimentos processados pelo trato gastrointestinal. Sua estrutura é mostrada na Figura 2.

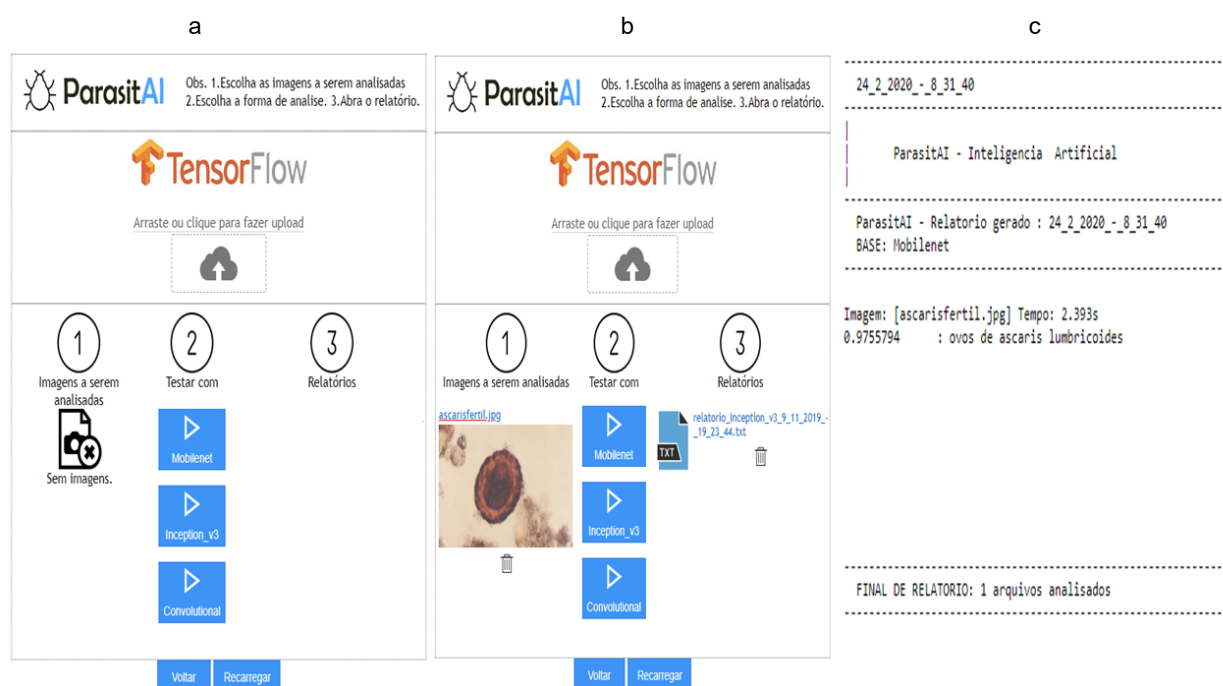


Figura 2: Estrutura funcional do ParasiAI (Parasitas Artificial Intelligence). a: Página inicial; b: Página de inserção da imagem em JPEG; c: Página com relatório de resultados.

A sensibilidade e a especificidade do software foram verificadas por meio do teste de 2.740 imagens fornecidas pelo Laboratório de Parasitologia da Universidade do Oeste de Santa Catarina (432 imagens sem estruturas parasitárias, 268 de larvas *Strongyloides stercoralis*, 520 de ovos de *Ascaris lumbricoides*, 412 ovos de *Taenia* sp., 440 de *Schistosoma mansoni*, 419 de *Trichiuris trichiura* e 249 de *Hymenolepis nana*). Os resultados globais apresentaram sensibilidade de 82,3% [95% intervalo

de confiança (IC), 71,9%-89,1%] e especificidade de 95,1% (95% IC, 94,3%-97,8%) para MobileNet, e sensibilidade de 72,1% (95% IC, 52,6%-115%) e especificidade de 92,1% (95% IC, 91,7%-97,7%) para Inception (Tabela 1). Para diferenciação entre imagens sem parasitas intestinais e com presença de parasitas o sistema obteve sensibilidade máxima de 77,6% e especificidade de 94,6%. Não houve diferença estatística em sensibilidade e especificidade entre MobileNet e Inception ($p = 0,74$).

Tabela 1: Sensibilidade e especificidade por parasita intestinal avaliado.

Condições		MobileNet	Inception
<i>Ascaris lumbricoides</i>	Sensibilidade	0,8824786325	0,8760683761
	Especificidade	0,9480659026	0,9140401146
<i>Strongyloides stercoralis</i>	Sensibilidade	0,8211538462	0,8307692308
	Especificidade	0,9903295129	0,9835243553
<i>Taenia sp</i>	Sensibilidade	0,7384615385	0,5961538462
	Especificidade	0,9856733524	0,9885386819
<i>Schistosoma mansoni</i>	Sensibilidade	0,6204379562	0,2357043236
	Especificidade	0,9774355301	0,9881805158
<i>Trichiuris trichiura</i>	Sensibilidade	0,9195205479	0,9332191781
	Especificidade	0,9362464183	0,9058022923
<i>Hymenolepis nana</i>	Sensibilidade	0,822815534	0,8495145631
	Especificidade	0,9674068768	0,9580945559
Global	Sensibilidade	0,8251575931	0,7211805158
	Especificidade	0,9510315186	0,9216361032

DISCUSSÃO

A incidência e prevalência de parasitoses, principalmente no que tange a população de baixa renda, ainda é um problema de saúde pública em países subdesenvolvidos^{12,13}. Desta forma, os processos de detecção precoces e corretos diagnósticos das parasitoses dependem, dentre outros fatores, do raciocínio e experiência de profissionais de saúde. Nesse contexto, o uso de técnicas computacionais no diagnóstico estruturado com IA torna-se uma ferramenta importante que poderá ajudar os profissionais de saúde e especialmente os pacientes, melhorando e acelerando o diagnóstico de parasitoses^{10,13}. Este trabalho propôs o desenvolvimento de um *software* que poderá auxiliar no diagnóstico de parasitoses intestinais.

Os resultados obtidos mostraram que o sistema ParasitAI gerou dados promissores, apresentando sensibilidade de 77,6% e especificidade de 94,6%, com características inovadoras que poderão ser incorporadas em laboratórios de parasitologia, no futuro.

Alguns estudos têm demonstrado que sistemas de IA podem até superar os profissionais no diagnóstico de enfermidades específicas. Um estudo publicado em *Annals of Oncology Scientific Journal*, por Mar e Soyer, com participação de cientistas da França e Estados Unidos, mostrou que patologistas detectaram com precisão 86,6% de melanomas, enquanto um sistema de IA obteve acerto em 95% dos casos¹⁴. Bringsjord et al.¹⁰ descreveram que na área da saúde, o uso de sistemas de IA tem apresentado significativos progressos, sendo assim visto como uma das principais formas de auxiliar diagnósticos.

Sistemas de apoio à decisão são softwares que se propõem a ajudar os clínicos no diagnóstico e decisões terapêuticas relacionadas ao paciente. Eles facilitam o acesso dos profissionais a dados precisos na literatura científica, possibilidades propedêuticas, estabelecimento de diagnóstico diferencial, além

de destacar características específicas em novos padrões clínicos¹³.

O sistema de leitura e identificação facilita a leitura e diagnóstico de parasitoses intestinais, permitindo aos laboratórios e profissionais diagnosticar as mesmas estruturas à distância, como em cidades afastadas de centros metropolitanos, vilas e regiões ribeirinhas que não contam com profissionais capacitados para o diagnóstico. Pode-se rapidamente preparar a amostra no microscópio, fotografar e realizar um diagnóstico prévio, e/ou mais tarde enviar as imagens para lugares distantes, como grandes centros especializados que apresentam tecnologia e profissionais capazes de confirmar o diagnóstico^{15,16}.

Esse tipo de procedimento tem potencial de reduzir vários custos, como por exemplo os de transporte de material, evitando a perda de amostras, e também garantindo a realização de um diagnóstico mais rápido e assertivo^{16,17}. Com base no banco de dados, o sistema de leitura e diagnóstico é capaz de disponibilizar recomendações mais enfáticas para cada caso de parasitoses em alguns minutos, mostrando o melhor tratamento. O sistema diferencia-se por possuir dois bancos de dados pré-treinados, que potencializa a validação dos dados, garante maior segurança de resultados e melhor validação externa.

Levando em conta que este trabalho é o resultado de um conceito preliminar, existem limitações no mesmo, como o uso de somente dois modelos de rede neural para desenvolvimento do *software* e captura de imagens clássicas das condições analisadas, os parasitas usados na testagem são estruturas facilmente identificáveis na rotina do EPF. Um desequilíbrio foi observado no número de imagens usadas para cada condição patológica analisada. A ferramenta teria potencial para inserção sistemática em rotina laboratorial futuramente, após ser aperfeiçoada e associada a outros sistemas de leitura de lâminas como captação automática de imagens (scanner).

Formas que demandam maior treinamento para identificação correta de enteroparasitos, gerando constantemente maiores dúvidas tanto durante o aprendizado quando no laboratório clínico, são os cistos de protozoários intestinais, os quais não foram incluídos neste estudo inicial, sendo necessário um incremento da capacidade analítica do sistema para a diferenciação de detalhes estruturais. Entretanto, enfatizamos que é um método prático, barato e efetivo e que os próximos passos deverão ser o aperfeiçoamento da capacidade analítica e maior treinamento do sistema, para melhorar em sua qualidade e consequentemente a especificidade e sensibilidade.

Destacamos o fato de que é improvável que uma máquina substitua inteiramente profissionais humanos, embora esse sistema IA pode auxiliar o diagnóstico de parasitoses intestinais^{11,18}. Além do mais, esse sistema de interpretação e diagnóstico com base em IA é capaz de ler, interpretar, diferenciar e diagnosticar imagens de ovos e larvas de parasitas

intestinais, tornando o diagnóstico mais preciso, eficiente e rápido, especialmente em lugares onde há uma frágil e escassa estrutura de diagnóstico.

Sistemas de IA vêm desempenhando um papel mais significativo em diversas áreas, em especial na área da saúde, que possuem um grande potencial no auxílio a assistência e diagnóstico. Constituem modos de complementar as fraquezas estruturais do sistema de saúde, como por exemplo a indisponibilidade de profissionais e limitações geográficas.

O sistema desenvolvido obteve resultados preliminares de pré-treinamento e validação importantes e indicaram que a ferramenta tem potencial de uso para triagem diagnóstica e no futuro com um incremento no banco de dados visando aumentar a diversidade dos parasitos deverá ser realizada para aperfeiçoar o sistema.

Conflitos de Interesses

Os autores declaram não ter conflitos de interesse.

REFERÊNCIAS

1. Saldiva PHN, Veras M. Gastos públicos com saúde: breve histórico, situação atual e perspectivas futuras. *Estud av*. 2018;32(92):47-61.
2. Silva CG, Santos HA. Ocorrência de parasitoses intestinais da área de abrangência do Centro de Saúde Cícero Idelfonso da Regional Oeste da Prefeitura Municipal de Belo Horizonte, Minas Gerais. *Bioterra*. 2001;1(1):1-11.
3. Andrade EC, Leite ICG, Vieira MT, Abramo C, Tibiriçá SHC, Silva PL. Prevalência de parasitoses intestinais em comunidade quilombola no Município de Bias Fortes, Estado de Minas Gerais, Brasil, 2008. *Epidemiol Serv Saúde*. 2011;20(3):337-44.
4. Ely LS, Engroff P, Lopes GT, Werlang M, Gomes I, De Carli GA. Prevalência de enteroparasitos em idosos. *Rev bras geriatr gerontol*. 2011;14(4):637-46.
5. Marquez AS, Marquez AS, Hasenack BS, Trapp EH, Guilherme RL. Prevalência de enteroparasitoses em crianças de um bairro de baixa renda de Londrina – Paraná. *UNOPAR Cient Cienc Biol Saude*. 2002;4(1):55-9.
6. Damazio SM, Lima MS, Soares AP, Souza MAA. Intestinal parasites in a quilombola community of the Northern State of Espírito Santo, Brazil. *Rev Inst Med trop S Paulo*. 2013;55(3):179-83.
7. Prado MS, Barreto ML, Strina A, Faria JAS, Nobre AA, Jesus SR. Prevalência e intensidade de infecção por parasitas intestinais em crianças na idade escolar na cidade de Salvador (Bahia, Brasil). *Rev Soc Bra Med Trop*. 2001;34(1):99-101.
8. Santos PHS, Barros RCS, Gomes KVG, Nery AA, Casotti CA. Prevalência de parasitoses intestinais e fatores associados em idosos. *Rev Bras Geriatr Gerontol*. 2017;20(2):244-54.
9. Gebrim LH. A detecção precoce do câncer de mama no Brasil. *Cad Saude Publica*. 2016;32(5):1-2.
10. Bringsjord S, Bello P, Ferrucci D. Creativity, the Turing Test, and the (better) Lovelace Test. *Minds Mach*. 2001;11:3-27.
11. Sugi M, Murakami H, Yoshida K. Projection of future changes in the frequency of intense tropical cyclones. *Clim Dyn*. 2017;49:619-32.
12. Frei F, Juncansen C, Ribeiro-Paes JT. Levantamento epidemiológico das parasitoses intestinais: viés analítico decorrente do tratamento profilático. *Cad Saude Publica*. 2008;24(12):2919-25.
13. Panch T, Szolovits P, Atun R. Artificial intelligence, machine learning and health systems. *J Glob Health*. 2018;8(2):30-7.
14. Mar VJ, Soyer PH. Artificial intelligence for melanoma diagnosis: how can we deliver on the promise? *Ann Oncol*. 2018;30(12):e1-e3.
15. Krizhevsky A, Sutskever I, Hinton GE. ImageNet classification with deep convolutional neural networks. *Commun ACM*. 2017;60(6):84-90.
16. Gunkel DJ. Comunicação e inteligência artificial: novos desafios e oportunidades para a pesquisa em comunicação. *Galáxia*. 2017;(34):5-19.
17. Atun R. Transitioning health systems for multimorbidity. *Lancet*. 2015;386(9995):721-2.
18. Badawi O, Brennan T, Celi LA, Feng M, Ghassemi M, Ippolito A, et al. Making big data useful for health care: a summary of the inaugural mit critical data conference. *JMIR Med Inform*. 2014;2(2):1-11.

Recebido: 13 jul, 2020

Aceito: 1 set, 2020

DESEMPENHO ACADÊMICO DE DOUTORES EGRESSOS DO PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM MEDICINA: CIÊNCIAS MÉDICAS DA FACULDADE DE MEDICINA DA UFRGS

ACADEMIC PERFORMANCE OF DOCTORAL GRADUATES FROM THE GRADUATE PROGRAM IN MEDICINE: MEDICAL SCIENCES AT UFRGS SCHOOL OF MEDICINE

Vera Susana Ribeiro¹, Lucas França Garcia²,
Wolnei Caumo^{1,3}, Edison Capp^{1,4}

RESUMO

Clin Biomed Res. 2020;40(3):154-160

1 Programa de Pós-Graduação em Medicina: Ciências Médicas, Faculdade de Medicina, Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS). Porto Alegre, RS, Brasil.

2 Programa de Pós-Graduação em Promoção da Saúde, UniCesumar. Maringá, PR, Brasil.

3 Departamento de Cirurgia, Faculdade de Medicina, Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS). Porto Alegre, RS, Brasil.

4 Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde: Ginecologia e Obstetrícia, Faculdade de Medicina, Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS). Porto Alegre, RS, Brasil.

Autor correspondente:

Edison Capp
edcapp@ufrgs.br
Faculdade de Medicina, Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS)
Rua Ramiro Barcelos, 2400.
90035-003, Porto Alegre, RS, Brasil.

Introdução: embora, no Brasil, muito tenha sido feito para estimular a criação e manutenção de programas de pós-graduação ainda há carência de meios para avaliar e para mensurar a evolução profissional dos egressos. O objetivo é compreender a trajetória dos Doutores formados pelo Programa de Pós-Graduação em Medicina Ciências Médicas (PPGCM), Faculdade de Medicina, Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS) e propor um índice de desempenho acadêmico e de inserção profissional.

Métodos: foi realizado um estudo transversal. Foram coletados dados dos Currículos Lattes dos egressos de doutorado do Programa de Pós-Graduação em Medicina: Ciências Médicas (PPGCM), no período de 1987 a 2014. Foram extraídos apenas os dados pertinentes a sua origem, curso de graduação e de mestrado, produção intelectual, inserção acadêmica e a posição profissional.

Resultados: foram analisados 324 doutores egressos, 221 eram graduados em Medicina. Foram utilizadas as variáveis: graduação em medicina, vínculo laboral em universidade pública, exerce atividade como orientador em nível de doutorado, exerce atividade como orientador em nível de mestrado, bolsista de produtividade em pesquisa do CNPq e possui registro do índice H no currículo Lattes. O coeficiente de determinação (R²) demonstrou que as variáveis incluídas no modelo explicam 99% do modelo hierárquico.

Conclusão: os resultados demonstram que os egressos têm contribuído para a construção de conhecimento qualificado disseminado em jornais de circulação internacional, formação de recursos humanos, interagir e criar parcerias em seu ambiente de trabalho, gerenciar e repassar o conhecimento, bem como para fomentar o conhecimento na área das ciências médicas com relevância regional, nacional e internacional.

Palavras-chave: Ensino; pós-graduação; publicações; egressos; doutorado; científico; acadêmico; índice de inserção

ABSTRACT

Introduction: Although, in Brazil, much has been done to encourage the creation and maintenance of graduate programs, there remains a lack of means to assess and measure the professional outcomes of graduates. The objective is to understand the trajectory of doctoral graduates from the Graduate Program in Medicine: Medical Sciences (PPGCM), School of Medicine, Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS), and propose an index for academic performance and professional placement.

Methods: A cross-sectional study was conducted. Data available at CV Lattes database of the National Council for Scientific and Technological Development (CNPq) were collected on doctoral graduates from the PPGCM, from 1987 to 2014. Only data pertaining to their origin, undergraduate and master's degrees, intellectual output, academic performance, and professional placement were retrieved.

Results: Data on 324 doctoral graduates were analyzed, 221 had graduated in medicine. Undergraduate degree, employment at a public university, working as a doctoral-level advisor, working as a master's-level advisor, CNPq research productivity grantee, and having a recorded h-index in the Lattes curriculum were collected. The coefficient of determination (R^2) demonstrated that the variables included in the model explain 99% of the hierarchical model.

Conclusion: The results show that the graduates have contributed to developing qualified knowledge disseminated in international newspapers, training human resources, interacting and creating partnerships in the workplace, managing and passing on knowledge, as well as fostering knowledge in the area of medical sciences with regional, national, and international relevance.

Keywords: *Teaching; graduate school; publications; graduates; doctoral degree; scientific; academic; placement index*

INTRODUÇÃO

A pós-graduação *stricto sensu* tem como objetivo formar recursos humanos qualificados e oportunizar o desenvolvimento de novas tecnologias aplicáveis¹. O aprimoramento e titulação docente têm tornado possível o avanço sócio educacional de todo o sistema de graduação e pós-graduação *lato e stricto sensu*^{2,3}.

Os programas de pós-graduação buscam atender à necessidade de formar pesquisadores, bem como qualificar e aprimorar a área educacional e profissional dos alunos egressos³. Esses egressos tornam-se um elo entre a academia e o mercado laboral ao propiciarem que novas tecnologias sejam incorporadas pelas empresas e demais setores da sociedade¹.

A titulação dos discentes tem propiciado considerável avanço ao sistema de graduação e pós-graduação acadêmica no país³. Apesar das dificuldades encontradas na expansão do sistema de ensino no Brasil, a titulação dos discentes tem se mantido robusta pelo apoio, recebido, da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (Capes) através de diversas linhas de financiamento e apoio a pesquisa (Parecer nº 977/65)⁴. A pós-graduação tem a incumbência de produzir novos conhecimentos, destacando-se o aspecto social e científico, além de, em um país com as dimensões do Brasil, corrigir desigualdades regionais⁵.

O Programa de Pós-Graduação em Medicina: Ciências Médicas (PPGCM) da Faculdade de Medicina da Universidade Federal do Rio Grande do Sul é um programa consolidado e foi criado através do parecer 124/1981 da Câmara de Pós-Graduação (CAMPG/UFRGS). Esse programa tem caráter abrangente,

com ênfase nos aspectos de patogenia das principais moléstias, com áreas básicas de patologia, fisiologia, bioquímica, microbiologia e outras com objetivo de incentivar a produção científica. Ainda não foi examinada a inserção acadêmica de seus egressos. No Brasil, há poucos estudos que abordem o processo de formação e o destino de pesquisadores, considerando especificidades de cada área de conhecimento, formação e campo científico^{6,7}. Há necessidade de avaliar o desenvolvimento de carreiras e a adaptação acadêmica dos pós-graduandos.

O objetivo deste estudo foi identificar fatores associados com a inserção no meio científico e acadêmico dos doutores egressos do Programa de Pós-Graduação em Medicina Ciências Médicas da Faculdade de Medicina da UFRGS.

MÉTODOS

Delineamento

Foi realizado um estudo transversal.

População e amostra

Foram identificados todos os alunos que concluíram doutorado no Curso de Doutorado no Programa de Pós-Graduação em Medicina: Ciências Médicas (PPGCM), Faculdade de Medicina (Famed), Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS) no período de 1987 (ano de criação do PPGCM) a 2014. Os nomes dos egressos foram utilizados para acessar seus currículos modelo Lattes, o qual é de acesso público. Foi mantida a privacidade e confidencialidade, sendo utilizado

apenas os dados pertinentes para compreender os objetivos propostos pelo estudo.

Os nomes dos egressos foram obtidos através das atas de defesa de doutorado do PPGCM. A partir disto, foram acessados os Currículos Lattes dos titulados e obtidas as seguintes informações:

- data de atualização do currículo Lattes;
- sexo;
- curso de graduação;
- IES do curso de Graduação;
- IES do curso de Mestrado;
- IES do curso de Doutorado;
- inserção acadêmica, profissional, tecnológica ou industrial;
- número de artigos publicados;
- índice de impacto dos artigos;
- Qualis/Capes dos artigos publicados na área da Medicina I.

Os dados foram coletados da base de dados pública da Plataforma Lattes do Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) e no Sistema de Pós-Graduação (POSGRAD) da Universidade Federal do Rio Grande do Sul.

O projeto foi submetido e aprovado pelo Comitê de Ética e Pesquisa (CEP) da UFRGS (#42975115.5.0000.5347).

Análise estatística

A análise descritiva foi realizada por meio da média e desvio padrão, frequência ou proporção. A comparação foi realizada por meio do teste *t* para amostras independentes foi utilizada para comparação entre médias. Para comparar variáveis categóricas, utilizou-se o teste de qui-quadrado de Pearson ou teste exato de Fischer.

Foi construído um índice ajustado de produção científica e inserção no meio acadêmico profissional utilizando um modelo de regressão. Para construir este índice, foram consideradas as seguintes variáveis: índice de impacto dos periódicos mensurado pelo JCR, idade de conclusão do doutorado, idade do doutorando ao final do último ano e busca (2014), gênero e número de artigos publicados. A partir deste índice utilizado como variável desfecho foram realizadas as análises univariadas para identificar potenciais fatores associados ao desfecho de interesse. Foi realizada a comparação do índice de produção qualificada entre os seguintes fatores referentes aos doutores egressos: curso de graduação, atividade de ensino na graduação, orientações em níveis graduação, especialização, mestrado e doutorado, participação em bancas de avaliação, possuir bolsa de produtividade em pesquisa, registro do índice H no currículo Lattes, registro na base de dados do Google acadêmico, vínculo laboral. As variáveis que apresentaram significância estatística ao nível de

5% foram incluídas no modelo de regressão para identificar os fatores independentes correlacionados com o índice ajustado de produção qualificada. Realizou-se controle para multicolinearidade e o método de entrada das variáveis no modelo foi *forwards' stepwise*.

No primeiro nível, foram incluídas graduação em medicina ou outros cursos, se possui vínculo docente com universidade pública ou privada e vínculo com qualquer instituição que tenha atividade de ensino. No segundo nível, foram incluídas as variáveis como se estava vinculado a qualquer instituição de ensino, se realiza orientação em níveis de graduação e especialização, mestrado e doutorado. No terceiro nível, foram incluídas as variáveis que podem sofrer influência de todas as demais variáveis incluídas nos modelos precedentes, e mais próximas ao desfecho, tais como existência de registro do índice H no currículo Lattes, registro no Google acadêmico de acesso público e se possui bolsa de produtividade em pesquisa do CNPq. As variáveis (1) vínculo com qualquer instituição que tenha atividade de ensino, (2) orientação na graduação e especialização e (3) registro no Google acadêmico de acesso público foram excluídas dos modelos por apresentarem colinearidade. Para todas as análises o nível de significância estatística para o erro alfa estabelecido foi um $P < 0,05$, bicaudal. As análises foram realizadas por meio do software SPSS versão 21.0 (SPSS, Chicago, IL).

RESULTADOS

Características sociodemográficas

No período de 1987 a 2014 foram identificados 324 dos egressos de doutorado do Programa de Pós-Graduação em Medicina: Ciências Médicas da Faculdade de Medicina da UFRGS. Foram incluídos na análise 317, sete foram excluídos por dados incompletos. A idade dos egressos no momento da defesa foi de $39,49 \pm 8,38$ anos. 47% dos egressos, foram do sexo feminino ($n = 154$) e 68,8% ($n = 233$) eram graduados em medicina. As características da amostra estão apresentadas na Tabela 1 e são dados que descrevem a situação dos egressos no momento da realização deste estudo (dados referentes a 2014). 27,5% eram servidores da Universidade Federal do Rio Grande do Sul, 13,3% Hospital de Clínicas de Porto Alegre, 8,0% Universidade Federal de Ciências da Saúde de Porto Alegre, os demais egressos 51,5% eram de instituições privadas e públicas de ensino/pesquisa do sistema educacional do país. Sete alunos tinham se graduado no exterior: Argentina (1), Bolívia (2), Estados Unidos (2), Peru (1) e Uruguai (1). Dezesesseis realizaram mestrado no exterior (Bélgica, Bolívia, Canadá, Escócia, Estados Unidos, Inglaterra, México e Suíça).

Tabela 1: Curso de graduação dos egressos.

Característica	Média (SD)	Frequência (%)
Curso de graduação		
Biologia		20 (6,17%)
Biomedicina		5 (1,54%)
Educação Física		2 (0,16%)
Enfermagem		10 (3,09%)
Farmácia/Bioquímica		36 (11,11%)
Fisioterapia		8 (2,46%)
Fonoaudiologia		4 (1,23%)
Medicina		221 (68,2%)
Nutrição		8 (2,46%)
Odontologia		3 (0,92%)
Psicologia		3 (0,92%)
Física		1 (30%)
Veterinária		3 (0,92%)
Medicina		218 (67,28%)
Vínculo laboral com instituição de ensino pública		239 (73,76%)
Vínculo laboral com instituição de ensino privada		79 (24,38%)
Exerce atividade de em instituições de ensino e ou pesquisa		297 (91,66%)
Exerce atividade de orientação na graduação ou especialização		197 (60,8%)
Exerce atividade como orientador de mestrado		137 (42,28%)
Exerce atividade como orientador de doutorado		85 (26,23%)
Participação em bancas examinadoras		258 (60,8%)
Possui registro do índice H no currículo Lattes		87 (26,85%)
Possui registro na Plataforma do Google Acadêmico		30 (9,25%)
Bolsista de produtividade em Pesquisa do CNPq		35 (10,8%)
Número de artigos publicados	42,06 (52,36)	
Número de artigos publicados em Jornais com JCR	13,27 (18,54)	

Os cursos de graduação mais frequentes dos doutores egressos do PPGCM foram: Medicina (68,2%), Farmácia (10,5%), Biologia (6,2%), Enfermagem (3,1%) e Fisioterapia (2,5%) (Tabela 1). Dentre os egressos, 49,4% foram graduados na UFRGS, 8,0% na Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul (PUCRS), 8,0% da Universidade Federal de Ciências da Saúde de Porto Alegre (UFCSPA) e 6,5% da Universidade Federal de Santa Maria (UFSM).

Produção qualificada classificada pelo critério Qualis/Capes

As classificações Qualis/Capes dos periódicos em que os artigos foram publicados são apresentadas na Figura 1. O Fator de Impacto médio das revistas foi $3,16 \pm 4,88$, com mediana 2,14 quartil (Q25-75; 1,03 a 3,53). Na Figura 1 está apresentada apresenta as frequências dos artigos publicados pelos egressos nos estratos Qualis/Capes. 18,4% possuem publicações em periódicos de Qualis A1, 17,3% em A2, 28,31% em B2 e 27,49% em B1, perfazendo um total de 91,55% da amostra. Os demais 8,46% serão encontrados em periódicos de impacto e indexação B3 e B4.

Foi possível verificar que entre os alunos de doutorado da 30% dos egressos possuem até 5 artigos publicados, 27,3% possui de 6 a 10 artigos publicados e 16,3% possuem de 11 a 20 artigos publicados. 9,8% dos doutores possuem de 31 a 50 artigos publicados.

Na Tabela 2 estão apresentadas as médias (DP) do índice ajustado de produção qualificada. Na análise univariada, observou-se diferença na comparação do índice de produção qualificada nos seguintes fatores: curso de graduação, vínculo laboral, atividade de orientação, participação em bancas examinadoras, registro do índice H ou na base de dados do Google Acadêmico, bolsista de produtividade em pesquisa.

Para obtenção do efeito independente no *índice de produção qualificada o escore do mesmo foi ajustado usando um modelo de regressão linear múltipla* (Tabela 3). Os egressos com graduação em medicina, registro de bolsa de produtividade em Pesquisa do CNPq, exerce atividades de orientação a alunos de graduação, especialização, mestrado ou doutorado e registro do índice H no currículo Lattes. O conjunto de variáveis incluídas no modelo explica 99% da variância no índice de produção qualificada no meio acadêmico e profissional.

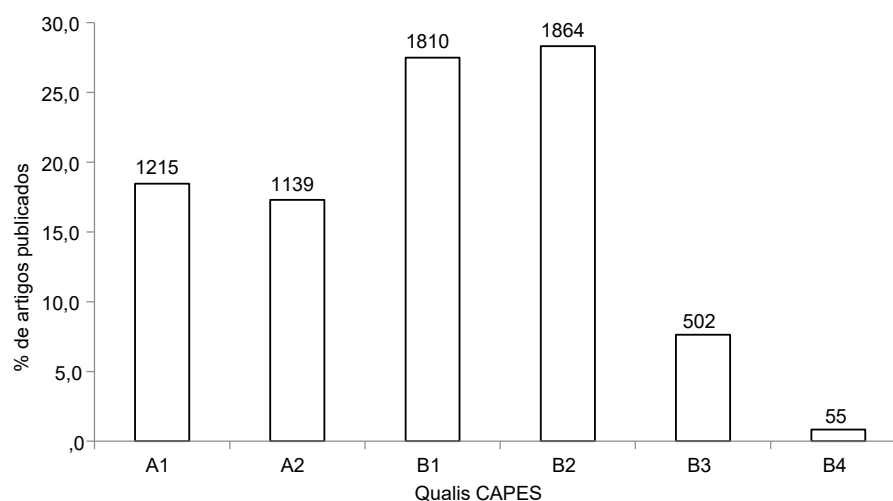


Figura 1: Qualis/Capes dos artigos publicados no período de 1987 a 2014.

Tabela 2: Análise univariada da comparação de médias entre os potenciais fatores associados com o índice de produção qualificada, Dados apresentados como média $\pm$ DP (n = 317).

Desfecho: índice de produção qualificada			
Característica	Média (SD)		P
	Sim	Não	
Curso de graduação em medicina	0,48 (0,50)	0,24 (0,27)	0,001
Exerce atividade laboral em instituição com atividades de ensino	0,41 (0,34)	0,31 (0,26)	0,1
Vínculo laboral com instituição de ensino pública	0,47 (0,50)	0,23 (0,17)	0,001
Exerce atividade como orientador na graduação ou especialização	0,51 (0,37)	0,24 (0,18)	0,001
Exerce atividade como orientador de mestrado ou doutorado	0,69 (0,33)	0,19 (0,09)	0,001
Participação em bancas examinadoras	0,46 (0,48)	0,16 (0,12)	0,001
Possui registro do índice H no currículo Lattes	0,71 (0,59)	0,29 (0,32)	0,001
Possui registro na Plataforma do Google Acadêmico	0,70 (0,57)	0,37 (0,43)	0,005
Bolsista de produtividade em Pesquisa do CNPq	1,11 (0,65)	0,32 (0,33)	0,001

Tabela 3: Modelo hierárquico de regressão linear múltipla para ajustar o escore do índice de produção qualificada no meio acadêmico e profissional aos potenciais confundidores (n = 317).

Desfecho: Índice de produção qualificada						
	B	Erro padrão	B Σ	t	P	IC 95%
Graduação em medicina†	0,199	0,038	0,272	5,180	0,00	(0,12 a 0,27)
Vínculo laboral em universidade pública†	0,196	0,041	0,250	4,758	0,00	(0,11 a 0,28)
Exerce atividade como orientador em nível de doutorado§	0,525	0,025	0,685	21,402	0,00	(0,48 a 0,57)
Exerce atividade como orientador em nível de mestrado§	0,170	0,022	0,248	7,814	0,00	(0,13 a 0,21)
Bolsista de produtividade em Pesquisa do CNPq	0,435	0,002	0,401	225,764	0,00	(0,43 a 0,44)
Possui registro do índice H no currículo Lattes	0,121	0,001	0,160	92,972	0,00	(0,11 a 0,12)

‡ Coeficiente padronizado, R² ajustado= 0,99; † Modelo 1: graduação, tipo de vínculo e universidade pública ou privada; § Modelo 2: modelo 1 ensino, orientação em níveis de graduação, especialização, mestrado e doutorado; || Modelo 3: modelo 2 mais índices H, registro no Google acadêmico de acesso público, bolsista de produtividade do CNPq.

DISCUSSÃO

O presente estudo objetivou identificar a trajetória e a inserção no meio científico e acadêmico dos doutores egressos do Programa de Pós-Graduação em Medicina Ciências Médicas da Faculdade de Medicina da UFRGS, no período que compreende 1987 a 2014, e a partir disto propor um índice de desempenho acadêmico. Foram identificados como

fatores correlacionados ao índice de produção qualificada do meio acadêmico e profissional: vínculo laboral em universidade pública, possuir bolsa de produtividade em pesquisa do CNPq, exercer atividade de orientação de trabalhos em níveis de mestrado ou doutorado, ter graduação na área da saúde, possuir registro do índice H no Currículo Lattes.

De acordo com os estratos Qualis/Capes, 91,55% possuem artigos publicados entre os estratos A1 a

B2 da área da Medicina I. A publicação em jornais de maior impacto possibilita aumento da visibilidade com consequente aumento no índice de citações⁸. Os alunos egressos apresentam publicações predominantemente em revistas de alto impacto o que demonstra a qualificação dos cientistas formados. Considerando que a avaliação dos programas de pós-graduação pela Capes considera o acompanhamento dos egressos, há necessidade da criação de um indicador qualitativo de performance. Este deve medir e avaliar a qualidade de formação dos doutores egressos e também servir como parâmetro que auxilie a promover uma melhoria contínua no processo formativo. Trata-se de um índice com potencial para indicar qualidade, com definição das dimensões da métrica para garantir a sua operacionalização e relevância.

Os resultados do presente estudo evidenciam que os doutores egressos do PPGCM, aqui definido como produto, têm alcançado boa inserção no meio acadêmico e profissional, usando para isso como referência a produção qualificada. Dentre os egressos, 239 (73,76%) atuam em instituições de ensino públicas e 297 (91,66%) atuam em instituições com vínculo em atividade de ensino. Formar pessoas qualificadas refletirá no aprimoramento das áreas de conhecimento com maior qualidade e relevância para o mercado de nosso país¹.

Este índice foi construído como um indicador qualitativo dos egressos de doutorado do PPGCM ao longo do tempo. Embora seja difícil estabelecer a melhor medida do perfil de egressos, o conjunto de fatores selecionados na construção de nosso modelo hierárquico não privilegia apenas o processo da métrica apenas pela produção de artigos, nem se sustenta no impacto dos jornais onde os mesmos foram publicados. Trata-se de um índice construído a partir de um conjunto de variáveis acessíveis e que apresentam certa fidedignidade, com vistas à construção de um índice com amplo espectro que considere também sua atuação profissional. Observa-se que o conjunto de variáveis explica 99% da variância de nosso modelo, o que sugere que o conjunto de parâmetros utilizados constitui uma métrica avaliativa consistente. Embora a construção deste índice métrico de desempenho envolva um conjunto de fatores não completamente separáveis, este modelo foi construído a partir de um racional que considera aspectos demográficos, a inserção no mercado de trabalho, a atuação no processo de formação de recursos humanos, bem como métricas que se relacionam a qualidade do produto avaliado pelo índice de citações. O fator de impacto demonstra a influência ou a qualidade da publicação (artigo ou revista) e consequentemente de seus autores, cursos e instituições⁸. Esta estratégia oportuniza uma avaliação ampla, com a inclusão das múltiplas facetas do processo formativo.

Entende-se que se trata de um processo complexo, onde mesmo usando artifícios da estatística não é

possível considerar que os fatores inclusos em cada um dos modelos dentro de uma visão hierárquica sejam absolutamente independentes uma vez que se mostram entrelaçados e em uma relação do tipo causa e consequência. Reconhece-se a necessidade de criar nos egressos uma cultura de valorização das informações sobre sua atuação profissional pós titulação, tendo em vista a importância que a Comissão de Avaliação da Capes atribui a este item⁹. Observou-se que os profissionais titulados são valorizados no mercado, pois estão inseridos em instituições de ensino superior pública e privado de excelência no mercado.

Os fatores utilizados na construção deste índice permitem classificar as características, resultados e consequências das ações dos egressos por meio de um valor numérico, aqui denominado de índice. Os atributos utilizados na construção deste índice são de fácil coleta e o mesmo é passível de ser compreendido de maneira simples uma vez que traduz em resultados efetivos a trajetória e contribuição científica destes egressos. O índice aqui proposto permite formar uma série histórica, contextualizada, que evidencia a evolução do desempenho dos egressos do PPGCM, Famed, UFRGS. Trata-se de um indicador de efetividade e impacto, por se vincular as transformações produzidas pela atuação dos doutores egressos nos diferentes contextos do ensino, pesquisa e assistência. Este índice pode auxiliar nos processos decisórios, e estabelecer uma sistemática de monitoramento e avaliação da formação de recursos humanos na pós-graduação.

Entre as limitações deste estudo, destaca-se que o Currículo Lattes é um documento de preenchimento voluntário, muitas vezes desatualizado e incompleto. Em estudos futuros, a busca da produção científico-acadêmica, assim como o seu impacto, pode ser ampliada incluindo outras bases de dados (PubMed; ISI Web of Science, Scopus, por exemplo).

Os resultados demonstram que um grande número de egressos se vinculou a alguma instituição de ensino, desenvolvendo uma carreira acadêmica, promovendo formação de recursos humanos e de produção científica. Isto pode ser evidenciado pelas publicações em jornais científicos de circulação internacional, formação de recursos humanos, interação e criação de parcerias em seu ambiente de trabalho, geração de conhecimento e fomento do conhecimento na área das ciências médicas com relevância regional, nacional e internacional.

Agradecimentos

Edison Capp e Wolnei Caumo são bolsistas de produtividade em pesquisa do Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq). Este artigo é resultado do mestrado de Vera Susana Vargas Ribeiro. A dissertação pode ser acessada em: <https://bit.ly/2ALqVc9>.

REFERÊNCIAS

1. Velho L. O papel da formação de pesquisadores no sistema de inovação. **Cienc Cult.** 2007;59(4):23-32.
2. Guimarães JA. A pesquisa médica e biomédica no Brasil: comparações com o desempenho científico brasileiro e mundial. **Cien Saude Colet.** 2004;9(2):303-27.
3. Guimarães R. Pesquisa no Brasil: a reforma tardia. **Sao Paulo Perspec.** 2002;16(4):41-7.
4. Conselho de Educação Superior (BR). Parecer nº 977, de 3 de dezembro de 1965. Diário Oficial da União [Internet]. 1965 Dez 3 [cited 2020 Nov 11]. Available from: <http://cad.capes.gov.br/ato-administrativo-detallar?idAtoAdmElastic=314>
5. Cirani CBS, Campanario MA, Silva HHM. A evolução do ensino da pós-graduação senso estrito no Brasil: análise exploratória e proposições para pesquisa. **Avaliação.** 2015;20(1):163-7.
6. Louzada RCR, Silva Filho JF. Pós-graduação e trabalho: um estudo sobre projetos e expectativas de doutorandos brasileiros. **Hist Cienc Saude Manguinhos.** 2005;12(2):265-82.
7. Schanaider A. Sistema de mapeamento dos egressos. **Rev Col Bras Cir.** 2015;42(6):413-7.
8. Bicas HEA, Rother ET, Braga MER. Fatores de impacto, outros índices bibliométricos e desempenhos acadêmicos. **Arq Bras Oftalmol.** 2002;65(2):151-2.
9. Ortigoza SAG, Poltronieri LC, Machado LMCP. A atuação profissional dos egressos como importante dimensão no processo de avaliação de programas de pós-graduação. **Soc Nat.** 2012;24(2):243-54.

Recebido: 17 maio, 2019

Aceito: 3 out, 2020

NUTRITIONAL STATUS AND NUTRITIONAL THERAPY IN PEDIATRIC AND ADOLESCENT PATIENTS SUBMITTED TO AUTOLOGOUS HEMATOPOIETIC STEM CELL TRANSPLANTATION

Jéssica Härter¹, Lauro José Gregianin^{1,2}, Luciane Beitler da Cruz¹

ABSTRACT

Introduction: To assess the use of nutritional support in children and adolescents submitted to autologous hematopoietic stem cell transplantation (HSCT), and analyze changes in nutritional status at hospital discharge after HSCT.

Clin Biomed Res. 2020;40(3):167-172

1 Hospital de Clínicas de Porto Alegre.
Porto Alegre, RS, Brasil.

Methods: A retrospective observational study was conducted on pediatric oncology patients hospitalized for autologous HSCT between 2010 and 2017. Nutritional therapy was evaluated based on the duration of enteral tube feeding (ETF) and parenteral nutrition (PN), either alone or in combination. The length of hospital stay was measured in days. Nutritional status was assessed at admission and discharge, and classified according to World Health Organization criteria.

2 Departamento de Pediatria,
Faculdade de Medicina,
Universidade Federal do
Rio Grande do Sul.
Porto Alegre, RS, Brasil.

Results: The sample consisted of 68 patients, 54.4% of whom were boys. Most participants (89.7%) had solid tumors. Nutritional therapy was required in over half (52.9%) of cases, with PN being the most common indication. There was a reduction in the percentage of overweight patients and an increase in the percentage of underweight patients at discharge relative to admission.

Corresponding author:

Jéssica Härter
jessicaharter@gmail.com
Hospital de Clínicas de Porto Alegre
Rua Ramiro Barcelos, 2350.
90035-903, Porto Alegre, RS, Brasil.

Conclusions: The use of nutritional therapy is highly prevalent in this population, and HSCT has a negative impact on nutritional status at discharge.

Keywords: *Nutritional therapy; nutritional status; hematopoietic stem cell transplantation; pediatrics*

INTRODUCTION

Hematopoietic stem cell transplantation (HSCT) is a complex therapeutic procedure whose objective is to induce immunosuppression and facilitate cell grafting and/or remove residual neoplasia through high-dose chemotherapy, with or without radiotherapy¹. HSCT is often preceded by a conditioning regimen, which may have adverse effects such as gastrointestinal toxicity, and ultimately affect nutritional status. Pediatric cancer patients who undergo HSCT are at even greater nutritional risk due to the combined effects of this procedure, the underlying illness and previous treatments². Malnutrition before and during the transplant is a known predictor of negative outcomes³. Thus, nutritional monitoring and the implementation of nutritional therapy (NT) are especially important strategies to counteract the catabolic effects of the disease and the transplant process in pediatric patients, who are in the growth and development phase. Enteral NT seems to offer several benefits, such as decreased adverse effects, costs and length of hospital stay^{4,5}, especially with early implementation⁶. Therefore, the aim of this study is to describe the use of NT in children and adolescents submitted to autologous HSCT, and verify changes in nutritional status at hospital discharge after HSCT.

METHODS

A retrospective observational study was conducted on pediatric oncology patients hospitalized for autologous HSTC at the Pediatric Oncology Unit of the Hospital de Clínicas de Porto Alegre (HCPA), RS, Brazil. Inclusion criteria were patients aged 0 to 19 years who were hospitalized at the HCPA between 2010 and 2017. Patients who had no nutritional monitoring or therapy records were excluded from the study. Data were collected from electronic hospital records between June and September 2018. Patient characteristics were examined by collecting data on sex, age, race and type of hospitalization (public or private insurance), using a form created specifically for this study. The disease and oncological treatment were assessed based on the following variables: diagnosis, chemotherapy, radiotherapy and previous oncological surgery. The type of conditioning prior to transplantation was also considered. Nutritional status was evaluated at hospital admission and discharge, according to an institutional protocol that includes measurement of weight and height for the calculation of length/height for age, weight for age, weight for length/height and body mass index for age. Classifications were performed according to the World Health Organization⁷⁻⁹ criteria, using the WHO Anthro and Anthro Plus programs. For analysis, patients were classified into the following categories: underweight/at risk for underweight, normal, overweight/at risk for overweight and obesity. The number of days on exclusive oral intake (OI), enteral tube feeding (ETF), ETF + parenteral nutrition (ETF + PN) and parenteral nutrition (PN) during hospitalization were also evaluated. For patients who received ETF + PN, the time on NT was calculated by considering the overlapping days and those when only one of methods was used. Patients who received ETF or PN may or may not have had concomitant OI. Oral supplementation was not considered in this study. The length of hospital stay was calculated as the number of days between admission and discharge. The researchers signed a Data Use Agreement prior to conducting the study. This project was approved by the Research Ethics Committee of the Hospital de Clínicas de Porto Alegre, under No. 2,510,615 and CAAE 82639917.3.0000.5327.

Statistical analysis

Continuous variables are presented as median and interquartile range and categorical variables as frequencies and percentages. The relationship between quantitative and polytomous variables was assessed using the Kruskal Wallis test. The distribution of nutritional status at admission and discharge was compared using the McNemar test. For all tests, values of $p < 0.05$ were assumed to be significant. The analyses were conducted using STATA (version 14.0, StataCorp LP, USA).

RESULTS

Eighty-six patients were initially eligible for the study, but 18 were excluded due to missing data in their medical records, leaving a final sample of 68 patients. Most patients were boys (54.4%), identified as white (97.1%) and diagnosed with solid tumors (89.7%). Most participants (86.8%) were also admitted through the public health system (Table 1). The sample was equally divided between patients younger than 5 years and those aged 5 years or older (Table 1). Nutritional therapy was required in over half (52.9%) of cases, with 22.2% of these patients receiving ETF, 33.3% receiving ETF + PN and 44.5% receiving PN only. The type of NT used for the longest duration was ETF + PN. Patients classified as underweight or at risk for underweight received NT for longer than other participant groups (Table 2). The duration of hospitalization was longest for patients who received ETF + PN and PN. Though length of hospital stay did not significantly differ between nutritional status groups, patients classified as underweight or at risk for underweight had the highest median number of days in hospital (Table 3). Comparisons of nutritional status revealed a significant reduction in the percentage of at-risk/overweight patients ($p = 0.008$) and an increase in the percentage of at-risk/underweight patients ($p = 0.001$) from admission to discharge (Figure 1). No differences were noted in the frequency of normal weight ($p = 0.647$) or obesity ($p = 0.999$) (Figure 1). Two patients had missing anthropometric data, prohibiting the assessment of nutritional status at hospital discharge.

Table 1: Patient characteristics (n=68).

	n	(%)
Sex		
Male	37	(54.4)
Female	31	(45.6)
Age		
<5 years	34	(50.0)
≥ 5 years	34	(50.0)

Continues...

Table 1: Continuation

	n	(%)
Skin color		
White	66	(97.1)
Non-White	2	(2.9)
Type of hospitalization		
Public health system	59	(86.8)
Private insurance	9	(13.2)
Diagnosis		
Malignant solid tumor	61	(89.7)
Malignant hematological disease	7	(10.3)
Previous surgery		
Yes	54	(79.4)
No	14	(20.6)
Number of chemotherapy protocols		
One	36	(52.9)
Two	26	(38.3)
Three	6	(8.8)
Previous radiotherapy		
Yes	13	(19.1)
No	55	(80.9)
Conditioning		
MEC	23	(33.8)
BUMEL	37	(54.4)
Other*	8	(11.8)

Abbreviations: MEC (Melphalan, Etoposide, Carboplatin); BUMEL (Busulfan, Melphalan). *Other: 5 (Carmustine, Etoposide, Cytarabine, Melphalan), 1 (Melphalan), 1 (Carboplatin, Thiotepa, Etoposide), 1 (Etoposide, Cyclophosphamide, Carboplatin).

Table 2: Duration of nutritional support by type and nutritional status (n=36).

	n (%)	Median (IQR)	p value*
Days of NT by route			
ETF	8 (22.2)	13.5 (9.5; 22)	0.002
PN	16 (44.5)	11 (8; 16.5)	
ETF + PN	12 (33.3)	27.5 (17.5; 35.5)	
Days of NT by nutritional status			
Underweight/At risk	8 (22.2)	33.5 (23; 36)	0.002
Normal	22 (61.1)	14.5 (8; 23)	
Overweight/At risk	6 (16.7)	11 (8; 12)	
Obesity	0	-	

Abbreviations: NT (nutrition therapy); PN (parenteral nutrition); ETF (enteral tube feeding); IQR (interquartile range). *Kruskal-Wallis test.

Table 3: Days of hospitalization by route of nutrition and nutritional status (n=68).

	n (%)	Median (IQR)	p value*
Days of hospitalization			
OI	32 (47.1)	34.5 (30; 41.5)	0.009
ETF	8 (11.8)	28 (25.5; 39)	
PN	16 (23.5)	41.5 (28.5; 46.5)	
ETF + PN	12 (17.6)	50 (38.5; 55.5)	
Days of hospitalization			
At risk/Underweight	11 (16.6)	43 (38; 56)	0.125
Normal	39 (59.1)	35 (28; 44)	
At risk/Overweight	15 (22.7)	34 (30; 62)	
Obesity	3 (4.5)	30 (30; 37)	

Abbreviations: OI (oral intake); PN (parenteral nutrition); ETF (enteral tube feeding); IQR (interquartile range). *Kruskal-Wallis test.

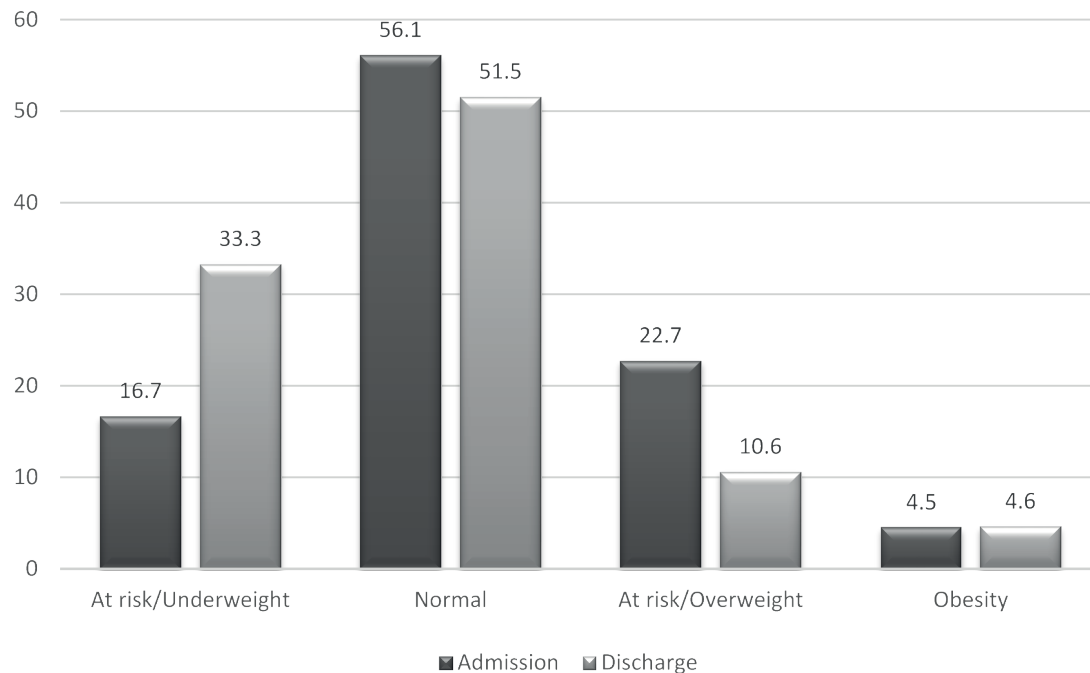


Figure 1: Nutritional status of patients receiving autologous hematopoietic stem cell transplant at hospital admission and discharge (n=66).

DISCUSSION

In the present study, significant changes in the distribution of nutritional status were observed from admission to discharge in patients who underwent HSCT. Additionally, over half the patients required NT via ETF and/or PN (52.9%). In a study conducted by Garófolo (2012), the main indications for ETF in patients who underwent autologous transplantation were: inadequate oral intake of food and supplements; insufficient intake of food and supplements with malnutrition or weight loss; and severe malnutrition¹⁰. The same study also reported that 36% of patients who underwent autologous HSCT had some degree of malnutrition at admission¹⁰. In the present study, the percentage of patients who were underweight or at risk for underweight at admission was 16.7%, and increased significantly to 33.3% at discharge. Though there has been an increase in the prevalence of overweight among healthy children in the general population¹¹, those who are hospitalized for transplant are usually in the normal weight range^{10,12,13}. This was observed in our study, where most patients were of normal weight in the pre-transplant period (59.1%), although this assessment did not consider body composition. The prevalence of obesity in the pre-transplant period was 4.5%, while that of overweight or risk for overweight was 22.7%. According to a study by White et al.¹², children classified as overweight before autologous or allogeneic transplant have lower survival rates than those in the normal weight

range; this finding underscores the importance of an adequate nutritional status in these patients. In a study on NT, Bicakli et al.¹³ demonstrated that pediatric patients who received enteral nutrition during hospitalization for HSTC gained weight, and the median duration of this diet was 21 days, supporting the tolerability of enteral nutrition. These authors also suggest enteral nutrition as a nutritional support strategy for pediatric patients undergoing HSCT¹³. In another study of pediatric patients receiving autologous HSCT, the authors found that PN could improve nutritional status and also contribute to the recovery of hematopoiesis after the transplant¹⁴. In our study, PN was the most commonly used method of nutritional support. While 44.5% of patients who received nutritional support were given PN only, the percentage of those who received PN either alone or in combination with ETF was 77.8%. According to the literature, PN is associated with a higher risk of infection and complications^{15,16}. However, in clinical practice, it is sometimes the best available option for patients with a compromised gastrointestinal tract and other clinical complications. These observations underscore the importance of new studies comparing ETF and PN, as suggested by Bicakli et al.¹⁴ and also by Garófolo and Nakamura¹⁷; these authors note that there is little evidence to support nutritional recommendations and nutrition therapy for pediatric patients submitted to HSCT, but encourage the use of ETF based on their review of the literature and practical experience¹⁷. In the present study, patients

who received ETF had shorter hospital stays, even when compared to patients on a total oral diet. It should be noted that, in clinical practice, many patients on an oral diet with an indication for ETF or PN during the transplant period cannot receive these treatments due to accidental tube removal, lack of acceptance of the feeding tube, severe thrombocytopenia and/or neutropenia, oral mucositis, and lack of access/catheter. As such, given the importance of nutritional management during the transplant period, future studies should evaluate the adequacy of OI and compare the prescribed and actual dietary intake of patients on an enteral diet, in order to determine the association between these variables and patients' clinical outcomes. Few studies in the literature have explored these issues, and only a fraction of these have focused on pediatric patients^{18,19}. A study by Andersen et al., for instance, demonstrated that gastrointestinal toxicity is related to poor tolerance of ETF if initiated once the patient has already reduced their food intake, leading to increased indications of PN⁵. In the present sample, all patients had some degree of gastrointestinal toxicity (data not shown). This may partially explain the high prevalence of PN and the longer hospital stays of patients in this sample. In this context, the early indication of ETF could also impact another relevant variable associated with NT and length of hospitalization: hospitalization costs. PN is known to be more costly than enteral formulas;

therefore, if the early indication of ETF reduces the need for PN, the costs of nutritional support for these patients would also decrease.

CONCLUSION

Our findings revealed a worsening of nutritional status from admission to discharge in patients submitted to autologous HSCT, as well as a prevalent need for NT in this sample. PN was the most frequently used form of nutritional support, and patients who used ETF diet had shorter hospitalizations. Further studies are needed to identify the most appropriate form of NT and the best time to initiate nutritional support according to the clinical situation. This study had some limitations, such as its retrospective observational design and the number of *patients* excluded from the analysis due to missing data.

Conflict of Interests

The authors declare no conflicts of interest.

Acknowledgements

This research did not receive any specific grants from funding agencies in the public, commercial, or not-for-profit sectors.

REFERENCES

1. Thomas ED. A history of bone marrow transplantation. In: Blume KG, Forman SJ, Appelbaum FR, editors. *Thomas' hematopoietic cell transplantation*. 3rd ed. Malden: Blackwell; 2004. p. 3-8.
2. Garófalo A. Diretrizes para terapia nutricional em crianças com câncer em situação crítica. *Rev Nutr*. 2005;18(4):513-27.
3. Baumgartner A, Hoskin K, Schuetz P. Optimization of nutrition during allogeneic hematologic stem cell transplantation. *Curr Opin Clin Nutr Metab Care*. 2018;21(3):152-8.
4. Szeluga DJ, Stuart RK, Brookmeyer R, Utermohlen V, Santos GW. Nutritional support of bone marrow transplant recipients: a prospective, randomized clinical trial comparing total parenteral nutrition to an enteral feeding program. *Cancer Res*. 1987;47(12):3309-16.
5. Andersen S, Kennedy G, Banks M. A randomised controlled comparison of enteral versus parenteral nutritional support post allogeneic haematopoietic cell transplantation. *Clin Nutr ESPEN*. 2015;10(3):102-6.
6. Sociedade Brasileira de Nutrição Parental e Enteral, Associação Brasileira de Nutrologia. *Terapia nutricional no transplante de célula hematopoietica* [Internet]. São Paulo: Associação Médica Brasileira; 2011 [cited 2021 Feb 10]. Available from: https://diretrizes.amb.org.br/_BibliotecaAntiga/terapia_nutricional_no_transplante_de_celula_hematopoietica.pdf
7. WHO Multicentre Growth Reference Study Group. WHO child growth standards based on length/height, weight and age. *Acta Paediatr Suppl*. 2006;450:76-85.
8. Onis M, Onyango AW, Borghi E, Siyam A, Nishida C, Siekmann J. Development of a WHO growth reference for school-aged children and adolescents. *Bull World Health Organ*. 2007;85(9):660-7.
9. Ministério da Saúde. *Orientações para coleta e análise de dados antropométricos em serviços de saúde* [Internet]. Brasília (DF); 2011. [cited 2021 Feb 10] Available from: http://bvsms.saude.gov.br/bvs/publicacoes/orientacoes_coleta_analise_dados_antropometricos.pdf
10. Garófalo, A. Enteral nutrition during bone marrow transplantation in patients with pediatric cancer: a prospective cohort study. *Sao Paulo Med J*. 2012;130(3):159-66.
11. Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura, Organización Panamericana de la Salud. *América Latina y el Caribe: panorama de la seguridad alimentaria y nutricional: sistemas alimentarios sostenibles para poner fin al hambre y la malnutrición* [Internet]. Santiago: Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura; 2017 [cited 2021 Feb 10]. Available from: <http://www.fao.org/3/a-i6747s.pdf>.

12. White M, Murphy AJ, Hallahan A, Ware RS, Fraser C, Davies PSW. Survival in overweight and underweight children undergoing hematopoietic stem cell transplantation. *Eur J Clin Nutr.* 2012;66(10):1120-3.
13. Bicakli DH, Yilmaz MC, Aksoylar S, Kantar M, Cetingul N, Kansoy S. Enteral nutrition is feasible in pediatric stem cell transplantation patients. *Pediatr Blood Cancer.* 2012;59(7):1327-9.
14. Wedrychowicz A, Spodaryk M, Krasowska-Kwiecień A, Goździk J. Total parenteral nutrition in children and adolescents treated with high-dose chemotherapy followed by autologous haematopoietic transplants. *Br J Nutr.* 2010;103(6):899-906.
15. Rzepecki P, Barzal J, Oborska S. Blood and marrow transplantation and nutritional support. *Support Care Cancer.* 2010;18(Suppl 2):S57-65.
16. Guièze R, Lemal R, Cabrespine A, Hermet E, Tournilhac O, Combal C, et al. Enteral versus parenteral nutritional support in allogeneic haematopoietic stem-cell transplantation. *Clin Nutr.* 2014;33(3):533-8.
17. Garófolo A, Nakamura CH. Terapia nutricional de pacientes com câncer infantojuvenil submetidos a transplante de células-tronco hematopoiéticas. *Rev Bras Cancerol.* 2018; 64(3):373-81.
18. Koç N, Gündüz M, Taviş B, Azik MF, Coşkun Z, Yardımcı H, et al. Beneficial effect of the nutritional support in children who underwent hematopoietic stem cell transplant. *Exp Clin Transplant.* 2017;15(4):458-62.
19. Bechard LJ, Guinan EC, Feldman HA, Tang V, Duggan C. Prognostic factors in the resumption of oral dietary intake after allogeneic hematopoietic stem cell transplantation (HSCT) in children. *JPEN J Parenter Enteral Nutr.* 2007;31(4):295-301.

Received: Aug 27, 2020

Accepted: Oct 24, 2020

INCREASED LEVELS OF HEXACOSANOIC ACID IN THE BRAIN OF WISTAR RATS: A BEHAVIORAL STUDY

Desirée P. Marchetti¹, Daniella de M. Coelho²,
Adriana S. Coitinho^{3,4,5}, Edson F. M. Guzzo⁴, Rafael B. Padilha³,
Gabriel de L. Rosa³, Carmen R. Vargas^{1,2}

ABSTRACT

Introduction: X-linked adrenoleukodystrophy (X-ALD) is a peroxisomal metabolic disorder associated with mutations in the ATP-binding cassette sub-family D member1 (*ABCD1*) gene. Practically all male patients with X-ALD develop adrenocortical insufficiency during childhood and progressive myelopathy and peripheral neuropathy in adulthood. However, some male patients develop a fatal cerebral demyelinating disease named cerebral adrenoleukodystrophy. Although the exact mechanisms underlying brain damage in X-ALD are still poorly elucidated, it is known that hexacosanoic acid (C26:0) accumulation represents a hallmark in the pathogenesis of this disease. In this study, we examined whether an overload of C26:0 injected in Wistar rats was capable of causing behavioral changes in these animals.

Methods: Egg lecithin in ethanol was dried under a nitrogen stream and mixed with C26:0 methyl ester. Male Wistar rats at 2-3 weeks of age were obtained from Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS), divided into 8 groups, and submitted to an open field test. We then analyzed line crossings (locomotion and exploration), rearing (orienting and investigatory responses), grooming (anxiety manifestation), and latency to move for each animal.

Results: Animals subjected to C26:0 administration presented fewer crossings and rearing episodes and a higher latency to move 45 minutes after C26:0 injection. The present work yields experimental evidence that C26:0, the main accumulated metabolite in X-ALD, can cause behavioral alterations in rats such as the impairment of locomotion and exploratory capabilities, as well as a reduction in orienting and investigatory responses.

Conclusion: Although our results are preliminary, they are extremely important for future studies that investigate C26:0 accumulation and locomotor impairment in patients with X-ALD.

Keywords: *X-linked adrenoleukodystrophy; C26:0; Wistar rats; open field*

INTRODUCTION

X-linked adrenoleukodystrophy (X-ALD) is a progressive neurodegenerative disease with an estimated incidence of 1 in 17 000 that has been diagnosed in all geographic regions and ethnic groups¹. This disease is caused by mutations in the *ABCD1* gene; this gene encodes the peroxisomal membrane protein ALDP, which is involved in the transmembrane transport of very long-chain fatty acids (VLCFA) into peroxisomes². As a consequence of this mutation, VLCFAs (mainly tetracosanoic acid [C24:0] and hexacosanoic acid [C26:0]) accumulate in the plasma and tissues, including the white matter of the brain, spinal cord, and adrenal cortex^{3,4}.

Clin Biomed Res. 2020;40(3):161-166

1 Programa de Pós-Graduação em Ciências Biológicas – Bioquímica, Instituto de Ciências Básicas da Saúde, Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS). Porto Alegre, RS, Brasil.

2 Serviço de Genética Médica, Hospital de Clínicas de Porto Alegre (HCPA). Porto Alegre, RS, Brasil.

3 Departamento de Microbiologia, Imunologia e Parasitologia, Instituto de Ciências Básicas da Saúde, Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS). Porto Alegre, RS, Brasil.

4 Programa de Pós-Graduação em Farmacologia e Terapêutica, Instituto de Ciências Básicas da Saúde, Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS). Porto Alegre, RS, Brasil.

5 Programa de Pós-Graduação em Ciências Biológicas – Fisiologia, Instituto de Ciências Básicas da Saúde, Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS). Porto Alegre, RS, Brasil.

Corresponding author:

Desirée Padilha Marchetti
desireepmarchetti@gmail.com
Serviço de Genética Médica,
Hospital de Clínicas de Porto Alegre
Rua Ramiro Barcelos, 2350
90035-003, Porto Alegre, RS, Brasil.

The disease presents great phenotypic variability, ranging from the rapidly progressive cerebral form that leads to total disability within the first decade to the milder adrenomyeloneuropathy (AMN), which is compatible with survival until the eighth decade after disease onset. The literature describes 7 main phenotypes in hemizygous male patients: the childhood cerebral form (CCER), juvenile cerebral form, adult cerebral form, AMN, Addison's only, olivopontocerebellar, and asymptomatic forms⁵.

The cerebral form is the most progressive, severe, and devastating phenotype of this disease, and CCER is the most frequent form, with an insidious onset. These patients seem unaffected until the age of 2-10 years, when adrenal insufficiency, progressive neurological dysfunction (including problems with walking and locomotion), and cognitive deficits involving visuospatial and visuomotor functions, as well as attention and reasoning, start to develop. Symptoms depend on the site of the initial lesions. In elementary school-aged boys, the first symptoms are usually cognitive deficits and behavioral problems manifesting as a decline in school performance¹. These early clinical symptoms are often misdiagnosed as attention deficit hyperactivity disorder and can delay the diagnosis of CCER. Other symptoms start to appear as the disease progresses, such as withdrawn or hyperactive behavior, apraxia, astereognosis, hearing impairment, decreased visual acuity, hemiparesis or spastic tetraparesis, cerebellar ataxia, and seizures. Death usually occurs 2 to 4 years after symptom onset^{5,6}.

"Pure" AMN (without cerebral involvement) is a noninflammatory distal axonopathy that involves the long tracts of the spinal cord and, to a lesser extent, the peripheral nerves. Patients present paraparesis, sphincter disturbances, sensory changes, incoordination, pain, and impotence. The age of onset of AMN varies between the second and the fourth decade of life, and cerebral changes develop in approximately half of the patients. Patients with cerebral AMN can present dementia, behavioral disturbances, psychosis, epilepsy, aphasia, visual loss, and bulbar palsy⁷. Patients with the Addison's only form of the disease (10% to 20% of X-ALD patients) have primary adrenal insufficiency without evidence of nervous system involvement, but are at high risk of eventually developing AMN. Some patients with the genetic defect are free of adrenal insufficiency and neurologic disabilities despite their high levels of saturated VLCFA; these are classified as asymptomatic and present a high risk of developing the CCER phenotype⁸.

Our research group observed changes in glial cell metabolism with the addition of C26:0 in cell culture⁹, but the behavioral effect of the administration of C26:0 in rats has not yet been described in the literature.

Therefore, we aimed to investigate whether an overload of C26:0, achieved through intraperitoneal injection in wild type Wistar rats, causes behavioral changes in these animals.

METHODS

Vesicle preparation

Ethanol containing 8 mg of egg lecithin (Sigma-Aldrich, St. Louis, USA) was dried under a nitrogen stream and mixed with 4 mg of C26:0 methyl ester (Sigma-Aldrich). The sample was suspended in 2.5 mL of sterile water and then sonicated with a microtip (Sonicator Ultrasonic Processor XL – Misonix Inc., Farningdale, USA). The same procedure, without the C26:0 methyl ester, was performed to obtain pure lecithin vesicles used as the vehicle control^{10,11}.

Animals

Male Wistar rats were obtained from the central vivarium at Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS) at 2-3 weeks of age. The animals were immediately housed in polypropylene boxes measuring 41 × 34 × 16 cm (up to 4 animals per cage) and kept in a 12 hour light-dark environment at 23 ± 1°C. The animals had ad libitum access to pelleted chow and water. The experiments were performed in accordance with the Guide for the Care and Use of Laboratory Animals, DHEW Publication No. (NIH) 80-23 (1985) and were approved by the local Ethics Committee at UFRGS.

Experimental groups

The animals were divided into 8 experimental groups (6 animals in each group): Basal control (without injection); saline control (received 100 µL of 0.9% sodium chloride); lecithin vesicle 15 min, 45 min, and 60 min (received 100 µL of lecithin vesicle and were sacrificed 15, 45, or 60 minutes after injection, respectively); vesicle + C26 15 min, 45 min, and 60 min (received 100 µL of vesicles with C26:0 methyl ester at a final concentration of 4 mM and were sacrificed 15, 45, or 60 minutes after injection, respectively). All treatments were administered by intraperitoneal injection.

Behavioral test

Rats were submitted to a behavioral task using an open field test and sacrificed 5 minutes later. The test used an acrylic box whose bottom was divided by black lines into 12 equisized quadrants; animals were placed on one specific quadrant, facing the box wall, and were left to freely explore the box for 5 minutes. The open field apparatus was a 40 cm × 60 cm linoleum floor area surrounded on three sides by a 60 cm plywood wall and on the other, by a 60 cm glass wall.

Line crossings (locomotion and exploration), rearing (orienting and investigatory responses), grooming (anxiety manifestation), and latency to move were analyzed for each rat¹². After each test, the floor was cleaned with water and 70% ethanol to avoid a potential excitatory effect produced by urine or fecal residues.

Brain microdissection and tissue preparation

At the end of the study, the animals were sacrificed by decapitation and the brains were immediately removed and placed on a cold plate. The whole brains were dissected and chilled until homogenization in 1:5 (w/v) saline solution (0.9% NaCl). The homogenate was centrifuged at $800 \times g$ for 10 min at 4°C, and the supernatant was used for determining C26:0 concentrations.

Fatty acid analysis

C26:0 was analyzed according to Moser and Moser¹³. The procedure consisted in the preparation of a total lipid extract, which was treated with methanolic HCl (3N) for the production of fatty acid methyl esters; these were then purified by thin-layer chromatography. The purified esters were extracted with hexane and analyzed by gas chromatography. We used a Varian gas chromatographer (Agilent Technologies, Santa Clara, USA) with an HP-5 column (5% methylphenyl silicone, 0.33 mm film thickness, 0.2 mm inner diameter and 25 m column length), a flame ionization detector, a split/splitless injector, and helium as the mobile phase. C26:0 concentrations were expressed in $\mu\text{mol/L}$. Heptacosanoic acid was used as an internal standard.

Statistical analysis

Results were expressed as mean $\pm$ standard error of the mean (SEM). Comparisons between mean values were made using one-way analysis of variance (ANOVA), followed by a Tukey's post-hoc test. p values < 0.05 were considered significant. GraphPad Prism version 5.0 (GraphPad Software Inc., San Diego, USA) was used for all statistical analyses and graphs.

RESULTS

Whole-brain C26:0 concentration

Figure 1 shows the concentrations of C26:0 in the whole brains of rats in each of the 8 studied groups. Rats that received an intraperitoneal injection of C26:0 in lecithin vesicles and were sacrificed after 45 minutes presented higher brain C26:0 levels when compared to the other groups ($F[7,40] = 8.08$, $p < 0.0001$).

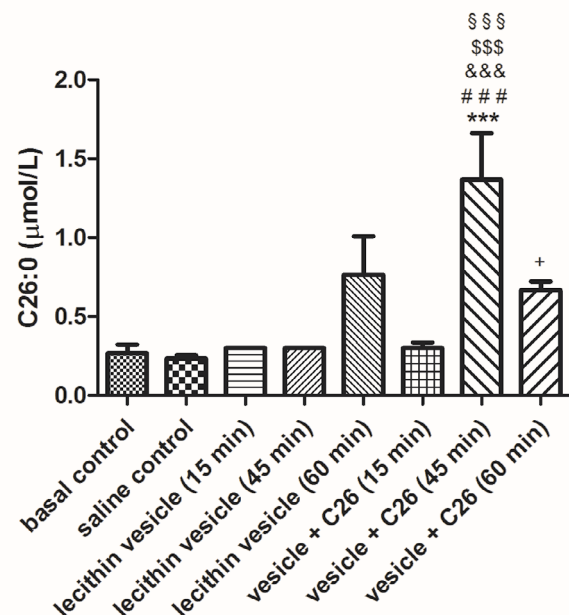


Figure 1: C26:0 concentrations in the rats' whole brains. Results represent mean $\pm$ standard error of the mean (SEM).

*** $p < 0.001$ compared to the basal control group. ### $p < 0.001$ compared to the saline control group. &&& $p < 0.001$ compared to the lecithin vesicle (15 min) group. \$\$\$ $p < 0.001$ compared to the lecithin vesicle (45 min) group. \$\$\$ $p < 0.001$ compared to the vesicle + C26 (15 min) group. * $p < 0.05$ compared to the vesicle + C26 (45 min) group. One-way analysis of variance (ANOVA), followed by a Tukey's post-hoc test.

Behavioral tests

Results of the open field task are displayed in Figure 2. Figure 2a shows reduced locomotion and exploratory capabilities (represented by fewer crossings) in rats that received the C26:0 and lecithin vesicle injection and were sacrificed after 45 minutes when compared to other groups ($F[7,40] = 10.74$, $p < 0.0001$). Figure 2b corroborates these results by showing that the same animals presented a higher latency to initiate locomotion (expressed in seconds) compared to other groups ($F[7,38] = 6.59$, $p < 0.0001$). Similarly, Figure 2c shows that rats belonging to this group presented reduced orienting and investigatory responses (measured by the number of rearing episodes) ($F[7,40] = 5.41$, $p < 0.0001$). Figure 2d illustrates the number of anxiety manifestations (grooming); no significant differences were observed in this behavioral aspect among the 8 studied groups ($F[7,40] = 0.67$, $p > 0.05$).

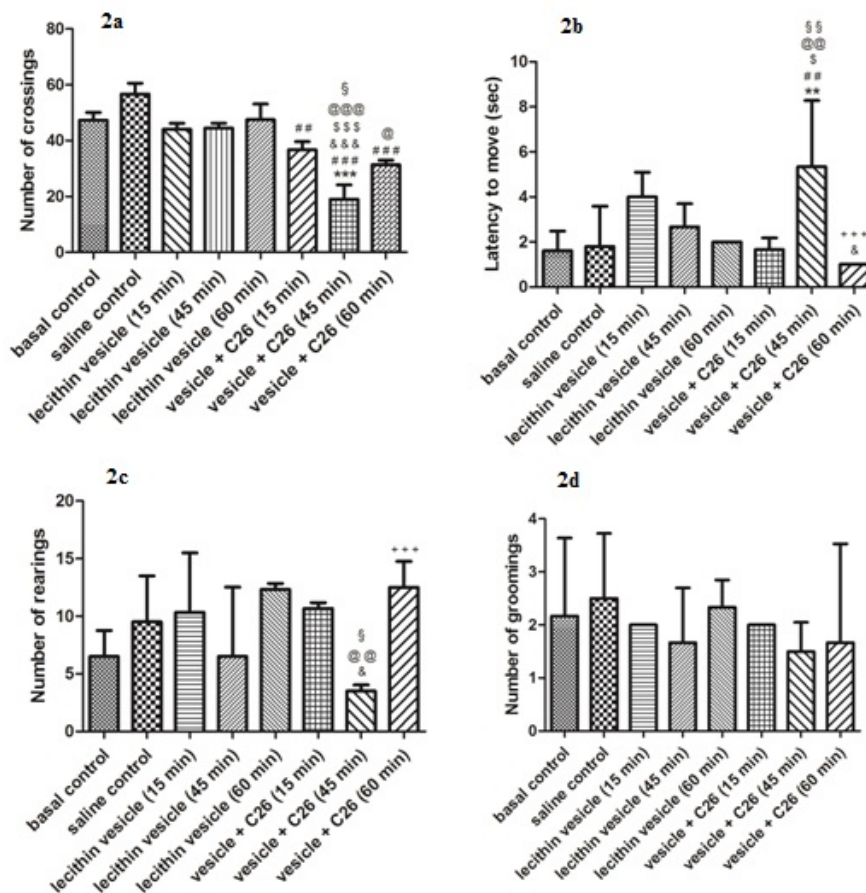


Figure 2: Open field tasks. A: Crossings; B: Latency to initiate locomotion; C: Rearing; D: Grooming.

** $p < 0.01$ and *** $p < 0.001$ compared to the basal control group. ## $p < 0.01$ and ### $p < 0.001$ compared to the saline control group. § $p < 0.05$ and §§ $p < 0.001$ compared to the lecithin vesicle (15 min) group. § $p < 0.05$ and §§§ $p < 0.001$ compared to the lecithin vesicle (45 min) group. @ $p < 0.05$, @@ $p < 0.01$, and @@@ $p < 0.001$ compared to the lecithin vesicle (60 min) group. § $p < 0.05$ and §§ $p < 0.01$ compared to the vesicle + C26 (15 min) group. *** $p < 0.001$ compared to the vesicle + C26 (45 min) group. Results represent mean $\pm$ standard error of the mean (SEM). One-way analysis of variance (ANOVA), followed by a Tukey's post-hoc test.

DISCUSSION

X-ALD is an inborn error of the peroxisome metabolism characterized by a progressive demyelination of the brain's white matter and adrenal insufficiency. Mutations in the *ABCD1* gene result in several phenotypic variants that vary in aspects such as age of onset, rate of disease progression, and primary affected tissues. Although the mechanisms related to tissue damage are poorly understood, it is believed that the main accumulated metabolite (C26:0) could contribute, at least in part, to the pathophysiology of this disease. In this work, we investigated whether excess C26:0, administrated by intraperitoneal injection, might induce behavioral changes in male Wistar rats.

Here, we presented compelling evidence that a lecithin vesicle enriched with C26:0 was able to reach the brain, and that a peak in C26:0 concentration was verified in rats sacrificed 45 minutes after injection in comparison to the other groups. Figure 1 shows

that C26:0 concentration is significantly higher in the "vesicle + C26" group sacrificed 45 minutes after injection when compared to the other groups, especially considering those animals sacrificed after 15 or 60 minutes. In addition, C26:0 concentrations in animals sacrificed after 1 hour decreased again and were similar to the other groups, illustrating the kinetics of acid concentration. This probably occurred because the fatty acid was oxidized inside the peroxisome, since the rats used in this study were not knockouts and did not have a dysfunction in the *ABCD1* gene. According to the literature, surprisingly, no detectable elevations in plasmatic concentrations of C24:0 or C26:0 were detected in X-ALD knockout mice, and this was in line with our results (data not shown)¹⁴. Furthermore, the same authors reported a 5-fold increase in C26:0 levels in the brain of knockout rats compared to other tissues. In this work, we verified that Wistar rats that received an intraperitoneal administration of C26:0 and were

sacrificed after 45 minutes presented a mean brain C26:0 level of 1.37 $\mu\text{mol/L}$, which would approach plasmatic levels of male X-ALD patients. In humans, X-ALD is usually diagnosed by measuring VLCFA levels in plasma¹³; male patients present a mean range of 1.36-4.94 $\mu\text{mol/L}$ of C26:0, female heterozygotes have a mean range of 1.41-2.33 $\mu\text{mol/L}$, and healthy individuals present a mean range of 0.11-0.96 $\mu\text{mol/L}$ ¹⁵.

Behavioral tests are important in biomedical research for testing novel treatments, investigating currently used drugs, and in mechanistic studies. The open field task is one of the most commonly used tests for measuring animal behaviors. It is a fast and relatively easy test that provides a variety of behavioral information ranging from the subject animal's general ambulatory ability to its emotionality¹⁶. We performed the open field test and assessed the number of crossings and grooming and rearing episodes, and measured the latency to locomotion. Results indicated that Wistar rats injected with C26:0 developed an acute impairment of the central nervous system, since they presented a delay in initiating locomotion, decreased exploratory capabilities, and reduced orienting and investigatory responses.

It is important to highlight that these changes were observed in rats sacrificed 45 minutes after C26:0 injection, suggesting that these results express the kinetics of acid degradation since the effects were still not pronounced in rats sacrificed after 15 minutes. Figure 2a illustrates that rats injected with C26:0 and sacrificed after 45 minutes performed fewer crossings when compared to the control groups and to the group that received lecithin injection and was sacrificed after 45 minutes. Similarly, when observing latency to initiate locomotion, we noted that animals belonging to the "vesicle + C26 - 45 min" group presented a higher latency time to move when compared to the control groups and to the group that received lecithin alone and was sacrificed after 45 minutes. By analyzing these two tests, we can clearly note the exclusive effect of C26:0 on the rats' behavior and also affirm that lecithin (the vehicle component of the vesicles) had no influence on the results. Considering the rearing episodes, Figure 2c shows that rats in the "vesicle + C26 - 45 min" group presented fewer events when compared to the "lecithin vesicle - 15 min," "lecithin vesicle - 60 min," and "vesicle + C26 - 15 min" groups. When analyzing the test results of animals in the "vesicle + C26 - 60 min" group, it is possible to infer that the acid had already been oxidized 1 hour after the injection, because the behavior tended to be restored in comparison to the "vesicle + C26 - 45 min" group. Moreover, Figure 2d (number of grooming episodes) shows that no significant differences were observed among

the 8 studied groups; that is, the rats presented no differences in anxiety manifestations.

The work performed by Pujol and colleagues¹⁷ corroborated our results concerning behavioral alterations. Their study has shown that older *ALD*-deficient mice (knockout) exhibited an abnormal neurological and behavioral phenotype, starting at approximately 15 months of age. Additionally, *X-ALD*-mutant rats at 20 months of age showed severe impairment in motor coordination abilities (verified by a rotarod test) and presented a significant reduction in exploratory activities or hypoactivity during an open field test. The authors related these behavioral effects with a slower nerve conduction and with myelin and axonal anomalies detected in the spinal cord and sciatic nerve, which correspond to what is observed in patients with AMN.

However, as opposed to the work performed by Pujol and colleagues¹⁷, the rats used in our work were young (2-3 weeks of age) and had not yet reached sexual maturity. We might presume that the administration of C26:0 in healthy rats induces behavioral changes that are similar to those of a child presenting the initial symptoms of the disease, considering that the earliest CCER symptoms frequently include cognitive dysfunction manifested as behavioral disturbances. In order to further complement our work, more studies would be needed to confirm our hypothesis; for instance, a neuroimaging study of the Wistar rats' brains, or increased numbers of C26:0 injections and time periods between injection and sacrifice for simulating disease chronicity.

Altogether, our data demonstrates for the first time in the literature that C26:0, by itself, can induce behavioral alterations in young Wistar rats at the motor capacity level, in an acute time of 45 minutes after C26:0 injection. These results are preliminary, but extremely important and promising for future studies of *X-ALD* pathophysiology and for understanding the relationship between C26:0 accumulation and locomotor impairment in human patients.

Conflicts of Interest

The authors declare that they have no conflicts of interest.

Acknowledgments

This study was supported by Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), and Fundo de Incentivo à Pesquisa e Eventos (FIPE/HCPA).

REFERENCES

- Kemp S, Huffnagel IC, Linthorst GE, Wanders RJ, Engelen M. Adrenoleukodystrophy: neuroendocrine pathogenesis and redefinition of natural history. *Nat Rev Endocrinol*. 2016;12(10):606-15.
- Moser HW. Adrenoleukodystrophy: phenotype, genetics, pathogenesis and therapy. *Brain*. 1997; 120(8):1485-508.
- Moser HW, Smith KD, Watkins PA, Powers J, Moser AB. X-linked adrenoleukodystrophy. In: Scriver CR, Beaudet al, Sly WS, Valle D, editors. *The metabolic and molecular bases of inherited disease*. 8th ed. New York: McGraw-Hill, Inc; 2001.
- Moser A, Jones R, Hubbard W, Tortorelli S, Orsini J, Caggana M, Vogel B, Raymond G. Newborn screening for X-linked adrenoleukodystrophy. *Int J Neonatal Screen*. 2016;2(4):15.
- Engelen M, Kemp S, Visser M, Geel BM, Wanders RJA, Aubourg P, Poll-The BT. X-linked adrenoleukodystrophy (X-ALD): clinical presentation and guidelines for diagnosis, follow-up and management. *Orphanet J Rare Dis*. 2012;7(1):51.
- Engelen M, Kemp S, Poll-The BT. X-linked adrenoleukodystrophy: pathogenesis and treatment. *Curr Neural Neurosci Rep*. 2014;14(10):486.
- Moser HW, Raymond GV, Dubey P. Adrenoleukodystrophy: new approaches to a neurodegenerative disease. *JAMA*. 2005;294(24):3131-4.
- Berger J, Gärtner J. X-linked adrenoleukodystrophy: clinical, biochemical and pathogenetic aspects. *Biochim Biophys Acta*. 2006;1763(12):1721-32.
- Marchetti DP, Steffens L, Jacques CE, Guerreiro GB, Mescka CP, Deon M, et al. Oxidative imbalance, nitrative stress, and inflammation in c6 glial cells exposed to hexacosanoic acid: protective effect of N-acetyl-L-cysteine, trolox, and rosuvastatin. *Cell Mol Neurobiol*. 2018;38(8):1505-16.
- Di Biase A, Di Benedetto R, Fiorentini C, Travaglione S, Salvati S, Attorri L, et al. Free radical release in C6 glial cells enriched in hexacosanoic acid: implication for X-linked adrenoleukodystrophy pathogenesis. *Neurochem Int*. 2004;44(4):215-21.
- Di Biase A, Benedetto R, Salvati S, Attorri L, Leonardi F, Pietraforte D. Effects of L-mono methyl-arginine, N-acetyl- cysteine and diphenyliodonium on free radical release in C6 glial cells enriched in hexacosanoic acid. *Neurochem Res*. 2005;30(2):215-23.
- Izquierdo I. Different forms of post-training memory processing. *Behav Neural Biol*. 1989;51(2):171-202.
- Moser HW, Moser AB. Measurement of saturated very long chain fattyacid in plasma. In: Hommes FA, editor. *Techniques of diagnostic human biochemical genetics*. New York: Wiley-Liss; 1991. p. 177-91.
- Lu JF, Lawler AM, Watkins PA, Powers JM, Moser AB, Moser HW, et al. A mouse model for X-linked adrenoleukodystrophy. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 1997;94(17):9366-71.
- Marchetti DP, Donida B, Jacques CE, Deon M, Hauschild TC, Koehler-Santos P, et al. Inflammatory profile in X-linked adrenoleukodystrophy patients: understanding disease progression. *J Cell Biochem*. 2018;119(1):1223-33.
- Walsh RN, Cummins RA. The open-field test: a critical review. *Psychol Bull*. 1976;83(3):482-504.
- Pujol A, Hindelang C, Callizot N, Bartsch U, Schachner M, Mandel JL. Late onset neurological phenotype of the X-ALD gene inactivation in mice: a mouse model for adrenomyeloneuropathy. *Hum Mol Genet*. 2002;11(5):499-505.

Received: May 23, 2020

Accepted: Oct 11, 2020

PROTOCOLO DE INJEÇÕES INTRAVÍTREAS DO HOSPITAL DE CLÍNICAS DE PORTO ALEGRE: UMA REVISÃO DE CONDUTAS PARA UMA ASSISTÊNCIA MAIS QUALIFICADA

HOSPITAL DE CLÍNICAS DE PORTO ALEGRE INTRAVITREAL INJECTION PROTOCOL: A LITERATURE REVIEW TO IMPROVE ASSISTANCE

Lúcio Falavigna¹, Karla Scheid¹, Daniel Lavinsky^{1,2}, Felipe Mallmann¹

RESUMO

A injeção intravítrea é o procedimento oftalmológico mais realizado no mundo. Através dessa técnica é possível administrar medicamentos para o segmento posterior do olho, sendo a via de escolha para o tratamento da maioria das patologias coriorretinianas. O evento ocular adverso mais grave é a endoftalmite pós injeção. Diversas medidas foram sugeridas para diminuição do risco dessa complicação, com evidências variáveis. Tendo em vista o grande número de injeções realizado em nosso serviço de oftalmologia do Hospital de Clínicas de Porto Alegre (HCPA), realizamos uma revisão da literatura com o objetivo de definir as melhores práticas. Nós descrevemos a evidência disponível para os principais aspectos dos diferentes estágios do procedimento (pré injeção, peri injeção e pós injeção) e apresentamos nosso protocolo. A medida com maior evidência científica na profilaxia da endoftalmite é a aplicação de iodopovidona tópica pelo menos trinta segundos antes da injeção.

Palavras-chave: Injeção intravítrea; anti-VEGF; endoftalmite pós injeção

ABSTRACT

Intravitreal injection is the most widely performed ophthalmologic procedure in the world. This technique allows for delivering therapeutic substances to the posterior segment of the eye, being the route of choice for the treatment of most chorioretinal diseases. The most feared adverse event is post-injection endophthalmitis. Many measures have been described to lower the risk of this complication, with variable evidence. In view of the great number of injections performed at our ophthalmology practice at Hospital de Clínicas de Porto Alegre (HCPA), we searched the literature for available evidence on the best practice standards. We describe the available evidence for major aspects of the different stages of the procedure (pre-injection, peri-injection, and post-injection) and then introduce our protocol. The measure with most scientific evidence of efficacy in preventing endophthalmitis is topical povidone-iodine administration at least 30 seconds before the injection.

Keywords: Intravitreal injection; anti-VEGF; post-injection endophthalmitis

INTRODUÇÃO

A injeção intravítrea é o procedimento oftalmológico mais realizado no mundo. Nos Estados Unidos foi evidenciado um aumento de 2.943 indicações no ano 2000 para 2.619.950 em 2014. Com estudos demonstrando a eficácia dos agentes anti-fator de crescimento vascular endotelial (anti-vascular endothelial growth factor; anti-VEGF) para o tratamento de diversas patologias retinianas de elevada prevalência e morbidade, sua indicação aumentou significativamente na última década^{1,2}.

Clin Biomed Res. 2020;40(3):173-183

1 Serviço de Oftalmologia do Hospital de Clínicas de Porto Alegre. Porto Alegre, Rio Grande do Sul, Brasil.

2 Faculdade de Medicina, Universidade Federal do Rio Grande do Sul. Porto Alegre, RS, Brasil.

Corresponding author:

Felipe Mallmann
felipemallmann@hcpa.edu.br
Hospital de Clínicas de Porto Alegre
Rua Ramiro Barcelos, 2350.
90035903, Porto Alegre, RS, Brasil.

Entre essas patologias destacam-se o edema macular diabético (EMD), o edema macular associado com oclusão venosa e a degeneração macular relacionada com a idade forma neovascular (DMRI). É considerada a via de administração preferencial para o tratamento da maioria das patologias coriorretinianas, visto que permite a obtenção de concentrações adequadas nesses tecidos com baixa taxa de efeitos adversos sistêmicos³.

A presença das barreiras hematorretinianas limita a absorção de substâncias a partir da circulação sistêmica e, conseqüentemente, não são obtidas concentrações adequadas na cavidade vítrea³. Diversas doenças que apresentam edema macular como manifestação têm como principal fator fisiopatológico o aumento da permeabilidade das barreiras hematorretinianas, com conseqüente extravasamento de líquido para o espaço retiniano extracelular. Frequentemente estão implicados nesse processo o aumento dos níveis de VEGF e das citocinas pró-inflamatórias, que desorganizam as estruturas proteicas relacionadas com a integridade da barreira hematorretiniana⁴⁻⁶.

O uso de anti-VEGF e/ou corticosteroides intravítreos, portanto, mostraram-se eficazes no tratamento do edema macular secundário a diversas patologias⁷⁻⁹. Entre os anti-VEGF atualmente em uso no Brasil temos o bevacizumabe (Avastin; Genentech [São Francisco, Califórnia]), ranibizumabe (Lucentis; Genentech [São Francisco, Califórnia]) e aflibercepte (Eylia; Regeneron Pharmaceuticals Inc., [Rensselaer, Nova York]). Cabe ressaltar que o uso do bevacizumabe na terapêutica ocular é considerado off-label. Já dentre os corticosteroides, temos disponíveis o acetato de triancinolona (Ophtaac 40, Ophthalmos S/A [São Paulo, Brasil]) e o implante de dexametasona (Ozurdex; Allergan Pharmaceuticals [Irlanda]).

Outras classes de agentes terapêuticos administradas através das injeções intravítreas são os antibióticos, utilizados no tratamento das endoftalmites, gases, para o manejo de casos específicos de descolamento de retina e quimioterápicos, na terapêutica de neoplasias intraoculares^{10,11}. Atualmente são realizadas uma média anual de 1.200 injeções intravítreas no HCPA, configurando-a como nosso procedimento de maior volume.

Entre as potenciais complicações, temos particular preocupação com a endoftalmite infecciosa, tendo em vista sua elevada morbidade ocular, com risco de cegueira e até de perda do globo ocular. A incidência dessa complicação varia na literatura de 0.028% a 0.056%^{12,13}. Outros eventos adversos relatados incluem a ceratoconjuntivite química, hiposfagma, catarata, glaucoma, hemorragias intraoculares, descolamento de retina e endoftalmite estéril.

Pelo elevado volume do procedimento em nosso serviço e com o intuito de limitar a incidência de

complicações, revisamos a literatura com vistas a identificar as melhores práticas e implementá-las em nossa prática assistencial. Para tanto, são relevantes na adequada realização do procedimento aspectos do pré-operatório, como identificação de patologias oculares e sistêmicas pré-existentes que aumentem o risco de eventos adversos. Durante o perioperatório, cuidados associados com a esterilidade e conforto do procedimento. Finalmente, no pós-operatório, a identificação e manejo precoce de complicações potencialmente cegantes é fundamental.

AVALIAÇÃO PRÉ-OPERATÓRIA

Não há contraindicações absolutas para a realização do procedimento, porém a relação risco x benefício deve sempre ser ponderada¹⁴. Os pacientes devem ser avaliados quanto à presença de alterações oculares e sistêmicas que podem aumentar o risco de eventos adversos. Destacam-se a presença de glaucoma, alterações de superfície ocular, cirurgias oculares prévias, gestação e doenças cardiovasculares, especialmente se há relato de descompensação recente.

Condições oculares

Alterações de superfície ocular

Qualquer alteração de superfície ocular pode potencialmente aumentar o risco de endoftalmite, devendo sempre ser considerado o risco x benefício. Infecções ativas palpebrais ou de superfície ocular – blefarite, hordéolo, conjuntivite, dacriocistite, dacrioadenite – devem ser tratadas adequadamente antes do procedimento, evidências indicam aumento do risco de endoftalmite se realizada a injeção nesse contexto¹⁴⁻¹⁶. O procedimento pode ser realizado em pacientes com blefarite crônica em tratamento¹⁵.

Em nosso serviço, quando evidenciado processo infeccioso ocular ativo, realizamos o tratamento da patologia antes de indicar a injeção. No infortúnio de tal alteração ser suspeitada no bloco cirúrgico, o paciente é instruído a comparecer no ambulatório para avaliação e caso confirmado, o tratamento é instituído e a injeção adiada.

Hipertensão ocular e glaucoma

O aumento de volume associado com a injeção intravítrea (0,05 a 0,1ml) frequentemente induz episódios de hipertensão ocular imediatos, sendo relatadas pressões intraoculares (PIO) maiores que 30mmHg em até 30% dos procedimentos após 5 minutos da injeção¹⁷. Esses picos tendem a resolver espontaneamente em 30 minutos na maioria dos casos, podendo se estender em portadores de glaucoma ou de hipertensão ocular¹⁸⁻²⁰.

Há evidências de que o olho saudável pode tolerar episódios hipertensivos sem sequelas a longo prazo, porém em pacientes com nervo óptico vulnerável – incluindo glaucomatosos e naqueles com fatores de risco para neuropatia óptica isquêmica ou oclusões vasculares – os picos hipertensivos, isolados e/ou cumulativamente ao longo de múltiplas injeções, podem resultar em sequelas visuais²¹.

Há evidências conflitantes quanto ao uso de colírios anti-hipertensivos na profilaxia dos picos hipertensivos imediatos²²⁻²⁴. Em pacientes com histórico de pico hipertensivo significativo prévio ou em olhos de maior risco, pode ser considerada a massagem do globo ocular antes do procedimento, evitando-se a manipulação das pálpebras¹⁴. Caso o paciente apresente pico hipertensivo agudo sintomático, com dor e piora visual, pode ser realizada paracentese na câmara anterior para alívio imediato¹⁵.

O aumento da PIO também pode ocorrer de forma persistente, secundário às propriedades dos medicamentos administrados. Os corticoides são associados mais frequentemente com essa complicação, relatada em 30-60% das injeções com acetato de triancinolona²⁵. Os agentes anti-VEGF também foram implicados nesse efeito adverso, com taxas de até 11.6%²⁶. Na maioria dos casos, a hipertensão é transitória e o controle adequado da PIO pode ser obtido com tratamento tópico^{17,27}.

O risco cumulativo de múltiplos episódios de hipertensão imediata ou persistente deve ser levado em consideração, principalmente em pacientes suscetíveis ao dano. Idealmente, esses pacientes devem estar com suas patologias de base compensadas antes do procedimento e realizado um acompanhamento adequado no sentido de identificar precocemente a necessidade de intervenção. Não realizamos a massagem do globo ocular de forma rotineira no transoperatório.

Em geral, contraindicamos injeção intravítrea de corticoides nos portadores de glaucoma avançado ou de difícil controle, sendo os demais casos avaliados individualmente quanto ao perfil risco x benefício.

Cirurgias oculares prévias

Não há cirurgia ocular prévia que constitua uma contraindicação para o procedimento^{14,15}. A injeção pode ser administrada com segurança em 360 graus ao redor do limbo, devendo-se evitar locais de conjuntiva ou pars plana alteradas, como bolhas filtrantes pós trabeculectomia, esclerotomias recentes ou cistos de pars plana. Cirurgia recente de catarata, realizada nos últimos 3 meses, não é uma contraindicação ao procedimento¹⁴.

Condições sistêmicas

Doenças sistêmicas

O uso sistêmico de bevacizumabe (BEZ) para o tratamento de câncer colorretal foi associado com complicações cardiovasculares^{28,29}. Em virtude de terem sido detectadas concentrações sistêmicas desses fármacos após administração intraocular, há uma preocupação com os potenciais riscos sistêmicos³⁰.

Evidências sugerem que o uso de anti-VEGF intraocular não aumenta o risco de eventos adversos sistêmicos de forma significativa. O uso mensal em comparação com protocolos de injeção menos frequentes também não demonstrou aumento no risco. Os 3 agentes disponíveis (ranibizumabe, aflibercept e BEZ) foram comparáveis entre si nesse quesito. O uso de ranibizumabe (RAZ) para tratamento de DMRI em pacientes mais idosos pode estar associado com aumento do risco de eventos hemorrágicos não oculares³¹. Não está indicada a suspensão de anti-coagulantes antes do procedimento, visto que a sua manutenção não foi associada com aumento no risco de eventos adversos hemorrágicos³².

Apesar da evidência disponível, é recomendado avaliar o risco x benefício desses medicamentos com a equipe assistencial em pacientes com quadros sistêmicos complexos, principalmente se histórico de eventos agudos recentes⁴. A administração intravítrea de acetato de triancinolona não está associada com riscos significativos de efeitos adversos sistêmicos³³.

Gestação e amamentação

Apesar do grande volume de injeções intravítreas realizadas anualmente, há pouca evidência no uso dessas substâncias durante a gestação e amamentação. Há relatos de uso de triancinolona intraocular durante a gestação sem intercorrências³⁴. A preocupação é maior com uso dos agentes anti-VEGF pelas potenciais alterações no desenvolvimento placentário e do feto, principalmente no início da gestação.

Apesar de um relato de perda gestacional com uso de BEZ³⁵ outros autores utilizaram o medicamento, inclusive no primeiro trimestre, sem intercorrências gestacionais^{35,36}. Um estudo em pacientes recebendo BEZ mensal durante período de amamentação não evidenciou níveis detectáveis do fármaco no leite materno³⁷. Entretanto, não há estudos avaliando os efeitos a longo prazo dessas substâncias no desenvolvimento dessas crianças.

O risco-benefício do uso de esteróides intraoculares parece aceitável durante a gestação, porém o uso de anti-VEGF deve ser avaliado mais cuidadosamente, levando em conta os potenciais riscos gestacionais. Não parece haver contra-indicação para a administração desses medicamentos durante a amamentação¹⁵.

AVALIAÇÃO E CONDUTAS PERIOPERATÓRIAS

Os cuidados no peri e transoperatório visam a realização de um procedimento estéril com baixo risco de complicações, de forma confortável e segura para o paciente. A endoftalmite é uma complicação rara, porém de elevada morbidade ocular. A incidência dessa complicação varia na literatura de 0.028% a 0.056%^{12,13}. Em nossa instituição a taxa dessa complicação é de 0.03% até o momento da confecção desse artigo (dados não publicados), semelhante aos índices mais favoráveis relatados na literatura.

Diversas medidas são relatadas para diminuir do risco dessa complicação, com evidências de qualidade variável. Poucos estudos prospectivos foram realizados em função da baixa incidência dessa complicação e da complexidade inerente às diversas variáveis que deveriam ser avaliadas. Em função disso, há grande heterogeneidade nas práticas entre os serviços de oftalmologia³⁸.

Ambiente do procedimento

Há o relato de injeções intravítreas sendo realizadas em consultório médico, em salas adaptadas para o procedimento e em salas cirúrgicas convencionais. Nos EUA e Canadá, a maioria das injeções é realizada em consultório médico³⁹.

Um estudo retrospectivo avaliando 500.000 injeções realizadas em consultório médico demonstrou uma taxa de endoftalmite de 0.036%⁴⁰. Outros estudos retrospectivos avaliando 5.429 e 40.000 injeções realizadas no bloco cirúrgico, evidenciaram taxas de 0.09% e 0.007%, respectivamente^{41,42}. Resultados combinados de séries de injeções realizadas no bloco cirúrgico evidenciaram taxas de 0.0076%¹³.

A literatura aponta que as taxas de endoftalmite são muito baixas em ambos os contextos e até comparáveis em algumas séries de casos, porém não há estudos prospectivos randomizados comparando-os diretamente. Os três locais são considerados adequados para realizar o procedimento^{14,15}. Em nosso hospital, em virtude de normativas e regulamentações internas e externas, realizamos o procedimento em sala cirúrgica.

Uso de máscara e restrição à conversa

Em metanálise avaliando casos de endoftalmite pós injeção intravítrea, foi identificada uma prevalência três vezes maior de *Streptococcus ssp.* como agente responsável em relação aos casos pós cirurgia de catarata, em que geralmente é feito o uso de máscaras⁴³. O *Streptococcus ssp.* é componente usual da flora orofaríngea, sugerindo que possa haver uma maior contaminação a partir de gotículas nesses casos. Estudo simulando o cenário do procedimento demonstrou haver um maior crescimento bacteriano em placas de cultura

dispostas próximas do cirurgião após períodos de conversa sem o uso de máscaras em relação a um contexto com máscaras ou mantendo-se o silêncio⁴⁴.

Em 2004 foi investigado um surto de meningite pós mielografia associada com microorganismos da flora orofaríngea. Foi evidenciada relação com o fato de os médicos não usarem máscaras e recomendado o uso rotineiro de máscara cirúrgica em procedimentos envolvendo administração de substâncias no espaço subdural ou o canal medular⁴⁵. Cabe a comparação entre a situação descrita previamente com as injeções intravítreas, em que medicamentos são administrados em um espaço biológico estéril cuja contaminação tem repercussões potencialmente graves.

Estudo retrospectivo de séries de casos demonstrou uma redução do risco de endoftalmite infecciosa com uma política de restrição à conversa durante o procedimento. Além disso, dentre os casos no grupo sem conversa, o isolamento de microorganismos associados com a mucosa oral foi significativamente menor⁴⁶. Apesar de não haver estudos prospectivos adequados avaliando essas intervenções, é considerado adequado o uso de máscaras e realizar restrição à conversa durante o procedimento, tendo em vista o baixo custo e os potenciais benefícios^{14,15,30}.

Higiene das mãos e uso de luvas estéreis

O uso de luvas e a realização de higiene das mãos é consistente com a realização de procedimentos médicos em geral. As luvas protegem o médico do contato com secreções do paciente e protegem o paciente de contaminação através das mãos do médico. Contudo, não há evidências demonstrando que o uso de luvas diminua o risco de endoftalmite.

Estudo retrospectivo em um único centro, avaliando 154.198 injeções, não identificou o uso de luvas como preditor estatisticamente significativo de endoftalmite⁴⁷. Em 2 estudos prospectivos, controlados, randomizados em que não foi feito o uso de luvas, a taxa de endoftalmite foi de 0.078% após 3.383 injeções⁴⁸.

Em nossa instituição, indicamos a higiene das mãos imediatamente antes de cada procedimento, assim como o uso de luvas estéreis.

Desinfecção da pele periocular

Desinfecção da pele periocular com iodopovidona 10% é procedimento padrão antes da realização de diversos procedimentos oftalmológicos incisionais. Não há evidências fortes para embasar o seu uso antes da injeção intravítrea. Quando realizada, deve-se evitar a manipulação excessiva das pálpebras a fim de evitar o aumento da contaminação conjuntival por secreções das glândulas palpebrais¹⁵.

Apesar de não termos evidências consistentes da eficácia deste método para o procedimento de

injeção intravítrea, ainda realizamos a assepsia da pele por uma questão de risco-benefício.

Campo cirúrgico estéril adesivo

O uso de campo cirúrgico estéril adesivo tem como objetivo manter a esterilidade do local do procedimento e isolar potenciais focos contaminantes como a região nasal, vias respiratórias e cabelo.

Não há evidências que sugiram que o uso desse recurso diminua de forma significativa o risco de endoftalmite^{14,15,38}. Além disso, pacientes relataram que após a aplicação da injeção, o campo cirúrgico estéril adesivo é o segundo aspecto mais desconfortável do procedimento⁴⁹. Em nossa instituição, fazemos uso rotineiro de campos cirúrgicos estéreis não adesivos.

Blefarostato

Uma das fontes de contaminação para a ocorrência de endoftalmite é a margem palpebral, podendo a mesma contaminar a agulha ou diretamente o local onde é realizada a injeção. O uso do blefarostato permite afastar as margens palpebrais do sítio da injeção e estabiliza as pálpebras para diminuir o risco de haver toque na agulha.

Um estudo randomizado controlado duplo cego avaliando 1186 pacientes com DMRI evidenciou taxas mais elevadas de endoftalmite sem o uso de blefarostato⁵⁰. Em contrapartida, um estudo retrospectivo avaliando 27.736 injeções não encontrou diferença significativa com e sem o uso de blefarostato⁵¹. Outros métodos para afastar as pálpebras foram descritos, como a retração manual, havendo relato de taxa de endoftalmite de 0.0015% em um estudo retrospectivo com 78.009 injeções⁵².

Apesar de haver controvérsia no assunto, é considerado adequado que algum método seja empregado para o afastamento das pálpebras^{14,15,38}. Em nosso hospital, preconizamos o uso, pois acreditamos que facilita a aplicação e minimiza o risco pelo contato da margem palpebral com a agulha.

Anestesia e analgesia

Diversas modalidades de anestesia estão disponíveis para a realização da injeção intravítrea, incluindo tópica com colírio, tópica com gel e subconjuntival. Há maior preferência pela anestesia tópica por parte dos retinólogos⁵³. Atualmente, não dispomos de evidências para priorizar uma modalidade específica de anestesia em detrimento das demais, porém sugere-se o uso da anestesia tópica em virtude de ser menos invasiva¹⁵.

Há uma preocupação com o uso da anestesia tópica com gel pelo risco de reduzir o contato do antisséptico com a superfície ocular. Em experimentos com placas de agar, o uso de lidocaína gel diminuiu a eficácia da iodopovidona 5% tópica (PVPI) em erradicar os microorganismos, possivelmente por

criar um efeito de barreira. No entanto, quando o antisséptico é aplicado antes do gel, não há redução da eficácia *in vitro*⁵⁴. Caso optado por essa forma de anestésico, deve-se atentar para o uso do PVPI antes da aplicação do gel. Em nosso serviço, realizamos o processo anestésico com proximetaína colírio.

Antissepsia tópica

Contaminação do local da injeção pode ocorrer através de patógenos da conjuntiva e margem palpebral do paciente, assim como por contaminantes da mucosa oral do médico ao conversar durante o procedimento^{44,55}.

A iodopovidona 5% tópica (PVPI) é o padrão para redução de patógenos da superfície ocular antes de procedimentos oftalmológicos incisionais. Extrapolando dados referentes às cirurgias de catarata, foi a única intervenção considerada como grau de evidência 2 para profilaxia de endoftalmite pós operatória⁵⁶. Ela possui um amplo espectro de ação antimicrobiana, sem relatos de resistência bacteriana adquirida⁵⁷.

A aplicação do PVPI pelo menos 30 segundos antes da injeção é considerado adequado para reduzir significativamente as contagens bacterianas da superfície ocular e uma segunda aplicação traz benefícios adicionais^{58,59}. O uso do PVPI após a colocação do blefarostato parece diminuir a incidência de endoftalmite⁶⁰ e deve ser o último colírio aplicado antes da injeção¹⁴.

A alegação de alergia ao iodo é um impeditivo frequente ao uso do PVPI. Os pacientes podem apresentar episódios de conjuntivite e ceratite tóxicas que frequentemente são confundidos com alergia⁶¹. Não está descrito na literatura anafilaxia após instilação de PVPI ocular e quadros alérgicos verdadeiros são considerados raros^{62,63}. Alergia ao contraste iodado e a frutos do mar são desencadeados por substâncias não relacionadas aos componentes do PVPI e, portanto, não representam contraindicação ao seu uso^{64,65}. Em pacientes não tolerantes ao PVPI tópico, o gluconato de clorexidina aquosa 0.1% pode ser usado como alternativa segura e com taxas comparáveis de endoftalmite^{13,38,66}.

Na nossa rotina atual, é realizada a aplicação de PVPI 5% tópico uma única vez quando o paciente entra na sala cirúrgica, após a anestesia tópica, respeitando um período de pelo menos 3 minutos até aplicar a injeção.

Técnica

O uso de uma agulha de calibre e comprimento adequados é importante para garantir conforto e segurança ao procedimento. Há evidências de que o calibre de 30 gauge ou mais fino está relacionado a um maior conforto para o paciente, assim como menor risco de refluxo vítreo na incisão⁶⁷⁻⁶⁹. É considerado o calibre ideal pelos principais guidelines^{14,15}

e recomendado na bula dos principais medicamentos intravítreos administrados na prática oftalmológica.

O comprimento da agulha deve ser o suficiente para transfixar a pars plana sem aumentar significativamente o risco de lesão às estruturas intraoculares, geralmente entre 13 e 18 mm é considerado adequado. A injeção é tipicamente realizada a 3.5-4.0 mm do limbo, distância que acaba coincidindo com a região da pars plana. Injeções mais anteriores aumentam o risco de catarata traumática e lesão da pars plicata, mais posteriores aumentam o risco de rotura retiniana.

Qualquer quadrante é considerado adequado, preferindo-se realizar entre os músculos retos^{14,15}. Estudo de Karimi et al.⁷⁰, verificou que a dor durante o procedimento foi crescente nos respectivos quadrantes: nasal superior, temporal inferior, nasal inferior e temporal superior. Entretanto, a margem de segurança teórica é menor nos quadrantes nasais, principalmente em pacientes com menor comprimento axial. Portanto, optamos pela rotina de injeções temporais inferiores.

Deve-se evitar locais de superfície ocular e pars plana alteradas, conforme discutido previamente na seção de avaliação pré-operatória. Não há necessidade de tunelizar a incisão, devendo-se inserir pelo menos 6mm (cerca de 2/3 do comprimento da maioria das agulhas) direcionada para o polo posterior do olho, evitando-se o toque da agulha na margem palpebral^{14,15}. Injeção abrupta do medicamento é desestimulada, pois pode aumentar o risco de hipertensão ocular imediata²¹.

Antibióticos tópicos perioperatórios

O uso de antibióticos no perioperatório das injeções intravítreas era prática comum, embasada na teoria de que a diminuição da carga patogênica na superfície ocular diminuiria o risco de endoftalmite.

Uma metanálise avaliando 174.000 injeções concluiu que não há benefício no uso de antibióticos pré e pós operatórios como forma de profilaxia⁷¹. Além disso, alguns estudos demonstraram aumento nas taxas de endoftalmite com o uso rotineiro de antibióticos nesse contexto, sendo atribuído à indução de resistência bacteriana na superfície ocular^{72,73}. Portanto, a evidência atual não embasa o uso de antibióticos como forma de profilaxia para endoftalmite pós injeção intravítrea^{14,15,38}.

Em nossa instituição, não fazemos uso rotineiro de antibióticos fora do período transoperatório. Apesar de não haver evidências significativas embasando o uso de antibiótico tópico logo ao término da injeção intravítrea, realizamos aplicação de uma gota de ofloxacina colírio ou PVPI 5% antes da retirada do blefarostato, tendo em vista que a relação risco x benefício parece razoável.

Medicamentos manipulados

Apesar dos medicamentos ranibizumabe e aflibercepte serem os fármacos aprovados em bula para uso intraocular, eles não estão disponíveis de rotina e o BEZ, em seu uso off-label é o agente anti-VEGF predominantemente utilizado na nossa instituição. Tipicamente é fracionado em diversas seringas a partir de um frasco estéril, tornando o custo muito menor em relação aos demais fármacos dessa classe. Contudo, há uma preocupação quanto ao risco de contaminação no processo. Há relatos de surtos de endoftalmite associados à manipulação do BEZ⁷⁴, porém fora desse contexto não há evidências significativas do aumento do risco de infecção intraocular.

Um estudo retrospectivo multicêntrico avaliando 503.890 injeções não identificou diferenças significativas entre as taxas de endoftalmite infecciosa entre o uso de BEZ fracionado, RAZ e aflibercepte⁴⁰. Tipicamente, com a realização do fracionamento em ambiente estéril e com os cuidados adequados, o medicamento não apresenta contaminantes ou endotoxinas⁷⁵.

Em nossa instituição, os fármacos utilizados com maior frequência são o BEZ e o acetato de triancinolona. O primeiro, conforme mencionado anteriormente, necessita de manipulação para fracionar a ampola em diversas seringas estéreis com a dose adequada. Esse processo é realizado por um departamento específico da nossa instituição, a central de misturas intravenosas (CMIV), que conta profissionais capacitados e segue as regulamentações vigentes para manuseio destes fármacos.

Condizente com os dados da literatura, na trajetória de 10 anos em que realizamos aproximadamente 10.000 injeções de BEZ, tivemos uma incidência de 3 casos de endoftalmite em períodos distintos (dados não publicados), o que reforça a segurança do processo.

Injeções bilaterais no mesmo dia

O edema macular diabético e a degeneração macular relacionada com a idade constituem 80% das indicações de injeção intravítreas em nosso serviço, com elevada taxa de bilateralidade, sendo esse último particularmente associado com idades mais avançadas. Tendo em vista o grande fardo de injeções e consultas nessa população, diversos serviços adotam a prática de realizar injeções bilaterais no mesmo dia⁷³, com o intuito de melhorar a aderência e conforto para o paciente⁷⁵, assim como custo-efetividade.

Apesar de haver relatos na literatura de endoftalmite bilateral após injeções nesse contexto⁷³, a incidência parece ser muito baixa. Em revisão de 101.932 injeções bilaterais, ambos os olhos no mesmo dia, a taxa de endoftalmite foi de 0.027%, sem casos com acometimento bilateral⁷⁶.

A ponderação risco x benefício deve ser discutida com o paciente. Deve-se considerar cada injeção como um procedimento individual, utilizando instrumental separado para cada olho, troca de paramentação e preferencialmente evitar o uso de medicamentos do mesmo lote^{14,15}. Atualmente, não realizamos injeções bilaterais no mesmo dia no HCPA.

PÓS OPERATÓRIO

Não há estudos avaliando as medidas pós operatórias, sendo a evidência formada principalmente a partir de consenso de especialistas.

Manejo pós-injeção

É sugerido a realização de um teste rudimentar de acuidade visual logo após o término do procedimento, com teste de contagem de dedos, para se certificar que há perfusão da artéria central da retina, e a medida da pressão intraocular com tonômetro de aplanção ou palpação bidigital antes de liberar o paciente da sala cirúrgica^{14,15}. Conforme discutido previamente, picos hipertensivos imediatos sintomáticos, com dor e piora visual, podem ser tratados com paracentese da câmara anterior.

O paciente deve receber orientação quanto aos sinais de alarme para as principais complicações do pós operatório e informações quanto às portas de entrada do serviço de saúde caso venha a apresentá-los. O retorno ambulatorial é estipulado conforme o acompanhamento da patologia de base e do medicamento administrado.

Os principais sintomas que devem ser enfatizados para os pacientes são a dor ocular ou piora gradual do desconforto, redução da visão, aumento da sensibilidade a luz e piora da hiperemia ocular. A observação de moscas volantes após a injeção é algo usual e dentro da normalidade. Deve evitar a manipulação ocular nas primeiros dias após o procedimento^{14,15}.

Complicações

Apesar da baixa absorção sistêmica, há a preocupação de agentes anti-VEGF intraoculares aumentarem o risco de eventos cardiovasculares, principalmente em populações idosas ou apresentando doenças isquêmicas e diabetes mellitus. A maioria dos trabalhos não demonstrou um aumento significativo do risco de eventos adversos sistêmicos (EAS) em pacientes utilizando medicamentos dentro da cavidade vítrea³¹.

Já os eventos adversos oculares (EAO) são mais frequentes, podendo estar relacionados ao procedimento em si ou ao medicamento utilizado. É imprescindível a identificação precoce dessas situações para adequado manejo.

Superfície ocular

A hiperemia e hemorragia subconjuntivais são os EAO mais comuns, geralmente secundários ao trauma cirúrgico e presentes logo após o procedimento, costumam resolver ao longo de poucos dias sem sequelas⁷⁷. Ceratoconjuntivite química e defeitos epiteliais corneanos podem ser secundários aos medicamentos tópicos utilizados no perioperatório, muitas vezes causando grande desconforto no pós-operatório imediato⁷⁷. O uso de lubrificantes oculares sem conservante pode ser indicado nesses casos, na posologia de 1 gota a cada 2 horas, para amenizar os sintomas que tendem a resolver em 24 a 48 horas. Entretanto, na presença de dor forte associada com fotofobia, uma avaliação presencial é necessária para a realização do diagnóstico de defeito epitelial e tratamento adequado com oclusão ou uso de lente de contato terapêutica, conforme a gravidade.

Hipertensão ocular

Tópico abordado de forma mais extensa no item “hipertensão ocular e glaucoma”. A hipertensão ocular sustentada é mais frequente com o uso de corticóides intravítreos, ocorrendo em cerca de 30% dos casos²⁵. A evolução para glaucoma de difícil controle, necessitando de cirurgia é incomum²⁷.

Em nosso serviço, os pacientes são acompanhados no pós operatório com aferição periódica da PIO, sendo instituído tratamento hipotensor nos casos em que essa se mostra significativamente elevada, especialmente nos portadores de fatores de risco para dano glaucomatoso. Tendo em vista a natureza transitória da hipertensão ocular nesse contexto, costuma ser possível a posterior suspensão do tratamento na maioria dos pacientes.

Catarata

A indução de catarata pode ser traumática em virtude de um toque da agulha durante o procedimento, ou ser secundária ao efeito adverso do medicamento. No primeiro caso, há ruptura da cápsula posterior do cristalino em boa parte dos casos, implicando uma intervenção mais complexa, onde pode haver deslocamento de material cristalino para a cavidade vítrea, sendo um EA infrequente.

Já a incidência de catarata significativa induzida pelo efeito da corticoterapia intraocular, pode variar conforme a concentração da droga utilizada. Durante o acompanhamento de 3 anos de pacientes com EMD, 83% do grupo que recebeu 4mg de triancinolona e 46% que recebeu 1mg necessitaram de cirurgia de catarata²⁷. Já os anti-VEGFs não parecem aumentar o risco de catarata de forma significativa⁷⁸.

Complicações vitreoretinianas

A hemorragia vítrea é um EAO incomum, podendo ocorrer por trauma das estruturas ciliares durante

o procedimento ou por uma alteração da superfície vítreo-retiniana secundária à patologia de base^{79,80}. Inflamações intraoculares e endoftalmite estéril secundárias aos componentes do fármaco já foram relatadas, mas são pouco frequentes, principalmente com o uso de medicamentos anti-VEGF⁸¹.

Finalmente, os EAO que mais geram morbidade são a endoftalmite infecciosa e o descolamento de retina, ocorrendo em menos de 1% dos casos em praticamente todos os estudos e metanálises sobre o procedimento^{12,13,78}. A presença destas complicações deve ser reconhecida com brevidade e tratada através de procedimentos vítreo-retinianos para que não haja comprometimento do prognóstico visual.

DISCUSSÃO

Após extensa revisão da literatura, elaboramos um protocolo visando a instituição das melhores práticas atuais em nosso serviço. No geral, as medidas que adotamos (Tabela 1) estão de acordo com os consensos.

Tabela 1: Descrição do procedimento conforme medidas estipuladas no HCPA.

Técnica de Injeção Intravítrea estipulada no HCPA	
1	Instilação de anestésico local (proximetacaína colírio) 01 gota
2	Instilação de 1 gota de PVPI 5%
3	Antissepsia das mãos e colocação de luvas estéreis
4	Antissepsia da pele com gazes umedecidas em iodopovidona 10%
5	Colocação de campo oftálmico fenestrado estéril
6	Colocação de blefarostato de Barraquer
7	Instilação de anestésico local (proximetacaína colírio) 01 gota
8	Instilação de 1 gota de PVPI 5%
9	Marcação de local de injeção à 4 mm do limbo
10	Tração conjuntival com cotonete
11	Aplicação de injeção perpendicular à esclera, em local previamente marcado, com inserção de pelo menos 6 mm da agulha em direção posterior (CUIDADO PARA NÃO TOCAR NA MARGEM PALPEBRAL E CRISTALINO)
12	Retirada da agulha e leve compressão local com cotonete
13	Instilação de colírio de antibiótico associado a corticóide ou PVPI
14	Retirada de blefarostato e campo oftálmico fenestrado estéril

Após ponderação de risco x benefício no que diz respeito à nossa população de pacientes, optamos por ainda não instituir injeções bilaterais no mesmo

dia como prática rotineira, apesar das evidências favoráveis à sua realização. Uma potencial limitação para essa prática em nosso serviço seria a logística na utilização de lotes diferentes de BEZ para cada olho em um mesmo paciente.

Os benefícios dessa prática, como melhor adesão e comodidade por parte do paciente e utilização mais eficiente das vagas disponíveis para o procedimento, devem fomentar maiores discussões quanto a instauração dessa medida no futuro.

Os estudos demonstraram segurança com o uso de BEZ fracionado, condizente com nossa estatística de 3 casos de endoftalmite infecciosa em períodos temporais distintos na trajetória de 10 anos em que realizamos aproximadamente 10.000 injeções intravítreas (0.03%), valor tangenciando a margem inferior da incidência relatada na literatura (0.028% a 0.056%)^{12,13}.

Algumas medidas com evidência baixa mas bem estabelecidas na realização de procedimentos em geral e rotinas na nossa prática são o uso de luvas e máscaras, assim como higienização das mãos. A restrição à conversa na sala cirúrgica possui baixa evidência para sua realização, mas é de fácil instituição e com benefícios teóricos.

Apesar de disponível em nosso serviço, o uso de campo cirúrgico estéril adesivo acrescentaria custo para a instituição e desconforto para os pacientes, sem relato de benefícios claros na literatura, portanto utilizamos um campo oftálmico estéril convencional. Utilizamos o blefarostato de Barraquer como método de afastamento palpebral.

O uso de PVPI 5% tópico pré operatório é a medida com maior evidência para profilaxia de endoftalmite e é realizada de forma rotineira em nosso serviço. Alguns aspectos que não haviam sido contemplados são a aplicação do PVPI após colocação o blefarostato e uma segunda aplicação, que foram instituídos após essa revisão.

Quanto ao material recomendado, atualmente temos disponíveis apenas agulhas com calibre de 26.5 gauge para o procedimento, com maior risco de refluxo e maior desconforto para nossos pacientes. Está em andamento o processo para obtenção de agulhas 30 gauge.

As evidências não embasam o uso de antibióticos tópicos pré e pós operatórios de forma profilática, com grau razoável de evidência. Optamos por manter a aplicação de uma gota de ofloxacina ou PVPI 5% tópicos logo após o término do procedimento, de forma similar à rotina de outras intervenções intraoculares mais invasivas, tendo em vista o perfil risco x benefício favorável. Não indicamos, porém, uso de antibióticos fora do período transoperatório.

Finalmente, as medidas que estabelecemos estão condizentes com os principais guidelines e estudos disponíveis sobre o assunto, visando a melhoria da qualidade assistencial em nosso serviço. Os pontos discordantes serão alvo de estudo em busca da

otimização, dentro do contexto de serviço público de saúde e levando em consideração aspectos de custo-efetividade.

Conflitos de Interesse

Os autores declaram não haver conflito de interesses.

REFERÊNCIAS

- Peyman GA, Lad EM, Moshfeghi DM. Intravitreal injection of therapeutic agents. *Retina*. 2009;29(7):875-912.
- McLaughlin MD, Hwang JC. Trends in vitreoretinal procedures for medicare beneficiaries, 2000 to 2014. *Ophthalmology*. 2017;124(5):667-73.
- Lee SS, Hughes PM, Robinson MR. Recent advances in drug delivery systems for treating ocular complications of systemic diseases. *Curr Opin Ophthalmol*. 2009;20(6):511-9.
- Klaassen I, Van Noorden CJ, Schlingemann RO. Molecular basis of the inner blood-retinal barrier and its breakdown in diabetic macular edema and other pathological conditions. *Prog Retin Eye Res*. 2013;34:19-48.
- Tang J, Kern TS. Inflammation in diabetic retinopathy. *Prog Retin Eye Res*. 2011;30(5):343-58.
- Mallmann F, Canani LH. Intravitreal neurodegenerative and inflammatory mediators in proliferative diabetic retinopathy. *Arq Bras Oftalmol*. 2019;82(4):275-82.
- Varma R, Bressler NM, Suñer I, Lee P, Dolan CM, Ward J, et al. Improved vision-related function after ranibizumab for macular edema after retinal vein occlusion: results from the BRAVO and CRUISE trials. *Ophthalmology*. 2012;119(10):2108-18.
- Fardeau C, Champion E, Massamba N, LeHoang P. Uveitic macular edema. *Eye (Lond)*. 2016;30(10):1277-92.
- Nguyen QD, Brown DM, Marcus DM, Boyer DS, Patel S, Feiner L, et al. Ranibizumab for diabetic macular edema: results from 2 phase III randomized trials: RISE and RIDE. *Ophthalmology*. 2012;119(4):789-801.
- Hilton GF, Kelly NE, Salzano TC, Tornambe PE, Wells JW, Wendel RT. Pneumatic retinopexy. A collaborative report of the first 100 cases. *Ophthalmology*. 1987;94(4):307-14.
- Relhan N, Forster RK, Flynn HW. Endophthalmitis: then and now. *Am J Ophthalmol*. 2018;187:10-7.
- Fileta JB, Scott IU, Flynn HW. Meta-analysis of infectious endophthalmitis after intravitreal injection of anti-vascular endothelial growth factor agents. *Ophthalmic Surg Lasers Imaging Retina*. 2014;45(2):143-9.
- Merani R, Hunyor AP. Endophthalmitis following intravitreal anti-vascular endothelial growth factor (VEGF) injection: a comprehensive review. *Int J Retina Vitreous*. 2015;1:9.
- Avery RL, Bakri SJ, Blumenkranz MS, Brucker AJ, Cunningham ET Jr, D'Amico DJ, et al. Intravitreal injection technique and monitoring: updated guidelines of an expert panel. *Retina*. 2014;34(Suppl 12):S1-S18.
- Grzybowski A, Told R, Sacu S, Bandello F, Moisseiev E, Loewenstein A, et al. 2018 update on intravitreal injections: euretina expert consensus recommendations. *Ophthalmologica*. 2018;239(4):181-93.
- Lyll DAM, Tey A, Foot B, Roxburgh STD, Virdi M, Robertson C, et al. Post-intravitreal anti-VEGF endophthalmitis in the United Kingdom: incidence, features, risk factors, and outcomes. *Eye (Lond)*. 2012;26(12):1517-26.
- Lemos V, Cabugueira A, Noronha M, Pinto LA, Reina M, Branco J, et al. Intraocular pressure in eyes receiving intravitreal antivascular endothelial growth factor injections. *Ophthalmologica*. 2015;233(3-4):162-8.
- Hollands H, Wong J, Bruen R, Campbell RJ, Sharma S, Gale J. Short-term intraocular pressure changes after intravitreal injection of bevacizumab. *Can J Ophthalmol*. 2007;42(6):807-11.
- Mojica G, Hariprasad SM, Jager RD, Mieler WF. Short-term intraocular pressure trends following intravitreal injections of ranibizumab (Lucentis) for the treatment of wet age-related macular degeneration. *Br J Ophthalmol*. 2008;92(4):584.
- Gismondini M, Salati C, Salvatat ML, Zepieri M, Brusini P. Short-term effect of intravitreal injection of Ranibizumab (Lucentis) on intraocular pressure. *J Glaucoma*. 2009;18(9):658-61.
- Yannuzzi NA, Patel SN, Bhavsar KV, Sugiguchi F, Freund KB. Predictors of sustained intraocular pressure elevation in eyes receiving intravitreal anti-vascular endothelial growth factor therapy. *Am J Ophthalmol*. 2014;158(2):319-27.
- Tranos P, Bhar G, Little B. Postoperative intraocular pressure spikes: the need to treat. *Eye (Lond)*. 2004;18(7):673-9.
- Ozcaliskan S, Ozturk F, Yilmazbas P, Beyazyildiz O. Effect of dorzolamide-timolol fixed combination prophylaxis on intraocular pressure spikes after intravitreal bevacizumab injection. *Int J Ophthalmol*. 2015;8(3):496-500.
- Frenkel MPC, Haji SA, Frenkel REP. Effect of prophylactic intraocular pressure-lowering medication on intraocular pressure spikes after intravitreal injections. *Arch Ophthalmol*. 2010;128(12):1523-7.
- Yuksel-Elgin C, Elgin C. Intraocular pressure elevation after intravitreal triamcinolone acetate injection: a meta-analysis. *Int J Ophthalmol*. 2016;9(1):139-44.
- Dedania VS, Bakri SJ. Sustained elevation of intraocular pressure after intravitreal anti-vegf agents: what is the evidence? *Retina*. 2015;35(5):841-58.
- Beck RW, Edwards AR, Aiello LP, Bressler NM, Ferris F, Glassman AR, et al. Three-year follow-up of a randomized trial comparing focal/grid photocoagulation and intravitreal triamcinolone for diabetic macular edema. *Arch Ophthalmol*. 2009;127(3):245-51.
- Scappaticci FA, Skillings JR, Holden SN, Gerber HP, Miller K, Kabbinnar F, et al. Arterial thromboembolic events in patients with metastatic carcinoma treated with chemotherapy and bevacizumab. *J Natl Cancer Inst*. 2007;99(16):1232-9.
- Hapani S, Sher A, Chu D, Wu S. Increased risk of serious hemorrhage with bevacizumab in cancer patients: a meta-analysis. *Oncology*. 2010;79(1-2):27-38.

30. Zehetner C, Kirchmair R, Huber S, Kralinger MT, Kieselbach GF. Plasma levels of vascular endothelial growth factor before and after intravitreal injection of bevacizumab, ranibizumab and pegaptanib in patients with age-related macular degeneration, and in patients with diabetic macular oedema. *Br J Ophthalmol*. 2013;97(4):454-9.
31. Thulliez M, Angoulvant D, Pisella PJ, Bejan-Angoulvant T. Overview of systematic reviews and meta-analyses on systemic adverse events associated with intravitreal anti-vascular endothelial growth factor medication use. *JAMA Ophthalmol*. 2018;136(5):557-66.
32. Olson JM, Scott IU, Kerchner DL, Kunselman AR. Association between systemic anticoagulation and rate of intraocular hemorrhage following intravitreal anti-VEGF therapy for age-related macular degeneration. *Ophthalmic Surg Lasers Imaging Retina*. 2013;44(5):455-9.
33. Veritti D, Di Giulio A, Sarao V, Lanzetta P. Drug safety evaluation of intravitreal triamcinolone acetonide. *Expert Opin Drug Saf*. 2012;11(2):331-40.
34. Fazelat A, Lashkari K. Off-label use of intravitreal triamcinolone acetonide for diabetic macular edema in a pregnant patient. *Clin Ophthalmol*. 2011;5:439-41.
35. Introini U, Casalino G, Cardani A, Scotti F, Finardi A, Candiani M, et al. Intravitreal bevacizumab for a subfoveal myopic choroidal neovascularization in the first trimester of pregnancy. *J Ocul Pharmacol Ther*. 2012;28(5):553-5.
36. Polizzi S, Mahajan VB. Intravitreal anti-VEGF injections in pregnancy: case series and review of literature. *J Ocul Pharmacol Ther*. 2015;31(10):605-10.
37. McFarland TJ, Rhoads AD, Hartzell M, Emerson GG, Bhavsar AR, Stout JT. Bevacizumab levels in breast milk after long-term intravitreal injections. *Retina*. 2015;35(8):1670-3.
38. Patel SN, Gangaputra S, Sternberg P Jr, Kim SJ. Prophylaxis measures for postinjection endophthalmitis. *Surv Ophthalmol*. 2020;65(4):408-20.
39. Xing L, Dorrepaal SJ, Gale J. Survey of intravitreal injection techniques and treatment protocols among retina specialists in Canada. *Can J Ophthalmol*. 2014;49(3):261-6.
40. Rayess N, Rahimy E, Storey P, Shah CP, Wolfe JD, Chen E, et al. Postinjection endophthalmitis rates and characteristics following intravitreal bevacizumab, ranibizumab, and aflibercept. *Am J Ophthalmol*. 2016;165:88-93.
41. Wani VB, Al-Kandari J, Sabti K, Aljassar F, Qali H, Kumar N, et al. Incidence of endophthalmitis after intravitreal bevacizumab using aliquots prepared on-site in 2 operating rooms in Kuwait. *Middle East Afr J Ophthalmol*. 2016;23(1):64-70.
42. Casparis H, Wolfensberger TJ, Becker M, Eich G, Graf N, Ambresin A, et al. Incidence of presumed endophthalmitis after intravitreal injection performed in the operating room: a retrospective multicenter study. *Retina*. 2014;34(1):12-7.
43. McCannel CA. Meta-analysis of endophthalmitis after intravitreal injection of anti-vascular endothelial growth factor agents: causative organisms and possible prevention strategies. *Retina*. 2011;31(4):654-61.
44. Wen JC, McCannel CA, Mochon AB, Garner OB. Bacterial dispersal associated with speech in the setting of intravitreal injections. *Arch Ophthalmol*. 2011;129(12):1551-4.
45. O'Grady NP, Alexander M, Dellinger EP, Gerberding JL, Heard SO, Maki DG, et al. Guidelines for the prevention of intravascular catheter-related infections. *MMWR Recomm Rep*. 2002;51(RR-10):1-29.
46. Garg SJ, Dollin M, Hsu J, Storey P, Vander JF. Effect of a strict 'no-talking' policy during intravitreal injection on post-injection endophthalmitis. *Ophthalmic Surg Lasers Imaging Retina*. 2015;46(10):1028-34.
47. Stem MS, Rao P, Lee JJ, Woodward MA, Faia LJ, Wolfe JD, et al. Predictors of endophthalmitis after intravitreal injection: a multivariable analysis based on injection protocol and povidone iodine strength. *Ophthalmol Retina*. 2019;3(1):3-7.
48. Bhavsar AR, Googe JM, Stockdale CR, Bressler NM, Brucker AJ, Elman MJ, et al. Risk of endophthalmitis after intravitreal drug injection when topical antibiotics are not required: the diabetic retinopathy clinical research network laser-ranibizumab-triamcinolone clinical trials. *Arch Ophthalmol*. 2009;127(12):1581-3.
49. Tailor R, Beasley R, Yang Y, Narendran N. Evaluation of patients' experiences at different stages of the intravitreal injection procedure – what can be improved? *Clin Ophthalmol*. 2011;5:1499-502.
50. Mansour AM, Shahin M, Kofoed PK, Parodi MB, Shami M, Schwartz SG, et al. Insight into 144 patients with ocular vascular events during VEGF antagonist injections. *Clin Ophthalmol*. 2012;6:343-63.
51. Shah CP, Garg SJ, Vander JF, Brown GC, Kaiser RS, Haller JA, et al. Outcomes and risk factors associated with endophthalmitis after intravitreal injection of anti-vascular endothelial growth factor agents. *Ophthalmology*. 2011;118(10):2028-34.
52. Munro M, Williams GR, Ellis A, Fielden M, Kherani A, Mitchell P, et al. Lid splinting eyelid retraction technique: a minimised sterile approach for intravitreal injections. *Br J Ophthalmol*. 2018;102(9):1254-8.
53. Chaturvedi R, Wannamaker KW, Riviere PJ, Khanani AM, Wykoff CC, Chao DL. Real-world trends in intravitreal injection practices among American retina specialists. *Ophthalmol Retina*. 2019;3(8):656-62.
54. Doshi RR, Leng T, Fung AE. Povidone-iodine before lidocaine gel anesthesia achieves surface antisepsis. *Ophthalmic Surg Lasers Imaging*. 2011;42(4):346-9.
55. Speaker MG, Milch FA, Shah MK, Eisner W, Kreiswirth BN. Role of external bacterial flora in the pathogenesis of acute postoperative endophthalmitis. *Ophthalmology*. 1991;98(5):639-49.
56. Ciulla TA, Starr MB, Masket S. Bacterial endophthalmitis prophylaxis for cataract surgery: an evidence-based update. *Ophthalmology*. 2002;109(1):13-24.
57. Bigliardi PL, Alsagoff SAL, El-Kafrawi HY, Pyon JK, Wa CTC, Villa MA. Povidone iodine in wound healing: a review of current concepts and practices. *Int J Surg*. 2017;44:260-8.

58. Friedman DA, Mason JO, Emond T, McGwin G. Povidone-iodine contact time and lid speculum use during intravitreal injection. *Retina*. 2013;33(5):975-81.
59. Stranz CV, Fraenkel GE, Butcher AR, Esterman AJ, Goggin MJ. Survival of bacteria on the ocular surface following double application of povidone-iodine before cataract surgery. *Eye (Lond)*. 2011;25(11):1423-8.
60. Levinson JD, Garfinkel RA, Berinstein DM, Flory M, Spellman FA. Timing of povidone-iodine application to reduce the risk of endophthalmitis after intravitreal injections. *Ophthalmol Retina*. 2018;2(7):654-8.
61. Lachapelle JM. A comparison of the irritant and allergenic properties of antiseptics. *Eur J Dermatol*. 2014;24(1):3-9.
62. Krohne TU, Allam JP, Novak N, Holz FG. "Iodine allergy": A medical myth with risks for the ophthalmological patient. *Ophthalmologe*. 2016;113(12):1023-8.
63. Grzybowski A, Kanclerz P, Myers WG. The use of povidone-iodine in ophthalmology. *Curr Opin Ophthalmol*. 2018;29(1):19-32.
64. Wykoff CC, Flynn HW, Han DP. Allergy to povidone-iodine and cephalosporins: the clinical dilemma in ophthalmic use. *Am J Ophthalmol*. 2011;151(1):4-6.
65. Schabelman E, Witting M. The relationship of radiocontrast, iodine, and seafood allergies: a medical myth exposed. *J Emerg Med*. 2010;39(5):701-7.
66. Merani R, McPherson ZE, Luckie AP, Gilhotra JS, Runciman J, Durkin S, et al. Aqueous chlorhexidine for intravitreal injection antisepsis: a case series and review of the literature. *Ophthalmology*. 2016;123(12):2588-94.
67. Borkar DS, Obeid A, Su DC, Storey PP, Gao X, Regillo CD, et al. Endophthalmitis rates after bilateral same-day intravitreal anti-vascular endothelial growth factor injections. *Am J Ophthalmol*. 2018;194:1-6.
68. Rifkin L, Schaal S. Factors affecting patients' pain intensity during in office intravitreal injection procedure. *Retina*. 2012;32(4):696-700.
69. Hubschman JP, Coffee RE, Bourges JL, Yu F, Schwartz SD. Experimental model of intravitreal injection techniques. *Retina*. 2010;30(1):167-73.
70. Karimi S, Mosavi SA, Jadidi K, Nikkhah H, Kheiri B. Which quadrant is less painful for intravitreal injection? A prospective study. *Eye (Lond)*. 2019;33(2):304-12.
71. d'Azy CB, Pereira B, Naughton G, Chiambaretta F, Dutheil F. Antibiotrophylaxis in prevention of endophthalmitis in intravitreal injection: a systematic review and meta-analysis. *PLoS One*. 2016;11(6):1-12.
72. Schwartz SG, Flynn HW, Grzybowski A. Controversies in topical antibiotics use with intravitreal injections. *Curr Pharm Des*. 2015;21(32):4703-6.
73. Bhavsar AR, Stockdale CR, Ferris FL, Brucker AJ, Bressler NM, Glassman AR, et al. Update on risk of endophthalmitis after intravitreal drug injections and potential impact of elimination of topical antibiotics. *Arch Ophthalmol*. 2012;130(6):809-10.
74. Goldberg RA, Flynn HW, Isom RF, Miller D, Gonzalez S. An outbreak of streptococcus endophthalmitis after intravitreal injection of bevacizumab. *Am J Ophthalmol*. 2012;153(2):204-8.
75. Yannuzzi NA, Klufas MA, Quach L, Beatty LM, Kaminsky SM, Crystal RG, et al. Evaluation of compounded bevacizumab prepared for intravitreal injection. *JAMA Ophthalmol*. 2015;133(1):32-9.
76. Tabatabaie A, Ahmadrabi A, Khodabande A, Mansouri M. Acute bilateral endophthalmitis following bilateral intravitreal bevacizumab (avastin) injection. *Middle East Afr J Ophthalmol*. 2013;20(1):87-8.
77. Ladas ID, Karagiannis DA, Rouvas AA, Kotsolis AI, Liotsou A, Vergados I. Safety of repeat intravitreal injections of bevacizumab versus ranibizumab: our experience after 2,000 injections. *Retina*. 2009;29(3):313-8.
78. Falavarjani KG, Nguyen QD. Adverse events and complications associated with intravitreal injection of anti-VEGF agents: a review of literature. *Eye (Lond)*. 2013;27(7):787-94.
79. Filho PA, Maia M, Rodrigues EB, Farah ME. Ocular pharmacology in the treatment of vitreous, retina and choroid diseases. *Arq Bras Oftalmol*. 2010;73(3):294-9.
80. Rodrigues EB, Maia M, Penha FM, Dib E, Bordon AF, Magalhães Júnior O, et al. Technique of intravitreal drug injection for therapy of vitreoretinal diseases. *Arq Bras Oftalmol*. 2008;71(6):902-7.
81. Sampat KM, Garg SJ. Complications of intravitreal injections. *Curr Opin Ophthalmol*. 2010;21(3):178-83.

Recebido: 17 jul, 2020

Aceito: 19 out, 2020

SÍNDROME DOS OVÁRIOS POLICÍSTICOS, COMPLICAÇÕES METABÓLICAS, CARDIOVASCULARES, PSÍQUICAS E NEOPLÁSICAS DE LONGO PRAZO: UMA REVISÃO SISTEMATIZADA

POLYCYSTIC OVARY SYNDROME AND LONG-TERM METABOLIC, CARDIOVASCULAR, PSYCHIC, AND NEOPLASTIC HEALTH CONSEQUENCES: A SYSTEMATIZED REVIEW

Cristian Daniel Piccini¹, Enrico dos Santos Michelin¹,
Aline Guimarães Medeiros¹, Carlos Alexandre Heinen¹,
Gustavo Siliprandi Maranghelli¹, Helena von Eye^{2,3}

RESUMO

Clin Biomed Res. 2020;40(3):184-192

1 Faculdade de Medicina, Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS). Porto Alegre, RS, Brasil.

2 Departamento de Ginecologia e Obstetrícia, Faculdade de Medicina, Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS). Porto Alegre, RS, Brasil.

3 Serviço de Ginecologia e Obstetrícia, Hospital de Clínicas de Porto Alegre (HCPA). Porto Alegre, RS, Brasil.

Autor correspondente:

Cristian Daniel Piccini
cpiccini@hcpa.edu.br
Faculdade de Medicina,
Universidade Federal do
Rio Grande do Sul (UFRGS).
Rua Ramiro Barcelos, 2400.
90035-002, Porto Alegre, RS, Brasil.

A Síndrome dos Ovários Policísticos (SOP) é uma das disfunções endócrinas mais comuns em mulheres em idade reprodutiva, com uma prevalência que varia entre 6 e 16%, sendo motivo frequente de consulta em um ambulatório de Ginecologia e Obstetrícia. Esta revisão enfoca alguns dos principais riscos tardios para a saúde das pacientes com SOP na meia idade e após a menopausa. A busca da literatura foi realizada no Pubmed utilizando-se as seguintes palavras-chave: *Polycystic Ovary Syndrome*; *time*. Identificou-se 229 artigos relacionando SOP e suas consequências tardias que foram publicados em periódicos indexados no Pubmed entre 1º de janeiro de 2010 e 19 de junho de 2020. Desses, excluiu-se 3 por não estarem em língua inglesa (2 em chinês, 1 em russo), 177 pelo título e pelo *abstract*, e 27 com base na análise do texto. Os 22 artigos restantes estão contemplados nesta revisão sistematizada. Evidenciam-se complicações metabólicas, cardiovasculares, neoplásicas e psíquicas, bem como uma complexa, e ainda não totalmente elucidada, relação com a obesidade. Apesar das complicações cardiovasculares, não existem evidências de que estas levem a maior mortalidade em pacientes com SOP, tampouco de que a mortalidade por todas as causas seja maior nessas mulheres.

Palavras-chave: *Síndrome do ovário policístico; tempo; síndrome metabólica; diabetes mellitus tipo 2; obesidade; doenças cardiovasculares; transtornos mentais; ansiedade; depressão; neoplasias*

ABSTRACT

Polycystic ovary syndrome (PCOS) is one of the most common endocrine disorders in women of reproductive age, with a prevalence of 6-16%. It is also one of the most frequent reasons for encounter at Obstetrics and Gynecology clinics. This review focuses on some of the main late health impacts of PCOS in middle-aged and postmenopausal patients. A literature search with the keywords "polycystic ovary syndrome" and "time" was conducted in PubMed, and 229 articles related to PCOS and late health consequences published between January 1, 2010, and June 19, 2020, were analyzed. Three articles were excluded because they did not meet the language criterion (being written in English), 177 were excluded based on the title and abstract, and 27 were excluded based on the analysis of the text, resulting in the inclusion of 22 articles in this systematized review. Metabolic, cardiovascular, neoplastic, and psychic complications were made evident, as well as a complex, not yet fully elucidated

relationship between PCOS and obesity. Despite cardiovascular complications, there is no evidence that they lead to higher mortality in patients with PCOS, or that all-cause mortality is higher in women with the syndrome.

Keywords: *Polycystic ovary syndrome; time; metabolic syndrome; diabetes mellitus, type 2; obesity; cardiovascular diseases; mental disorders; anxiety; depression; neoplasms*

INTRODUÇÃO

A anovulação por retrocontrole impróprio, referida mais comumente na literatura como Síndrome dos Ovários Policísticos, é uma das condições clínicas mais comuns dentre as disfunções endócrinas que afetam mulheres em idade reprodutiva, tendo sua prevalência variando de 6 a 16%, dependendo da população estudada e do critério diagnóstico empregado¹. Na síndrome, os ovários, o hipotálamo e a hipófise são funcionantes; tem-se, entretanto, defeitos no sistema de feedback do eixo hipotálamo-hipófise-ovariano associados a fatores externos que contribuem para a disfunção na produção de esteroides pelo ovário².

O excesso de androgênio intraovariano parece ser o responsável pela anovulação e pela formação de múltiplos cistos ovarianos². O processo de esteroidogênese coordena a formação de androgênios pelas células da teca e de estrogênio pelas células da granulosa. Defeitos nesse processo (envolvendo os sistemas insulina/*insulin-like growth factor* [IGF], inibição/ativação, hormônio antimülleriano) causam uma resposta exagerada ao estímulo do hormônio luteinizante (LH) e uma disfunção na resposta de feedback negativo, que controlaria a secreção de androgênios quando os níveis de LH ultrapassassem o seu nível fisiológico². Além disso, sabe-se que aproximadamente metade das pacientes com SOP apresenta alguma disfunção adrenal, e que o hiperinsulinismo é um importante fator externo para a desregulação da esteroidogênese (na medida em que estimula excessivamente o IGF-I, resultando em aumento da produção de androgênios pelo bloqueio do feedback negativo ao LH)². Não se sabe ao certo em que local o processo patogênico é iniciado, havendo tanto hipóteses de origem central (disfunção hipotalâmica/hipofisária) quanto de origem periférica (disfunção ovariana ou da suprarrenal)².

Embora os casos de SOP não exibam um padrão claro de herança mendeliana, a frequência aumentada de casos de SOP em mulheres de uma mesma família foi relatada de forma consistente, sugerindo que fatores genéticos desempenham um papel importante no desenvolvimento da síndrome³. Atualmente, está bem estabelecido que a SOP apresenta traços genéticos complexos similares aos do diabetes mellitus (DM) tipo 2 (DM2) e aos da obesidade, e que tanto fatores genéticos quanto fatores ambientais contribuem para a patogênese

da SOP³. Condições que aumentem o risco da SOP são promissoras para investigação, particularmente a análise de fatores genéticos e ambientais, como disruptores endócrinos e estilo de vida⁴.

A SOP apresenta manifestações clínicas muito heterogêneas, mas algumas características estão frequentemente presentes²: hiperandrogenismo (que inclui hirsutismo, acne, alopecia androgenética), irregularidade menstrual (geralmente oligo ou amenorreia), ovários policísticos ao exame de imagem e obesidade. Além disso, pode ocorrer *Acantosis nigricans* em pacientes que apresentam hiperinsulinemia, e as áreas mais frequentemente afetadas são a região axilar e o pescoço². Ainda que, no geral, a idade de início da irregularidade menstrual não pareça ter impacto, mais tarde, no perfil hormonal/metabólico ou na morfologia ovariana à ultrassonografia em pacientes diagnosticadas com SOP⁵, as alterações que ocorrem precocemente nas mulheres com SOP resultam em problemas de saúde a médio e longo prazo, objetivo desta revisão.

A busca da literatura foi realizada no Pubmed. Para a estratégia de busca, utilizou-se os termos MeSH *Polycystic Ovary Syndrome* e *time*, bem como os termos livres *Polycystic Ovary Syndrome*, *Stein-Leventhal Syndrome*, *Stein Leventhal Syndrome*, *Polycystic Ovarian Syndrome*, *Sclerocystic Ovarian Degeneration*, *Sclerocystic Ovary Syndrome*, *Long-term Consequence* e *Long-term effect*, sendo que os dois últimos incluíram o sinal de truncagem “*”. Os termos livres mencionados utilizaram o *field tag* “[tw]”, e a busca para os termos *Sclerocystic Ovarian Degeneration* e *Sclerocystic Ovary Syndrome* se deu da seguinte forma: *Sclerocystic Ovar* [tw]*. Foram identificados 229 artigos relacionando SOP e suas consequências tardias que foram publicados em periódicos indexados no Pubmed entre 1º de janeiro de 2010 e 19 de junho de 2020. Desses, excluiu-se 3 por não estarem em língua inglesa (2 em chinês, 1 em russo), 177 pelo título e pelo *abstract*, e 27 com base na análise do texto. Os 22 artigos restantes estão contemplados nesta revisão narrativa.

SÍNDROME METABÓLICA

De acordo com o *Panel III National Cholesterol Education Program and Adult Treatment* (NCEP: ATPIII), a síndrome metabólica é definida como a

presença de 3 ou mais das seguintes condições clínicas: obesidade central, hipertrigliceridemia, baixos níveis de lipoproteína de alta densidade (HDL), hipertensão arterial sistêmica (HAS) e glicemia de jejum elevada ou DM2 previamente diagnosticado⁶. É uma síndrome que está associada a aumento no risco de doenças cardiovasculares e a aumento de morbimortalidade de diversas outras patologias. Há muitos anos, constata-se uma maior prevalência de síndrome metabólica em mulheres com SOP.

Como ilustrada na Figura 1, a possível relação entre SOP e síndrome metabólica pode estar centrada na resistência à insulina, pois vários dos achados (obesidade central, hipertrigliceridemia, HAS e DM2) são compartilhados por ambas as síndromes. Sendo ou não a resistência à insulina o cerne dessas duas patologias, há extensos dados na literatura e em artigos científicos bem delineados comprovando a maior prevalência de síndrome metabólica em mulheres com SOP⁷⁻¹².

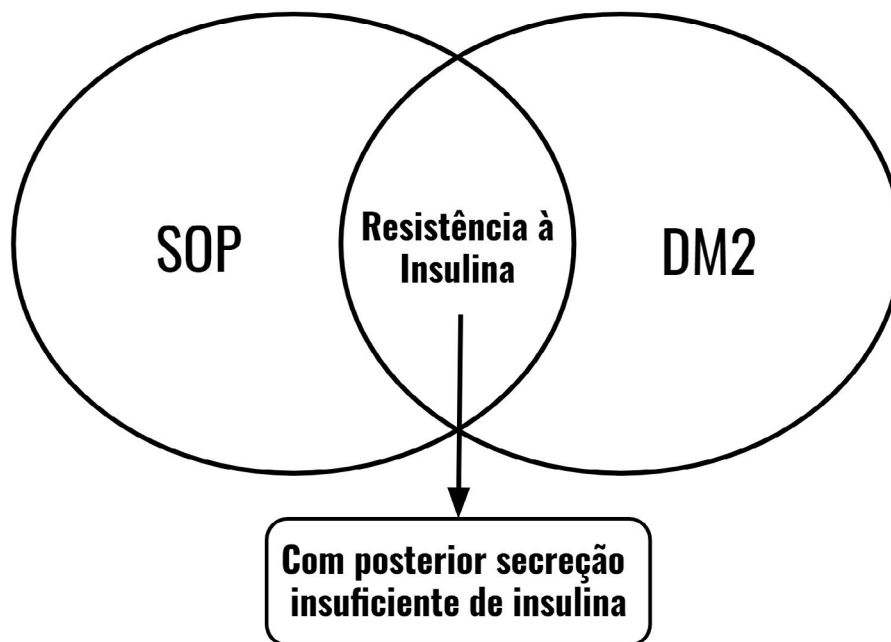


Figura 1: Provável relação entre Síndrome dos Ovários Policísticos (SOP) e Diabetes Mellitus Tipo 2 (DM2).

Metanálise recente, com 11 estudos de caso-controle, demonstrou maior prevalência de síndrome metabólica em mulheres entre 20 e 30 anos com SOP comparadas a mulheres sem SOP (*Odds Ratio* [OR]: 2,6; IC 95%, 1,3–5,5; $P < 0,05$), ajustando para índice de massa corporal (IMC)⁷. De acordo com estudo de Zore et al.⁸, a prevalência de síndrome metabólica em mulheres com SOP (definidas pelo critério do *National Institutes of Health* [NIH]) pode estar entre 33 e 43%, o que significa uma prevalência aproximadamente 2 vezes maior em relação à população em geral. Além disso, mulheres com o fenótipo hiperandrogênico de SOP apresentam maior prevalência de síndrome metabólica⁹. Por fim, um estudo de coorte prospectivo acompanhou, com a realização de exames de sangue e de medidas antropométricas, 84 pacientes com SOP e 87 pacientes sem SOP, demonstrando uma prevalência de síndrome metabólica de 23,8% em mulheres com SOP e de 8% na população em geral¹⁰.

DIABETES

Mulheres com SOP podem ter um risco 8,8 vezes maior de desenvolverem DM2 e um risco 2,1 vezes maior de desenvolverem DM gestacional (DMG)¹³, além de uma prevalência 6,5 vezes maior de DM não especificado¹⁴. Essas pacientes também apresentam uma prevalência de intolerância à glicose significativamente mais alta¹⁵, bem como valores médios consideravelmente maiores para as concentrações séricas basais de insulina¹⁴. Ademais, a prevalência de SOP em pacientes com DM tipo 1 (DM1) pode chegar a 24%¹⁶.

Um estudo prospectivo de base populacional, envolvendo 1702 pacientes (178 com SOP e 1524 no grupo controle [sem SOP]), revelou incidência de diabetes em 12,9 e em 4,9 por 1.000 pessoas-ano para SOP e controles, respectivamente. A incidência em mulheres com menos de 40 anos, com e sem SOP, foi de 13,4 (IC 95%, 8,6-20,8) e de

4,2 (IC 95%, 3,2–5,4), respectivamente ($P=0,0001$). O *Hazard Ratio* (HR) ajustado para mulheres de até 40 anos foi de 4,9 (IC 95%, 2,5–9,3). Não houve diferenças estatisticamente significativas entre os dois grupos estudados após a idade de 40 anos¹⁷.

Um aspecto interessante é a relação entre os fenótipos da SOP e a prevalência de resistência à insulina. Fenótipos A (hirsutismo, disfunção ovulatória e ovários policísticos) e B (hirsutismo e disfunção ovulatória) apresentaram taxas mais altas de resistência à insulina quando comparados à população em geral, independentemente do IMC, o que não ocorreu nos fenótipos C e D (hirsutismo e ovário policístico, e disfunção ovulatória e ovário policístico, respectivamente), sugerindo que o hiperandrogenismo contribui para a resistência à insulina⁸.

Além disso, a hiperinsulinemia inibe a produção hepática de globulina carreadora de hormônios sexuais (SHBG), elevando o nível sérico de testosterona livre. Níveis aumentados de androgênio facilitam a liberação de ácidos graxos do tecido adiposo visceral, o que exacerba a resistência à insulina e o fenótipo clássico da SOP, relacionado com hiperandrogenismo, oligo-ovulação e ovários policísticos¹⁸.

OBESIDADE

A relação entre obesidade e SOP é complexa e não totalmente compreendida. Apesar da importância da obesidade, ela não é tipicamente o desfecho primário em estudos longitudinais que avaliam outros desfechos de longo prazo da SOP, além de que vários estudos utilizam grupos com SOP e grupos controle com IMC pareado. Dessarte, pode ser difícil determinar a verdadeira prevalência de sobrepeso/obesidade em estudos de base não populacional¹⁹.

A despeito de não se compreender totalmente a relação entre as duas condições, estudos demonstram uma maior prevalência de obesidade em pacientes com SOP²⁰⁻²², que – segundo metanálise de Lim et al.²¹ – situa-se em 61%. Todavia, uma metanálise conduzida por Lizneva et al.²³ sugere que essa aparente maior prevalência pode se dever a um viés de taxa de admissão (viés de Berkson), um subtipo de viés de seleção, em que – na verdade – a aparente maior prevalência se deve ao fato de que mulheres obesas são mais frequentemente encaminhadas para avaliação de SOP do que mulheres magras, uma vez que – em populações não enviesadas – as mulheres diagnosticadas com SOP apresentam menor IMC e menor prevalência de obesidade em comparação a mulheres diagnosticadas em configurações convencionais de encaminhamento

(enviesadas). Essa linha de pensamento é corroborada por outro estudo de Lizneva et al.²⁴, visto que – a despeito de taxas variáveis de obesidade nas diversas populações – tem-se uma prevalência de SOP relativamente estável a nível mundial quando utilizados os critérios do NIH para definição da síndrome.

A patogênese da obesidade e da SOP compartilham vários pontos em comum, com um papel chave da resistência à insulina e da hiperinsulinemia. Um estudo de revisão sobre o desenvolvimento de SOP e de obesidade em meninas adolescentes encontrou que o excesso de tecido adiposo abdominal (AT) inicia alterações metabólicas e endócrinas centrais na progressão da SOP²⁵. Como exemplo, o AT impacta a ação da insulina, que colabora para a progressão do hiperandrogenismo. Níveis elevados de androgênio comprometem a absorção de glicose, contribuindo para a resistência à insulina, a qual aumenta o depósito de gordura visceral, formando um círculo vicioso. A distribuição de gordura corporal é influenciada pela testosterona, a qual diminui a lipólise de gordura subcutânea e influencia a distribuição de adipócitos. A Figura 2 ilustra esses mecanismos patogênicos, que podem explicar por que meninas com SOP apresentam aumento do tecido adiposo visceral independentemente do IMC. No entanto, permanece incerto se a obesidade precede a SOP ou vice-versa²⁵. Em uma coorte prospectiva²⁶, o grupo de mulheres com SOP e peso normal, comparado ao grupo controle (sem SOP e pareado pelo IMC), apresentou uma conversão exagerada de células tronco adiposas abdominais subcutâneas anormais em pré-adipócitos e conteúdo lipídico adipocitário aumentado durante a maturação *in vitro*, o que se correlacionou positivamente com os níveis de androgênios. Esses achados são insuficientes para conclusões clínicas, no entanto levantam hipóteses para estudos de mecanismos fisiopatológicos.

Mesmo que a complexa relação entre SOP e obesidade não esteja esclarecida, a ocorrência dessas condições simultaneamente determina um fenótipo de maior risco^{22,25,27}, com uma maior severidade das consequências negativas à saúde de ambas as condições. Reconhecidamente, a obesidade na infância e na adolescência aumenta o risco de SOP^{28,29}, sendo importante detectar meninas com sobrepeso e com obesidade na adolescência (ou até mesmo antes), porque o adequado aconselhamento, prevenção e tratamento precoce dos distúrbios metabólicos podem minimizar desfechos clínicos deletérios^{25,30}. Além disso, pacientes com SOP obesas se beneficiam de redução de peso; frequentemente, a redução de peso leva à regulação do ciclo menstrual (ciclos ovulatórios) e ao reestabelecimento da fertilidade³¹.

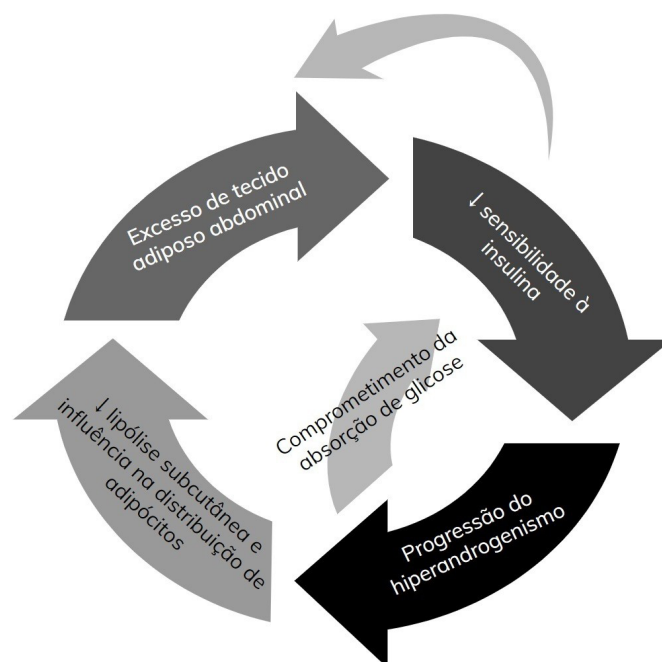


Figura 2: Ciclo vicioso relacionando a obesidade à Síndrome dos Ovários Policísticos (SOP), segundo Vilmann et al.²⁵.

DISTÚRBIOS CARDIOVASCULARES

Apesar de estudos controversos^{32,33}, pesquisas demonstram que a incidência de HAS, de dislipidemia e de doenças cardiovasculares é maior em mulheres com SOP do que em mulheres sem a síndrome (HR: 1,7, $P < 0,001$)³⁴. O risco relativo (RR) de síndrome coronariana e de acidente vascular encefálico (AVE) fatal e não fatal é de 2,02 (IC 95%, 1,47–2,76)³⁵.

Ainda, como ilustrado na Figura 3, verifica-se maior prevalência de hospitalizações nas mulheres com SOP por todos os distúrbios circulatórios, incluindo distúrbio hipertensivo (3,8 vs. 0,7%), cardiopatia isquêmica e outras formas de cardiopatia (0,8 vs. 0,2% e 1,7 vs. 1,0%, respectivamente), doenças cerebrovasculares (0,6 vs. 0,2%) e doença arterial ou venosa (11,4 vs. 6,2% no geral; 0,5 vs. 0,2% e 10,4 vs. 5,6% para doença arterial e venosa, respectivamente)²⁰.

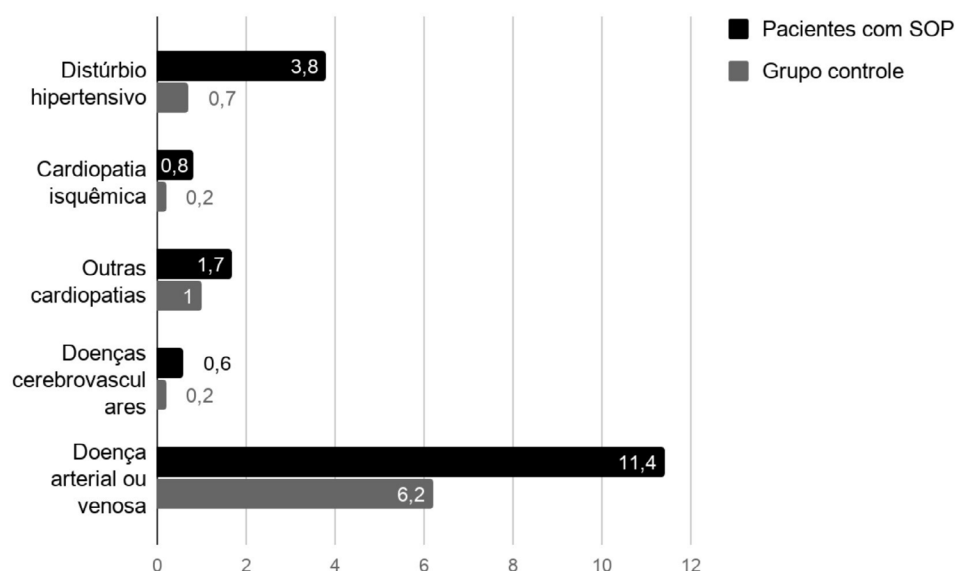


Figura 3: Prevalências de hospitalizações (%) por distúrbios cardiovasculares em pacientes com Síndrome dos Ovários Policísticos (SOP), segundo estudo de coorte retrospectivo de Hart et al.²⁰.

Além de uma maior prevalência de fatores de risco para distúrbios cardiovasculares dentre as mulheres com SOP, outros fatores – como o atraso de condução interatrial ($19 \pm 7,4$ vs. $15 \pm 6,4$ ms, $P = 0,035$) e intra-atrial ($8,5$ [1–19] vs. 5 ms [1–20], $P = 0,026$), volumes e frações de esvaziamento passivo do átrio esquerdo diminuídos ($12,54 \pm 4,39$ vs. $15,28 \pm 3,85$ mL/m², $P = 0,004$ e $54,4$ [21–69] vs. $59,1\%$ [28–74], $P = 0,008$, respectivamente)³⁶ e uma dilatação fluxo-mediada da artéria braquial (FMD) média combinada 3,4% menor (IC 95%, 1,9–4,9) do que as mulheres sem SOP³⁷ – parecem estar relacionados às maiores incidências de distúrbios cardiovasculares entre as mulheres com a síndrome. Não obstante essa maior incidência de desfechos definitivos e de desfechos intermediários, não existem evidências de maior mortalidade em pacientes com SOP por causas cardiovasculares^{38–40}, tampouco de maior mortalidade por todas as causas³⁹.

Ademais, foi demonstrado – em uma metanálise de 19 estudos ($n = 1123$) – que a espessura das camadas íntima e média das artérias carótidas de mulheres com SOP é significativamente mais alta do que no grupo controle ($P < 0,0001$)⁴¹, o que está em concordância com os dados do estudo transversal de Jabbour et al.⁴² sobre o mesmo tema ($0,49 \pm 0,04$ mm vs. $0,37 \pm 0,04$ mm, $P < 0,001$).

Apesar de os mecanismos subjacentes a essas disfunções ainda não terem sido completamente elucidados, diversos estudos conseguiram demonstrar correlações significativas entre as alterações vasculares e a resistência insulínica. Num ensaio clínico randomizado (ECR) com modelo animal, notou-se que a disfunção endotelial – semelhante àquela

observada nas pacientes com SOP – é provavelmente um resultado direto das reduções induzidas pelo hiperandrogenismo na sensibilidade à insulina⁴³. Em um ECR, mulheres com SOP foram tratadas com metformina ou pílula anticoncepcional oral para avaliar a interação entre resistência à insulina e função endotelial, e encontrou-se aumento na dilatação mediada por fluxo apenas com a metformina ($+2,2\% \pm 4,8\%$)⁴⁴.

DISTÚRBIOS PSÍQUICOS

Há uma ligação consistente entre SOP e problemas de saúde mental, incluindo maior prevalência de depressão e de ansiedade, além da existência de menor satisfação sexual e de menor qualidade de vida em pacientes com a síndrome⁸. Sugere-se que as manifestações físicas da SOP, como hirsutismo e acne, obesidade, assim como as preocupações com consequências a longo prazo, levem à redução da autoestima e da qualidade de vida. Além disso, originam sentimentos de estigmatização social, menor satisfação com a imagem corporal e preocupações com relação à saúde e à fertilidade⁸.

Segundo metanálise conduzida por Cooney et al.⁴⁵, a prevalência mediana de depressão em pacientes com SOP situa-se em 36,6% (IQR: 22,3%, 50,0%), contra 14,2% (IQR: 10,7%, 22,2%) no grupo controle (sem SOP); no caso da ansiedade, por sua vez, a prevalência mediana em pacientes com SOP situa-se em 41,9% (IQR: 13,6%, 52,0%), contra 8,5% (IQR: 3,3%, 12,0%) no grupo controle (sem SOP). A Figura 4 ilustra esses dados.

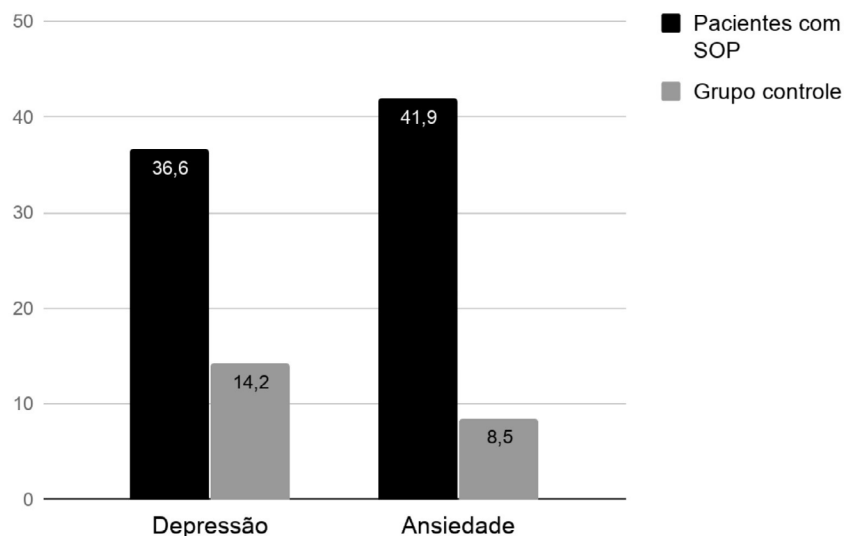


Figura 4: Prevalência mediana (%) de depressão e de ansiedade em pacientes com Síndrome dos Ovários Policísticos (SOP), segundo metanálise de Cooney et al.⁴⁵.

A terapia cognitivo-comportamental (TCC), quando associada a mudanças no estilo de vida, mostrou-se benéfica na melhora da qualidade de vida em pacientes com SOP e depressão⁴⁵. Essas intervenções foram associadas à resposta autonômica reduzida a um estressor laboratorial, sugerindo uma relação potencial entre a TCC, a perda de peso e a modulação da resposta ao estresse⁴⁶.

CÂNCER

Devido às alterações hormonais envolvidas na fisiopatologia da SOP, foram levantadas hipóteses de que algumas neoplasias poderiam ser mais prevalentes em mulheres acometidas pela síndrome. As neoplasias que estariam mais diretamente associadas ao desbalanço hormonal seriam as que acometem primariamente tecidos e órgãos-alvo dos hormônios esteroides. Entretanto, foi constatada uma maior prevalência de neoplasias também em outros locais, indicando que o espectro de consequências a longo prazo da SOP é muito mais amplo do que se pensava inicialmente¹⁹.

Em mulheres em idade reprodutiva com idade inferior a 54 anos, uma metanálise com 4 estudos observacionais demonstrou significância estatística entre câncer de endométrio (OR: 4,05; IC 95%, 2,42–6,76; $P < 0,00001$) e câncer de ovário (OR: 2,52; IC 95%, 1,08–5,89; $P < 0,03$) em mulheres com SOP comparadas com mulheres sem a síndrome⁴⁷. Além disso, um estudo de coorte retrospectivo com mulheres suecas em idade reprodutiva (< 51 anos) revelou maior incidência de câncer de endométrio (HR: 6,45; IC 95%, 3,65–11,40), de ovário (HR 2,55; IC 95%, 1,45–4,50) de pâncreas (HR: 6,68; IC 95%, 2,49–17,91) e de rim (HR 4,57; IC 95%, 1,71–12,22) em mulheres com SOP⁴⁸. Diversas outras neoplasias foram analisadas em muitos estudos, porém não houve incidência significativamente maior. A Tabela 1 ilustra algumas medidas de associação dos diferentes tipos de cânceres mencionados.

Tabela 1: Resumo de medidas de associação de cânceres endometrial, ovariano, pancreático e renal em mulheres com SOP, em relação ao grupo controle, segundo metanálise de Barry et al.⁴⁷ e estudo de coorte retrospectivo de Yin et al.⁴⁸.

Câncer	HR ₍₁₎	OR ₍₂₎
Endometrial	6,45 (3,65-11,40)	4,05 (2,42-6,76)
Ovariano	2,55 (1,45-4,50)	2,52 (1,08-5,89)
Pancreático	6,68 (2,49-17,91)	
Renal	4,57 (1,71-12,22)	

HR = hazard ratio; OR = odds ratio; (1) = idades inferiores a 51 anos; (2) = idades inferiores a 54 anos.

CONCLUSÃO

A SOP é uma doença que tem seu diagnóstico mais frequente na adolescência, e que possui

um espectro disfuncional em múltiplos sistemas orgânicos – reprodutivo, metabólico, hormonal, cardiovascular e psíquico. Há fortes evidências – fundamentadas em estudos longitudinais, transversais, ensaios clínicos randomizados e metanálises – de que as consequências a longo prazo da SOP incluem síndrome metabólica, diabetes, distúrbios cardiovasculares, distúrbios psíquicos e algumas neoplasias. Apesar das complicações cardiovasculares, não existem evidências de que estas levem a maior mortalidade em pacientes com SOP, tampouco de que a mortalidade por todas as causas seja maior nessas mulheres. A associação da síndrome com a obesidade permanece incerta, com alguns estudos mostrando uma maior prevalência de obesidade em pacientes com SOP, e outros apontando que isso se deve a viés de seleção. Não obstante, sabe-se que a ocorrência simultânea de SOP e de obesidade determina um fenótipo de maior risco, bem como que o adequado aconselhamento, prevenção e tratamento precoce dos distúrbios metabólicos podem minimizar desfechos clínicos deletérios. As pacientes obesas com SOP se beneficiam de redução de peso, com impacto clínico no ciclo menstrual e na capacidade reprodutiva. Dessa forma, a mudança comportamental e de hábitos de vida e alimentares tem forte impacto e grandes benefícios físicos e psicológicos. O fator genético parece ser fundamental tanto nas manifestações clínicas da SOP quanto na relação da síndrome com outras doenças – podendo exacerbar ou minimizar os sintomas. Embora algumas consequências da SOP a longo prazo, como distúrbios cardiovasculares e diabetes, tenham sido bastante estudadas, outras – como distúrbios psiquiátricos – requerem mais estudos e investimentos. Por fim, o ginecologista – que frequentemente tem o primeiro contato com pacientes com SOP – deve esclarecer sobre as consequências e sobre o impacto dessa síndrome na vida da paciente, orientando medidas para diminuir fatores de risco e para modificar precocemente hábitos e costumes.

Agradecimentos

Agradecemos ao Leonardo Ferreira Subda (Faculdade de Medicina – UFRGS) pelos comentários sobre o manuscrito; agradecemos à Raquel da Rocha Schmitt Domingos (Biblioteca FAMED/HCPA – UFRGS) pelo auxílio na busca dos artigos analisados.

Conflitos de Interesse

Os autores declaram que não possuem conflitos de interesse.

REFERÊNCIAS

- Rosa-e-Silva ACJS. Conceito, epidemiologia e fisiopatologia aplicada à prática clínica. In: *Síndrome dos ovários policísticos*. São Paulo: Federação Brasileira das Associações de Ginecologia e Obstetrícia; 2018. p. 1-15.
- Accetta SG, Abeche AM, Lubianca JN, Bombassaro R. Ginecologia infanto-puberal: puberdade e menarca, distúrbio menstrual e dismenorrea. In: Freitas F, Menke CH, Rivoire WA, Passos EP, organizadores. *Rotinas em ginecologia*. 6a ed. Porto Alegre: Artmed; 2011. p. 67-81.
- Unluturk U, Harmanci A, Kocafe C, Yildiz BO. The genetic basis of the polycystic ovary syndrome: a literature review including discussion of PPAR-gamma. *PPAR Res*. 2007;2007:1-23.
- Pasquali R, Stener-Victorin E, Yildiz BO, Duleba AJ, Hoeger K, Mason H, et al. PCOS Forum: research in polycystic ovary syndrome today and tomorrow. *Clin Endocrinol (Oxf)*. 2011;74(4):424-33.
- Livadas S, Christou M, Economou F, Karachalios A, Xyrafis X, Boutzios G, et al. Menstrual irregularities in PCOS. Does it matter when it starts? *Exp Clin Endocrinol Diabetes*. 2011;119(6):334-7.
- Eckel RH. Síndrome metabólica. In: Jameson JL, Fauci AS, Kasper DL, Hauser SL, Longo DL, Loscalzo J, editores. *Medicina interna de Harrison*. 20a ed. Porto Alegre: AMGH; 2020. p. 2903-8.
- Behboudi-Gandevani S, Amiri M, Bidhendi Yarandi R, Noroozzadeh M, Farahmand M, Dovom MR, et al. The risk of metabolic syndrome in polycystic ovary syndrome: A systematic review and meta-analysis. *Clin Endocrinol (Oxf)*. 2018;88(2):169-84.
- Zore T, Joshi NV, Lizneva D, Azziz R. Polycystic ovarian syndrome: long-term health consequences. *Semin Reprod Med*. 2017;35(3):271-81.
- Shroff R, Syrop CH, Davis W, Van Voorhis BJ, Dokras A. Risk of metabolic complications in the new PCOS phenotypes based on the Rotterdam criteria. *Fertil Steril*. 2007;88(5):1389-95.
- Hudecova M, Holte J, Olovsson M, Larsson A, Berne C, Sundstrom-Poromaa I. Prevalence of the metabolic syndrome in women with a previous diagnosis of polycystic ovary syndrome: long-term follow-up. *Fertil Steril*. 2011;96(5):1271-4.
- Wilson EE. Síndrome do ovário policístico e hiperandrogenismo. In: Hoffman BL, Schorge JO, Schaffer JI, Halvorson LM, Bradshaw KD, Cunningham FG, organizadores. *Ginecologia de Williams*. 2a ed. Porto Alegre: Artmed; 2014. p. 460-80.
- Ehrmann DA. Polycystic ovary syndrome. *N Engl J Med*. 2005;352(12):1223-36.
- Joham AE, Ranasinha S, Zoungas S, Moran L, Teede HJ. Gestational diabetes and type 2 diabetes in reproductive-aged women with polycystic ovary syndrome. *J Clin Endocrinol Metab*. 2014;99(3):E447-52.
- Dahlgren E, Johansson S, Lindstedt G, Knutsson F, Odén A, Janson PO, et al. Women with polycystic ovary syndrome wedge resected in 1956 to 1965: a long-term follow-up focusing on natural history and circulating hormones. *Fertil Steril*. 1992;57(3):505-13.
- Legro RS, Kunselman AR, Dodson WC, Dunaif A. Prevalence and predictors of risk for type 2 diabetes mellitus and impaired glucose tolerance in polycystic ovary syndrome: a prospective, controlled study in 254 affected women. *J Clin Endocrinol Metab*. 1999;84(1):165-9.
- Escobar-Morreale HF, Roldán-Martín MB. Type 1 diabetes and polycystic ovary syndrome: systematic review and meta-analysis. *Diabetes Care*. 2016;39(4):639-48.
- Jalilseh HK, Tehrani FR, Behboudi-Gandevani S, Hosseini-panah F, Khalili D, Cheraghi L, et al. Polycystic ovary syndrome is a risk factor for diabetes and prediabetes in middle-aged but not elderly women: a long-term population-based follow-up study. *Fertil Steril*. 2017;108(6):1078-84.
- Holte J. Disturbances in insulin secretion and sensitivity in women with the polycystic ovary syndrome. *Baillieres Clin Endocrinol Metab*. 1996;10(2):221-47.
- Cooney LG, Dokras A. Beyond fertility: polycystic ovary syndrome and long-term health. *Fertil Steril*. 2018;110(5):794-809.
- Hart R, Doherty DA. The potential implications of a PCOS diagnosis on a woman's long-term health using data linkage. *J Clin Endocrinol Metab*. 2015;100(3):911-9.
- Lim SS, Davies MJ, Norman RJ, Moran LJ. Overweight, obesity and central obesity in women with polycystic ovary syndrome: a systematic review and meta-analysis. *Hum Reprod Update*. 2012;18(6):618-37.
- Nandi A, Chen Z, Patel R, Poretsky L. Polycystic ovary syndrome. *Endocrinol Metab Clin North Am*. 2014;43(1):123-47.
- Lizneva D, Kirubakaran R, Mykhalchenko K, Suturina L, Chernukha G, Diamong MP, et al. Phenotypes and body mass in women with polycystic ovary syndrome identified in referral versus unselected populations: systematic review and meta-analysis. *Fertil Steril*. 2016;106(6):1510-20.
- Lizneva D, Suturina L, Walker W, Brakta S, Gavrilova-Jordan L, Azziz R. Criteria, prevalence, and phenotypes of polycystic ovary syndrome. *Fertil Steril*. 2016;106(1):6-15.
- Vilman LS, Thisted E, Baker JL, Holm JC. Development of obesity and polycystic ovary syndrome in adolescents. *Horm Res Paediatr*. 2012;78(5-6):269-78.
- Fisch SC, Nikou AF, Wright EA, Phan JD, Leung KL, Grogan TR, et al. Precocious subcutaneous abdominal stem cell development to adipocytes in normal-weight women with polycystic ovary syndrome. *Fertil Steril*. 2018;110(7):1367-76.
- Anagnostis P, Tarlatzis BC, Kauffman RP. Polycystic ovarian syndrome (PCOS): long-term metabolic consequences. *Metab Clin Exp*. 2018;86:33-43.
- Reilly JJ, Kelly J. Long-term impact of overweight and obesity in childhood and adolescence on morbidity and premature mortality in adulthood: systematic review. *Int J Obes (Lond)*. 2011;35(7):891-8.
- Solorzano CMB, McCartney CR. Obesity and the pubertal transition in girls and boys. *Reproduction*. 2010;140(3):399-410.

30. Bhathena RK. Insulin resistance and the long-term consequences of polycystic ovary syndrome. *J Obstet Gynaecol*. 2011;31(2):105-10.
31. Teede H, Misso M, Costello M, Dokras A, Laven J, Moran L, et al. International evidence-based guideline for the assessment and management of polycystic ovary syndrome 2018 [Internet]. Melbourne: Monash University; 2018 [citado em 29 nov 2020]. Disponível em: <https://www.monash.edu/medicine/sphpm/mchri/pcos/guideline>
32. Lenart-Lipińska M, Matyjaszek-Matuszek B, Woźniakowska E, Solski J, Tarach JS, Paszkowski T. Polycystic ovary syndrome: clinical implication in perimenopause. *Prz Menopauzalny*. 2014;13(6):348-51.
33. Doroszewska K, Milewicz T, Mrozińska S, Janeczko J, Rokicki R, Janeczko M, et al. Blood pressure in postmenopausal women with a history of polycystic ovary syndrome. *Prz Menopauzalny*. 2019;18(2):94-8.
34. Glintborg D, Rubin KH, Nybo M, Abrahamsen B, Andersen M. Cardiovascular disease in a nationwide population of Danish women with polycystic ovary syndrome. *Cardiovasc Diabetol*. 2018;17(1):1-12.
35. de Groot PCM, Dekkers OM, Romijn JA, Dieben SWM, Helmerhorst FM. PCOS, coronary heart disease, stroke and the influence of obesity: a systematic review and meta-analysis. *Hum Reprod Update*. 2011;17(4):495-500.
36. Gazi E, Gencer M, Hanci V, Temiz A, Altun B, Barutcu A, et al. Atrial conduction time, and left atrial mechanical and electromechanical functions in patients with polycystic ovary syndrome: interatrial conduction delay. *Cardiovasc J Afr*. 2015;26(6):217-21.
37. Sprung VS, Atkinson G, Cuthbertson DJ, Pugh CJA, Aziz N, Green DJ, et al. Endothelial function measured using flow-mediated dilation in polycystic ovary syndrome: a meta-analysis of the observational studies. *Clin Endocrinol (Oxf)*. 2013;78(3):438-46.
38. Pierpoint T, McKeigue PM, Isaacs AJ, Wild SH, Jacobs HS. Mortality of women with polycystic ovary syndrome at long-term follow-up. *J Clin Epidemiol*. 1998;51(7):581-6.
39. Wild S, Pierpoint T, Jacobs H, McKeigue P. Long-term consequences of polycystic ovary syndrome: results of a 31 year follow-up study. *Hum Fertil (Camb)*. 2000;3(2):101-5.
40. Legro RS. Polycystic ovary syndrome and cardiovascular disease: a premature association? *Endocr Rev*. 2003;24(3):302-12.
41. Meyer ML, Malek AM, Wild RA, Korytkowski MT, Talbott EO. Carotid artery intima-media thickness in polycystic ovary syndrome: a systematic review and meta-analysis. *Hum Reprod Update*. 2012;18(2):112-26.
42. Jabbour R, Ott J, Eppel W, Frigo P. Carotid intima-media thickness in polycystic ovary syndrome and its association with hormone and lipid profiles. *PLoS ONE*. 2020;15(4):1-19.
43. Hurliman A, Brown JK, Maille N, Mandala M, Casson P, Osol G. Hyperandrogenism and insulin resistance, not changes in body weight, mediate the development of endothelial dysfunction in a female rat model of polycystic ovary syndrome (PCOS). *Endocrinology*. 2015;156(11):4071-80.
44. Teede HJ, Meyer C, Hutchison SK, Zoungas S, McGrath BP, Moran LJ. Endothelial function and insulin resistance in polycystic ovary syndrome: the effects of medical therapy. *Fertil Steril*. 2010;93(1):184-91.
45. Cooney LG, Lee I, Sammel MD, Dokras A. High prevalence of moderate and severe depressive and anxiety symptoms in polycystic ovary syndrome: a systematic review and meta-analysis. *Hum Reprod*. 2017;32:1075-91.
46. Cooney LG, Milman LW, Hantsoo L, Kornfield S, Sammel MD, Allison KC, et al. Cognitive-behavioral therapy improves weight loss and quality of life in women with polycystic ovary syndrome: a pilot randomized clinical trial. *Fertil Steril*. 2018;110(1):161-71.
47. Barry JA, Azizia MM, Hardiman PJ. Risk of endometrial, ovarian and breast cancer in women with polycystic ovary syndrome: a systematic review and meta-analysis. *Hum Reprod Update*. 2014;20(5):748-58.
48. Yin W, Falconer H, Yin L, Xu L, Ye W. Association between polycystic ovary syndrome and cancer risk. *JAMA Oncol*. 2019;5(1):106-7.

Recebido: 20 set, 2020

Aceito: 3 dez, 2020

MANAGEMENT OF THE PSEUDOBULBAR AFFECT (PBA) IN KABUKI SYNDROME COMBINED DEXTROMETHORPHAN-FLUOXETINE TREATMENT AS AN ALTERNATIVE TO DEXTROMETHORPHAN/QUINIDINE

Victor Hugo Cordova¹, André Goldani², Paulo Abreu^{3,4}

ABSTRACT

A case report of a patient with pseudo bulbar affect previous treatments included haloperidol (10mg), *Inosina pranobex* (600mg), clozapine (600mg), olanzapine (20mg), carbamazepine (200mg), paroxetine (20mg), phenobarbital (100mg) and topiramate (50mg), all suspended at August 2016, with current use of quetiapine (700mg) Chlorpromazine (600mg) (+ 200mg on demand of aggression), clonazepam (4 mg), valproate 2500 mg, propranolol (40mg). that was successful treated with off label treatment (dextromethorphan plus quinidine). Previous Brief Psychiatric Rating Scale and Clinical Global Impression-Improvement was applied after and before treatment with dextromethorphan (20mg) plus fluoxetine (20 mg, further increased to 40 mg). Previous Brief Psychiatric Rating Scale BPRS score 56 points and Clinical Global Impression-Severity (CGI-S) Score was 6 (severely ill). The addition of dextromethorphan (20mg) and fluoxetine (20 mg, further increased to 40 mg), allowed clear improvement of pathological crying and outbursts, with BPRS decrease of 8 points and Clinical Global Impression-Improvement (CGI-I) 2 (much improved) – especially pertaining to PBA related symptoms and aggressive behavior. There were no noticeable side-effects. This case report shown an interesting clinical response. It's could be a great alternative in treatment of pseudobulbar affect symptoms. Even though an only case and a great clinical study be necessary.

Keywords: *Neurology; genetic syndrome; off label medicine; behavior*

Clin Biomed Res. 2020;40(3):193-195

1 Faculdade de Farmácia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS). Porto Alegre, RS, Brasil.

2 Hospital de Clínicas de Porto Alegre (HCPA). Porto Alegre, RS, Brasil.

3 Programa de pós-graduação em Psiquiatria e Ciências do Comportamento, Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS). Porto Alegre, RS, Brasil

4 Faculdade de Medicina, Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS). Porto Alegre, RS, Brasil.

Corresponding author:

Victor Hugo Cordova
victorhugocordova@hotmail.com
Ramiro Barcelos, 2350
90035-903, Porto Alegre, RS, Brasil.

INTRODUCTION

Kabuki syndrome (KS) is a rare condition characterized by intellectual disability, congenital anomalies and behavioral abnormalities, including repetitive behavior. Patients with KS tend to have a peculiar facial gestalt, short stature, and skeletal, visceral, cardiac and immunological abnormalities¹. These individuals also exhibit characteristic vocalizations and/or crying associated with the presence of pseudobulbar affect (PBA)². KS is caused by *de novo* dominant pathogenic variants in the KMT2D and KDM6A genes³, each associated with a different subtype of KS. KS1 (MIM#147920) is associated with a KMT2D gene mutation (MIM# 602113), which is present in 43-76% of all patients, while KS2 (MIM#300867) is associated with a mutation in the KDM6A gene (MIM#300128), and accounts for 1-6% of all cases^{4,5}. PBA is a neuropsychiatric syndrome observed in different neurological disorders, such as multiple sclerosis (MS) and Alzheimer disease (AD)². It is characterized by uncontrollable episodes of laughing or crying incongruent with the underlying emotional state¹. Recent neuroimaging studies of PBA support the role of cortico-pontine-cerebellar network dysfunction in context-inappropriate emotional responses⁶. Parvizi and Schiffer described the case of a 70-year-old man with exaggerated crying and tremor with a cerebellar cyst⁷. Different interventions have been attempted to improve symptom control in these patients². Recently, the combination of quinidine and dextromethorphan (Nuedexta) received FDA approval for the treatment of PBA⁸. An ultralow dose of quinidine increases serum levels of dextromethorphan, reducing mood symptoms but increasing the risk of serotonergic syndrome and dextromethorphan-related adverse events

(eg, agitation, confusion, tremor, insomnia, diarrhea and respiratory depression)⁹. Dextromethorphan is a low-affinity, noncompetitive N-methyl-D-aspartate glutamate receptor antagonist and a sigma-receptor agonist with a short half-life, while quinidine is a potent cytochrome P450 2D6 inhibitor that also promotes the metabolism of dextromethorphan¹⁰. The usual dosage is dextromethorphan/quinidine 30/10 mg twice daily⁹. Since quinidine therapy is no longer recommended by medical guidelines or government approved protocols in some countries, including Brazil¹¹, some authors have proposed alternative drug combinations to inhibit cytochrome P450 2D6 and increase plasma levels of dextromethorphan. Selective serotonin and serotonin-noradrenalin reuptake inhibitors (SSRIs/SNRIs) are known to inhibit cytochrome P450 2D6, as described in the case of a 53-year-old woman with MS treated with fluoxetine¹².

CASE REPORT

Herein we report the case of a 24-year-old male diagnosed with KS at age 10, by the Genetics Service of the Hospital de Clínicas de Porto Alegre, Brazil. The patient was followed for over 20 years, and displayed frequent tantrums and crying episodes, fulfilling the diagnostic criteria for multidrug- and ECT-resistant PBA¹³. Mental status examination showed below-average intelligence, self-centered behavior, anxiety, articulation difficulties, no perceptual impairment, mood-congruent affect, friendliness, slow logical reasoning, and impairments in insight and critical judgment. Electroencephalography (EEG) data registered with the patient awake and under drug-induced sleep revealed diffuse slow and irregular background activity that was slightly asymmetrical, with intermittent theta activity in the right parasagittal region, and no epileptic paroxysm, suggesting nonspecific diffuse cerebral dysfunction with unclear etiology. The diagnosis of KS1 was based on phenotypic characteristics (high arched eyebrows, upslanted palpebral fissures and low set of ears)³ and confirmed by the Genetics Service of the *Hospital de Clínicas de Porto Alegre*. PBA was identified using the Center for Neurologic Study-Lability Scale (CNS-LS)⁸. Global psychopathology was examined using the Brief Psychiatric Rating Scale (BPRS) and Clinical Global Impression (CGI), completed before and after add-on treatment. Previous treatments included haloperidol (10 mg), *Inosina pranobex* (600 mg), clozapine (600 mg), olanzapine (20 mg), carbamazepine (200 mg),

paroxetine (20 mg), phenobarbital (100 mg) and topiramate (50 mg), all suspended as of August 2016. At the time of the study, the patient was treated with quetiapine (700 mg), chlorpromazine (600 mg + 200 mg if aggressive behavior was observed), clonazepam (4 mg), valproate (2500 mg), and propranolol (40 mg). The addition of dextromethorphan (20 mg) and fluoxetine (20 mg initially, increased to 40 mg after a month) treatments was associated with a marginal decrease (5%) in BPRS scores (from 56 to 48) and a marked and sustained reduction in CGI severity scores - from 6 (severely ill) to 2 (borderline mentally ill), without noticeable side effects. The observed effects were very similar to those reported by Butler and Williams¹². To our knowledge, this is the first report of combined treatment with dextromethorphan/fluoxetine (DMTPH/FLUOX)³ for KS with PBA.

DISCUSSION

DMTPH/FLUOX (20/40) led to clear clinical improvement in pathological crying and outbursts, with an 8-point decrease in BPRS scores (from 56 to 48). The patient received maximum scores on all observable items (3, 4, 6, 7, 13, 14, 16, 17 and 18). The patient's level of intellectual disability prevented the assessment of all but one subjective item in the scale (item 10, hostility). After treatment, a major improvement in CGI severity scores from 6 to 2 was also observed, largely due to a decrease in PBA-related symptoms and aggressive behavior. There were no noticeable side effects. The difference between the changes observed in the two scales after treatment may be explained by the fact that the CGI is a more general measure than the BPRS. The latter may not have been sensitive to small improvements in the patient's condition due to potential ceiling effects caused by the severity of their symptoms.

A significant improvement in PBA was observed during the 1-month period of add-on treatment with DMTPH/FLUOX. Improvements persisted for two additional weeks, with subsequent reduction in family burden. This treatment is nearly 60 times less expensive than the alternative and has a good safety and tolerability profile. Additional studies with larger samples and analysis of serum fluoxetine levels are needed to confirm the efficacy and safety of this treatment in other cases of PBA.

Conflicts of Interest

The authors declare no conflicts of interest.

REFERENCES

1. Cheon CK, Ko JM. Kabuki syndrome: clinical and molecular characteristics. *Korean J Pediatr*. 2015;58(9):317-24.
2. Takhore NJ, Piori EK. Laughter, crying and sadness in ALS. *J Neurol Neurosurg Psychiatry*. 2017;88:825-31.
3. Paderova J, Drabova J, Holubova A, Vickova M, Havlovicova M, Gregorova A, et al. Under the mask of Kabuki syndrome: elucidation of genetic and phenotypic heterogeneity in patients with Kabuki-like phenotype. *Eur J Med Genet*. 2018;61(6):315-21.
4. Bögershausen N., Wollnik B. Unmasking kabuki syndrome. *Clin Genet*. 2013;83(3):201-11.
5. Makrythanasis P, Bon B, Steehouwer M, Rodríguez-Santiago B, Simpson M, Dias P, et al. MLL2 mutation detection in 86 patients with Kabuki syndrome: a genotype-phenotype study. *Clin Genet*. 2013;84(6):539-45.
6. Finegan E, Chipika RH, Li Hi Shing S, Hardiman O, Bede P. Pathological crying and laughing in motor neuron disease: pathobiology, screening, intervention. *Front Neurol*. 2019;10:260.
7. Parvizi J, Schiffer R. Exaggerated crying and tremor with a cerebellar cyst. *J Neuropsychiatry Clin Neurosci*. 2007;19(2):187-90.
8. Hammond FM, Alexander DN, Cutler AJ, Stephen D, Doody RS, Sauve W, et al. PRISM II: an open-label study to assess effectiveness of dextromethorphan/quinidine for pseudobulbar affect in patients with dementia, stroke or traumatic brain injury. *BMC Neurol*. 2016;16:89.
9. Schoedel KA, Morrow SA, Sellers EM. Evaluating the safety and efficacy of dextromethorphan/quinidine in the treatment of pseudobulbar affect. *Neuropsychiatr Dis Treat*. 2014;10:1161-74.
10. DRUGS. Dextromethorphan interactions checker [Internet]. Auckland: Drugsite Trust; c1996-2021 [updated 2019 Mar 4; cited 2018 June 8]. Available from: <https://www.drugs.com/drug-interactions/dextromethorphan.html>
11. ANVISA. Lista A de medicamentos de referência [Internet]. Brasília, DF: Anvisa; 2020 [cited 2019 Jan 11]. Available from: www.gov.br/anvisa/pt-br/setorregulado/regularizacao/medicamentos/medicamentos-de-referencia/lista-de-medicamentos-de-referencia
12. Butler MI; Williams D; Cotter DR. Cough suppressant and fluoxetine in treatment of pseudobulbar affect: a case report. *J Clin Psychopharmacol*. 2016;36(5):525-6.
13. Smith RA, Berg JE, Pope LE, Callahan JD, Wynn D, Thisted RA. Validation of the CNS emotional lability scale for pseudobulbar affect (pathological laughing and crying) in multiple sclerosis patients. *Mult Scler*. 2004;10(6):679-85.

Received: Mar 20, 2020

Accepted: Apr 22, 2020