



**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
“JÚLIO DE MESQUITA FILHO”
FACULDADE DE MEDICINA**

Kellen Cristiane do Vale Lucio

**Predição de Retinopatia da Prematuridade:
ROP Score Modificado por Parâmetros do
Hemograma**

Tese apresentada à Faculdade de Medicina, Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Câmpus de Botucatu, para obtenção do título de Doutora em Cirurgia e Medicina Translacional.

Orientadora: Prof^a. Assoc. Eliane Chaves Jorge

**Botucatu
2023**

Kellen Cristiane do Vale Lucio

Predição de Retinopatia da Prematuridade: ROPScore
modificado por Parâmetros do Hemograma

Tese apresentada à Faculdade de
Medicina, Universidade Estadual Paulista
“Júlio de Mesquita Filho”, Câmpus de
Botucatu, para obtenção do título de
Doutora em Cirurgia e Medicina
Translacional.

Orientadora: Prof.^a Assoc. Eliane Chaves Jorge

Botucatu
2023

L938

Lucio, Kellen Cristiane do Vale

Predição de Retinopatia da Prematuridade: ROPScore
Modificado por Parâmetros do Hemograma / Kellen Cristiane
do Vale Lucio. -- Botucatu, 2023
92 p.

Tese (doutorado) - Universidade Estadual Paulista (Unesp),
Faculdade de Medicina, Botucatu

Orientadora: Eliane Chaves Jorge

1. Retinopatia da Prematuridade. 2. Escore de Predição. I.

Sistema de geração automática de fichas catalográficas da Unesp. Biblioteca da Faculdade de
Medicina, Botucatu. Dados fornecidos pelo autor(a).

Essa ficha não pode ser modificada.

Dedicatórias

Aos meus pais, Valdevino e Evaldice, por serem minha base e exemplos de vida.

Ao meu marido Alexandre pelo apoio constante e paciência.

Ao meu irmão, Kleber por sempre me incentivar.

Aos sobrinhos Ricardo, Mariana, Sofia L., Felipe e Sofia H., que são minha inspiração e espero poder inspirá-los também.

Aos meus avós Leontino (in memorian), Nenê (in memorian) e Vovó Cida (in memorian) e aos meus tios Juracy (in memorian), Nice, Nazir, Eucides (in memorian), Ozair, Jair, Eunides e Ane por sempre torcerem por mim.

À minha querida orientadora, chefe e amiga Eliane, sem ela, esta tese não existiria.

Agradecimientos

À Professora Eliane Chaves Jorge, minha orientadora, por todo carinho, apoio, incentivo e por ter percorrido mais esta jornada comigo.

À Professora Maria Regina Bentlin, pelas dicas valiosas e orientações na visão de especialista em prematuridade, que contribuíram imensamente .

Ao Professor José Eduardo Corrente, pela paciência e disponibilidade para elucidação de dúvidas e elaboração dos cálculos estatísticos.

Ao Doutor Fernando Rodrigo Pedreira Chaves e Doutora Luiza Toscano de Almeida pela pronta aceitação do convite para serem banca desta tese.

Aos residentes de oftalmologia da Faculdade de Medicina de Botucatu – FMB/UNESP que puderam auxiliar com prontuários e coleta de dados.

Ao João Rafael Moraes de Oliveira, secretário do Departamento de Oftalmologia da FMB/UNESP, pela revisão da formatação da tese, torcida e incentivo.

Assim como à Márcia Piagentini, funcionária da pós-graduação por todo carinho e ajuda.

Epígrafe

O sucesso nasce do querer, da determinação e persistência em se chegar a um objetivo. Mesmo não atingindo o alvo, quem busca e vence os obstáculos, no mínimo fará coisas admiráveis.

José de Alencar

Resumo

Lúcio KCV. Predição de retinopatia da prematuridade: ROPScore modificado por parâmetros do hemograma [tese]. Botucatu, SP. Faculdade de Medicina, Universidade Estadual Paulista; 2023.

Introdução: A Retinopatia da prematuridade (ROP) é uma doença multifatorial vasoproliferativa e causa importante de cegueira na infância. Escores de predição têm sido utilizados para otimizar a triagem da ROP. O ROPScore, validado no Brasil, é prático e simples, porém, evidências recentes mostram que ele perde sensibilidade em diferentes populações de neonatos pré-termo (NPT). Alguns potenciais biomarcadores inflamatórios, estudados como fatores de risco independentes na ROP, como as razões: neutrófilo-linfócito (RNL), linfócito-monócito (RLM), plaqueta-linfócito (RPL), e o índice de inflamação imune sistêmica (SII), ainda não têm papel consolidado na literatura e não fazem parte da fórmula original do ROPScore.

Objetivos: Avaliar o papel de biomarcadores inflamatórios do hemograma como potenciais preditores hematológicos de ROP, e verificar se estes modificam a acurácia do algoritmo ROPScore. **Métodos:** Estudo coorte desenvolvido no Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina de Botucatu (HC-FMB), entre outubro de 2012 a março de 2023, que incluiu neonatos pré-termo com peso ao nascimento (PN) ≤ 1500 g e / ou idade gestacional (IG) ≤ 32 semanas, submetidos à triagem de ROP. O primeiro exame oftalmológico ocorreu entre a 4ª e a 6ª semanas de vida e os NPT foram divididos em 3 grupos: Sem ROP, Com ROP leve e, Com ROP grave. As razões séricas RNL, RLM, RPL, e o índice SII, nas primeiras 72 horas e após 30 dias de vida, foram calculados retrospectivamente. A acurácia do ROPScore aferido na 2ª e na 6ª semana de vida foi avaliada, considerando a fórmula original, e após a inserção dos marcadores inflamatórios e SII. **Resultados:** Foram incluídos 200 NPT (49% masculinos e 51% femininos). A ROP foi diagnosticada em 48 NPT (24%), sendo que 18 desenvolveram a ROP leve e 30 (15% dos 200) evoluíram para ROP grave e foram tratados. Na comparação entre o grupo Sem ROP e os grupos com ROP (leve e grave), foram estatisticamente significativos os valores médios do SII de 72 horas ($>$ na ROP, $p < 0,0001$) e da RLM de 30 dias ($<$ na ROP, $p = 0,0009$). Na comparação ROP leve *versus* ROP grave, tiveram significância estatística a RLM ($>$ na ROP grave, $p = 0,0003$) e a RPL ($<$ na ROP grave, $p = 0,005$) de 72 horas, e o SII de 72 horas e 30 dias ($<$ na ROP grave, $p < 0,0001$). Porém, os valores de *Odds ratio*

não mostraram significância estatística de nenhum marcador inflamatório no desenvolvimento da ROP. O ajuste de modelos de regressão linear múltipla para o ROPScore de 2 e 6 semanas, com as variáveis explanatórias usuais acrescidas dos biomarcadores RLM e RPL e SII não mostraram melhora na curva ROC para detectar a ocorrência de ROP. **Conclusão:** Os biomarcadores inflamatórios do hemograma e o SII não se comportaram como fatores de risco independentes para o desenvolvimento de ROP, e quando inseridos na fórmula do ROPScore não melhoraram a acurácia do algoritmo.

Palavras Chaves: retinopatia da prematuridade, hemograma, biomarcadores, fatores de risco, neutrófilo, plaqueta, linfócito, ROPScore.

Abstract

Lucio KCV. Prediction of retinopathy of prematurity: ROPScore modified by blood count parameters [thesis]. Botucatu, SP: Botucatu Medical School, São Paulo State University; 2023.

Background: Retinopathy of prematurity (ROP) is a multifactorial vasoproliferative disease and a significant cause of permanent visual impairment in childhood. Prediction scores have been used to optimize ROP screening. The ROPScore, a scoring system validated in Brazil, is practical and straightforward. However, recent evidence shows that it loses sensitivity in different populations of preterm neonates (PTN). Some potential inflammatory biomarkers studied as independent risk factors in ROP, such as thrombocytopenia, and the reasons: neutrophil-lymphocyte (NLR), lymphocyte-monocyte (LMR), platelet-lymphocyte (PLR), and systemic immune inflammation index (SII), still do not have a consolidated role in the literature and are not part of the ROPScore. **Objectives:** This study aimed to evaluate the role of inflammatory biomarkers in the blood count as potential hematological predictors of ROP and to verify whether these factors modify the accuracy of the ROPScore algorithm as a predictor of ROP. **Methods:** A cohort study was developed at the University Hospital of Botucatu Medical School (HC-FMB) between October 2012 and March 2023 with preterm neonates with BW ≤ 1500 g and (or) GA ≤ 32 weeks), who had been submitted to ROP screening. The first ophthalmological examination was done between the 4th and 6th weeks of life, and the neonates were divided into three groups: without ROP, with mild ROP, or with severe ROP. The serum ratios LNR, LMR, PLR, and SII index in the first 72 hours of life and 30 days of life had been calculated retrospectively. The accuracy of ROPScore measured at the 2nd and 6th week of life was evaluated, considering the original formula, and after the insertion of inflammatory markers and SII. **Results:** Two hundred neonates were included (49% males and 51% females). Forty-eight (24%) developed ROP, with 18 having mild ROP and 30 (15% of 200) having severe ROP and had been treated. In the comparison between the group without ROP and the groups with ROP (mild and severe), the mean values of the 72-hours SII ($>$ in ROP, $p < 0.0001$) and 30-days RLM ($<$ in ROP, $p = 0.0009$) were statistically significant when comparing without ROP versus any ROP. In the comparison between mild *and* severe ROP, LMR ($>$ in severe ROP, $p = 0.0003$), and PLR ($<$ in severe ROP, $p = 0.005$) of the 72 hours, and the SII of the 72 hours and 30 days ($<$ in severe ROP, $p < 0.0001$) were statistically significant. However, the *odds ratio* values did not show the statistical significance of any inflammatory

marker in developing ROP. The adjustment of multiple linear regression models for ROPScore of 2 and 6 weeks with the usual explanatory variables plus biomarkers LMR, PLR, and SII did not show improvement in the ROC curve to detect the occurrence of ROP. **Conclusion:** Inflammatory biomarkers and SII did not behave as independent risk factors for the development of ROP, and when inserted in the ROPScore formula, they did not improve the algorithm's accuracy. **Keywords:** retinopathy of prematurity, blood count, biomarkers, risk factors, neutrophil, platelet, lymphocyte, ROPScore.

Lista de Figuras

Figuras		Páginas
Figura 1	Classificação proposta pelo ICROP quanto à localização e extensão da ROP	29
Figura 2	Classificação ICROP quanto a localização: zona I associado à <i>notch</i>	30
Figura 3	Estágios 1 a 4 da ROP em zona II	31
Figura 4	Estágios 5A e 5B da ROP	31
Figura 5	Imagem retiniana com ROP agressiva (A-ROP)	32
Figura 6	Espectro contínuo de gravidade vascular na ROP, de normal a doença plus	32
Figura 7	CrITÉrios de Triagem de ROP modificado por dados do G-ROP	35
Figura 8	Proposta de novo modelo etiopatogênico para a ROP	39
Figura 9	Planilha ROPScore	47
Figura 10	Fluxograma do Estudo	51
Figura 11	Curvas ROC do ROPScore na 6ª semana original e modificado pelo SII de 30 dias, para o desenvolvimento de ROP	61
Figura 12	Curvas ROC do ROPScore na 2ª semana original e modificado pelo SII, RLM e RPL de 30 dias, para o desenvolvimento de ROP	62
Figura 13	Curvas ROC do ROPScore na 6ª semana original e modificado pelo SII, RLM e RPL de 30 dias, para o desenvolvimento de ROP grave.	63
Figura 14	Curvas ROC do ROPScore na 2ª semana original e modificado pelo SII, RLM e RPL de 30 dias, para o desenvolvimento de ROP grave.	64

Lista de Tabelas

Tabelas		Páginas
Tabela 1	Dados demográficos e clínicos dos 200 neonatos com e sem ROP	52
Tabela 2	Tratamentos realizados nos 30 neonatos pré-termo do grupo ROP grave	53
Tabela 3	Média dos valores sanguíneos absolutos, razões e SII, com até 72 horas e 30 dias de vida, dos neonatos pré-termo com e sem ROP	54
Tabela 4	Média dos valores sanguíneos absolutos, razões e de SII de 72 horas e 30 dias de vida, nos Grupos ROP leve (não tratada) e ROP grave (tratada).	55
Tabela 5	Comportamento dos parâmetros do hemograma e SII durante as fases da ROP e os períodos analisados (72 horas e 30 dias).	56
Tabela 6	Valores de <i>Odds ratio</i> (OR) e intervalos de confiança (IC) para os fatores de risco hematológicos de 72 horas e 30 dias de vida para o desenvolvimento de ROP	56
Tabela 7	Valores do ROPScore de duas e seis semanas, nos grupos Sem ROP, ROP leve e ROP grave	57
Tabela 8	Avaliação dos parâmetros utilizados para cálculo de ROPScore de 6 semanas, incluindo o SII de 30 dias	57
Tabela 9	Avaliação dos parâmetros utilizados para cálculo de ROPScore de 2 semanas, incluindo o SII de 72 horas	58
Tabela 10	Avaliação dos parâmetros utilizados para cálculo de ROPScore de 2 semanas, incluindo o RLM de 72 horas	58
Tabela 11	Avaliação dos parâmetros utilizados para cálculo de ROPScore de 2 semanas, incluindo o RPL de 72 horas	59
Tabela 12	Acurácia final do ROPScore de 6 semanas o para desenvolvimento de ROP. Valores de sensibilidade, especificidade, valor preditivo positivo e negativo e seus respectivos intervalos de confiança a 95%	60
Tabela 13	Acurácia final do ROPScore de 6 semanas o para desenvolvimento de ROP. Valores de sensibilidade, especificidade, valor preditivo positivo e negativo e seus respectivos intervalos de confiança a 95%.	60

Tabelas		Páginas
Tabela 14	Áreas sob a curva do ROPScore na 6ª semana e ROPScore modificado com SII, para o desenvolvimento de ROP e seus respectivos intervalos de confiança.	61
Tabela 15	Áreas sob a curva do ROPScore na 2ª semana e ROPScore modificado com SII, LMR e PLR de 72 horas, para o desenvolvimento de ROP e seus respectivos intervalos de confiança.	62
Tabela 16	Áreas sob a curva do ROPScore na 6ª semana e ROPScore modificado com SII, para o desenvolvimento de ROP grave e seus respectivos intervalos de confiança.	63
Tabela 17	Áreas sob a curva do ROPScore na 2ª semana e ROPScore modificado com SII, LMR e PLR de 72 horas, para o desenvolvimento de ROP grave e seus respectivos intervalos de confiança.	64

Lista de Abreviaturas e Siglas

A-ROP	<i>Aggressive – ROP</i>
BD	Becton & Dickinson
BW	<i>Birth weight</i>
CRYO	<i>Multicenter Trial of Cryotherapy for Cooperative Group</i>
D	<i>Day</i>
DP	Desvio-Padrão
ETROP	<i>Early Treatment for Retinopathy of Prematurity Cooperative Group</i>
GA	<i>Gestational age</i>
G-ROP	<i>Postnatal Growth and Retinopathy of Prematurity</i>
HC-MFB	Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina de Botucatu
IC	Intervalo de Confiança
ICROP	<i>Committee for the Classification of Retinopathy of Prematurity</i>
IG	Idade gestacional
IGF-I	<i>Insulin Like Growth Factor-I</i>
IGFBP-3	<i>Insulin-Like Growth Factor Binding Protein-3</i>
NEDROP	<i>Netherlands Retinopathy of Prematurity Study Model</i>
OMS	Organização Mundial da Saúde
OR	<i>Odds Ratio</i>
P	Nível de significância
PN	Peso ao Nascimento
PDGF	<i>Platelet-derived growth factor</i>
PINT	<i>Premature Infants in Need of Transfusion</i>
PVPI	Polivinil Pirrolidona Iodo
RLM	Razão Linfócito/Monócito
RNL	Razão Neutrófilo/Linfócito
RPL	Razão Plaqueta/Linfócito
ROC	<i>Receiver Operating Characteristic</i>
ROM	<i>Rupture of Membrane</i>
ROP	<i>Retinopathy of Prematurity</i>
ROPscore	<i>The Retinopathy of Prematurity Score</i>
Sem.	Semana
SII	Índice de inflamação Imune Sistêmica
TCROP	The Committee for the Classification of Retinopathy of Prematurity
UTI	Unidade de Terapia Intensiva
VEGF	<i>Vascular endothelial growth factor</i>
VPN	Valor preditivo negativo
VPP	Valor preditivo positivo

Sumário

1. INTRODUÇÃO	
1.1. Prematuridade	25
1.2. Retinopatia da Prematuridade	25
1.2.1. Epidemiologia da ROP	26
1.2.2. Patogênese da ROP	27
1.2.3. Fatores de Risco da ROP	28
1.2.4. Classificação e Estadiamento da ROP	29
1.2.5. Triagem Diagnóstica e o ROPScore	32
1.2.6. Tratamento da ROP	36
1.2.7. Parâmetros do Hemograma e ROP	39
1.3. Justificativa para o Estudo	34
2. OBJETIVOS	42
3. CASUÍSTICA E MÉTODOS	44
3.1. Desenho do Estudo	44
3.2. Local do Estudo	44
3.3. Análise Ética	44
3.4. População do Estudo e Critérios de Inclusão	44
3.5. Critérios de Exclusão	44
3.6. Grupos Experimentais	44
3.7. Cálculo do Tamanho Amostral	40
3.8. Avaliação Clínica e ROPscore	40
3.9. Avaliação Laboratorial	40
3.10. Desfechos Clínicos Avaliados	40
3.11. Procedimentos utilizados para Triagem da ROP, aferição do ROPScore e Tratamento	40
3.12. Análise Estatística	48
4. RESULTADOS	51
5. DISCUSSÃO	66
6. CONCLUSÕES	72
7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	75
8. ANEXOS	88

Introdução

1. Introdução

1.1. Prematuridade

O parto prematuro é definido pela Organização Mundial da Saúde (OMS) como o que ocorre antes de 37 semanas completas de gestação¹. A prematuridade, porém, é uma síndrome complexa com múltiplos fatores etiológicos, que se associa a um amplo espectro de condições clínicas que definem a sobrevivência e o desenvolvimento dos neonatos pré-termo, nos diferentes subgrupos de risco^{2,3}. Estes podem ser categorizados, de acordo com a idade gestacional (IG) em: pré-termo (< que 37 semanas), pré-termo tardio (entre 34 semanas e zero dias e 36 semanas e 6 dias), pré-termo moderado (32 semanas e zero dias e 33 semanas e 6 dias), muito pré-termo (28 semanas e zero dias a 31 semanas e 6 dias) e pré-termo extremo (< que 28 semanas e zero dias)⁴.

Estima-se que ocorram cerca de 15 milhões de partos prematuros por ano e que aproximadamente um milhão de recém-nascidos pré-termo morram em função de complicações relacionadas ao nascimento prematuro⁵. Em contrapartida, com o desenvolvimento da neonatologia e da melhora dos cuidados neonatais, a taxa de sobrevivência de neonatos pré-termo, especialmente os extremos, tem crescido e influenciado a incidência de comorbidades relacionadas à prematuridade, como a retinopatia⁶.

1.2. Retinopatia da Prematuridade

A retinopatia da prematuridade (ROP) foi originalmente descrita por Terry, nos Estados Unidos da América em 1942, com o nome de fibroplasia retrolental e, desde então continua a ser uma das principais causas de cegueira tratável na infância⁷⁻⁹.

A ROP é uma doença multifatorial, de etiologia vasoproliferativa, cujo diagnóstico e tratamento precoces podem evitar a perda visual. Cerca de 25 a 30% dos neonatos pré-termo que desenvolvem ROP manifestam complicações oculares que incluem altas ametropias, estrabismo, glaucoma, e anormalidades da função retiniana¹⁰.

1.2.1. Epidemiologia da ROP

As diferenças geográficas na epidemiologia da ROP ocorrem principalmente em função das variações regionais da qualidade dos cuidados neonatais¹¹. As maiores incidências da doença ocorrem em países de renda média e com altas taxas de mortalidade infantil. Estima-se que cerca de 20.000 neonatos pré-termo se tornam deficientes visuais em decorrência da ROP por ano, especialmente na China, no Sudeste e Sul da Ásia, América Latina e partes da Europa Oriental¹².

Nas regiões definidas como desenvolvidas pela Organização Mundial da Saúde, calcula-se que por ano, entre os cerca de 150.000 neonatos com risco de desenvolver ROP, 1.700 se tornam deficientes visuais graves, o que equivale a uma prevalência de ROP incapacitante, de um em 90 a um em 100 neonatos, mesmo em ambientes com muitos recursos^{12,13}. Um estudo sueco, com neonatos de extremo baixo peso, mostrou que somente 20% dos que desenvolveram ROP grave foram tratados de forma precoce, indicando que a não adesão às melhores práticas de saúde pode também desempenhar um papel importante no resultado visual final¹⁴.

No Brasil, existem poucos dados sobre a epidemiologia da ROP. Os dados disponíveis demonstram que a incidência e prevalência de ROP variam conforme a região do país, o nível de cuidados neonatais e o grau de prematuridade dos neonatos. Na cidade de São Paulo, Graziano et al.¹⁵ encontraram 29,9% de ROP em prematuros com peso ao nascimento (PN) < 1500g. No Rio de Janeiro, Portes et al.¹⁶ encontraram 27,8%. Em Porto Alegre, Fortes Filho et al.^{17,18} encontraram prevalência de ROP de 28,5%, em neonatos pré-termos com PN >1000g e de 48,6% em pré-termos com peso < que 1000 g. Lucio et al., no interior de São Paulo, encontraram 17,6% de ROP em neonatos com PN < 1500g e IG < 32 semanas¹⁹.

É importante destacar que a heterogeneidade dos critérios de inclusão de alguns estudos sobre ROP, dificulta a comparação dos resultados. Segundo a Organização Mundial da Saúde, no Brasil o número estimado de neonatos pré-termo com risco de desenvolver ROP por ano é de 13.500, sendo que cerca de 1.000 deles evoluem para doença grave que necessita de tratamento^{20,21}.

1.2.2. Patogênese da ROP

A retina humana tem duas redes vasculares que se desenvolvem sequencialmente, de maneira coordenada e precisa: a rede de vasos hialóides transitórios supre a retina e o cristalino no início da gestação, enquanto a rede de vasos permanentes, supre apenas a retina.

A rede hialoide transitória se origina da artéria hialoide central, entra na fissura óptica embrionária com seis semanas de gestação, progride para o vítreo, circunda o cristalino e começa a regredir na 13ª semana²².

Concomitantemente, a vasculatura retiniana começa a se desenvolver por volta da 16ª semana de gestação, radialmente a partir do disco óptico e está totalmente madura, por volta da 36ª semana, com a formação do plexo vascular retiniano superficial. A vascularização da retina nasal completa-se ao redor da 32ª semana de idade gestacional (IG), enquanto a vascularização da retina temporal completa-se ao redor da 40ª semana após a concepção, ou logo após o nascimento a termo. A ROP pode surgir quando ocorre uma interrupção na vasculogênese natural retiniana, em função do nascimento prematuro^{23,25}. A exposição da retina imatura ao oxigênio suplementar após o nascimento induz à vasoconstrição que, se mantida, produz áreas de oclusões vasculares, desencadeando a retinopatia da prematuridade²³.

A fisiopatogenia da ROP pode ser dividida em duas fases: a fase I ou de vaso-obliteração, que ocorre logo após o nascimento prematuro e termina com a retirada do oxigênio suplementar, por volta da 32ª a 34ª semanas de IG pós-conceptual. E a fase II ou proliferativa, que começa no momento da retirada do oxigênio suplementar²⁶.

Ao nascer, os neonatos pré-termo perdem fatores de crescimento placentários e maternos e com a hiperóxia induzida pelo oxigênio suplementar, ocorre também a supressão da expressão de fatores angiogênicos, como o VEGF (*Vascular Endotelial Growth Fator*) e o IGF-1 (*Insulin Growth Factor 1*), que sustentam a angiogênese fisiológica na retina, levando à vaso-obliteração (Fase I)²⁷.

Com o amadurecimento dos neonatos pré-termo e a retirada gradual do oxigênio suplementar, a retina em desenvolvimento torna-se metabolicamente ativa e relativamente hipóxica. O consequente estímulo à produção de VEGF e IGF-1

desencadeia neovascularização desordenada da retina em direção ao vítreo, tração e descolamento da retina, se o processo não for controlado (Fase II)^{26,27}.

1.2.3. Fatores de Risco para a ROP

Muitos fatores de risco para o desenvolvimento de ROP têm sido identificados, incluindo maternos, pré-natais, perinatais, demográficos, decorrentes de intervenções médicas, nutricionais e genéticos. Os mais estudados são o peso ao nascimento (PN), a idade gestacional (IG) e o oxigênio suplementar²⁸.

A baixa idade gestacional está diretamente relacionada com o grau de imaturidade da retina ao nascimento, e com o tempo de exposição do neonato aos fatores que contribuem para o desenvolvimento da ROP²⁹. O estudo CRYO-ROP, avaliou 4.009 neonatos pré-termo com PN<1.251g, e encontrou forte associação entre menor PN e IG mais precoce, e maior risco de ROP grave^{30,31}. Esses resultados foram replicados em estudos subsequentes que avaliaram risco de incidência de ROP³²⁻³⁵.

Níveis altos e flutuantes de oxigênio ao nascimento e durante o período neonatal também estão relacionados ao desenvolvimento da ROP. Estudos sugerem que a prevenção da hiperóxia até 30 a 32 semanas de idade gestacional pós-conceptual (IGP) diminui o risco de ROP, e a prevenção da hipóxia além das 32 semanas de IGP diminui o risco³⁶⁻³⁸.

O retardo no crescimento ou no ganho de peso pós-natal, especialmente nas primeiras semanas de vida é outro fator de risco importante para o desenvolvimento da ROP^{39,40}. Wallace e colaboradores sugeriram que o ganho menor que 50% do peso ao nascimento nas primeiras seis semanas de vida poderia indicar aumento de risco para ROP grave⁴¹.

Outros fatores envolvidos são: baixo ganho de peso nas primeiras semanas de vida, uso materno pré-natal de betabloqueadores, apneias recorrentes, hemorragia intraventricular, transfusões sanguíneas, imunossupressão, infecções, uso de surfactante, indometacina e eritropoietina^{42,43}.

1.2.4. Classificação e Estadiamento da ROP

Desde 1984, a classificação internacional utilizada é a proposta pelo *The Committee for the Classification of Retinopathy of Prematurity* (ICROP), baseada na localização, características morfológicas e gravidade da ROP ativa e cicatricial⁴⁴. Esta classificação foi expandida em 1987, e revista em 2005 e 2021⁴⁵⁻⁴⁷. A classificação atual localiza a ROP em quatro zonas concêntricas centradas no disco óptico e descreve sua extensão de acordo com os meridianos envolvidos, contados em horas do relógio (Figura 1).

A região mais posterior, ou Zona I, é definida por um círculo com raio duas vezes a distância estimada do centro do disco óptico ao centro da fóvea. A Zona II se estende nasalmente desde o limite externo da zona I até a ora serrata nasal e com uma distância semelhante nos setores temporal, superior e inferior. Uma nova área, (Zona posterior II), definida como uma região de 2 diâmetros de disco periféricos à borda da zona I, foi introduzida pelo comitê, para indicar uma doença potencialmente mais preocupante do que a ROP na zona II mais periférica⁴⁷.

Foi adicionado o termo *notch* à *classificação de ROP* para descrever uma incursão da doença de uma a duas horas de extensão, em uma zona mais posterior. Nesta situação, a classificação deve ser feita pela zona mais posterior, com o qualificador *notch* (por ex. Zona I secundária ao *notch*) (Figura 2)⁴⁷. A Zona III é o crescente residual da retina periférica que se estende para além da zona II.

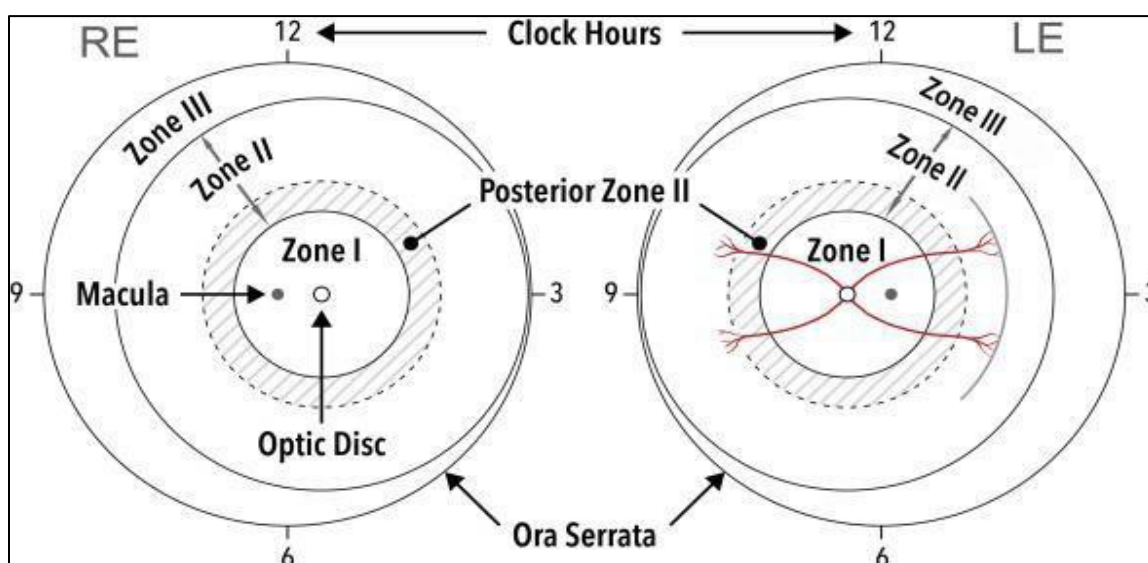


Figura 1. Classificação proposta pelo ICROP quanto à localização e extensão da ROP⁴⁷.

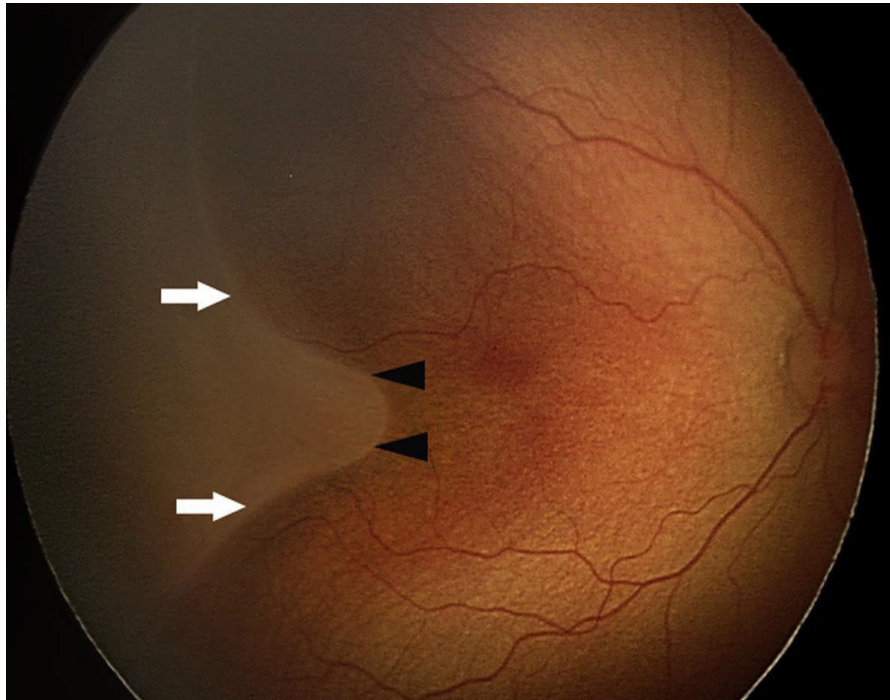


Figura 2. Classificação ICROP quanto a localização: zona I associado à *notch*. Fonte: Chiang et al.⁴⁷

A gravidade da ROP é classificada em cinco estágios e pela presença de doença plus, um biomarcador vascular da doença grave (Figuras 3 e 4), como descrito abaixo⁴⁷:

- **Estágio 1:** linha de demarcação entre a área vascular e avascular da retina,
- **Estágio 2:** crista elevada na borda da região avascular da retina,
- **Estágio 3:** proliferação neovascular extraretiniana ou neovascularização plana,
- **Estágio 4:** descolamento parcial da retina,
 - *Estágio 4A:* descolamento da retina parcial com mácula colada,
 - *Estágio 4B:* descolamento da retina parcial com mácula descolada,
- **Estágio 5:** descolamento total da retina,
 - *Estágio 5A:* descolamento total com disco óptico visível, sugerindo funil aberto,
 - *Estágio 5B:* descolamento total sem visão do disco óptico (funil fechado),
 - *Estágio 5C:* descolamento total acompanhado de alterações no

segmento anterior (adesão iridocorneo lenticular, leucoma corneano, câmara anterior rasa).

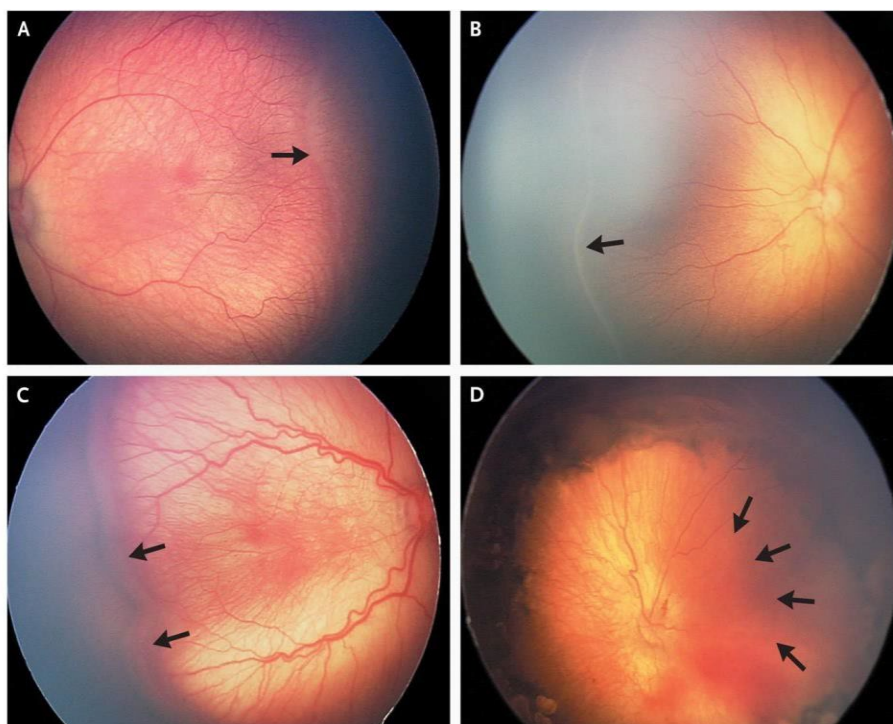


Figura 3: Estágios 1 a 4 da ROP em zona II. Fonte: Hartnett et al.⁴⁸

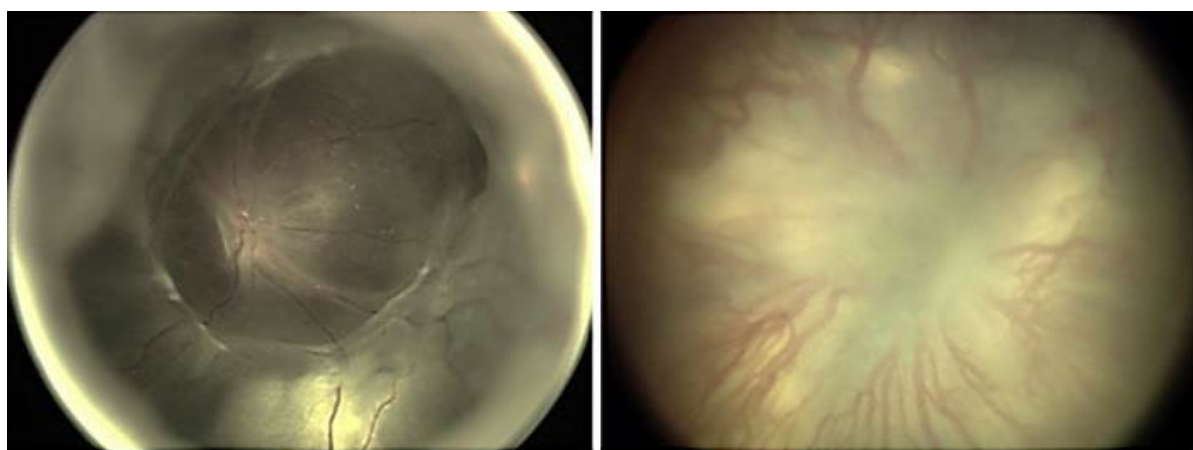


Figura 4: Estágios 5A e 5B da ROP. Fonte: Chiang et al.⁴⁷

A ROP agressiva (A-ROP) é caracterizada por rápido desenvolvimento de neovascularização retiniana, acompanhada de doença plus, e por não progredir pelos estágios típicos da doença (Figura 5). O antigo nome, ROP posterior agressiva (AP-ROP) foi alterado em função do reconhecimento de que a doença pode ocorrer além da zona posterior, em neonatos pré-termo mais maduros, especialmente em regiões

com recursos limitados⁴⁷.

De acordo com a revisão da ICROP de 2005, a doença plus é definida pela dilatação venosa e tortuosidade arterial no polo posterior em pelo menos dois quadrantes e a doença pré-plus, pela presença de dilatação anormal, mas insuficiente para ser classificada como doença plus^{45,46}. Pela classificação atualizada, a doença plus deve ser considerada um espectro contínuo de gravidade vascular, desde o normal, passando pelo pré-plus, até o plus (Figura 6). A avaliação deve ser feita pelos vasos da zona I⁴⁷.



Figura 5: Imagem retiniana com ROP agressiva (A-ROP). Fonte: imagem própria.



Figura 6: Espectro contínuo de gravidade vascular na ROP, de normal a doença plus. Fonte: Chiang et al.⁴⁷

1.2.5. Triagem diagnóstica e o ROPScore

O diagnóstico da ROP é feito por meio de exame fundoscópico. Pelas Diretrizes brasileiras para detecção e tratamento da ROP, todos os neonatos pré-termos nascidos com PN ≤ 1.500 g e/ou IG ≤ 32 semanas devem ser triados entre a 4^a e a 6^a

semanas de vida e seguidos com exames seriados dependendo dos achados encontrados no exame inicial, até a completa vascularização da retina ou total regressão da ROP. Neonatos maiores, com comorbidades e fatores de risco para o desenvolvimento de ROP devem ser incluídos na triagem⁴⁹.

A triagem dos neonatos pré-termos com risco de ROP é dispendiosa e exige grande carga de trabalho dos profissionais envolvidos. Os exames repetidos podem levar a stress e instabilidade cardiorrespiratória nos neonatos, que já têm outras comorbidades sistêmicas⁵⁰. Para diminuir o número de exames e identificar precocemente quais recém-nascidos tem maior risco de desenvolver a forma grave da ROP, foram desenvolvidos alguns escores de predição considerando os principais fatores de riscos envolvidos no desenvolvimento da ROP^{51,52}.

Vários modelos têm sido propostos na literatura, e a maioria agrega fatores de risco neonatais e pós-natais para o desenvolvimento de ROP. O modelo *Safety-Index*, desenvolvido em 1991 e validado em 1996, propunha um índice de segurança (S) baseado nos fatores de risco PN e IG calculado a partir da equação: $S = \log \text{PN (kg)} + \log \text{IG} - \log (1 + \text{n}^\circ \text{ de dias de oxigênio})$ e dividia os neonatos em grupo de alto e baixo risco conforme o número de dias de uso de oxigenioterapia suplementar. Segundo os autores, o modelo ajudaria a reduzir o número de exames de rastreio em 10% e não perderia nenhum caso de ROP^{53,54}.

O modelo Termote, proposto em 2005, utilizava uma fórmula para triar os prematuros de risco para ROP, estipulando que: se o $\text{PN} + 2 \times (\text{IG} - 20) - 6 \times \text{número de transfusões nas primeiras quatro semanas de vida}$, fosse ≥ 34 , então a triagem não seria necessária⁵⁵.

O WINROP 1 foi desenvolvido em 2006, considerando PN, IG, Ganho de Peso semanal e níveis séricos periódicos de IGF-1 (Insulin-like Growth Factor-1) e IGFBP-3 (*Insulin-Like Growth Factor Binding Protein-3*)⁵⁶. Em função do custo das dosagens hormonais, os autores propuseram em 2009 uma versão simplificada do modelo avaliando somente IG, PN e ganho de peso semanal, o WINROP 2. Porém, alguns estudos mostraram que o WINROP 2 perde sensibilidade em neonatos com IG maior, o que o torna pouco efetivo em países em desenvolvimento como o Brasil, onde crianças mais maduras também desenvolvem ROP⁵⁷.

Yang e Donovan, em 2009 publicaram um estudo descrevendo um modelo de risco multivariado utilizando como variáveis preditivas PN, IG, ganho de peso,

gestação múltipla, raça e gênero. Os resultados mostraram redução no número de exames em 13%, mas falha em identificar nove casos de ROP grave⁵⁸.

Binenbaum et al. estabeleceram um modelo de predição em 2011, o PINT ROP, (*Premature Infants in Need of Transfusion*) avaliando apenas neonatos com alto risco de ROP (PN<1000g), considerando PN, IG e ganho de peso pós-natal como fatores de risco; que não identificou apenas um neonato que precisava de tratamento e reduziu o número de exames em 30%⁵⁹.

Em 2012, Binenbaum et al. propuseram outro modelo, o CHOP-ROP, considerando PN <1501g ou IG $\leq$ 30 semanas e ganho de peso semanal a partir da segunda semana de vida. O modelo foi validado por um estudo retrospectivo na Itália com alta sensibilidade⁶⁰.

Em 2013, van Sorge et al. publicaram um estudo descrevendo um modelo de risco multivariado, o NEDROP (*Netherlands Retinopathy of Prematurity Study Model*), incluindo neonatos com IG < 30 semanas, e/ou PN< 1250 g, ou, IG de 30 a 32 semanas, e/ou PN de 1250 a 1500 g, com um ou mais destes fatores de risco: ventilação mecânica, enterocolite necrosante, sepse e glicocorticoides pós-natal. Este modelo reduziria o número de exames oftalmológicos em 20%⁶¹.

Em 2015, Ying et al. propuseram o modelo e-ROP (*Telemedicine Approaches to Evaluating Acute-Phase Retinopathy of Prematurity*) a partir de uma coorte de 979 crianças americanas. As variáveis preditivas usadas foram sexo, raça ou etnia, PN, IG, número de quadrantes da doença pré-plus, estágio da ROP, presença de hemorragia retiniana, grau de suporte respiratório e ganho de peso. Segundo os autores, algumas características são fortes preditores independentes da ROP: a ROP estágio 2 com pré-plus, a presença de hemorragias retinianas, e o uso de oxigênio (O₂) sob ventilação mecânica⁶².

O modelo CO-ROP foi desenvolvido em 2016, numa coorte de neonatos com IG $\leq$ 30 semanas, PN $\leq$ 1500 g e ganho de peso $\leq$ 650 gramas em quatro semanas, apresentando alta sensibilidade para ROP grave⁶³.

Em 2018, Binenbaum et al. propuseram um novo modelo de algoritmo baseado em ganho de peso pós-natal, simples o suficiente para ser usado clinicamente e respaldado por dados de uma coorte retrospectiva com significância estatística (7.483 neonatos prematuros de 29 Centros). Este modelo recebeu o nome de G-ROP (*Postnatal Growth and Retinopathy of Prematurity*) e se baseou numa

sequência que começa na parte inferior esquerda do diagrama proposto (Figura 7), prosseguindo no sentido horário em torno dos seis critérios. Se a idade gestacional (IG) fosse menor que 28 semanas, o neonato receberia exames de retina. Se a idade gestacional fosse 28 semanas ou mais, o próximo critério (PN) seria verificado, e assim por diante. Se nenhum dos critérios se aplicasse, a criança não receberia exames de retina⁶⁴.

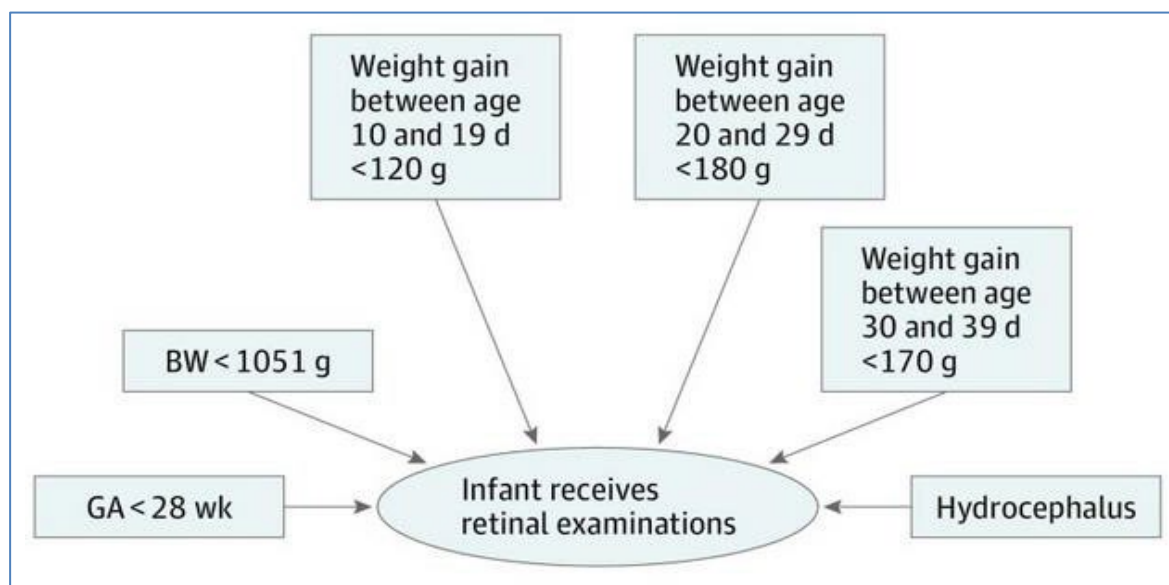


Figura 7: Critérios de Triagem de ROP modificado por dados do G-ROP. Fonte: Binenbaum et al. 2018⁶⁴.

Este modelo foi posteriormente validado em uma coorte prospectiva de 3.981 neonatos nos Estados Unidos da América, com alta sensibilidade. Quando testado em países diferentes, os valores de sensibilidade se mantiveram altos no Japão, Reino Unido e Egito, no entanto, caíram na Turquia e em Portugal⁶⁴⁻⁶⁹.

O modelo ROPScore (*The Retinopathy of Prematurity Score*) foi proposto por Eckert et al., em 2012, numa coorte com 474 neonatos prematuros na região Sul do Brasil. Ele é um sistema de pontuação baseado em fatores de risco acumulados, bastante simples e prático, desenvolvido com base nos principais fatores envolvidos na ROP (PN, IG, oxigênio suplementar por ventilação mecânica, transfusão de sangue, peso na 6ª semana de vida e ganho de peso até a sexta semana de vida)⁷⁰.

A pontuação do escore é determinada por regressão linear, levando em conta o efeito de cada variável em relação ao surgimento da ROP. Os autores

concluíram que o ROPScore, seria potencialmente mais preciso do que fatores de risco isolados, para prever qualquer fase da ROP. O escore é calculado por uma planilha Excel (Microsoft®) e deve ser aplicado no primeiro exame oftalmológico, dando ao médico condições de decidir se o neonato pré-termo precisará de mais ou menos exames. Os pontos de corte do escore identificam os bebês de risco para ROP leve e grave⁷⁰.

O primeiro estudo fora do Brasil a avaliar o ROPScore foi o de Piermarocchi et al., na Itália, onde o escore foi aplicado retrospectivamente e apresentou sensibilidade de 100% para detecção de ROP⁷¹. No Brasil, o ROPScore foi validado por dois estudos coortes prospectivos realizados no Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina de Botucatu, o de Lúcio et al., com aferição na sexta semana de vida, como era a proposta original de Eckert et al., e o de Simões et al. com aferição modificada, na segunda semana de vida (para abranger os casos de ROP grave que se manifestam antes da sexta semana)^{70,72}. Os dois estudos tiveram resultados de acurácia semelhantes e estabeleceram novos pontos de corte do escore, adaptados à população estudada. No entanto, evidências recentes mostram, que a sensibilidade do ROPScore pode ser baixa em populações diferentes. Sun et al., encontram apenas 50% de sensibilidade numa coorte de 3587 neonatos pré- termos chineses, e sugeriram que o escore não deve ser utilizado para definir critérios de seleção, mas sim para diminuir o número de exames⁷³.

1.2.6. Tratamento da ROP

Os objetivos do tratamento da ROP incluem tanto a prevenção de perda de visão ou cegueira, como a preservação da arquitetura da retina. Ele é indicado quando a doença atinge um estágio a partir do qual, se não tratada, pode apresentar resultados anatômicos e funcionais desfavoráveis, a chamada doença Limiar ou ROP grave.

O conceito de doença Limiar (ROP estágio 3, em zonas I ou II, com pelo menos 5 horas de extensão contínuas ou 8 horas intercaladas, na presença de doença plus), indicação clássica de tratamento a partir do estudo multicêntrico CRYO-ROP (*Cryotherapy for Retinopathy of Prematurity*), deu lugar à doença Pré-Limiar do Tipo 1, a partir de 2003, quando a indicação foi atualizada pelo estudo ET-ROP (Early Treatment for Retinopathy of Prematurity Cooperative Group)^{74,75}.

A nova indicação preconizava o tratamento mais precoce, com os seguintes achados fundoscópicos:

- ROP em zona I, com doença plus,
- ROP estágio 3, zona I, sem plus, e
- ROP estágio 2 ou 3, em zona II, com plus.

Em 2005, uma revisão foi estabelecida, com a introdução da doença Pré-Limiar do Tipo 2⁴⁶, que indicava o acompanhamento mais cuidadoso de pacientes com:

- ROP estágio 1 ou 2, em zona I, sem plus, e
- ROP estágio 3, zona 2, sem plus.

O tratamento ablativo da retina avascular periférica por crioterapia foi o padrão ouro a partir de 1988, a partir dos resultados do estudo CRYO-ROP⁷⁴. Posteriormente, a fotocoagulação transpupilar com laser diodo substituiu a crioterapia, pela segurança, praticidade e eficácia dos resultados na estabilização e regressão da ROP⁷⁶.

Atualmente a terapia a laser continua sendo considerada por muitos como o padrão ouro, especialmente na ROP em zona 2, com taxas de regressão que chegam a 90%^{77,78}.

O uso de drogas antiangiogênicas para o tratamento da ROP inicialmente foi indicado como terapia adjunta em algumas situações: falha do tratamento com laser, casos de ROP grave em zona 1, falta de condições clínicas para um procedimento anestésico, opacidade de meios e falta de dilatação pupilar⁷⁹.

A terapia farmacológica evita os danos anatômicos e funcionais da fotocoagulação e facilita o desenvolvimento vascular fisiológico da retina após o tratamento. Estudos mostram evidências de que a terapia anti-VEGF pode ser tão eficiente e segura quanto a fotocoagulação, principalmente nos casos de ROP em zona 1, e A-ROP⁸⁰⁻⁸³.

1.2.7. Parâmetros do Hemograma e ROP

A variedade de citocinas, fatores angiogênicos, oxidativos e neuro protetores produzidos nas duas fases da ROP contribuem para a natureza multifatorial da doença⁸⁴. Modelos animais tem mostrado que o estresse inflamatório sistêmico em neonatos pode interromper a vasculogênese fisiológica e alterar a função retiniana⁸⁵.

Estudos sugerem que a inflamação sistêmica perinatal e pós-natal contribuem para a instalação de uma “pré fase” da ROP, anterior às outras duas já bem estabelecidas (fases I e II), a qual sensibilizaria a retina imatura para insultos subsequentes e aumentaria o risco de desenvolvimento de ROP⁸⁵⁻⁸⁷. Os autores postulam que haveria uma fase intraútero da ROP, mediada por fatores inflamatórios, na qual, o oxigênio não estaria envolvido⁸⁵⁻⁸⁷.

Assim, existiriam pelo menos duas vias principais distintas para a ROP: uma na qual, a fase 1 começa no útero e outra, onde a fase 1 começa após o nascimento. Em ambos os cenários, ocorrências neonatais subsequentes, como infecção (ou outros indutores de inflamação sistêmica) ou hiperóxia, poderiam contribuir para o desenvolvimento da ROP isoladamente ou em conjunto. Essas possibilidades resultariam em um novo modelo etiopatogênico de ROP (Figura 8). A inflamação seria, portanto, um importante modulador no desenvolvimento da ROP⁸⁷.

Alguns potenciais biomarcadores inflamatórios têm sido estudados na ROP, dentre eles, a trombocitopenia, e as razões neutrófilo-linfócito (RNL), linfócito-monócito (RLM), e plaqueta-linfócito (RPL)⁸⁵⁻⁹⁰. O papel das plaquetas na angiogênese tem se destacado nestes estudos, reforçando a hipótese de que a trombocitopenia pode ser um possível fator de risco para o desenvolvimento de ROP. A baixa contagem de plaquetas pode causar atraso no processo de vascularização normal da retina, e levar a neovascularização por desregulação dos níveis de VEGF, IGF-1 e PDGF(*Platelet-derived growth factor*)⁸⁷⁻⁹².

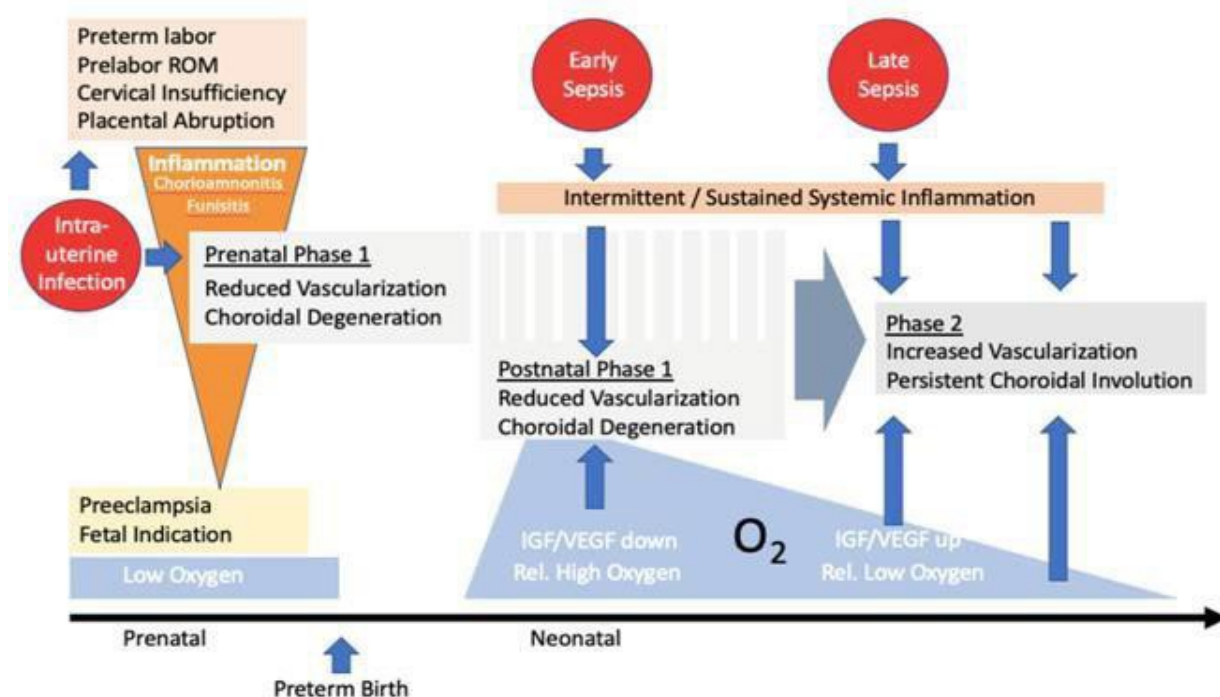


Figura 8. Proposta de novo modelo etiopatogênico para a ROP. Fonte: Dammann et al.⁸⁶

Lundgren et al. observaram que a ROP agressiva, forma mais temível da doença, está associada com múltiplos episódios infecciosos e trombocitopenia⁹¹.

Além dos biomarcadores inflamatórios independentes, como as razões RNL, RLM, RPL, o índice de inflamação imune sistêmica (SII - *systemic immune-inflammation index*), também pode ser utilizado para avaliar o equilíbrio inflamatório dos neonatos com ROP. Ele é calculado a partir do número de neutrófilos e plaquetas, pela fórmula: neutrófilo x plaqueta/linfócito^{93,95}.

No entanto, apesar de existirem evidências sobre o possível papel dos biomarcadores inflamatórios na ROP, os resultados dos estudos ainda são controversos e não há consenso na literatura. Há variações quanto ao número de parâmetros estudados, quanto ao momento da avaliação (se logo após o nascimento ou com algumas semanas de vida), e quanto à exclusão de neonatos com comorbidades e submetidos à transfusão de sangue^{96,99}.

1.3. Justificativa para o Estudo

O algoritmo ROPScore tem sido validado no Brasil por estudos coortes prospectivos, com bons valores de sensibilidade e especificidade, porém, com perda de identificação da ROP grave em alguns neonatos^{19,72}. Evidências recentes

identificaram a perda de acurácia deste escore em algumas populações⁷³, abrindo uma oportunidade para avaliar a inclusão de novos fatores de risco na fórmula original.

O caráter multifatorial da ROP dificulta a avaliação de todos os fatores de risco envolvidos na sua patogênese. O papel dos biomarcadores inflamatórios ainda não está bem estabelecido, e os resultados existentes na literatura são variáveis e obtidos de estudos muito diferentes do ponto de vista metodológico.

Diante deste cenário, o presente estudo avaliou numa primeira fase, o papel dos biomarcadores inflamatórios do hemograma: razão neutrófilo-linfócito (RNL), linfócito-monócito (RLM) e plaqueta-linfócito (RPL), e do SII, como potenciais preditores hematológicos de ROP.

E numa segunda fase, testou a inclusão dos biomarcadores inflamatórios que se comportaram como fatores de risco na população estudada, na fórmula do ROPScore (após a análise estatística multivariada com outros fatores independentes), e verificou se estes fatores aumentavam a acurácia do algoritmo.

Objetivos

2. Objetivos

Este estudo teve como objetivos:

2.1. Avaliar os biomarcadores inflamatórios do hemograma: razão neutrófilo-linfócito (RNL), linfócito-monócito (RLM), plaqueta-linfócito (RPL), e, do índice de inflamação imune sistêmica (SII), como potenciais preditores hematológicos de ROP.

2.2. Investigar se os biomarcadores hematológicos identificados como possíveis fatores de risco preditivos de ROP na primeira fase do estudo, interferem com a acurácia do algoritmo ROPScore, quando inseridos na sua fórmula original.

Casuística e Métodos

3. Casuística e Métodos

3.1. Desenho do Estudo

Foi realizado um estudo retrospectivo com dados da coorte prospectiva original.

3.2. Local do Estudo

O estudo foi conduzido no Departamento de Especialidades Cirúrgicas e Anestesiologia da Faculdade de Medicina de Botucatu-UNESP, na Unidade de Terapia Intensiva (UTI) Neonatal e no Ambulatório de Oftalmologia do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina de Botucatu (HC-FMB).

3.3. Análise Ética

O projeto de pesquisa foi aprovado no Comitê de Ética em Pesquisa da Faculdade de Medicina de Botucatu – UNESP sob o número 4051/2011 e CAAE 63407622.9.0000.5411 (Anexo 1).

3.4. População do Estudo e Critérios de Inclusão

Neste estudo foram incluídos dados de neonatos pré-termo admitidos na UTI neonatal do HC-FMB, de outubro de 2012 a março de 2023, com idade gestacional (IG) de 32 semanas ou menos e/ou peso ao nascimento (PN) de 1500g ou menos, independente do gênero e raça, que foram submetidos à coleta de sangue para realização de hemograma, nas primeiras 72 horas após o nascimento, e com 30 dias de vida.

3.5. Critérios de Exclusão

Foram excluídos dados de neonatos pré-termo portadores de enterocolite necrotizante e doenças hematológicas, com níveis de proteína C elevados (acima de 5 mg/l)¹⁰⁰.

3.6. Grupos Experimentais

Para o desenvolvimento da coorte retrospectiva, os dados dos neonatos pré- termos foram divididos conforme a evolução da ROP, em:

3.6.1. Grupo sem ROP: composto por neonatos pré-termos que não desenvolveram a ROP.

3.6.2. Grupo ROP leve: composto por neonatos pré-termos que desenvolveram ROP, mas não evoluíram para as formas graves da doença e não precisaram de tratamento.

3.6.3. Grupo ROP grave: composto por neonatos que desenvolveram ROP grave e precisaram de tratamento.

3.7. Cálculo do Tamanho Amostral

O cálculo amostral foi baseado nas duas coortes prospectivas realizadas anteriormente com neonatos pré-termos no HC-FMB, a partir da prevalência de ROP de 14%. Assumindo um poder estatístico de 95% e um valor de p de 0,05%, e fazendo-se a correção pela população finita, determinou-se a inclusão mínima de 112 neonatos pré-termos no estudo.

3.8. Avaliação Clínica e ROPScore

Os neonatos prematuros, cujos dados foram incluídos no estudo, foram examinados conforme as diretrizes brasileiras de triagem de ROP, por meio de oftalmoscopia binocular indireta entre a 4^a e a 6^a semana de vida⁴⁹. As avaliações oftalmológicas foram repetidas conforme os achados dos exames iniciais com a periodicidade determinada pelas diretrizes até a completa vascularização da retina ou a regressão da ROP. As indicações para o tratamento foram baseadas nos critérios do estudo *Early Treatment for Retinopathy of Prematurity* (ETROP)⁷⁵.

Para o cálculo do ROPScore foram colhidos dados de: pesagem na 2^a e na 6^a semana de vida, idade gestacional (IG), peso ao nascimento (PN), ganho de peso no final da 2^a e da 6^a semana, necessidade de transfusão de sangue, e uso de ventilação mecânica em todos os neonatos incluídos no estudo. Estes dados e outros fatores de risco independentes para ROP foram coletados, para possibilitar análise estatística multivariada.

Avaliação Laboratorial

Os dados de parâmetros do hemograma completo foram referentes ao

exame colhido nas primeiras 72 horas após o parto (primeiro hemograma coletado) e ao realizado com 30 dias de vida.

Os valores de contagem da razão neutrófilo-linfócito (RNL), linfócito-monócito (RLM), e plaqueta-linfócito (RPL) foram calculados dividindo-se os o número absoluto de neutrófilos pela contagem absoluta de linfócitos, o número absoluto de linfócitos pela contagem absoluta de monócitos, e o número absoluto de plaquetas pela contagem absoluta de linfócitos, respectivamente. O índice de inflamação imune sistêmica (SII) foi calculado pela fórmula: $\text{neutrófilo} \times \text{plaqueta/linfócito}^{63}$. Os valores observados foram expressos em ($\times 10^3/\text{dL}$).

3.9. Desfechos Clínicos Avaliados

Os desfechos clínicos avaliados no estudo foram a ocorrência da ROP em qualquer estadiamento e o desenvolvimento da ROP grave, que necessita de tratamento (doença pré-limiar 1, doença limiar e doença agressiva). A ROP foi categorizada de acordo com a Classificação Internacional de Retinopatia da Prematuridade revisada e atualizada⁴⁷, sendo considerado sempre o estágio mais avançado encontrado no seguimento dos neonatos pré-termo.

3.11. Procedimentos Utilizados para a Triagem de ROP, Aferição do ROPScore e Tratamento

3.11.1. Oftalmoscopia Binocular Indireta

O exame fundoscópico foi realizado com oftalmoscópio binocular indireto, modelo H-OI (*Neitz Instruments Co., Ltd.*, Tóquio, Japão) e lente de 28 dioptrias (*Nikon Corporation*, Tóquio, Japão), com o neonato pré-termo em decúbito dorsal e com as pupilas dilatadas. Para facilitar o exame utilizou-se um blefarostato Barraquer modelo aramado para recém-nascido (Odous Instrumentos Ltda, Contagem, Minas Gerais), após instilação de uma gota de colírio anestésico (Anestésico®, Allergan Produtos Farmacêuticos Ltda, São Paulo, Brasil).

3.11.2. Técnica de Dilatação das Pupilas

Para a realização do exame fundoscópico os neonatos foram submetidos

à dilatação pupilar com três instilações, espaçadas de cinco minutos, de uma gota dos colírios tropicamida a 0,5% e cloridrato de fenilefrina a 2,5% (Pharmedice Manipulações Especializadas Ltda), aproximadamente uma hora antes do exame.

3.11.3. Pesagem dos Neonatos

A pesagem dos recém-nascidos pré-termo foi realizada na 2ª e na 6ª semana de vida utilizando-se balança digital da UTI neonatal ou do ambulatório de Prematuros da Oftalmologia, quando a alta foi precoce (antes da sexta semana de vida).

3.11.4. Aferição do ROPScore

A aferição do ROPScore foi realizada ao final da 2ª e da 6ª semana de vida de cada pré-termo, com a planilha Excel (Microsoft®)⁷⁰, inserindo-se os seguintes dados: peso ao nascimento, idade gestacional, presença ou ausência de transfusão sanguínea nas primeiras duas e seis semanas de vida, uso ou não de oxigênio por ventilação mecânica nas primeiras duas e seis semanas de vida e peso com duas e seis semanas (Figura 9).

BW (birth weight) in grams	1000	Use the birth weight in grams
GA (gestational age) in weeks	28	Use the gestational age in weeks
BLOOD TRANSFUSION (up to 6th week of life)	1	Use 0 for none or 1 for yes if the baby underwent any blood transfusion
OXYGEN IN MECHANICAL VENTILATION (up to 6th week of life)	1	Use 0 for none or 1 for yes if the baby underwent oxygen-therapy
WEIGHT AT COMPLETED 6 WEEKS OF LIFE	1400	Use the weight in grams measured at completed the 6th week
PROPORTIONAL WEIGHT GAIN	0,40	Automatic Calculation / Do not fill in
ROPScore	16,9	Automatic Calculation / Do not fill in

Higher the ROPScore = Higher the risk for developing ROP

Figura 9. Planilha ROPScore. Fonte: Eckert et al. 2012⁷⁰.

3.11.5. Fotocoagulação da Retina com laser

O tratamento dos neonatos que desenvolveram ROP grave foi realizado por ablação da retina avascular com laser de diodo vermelho (Opto Eletrônica S/A,

São Carlos, Brasil) sob oftalmoscopia binocular indireta (OBI), após dilatação pupilar de ambos os olhos, com três instilações, espaçadas de cinco minutos, de 1 gota de colírio de fenilefrina 2,5% e de tropicamida 0,5% (Pharmedice Manipulações Especializadas Ltda). O tratamento foi realizado no centro cirúrgico do HC-FMB, sob anestesia geral inalatória, ou na UTI neonatal do HC-FMB, sob sedação feita pelo neonatologista.

3.11.6. Injeção Intravítrea

O tratamento farmacológico dos neonatos com ROP grave foi realizado com injeção intravítrea de 0,02 mL (0,25 mg) de ranibizumabe (Novartis Biociências S.A.). As injeções foram realizadas em ambiente estéril, via pars plana, a 1,5 mm do limbo, com seringa descartável com agulha ultrafina (BD Ultra-Fine™ 29G 1/2"), após instilação de uma gota de solução de PVPI (Polivinil Pirrolidona Iodo) a 5% (Citopharma, Belo Horizonte, Minas Gerais). A solução de PVPI foi aplicada diretamente sobre a conjuntiva, seguindo as recomendações do Consenso de Injeções Intravítreas¹⁰¹, com intervalo entre a aplicação e a injeção intravítrea de dois minutos. inserção de blefarostato Barraquer modelo aramado para recém-nascido (Odous Instrumentos Ltda, Contagem, Minas Gerais), e instilação de uma gota de colírio anestésico (Anestésico®, Allergan Produtos Farmacêuticos Ltda, São Paulo, Brasil). Após todas as injeções, foi aferido o fluxo da artéria central da retina, por exame fundoscópico com OBI.

3.12. Análise Estatística

A análise foi realizada com os *softwares* SAS® (versão 9.3, SAS, Inc.) e IBM® SPSS® (versão 2.1). Métodos descritivos foram usados para as variáveis quantitativas e foram expressos como valor médio $\pm$ desvio padrão e valor máximo e mínimo.

Para variáveis normais foi utilizado o Teste t-Student. Para variáveis assimétricas foi feito ajuste por distribuição Gama. A análise das razões hematológicas foi feita pelo Teste de Poisson. Análise logística foi realizada para testar fatores de risco independentes para desenvolvimento de ROP e os biomarcadores. As variáveis que mostraram associação positiva com ROP foram incluídas em análise multivariada com regressão logística. Valores de *Odds Ratio* (OR) e intervalos de

confianças foram calculados para cada fator de risco.

Na segunda fase do estudo, para determinar a acurácia do ROPScore modificado em prever o surgimento da ROP, as variáveis que obtiveram resultados estatisticamente significantes isoladamente foram testadas e adicionadas à fórmula do ROPScore. Curvas ROC foram obtidas para os novos ajustes comparados com a fórmula original para detecção de ROP. Em todos os testes foi utilizado o nível de significância (p) de 5%.

Resultados

4. Resultados

4.1. Caracterização Geral da Amostra

4.1.2. Dados Demográficos e Clínicos

Trezentos e quatorze neonatos pré-termo tinham potencial para inclusão no estudo. Vinte e quatro foram excluídos por comorbidades (enterocolite necrotizante, doenças hematológicas) ou valores de proteína C elevados ($>5\text{mg/L}$), e 90 por falta de dados de hemograma nos dois períodos estipulados (até 72 horas de vida e 30 dias de vida). Foram incluídos, portanto, dados de 200 neonatos pré-termo (Figura 10), noventa e oito do gênero masculino (49%) e cento e dois do gênero feminino (51%).

Cento e cinquenta e dois neonatos pré-termo (76%) não desenvolveram ROP (78 do gênero masculino e 74 do feminino). Quarenta e oito (24%) desenvolveram ROP (20 do gênero masculino e 28 do feminino), sendo que destes, 18 deles tiveram a ROP não limiar, ou leve (37,50%) e 30 (62,50%) evoluíram para pré-limiar 1 ou ROP grave (15% dos 200), e foram submetidos à tratamento. Destes, 13 foram submetidos à fotocoagulação da área avascular da retina com laser diodo vermelho, sete à terapia anti-VEGF com ranibizumabe e 10 receberam terapia combinada com laser e anti-VEGF.

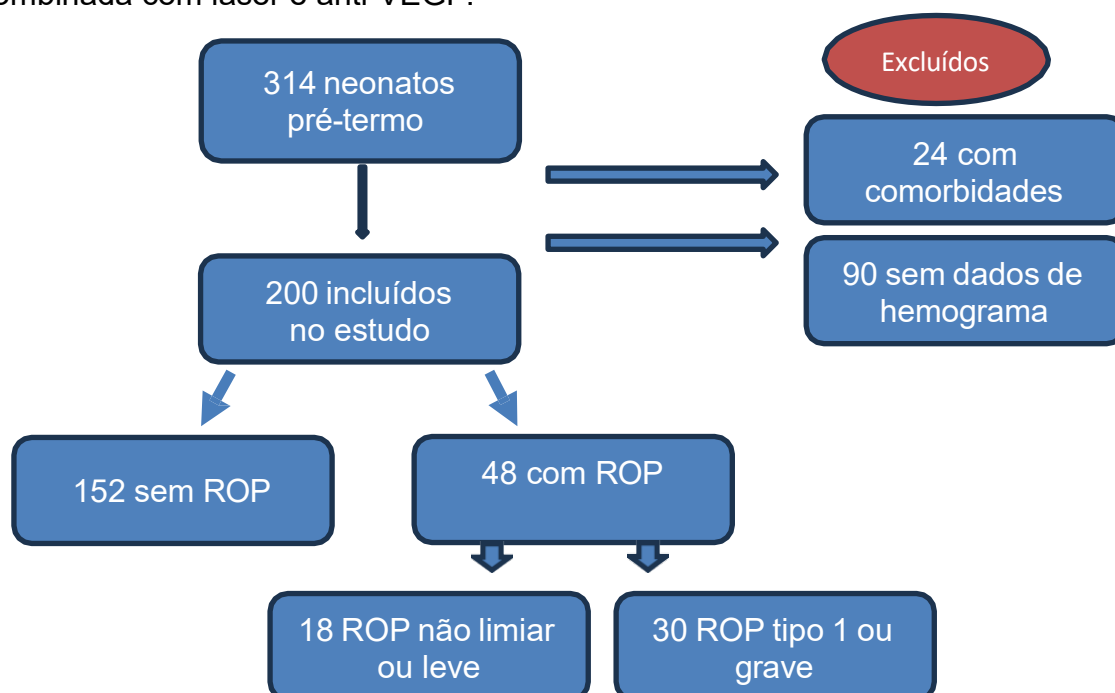


Figura 10. Fluxograma do estudo. Fonte própria.

A IG média da coorte geral foi de $28,91 \pm 2,36$ semanas e o PN médio foi de $1183 \pm 342,86$ g. A idade gestacional do grupo Sem ROP variou entre 25 e 34 semanas, com média e desvio padrão de $29,70 \pm 1,31$. O peso ao nascimento variou entre 710 e 2200 g, com média e desvio padrão de $1289,14 \pm 304,54$.

No grupo com ROP leve a IG variou entre 23 e 30 semanas, com média e desvio padrão de $26,89 \pm 7,87$. O peso ao nascimento variou entre 625 e 1565g, com média e desvio padrão de $939,17 \pm 249,71$. No grupo com ROP grave a IG variou entre 23 e 31 semanas, com média e desvio padrão de $26,07 \pm 1,66$. O peso ao nascimento variou entre 500 e 1335g com média e desvio padrão de $795,50 \pm 189,46$.

Cento e quarenta e seis neonatos utilizaram oxigênio suplementar com ventilação mecânica (73%) e cento e quatro (52%) foram submetidos à transfusão de sangue. Trinta e nove deles (19,5%) nasceram de parto gemelar. As Tabelas 1 e 2 mostram as características demográficas, clínicas e o tratamento realizado nos 200 neonatos pré-termo.

Tabela 1. Dados demográficos e clínicos dos 200 neonatos com e sem ROP.

Grupo	Sem ROP n=152	Com ROP leve n=18	Com ROP grave n=30	p
Gênero(masc), n(%)	78 (51,3%)	6 (33,33%)	14 (46,66%)	0,3397
IG média(sem) $\pm$ DP	$29,70 \pm 1,31$	$26,89 \pm 7,87$	$26,07 \pm 1,66$	<,0001
IG Variação	25 a 34	23 a 30	23 a 31	<,0001
PN(g) $\pm$ DP	$1289,14 \pm 304,54$	$939,17 \pm 249,71$	$795,50 \pm 189,46$	<,0001
PN(g) variação	710 e 2200	625 e 1565	500 e 1335	<,0001
Peso 2 sem (g) $\pm$ DP	$1334,11 \pm 298,72$	$931,39 \pm 274,88$	$821,17 \pm 185,13$	<,0001
Peso 6 sem (g) $\pm$ DP	$1935,55 \pm 385,89$	$1471,47 \pm 395,22$	$1180,17 \pm 376,95$	<,0001
Ganho P 2 sem (g)	$45,82 \pm 106,93$	$9,44 \pm 70,31$	$26,33 \pm 70,65$	0,2522
Ganho P 6 sem (g)	$640,24 \pm 232,24$	$557,94 \pm 255,67$	$412,40 \pm 171,02$	<,0001
Vent. Mec., n(%)	101(66,44%)	16 (88,88%)	29 (96,66%)	0,0008
Transfusão	89 (58,55%)	13 (72,22%)	28 (93,33%)	<,0001
Gemelaridade, n(%)	29	02	07	0,5789

Masc: masculino, n: número, %: porcentagem, IG: idade gestacional, PN: peso ao nascimento, DP: desvio padrão, sem: semanas, g: gramas, ROP: retinopatia da prematuridade, P: peso, Vent: ventilação, Mec: mecânica.

Tabela 2. Tratamentos realizados nos 30 neonatos pré-termo do grupo ROP grave.

IG	Laser	Anti VEGF	Laser + Anti VEGF
23-25 sem (n=12)	5 (41,6%)	3 (25%) [1 ROP zona 1 2 A-ROP	4 (33,4%) [2 ROP zona 1 2 A-ROP
26-28 sem (n=16)	8 (50%)	3 (18,7%) [1 ROP zona 1 2 A-ROP	5 (31,3%) [3 ROP zona 1 2 A-ROP
29-31 sem (n=2)	0 (0%)	1(50%)	1(50%)

IG: idade gestacional, sem: semanas, n=número, VEGF: *Vascular endothelial growth fator*. ROP: retinopatia da prematuridade, A-ROP: retinopatia da prematuidade agressiva. %: porcentagem.

4.2. Avaliação Laboratorial

Os valores do número absoluto e médias de plaquetas, neutrófilos, linfócitos e monócitos, das razões neutrófilo-linfócito (RNL), plaqueta-linfócito (RPL) e linfócito- monócito (RLM), e do índice de inflamação imune sistêmica - SII, dos 200 neonatos pré-termos nos dois períodos (primeiro hemograma até 72 horas de vida e 30 dias de vida) estão descritos nas Tabelas 3 e 4. O comportamento dos parâmetros durante as fases da ROP nos períodos analisados (72 horas e 30 dias) é mostrado na tabela 5.

Os valores de *Odds Ratio* (OR) e respectivos intervalos de confiança (IC) para os fatores de risco hematológicos, das primeiras 72 horas e de 30 dias de vida, dos neonatos pré-termo dos grupos com e sem ROP, se encontram na Tabela 6.

Tabela 3: Média dos valores sanguíneos absolutos, razões e SII, com até 72 horas e 30 dias de vida, dos neonatos pré-termo com e sem ROP.

	Sem ROP (n=152)	ROP (n=48)	P
Hemograma 72 horas ($\times 10^3/\text{dL}$)			
Média $\pm$ DP			
Contagem Neutrófilos	43,60 $\pm$ 17,56	42,90 $\pm$ 25,49	0,8301
Contagem Linfócitos	45,24 $\pm$ 45,69	43,30 $\pm$ 19,47	0,6275
Contagem Monócitos	10,60 $\pm$ 7,02	10,37 $\pm$ 6,55	0,8308
Contagem Plaquetas	204,70 $\pm$ 78,17	205,33 $\pm$ 90,60	0,9628
RNL	1,55 $\pm$ 1,57	1,54 $\pm$ 1,94	0,9472
RPL	6,30 $\pm$ 4,99	6,84 $\pm$ 8,74	0,2001
RLM	6,69 $\pm$ 7,88	6,70 $\pm$ 8,39	0,9696
SII	68,26 $\pm$ 94,11	72,36 $\pm$ 119,83	<0,0001
Hemograma 30 dias ($\times 10^3/\text{dL}$)			
Média $\pm$ DP			
Contagem Neutrófilos	34,74 $\pm$ 13,26	33,19 $\pm$ 12,78	0,4606
Contagem Linfócitos	46,79 $\pm$ 15,17	48,37 $\pm$ 15,28	0,5310
Contagem Monócitos	9,78 $\pm$ 5,15	11,02 $\pm$ 5,25	0,1489
Contagem Plaquetas	348,10 $\pm$ 146,30	375,65 $\pm$ 172,80	0,2781
RNL	1,04 $\pm$ 1,31	1,03 $\pm$ 1,36	0,9612
RPL	8,76 $\pm$ 7,11	8,88 $\pm$ 5,3	0,8007
RLM	7,78 $\pm$ 15,14	6,30 $\pm$ 5,89	0,0009
SII	327,31 $\pm$ 373,66	331,24 $\pm$ 337,73	0,1901

SII: índice de inflamação imune sistêmica, RNL: razão neutrófilo-linfócito, RPL: razão plaqueta-linfócito, RLM: razão linfócito-monócito, dL: decilitros, n=número, DP: desvio padrão.

Tabela 4. Média dos valores sanguíneos absolutos, razões e de SII de 72 horas e 30 dias de vida, nos Grupos ROP leve (não tratada) e ROP grave (tratada).

Variáveis	ROP Leve (n=18)	ROP Grave (n=30)	P
Hemograma 72 horas			
(x10 ³ /dL)			
Contagem Neutrófilos	51,59 ± 24,71	37,68±24,90	0,0667
Contagem Linfócitos	38,14±15,34	46,40±21,22	0,1663
Contagem Monócitos	11,21± 6,72	9,87±6,5	0,4687
Contagem Plaquetas	230,44 ± 113	190,26±72,05	0,1385
RNL	1,76 ± 1,58	1,40 ± 2,14	0,3445
RPL	8,22±10,38	6,01±7,68	0,005
RLM	5,00±4,79	7,72±9,88	0,0003
SII	111,37±185,45	48,95±40,00	<0,0001
Hemograma 30 dias			
(x10 ³ /dL)			
Contagem Neutrófilos	36,37±12,07	31,29±13,01	0,1724
Contagem Linfócitos	43,22±18,30	51,46±12,48	0,0699
Contagem Monócitos	11,45±6,48	10,76±4,46	0,6673
Contagem Plaquetas	324,07±110,79	406,60±196,36	0,11
RNL	1,42±1,75	0,8±1,04	0,045
RPL	9,52±6,46	8,5±4,55	0,2516
RLM	6,27±6,79	6,33±5,40	0,9363
SII	395,15±395,97	292,90±298,14	<0,0001

IG: idade gestacional, PC: pós-conceptual, SII: índice de inflamação imune sistêmica, RNL: razão neutrófilo-linfócito, RPL: razão plaqueta-linfócito, RLM: razão linfócito- monócito, dl: decilitros, N=número.

Tabela 5. Comportamento dos parâmetros do hemograma e SII durante as fases da ROP e os períodos analisados (72 horas e 30 dias).

	ROP- 72 hs	ROP 30 dias	ROP grave 72hs	ROP grave 30d
RLM				
RNL				
RPL				
SII				

SII: índice de inflamação imune sistêmica, RNL: razão neutrófilo-linfócito, RPL: razão plaqueta-linfócito, RLM: razão linfócito-monócito, hs: horas, d:dia.

Tabela 6. Valores de *Odds ratio* (OR) e intervalos de confiança (IC) para os fatores de risco hematológicos de 72 horas e 30 dias de vida para o desenvolvimento de ROP.

Variáveis	OR	IC 95%		P
		Inferior	Superior	
Neutrófilos 72 horas de vida	0,996	0,976	1,016	0,6959
Linfócitos 72 horas de vida	0,997	0,984	1,01	0,6574
Monócitos 72 horas de vida	0,997	0,950	1,047	0,8993
Plaquetas 72 horas de vida	1,000	0,996	1,004	0,8688
RNL 72 horas de vida	0,819	0,539	1,244	0,3489
RPL 72 horas de vida	1,066	0,945	1,202	0,3006
RLM 72 horas de vida	0,996	0,952	1,043	0,8786
SII 72 horas de vida	0,999	0,995	1,004	0,7309
Neutrófilos 30 dias de vida	1,005	0,965	1,004	0,8047
Linfócitos 30 dias de vida	1,015	0,977	1,055	0,4369
Monócitos 30 dias de vida	1,061	0,990	1,137	0,0915
Plaquetas 30 dias de vida	1,001	0,999	1,003	0,3191
RNL 30 dias de vida	00,998	0,631	1,579	0,9937
RPL 30 dias de vida	1,001	0,891	1,124	0,9879
RLM 30 dias de vida	0,986	0,944	1,031	0,541
SII 30 dias de vida	1,000	0,997	1,003	0,9658

SII: índice de inflamação imune sistêmica, RNL: razão neutrófilo-linfócito, RPL: razão plaqueta-linfócito, RLM: razão linfócito- monócito.

4.3. ROPScore

Foram coletados dados do ROPScore aferido na segunda e na sexta semana de vida. Os valores dos 200 neonatos pré-termos dos três grupos estão apresentados na Tabela 7.

Tabela 7. Valores do ROPScore de duas e seis semanas, nos grupos Sem ROP, ROP leve e ROP grave.

	Sem ROP	ROP Leve	ROP Grave
ROPScore 2ª sem	13,96 ± 2,60	17,11 ± 2,10	18,45 ± 1,29
Variação	(7,79 – 19,07)	(11,00 – 20,18)	15,28 – 20,20)
ROPScore 6ª sem	13,27 ± 2,57	17,23 ± 1,71	17,72 ± 1,41
Variação	(7,44 – 18,39)	(12,20 – 19,37)	(12,70 – 19,60)

ROP: retinopatia da prematuridade, ROPScore: *The Retinopathy of Prematurity Score*, sem: semana.

As tabelas 8 a 11 mostram as modificações feitas na fórmula original do ROPScore, com a inserção dos fatores de risco hematológicos, cujos valores médios tiveram significância estatística na comparação entre grupos (SII de 72 horas e 30 dias, RLM de 72 horas e RPL de 72 horas).

Tabela 8. Avaliação dos parâmetros utilizados para cálculo de ROPScore de 6 semanas, incluindo o SII de 30 dias.

Variáveis	Estimativa	Erro Padrão	P
PN	-0,00606	0,00059801	<,0001
IG	-0,33523	0,03621	<,0001
Transfusão	1,60436	0,13783	<,0001
Vent.Mec.	2,11167	0,14996	<,0001
P 6 sem	0,00251	0,00053987	<,0001
GP 6 sem	-0,00273	0,0005771	<,0001
SII 30 dias	-0,00004134	0,00016303	0,8001
		R-Square (R²)	0,9273

P: peso, PN: peso ao nascimento, IG: idade gestacional, Vent. Mec.: ventilação mecânica, GP: ganho de peso, SII: índice de inflamação imune sistêmica, R-Square (R²): coeficiente de determinação.

Tabela 9. Avaliação dos parâmetros utilizados para cálculo de ROPScore de 2 semanas, incluindo o SII de 72 horas.

Variáveis	Estimativa	Erro Padrão	P
PN	-0,0034	0,00145	0,0198
IG	-0,27651	0,03034	<.0001
Transfusão	1,56789	0,10291	<.0001
Vent.Mec.	1,85854	0,10994	<.0001
P 6 sem	-0,0009611	0,00146	0,5115
GP 6 sem	-0,0006902	0,0015	0,6451
SII 72 hs	0,00001576	0,0000984	0,8624
R-Square (R²)			0,9578

P: peso, PN: peso ao nascimento, IG: idade gestacional, Vent. Mec.: ventilação mecânica, GP: ganho de peso, SII: índice de inflamação imune sistêmica, R-Square (R²): coeficiente de determinação.

Tabela 10. Avaliação dos parâmetros utilizados para cálculo de ROPScore de 2 semanas, incluindo o RLM de 72 horas.

Variáveis	Estimativa	Erro Padrão	P
PN	-0,00341	0,00144	0,0191
IG	-0,27785	0,02952	<.0001
Transfusão	1,56716	0,10262	<.0001
Vent.Mec.	1,85844	0,10958	<.0001
P 6 sem	-0,0009459	0,00145	0,5163
GP 6 sem	-0,0007099	0,00149	0,6342
RLM 72 horas	-0,0001682	0,00558	0,003
R-Square (R²)			0,958

P: peso, PN: peso ao nascimento, IG: idade gestacional, Vent. Mec.: ventilação mecânica, GP: ganho de peso, RLM: razão linfócito-monócito, R-Square (R²): coeficiente de determinação.

Tabela 11. Avaliação dos parâmetros utilizados para cálculo de ROPScore de 2 semanas, incluindo o RPL de 72 horas.

Variáveis	Estimativa	Erro Padrão	P
PN	-0,0034	0,00145	0,0197
IG	-0,27757	0,03039	<,0001
Transfusão	1,56733	0,10242	<,0001
Vent.Mec.	1,85843	0,10955	<,0001
P 6 sem	-0,00095	0,00146	0,5154
GP 6 sem	-0,0007	0,00149	0,6386
RPL 72 horas	0,00036	0,00754	0,9619
R-Square (R²)			0,958

P: peso, PN: peso ao nascimento, IG: idade gestacional, Vent. Mec.: ventilação mecânica, GP: ganho de peso, RPL: razão plaqueta linfócito, R-Square (R²): coeficiente de determinação.

A acurácia do ROPScore em detectar o surgimento da ROP na população estudada foi determinada por curvas ROC (*Receiver Operating Characteristic*) e os pontos de corte para sensibilidade e especificidade foram obtidos dos valores contínuos do escore e ajustados para a presente coorte. Os valores de sensibilidade, especificidade, valor preditivo positivo e negativo do ROPScore aferido na 6^a semana de vida pela fórmula original e pela fórmula modificada pela inserção do SII de 30 dias, para ROP em qualquer estágio e para ROP grave estão apresentados na Tabela 12.

Os valores de sensibilidade, especificidade, valor preditivo positivo e negativo do ROPScore aferido na 2^a semana de vida pela fórmula original e pela fórmula modificada pela inserção do SII, LMR e PLR de 72 horas, para Rop em qualquer estágio e para Rop grave estão apresentados na Tabela 13.

Os pontos de corte para ROP em qualquer estadiamento e ROP grave, na aferição na segunda semana de vida foram de 16,8 e 17 pela fórmula original e 17,1 e 16 pela fórmula modificada.

Para o ROPScore aferido na sexta semana, os pontos de corte para ROP em qualquer estadiamento e ROP grave, foram de 16,6 e 16,4 pela fórmula original e 16,5 e 17 pela fórmula modificada.

Tabela 12. Acurácia final do ROPScore de 6 semanas o para desenvolvimento de ROP. Valores de sensibilidade, especificidade, valor preditivo positivo e negativo e seus respectivos intervalos de confiança a 95%.

ROPScore	Qualquer estadiamento de ROP		ROP grave	
	6 sem	6 sem + SII 30d	6sem	6 sem + SII 30d
Pontos de Corte	≥16,6	≥16,5	≥16,4	≥17
Sensibilidade	0,83	0,81	0,87	0,87
Especificidade	0,82	0,82	0,79	0,8
VPP	0,65	0,65	0,41	0,36
VPN	0,95	0,94	0,77	0,97

ROP: retinopatia da prematuridade; sem: semana, VPP: valor preditivo positivo; VPN: valor preditivo negativo, d: dia, ROPScore: *The Retinopathy of Prematurity Score*.

Tabela 13. Acurácia final do ROPScore de 2 semanas o para desenvolvimento de ROP. Valores de sensibilidade, especificidade, valor preditivo positivo e negativo e seus respectivos intervalos de confiança a 95%.

ROPScore	Qualquer estadiamento de ROP		ROP grave	
	2 sem	2 sem + (SII, LMR e PLR) de 72 hs	2 sem	2 sem + (SII, LMR e PLR) de 72 hs
Pontos de Corte	≥16,8	≥17,1	≥16	≥17
Sensibilidade	0,80	0,81	0,90	0,9
Especificidade	0,80	0,81	0,80	0,8
VPP	0,57	0,67	0,52	0,46
VPN	0,92	0,92	0,98	0,98

ROP: retinopatia da prematuridade; sem: semana, hs: horas, VPP: valor preditivo positivo; VPN: valor preditivo negativo. ROPScore: *The Retinopathy of Prematurity Score*,

Na Tabela 14 e Figura 11 estão descritos e representados graficamente os valores da área sob a curva ROC do ROPScore de 6 semanas para prever o desenvolvimento de ROP, pela fórmula original e Eckert et al. e pela fórmula modificada com a inclusão do SII de 30 dias.

Tabela 14. Áreas sob a curva do ROPScore na 6ª semana e ROPScore modificado com SII, para o desenvolvimento de ROP e seus respectivos intervalos de confiança.

	Área sob a curva ROC	P	IC 95%
ROPScore 6 sem	0,923	<0,0001	0,0879 a 0,968
SII 30 dias	0,920	<0,0001	0,880 a 0,961

ROP: retinopatia da prematuridade, SII: índice de inflamação imune sistêmica, IC: intervalo de confiança, Sem: semana, ROPScore: *The Retinopathy of Prematurity Score*, Nível de confiança < 0,05.

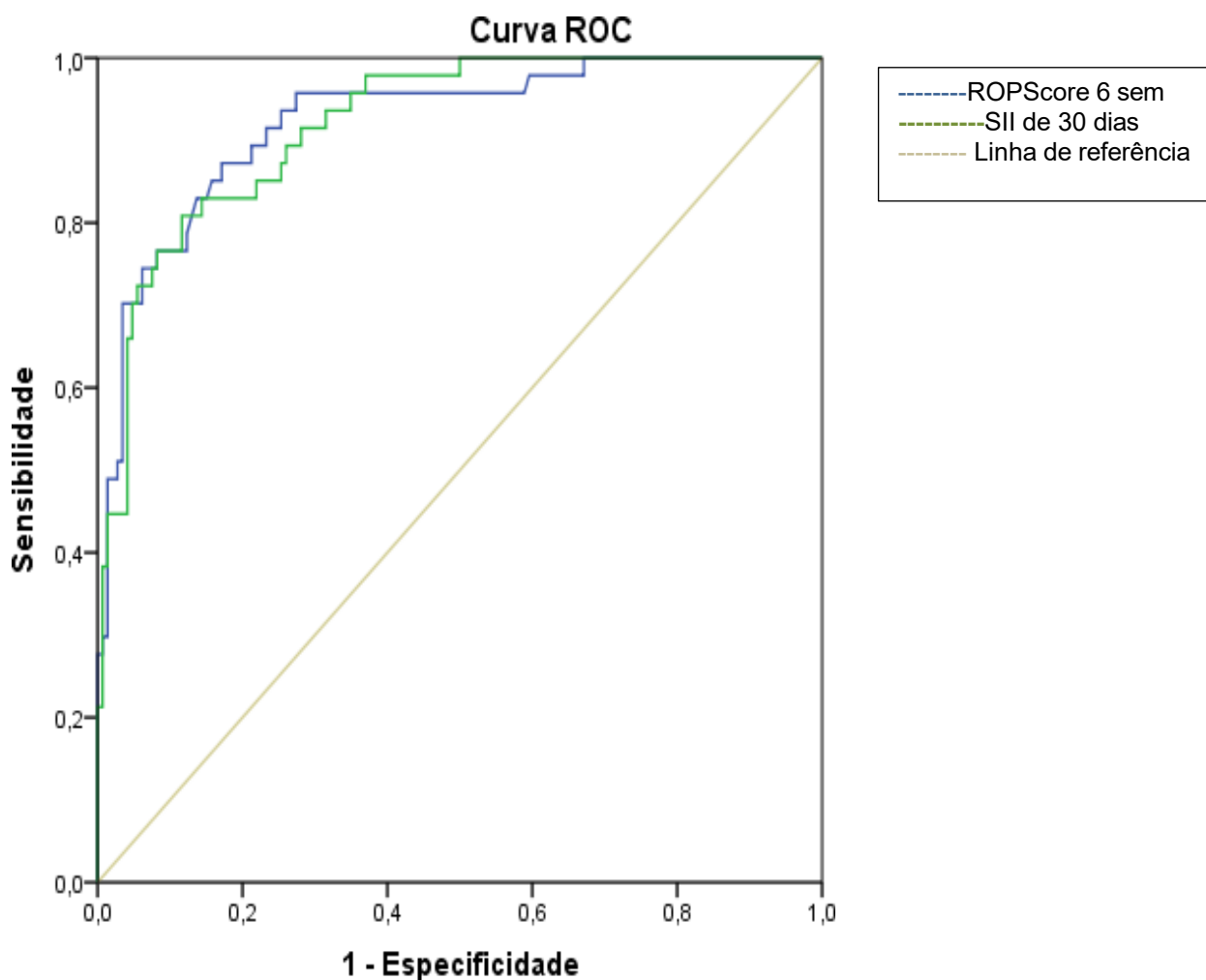


Figura 11. Curvas ROC do ROPScore na 6ª semana original e modificado pelo SII de 30 dias, para o desenvolvimento de ROP.

Na Tabela 15 e na Figura 12 estão descritos e representados graficamente os valores da área sob as curvas ROC do ROPScore de 2 semanas para prever o desenvolvimento de ROP, pela fórmula original e Eckert et al. e pela fórmula modificada com a inclusão dos fatores de risco: SII, RLM e LPR de 72 horas.

Tabela 15. Áreas sob a curva do ROPScore na 2ª semana e ROPScore modificado com SII, LMR e PLR de 72 horas, para o desenvolvimento de ROP e seus respectivos intervalos de confiança.

	Área sob a curva ROC	P	IC 95%
ROPScore 2 sem	0,919	<0,0001	0,0880 a 0,958
SII 72 horas	0,931	<0,0001	0,895 a 0,968
RLM 72 horas	0,931	<0,0001	0,895 a 0,968
RPL 72 horas	0,932	<0,0001	0,895 a 0,968

ROP: retinopatia da prematuridade, SII: índice de inflamação imune sistêmica, ROC: Receiver Operating Characteristic. IC: intervalo de confiança, SII: índice de inflamação imune sistêmica, RLM: razão linfócito-monócito, RPL: razão plaqueta-monócito, Sem: semana, Nível de confiança < 0,05.

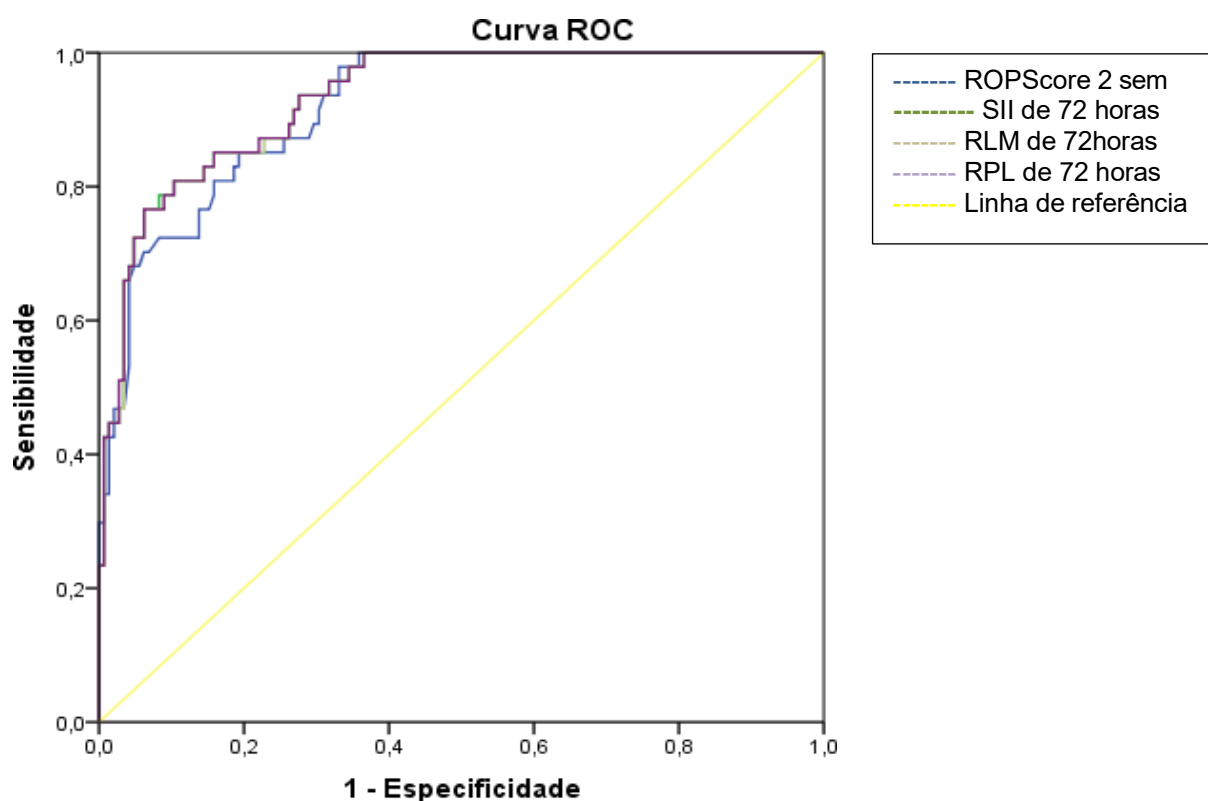


Figura 12. Curvas ROC do ROPScore na 2ª semana original e modificado pelo SII, RLM e RPL de 30 dias, para o desenvolvimento de ROP.

Na Tabela 16 e na Figura 13 estão descritos e representados graficamente os valores da área sob a curva ROC do ROPScore de 6 semanas para prever o desenvolvimento de ROP grave, pela fórmula original e Eckert et al. e pela fórmula modificada com a inclusão do SII de 30 dias.

Tabela 16. Áreas sob a curva do ROPScore na 6ª semana e ROPScore modificado com SII, para o desenvolvimento de ROP grave e seus respectivos intervalos de confiança.

	Área sob a curva ROC	P	IC 95%
ROPScore 6 sem	0,904	<0,0001	0,0850 a 0,958
SII 30 dias	0,916	<0,0001	0,864 a 0,967

ROP: retinopatia da prematuridade, SII: índice de inflamação imune sistêmica, IC: intervalo de confiança, Sem.: semana, ROPScore: *The Retinopathy of Prematurity Score*, Nível de confiança < 0,05.

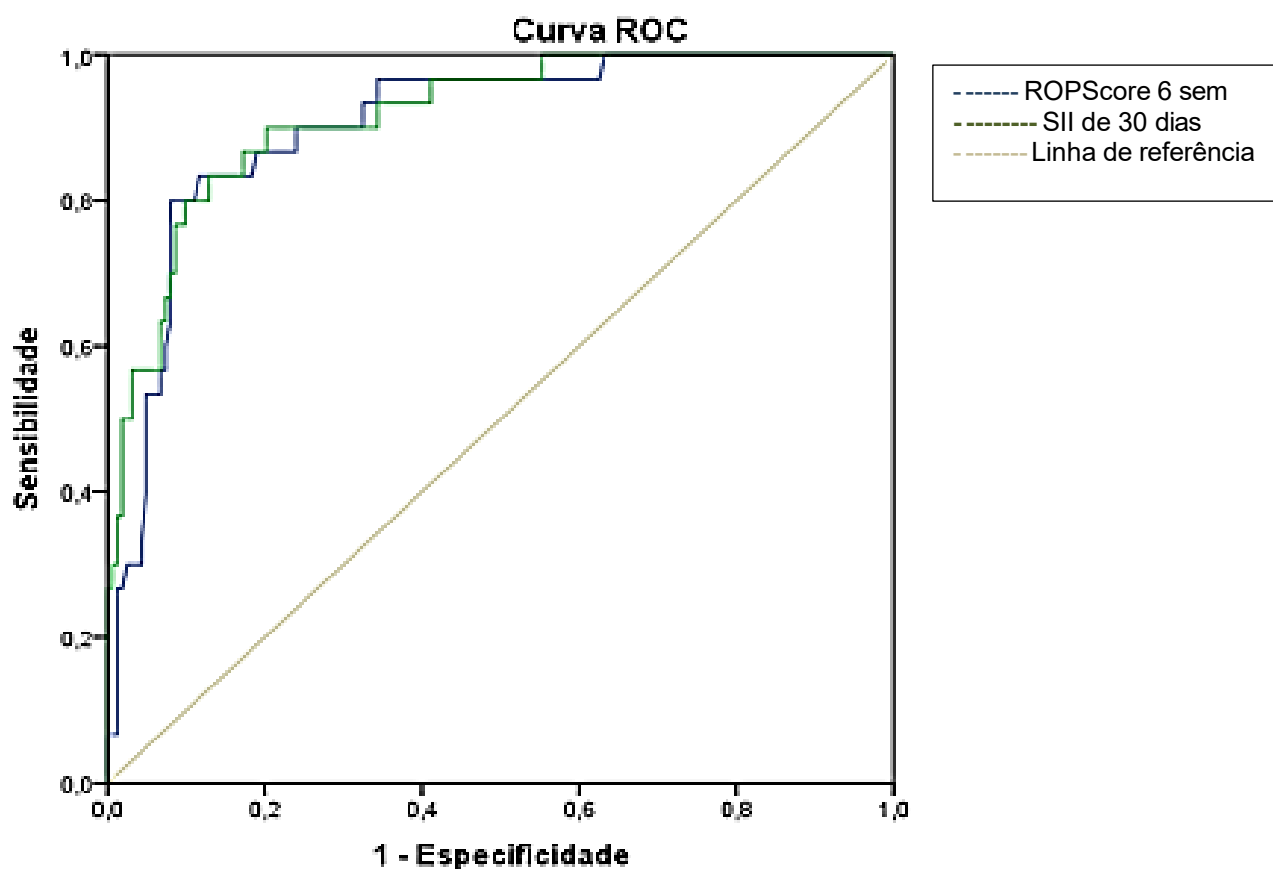


Figura 13. Curvas ROC do ROPScore na 6ª semana original e modificado pelo SII, RLM e RPL de 30 dias, para o desenvolvimento de ROP grave.

Na Tabela 17 e na Figura 14 estão descritos e representados graficamente os valores da área sob as curvas ROC do ROPScore de 2 semanas para prever o desenvolvimento de ROP grave, pela fórmula original e Eckert et al. e pela fórmula modificada com a inclusão dos fatores de risco: SII, RLM e LPR de 72 horas.

Tabela 17. Áreas sob a curva do ROPScore na 2ª semana e ROPScore modificado com SII, LMR e RPL de 72 horas, para o desenvolvimento de ROP grave e seus respectivos intervalos de confiança.

	Área sob a curva ROC	P	IC 95%
ROPScore 2 sem	0,932	<0,0001	0,0890 a 0,974
SII 72 horas	0,932	<0,0001	0,890 a 0,973
RLM 72 horas	0,932	<0,0001	0,890 a 0,974
RPL 72 horas	0,934	<0,0001	0,879 a 0,969

ROP: retinopatia da prematuridade, SII: índice de inflamação imune sistêmica, ROC: *Receiver Operating Characteristic*. IC: intervalo de confiança, SII: índice de inflamação imune sistêmica, RLM: razão linfócito-monócito, RPL: razão plaqueta-monócito, Sem: semana, Nível de confiança < 0,05.

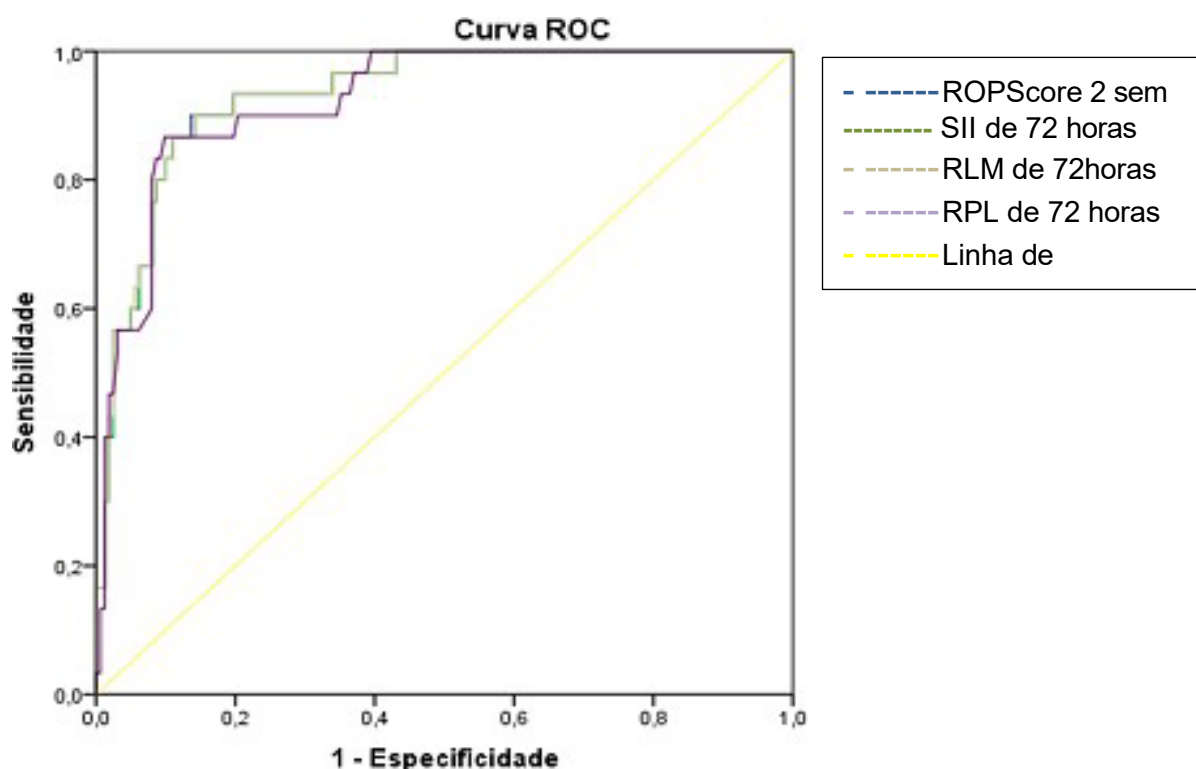


Figura 14. Curvas ROC do ROPScore na 2ª semana original e modificado pelo SII, RLM e RPL de 30 dias, para o desenvolvimento de ROP grave.

Discussão

5. Discussão

A retinopatia da prematuridade é uma doença multifatorial, o que enseja uma combinação de estratégias preventivas como tentativa de reduzir o risco de cegueira pela doença. Nos últimos anos, vários modelos de predição tem sido desenvolvidos e validados, na tentativa de expandir os critérios tradicionais de triagem da ROP, incluindo novos fatores de risco, que possam identificar de forma mais precoce a ROP grave¹⁰¹.

O ROPScore tem sido utilizado em vários serviços de referência em ROP no Brasil, pela facilidade de aferição na clínica diária, e já passou por ajustes motivados pela perda de detecção em casos de ROP grave e A-ROP, que ocorrem antes da sexta semana de vida, momento preconizado pelo estudo original⁷². Ainda assim, sua sensibilidade varia quando testado em populações diferentes, especialmente fora do Brasil⁷³.

O estudo coorte aqui apresentado teve como objetivo avaliar o comportamento de alguns dos novos fatores de risco para ROP propostos na literatura, os biomarcadores inflamatórios, e verificar se os mesmos poderiam contribuir para aumentar a acurácia do ROPScore.

As características da população estudada foram semelhantes às de outros estudos coorte na literatura, com relação à média do PN e IG^{33,102}. Também há semelhanças quando se analisa a relação inversa do PN e IG, com a prevalência de ROP e ROP grave^{103,104}. Porém, quando se compara somente o grupo de neonatos que desenvolveu ROP e não precisou de tratamento com o grupo que evoluiu para ROP grave, nota-se que a IG gestacional média foi semelhante (em torno de 26 semanas) e a média do PN foi baixa nos dois grupos (939g e 795g, respectivamente). Estes resultados evidenciam a imaturidade da população de neonatos estudada.

A prevalência geral da ROP (24%) na coorte geral foi compatível com outros estudos nacionais (29,9% em São Paulo¹⁵, 27,8% no Rio de Janeiro¹⁶, 24,2% no Rio Grande do Sul¹⁰⁵, e semelhante à de alguns estudos europeus (23,8% em Portugal, 21,4%, na Itália)^{106,107}. No entanto a porcentagem de ROP grave (15% da coorte, e 62,5% dos neonatos que desenvolveram a doença) nesta população, foi maior que a de estudos semelhantes, em Portugal (6,1%)¹⁰⁶, Brasil (5,3%)³³, China (5,2%)¹⁰⁸ e EUA (10,2%)¹⁰⁹, resultado que reforça o perfil frágil dos neonatos incluídos

no estudo.

Com relação aos biomarcadores inflamatórios do hemograma, os resultados desta coorte mostraram que nenhum deles se comportou como fator de risco independente para o desenvolvimento de ROP, apesar de, na comparação entre o grupo Sem ROP e o de neonatos com ROP em qualquer estadiamento, ter havido diferença estatisticamente significativa entre os valores médios do índice de inflamação imune sistêmica (SII) de 72 horas, que aumentou na ROP ($p < 0,0001$) e da razão linfócito/monócito (RLM) de 30 dias, que diminuiu nos neonatos com ROP ($p = 0,0009$).

Na comparação entre o grupo ROP leve e ROP grave, com 72 horas, também houve diferença estatisticamente significativa entre os valores médios da razão linfócito/monócito (RLM), que aumentou na ROP grave ($p = 0,0003$), da razão linfócito/plaqueta (RLP), que diminuiu na ROP grave ($p = 0,005$), e do índice de inflamação imune sistêmica (SII), que apresentou valores bem menores na ROP grave ($p < 0,0001$). Na avaliação com 30 dias, nesta comparação, o SII continuou mais baixo na ROP grave, mas com diferença menor para com os valores dos neonatos que não precisaram ser tratados ($p < 0,0001$). Estes parâmetros podem estar associados ao desenvolvimento da ROP, mas os resultados não foram significativos na análise de regressão.

Existem poucos estudos tratando deste assunto na literatura. No Brasil, este é o primeiro. O único estudo publicado que aborda o papel do SII como marcador inflamatório, na ROP, é o de Akdogan et al.⁹⁸

Os autores incluíram dados de neonatos com e sem ROP e avaliaram hemogramas colhidos ao nascimento e com 30 dias de vida. Os valores de SII do estudo de Akdogan et al. também foram maiores nos neonatos que desenvolveram ROP, no hemograma colhido ao nascimento, porém eles não constatarem queda do índice com a evolução para ROP grave, como ocorreu na nossa população. Segundo os autores, o índice de inflamação imune sistêmica e as razões RLM e PLR podem ser aceitos como preditores independentes de ROP.

Apesar destas conclusões, Akdoba et al.⁹⁸ receberam críticas sobre a metodologia e análise estatística utilizadas no estudo, que podem ter comprometido os seus resultados. Na análise crítica publicada, Lingam Gopal¹¹⁰, teceu comentários enfatizando que nenhum ajuste foi feito para os principais fatores de risco da ROP (IG, PN, oxigênio suplementar), que foram significativos na análise univariada. O

mesmo ocorreu com a análise do risco de gravidade da ROP, onde os autores não incluíram a IG e o PN, e com as curvas ROC, que não foram ajustadas em função dos fatores de confusão. Segundo Gopal, com estas inconsistências metodológicas, não se pode afirmar que a inflamação foi um preditor independente de ROP no referido estudo. Estas diferenças metodológicas podem ter sido responsáveis pelas divergências entre os resultados do estudo de Akdoban et al.⁹⁸ e os obtidos nesta coorte. Outros estudos investigaram algumas razões hematológicas em separado e encontraram resultados diferentes.

A razão RNL, que quantifica a neutrofilia (indicador de inflamação) e linfopenia (indicador de estresse fisiológico), é um valioso instrumento para avaliar quadros inflamatórios sistêmicos. Na presente coorte, a significância da associação entre a RNL e a ROP não foi demonstrada pela análise multivariada. Kurtul et al. avaliaram a relação entre a RNL e o desenvolvimento de ROP por dados de hemograma de 24 horas de vida, e como no nosso estudo, concluíram que esta razão não se comportou como um fator preditor independente⁹⁶. Outro estudo que não encontrou relação da RNL com ROP grave foi Ozturk et al.⁹⁹.

Akdoban et al., com as ressalvas já referidas em relação à metodologia do estudo, concluíram que a RNL é um fator de risco independente para o desenvolvimento da ROP⁹⁸.

Já Obata et al. estudando também a RNL, concluíram que ela não foi um fator de risco para o desenvolvimento de ROP, porém, o foi, para os casos de ROP grave⁹⁷. Segundo os autores, não ficou claro o motivo pelo qual a RNL contribuiu para a doença grave, mas não para o aparecimento dela. Segundo eles, a razão poderia ser o fato de que os neonatos que necessitam de tratamento, em geral, apresentam comorbidades e estado geral precário, ao contrário dos que não evoluem para as formas graves.

No entanto, o artigo de Obata et al.⁹⁷ foi questionado por Asensio-Sanchez¹¹² pela falta de informações sobre outros marcadores inflamatórios, como a proteína C reativa de alta sensibilidade e sobre quadros infecciosos que poderiam aumentar o risco de ROP grave e que teriam como um dos marcadores diagnósticos, a própria RNL.

Hu et al. avaliaram as razões RNL, RLM e RPL do hemograma de 24 horas e somente a RLM foi considerada fator independente para ROP. Eles encontraram valores maiores de RLM nos neonatos pré-termos com ROP, e conseguiram mostrar

a associação dela com a análise de regressão logística¹¹³, o que não ocorreu na presente coorte.

Poucos estudos avaliaram a razão RPL. Hu et al.¹¹³ não encontraram relação com ROP e Ozturk et al.⁹⁹ concluíram que a RPL não parece ser fator preditivo de ROP grave. Já Akdogan et al.⁹⁸, indicaram a RPL como fator de risco independente para ROP.

Como foi exposto, os estudos que tratam do papel dos biomarcadores inflamatórios na ROP são muito heterogêneos quanto à metodologia e análise estatística, o que dificulta a comparação com os nossos resultados. Considerando-se o fato da ROP ser uma doença multifatorial e que os neonatos que desenvolvem a forma grave, com frequência são portadores de comorbidades que podem se comportar como fatores de confusão para a avaliação isolada destes marcadores, será difícil, mesmo com estudos prospectivos, determinar a sua real influência no aparecimento e evolução da ROP.

Outra questão relevante quanto à avaliação dos marcadores do hemograma são os critérios de exclusão de alguns estudos. Na presente coorte decidimos manter os neonatos que fizeram transfusão sanguínea, uma vez que na prática diária, são raros os que desenvolvem a ROP grave e que não passam por este procedimento. Excluir estes dados impossibilita a transferência da evidência obtida para a vida real das UTIs neonatais no Brasil.

Quanto ao ROPScore, os pontos de corte obtidos dos valores contínuos do escore, nesta população foram maiores do que os de encontrados por Eckert et al.⁷⁰, no estudo original e próximos dos valores encontrados nas coortes de Lucio et al.¹⁹ e Simões et al.⁷², também realizadas no HC-FMB, quando aferidos tanto na segunda como na sexta semana de vida.

A modificação dos pontos de corte desta população em relação à de outras coortes, especialmente dos valores da ROP grave que foram menores do que as da ROP em qualquer estágio evidencia as diferenças entre as diversas populações de neonatos pré-termos, sendo que a ora estudada, provavelmente apresentou um conjunto de fatores de risco maior.

O ROPScore ajustado identificou corretamente 46 de 48 neonatos que desenvolveram ROP. Dois não foram identificados, ambos do grupo com ROP grave, nem com o ROPScore aferido na 2ª semana, nem com o da 6ª semana.

Algoritmos que envolvem ganho de peso têm sensibilidade adequada e

razões de verossimilhança negativas para fornecer certeza razoável na exclusão de ROP ou ROP grave. Dadas as implicações de se perder até mesmo um único caso de ROP grave, algoritmos com sensibilidade muito alta (próximo de 100%) e razões de verossimilhança negativas baixas (próximas de zero) são os mais adequados para reduzir com segurança o número de exames desnecessários em neonatos pré-termo com risco mais baixo de ROP grave¹¹⁴.

Baseado neste conceito, procuramos testar as variáveis hematológicas que tiveram significância estatística na fórmula do ROPScore, na tentativa de melhorar a sua performance.

O ajuste de modelos de regressão linear múltipla para o ROPScore de 2 e 6 semanas, com as variáveis explanatórias usuais da fórmula, acrescidas dos biomarcadores RLM e RPL e SII, que se mostraram significativos nas comparações dos valores médios entre grupos, em dois momentos estudados, não mostraram melhora na curva ROP para detectar a ocorrência de ROC. Não houve, portanto, melhora nos valores de sensibilidade, especificidade, valor preditivo positivo e negativo. Não encontramos estudos que pudessem contribuir com a discussão, nesta questão, já que este é o único estudo que testou a modificação da fórmula original do ROPScore.

Nossos resultados evidenciaram que apesar da praticidade na aferição, a performance do ROPScore tende a variar conforme as características da população estudada, e que ele ainda deixa de identificar casos de ROP grave. Não foi possível demonstrar melhora na acurácia do escore com a inclusão de fatores de risco hematológicos.

Numa revisão sistemática que analisou estudos que utilizaram modelos de predição baseados no ganho de peso pós-natal, incluindo o ROPScore, os autores concluíram que estes algoritmos podem não ser ideais para neonatos pré-termos que apresentem um padrão de ganho de peso não fisiológico, como por exemplo, (hidrocefalia, sepse e persistência do canal arterial)¹¹⁴. Sugerem ainda que futuros estudos devem incorporar outros fatores de risco nestes escores, para melhorar seu desempenho diagnóstico, como fizemos nesta pesquisa.

Este estudo teve algumas limitações. Apesar da coorte ter sido prospectiva, a coleta de dados do hemograma foi feita de forma retrospectiva. Ademais, o tamanho amostral foi comprometido pela falta de dados de hemograma, nos períodos estudados.

Em última análise, esta coorte representa a consolidação de uma linha de pesquisa voltada para a descoberta de novos fatores de risco para ROP, e para o estudo de modelos de predição da forma grave da retinopatia. Seus resultados podem servir como base para estudos futuros mais amplos e fornecer insights valiosos para o desenvolvimento de estratégias de triagem mais eficazes para a ROP.

Conclusões

6. Conclusões

Na população estudada, nas condições do estudo clínico e de acordo com os resultados obtidos, podemos concluir que:

1. Na comparação entre os grupos com e sem ROP:
 - a. o valor absoluto médio do SII de 72 horas foi estatisticamente maior no grupo com ROP ($p < 0,0001$).
 - b. o valor absoluto médio da RLM de 30 dias foi estatisticamente menor no grupo com ROP ($p = 0,0009$).
2. Na comparação entre os grupos ROP leve e ROP grave:
 - a. o valor absoluto médio da RLM de 72 horas foi estatisticamente maior no grupo com ROP grave ($p = 0,0003$).
 - b. o valor absoluto médio da RPL de 72 horas foi estatisticamente menor no grupo com ROP grave ($p = 0,005$).
 - c. o valor absoluto médio do SII de 72 horas e de 30 dias foram estatisticamente menores no grupo com ROP grave ($p < 0,0001$).
3. Os biomarcadores inflamatórios do hemograma, razão neutrófilo-linfócito (RNL), linfócito-monócito (RLM), plaqueta-linfócito (RPL), e o índice de inflamação imune sistêmico (SII) não se comportaram como fatores de risco independentes para o desenvolvimento de ROP.
4. O ajuste de modelos de regressão linear múltipla para o ROPScore aferido no final da segunda e da sexta semanas de vida, com as variáveis explanatórias usuais acrescidas dos biomarcadores RLM e RPL e SII, não mostraram melhora na curva ROC para detectar a ocorrência de ROP.

Referências Bibliográficas

7. Referências Bibliográficas¹

1. Perin J, Mulick A, Yeung D, Villavicencio F, Lopez G, Strong KL, et al. Global, regional, and national causes of under-5 mortality in 2000-19: an updated systematic analysis with implications for the Sustainable Development Goals. *Lancet Child Adolesc Health*. 2022;6(2):106-15.
2. Goldenberg RL, Gravett MG, Iams J, et al. The preterm birth syndrome: issues to consider in creating a classification system. *Am J Obstet Gynecol*. 2012; 206(2):113-118.
3. Barros FC, Papageorghiou AT, Victora CG, Noble JA, Pang R, Iams J et al. International Fetal and Newborn Growth Consortium for the 21st Century. The distribution of clinical phenotypes of preterm birth syndrome: implications for prevention. *JAMA Pediatr*. 2015;169(3):220-9.
4. American Academy of Pediatrics/AAP & The American College of Obstetricians and Gynecologists. Guidelines for Perinatal Care Eighth edition. 2017, Elk Grove Village, IL.
5. Daruich A, Bremond-Gignac D, Behar-Cohen F, Kermorvant E. Rétinopathie du prématuré: de la prévention au traitement [Retinopathy of prematurity: from prevention to treatment]. *Med Sci*. 2020;36(10):900-907.
6. Zin A, Glen A, Gole Z, Andrea. Retinopathy of Prematurity- Incidence Today. *Clinics in Perinatology*. 2013; 40(2):185–200. Darlow BA, Gilbert C. Retinopathy of prematurity—a world update. *Semin Perinatol*. 2019;43(6):315–316.
7. Terry TL. Extreme Prematurity and Fibroblastic Overgrowth of Persistent Vascular Sheath Behind Each Crystalline Lens*: I. Preliminary Report. *Am J Ophthalmol*. 1942;25: 203–204.
8. Terry TL. Fibroblastic Overgrowth of Persistent Tunica Vasculosa Lentis in Infants Born Prematurely. *Trans Am Ophthalmol Soc*. 1942;40:262–84.
9. Kim SJ, Port AD, Swan R, Campbell JP, Chan RVP, Chiang MF. Retinopathy of prematurity: a review of risk factors and their clinical significance. *Surv Ophthalmol*. 2018;63(5):618-637.

¹ 1 Elaboradas de acordo com as Diretrizes para Apresentação de Dissertações e Teses do Programa de Pós-graduação em Cirurgia e Medicina Translacional - FMB -UNESP, 2020.

10. Fevereiro-Martins M, Marques-Neves C, Guimarães H, Bicho M. Retinopathy of prematurity: A review of pathophysiology and signaling pathways. *Surv Ophthalmol.* 2023;68(2):175-210.
11. Sabri K, Ells AL, Lee EY, Dutta S, Vinekar A. Retinopathy of Prematurity: A Global Perspective and Recent Developments. *Pediatrics.* 2022;150(3):e2021053924.
12. Blencowe H, Lawn JE, Vazquez T, Fielder A, Gilbert C. Preterm-associated visual impairment and estimates of retinopathy of prematurity at regional and global levels for 2010. *Pediatr Res.* 2013;74(suppl 1):35-49.
13. Norman M, Hellström A, Hallberg B, Wallin A, Gustafson P, Tornqvist K, et al. Prevalence of Severe Visual Disability Among Preterm Children With Retinopathy of Prematurity and Association With Adherence to Best Practice Guidelines. *JAMA Netw Open.* 2019;4;2(1): e186801.
14. Austeng D, Källen KB, Ewald UW, Wallin A, Holmström GE. Treatment for retinopathy of prematurity in infants born before 27 weeks of gestation in Sweden. *Br J Ophthalmol.* 2010;94(9):1136-1139.
15. Graziano RM, Leone CR, Cunha SL, Pinheiro AC. Prevalence of retinopathy of prematurity in very low birth weight infants. *J Pediatr.* 1997;73(6):377–82.
16. Portes ALF, Baraúna H, Jevaux G et al. Clinic and epidemiologic profile of preterm infants with very low birth weight in Rio de Janeiro: 152 patients study. *Rev Bras Oftalmol.* 2010;69(6):389-94.
17. Fortes Filho JB, Lermann VL, Costa MC, Procianoy RS. Prevalência da retinopatia da prematuridade no Centro de Neonatologia do Hospital de Clínicas de Porto Alegre. *Arq Bras Oftalmol.* 2004;67(4 Supl):55.
18. Fortes Filho JB, Procianoy L, Innocente C. Prevalência e tratamento da Retinopatia da Prematuridade pela fotocoagulação com diodo-laser no Centro de Neonatologia do Hospital de Clínicas de Porto Alegre. *Arq Bras Oftalmol.* 2005;68 (4 Supl):25.
19. Lucio KCDV, Bentlin MR, Augusto ACL, Corrente JE, Toscano TBC, Dib RE et al. The ROPScore as a Screening Algorithm for Predicting Retinopathy of Prematurity in a Brazilian Population. *Clinics (Sao Paulo).* 2018; 26;73:e377.

20. Gonçalves E, Nasser L, Martelli D, Alkmim I, Mourao T, Caldeira A, et al. Incidence and risk factors for retinopathy of prematurity in a Brazilian reference service. *Sao Paulo Med J.* 2014;132(2):85–91.
21. Zin A, Magluta C, Pinto MF, Entringer AP, Mendes-Gomes MA, Moreira ME, et al. Retinopathy of prematurity screening and treatment cost in Brazil. *Rev Panam Salud Publica.* 2014;36(1):37-43.
22. Selvam S, Kumar T, Fruttiger M. Retinal vasculature development in health and disease. *Prog. Retin. Eye Res.* 2015; 63:1–19.
23. Dai C, Webster KA, Bhatt A, Tian H, Su G, Li W. Concurrent Physiological and Pathological Angiogenesis in Retinopathy of Prematurity and Emerging Therapies. *Int. J. Mol. Sci.* 2021; 22:4809.
24. Witmer AN, Vrensen GFJM, Van Noorden CJF et al. Vascular endothelial growth factors and angiogenesis in eye diseases. *Retinal and Eye Research.* 2003;22: 1-29.
25. Hughes S, H Yang, T Chan-Ling. Vascularization of the human fetal retina: roles of vasculogenesis and angiogenesis. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 2000;41: 1217-1228.
26. Hartnett ME. Discovering mechanisms in the changing and diverse pathology of retinopathy of prematurity: the Weisenfeld Award Lecture. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 2019; 60:1286-129.
27. Jang JH, Kim YC. Retinal vascular development in an immature retina at 33-34 weeks postmenstrual age predicts retinopathy of prematurity. *Sci Rep.* 2020; 10:18111.
28. Kim SJ, Port AD, Swan R, Campbell JP, Chan RVP, Chiang MF. Retinopathy of prematurity: a review of risk factors and their clinical significance. *Surv Ophthalmol.* 2018;63(5):618-37.
29. Hellström A, Smith LE, Dammann O. Retinopathy of prematurity. *Lancet.* 2013 Oct 26;382(9902):1445-57.
30. Palmer EA, Flynn JT, Hardy RJ, Phelps DL, Phillips CL, Schaffer DB, et al. Incidence and early course of retinopathy of prematurity. The Cryotherapy for Retinopathy of Prematurity Cooperative Group. *Ophthalmology.* 1991;98:1628-40.

31. Schaffer DB, Palmer EA, Plotsky DF, Metz HS, Flynn JT, Tung B et al. Prognostic factors in the natural course of retinopathy of prematurity. The Cryotherapy for Retinopathy of Prematurity Cooperative Group. *Ophthalmology*. 1993;100(2):230-7.
32. Akkoyun I, Oto S, Yilmaz G, Gurakan B, Tarcan A, Anuk D et al. Risk factors in the development of mild and severe retinopathy of prematurity. *J AAPOS*. 2006;10(5):449- 53.
33. Fortes Filho JB, Eckert GU, Procianoy L, Barros CK, Procianoy RS. Incidence and risk factors for retinopathy of prematurity in very low and in extremely low birth weight infants in a unit-based approach in southern Brazil. *Eye*. 2009;23(1):25-30.
34. Owen LA, Morrison MA, Hoffman RO, Yoder BA, DeAngelis MM. Retinopathy of prematurity: A comprehensive risk analysis for prevention and prediction of disease. *PLoS One*. 2017 Feb 14;12(2):e0171467.
35. Lin HJ, Lin CC, Tsai SW, Lin HC, Su BH. Risk factors for retinopathy of prematurity in very low birth-weight infants. *J Chin Med Assoc*. 2003;66(11):662-
36. Cayabyab R, Arora V, Wertheimer F, Durand M, Ramanathan R. Graded oxygen saturation targets and retinopathy of prematurity in extremely preterm infants. *Pediatr Res*. 2016;80(3):401–406.
37. Colaizy TT, Longmuir S, Gertsch K, Abramoff MD, Klein JM. Use of a supplemental oxygen protocol to suppress progression of retinopathy of prematurity. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 2017;58(2):887–91.
38. Shukla A, Sonnie C, Worley S, Sharma A, Howard D, Moore J et al. Comparison of biphasic vs static oxygen saturation targets among infants with retinopathy of prematurity. *JAMA Ophthalmol*. 2019;137(4):417-23.
39. Allergaert K, Vanhole C, Casteels L, Naulaers G, Debeer A, Cossey V, Devlieger H. Perinatal growth characteristics and associated risk of developing threshold retinopathy of prematurity. *JAAPOS*, 7(1):34-37, 2003.
40. Fortes Filho JB, Bonomo PP, Maia M et al. Weight gain measured at 6 weeks after birth as a predictor for severe retinopathy of prematurity: study with 317 very low birth weight preterm babies. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol*. 2009;247(6):831-6.

41. Wallace DK, Kylstra JA, Phillips SJ, Hall JG. Poor postnatal weight gain: a risk factor for severe retinopathy of prematurity. *J AAPOS*. 2000;4(6):343-7.
42. Kim TI, Sohn J, Pi SY, Yoon YH. Postnatal risk factors of retinopathy of prematurity. *Paediatr Perinat Epidemiol*. 2004;18:130-4.
43. Wongnophirun A, Khuwuthyakorn V, Tantiprabha W, Wiwatwongwana A. Association between severe retinopathy of prematurity and postnatal weight gain in very low-birthweight infants at Chiang Mai University Hospital, Thailand. *Paediatr Int Child Health*. 2020;40(2):85-91.
44. An international classification of retinopathy of prematurity. The Committee for the Classification of Retinopathy of Prematurity. *Arch Ophthalmol*. 1984;102(8):1130-4.
45. An international classification of retinopathy of prematurity. II. The classification of retinal detachment. The International Committee for the Classification of the Late Stages of Retinopathy of Prematurity. *Arch Ophthalmol*. 1987;105(7):906-12.
46. The International Classification of Retinopathy of Prematurity revisited. International Committee for the Classification of Retinopathy of Prematurity. *Arch Ophthalmol*. 2005 ;123(7):991-9.
47. Chiang MF, Quinn GE, Fielder AR, Ostmo SR, Paul Chan RV, Berrocal A et al. International Classification of Retinopathy of Prematurity, Third Edition *Ophthalmology*. 2021;128: e51-e68.
48. Hartnett ME, Penn JS. Mechanisms and management of retinopathy of prematurity. *N Engl J Med*. 2012; 27;367(26):2515-26.
49. Zin A, Florêncio T, Fortes Filho JB, Nakanami CR, Gianini N, Graziano RM, et al. Brazilian Society of Pediatrics, Brazilian Council of Ophthalmology and Brazilian Society of Pediatric Ophthalmology. Proposta de diretrizes brasileiras do exame e tratamento de retinopatia da prematuridade (ROP) [Brazilian guidelines proposal for screening and treatment of retinopathy of prematurity (ROP)]. *Arq Bras Oftalmol*. 2007;70(5):875-83.

50. Jiang JB, Zhang ZW, Zhang JW. Systemic changes and adverse effects induced by retinopathy of prematurity screening. *Int J Ophthalmol*. 2016; 18;9(8):1148-55.
51. Binenbaum, G. Algorithms for the Prediction of Retinopathy of Prematurity Based on Postnatal Weight Gain. *Clinics in Perinatology*. 2013;40(2):261-70.
52. Hutchinson AK, Melia, M Yang. Clinical Models and Algorithms for the Prediction of Retinopathy of Prematurity. *Ophthalmology* 2016;123(4):804-16.
53. Binenbaum, G. Algorithms for the Prediction of Retinopathy of Prematurity Based on Postnatal Weight Gain. *Clinics in Perinatology*. 2013; 40(2): 261-70.
54. Hutchinson AK, Melia, M Yang. Clinical Models and Algorithms for the Prediction of Retinopathy of Prematurity. *Ophthalmology* 2016; 123(4): 804-16.
55. Termote JU, Donders AR, Schalijs-Delfos NE, Lenselink CH, Derkzen van Angeren CS, Lissone SC, et al. Can screening for retinopathy of prematurity be reduced? *Biol Neonate* 2005; 88:92–7.
56. Löfqvist C. Longitudinal Postnatal Weight and Insulin-like Growth Factor I Measurements in the Prediction of Retinopathy of Prematurity. *Arch Ophthalmol*. 2006;124(12):1711.
57. Choi J-H, Löfqvist C, Hellström, Efficacy of the Screening Algorithm WINROP in a Korean Population of Preterm Infants. *JAMA Ophthalmol*. 2013;131(1):62-66.
58. Yang MB, Donovan EF. Risk analysis and an alternative protocol for reduction of screening for retinopathy of prematurity. *J AAPOS* 2009; 13:539–45.
59. Binenbaum G, Ying GS, Quinn GE, Dreiseitl S, Karp K, Roberts RS, et al. Premature Infants in Need of Transfusion Study Group. A clinical prediction model to stratify retinopathy of prematurity risk using postnatal weight gain. *Pediatrics* 2011; 127: e607-e614.
60. Binenbaum G, Ying G-S, Quinn GE, Huang J, Dreiseitl S, Antigua J, et al. The CHOP postnatal weight gain, birth weight, and gestational age retinopathy of prematurity risk model. *Arch Ophthalmol* 2012;130(12):1560– 5.
61. van Sorge AJ, Schalijs-Delfos NE, Kerkhoff FT, van Rijn LJ, van Hillegersberg JL, van Liempt IL, et al. Reduction in screening for retinopathy of prematurity through risk factor adjusted inclusion criteria. *Br J Ophthalmol*.2013;97:1143-7.

62. Ying GS, Quinn GE, Wade KC, Repka MX, Baumritter A, Daniel E. e-ROP Cooperative Group. Predictors for the development of referral-warranted retinopathy of prematurity in the telemedicine approaches to evaluating acute-phase retinopathy of prematurity (e-ROP) study. *JAMA Ophthalmol* 2015; 133:304–11.
63. Cao J H, Wagner, BD, McCourt EA. The Colorado–retinopathy of prematurity model (CO-ROP): postnatal weight gain screening algorithm. *JAAPOS*. 2016; 20:19-24).
64. Binenbaum G, Bell EF, Donohue P, Quinn G, Shaffer J, Tomlinson LA, et al. G-ROP Study Group. Development of Modified Screening Criteria for Retinopathy of Prematurity: Primary Results From the Postnatal Growth and Retinopathy of Prematurity Study. *JAMA Ophthalmol*. 2018;136(9):1034-1040.
65. Binenbaum G, Tomlinson LA, de Alba Campomanes AG, Bell EF, Donohue P, Morrison D et al; Postnatal Growth and Retinopathy of Prematurity (G-ROP) Study Group. Validation of the Postnatal Growth and Retinopathy of Prematurity screening criteria. *JAMA Ophthalmol*. 2020;138(1):31-37.
66. Shiraki A, Fukushima Y, Kawasaki R, Sakaguchi H, Mitsuhashi M, Ineyama H, et al. Retrospective Validation of the Postnatal Growth and Retinopathy of Prematurity (G-ROP) Criteria in a Japanese Cohort. *Am J Ophthalmol*. 2019;205:50-53.
67. Ahmed ISH, Aclimandos W, Azad N, Zaheer N, Barry JS, Ambulkar H, et al. The Postnatal Growth and Retinopathy of Prematurity Model: A Multi-institutional Validation Study. *Ophthalmic Epidemiol*. 2022 Jun;29(3):296-301.
68. Almeida AC, Sandinha T, Azevedo R, Brízido M, Figueiredo M, Coelho C, Retrospective comparison between growth and retinopathy of prematurity model versus WINROP model. *Can J Ophthalmol*. 2022;57(1):58-64.
69. Yabas Kiziloglu O, Coskun Y, Akman I. Assessment of the G-ROP study criteria for predicting retinopathy of prematurity: results from a tertiary centre in Turkey. *Int Ophthalmol*. 2020;40(7):1647-1652.
70. Eckert GU, Fortes Filho JB, Maia M, Procianoy RS. A predictive score for retinopathy of prematurity in very low birth weight preterm infants. *Eye Lond Engl*. 2012;26(3):400–6.

71. Piermarocchi S, Bini S, Martini F, Berton M, Lavini A, Gusson E, et al. Predictive algorithms for early detection of retinopathy of prematurity. *Acta Ophthalmol (Copenh)*. 2016; 20:1-7.
72. Simões HA. Evaluation of ROPScore as a predictor of retinopathy of prematurity in preterm infants. Comparative study. [Dissertação]. Botucatu: Faculdade de Medicina de Botucatu, Universidade Estadual Paulista; 2018. 95 p.
73. Sun H, Dong Y, Liu Y, Chen Q, Wang Y, Cheng B, et al. Using ROPScore and CHOP ROP for early prediction of retinopathy of prematurity in a Chinese population. *Ital J Pediatr*. 2021;18;47(1):39.74
74. Palmer EA, Flynn JT, Hardy RJ, Phelps DL, Phillips CL, Schaffer DB, et al. Incidence and early course of retinopathy of prematurity. The Cryotherapy for Retinopathy of Prematurity Cooperative Group. *Ophthalmology*.1991;98:1628-40.
75. Early Treatment For Retinopathy Of Prematurity Cooperative Group. Revised indications for the treatment of retinopathy of prematurity: results of the early treatment for retinopathy of prematurity randomized trial. *Arch Ophthalmol*. 2003;121(12):1684-94.
76. Houston SK, Wykoff CC, Berrocal AM, et al. Laser treatment for retinopathy of prematurity. *Lasers Med Sci*. 2013;28(2):683-92.
77. Nicoara SD, Cristian C, Irimescu I, Stefanut AC, Zaharie G. Diode laser photocoagulation for retinopathy of prematurity: outcomes after 7 years of treatment. *J Pediatr Ophthalmol Strabismus*. 2014;51(1):39-45.
78. Dogra MR, Katoch D, Dogra M. An Update on Retinopathy of Prematurity (ROP). *Indian J Pediatr*. 2017;84(12):930-936.
79. Patel JR, Ranjan SS, Wasserman BN. Antivascular endothelial growth factor in the treatment of retinopathy of prematurity. *Curr Opin Ophthalmol*. 2016;27(5):387-92.
80. Stahl A, Sukgen EA, Wu WC, Lepore D, Nakanishi H, Mazela J, et al. FIREFLEYE Study Group. Effect of Intravitreal Aflibercept vs Laser Photocoagulation on Treatment Success of Retinopathy of Prematurity: The FIREFLEYE Randomized Clinical Trial. *JAMA*. 2022;328(4):348-59.

81. Erol MK, Coban DT, Sari ES, Bilgin AB, Dogan B, Ozdemir O, et al. Comparison of intravitreal ranibizumab and bevacizumab treatment for retinopathy of prematurity. *Arq Bras Oftalmol.* 2015;78(6):340–3.
82. Mintz-Hittner HA, Kennedy KA, Chuang AZ; BEAT-ROP Cooperative Group. Efficacy of intravitreal bevacizumab for stage 3+ retinopathy of prematurity. *N Engl J Med.* 2011;364(7):603-15.
83. Geloneck MM, Chuang AZ, Clark WL, Hunt MG, Norman AA, Packwood EA, et al. BEAT-ROP Cooperative Group. Refractive outcomes following bevacizumab monotherapy compared with conventional laser treatment: a randomized clinical trial. *JAMA Ophthalmol.* 2014;132(11):1327-33.
84. Rivera JC, Sapieha P, Joyal JS, Duhamel F, Shao Z, Sitaras N, et al. Understanding retinopathy of prematurity: update on pathogenesis. *Neonatology.* 2011;100(4):343–53.
85. Tremblay S, Miloudi K, Chaychi S, Favret S, Binet F, Polosa A et al. Systemic inflammation perturbs developmental retinal angiogenesis and neuroretinal function. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 2013;54(13):8125-39.
86. Horne BD, Anderson JL, John JM, Weaver A, Bair TL, Jensen KR, et al. Which white blood cell subtypes predict increased cardiovascular risk? *J Am Coll Cardiol.* 2005;45:1638-43.
87. Dammann O, Rivera JC, Chemtob S. The prenatal phase of retinopathy of prematurity. *Acta Paediatr.* 2021;110(9):2521-2528.
88. Lee J, Dammann O. Perinatal infection, inflammation, and retinopathy of prematurity. *Semin Fetal Neonatal Med.* 2012;17(1):26–29.
89. Jensen AK, Ying GS, Huang J, Karp K, Quinn GE, Binenbaum G. Thrombocytopenia and retinopathy of prematurity. *J AAPOS.* 2011;15:e3-e4.
90. Vinekar A, Hegde K, Gilbert C, Braganza S, Pradeep M, Shetty R, et al., Do platelets have a role in the pathogenesis of aggressive posterior retinopathy of prematurity? *Retina.* 2010;30 (4 Suppl): S20-S23.

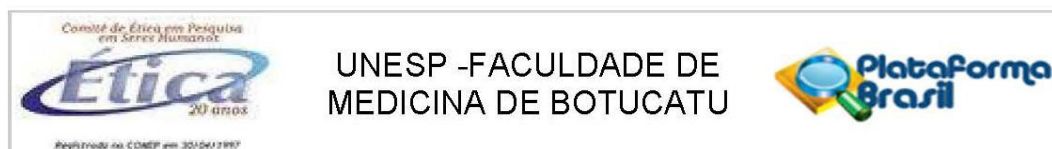
91. Italiano JE Jr, Richardson JL, Patel-Hett S, Battinelli E, Zaslavsky A, Short S, et al. Angiogenesis is regulated by a novel mechanism: pro- and antiangiogenic proteins are organized into separate platelet alpha granules and differentially released. *Blood*. 2008;111:1227-33.
92. Lundgren P, Lundberg L, Hellgren G, Holmström G, Hård AL, Smith LE, et al. Aggressive posterior retinopathy of prematurity is associated with multiple infectious episodes and thrombocytopenia. *Neonatology*. 2017;111:79-85.
93. Parrozzani R, Marchione G, Fantin A, Frizziero L, Salvadori S, Nardo D, Midena G. Thrombocytopenia as Type 1 ROP Biomarker: A Longitudinal Study. *J Pers Med*. 2021;11(11):1120.
94. Ustundag Y, Huysal K, Geçgel S, Ünal D. Relationship between C-reactive protein, systemic immune-inflammation index, and routine hemogram-related inflammatory markers in low-grade inflammation. *Int J Med Biochem*. 2018;1:24-8.
95. Ma M, Yu N, Wu B. High systemic immune-inflammation index represents an unfavorable prognosis of malignant pleural mesothelioma. *Cancer Manag Res*. 2019;11:3973-9.
96. Kurtul BE, Kabatas EU, Zenciroglu A, Ozer PA, Ertugrul GT, Beken S, Okumus N. Serum neutrophil-to-lymphocyte ratio in retinopathy of prematurity. *J AAPOS*. 2015;19(4):327-31.
97. Obata S, Matsumoto R, Kakinoki M, Sawada O, Sawada T, Saishin Y, Yanagi T, Maruo Y, Ohji M. Blood neutrophil-to-lymphocyte ratio as a risk factor in treatment for retinopathy of prematurity. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol*. 2023 Apr;261(4):951-957.
98. Akdogan M, Ustundag Y, Cevik SG, Dogan P, Dogan N. Correlation between systemic immune-inflammation index and routine hemogram-related inflammatory markers in the prognosis of retinopathy of prematurity. *Indian J Ophthalmol*. 2021 Aug;69(8):2182-2187.
99. Ozturk T, Durmaz Engin C, Kaya M, Yaman A. Complete blood count parameters to predict retinopathy of prematurity: when to evaluate and what do they tell us? *Int Ophthalmol*. 2021 Jun;41(6):2009-2018.

100. Eichberger J, Resch E, Resch B. Diagnosis of Neonatal Sepsis: The Role of Inflammatory Markers. *Front Pediatr*. 2022;10(8):840288.
101. Aiello LP et al. Evolving guidelines for intravitreal injections. *Retina*. 2004;24(Suppl 5):S3-19.
102. Prasad M, Ingolfsson EC, Christiansen SP. Modifiable Risk Factors and Preventative Strategies for Severe Retinopathy of Prematurity. *Life (Basel)*. 2023;24;13(5):1075.
103. Castro BR, Martins EMTG, Alves Junior JMS, Almeida AM. Epidemiological profile of newborns with retinopathy of prematurity in a hospital of Belo Horizonte (Brazil). *Revista Interdisciplinar Ciências Médicas*. 2021; 5(1): 36-43.
103. Shah VA, Yeo CL, Ling YL, Ho LY. Incidence, risk factors of retinopathy of prematurity among very low birth weight infants in Singapore. *Ann Acad Med Singapore*. 2005;34(2):169-78.
104. Lermann VL, Fortes Filho JB, Procianny RS. The prevalence of retinopathy of prematurity in very low birth weight newborn infants. *J Pediatr (Rio J)*. 2006;82(1):27-32.
105. Fortes Filho JB, Eckert GU, Valiatti FB, Costa MC, Bonomo PP, Procianny RS. Prevalence and risk factors for retinopathy of prematurity: study with 450 very low birth weight preterm infants. *Rev Bras Oftalmol*. 2009;68(1):22-29.
106. Almeida AC, Brízido M, Teixeira S, Coelho C, Borrego LM, Correia M. Incidence and Risk Factors for Retinopathy of Prematurity in a Portuguese Cohort. *J Pediatr Ophthalmol Strabismus*. 2022;59(4):254-260.
107. Bonafiglia E, Gusson E, Longo R, Ficial B, Tisato MG, Rossignoli S, Caltran G, Pedrotti E, Beghini R, Marchini G. Early and late onset sepsis and retinopathy of prematurity in a cohort of preterm infants. *Sci Rep*. 2022;12(1):11675.
108. Iu LPL, Yip WWK, Lok JYC, Fan MCY, Lai CHY, Ho M, Young AL. Prediction model to predict type 1 retinopathy of prematurity using gestational age and birth weight (PW-ROP). *Br J Ophthalmol*. 2023 Jul;107(7):1007-1011.
109. Cayabyab RG, Song A, Ramanathan R, Friedlich P, Lakshmanan A. Proportion of Retinopathy of Prematurity That Was Treated across Regions in the United States. *Am J Perinatol*. 2021 May;38(6):581-589.

110. Gopal L. Commentary: Correlation between systemic immune-inflammatory index and routine hemogram-related inflammatory markers in the prognosis of retinopathy of prematurity. *Indian J Ophthalmol*. 2021;69(8):2188.
111. Ozgonul C, Sertoglu e, Gokce G. Accurate use of neutrophil/lymphocyte ratio in patients with keratoconus. *Cornea* 2015;34(2):e4-e5.
112. Asensio-Sanchez VM. Letter to the editor relating to Graefe's Arch Clin Exp Ophthalmol. 2023 April; 261(4):951-957. "Blood neutrophil-to-lymphocyte ratio as a risk factor in the treatment of retinopathy of prematurity". *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol*. 2023;261(9):2721-2722.
113. Hu Y-X, Xu X-X, Shao Y, Yuan G-L, Mei F, Zhou Q. The prognostic value of lymphocyte-to-monocyte ratio in retinopathy of prematurity. *Int J Ophthalmol* 2017;10(11):1716-1721.
114. Athikarisamy S, Desai S, Patole S, Rao S, Simmer K, Lam GC. The Use of Postnatal Weight Gain Algorithms to Predict Severe or Type 1 Retinopathy of Prematurity: A Systematic Review and Meta-analysis. *JAMA Netw Open*. 2021 Nov 1;4(11):e2135879.

Anexos

Anexo 1. Parecer do Comissão de Ética Médica da FMB – UNESP



PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

DADOS DO PROJETO DE PESQUISA

Título da Pesquisa: PREDIÇÃO DE RETINOPATIA DA PREMATURIDADE: ROPSCORE MODIFICADO POR PARÂMETROS DO HEMOGRAMA.

Pesquisador: Kellen Cristiane do Vale Lucio

Área Temática:

Versão: 2

CAAE: 63407622.9.0000.5411

Instituição Proponente: Departamento de Oftalmologia/Otorrinolaringologia e de CCP

Patrocinador Principal: Financiamento Próprio

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 5.752.699

Apresentação do Projeto:

As informações apresentadas nos campos “Apresentação do Projeto”, “Objetivo da Pesquisa” e “Avaliação dos Riscos e Benefícios” foram retiradas do arquivo Informações Básicas da Pesquisa.

Os autores justificam a realização da pesquisa diante da gravidade do quadro da retinopatia da prematuridade (ROP), a principal causa de deficiência visual no mundo, e um diagnóstico acurado irá permitir tratamentos adequados.

Os autores descrevem a ROP como uma doença multifatorial que altera a vascularização periférica da retina e envolve a produção de uma variedade de citocinas, fatores angiogênicos e neuroprotetores. Descrevem ainda que o início da ROP pode ocorrer em uma fase intrauterina após o nascimento e em ambos os cenários, ocorrências neonatais subsequentes, como infecção (ou outros indutores de inflamação sistêmica) ou hiperóxia, poderiam contribuir para a ROP isoladamente ou em conjunto. Descrevem ainda que para ROP, tem sido propostos biomarcadores inflamatórios e também um escore para avaliação risco de desenvolver ROP na forma grave. Os biomarcadores inflamatórios na ROP incluem a trombocitopenia, e as razões neutrófilo-linfócito (NLR), linfócito-monócito (RLM), e plaqueta-linfócito (RPL). E sistema de escore (ROPscore) considera fatores de risco (PN e IG) e, ganho de peso proporcional ao PN nas primeiras semanas de vida, uso do oxigênio com ventilação mecânica e transfusão sanguínea.

A pesquisa propõe avaliar o papel dos biomarcadores inflamatórios do hemograma: razão neutrófilo-linfócito (RNL), linfócito-monócito (RLM), plaqueta-linfócito (RPL) e número de

Endereço: Chácara Butignolli, s/n

Bairro: Rubião Junior

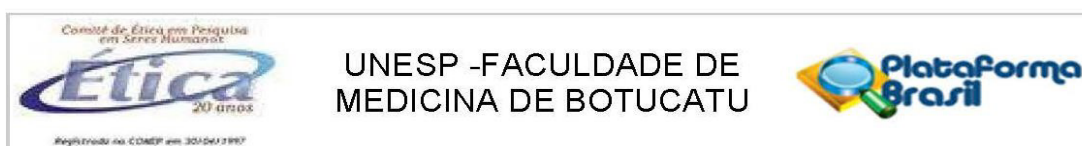
CEP: 18.618-970

UF: SP

Município: BOTUCATU

Telefone: (14)3880-1609

E-mail: cep@fmb.unesp.br



Continuação do Parecer: 5.752.699

plaquetas, como potenciais preditores hematológicos de ROP; e incluir tais dados no ROP score. Ou seja, pretendem incluir os biomarcadores na fórmula do ROPScore e verificar se estes fatores aumentam a acurácia do algoritmo como preditor de ROP.

Como metodologia, é descrito que os dados serão obtidos a partir de consulta de prontuários de recém-nascidos pré-termo (RNPT) com idade gestacional (IG) de 32 semanas ou menos e/ou com peso ao nascimento (PN) de 1500g ou menos, que foram submetidos à coleta de sangue para realização de hemograma, nas primeiras 24 horas após o nascimento e por volta da 36ª semana de idade corrigida. E que foram triados conforme as diretrizes brasileiras de triagem de ROP, por meio de oftalmoscopia binocular indireta entre a 4ª e a 6ª semana de vida até 45ª semana de idade gestacional corrigida. As avaliações oftalmológicas foram repetidas conforme os achados dos exames iniciais com a periodicidade determinada pelas diretrizes brasileiras. As observações, de acordo com cálculo amostral, deverão ser de 120, sendo 35 de RNPT com ROP que precisaram de tratamento e 55 RNPT que regrediram sem tratamento, e ainda haverá 35 observações de RNPT que não desenvolveram ROP em nenhum estágio, selecionados aleatoriamente.

Como critério de exclusão, serão excluídos dados de neonatos pré-termo com sepse confirmada por hemocultura, portadores de enterocolite necrotizante, doenças hematológicas, com níveis de proteína C elevados (acima de 5 mg/l) e que receberam transfusão de hemoderivados ou corticosteróides no período estudado.

Os desfechos clínicos avaliados na análise dos prontuários dos RNPT serão a ocorrência da ROP em qualquer estadiamento e o desenvolvimento da ROP grave, que necessita de tratamento (doença pré-limiar 1, doença limiar e doença agressiva). A ROP será categorizada de acordo com a Classificação Internacional de Retinopatia da Prematuridade Revisada sendo considerado sempre o estágio mais avançado encontrado no seguimento dos neonatos pré-termos.

A metodologia inclui que os dados serão avaliados a partir de análise univariada testar fatores de risco independentes (hematológicos e outros) para desenvolvimento de ROP e necessidade de tratamento. As variáveis que mostrarem associação positiva com ROP serão incluídas em análise multivariada com regressão logística. Valores de Odds Ratio (OR) e intervalo de confiança serão calculados para cada fator de risco.

Objetivo da Pesquisa:

Avaliar o papel dos biomarcadores inflamatórios do hemograma: razão neutrófilo-linfócito (RNL),

Endereço: Chácara Butignolli, s/n

Bairro: Rubião Junior

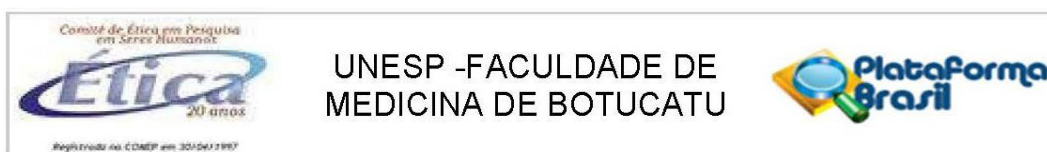
UF: SP

Município: BOTUCATU

CEP: 18.618-970

Telefone: (14)3880-1609

E-mail: cep@fmb.unesp.br



Continuação do Parecer: 5.752.699

linfócito-monócito (RLM), plaqueta-linfócito (RPL) e número de plaquetas, como potenciais preditores hematológicos de ROP

Incluir os biomarcadores hematológicos que se comportarem como fatores de risco preditivos de ROP (após a análise estatística multivariada com outros fatores de risco independentes), na fórmula do ROPScore e verificar se estes fatores aumentam a acurácia do algoritmo como preditor de ROP

Avaliação dos Riscos e Benefícios:

Os riscos são mínimos e referem-se à identificação dos pacientes, no entanto as pesquisadoras garantem a manutenção do sigilo com relação à participação na pesquisa. Como benefícios serão indiretos e relacionam-se a possibilidade de diminuir o número de exames para triagem de retinopatia da prematuridade e identificar quais recém-nascidos prematuros tem maior risco de desenvolver a forma grave da ROP.

Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:

Pesquisa proposta pelo Departamento de Oftalmologia/Otorrinolaringologia e de CCP, tem como pesquisador responsável Dra Kellen Cristiane do Vale Lucio apresentada como projeto para obtenção do título de doutor em Cirurgia e Medicina Translacional da FMB, orientado pela profa Dra Eliana Chaves Jorge. Trata-se de estudo de coorte retrospectivo a ser realizado no Departamento de Especialidades Cirúrgicas e Anestesiologia da Faculdade de Medicina de Botucatu-UNESP, e é a pesquisadora indica que é um braço de pesquisa iniciada em 2011 e aprovada no CEP cujos dados serão incluídos nesta pesquisa. O número previsto de prontuários avaliados é de 125 prontuários de RNPT com ROP, sendo 35 sem diagnóstico de ROP. Cronograma apresentado está adequado com início em 1º de dezembro e pesquisa a ser realizada com financiamento próprio.

Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:

São apresentados documento devidamente assinados: Folha de Rosto, anuência institucional FMB, anuência HC FMB, Documento de análise da viabilidade da pesquisa, Informações Básicas do Projeto e Projeto em brochura. É solicitada a dispensa do TCLE, justificado pelo fato de ser um estudo retrospectivo, com coleta de dados ambulatoriais e exames clínicos dos pacientes atendidos no HC FMB, e pelo fato de que alguns pacientes não são mais acompanhados no HC FMB. As pesquisadoras garantem o sigilo na identificação dos participantes.

Endereço: Chácara Butignolli, s/n

Bairro: Rubião Junior

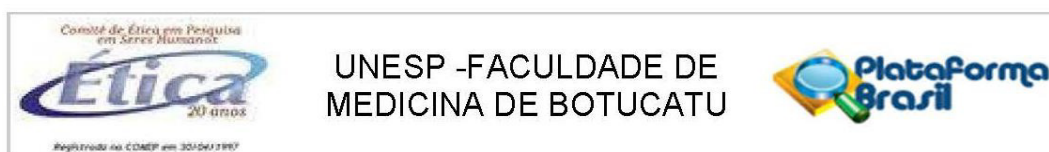
UF: SP

Telefone: (14)3880-1609

Município: BOTUCATU

CEP: 18.618-970

E-mail: cep@fmb.unesp.br



Continuação do Parecer: 5.752.699

Recomendações:

não há.

Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:

Após análise em REUNIÃO ORDINÁRIA, o Colegiado deliberou APROVAÇÃO do PROJETO de Pesquisa apresentado.

Considerações Finais a critério do CEP:

Conforme deliberação do Colegiado, em REUNIÃO ORDINÁRIA do Comitê de Ética em Pesquisa FMB/UNESP, realizada em 07/11/2022, do PROJETO de Pesquisa apresentado encontra-se APROVADO. O projeto de pesquisa deverá ter início somente após aprovação deste CEP.

Ao final da execução da pesquisa, o Pesquisador deverá enviar o Relatório Final de Atividades, na forma de Notificação, via Plataforma Brasil.

Atenciosamente,

Comitê de Ética em Pesquisa FMB/UNESP

Este parecer foi elaborado baseado nos documentos abaixo relacionados:

Tipo Documento	Arquivo	Postagem	Autor	Situação
Informações Básicas do Projeto	PB_INFORMAÇÕES_BASICAS_DO_PROJETO_2000777.pdf	18/10/2022 18:26:14		Aceito
Outros	TermoDeAnuencialInstSIPEalterN.pdf	18/10/2022 18:25:14	Kellen Cristiane do Vale Lucio	Aceito
Solicitação Assinada pelo Pesquisador Responsável	Folharosto155participantes.pdf	18/10/2022 18:23:10	Kellen Cristiane do Vale Lucio	Aceito
Outros	cartarespostaout22.pdf	18/10/2022 18:22:16	Kellen Cristiane do Vale Lucio	Aceito
Folha de Rosto	folhaderosto155participantes.pdf	04/10/2022 17:30:24	Kellen Cristiane do Vale Lucio	Aceito
Outros	AnaliseDeViabilidadeDoProjetoDePesquisaTituloCorrigidoSipe3262022.pdf	01/09/2022 15:19:58	Kellen Cristiane do Vale Lucio	Aceito
Outros	AnuenciaHcfmbSipe3262022.pdf	01/09/2022	Kellen Cristiane do	Aceito

Endereço: Chácara Butignolli, s/n

Bairro: Rubião Junior

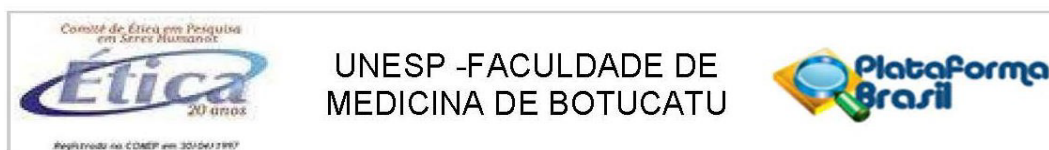
CEP: 18.618-970

UF: SP

Município: BOTUCATU

Telefone: (14)3880-1609

E-mail: cep@fmb.unesp.br



Continuação do Parecer: 5.752.699

Outros	AnuenciaHcfmbSipe3262022.pdf	15:19:34	Vale Lucio	Aceito
Projeto Detalhado / Brochura Investigador	projeto.docx	01/09/2022 15:18:03	Kellen Cristiane do Vale Lucio	Aceito
Projeto Detalhado / Brochura Investigador	Projeto_Kellen.pdf	01/09/2022 15:14:42	Kellen Cristiane do Vale Lucio	Aceito
Declaração de concordância	TermoDeAnuencialInstitucional.pdf	01/09/2022 14:54:44	Kellen Cristiane do Vale Lucio	Aceito

Situação do Parecer:

Aprovado

Necessita Apreciação da CONEP:

Não

BOTUCATU, 10 de Novembro de 2022

Assinado por:
SILVANA ANDREA MOLINA LIMA
(Coordenador(a))

Endereço: Chácara Butignolli, s/n

Bairro: Rubião Junior

UF: SP

Município: BOTUCATU

CEP: 18.618-970

Telefone: (14)3880-1609

E-mail: cep@fmb.unesp.br