

UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS
Faculdade de Medicina
Programa de Pós-Graduação em Ciências Aplicadas à Cirurgia e à Oftalmologia

Fernanda dos Santos Vidal

**ESTUDO DA ÁREA DOADORA DO TRANSPLANTE LIMBOCONJUNTIVAL
AUTÓLOGO NO PRÉ E PÓS-OPERATÓRIO DO PTERÍGIO, UTILIZANDO A
AVALIAÇÃO CLÍNICA E A TOMOGRAFIA DE COERÊNCIA ÓPTICA DO
SEGMENTO ANTERIOR**

Belo Horizonte
2020

Fernanda dos Santos Vidal

**ESTUDO DA ÁREA DOADORA DO TRANSPLANTE LIMBOCONJUNTIVAL
AUTÓLOGO NO PRÉ E PÓS-OPERATÓRIO DO PTERÍGIO, UTILIZANDO A
AVALIAÇÃO CLÍNICA A TOMOGRAFIA DE COERÊNCIA ÓPTICA DO
SEGMENTO ANTERIOR**

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Aplicadas à Cirurgia e à Oftalmologia da Faculdade de Medicina da Universidade Federal de Minas Gerais, como requisito parcial para obtenção do título de Doutora em Medicina.

Orientador: Dr. Sebastião Cronemberger Sobrinho

Coorientador: Dr. José Aloísio Dias Massote Mourão Oliveira

Coorientador: Dr. Alberto Diniz Filho

Área de concentração: Resposta inflamatória à agressão tecidual

Linha de pesquisa: Resposta morfofuncional do sistema visual a agentes físicos, químicos e biológicos

Belo Horizonte

2020

V648e Vidal, Fernanda dos Santos.
Estudo da área doadora do Transplante Limboconjuntival Autólogo no pré e pós-operatório do Pterígio, utilizando a Avaliação Clínica e a Tomografia de Coerência Óptica do Segmento Anterior [manuscrito]. / Fernanda dos Santos Vidal. -- Belo Horizonte: 2020.
106f.: il.

Orientador: Sebastião Cronemberger Sobrinho.
Coorientador: José Aloísio Dias Massote Mourão Oliveira.
Área de concentração: Resposta Inflamatória à Agressão Tecidual.
Tese (doutorado): Universidade Federal de Minas Gerais, Faculdade de Medicina.

1. Limbo da Córnea. 2. Pterígio. 3. Túnica Conjuntiva. 4. Cápsula de Tenon. 5. Tomografia de Coerência Óptica. 6. Trabeculectomia. 7. Dissertação Acadêmica. I. Cronemberger Sobrinho, Sebastião. II. Oliveira, José Aloísio Dias Massote Mourão. III. Universidade Federal de Minas Gerais, Faculdade de Medicina. III. Título.

NLM: WW 220

UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS

Reitora

Profa. Sandra Regina Goulart Almeida

Vice-Reitor

Prof. Alessandro Fernandes Moreira

Pró-Reitor de Pós-Graduação

Prof. Fabio Alves da Silva Junior

Pró-Reitor de Pesquisa

Prof. Mário Fernando Montenegro Campos

FACULDADE DE MEDICINA

Diretor da Faculdade de Medicina

Prof. Humberto José Alves

Vice-Diretora da Faculdade de Medicina

Profa. Alamanda Kfoury Pereira

Coordenador do Centro de Pós-Graduação

Prof. Tarcizo Afonso Nunes

Subcoordenadora do Centro de Pós-Graduação

Profa. Eli Iola Gurgel Andrade

Coordenadora do Programa de Pós-Graduação em Cirurgia e Oftalmologia

Profa. Vivian Resende

Subcoordenador do Programa de Pós-Graduação em Cirurgia e Oftalmologia

Prof. Túlio Pinho Navarro

Chefe do Departamento de Cirurgia

Prof. Marco Antônio Gonçalves Rodrigues

Chefe do Departamento de Oftalmologia e Otorrinolaringologia

Prof. Sebastião Cronemberger Sobrinho



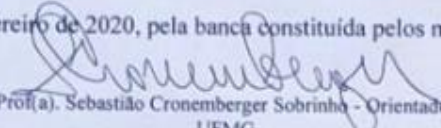
FOLHA DE APROVAÇÃO

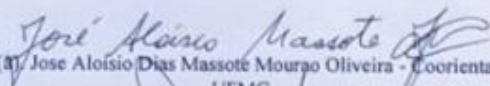
ESTUDO DA SUPERFÍCIE OCULAR PELA TOMOGRAFIA DE COERÊNCIA ÓPTICA DE SEGMENTO ANTERIOR NO PRÉ E PÓS-OPERATÓRIO DO PTERÍGIO, UTILIZANDO TRANSPLANTE LIMBOCONJUNTIVAL AUTÓLOGO

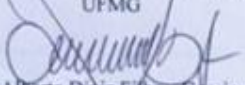
FERNANDA DOS SANTOS VIDAL

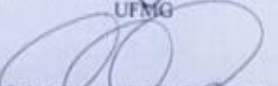
Tese submetida à Banca Examinadora designada pelo Colegiado do Programa de Pós-Graduação em CIÊNCIAS APLICADAS À CIRURGIA E À OFTALMOLOGIA, como requisito para obtenção do grau de Doutor em CIÊNCIAS APLICADAS À CIRURGIA E À OFTALMOLOGIA, área de concentração RESPOSTA INFLAMATÓRIA À AGRESSÃO TECIDUAL, linha de pesquisa Resp. Morfofunc. do Sist. Visual a Agentes Fís., Quím. e Biol..


Aprovada em 14 de fevereiro de 2020, pela banca constituída pelos membros:

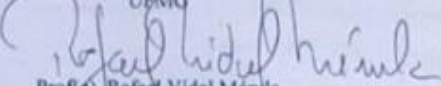

Prof(a). Sebastião Cronemberger Sobrinho - Orientador
UFMG

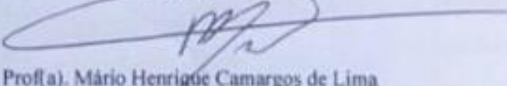

Prof(a). Jose Aloisio Dias Massote Mourao Oliveira - Coorientador
UFMG


Prof(a). Alberto Diniz Filho - Coorientador
UFMG


Prof(a). Marco Antonio Guerinio Tanure
UFMG


Prof(a). Rodrigo Ferrelra Almeida
UFMG


Prof(a). Rafael Vidal Mériula
UFJF


Prof(a). Mário Henrique Camargos de Lima
USP

Belo Horizonte, 14 de fevereiro de 2020.

Aos que tanto amo, meu marido Haldley e meus filhos, Sofia e Mateus, e à minha mãe,
D. Ergita, que me retribuem esse amor de tantas maneiras, tornando a minha vida mais
colorida e feliz... A vocês, com gratidão, dedico este trabalho!

AGRADECIMENTOS

A Deus por sua graça, misericórdia e amor. A minha gratidão pela inspiração e fé renovadas diariamente. Inspiração e fé que veem de observar a perfeição e a grandeza de Sua obra, a sintonia e a riqueza dos detalhes brilhantemente dispostos no macrouniverso, do céu e das estrelas, e no microuniverso molecular das partículas e elementos... Do nascer do sol, no despertar da luz, até à decodificação visual desta luz nas imagens que nos invadem e nos transformam como pessoas. A perfeição divina é encantadora e inspiradora. *Soli Deo Gloria!*

Ao Haldley meu amado e meu companheiro, que com dedicação e carinho me ajuda e me ampara nos bons e nos maus momentos. Aos nossos filhos Sofia e Mateus, presentes de Deus para nossas vidas.

À minha mãe, Ergita, amiga e ajudadora da minha vida inteira. Em todos os momentos.

À meu pai, Fernando, que mesmo não estando comigo de maneira que se possa tocar e abraçar... Está comigo o tempo todo, em minhas lembranças e em meu coração, como exemplo de caráter e força. Pela fé aguardo o dia em que nos reencontraremos!

Ao Fam, irmão querido, e aos meus familiares que me ajudaram de diversas maneiras durante a execução desse trabalho.

Aos queridos Claudio e Zezé, meus sogro e sogra, pela atenção, carinho e disposição comigo e com minha família sempre que precisamos.

Ao Professor Sebastião Cronemberger por sua dedicação e disposição em me orientar e ajudar em todas as vezes em que precisei de seu apoio.

Ao Dr. José Aloísio Massote, por sua dedicada e precisa contribuição na execução deste projeto, do início ao fim.

À Dra. Ângela Maestrini e ao Dr. José Carlos Bruno, por me permitirem realizar este trabalho nas dependências da Oculare e por contribuírem com apoio financeiro para a custeio dos exames e do selante de Fibrina.

À Dra. Heloisa Maestrini, à Dra. Hérika Daniele Miranda e ao Dr. Victor Massote, que contribuíram avaliando com atenção e cuidado cada paciente deste trabalho.

Ao Dr. Moisés Salgado Pedrosa, pela importante contribuição nos estudos das imagens da *AS-OCT*.

A toda equipe do setor de exames da Oculare, pela disposição em ajudar e contribuir para o bom resultado do trabalho.

Aos pacientes, por sua compreensão em participar, permitindo repetidos exames em seus olhos preciosos. Por sua adesão aos retornos e pelo interesse em ajudar na execução de um trabalho de pesquisa.

A todos, minha imensa gratidão! Sem a participação de cada um não chegaríamos ao resultado pretendido.

Filho meu, se aceitares as minhas palavras e esconderes contigo os meus mandamentos,
para fazeres atento à sabedoria o teu ouvido e para inclinares o coração ao entendimento,
e se clamares por inteligência, e por entendimento alçares a voz,
se buscares a sabedoria como a prata e como a tesouros escondidos a procurares,
então, entenderás o temor do **Senhor** e acharás o conhecimento de **Deus**.
(Pr 2, 1-5) ¹

¹ Provérbios. *In*: A Bíblia: tradução em português por João Ferreira de Almeida. São Paulo: Sociedade Bíblica do Brasil; 2014.

RESUMO

Introdução: O pterígio é uma doença ocular frequente e com vasta sintomatologia. O seu tratamento é principalmente cirúrgico, sendo o transplante limboconjuntival autólogo (TLCA) uma importante opção terapêutica. Sendo o limbo superior o mais rico em paliçadas de Vogt (PV) esta região do bulbo foi escolhida como área doadora. Embora seja a mesma área onde é realizada a trabeculectomia (TREC). Assim, estudaremos o local onde se realiza a TREC, quando ele é submetido a um procedimento cirúrgico na conjuntiva, preservando-se a cápsula de Tenon (CT) e o espaço subtenoniano (ES). Além disso, separadamente estudaremos também a cicatrização do limbo doador.

Objetivos: Estudar a evolução cicatricial da área doadora do TLCA utilizado no tratamento cirúrgico do pterígio. Por meio da avaliação clínica em lâmpada de fenda e da tomografia de coerência óptica do segmento anterior (*AS-OCT*). Foram considerados o limbo corneano e a conjuntiva doadora separadamente.

Métodos: Participaram desse estudo vinte e três olhos, que foram submetidos à ressecção do pterígio nasal e à restauração da área excisada com TLCA. A área doadora cicatrizou por segunda intenção. Foram realizados exames biomicroscópicos em lâmpada de fenda, acompanhados de fotografia digital, no pré-operatório, com 1, 7, 30 e 180 dias de pós-operatórios (DPO). Também foram realizadas medidas com *AS-OCT*, usando o corte transversal às 12 horas, no pré-operatório, com 30 e com 180 DPO. Com medidas da área do limbo, das espessuras do epitélio e do estroma conjuntival, da CT e do ES.

Resultados: No limbo corneoescleral doador, na lâmpada de fenda, observou-se, com uma semana de pós-operatório, que a reepitelização do limbo estava completa em 23 (100%) olhos avaliados por teste com fluoresceína colírio. Após o 30º DPO, observou-se diminuição da presença das paliçadas de Vogt (PV) o que não afetou a regeneração epitelial da córnea em 23 (100%) olhos. Aos 180 DPO, o aspecto pouco se diferenciou do observado no 30º DPO, sendo que em três (12%) olhos as PV eram novamente visíveis. Na *AS-OCT*, a média da área do corte transversal foi de $0,128 \pm 0,31 \mu\text{m}^2$, no pré-operatório, reduzindo para $0,109 \pm 0,18 \mu\text{m}^2$ no 30º DPO ($p=0,003$), e para $0,112 \pm 0,021 \mu\text{m}^2$ após 180º DPO ($p=0,003$). No entanto, a comparação entre as médias do 30º DPO com 180 DPO não apresentou significância estatística ($p=0,315$).

Na região da conjuntiva doada, a espessura média do epitélio conjuntival foi de $48,04 \pm 11,37 \mu\text{m}$ no pré-operatório, e de $51,87 \pm 15,04 \mu\text{m}$ com 180 DPO ($p=0,282$). Houve aumento, estatisticamente significativo ($p<0.005$) da espessura média do estroma conjuntival, de $85,35 \pm 23,10 \mu\text{m}$, no pré, para $101,61 \pm 20,19 \mu\text{m}$, após 180 dias. A espessura média da CT não apresentou alterações com significância estatística: variou de $117,13 \pm 24,26 \mu\text{m}$ no pré-operatório, para $118,09 \pm 19,24 \mu\text{m}$ ($p=0,808$), após 180 dias. Observou-se, ainda, a presença do ES no pós-operatório em 19 (82,6%) olhos.

Conclusões: A área límbica doadora apresentou regeneração epitelial no pós-operatório, após a doação tecidual. Embora ocorresse a diminuição da área do corte transversal do limbo, e do aspecto das PV, a sua função de renovação epitelial permaneceu preservada.

Após doação do TLCA, a cicatrização da conjuntiva ocorreu em sua porção estromal, o seu epitélio apresentou regeneração de suas células. A CT e o ES abaixo da conjuntiva doada se mantiveram preservados na maioria dos olhos após 180 DPO. Destaca-se que a excisão da conjuntiva, com a preservação da CT, permitiu uma cicatrização que se assemelha, em muito, ao aspecto pré-operatório, tanto na fotografia em lâmpada de fenda, quanto na imagem da *AS-OCTO* que pode ser de extrema importância para os pacientes que doaram o TLCA na região superior do bulbo e, posteriormente, necessitem ser submetidos a TREC para tratamento do glaucoma. Uma vez que o humor aquoso, após a TREC, é drenado para o ES e não para a conjuntiva.

Palavras-chave: Limbo. Pterígio. Conjuntiva. Cápsula de Tenon. Espaço subtenoniano. Tomografia de Coerência Óptica. Trabeculectomia.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 – Microfotografia do corte histológico evidenciando invasão de fibroblastos abaixo da membrana basal do epitélio corneano e sobre a camada de Bowman.....	20
Figura 2 – Trajeto da luz a partir da região temporal da córnea com os raios incidindo no limbo nasal.....	21
Figura 3 – Desenho esquemático ilustrando a teoria clássica da invasão conjuntival e comparando-a à teoria atual, com a invasão das células límbicas para formação do pterígio	22
Figura 4 – Desenho esquemático ilustrando anatomia do limbo corneoescleral.....	27
Figura 5 – Desenho esquemático ilustrando o contato entre as células tronco epiteliais do limbo e as células tronco mesenquimais límbicas, separadas pela membrana basal.....	29
Figura 6 – Descrição da técnica cirúrgica	38
Figura 7 – Fotografias digitais em lâmpada de fenda, evidenciando as variações anatômicas do limbo corneano, observadas no pré-operatório.....	42
Figura 8 – Tomografia de coerência óptica do segmento anterior da área limboconjuntival doadora, às 12 horas, em olho não operado.....	44
Figura 9 – Comparação da imagem da tomografia de coerência óptica do segmento anterior pré-operatória com a imagem de seis meses de pós-operatórios, do mesmo olho, às 12 horas do limbo corneano.....	46
Figura 10 – Tomografia de coerência óptica do segmento anterior do limbo corneoescleral superior, às 12 horas, em olho não operado.....	48
Figura 11 – Fotografia digital em lâmpada de fenda mostrando a evolução cicatricial da área doadora, ao longo de seis meses.....	53
Figura 12 – Fotografia digital em lâmpada de fenda evidenciando área corada com colírio fluoresceína, em paciente no 7º dia de pós-operatório	55
Figura 13 – Fotografias evidenciando a extensão da área límbica doada	57
Figura 14 – Fotografias obtidas em lâmpada de fenda demonstrando a evolução pós-operatória da área doadora do transplante límbico.....	58
Figura 15 – Fotografia em lâmpada de fenda do limbo doador, no pré e no pós-operatório	59
Figura 16 – Fotografias em lâmpada de fenda evidenciando a evolução da vascularização límbica da área doadora, em olho com pterígio extenso primário, no pré e no pós-operatório	61

Figura 17 – Fotografias em lâmpada de fenda evidenciando a evolução da vascularização límbica, em olho com pterígio recidivado, no pré e no pós-operatório.....	62
Figura 18 – Imagens comparativas da tomografia de coerência óptica do segmento anterior, feitas às 12 horas do limbo, no pré e no pós-operatório acima de seis meses.....	67
Figura 19 – Imagens do corte transversal do limbo, obtidos por tomografia de coerência óptica do segmento anterior no pré e no pós-operatório com mais de 180 dias.....	71

LISTA DE GRÁFICOS

Gráfico 1 – Descrição da presença ou ausência da hiperemia bulbar superior no pré e pós-operatórios	52
Gráfico 2 – Descrição da presença ou ausência das alterações vasculares no pré e no pós-operatórios	54
Gráfico 3 – Valores das médias e do intervalo de confiança de 95% da espessura do epitélio da conjuntiva no pré e no pós-operatório acima de seis meses.	64
Gráfico 4 – Valores das médias e do intervalo de confiança de 95% para a espessura do estroma conjuntival no pré e pós-operatório acima de seis meses.....	65
Gráfico 5 – Valores das médias e do intervalo de confiança de 95% para a espessura da CT no pré e pós-operatório acima de 6 meses	66
Gráfico 6 – Média das medidas da área do limbo, obtidas em corte transversal por tomografia de coerência óptica do segmento anterior, às 12 horas, feitas no pré-operatório e no pós-operatório com 30 e 180 dias	70

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Respostas dos avaliadores externos, após exame em lâmpada de fenda	56
Tabela 2 – Dados obtidos na avaliação biomicroscópicos pré e pós-operatória dos pacientes.....	60
Tabela 3 – Espessuras do epitélio da conjuntiva, do estroma da conjuntiva e da cápsula de Tenon pela tomografia de coerência óptica do segmento anterior, no pré e no pós-operatórias maior que seis meses	63
Tabela 4 – Médias e desvio-padrão da área do corte transversal do limbo corneano, às 12 horas, medida por meio da tomografia de coerência óptica do segmento anterior.	68
Tabela 5 – Comparação da área do corte transversal do limbo no pré-operatório com o pós-operatório de 30 dias.....	68
Tabela 6 – Comparação da área do corte transversal do limbo no pré-operatório com o pós-operatório acima de 180 dias	69
Tabela 7 – Comparação da área do corte transversal do limbo no pós-operatório de 30 dias com o pós-operatório acima de 180 dias	69

LISTA DE QUADROS

Quadro 1 – Características dos aparelhos de AS-OCT viáveis comercialmente.....	25
--	----

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

A	Ângulo iridocorneano
AS-OCT	Tomografia de Coerência Ótica do Segmento Anterior
CAAE	Certificado de Apresentação para Apreciação Ética
CB	Camada de Bowman
CEP	Célula epitelial do pterígio
CM	<i>ciliary muscle</i>
COEP	Comitê de ética em pesquisa
CT	Cápsula de Tenon
CTEL	Célula tronco epitelial límbica
CTECj	Célula tronco epitelial conjuntival
CTL	Células tronco límbicas
DP	Desvio padrão
DPO	Dias de pós-operatórios
Ep.C	Epitélio corneano
Ep. Cj	Epitélio conjuntival
ES	Espaço subtenoniano
Esc	Esclera
Est C	Estroma corneano
Est Cj	Estroma conjuntival
FSV	Fernanda dos Santos Vidal
HA	Humor aquoso
I	Íris
IC	Intervalo de confiança
ICB	Instituto de Ciências Biológicas
LESC	<i>Limbal epithelial stem cell</i>
MSC	<i>Mesenchymal stem cell</i>
µm	Micrômetros
mL	Mililitros
mm	Milímetros

mm ²	Milímetros ao quadrado
MB	Membrana Basal
MMC	Mitomicina C
MSP	Moisés Salgado Pedrosa
OCT	<i>Optical Coherence Tomography</i>
OD	Olho direito
OE	Olho esquerdo
PV	Paliçadas de Vogt
SPSS	<i>Statistical Package for the Social Services</i>
TC	<i>Tenon's Capsule</i>
TCLE	Termo de Consentimento Livre e Esclarecido
TD	<i>Time-domain</i> (Domínio de tempo)
TEM	Transição epitélio-mesenquimal
TLCA	Transplante limboconjuntival autólogo
TREC	Trabeculectomia
UFMG	Universidade Federal Minas Gerais
UV	Ultravioleta

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	19
1.1 O pterígio.....	19
1.2 Tomografia de coerência óptica do segmento anterior	24
1.3 O limbo corneoescleral.....	26
1.4 A conjuntiva e a cápsula de Tenon na área doadora do transplante limboconjuntival..	31
2 OBJETIVOS	33
3 MÉTODOS	34
3.1 Critérios de inclusão e de exclusão.....	34
3.1.1 Critérios de inclusão	34
3.1.2 Critérios de exclusão	34
3.2 Técnica operatória.....	35
3.3 Avaliação clínica	39
3.3.1 Avaliação clínica da área doadora conjuntival.....	39
3.3.1.1 Avaliação clínica em lâmpada de fenda e fotografia digital.....	39
3.3.1.2 Avaliação da mobilidade conjuntival.....	40
3.3.1.3 Avaliação por examinadores externos	40
3.3.2 Avaliação clínica do limbo doador em lâmpada de fenda e fotografia digital.....	41
3.4 Tomografia de coerência óptica de segmento anterior	43
3.4.1 Tomografia de coerência óptica do segmento anterior da conjuntiva e cápsula de Tenon na área doadora	43
3.4.2 Tomografia de coerência óptica de segmento anterior para avaliar a área do corte transversal do limbo corneoescleral.....	47
3.5 Cálculo amostral.....	49
3.5.1 Cálculo amostral para as espessuras da conjuntiva e da cápsula de Tenon.....	49
3.5.2 Cálculo amostral para a área do limbo.....	50
3.6 Análise estatística.....	50
4 RESULTADOS	51
4.1 Caracterização da amostra	51
4.2 Resultados da avaliação clínica da área doadora conjuntival.....	51
4.2.1 Avaliação clínica e fotografias de segmento anterior	51
4.2.1.1 Hiperemia conjuntival na área doadora	51
4.2.1.2 Alterações Vasculares	53
4.2.1.3 Epitelização	54
4.2.1.4 Os examinadores externos.....	55
4.3 Resultados da avaliação clínica do limbo corneano doador	56
4.3.1 Presença de paliçadas de Vogt	57
4.3.2 Epitelização do limbo e conjuntiva	60
4.3.3 Conjuntivalização	60
4.3.4 Vascularização.....	61
4.4 Resultados da tomografia de coerência óptica do segmento anterior.....	62
4.4.1. Resultados da tomografia de coerência óptica do segmento anterior para a área doadora conjuntival	62

<i>4.4.2 Comparação da refletividade do epitélio conjuntival, do estroma conjuntival e da cápsula de Tenon</i>	66
4.5 Resultados da tomografia de coerência óptica do segmento anterior para o limbo corneoescleral doador	67
5 DISCUSSÃO	72
5.1 A preservação da cápsula de Tenon durante a doação tecidual da conjuntiva	72
<i>5.1.1 Avaliadores externos</i>	73
<i>5.1.2 Tomografia de coerência óptica do segmento anterior</i>	74
5.2 O limbo corneoescleral doador	78
<i>5.2.1 O limbo como fonte de células epiteliais conjuntivais</i>	82
5.3 Perspectivas Futuras	83
6 CONCLUSÃO	84
6.1 Para a doação conjuntival e preservação da cápsula de Tenon	84
6.2 Para a doação do epitélio límbico	84
REFERÊNCIAS	85
APÊNDICE A – TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO	94
APÊNDICE B – PROTOCOLO DE COLETA DE DADOS – ÁREA DOADORA CONJUNTIVAL	98
APÊNDICE C – QUESTIONÁRIO AVALIADORES EXTERNOS	99
APÊNDICE D – PROTOCOLO DE COLETA DE DADOS – LIMBO CORNEOESCLERAL	100
ANEXO A – PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP DA UFMG	101

1 INTRODUÇÃO

1.1 O pterígio

O pterígio foi descrito pela primeira vez por Susruta, o primeiro cirurgião oftalmologista de quem se tem relatos, há cerca de 1.000 anos a.C.⁽¹⁾ Após mais de 3.000 anos, o pterígio continua desafiador, a despeito de vários estudos sobre sua etiologia⁽²⁻⁹⁾ e as várias técnicas cirúrgicas usadas para seu tratamento,⁽¹⁰⁻¹³⁾ o pterígio continua com alta prevalência,⁽¹⁴⁾ e, ainda, sem descrição na literatura, de um tratamento em que não ocorra recidiva.

O pterígio apresenta alta incidência nas regiões tropicais.⁽¹⁴⁻¹⁸⁾ Embora seja uma doença frequente, as taxas de incidência e de prevalência variam muito entre os estudos e não há dados precisos,⁽¹⁹⁾ com uma prevalência mundial estimada em torno de 10,2%.⁽¹⁴⁾

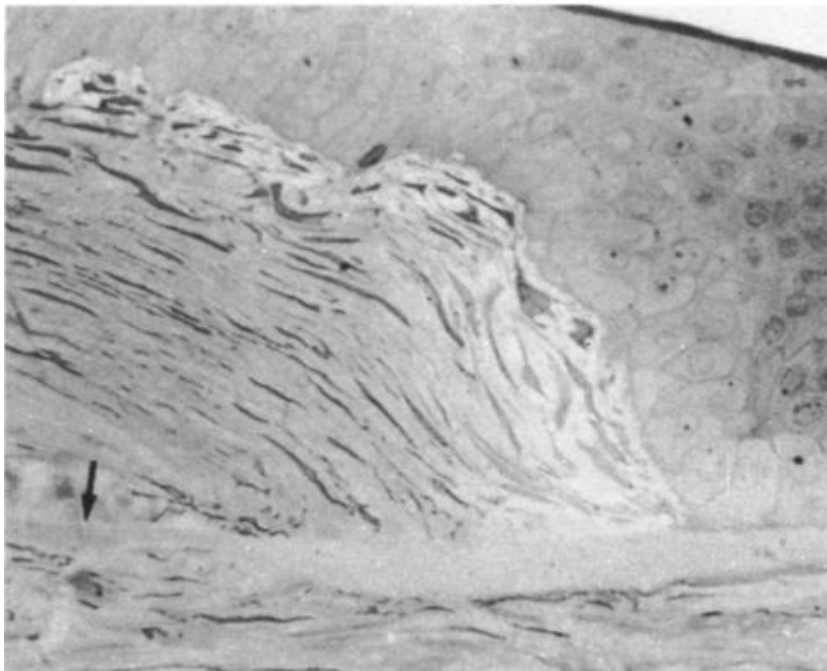
Em 1946, Kamel⁽²⁰⁾ descreveu o pterígio como uma invasão da conjuntiva bulbar, localizada na fissura palpebral, sobre a córnea. Em uma revisão sobre a etiopatogenia do pterígio, esse autor considerou três itens para discussão: primeiro a teoria neoplásica, que compara o comportamento do pterígio ao comportamento tumoral. Essa teoria já era vigente naquela época, embora não tivesse respaldo histológico. Baseava-se apenas no comportamento agressivo e recidivante dessa doença; segundo, a teoria degenerativa, baseada em achados histológicos de alterações degenerativas elastóticas nos pterígios estudados; e terceiro, a diferença entre o pterígio e o *pannus* degenerativo, uma vez que o aspecto clínico e histológico dessas duas entidades é muito diferente entre si, apesar de ambas estarem relacionadas com a córnea, com o limbo e com a conjuntiva.

Em 1967, Hogan e Alvarado⁽²¹⁾ realizaram a correlação dos achados de microscopia óptica com as observações feitas por microscopia eletrônica, em pterígios e pinguéculas ressecados

cirurgicamente. Considerando principalmente as alterações nos tecidos conectivos, observaram a presença de fibroblastos ativos e inativos, além das alterações do colágeno com degeneração hialina e elastótica, reafirmando a característica degenerativa do pterígio.

Cameron,⁽²²⁾ em 1983, observou fibroblastos ativos na porção anterior à cabeça do pterígio, a qual denominou *cap* ou a coroa, e que corresponde à porção membranosa sub-epitelial, anterior à cabeça do pterígio. Em todos os olhos estudados por esse autor, a camada de Bowman (CB) encontrava-se fragmentada, e a membrana basal (MB) e o epitélio acima deles encontravam-se intactos (Figura 1). Ele observou as diferenças estruturais da cabeça do pterígio e da sua coroa, com comportamento proliferativo, diferindo das alterações degenerativas elastóticas observadas no corpo do pterígio ou em sua porção escleral.⁽²²⁾

Figura 1 – Microfotografia do corte histológico evidenciando invasão de fibroblastos abaixo da membrana basal do epitélio corneano e sobre a camada de Bowman

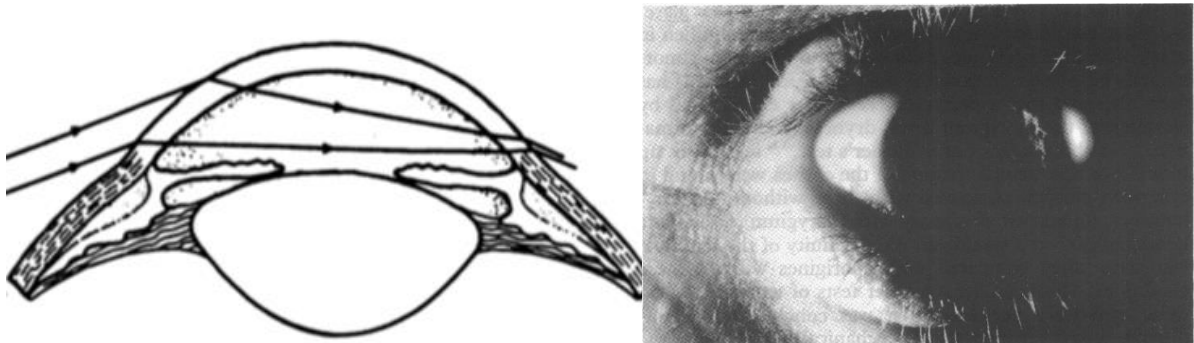


Fonte: Cameron.⁽²²⁾

Legenda: A membrana basal do epitélio corneano é separada da camada de Bowman por uma massa de fibroblastos em forma de cunha. A seta indica os restos da camada de Bowman.

Coroneo,⁽¹⁷⁾ em 1993, estudou o trajeto da luz através da câmara anterior, vinda da periferia temporal, focando no limbo nasal, e formulou uma hipótese para explicar a maior incidência do pterígio no limbo nasal (Figura 2).⁽¹⁶⁾

Figura 2 – Trajeto da luz a partir da região temporal da córnea com os raios incidindo no limbo nasal

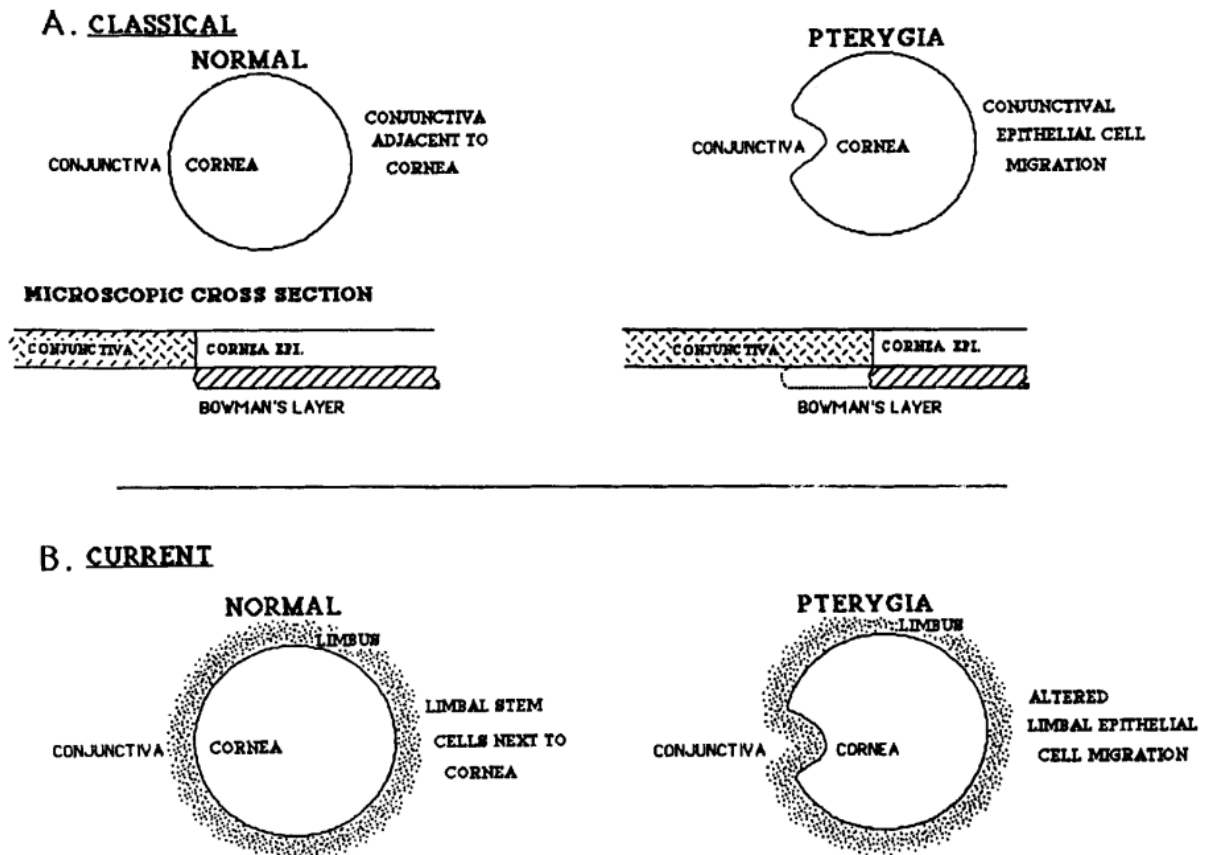


Fonte: Coroneo.⁽¹⁷⁾

Legenda: À esquerda: desenho esquemático apresentado por Coroneo,⁽¹⁷⁾ descrevendo o trajeto da luz na câmara anterior, quando incide temporalmente. À direita esse mesmo autor demonstra o foco da luz no limbo nasal.

Em 1994, Dushku e Reid⁽²³⁾ estudaram a célula de origem do pterígio e observaram a presença de células límbicas na porção corneana do pterígio, seguida das células conjuntivais. Lançaram, pela primeira vez, a ideia de que as células do pterígio seriam as células tronco do limbo modificadas pela radiação ultravioleta (UV), com progressão centrípeta pela córnea, através da CB (Figura 3). Após esse trabalho, esses mesmos autores investigaram a presença da proteína p53,⁽²⁴⁾ uma proteína derivada da mutação do gene p53, nas células de pterígio. O gene p53 é um supressor da proliferação tumoral. A sua mutação foi descrita, pela primeira vez, em 1991, como resultado da exposição à radiação UV na pele e implicada na gênese do carcinoma espinocelular.⁽²⁵⁾ Em 1997, Dushku e Reid⁽²⁴⁾ descreveram a presença da proteína p53 nas células de pterígio, demonstrando a relação do surgimento do pterígio com os raios UV e o comportamento agressivo dessa doença.

Figura 3 – Desenho esquemático ilustrando a teoria clássica da invasão conjuntival e comparando-a à teoria atual, com a invasão das células límbicas para formação do pterígio



Fonte: Dushku e Reid.⁽²³⁾

Legenda: A) Teoria clássica para a progressão do pterígio sobre a córnea: à esquerda, o olho normal e à direita com pterígio. Abaixo desenho esquemático demonstrando a área de transição entre a conjuntiva e a córnea, sendo a CB destruída abaixo da conjuntiva; B) A teoria apresentada por Dushku e Reid⁽²³⁾, em que o limbo invade a córnea e leva consigo a conjuntiva. À esquerda: olho normal com córnea, limbo e conjuntiva representados.

Em 1999, Coroneo, Girolamo e Wakefield,⁽⁷⁾ ainda considerando o pterígio como uma “conjuntivalização” ou como uma progressão da conjuntiva sobre a córnea devido a uma falência límbica, estudaram a participação das metaloproteinases na progressão do pterígio. Em 2002, Di Girolamo *et al.*⁽²⁶⁾ simularam, em espécimes frescos de pterígios expostos aos raios UV, evidenciando o aumento das interleucinas 6 e 8 pelas células inflamatórias, o que não acontecia na porção do pterígio não exposta à radiação UV. Assim, de modo semelhante à maneira como

acontece com as lesões da pele pela radiação UV, a produção dessas interleucinas pelas células expostas estimula o processo inflamatório no local, com a fibrogênese e com a neovascularização.

Em 2007, Kato *et al.* ⁽²⁷⁾ estudaram a participação da transição epitélio-mesenquimal (TEM) na gênese do pterígio. A TEM é a capacidade apresentada por células epiteliais de se transformarem em células mesenquimais, após algum fator estressor, como por exemplo os raios UV. Por meio desse mecanismo, uma célula epitelial pode se transformar em um fibroblasto. Em seu estudo, Kato *et al.* ⁽²⁷⁾ demonstraram a presença de células modificadas devido TEM, e sugeriram que as células tronco límbicas (CTL) modificadas pelos raios UV transformam-se nos fibroblastos ativados e migrariam para baixo da MB.⁽⁶⁾ Estudos posteriores foram concordantes com os achados desse autor.^(6, 27-29)

Jaworski *et al.*,⁽³⁰⁾ em 2009, publicaram outro estudo comparando os marcadores gênicos presentes nas células pterígio com aqueles presentes na córnea, no limbo e na conjuntiva, e encontraram maior semelhança entre os genes do pterígio com os do limbo e da conjuntiva, e em menor proporção com os da córnea, o que apoiou a hipótese de o pterígio ter sua origem nas células límbicas, que migram, trazendo consigo a conjuntiva.

Assim, progressivamente, a ideia de falência límbica com conseqüente conjuntivalização corneana deu lugar à hipótese de proliferação de células límbicas modificadas pelos raios UVB, chamadas células de pterígio.^(2,6,23,31) Essa mudança no conceito da participação do limbo na gênese do pterígio parece muito mais pertinente com a apresentação clínica do pterígio, do que de um quadro de falência límbica, como em uma queimadura química.^(6,32,33)

A evolução na compreensão da fisiopatogênese do pterígio foi acompanhada pela progressão de suas opções terapêuticas. Desde as primeiras descrições cirúrgicas, até meados da década de 1970, a esclera nua era a única opção terapêutica para o pterígio,⁽³⁴⁾ com algumas variações da técnica, no intuito de recobrir a esclera exposta no local da ressecção. Após a década

de 1970, tratamentos coadjuvantes começaram a ser utilizados inicialmente com estrôncio 90 e com tiothepa,^(34, 35) seguidos de grande número de complicações, o que acarretaram no seu desuso. A Mitomicina C (MMC)⁽³⁶⁾ foi utilizada pela primeira vez no tratamento do pterígio em 1988.⁽³⁷⁾

Em 1985, Kenyon, Wagoner e Hettinger⁽³⁸⁾ descreveram, pela primeira vez, o transplante conjuntival após a ressecção do pterígio. Em 1989, Kenyon e Tseng⁽³⁹⁾ descreveram uma modificação na técnica e publicaram o primeiro trabalho com transplante limboconjuntival no tratamento da falência límbica. Em 1994, Guller *et al.*,⁽⁴⁰⁾ utilizaram pela primeira vez o TLCA no tratamento do pterígio. A partir de então, vários trabalhos foram realizados utilizando MMC, transplante conjuntival, TLCA e o transplante de membrana amniótica, na tentativa de diminuir a recidiva.^(36, 40-43)

Os trabalhos comparando as técnicas cirúrgicas usadas no tratamento do pterígio evidenciaram a menor taxa de recidiva quando se usa o TLCA, em relação às outras técnicas,⁽⁴²⁻⁴⁷⁾ sendo por isso, o TLCA a técnica adotada pela autora no presente estudo.

1.2 Tomografia de coerência óptica do segmento anterior

Com o advento e a evolução da tomografia de coerência óptica do segmento anterior (*Anterior Segment Optical Coherence Tomography – AS-OCT*), tornou-se possível o estudo *in vivo* da superfície ocular e de suas doenças, destacando-se aqui o pterígio. Trata-se de um método não invasivo, sem contato com as estruturas oculares, e com precisão quase histológica.⁽⁴⁸⁻⁵¹⁾

Existem dois métodos para a captura da imagem através da *AS-OCT*: a de domínio de tempo (TD: *time-domain*) e a de domínio espectral ou domínio de Fourier (*Fourier domain*).⁽⁵²⁾ Os aparelhos de domínio espectral apresentam imagens de maior resolução. Imagens com resolução igual ou menor que 5 μm são considerados de ultra-alta resolução, enquanto que os de

resolução maior que 5 μm são considerados de alta resolução.⁽⁵¹⁾ Em uma revisão recente sobre *AS-OCT* em doenças corneanas e conjuntivais, Venkateswaran *et al.*⁽⁵¹⁾ realizaram a comparação entre os aparelhos de *AS-OCT*, disponíveis comercialmente (Quadro 1). Esses autores observaram que o OPTOVUE-AVANTI[®] (Optovue Inc.[®], Fremont, Califórnia, USA) equipamento usado neste trabalho, apresenta resolução muito alta perdendo apenas para o *Ultrahigh-resolution OCT*. No entanto, o número de *Scans* por segundo do *Avanti*[®] é maior, o que permite uma captura de imagem mais rápida e com menos artefatos. Compreendendo melhor a diferença de resolução entre os aparelhos, pode-se avaliar com mais precisão os resultados obtidos em estudos distintos.

Quadro 1 – Características dos aparelhos de AS-OCT viáveis comercialmente

Instrument	Company	Measurement type	Approximat e axial resolution	Scanning speed per minute
Stratus OCT	Carl Zeiss Meditec	Time-domain	10 μm	400 A scans
Visante OCT	Carl Zeiss Meditec	Time-domain	18 μm	2000 A scans
Slit-lamp OCT	Heidelberg	Time-domain	25 μm	2000 A scans
Spectralis OCT	Heidelberg	Spectral-domain	4–7 μm	40,000 A scans
Cirrus OCT	Carl Zeiss Meditec	Spectral-domain	5 μm	27,000 A scans
OCT SLO	Optos	Spectral-domain	< 6 μm	27,000 A scans
3D OCT 2000	Topcon	Spectral-domain	5–6 μm	50,000 A scans
RT Vue and iVue	Optovue	Spectral-domain	5 μm	26,000 A scans
Avanti	Optovue	Spectral-domain	~ 5 μm	70,000 A scans
SS-1000 CASIA	Tomey	Spectral-domain (swept source)	10 μm	30,000 A scans
Ultra high resolution OCT	Custom build device	Spectral-domain	~ 3 μm	24,000 to 26,000 A scans

Fonte: Venkateswaran, Galor e Wang.⁽⁵¹⁾

Estudos utilizando a *AS-OCT* para avaliação do pterígio e de outras doenças da superfície ocular foram realizados descrevendo seu padrão de refletividade.^(50, 58) Esses estudos demonstraram a importância e a efetividade da *AS-OCT*.

Na *AS-OCT*, os tecidos com estrutura celular organizada refletem menos a luz emitida pelo aparelho, gerando uma imagem hiporrefletiva, como ocorre com os epitélios.⁽⁵³⁾ O estroma conjuntival e a cápsula de Tenon (CT), por sua vez, apresentam estrutura celular desorganizada, com fibroblastos, vasos sanguíneos, e células imunológicas espalhadas pelo tecido conectivo, o que reflete irregularmente a luz, gerando uma imagem hiperrefletiva.⁽⁵³⁾ Como a CT, que é um tecido tendíneo,⁽⁵⁴⁾ é histologicamente mais densa que o estroma conjuntival, ela se apresenta mais hiperrefletiva que o estroma da conjuntiva. Os compartimentos com líquido, como a câmara anterior, os vasos sanguíneos e o espaço subtenoniano (ES)^(55,56) quase não refletem a luz, tendo uma apresentação escura.^(48,56,57)

1.3 O limbo corneoescleral

O limbo corneoescleral contém estruturas fundamentais ao funcionamento do segmento anterior do globo ocular. Ele contém a malha trabecular e o canal de Schlemm, a transição do estroma corneano para a esclera, e, mais superficialmente, apresenta o estroma límbico e a porção epitelial do limbo corneoescleral,⁽⁵⁹⁾ que separa o epitélio da córnea do epitélio conjuntival.

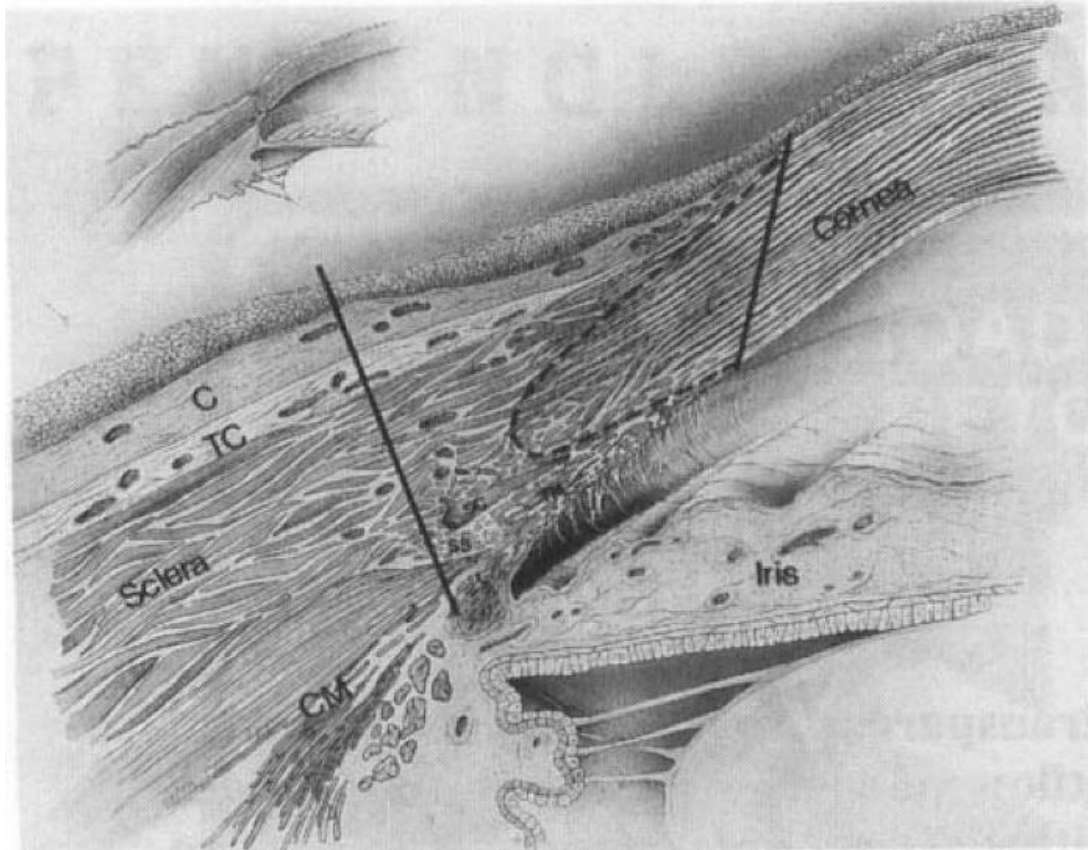
O limbo corneano epitelial é a peça chave da renovação celular da superfície ocular. Ele possui as células tronco epiteliais límbicas (CTEL),⁽⁶⁰⁻⁶³⁾ responsáveis pela renovação epitelial e pela manutenção da transparência da córnea, corresponsáveis pela renovação do epitélio conjuntival.^(64, 65)

O epitélio corneano depende principalmente das CTEL⁽⁶⁶⁻⁶⁸⁾ para sua renovação. Já a conjuntiva apresenta mais de um sítio de Células Tronco Epiteliais Conjuntivais (CTECj), a saber: o limbo, os fórnices e a carúncula.⁽⁶⁹⁾ Assim, a falência do limbo na manutenção das células

epiteliais da córnea permite a proliferação da conjuntiva, levando à perda da transparência e à vascularização da córnea.^(29,62)

Anatomicamente, o limbo corneano epitelial se inicia no término da CB e se estende posteriormente por aproximadamente 1 mm, terminando em uma linha imaginária, que parte do esporão escleral em direção à superfície ocular de maneira perpendicular ao epitélio (Figura 4). Está localizado na transição entre o epitélio corneano e o conjuntival,⁽⁷⁰⁻⁷²⁾ circundando os 360° da córnea. Em sua região superior e na inferior, o limbo apresenta as Paliçadas de Vogt (PV), que são reentrâncias teciduais que permitem o aumento da superfície límbica. Entre as paliçadas, localizam-se as criptas límbicas, ricas em CTEL.^(67,71-74)

Figura 4 – Desenho esquemático ilustrando anatomia do limbo corneoescleral



Fonte: Van *et al.*⁵⁹

Legenda: C (conjuntiva), TC (*Tenon's Capsule*), CM (*Ciliary muscle*). Figura ilustrando as delimitações antero-posteriores do limbo corneoescleral.

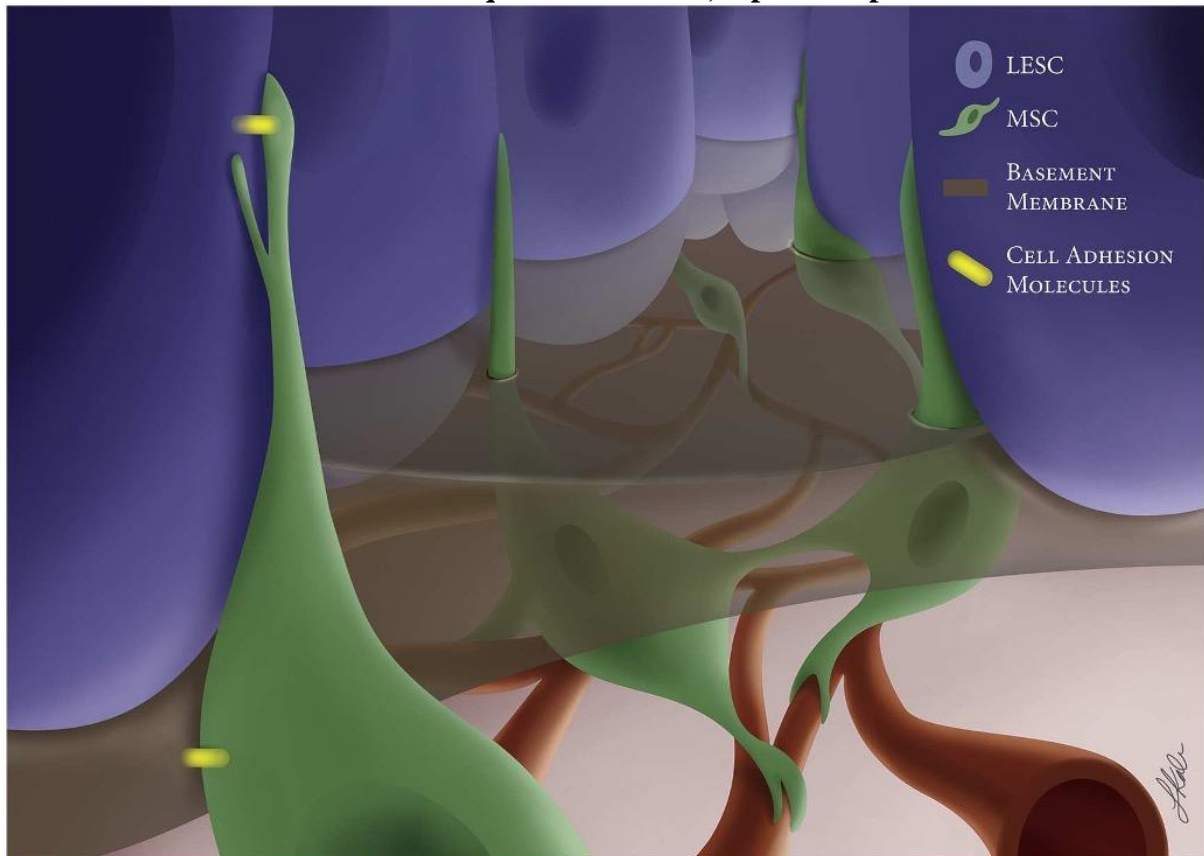
As CTEL são células indiferenciadas, de ciclo lento, com capacidade de se auto-renovar e de se diferenciar em células específicas, as chamadas células de transição, com grande potencial proliferativo, que enquanto progridem pela MB vão se diferenciando nas células basais do epitélio corneano⁽⁷⁵⁾ e do epitélio conjuntival.⁽⁶⁵⁾ No limbo, 5% das células têm capacidade clonogênica, ou seja, de se proliferarem, enquanto que 95% são células de transição, já em processo de diferenciação.⁽⁷⁵⁾

As CTEL se localizam em pequenos nichos⁽⁷⁶⁾ distribuídos nos 360 graus do limbo, mesmo no limbo horizontal, ausente de PV. No entanto, é no limbo superior e nas PV que se situa o maior número de nichos.^(73,77) Esses nichos apresentam um microambiente responsável pela homeostase das CTEL. O conceito de nicho para as CTEL é o conjunto de todos os elementos envolvidos no seu equilíbrio proliferativo.^(67,78) Assim, citocinas, células inflamatórias, mediadores neuroendócrinos, células mesenquimais e a própria matriz extracelular, incluindo sua MB, ajudam a orquestrar o equilíbrio entre a quiescência, a proliferação e a diferenciação dessas células tronco.^(67,77-80)

As CTEL localizam-se na camada basal do epitélio límbico, subjacente à qual está localizada a membrana basal (MB) do limbo, que é contínua com MB do epitélio corneano e com a do epitélio conjuntival.⁽⁷⁴⁾ A MB límbica apresenta variações em sua composição molecular, quando comparada à da córnea e da conjuntiva, o que é importante na diferenciação e migração das CTEL.^(74,78,81)

Kolega e Sun,⁽⁷⁴⁾ estudando a composição da MB da superfície ocular, utilizando anticorpos monoclonais contra elementos que compõem a MB, observaram que, embora contínuas, as MB da córnea, do limbo e da conjuntiva, eram estruturalmente diferentes e a MB límbica apresentava características comuns à MB da córnea e à da conjuntiva.

Figura 5 – Desenho esquemático ilustrando o contato entre as células tronco epiteliais do limbo e as células tronco mesenquimais límbicas, separadas pela membrana basal



Fonte: Yazdanpanah, Jabbehdari e Djalilian.⁽⁶⁷⁾

Legenda: LESC (*Limbal Epithelial Stem Cell*), MSC (*Mesenchymal Stem Cell*).

Assim, a MB se destaca como o principal componente da matriz extra-celular, e é o único componente a separar o limbo epitelial do seu estroma⁽⁷¹⁾ (Figura 5). A MB funciona ainda como uma condutora na diferenciação da CTEL, guiando o seu processo de transição até a diferenciação na célula epitelial.⁽⁸²⁾ Ainda apresenta falhas em sua extensão o que permite a comunicação das células límbicas com as células mesenquimais,^(71,72) o que parece de fundamental importância na homeostase das CTEL⁽⁷¹⁾ e na patogênese do pterígio.^(83,84)

A compreensão do comportamento das CTEL e dos fatores envolvidos em sua homeostase permite-nos entender as suas principais desordens: a falência límbica⁽³²⁾ e o aparecimento do pterígio.^(6,23,85) A falência límbica ou a perda de suas células tronco epiteliais, responsáveis pela

renovação do epitélio corneano, resulta na conjuntivalização da córnea e na perda de sua transparência,^(62,66) com conseqüente baixa visual. Essa perda das CTEL pode ser total ou parcial, e pode estar relacionada à lesão adquirida direta, como queimadura química⁽⁶⁶⁾ ou a fatores indiretos, que alteram o microambiente em que essas células tronco se localizam,⁽⁷⁷⁾ como uso de lentes de contato, doenças relacionadas à MB, como na Síndrome de Steven- Johnson,^(32,66) ou alterações congênitas, como na aniridia.⁽⁷²⁾ A falência límbica pode ainda ser iatrogênica, secundária a procedimentos cirúrgicos realizados diretamente no limbo, ou não, como na Trabeculectomia (TREC), pterígio recorrente, e outros.^(86,87)

A alteração do comportamento das CTEL,^(23,84) está implicada na patogênese do pterígio.^(6,23,30,85) Como descrito anteriormente nesse trabalho, Dushku e Reid,⁽²³⁾ em 1994, após ressecção cirúrgica de pterígios, identificaram através de imunohistoquímica, CTEL modificadas, chamando-as de células de pterígio. Sugeriram a possibilidade de o pterígio ter origem em células-tronco modificadas que migravam através da córnea de maneira centrípeta, seguidas pela conjuntiva.⁽²³⁾ Esses mesmos autores publicaram outros estudos, em que identificaram seis metaloproteinases produzidas pelas células límbicas modificadas⁽⁸⁾ e a presença do gene p53, relacionado à migração de células tumorais ou migrativas,⁽⁸⁸⁾ o que também foi evidenciado por outros autores.⁽⁸⁹⁾ Outros autores também encontraram resultados histológicos e imunohistoquímicos evidenciando a presença de CTEL na cabeça do pterígio e nas ilhotas de Fuchs.^(6,84)

Essas distintas doenças, o pterígio e a falência límbica, têm como possibilidade terapêutica o transplante límbico^(32,72) e, no caso do pterígio, o transplante limbo-conjuntival.^(13,39,45,90) Assim, propôs-se o presente estudo, com o intuito de se estudar a área límbica doadora do TLCA, considerando a gravidade da falência límbica e o seu risco de perda visual,⁽⁶⁶⁾ e ainda, a alta

prevalência do pterígio⁽¹⁴⁾ com sua sintomatologia ampla, desde ardência e vermelhidão ocular até a baixa visual.^(91,92)

1.4 A conjuntiva e a cápsula de Tenon na área doadora do transplante limboconjuntival

A conjuntiva é um tecido epitelial não ceratinizado com suas células-tronco localizadas nos fórnices superior e inferior, na carúncula, e no próprio limbo.^(62,68,69,106-109) Por seu padrão celular organizado, o epitélio conjuntival é hiporrefletivo na *AS-OCT*. Por outro lado, seu estroma apresenta grande quantidade de fibroblastos, vasos sanguíneos e células inflamatórias, de maneira a gerar uma imagem de hiperrefletividade.^(53,110,111) A conjuntiva, por ser um tecido epitelial, apresenta regeneração do seu epitélio através da proliferação de suas células-tronco após uma injúria, e cicatrização com fibrose, quando a lesão atinge seu estroma.

A CT é um tecido conectivo que apresenta mobilidade, com estrutura histológica amorfa densa e com fibroblastos,^(102,112-115) situada abaixo da conjuntiva.⁽¹⁰²⁾ Devido à sua estrutura histológica com elementos celulares e vasculares distribuídos de forma aleatória, apresenta, à *AS-OCT*, um padrão de hiperrefletividade,⁽⁵³⁾ discretamente distinto do estroma conjuntival. Por ser um tecido conectivo, a cicatrização da CT ocorre completamente por fibrose,^(95,113,116,117) o que pode comprometer sua mobilidade. A CT apresenta fraca adesão à episclera, com uma interface entre elas, que permite a mobilidade do conjunto Tenon-conjuntiva,⁽⁵⁵⁾ o ES, que se apresenta hiporrefletivo e linear à *AS-OCT*.⁽⁵⁶⁾

A compreensão da cicatrização da conjuntiva (epitélio e estroma), da CT e do ES são de extrema importância.^(101,118,119) O estudo detalhado, de maneira isolada, da cicatrização dessas estruturas poderá propiciar melhores resultados cirúrgicos, além de ampliar as possibilidades nos

casos de procedimentos cirúrgicos consecutivos, em pacientes que apresentam doenças associadas, como pterígio e glaucoma.

A área doadora para o TLCA é, geralmente, a conjuntiva bulbar superior, por sua maior extensão até o fórnice superior e pelo maior número de CTCL, presentes nas PV.^(39,46,90) No entanto, a região superior do bulbo ocular é a mesma utilizada no tratamento cirúrgico do glaucoma, na TREC.

O glaucoma é a principal causa de cegueira irreversível do mundo sendo a TREC o seu principal tratamento cirúrgico.⁽⁹³⁾ A TREC cria um novo trajeto para o escoamento do Humor Aquoso (HA) sem passar pelo trabeculado, sendo uma fístula trabeculo-escleral, que conduz o HA para o ES.⁽⁹⁴⁾ A falência da TREC geralmente é provocada pelo fechamento da fístula cirúrgica por tecido fibrótico⁽⁹⁵⁾ e tem motivado muitos estudos sobre a cicatrização da conjuntiva e da CT.^(93,96-99) Os fatores relacionados à falência da TREC já são conhecidos: pacientes jovens, inflamação ocular crônica, uso crônico de medicação tópica, pacientes submetidos a cirurgia prévia com incisão conjuntival, glaucoma secundário^(100,101) e *diabetes mellitus*.⁽¹⁰²⁾

Na exérese do pterígio, os autores utilizam o TLCA oriundo da conjuntiva bulbar superior que, via de regra, é a mesma região onde se realiza a TREC. Considerando o risco aumentado de falência da TREC em olhos com cirurgias prévias, avaliar o processo cicatricial da conjuntiva na área doadora parece ser muito importante.

2 OBJETIVOS

2.1 Objetivos Gerais

Estudar por meio da avaliação clínica e da *AS-OCT*:

a) A cicatrização da conjuntiva e da CT na área doadora. Considerando:

- A cicatrização da conjuntiva por segunda intenção;
- A CT preservada durante o ato operatório;
- A manutenção do ES na área doadora;

b) Estudar o limbo corneano doador. Considerando:

- A área do corte transversal do limbo, na *AS-OCT*, às 12 horas, no pré e no pós-operatório;
- A preservação, ou não, da função límbica após a doação tecidual.

3 MÉTODOS

Todos os pacientes atendidos no consultório para avaliação do tratamento cirúrgico do pterígio, no período de maio de 2017 a maio de 2018 foram convidados a participar dessa pesquisa.

Todos os participantes assinaram o termo de consentimento livre e esclarecido (TCLE) (Apêndice A) previamente aprovado pelo Comitê de Ética da Universidade Federal Minas Gerais (COEP – UFMG CAAE: 80402017.4.0000.5149) (Anexo A).

Os procedimentos cirúrgicos foram realizados pela mesma cirurgiã (FSV), no período de maio de 2017 a abril de 2018.

3.1 Critérios de inclusão e de exclusão

3.1.1 Critérios de inclusão

- Idade acima de 18 anos, sem distinção de sexo;
- pterígios primários ou recidivados, em olhos com área doadora limboconjuntival superior intacta;
- pterígios nasal de extensões variadas.

3.1.2 Critérios de exclusão

- Pterígio recidivado, em que na cirurgia anterior, a região limboconjuntival superior já houvesse sido usada como doadora;

- olhos com outras doenças de superfície ocular, além do pterígio. E com uso frequente de colírios como o glaucoma.
- pterígios muito pequenos, menores que 1 mm sobre a córnea, ou assintomáticos, que não justificassem intervenção cirúrgica;
- pacientes com falência límbica difusa ou setorial;
- inflamação crônica, por outra etiologia, que não esteja relacionada ao próprio pterígio;
- pacientes que não compareceram a todas as avaliações pós-operatórias.

3.2 Técnica operatória

Os pacientes foram submetidos a (Figura 6):

1. Anestesia local com 0,5 mL de lidocaína 2% com vaso constritor (Xilocaína® - AstraZeneca Moinho Velho®, Cotia – SP) sob a área doadora superior e sob o pterígio (Figura 6 A);
2. Dissecção da conjuntiva que cobre o pterígio com tesoura de Westcott, partir de seu pescoço, dissecando toda a extensão do feixe fibrovascular subconjuntival, até a carúncula, e os fórnices superior e inferior. Preservando a conjuntiva dissecada. (Figura 6-B e 6-C);
3. Deseptelização da córnea até 1 mm além da porção membranosa da cabeça do pterígio (da coroa) com lâmina de bisturi número 15;
4. Ressecção do feixe fibrovascular subconjuntival (Figura 6-D);
5. Ressecção da cabeça do pterígio (sobre a córnea) e desnudamento do limbo acometido pelo pterígio (Figura 6-E);

6. Ressecção do máximo de CT acometida pelo pterígio deixando a esclera nua (Figura 6-E);⁽¹²⁰⁾
7. Para o TLCA: na região superior do bulbo, realizamos: Incisão da conjuntiva perpendicular ao limbo as 11 e as duas horas do limbo, aproximadamente. Sendo a medida do TLCA a mesma medida da área desnuda de limbo e esclera nua no local da ressecção do pterígio, conferido com compasso milimetrado. Em seguida, outra incisão transversal unindo as duas anteriores, próximo ao fórnice superior. Dissecção da conjuntiva superior para confecção do TLCA, evitando a manipulação da CT, no leito doador (Figura 6-F);
8. Dissecção do limbo superior, em continuação com a dissecção da conjuntiva, para confecção do TLCA, seguindo o mesmo plano da conjuntiva, chegando a um mm de limbo (Figura 6-G); retirou-se apenas a conjuntiva e a porção mais superficial, epitelial, do limbo corneano, que apresenta o plano de dissecção contínuo com a conjuntiva e o com o epitélio da córnea. Evitou-se aprofundar na ressecção do limbo, mantendo o plano de dissecção da conjuntiva, até a córnea;
9. O TLCA é fixado com selante de fibrina (Tyssel[®] - Baxter AG[®], Viena, Áustria).^(13, 121-124) na esclera nua. A borda correspondente ao limbo do transplante foi posicionada no limbo receptor (Figura 6-H e 6-I);
10. A área doadora é deixada cruenta, sem aproximação das bordas, com a CT exposta. Para cicatrização por segunda intenção (Figura 6-I).

Não foi realizada cauterização dos vasos lesados na área doadora, uma vez que se tratavam de vasos superficiais e de pequeno calibre, com melhora espontânea do sangramento na maioria das vezes e, quando necessária, a hemostasia era conseguida com a compressão local leve. Na área

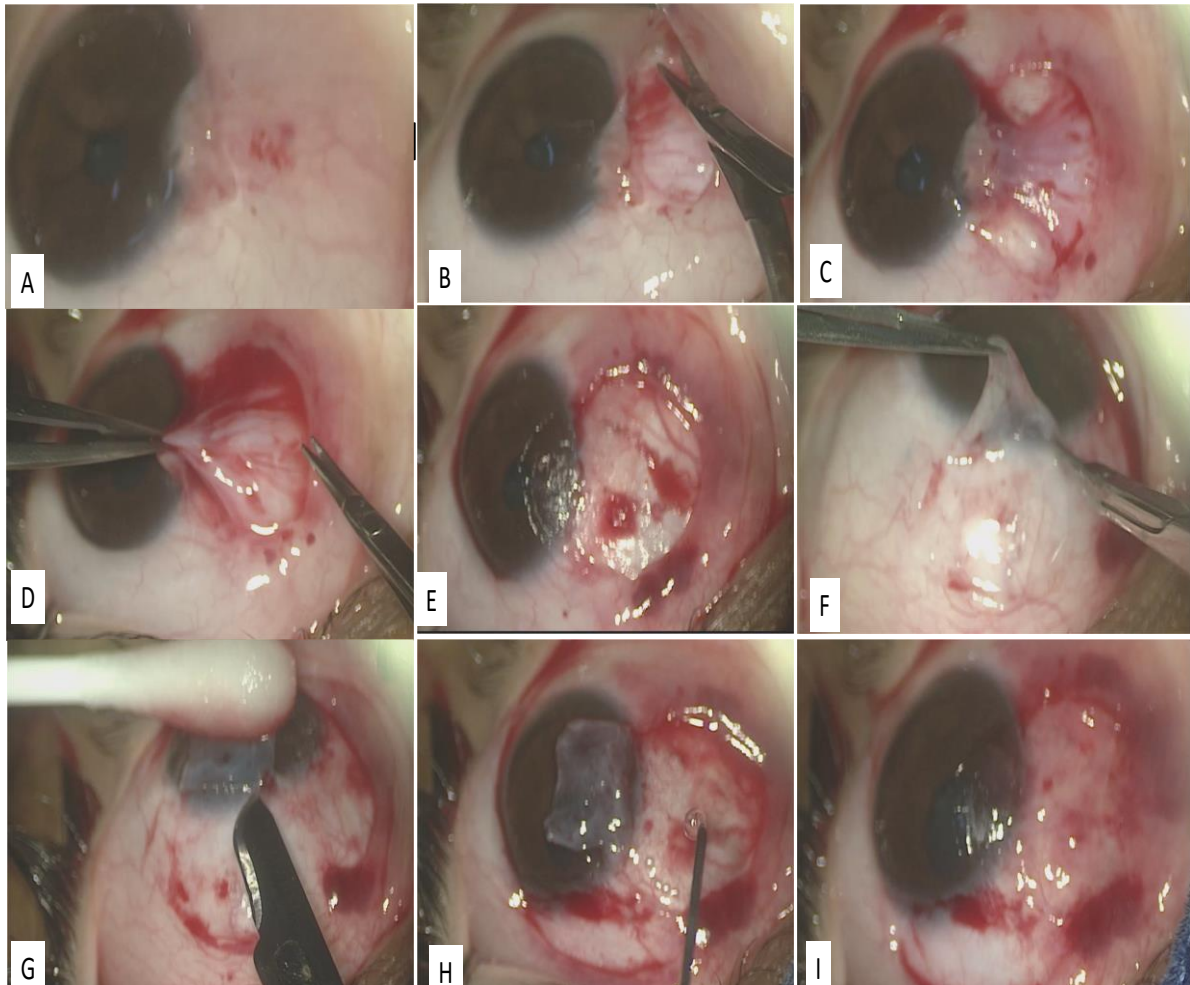
receptora, entretanto, os vasos episclerais e esclerais, que apresentam maior calibre, e quando lesados, eram cauterizados com cautério bipolar, evitando cauterizações excessivas. O selante de fibrina, usado para fixação do TLCA, também apresenta propriedades hemostáticas, considerando sua constituição a partir de protrombina e fibrinogênio.⁽¹³⁴⁾

Os pacientes tiveram o olho operado ocluído por dois dias consecutivos, usando pomada oftálmica Maxinom[®] (dexametasona + sulfato de neomicina + polimixicina B – Genon[®] - Brasília, DF).

Em seguida iniciaram a instilação do colírio Maxinom[®] (dexametasona + sulfato de neomicina + polimixicina B – Genon[®] – São Paulo, Brasil) quatro vezes ao dia, por sete dias. Completados sete dias de pós-operatório o primeiro colírio era suspenso. E então iniciaram o colírio Ster[®] (acetato de Prednisolona 10 mg/ml – Genon[®] – São Paulo, Brasil) em regressão de dose. Primeira semana de 8/8 horas, segunda semana de 12/12 horas, terceira semana 24/24 horas.

Como colírio lubrificante durante todo o período pós-operatório foi usado livremente o colírio Hyabak[®] (Hialuronato de sódio – Genon[®] - São Paulo, Brasil).

Figura 6 – Descrição da técnica cirúrgica



Fonte: Fotografia da autora.

Legenda: A) Incisão da conjuntiva no início do corpo do pterígio; B) dissecção da conjuntiva com exposição do corpo do pterígio; C) Retração da conjuntiva dissecada. Não houve ressecção da conjuntiva acima do corpo do pterígio; D) Ressecção do pterígio; E) Córnea desepitelizada com região de 1 a 2 mm além da área de invasão observada com invasão pela coroa do pterígio; F) Confecção do enxerto limboconjuntival, G) Dissecção do limbo epitelial; H) Selante de fibrina para fixação do transplante conjuntival; I) Cirurgia finalizada com TLCA posicionado no leito escleral nasal, com o limbo doado posicionado sobre o limbo receptor. A área doadora foi deixada cruenta para cicatrização por segunda intenção.

3.3 Avaliação clínica

3.3.1 Avaliação clínica da área doadora conjuntival

3.3.1.1 Avaliação clínica em lâmpada de fenda e fotografia digital

No pré e no pós-operatório, os pacientes foram avaliados clinicamente pela mesma cirurgiã (FSV), para variáveis biomicroscópicas na região área doadora. Também foram realizadas fotografias da área doadora, com aumento de 10 e de 16 vezes, com máquina fotográfica (Nikon® - Nikon Imaging Japan Inc.®) acoplada à lâmpada de fenda (HR - Asapt®, São Paulo, Brasil), sem *flash*, no pré-operatório e nas visitas do pós-operatório (1, 7, 30 e 180 dias) para fotodocumentação. Os dados foram coletados em protocolo específico. (Apêndice B). Foram observadas as seguintes variáveis:

- a) hiperemia conjuntival na área doadora (presente ou ausente);
- b) alteração do trajeto dos vasos na área doadora, avaliada a partir da comparação das fotografias digitais obtidas durante o exame em lâmpada de fenda, em cada etapa do pós-operatório. Foram consideradas alterações vasculares: congestão, distorções de trajeto, e variação do número de vasos. A presença de qualquer uma dessas alterações, foi considerada como uma única variável, uma vez que estão relacionadas ao processo inflamatório cicatricial. Essa variável foi considerada a partir do 7º DPO (presente ou ausente);

- c) teste da coloração com colírio Fluoresceína sódica a 1,0% (Allergan[®], Guarulhos, São Paulo), para avaliar epitelização da área doadora: caso houvesse área impregnada pela fluoresceína, a coloração era considerada presente.

3.3.1.2 Avaliação da mobilidade conjuntival

A mobilidade conjuntival foi avaliada pela cirurgiã (FSV), com o uso de cotonete, após instilação de colírio proximetacaína a 0,5% (Anestalcon[®], Alcon[®], São Paulo, Brasil). A conjuntiva era levemente pressionada e deslocada nas direções vertical e horizontal. Caso houvesse deslocamento tecidual, a mobilidade era considerada presente. Esse teste foi realizado no pré-operatório e após 180 DPO. Os dados obtidos foram registrados no protocolo específico da pesquisa (Apêndice B).

3.3.1.3 Avaliação por examinadores externos

Após seis meses de pós-operatório, foi realizada outra avaliação clínica dos pacientes em lâmpada de fenda, por outros dois oftalmologistas especialistas em glaucoma, com mais de 10 anos de experiência na realização da TREC. Esses oftalmologistas desconheciam a apresentação pré-operatória dos pacientes e a evolução cicatricial até aquele momento.

Nessa avaliação, os cirurgiões preencheram um questionário (Apêndice C) em que eles responderam sobre:

- a) observação dos vasos sanguíneos da superfície ocular em direção ao limbo: se apresentavam, ou não, alterações como congestão, distorções de trajeto, e variação do número de vasos;
- b) a mobilidade tecidual na área doadora e na área receptora, se presente ou ausente, através de toque com cotonete;
- c) a possível viabilidade de reintervenção cirúrgica no local, inclusive a TREC, se sim ou não.

Quanto à viabilidade para reintervenção cirúrgica, essa variável era considerada como SIM, quando a área doadora não apresentava sinais de cicatrização local prévia, como hiperemia, presença de vasos anômalos e/ou aderências a planos profundos.

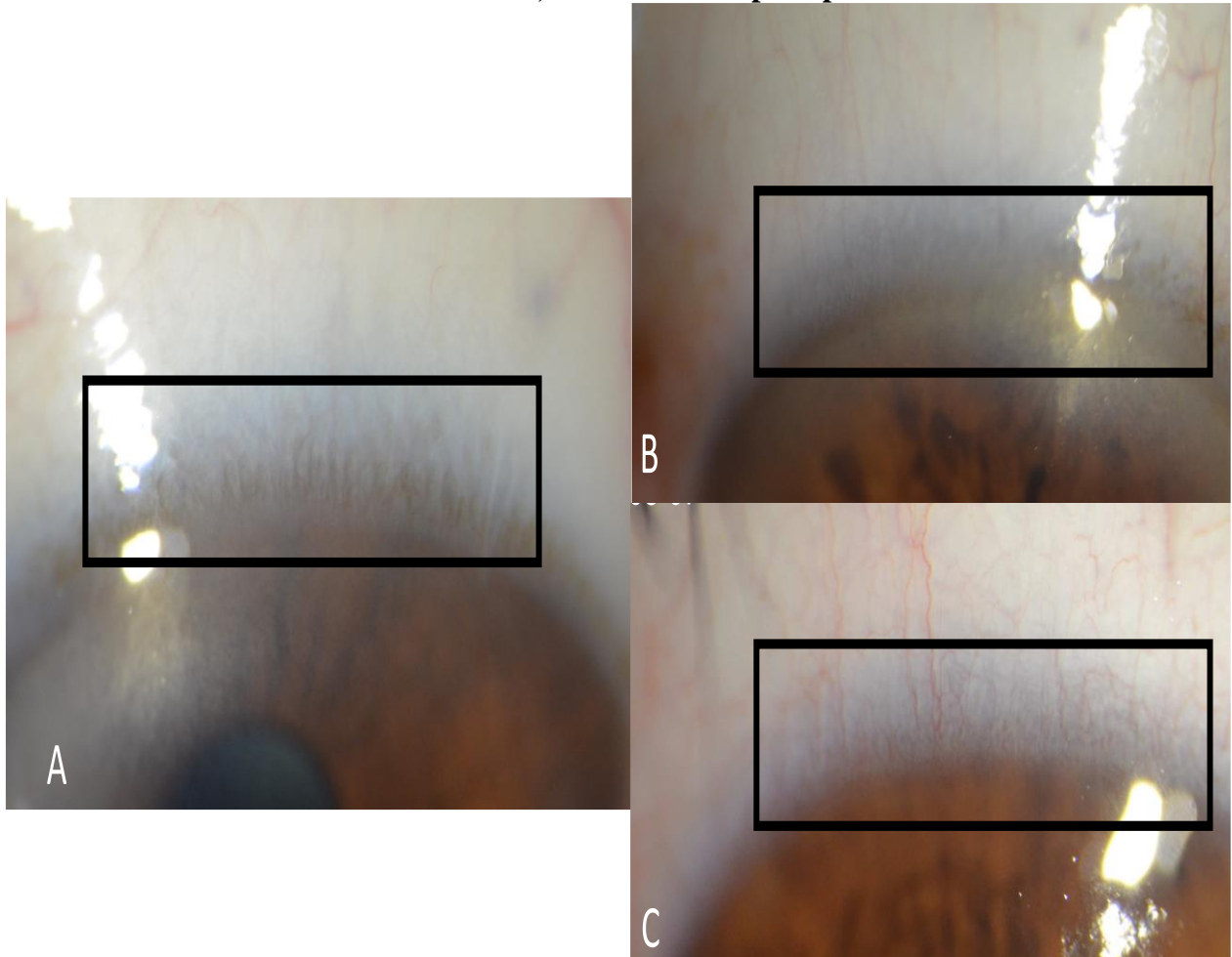
3.3.2 Avaliação clínica do limbo doador em lâmpada de fenda e fotografia digital

A avaliação em lâmpada de fenda do limbo corneano epitelial doador foi feita acompanhada de registro fotográfico, por meio de câmera fotográfica (Nikon® - Nikon Imaging Japan Inc.) acoplada à lâmpada de fenda (HR® - Asapt SP - Brasil). Os pacientes foram avaliados no pré-operatório, no 1º, 7º, 30º e 180º dias pós-operatório (DPO), quanto aos seguintes parâmetros. Os dados foram coletados em protocolo específico (Apêndice D):

- a) presença de PV no limbo doador no pré e no pós-operatório (Figura 7-A, B e C);
- b) extensão da área límbica doada em horas;
- c) epitelização do limbo, da córnea e da conjuntiva, a partir do 7º DPO, avaliado por meio da instilação do colírio de Fluoresceína sódica a 1,0% (Allergan®, Guarulhos-SP);

- d) presença de conjuntivalização do limbo doador ou da córnea superior, após a doação tecidual, se presente ou ausente;
- e) vascularização do limbo na área doada, se presente ou ausente (Figura 7-C).

Figura 7 – Fotografias digitais em lâmpada de fenda, evidenciando as variações anatômicas do limbo corneano, observadas no pré-operatório



Fonte: Fotografia da autora.

Legenda: Fotografia do segmento anterior, com aumento de 16 vezes. A) Fotografia com destaque para paliçadas de Vogt evidentes; B) Fotografia do limbo de um paciente em que as PV não são evidentes: observa-se halo senil na periferia da córnea, próxima ao limbo superior; C) Observa-se o limbo sem paliçadas e com vascularização evidente, mas sem que os vasos invadam a córnea, e sem conjuntivalização. Observa-se, também, a transparência da córnea nos três olhos, embora as PV sejam evidentes apenas em A.

3.4 Tomografia de coerência óptica de segmento anterior

3.4.1 Tomografia de coerência óptica do segmento anterior da conjuntiva e cápsula de Tenon na área doadora

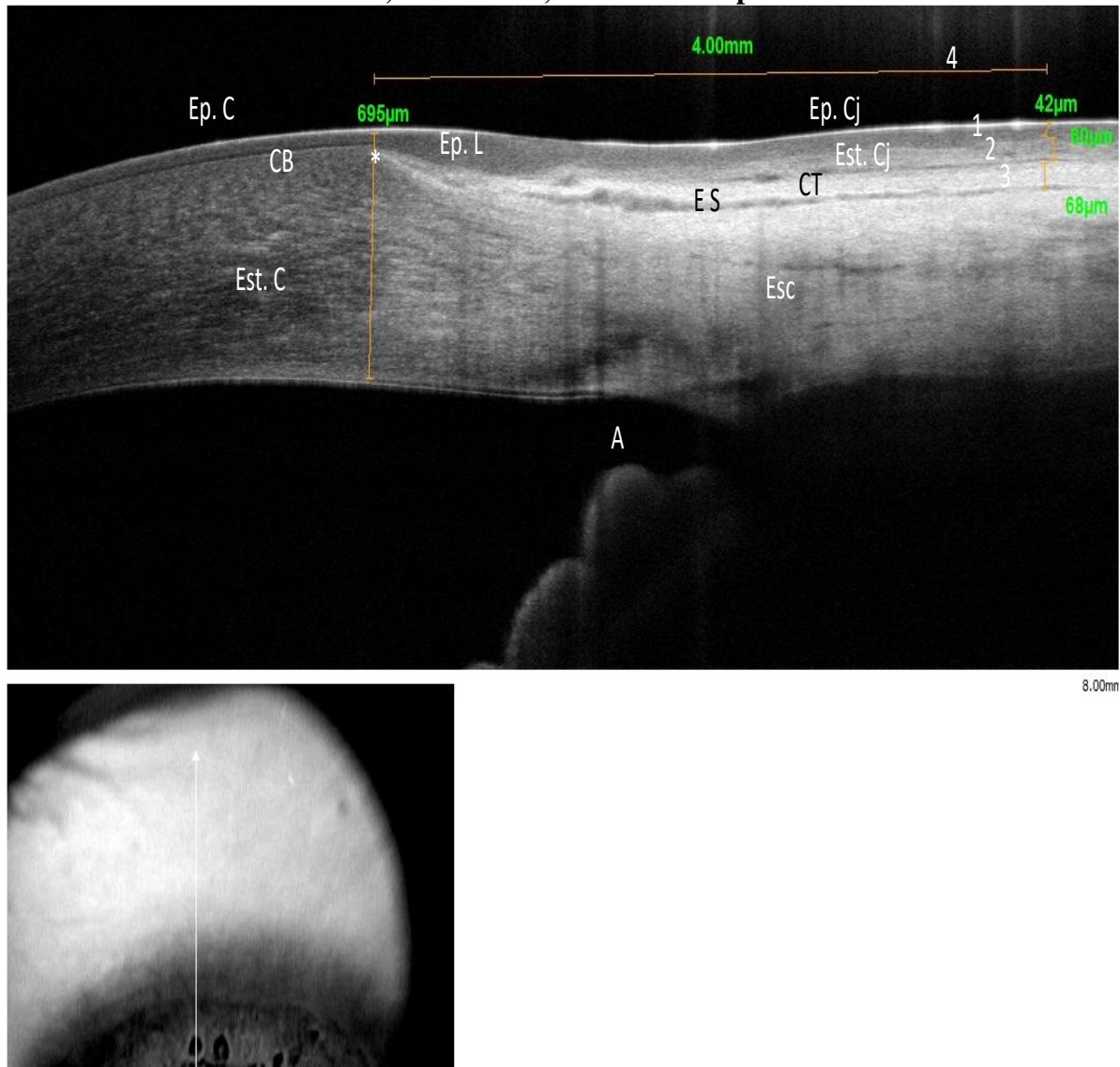
Para os exames de *AS-OCT*, foi utilizado o aparelho OPTOVUE-AVANTI® (Optovue Inc.®, Fremont, Califórnia, USA) com lente para segmento anterior. Esse aparelho apresenta aquisição de imagens com 70.000 A *scans*/segundo e resolução axial de 5 µm. Os exames de *AS-OCT* foram feitos um dia antes da exérese do pterígio, com 30 DPO, e com 180 DPO.

As medidas da espessura da conjuntiva e da CT com a *AS-OCT* foram feitas com base no estudo de Howlett, Vahdani e Rossiter,⁽⁵³⁾ que avaliaram o conjunto conjuntiva-Tenon no local onde habitualmente é feita a TREC (Figura 8).

Foram obtidas as seguintes medidas para comparação pré e pós-operatória (Apêndice B). Essas medidas foram realizadas visando o local onde normalmente é feita a TREC:

- a) espessura do epitélio conjuntival;
- b) espessura do estroma conjuntival;
- c) espessura da CT;
- d) avaliação da presença ou ausência do ES.

Figura 8 – Tomografia de coerência óptica do segmento anterior da área limboconjuntival doadora, às 12 horas, em olho não operado



Fonte: Fotografia da autora.

Legenda: CB: camada de Bowman; Ep.C. Epitélio Corneano; Ep.L, Epitélio Límbico; Est. C Estroma Corneano; Ep. Cj: Epitélio da Conjuntiva; Est. Cj: Estroma da Conjuntiva; CT: cápsula de Tenon; ES: Espaço SubTenoniano; Esc: Esclera; A: Ângulo iridocorneano. Aparelho utilizado: OPTOVUE-AVANTI® (Optovue Inc.®, Fremont, Califórnia, USA).

* marcação do início do limbo epitelial e término da CB (com a medida da espessura córnea neste local 695µm); 1) Espessura do epitélio da conjuntiva: 42µm; 2) Espessura do estroma da conjuntiva: 60µm; 3) Espessura da cápsula de Tenon: 68µm; 4) Medida de 4mm após o início do limbo, em direção ao fórnice superior.

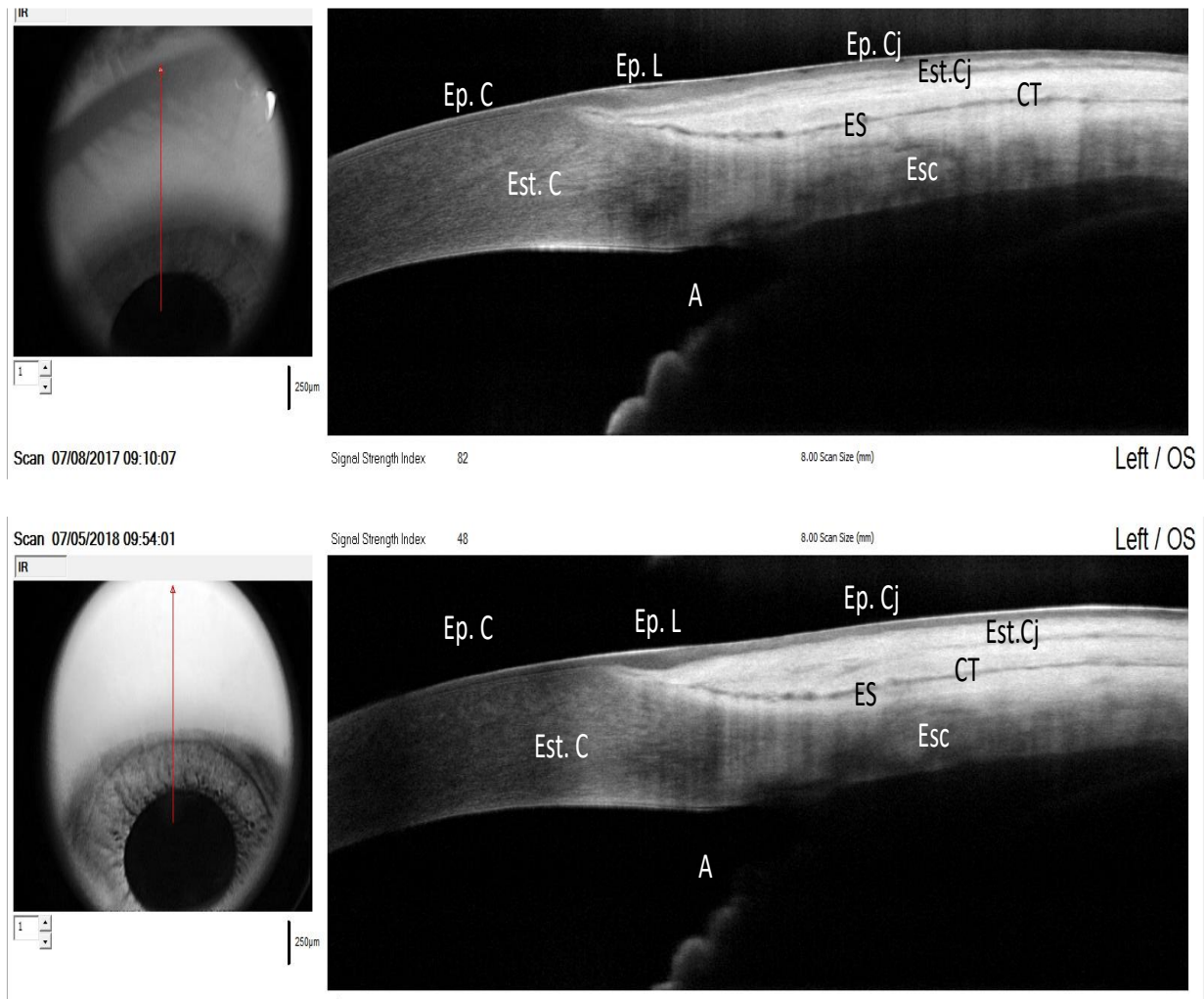
Observa-se, na Figura 8, o aspecto hiporrefletivo dos tecidos epiteliais da córnea, do limbo e da conjuntiva e a continuidade entre eles. O estroma da conjuntiva e a CT são hiperrefletivos,

sendo que a CT é mais refletiva que o estroma conjuntival. O ES apresenta-se linear e hiporrefletivo.

Para a marcação do local para onde a fístula transescleral da TREC drena o HA, marcou-se o início do limbo epitelial corneano, que coincide com o término da camada de CB (Figura 8 – *).⁽⁷²⁾ Foram feitas medidas a 4mm do início do limbo, em direção ao fórnice superior, considerando separadamente o epitélio da conjuntiva, seu estroma, a CT e o ES. Foram realizados mais de um corte, aproximadamente cinco, e selecionado o de melhor resolução, para a realização das medidas. Essas medidas foram realizadas pelo *software* de imagens do próprio aparelho. A autora delimitou cada estrutura estudada e registrou as espessuras, que foram coletadas em protocolo específico (Apêndice B). Todas as medidas pré e pós-operatórias foram comparadas.

Também foram obtidas imagens comparativas da *AS-OCT* do pré e do pós-operatório (Figura 9), obtidas pelo *software* do próprio aparelho, que permite a comparação de duas imagens de um mesmo olho. Essas imagens foram avaliadas pela autora e por um anatomopatologista (MSP) simultaneamente, quanto à preservação, ou não, do epitélio e do estroma da conjuntiva, da CT e do ES. Cada uma dessas estruturas teve sua refletividade pré e pós-operatórias comparadas (Figura 9):

Figura 9 – Comparação da imagem da tomografia de coerência óptica do segmento anterior pré-operatória com a imagem de seis meses de pós-operatórios, do mesmo olho, às 12 horas do limbo corneano



Fonte: Fotografia da autora.

Legenda: Ep.C.: Epitélio Corneano; Est. C: Estroma Corneano; Ep.L: Epitélio Límico; Ep. Cj: Epitélio da Conjuntiva; Est. Cj: Estroma da Conjuntiva; CT: Cápsula de Tenon; ES: Espaço Subtenoniano; Esc: Esclera; A: Ângulo iridocorneano. Equipamento utilizado: OPTOVUE-AVANTI® (Optovue Inc.®, Fremont, Califórnia, USA).

Acima o pré-operatório e abaixo o pós-operatório. Observa-se a continuidade do epitélio da conjuntiva, do limbo e da córnea no pré e no pós-operatórios, mantendo o padrão de hiporrefletividade. O estroma da conjuntiva apresenta aumento da sua refletividade no pós-operatório maior que 180 DPO, apresentando-se mais refletivo que no pré-operatório. A cápsula de Tenon e o espaço subtenoniano mantém o mesmo padrão de refletividade, no pré e no pós-operatórios.

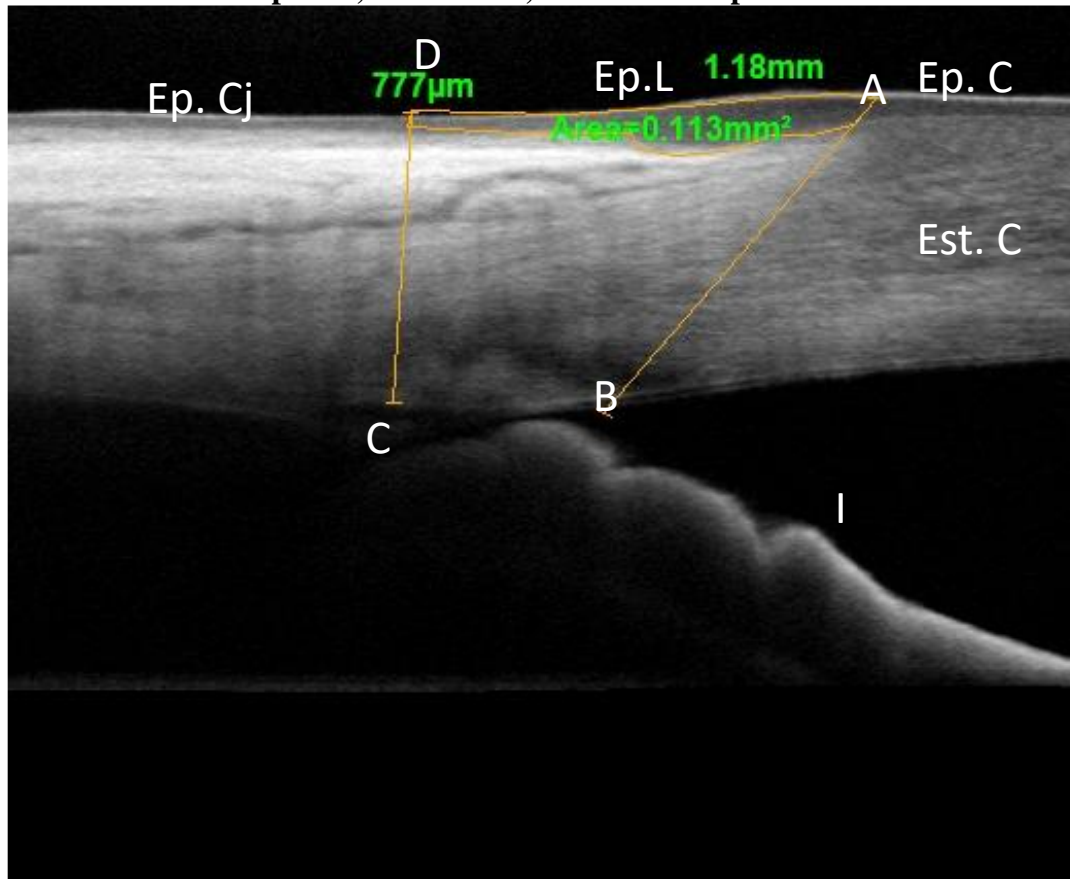
3.4.2 Tomografia de coerência óptica de segmento anterior para avaliar a área do corte transversal do limbo corneoescleral

No consenso global para definição, classificação, diagnóstico e estadiamento da falência límbica,⁽⁶⁶⁾ a *AS-OCT*, feita com aparelhos de domínio espectral é considerada como método seguro na avaliação da espessura do epitélio límbico e na sua correlação com a falência límbica.

Os exames de *AS-OCT* foram realizados um dia antes do procedimento cirúrgico e com 30 dias e seis meses de pós-operatório. Para a realização da medida da área límbica, utilizou-se, como referência, o trabalho realizado por Lin *et al.*,⁽¹²⁶⁾ em que a *AS-OCT* foi utilizada para avaliar a espessura do epitélio límbico nos seus quatro quadrantes, no intuito de identificar mudanças de espessura entre os quadrantes límbicos de indivíduos sem doença ocular, em diferentes faixas etárias. Nesse trabalho, o epitélio límbico superior foi identificado e avaliado separadamente do seu estroma. Por seu padrão histológico organizado, o epitélio límbico reflete pouco a luz emitida pela *AS-OCT* e sua imagem é hiporrefletiva (Figura 10).

Consideramos o início do limbo corneoescleral após término da CB (ponto A) superiormente (Figura 10). Inferiormente, o limbo é demarcado pelo término da membrana de Descemet (ponto B). Pósterio-inferiormente o ponto de referência é o esporão escleral (ponto C). Uma reta imaginária subindo a partir do esporão escleral em direção ao epitélio e terminando perpendicular a ele, leva ao limite pósterio-superior (ponto D). A semelhança da imagem deste trabalho (Figura 10), com aquele extraído do artigo de revisão feito por Van *et al.*⁽⁵⁹⁾ (Figura 4):

Figura 10 – Tomografia de coerência óptica do segmento anterior do limbo corneoescleral superior, às 12 horas, em olho não operado



Fonte: Imagem da autora.

Legenda: Ep.C.: Epitélio Corneano; Est. C: Estroma Corneano; Ep. L: Epitélio do Limbo; Est. L: I: íris. Equipamento utilizado: OPTOVUE-AVANTI® (Optovue Inc.®, Fremont, Califórnia, USA).

Imagem da AS-OCT em que a área do limbo epitelial é destacada em amarelo e mensurada. O ponto A marca o início do limbo superior, e o ponto B marca seu limite ântero-inferior. O ponto C marca o esporão escleral, e portanto, o limite pósteroinferior do limbo corneoescleral. O ponto D é obtido criando-se uma reta imaginária do esporão escleral até a superfície epitelial (perpendicular), marcando o limite pósterosuperior do limbo.

O epitélio límbico, hiporrefletivo encontra-se delimitado entre as retas AB e DC, anterior e posterior, respectivamente, e, inferiormente, pelo estroma límbico hiperrefletivo. A área do epitélio límbico encontra-se destacada por linhas amarelas.

Diferentemente do trabalho realizado por Lin *et al.*,⁽¹²⁶⁾ que mediu a espessura do epitélio límbico, optamos por medir a área do epitélio límbico, em seu corte transversal, às 12 horas, utilizando uma ferramenta disponível no *software* do AS-OCT (Figura 10). Essa ferramenta permite

a demarcação da área límbica ponto a ponto, de modo contínuo, permitindo respeitar as reentrâncias teciduais próprias dessa região. No momento em que o ponto inicial e o final se encontram, automaticamente o *software* faz o cálculo da área. (Apêndice D – Protocolo de coleta de dados).

3.5 Cálculo amostral

3.5.1 Cálculo amostral para as espessuras da conjuntiva e da cápsula de Tenon

O cálculo amostral foi feito com base na variação da normalidade da espessura do epitélio conjuntival e do conjunto estroma conjuntival/Tenon do estudo piloto interno do presente trabalho, considerando os dados dos primeiros 10 pacientes. Os valores dos desvios-padrão das espessuras do epitélio conjuntival e do estroma conjuntivo-tenoniano foram, respectivamente, 7,35 μ m e 32,61 μ m. Esses valores foram semelhantes àqueles do estudo de Zhang *et al.*,⁽¹¹¹⁾ com *AS-OCT* da conjuntiva bulbar. Nesse estudo, os autores consideraram a conjuntiva e a Tenon temporal inferior, a 3 mm do limbo. Embora não seja o mesmo quadrante estudado no presente trabalho, Howlett, Vahdani e Rossiter⁽⁵³⁾ citam em seu trabalho a pequena variação da espessura da conjuntiva nos quatro quadrantes em comparação a achados histológicos e a outros estudos, em que se mede a espessura da conjuntiva nasal e temporal.^(53,127,128)

Assim, consideramos, para o cálculo amostral, os valores dos desvios-padrão das medidas obtidas no estudo de Zhang *et al.*⁽¹¹¹⁾ para o epitélio da conjuntiva de 7,4 μ m e para o estroma conjuntiva/Tenon de 32,5 μ m. Com uma amostra de pelo menos 23 olhos obter-se-ia 90% de poder estatístico na detecção de uma diferença de 7,4 μ m entre as médias da variável espessura do epitélio conjuntival e de 32,5 μ m entre as médias da variável espessura do conjunto estroma-Tenon, comparando-se o pré e o pós-operatório.

3.5.2 Cálculo amostral para a área do corte transversal do limbo

Para a avaliação do número de pacientes, um tamanho amostral de pelo menos 16 olhos obteria 95% de poder estatístico na detecção de uma diferença entre as médias dos grupos pré e pós-operatório (seis meses) de no mínimo $0,031 \mu\text{m}^2$, que corresponde a um desvio padrão das diferenças dos valores de área do limbo pré e pós, segundo estudo piloto realizado com $n=20$ olhos. Assim o estudo realizado com 23 olhos apresenta um poder estatístico satisfatório.

3.6 Análise estatística

A análise descritiva foi realizada por meio de avaliação de média e de desvio-padrão para as variáveis numéricas com distribuição normal. Utilizou-se o teste de Shapiro-Wilk para verificar a hipótese de normalidade das variáveis contínuas medidas em micrômetros (μm).

Aplicou-se o teste de *t-Student* pareado na comparação das médias das medidas pré e pós-operatórias das espessuras do epitélio conjuntival, do estroma da conjuntiva e da espessura da Tenon, e, para a variável área do corte transversal limbo no pré e no pós-operatório.

As análises foram realizadas no *Software SPSS*[®] (*Statistical Package for the Social Services*) (IBM, Chicago, Illinois) versão 18, considerando-se o nível de significância estatística de 0,05.

4 RESULTADOS

4.1 Caracterização da amostra

Trinta e dois olhos de 29 pacientes participaram inicialmente, mas apenas 21 pacientes compareceram para realização de todos os exames e avaliações pós-operatórias, totalizando de vinte e três olhos. Nove olhos foram excluídos, oito por não completarem o seguimento pós-operatório, um por apresentar glaucoma, em uso de análogo de prostaglandina.

Sessenta e cinco por cento dos olhos pertenciam ao gênero feminino. Três olhos (13%), apresentavam pterígio recidivado. A idade variou de 31 a 67 anos, com a média de $49,0 \pm 11,8$ anos.

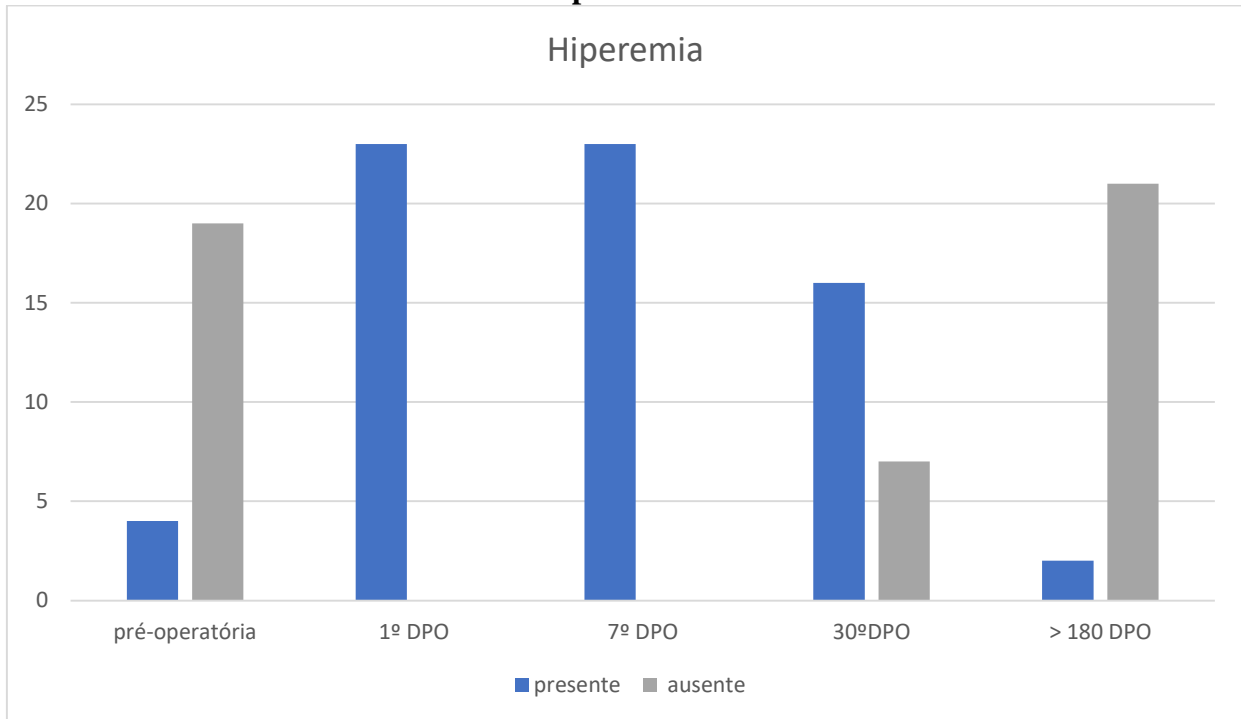
4.2 Resultados da avaliação clínica da área doadora conjuntival

4.2.1 Avaliação clínica e fotografias de segmento anterior

4.2.1.1 Hiperemia conjuntival na área doadora

No pré-operatório (Figura 11-A), a hiperemia conjuntival estava presente em quatro (17%) olhos, todos com pterígio extensos, e com relato de inflamação crônica recorrente. No 1º DPO (Figura 11-B) e no 7º DPO (Figura 11-C), observou-se hiperemia conjuntival em 23 (100%) olhos. No 30º DPO (Figura 11-D), tal achado clínico estava presente em 16 (69,5%) olhos. Após 180 dias (Figura 11-E), observou-se hiperemia em dois (9%) olhos, nos mesmos olhos em que fora observado no pré-operatório (Gráfico 1).

Gráfico 1 – Descrição da presença ou ausência da hiperemia bulbar superior no pré e pós-operatórios

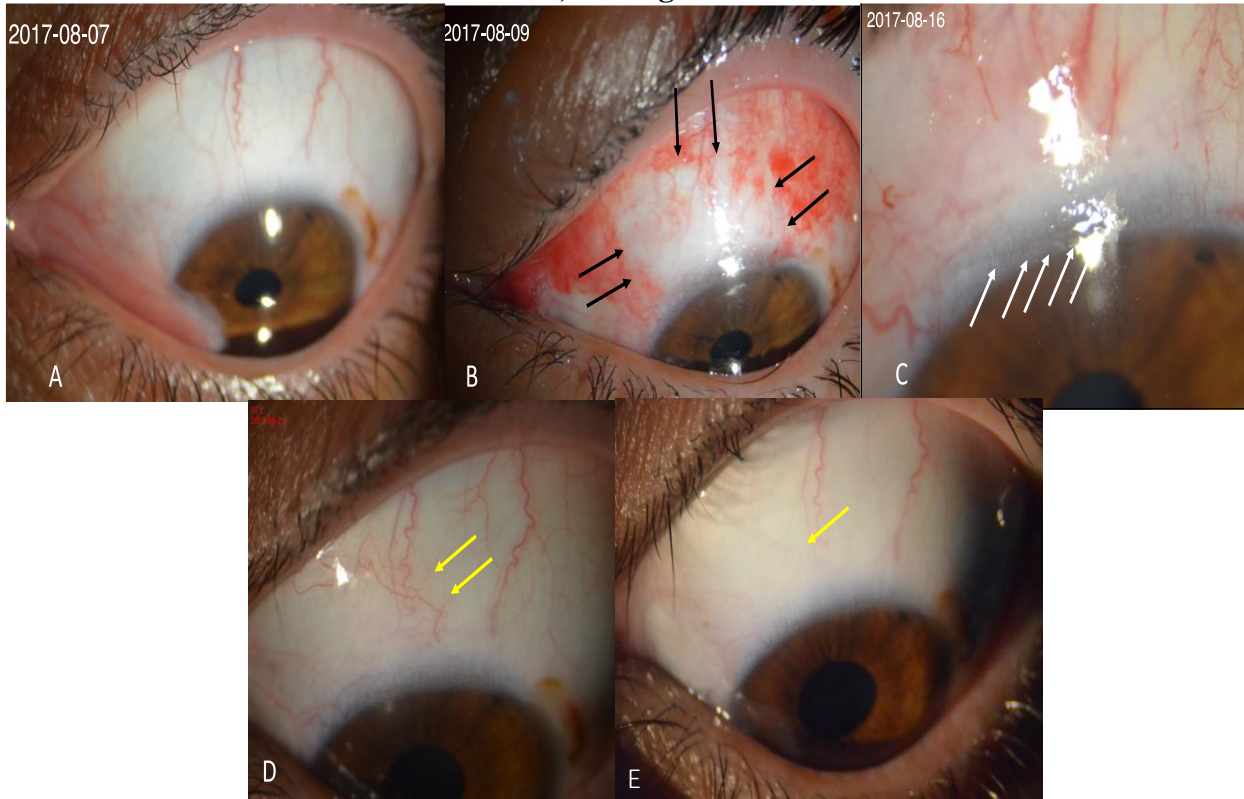


Fonte: Dados da pesquisa.

Legenda: DPO (Dias de pós-operatório).

Observa-se, no Gráfico 1, a evolução da presença de hiperemia no pré e pós-operatório, no 1º DPO e nos demais avaliações pós-operatórias, e depois retornando aos valores iniciais.

Figura 11 – Fotografia digital em lâmpada de fenda mostrando a evolução cicatricial da área doadora, ao longo de seis meses



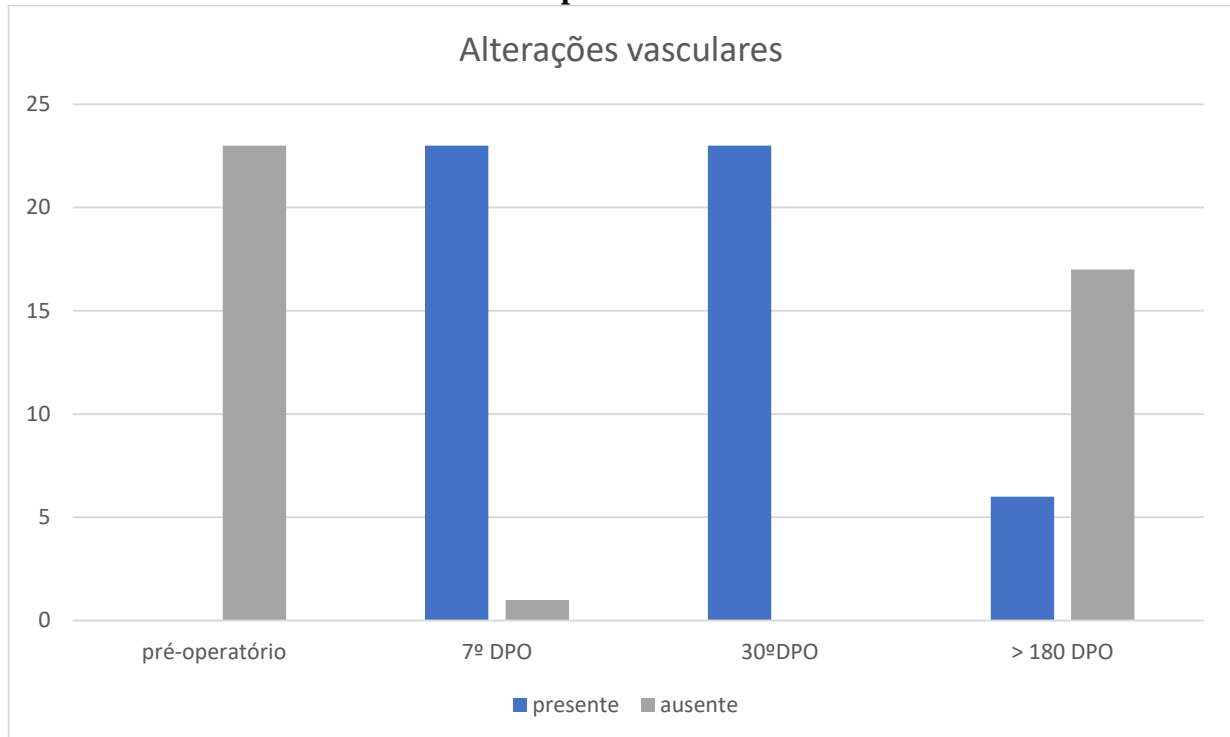
Fonte: Fotografia da autora.

Legenda: A) Pré-operatório; B) 1º DPO, (as setas pretas indicam bordas da incisão conjuntival); C) 7º DPO: observa-se a delimitação do limbo (setas brancas) e da área conjuntival, com congestão tecidual e alteração dos vasos; D) 30º DPO: a delimitação da área doadora é pouco evidente e as alterações do trajeto vascular, em comparação ao pré-operatório, são indicadas pelas setas amarelas; E) 180 DPO: restauração da área doadora com aspecto similar ao pré-operatório.

4.2.1.2 Alterações Vasculares

Essa variável foi analisada a partir do 7º DPO, em comparação à imagem fotográfica da área doadora obtida no pré-operatório (Figura 11-A). Foram observadas alterações vasculares em 22 (95,6%) olhos no 7º DPO (Figura 11-C). No 30º DPO, vinte e três (100%) olhos apresentavam alterações vasculares (Figura 11-D). Após 180 DPO, seis (26%) olhos persistiam com alterações vasculares, sendo que os demais 17 (74%) olhos, apresentavam o trajeto vascular semelhante ao do pré-operatório (Figura 11-E e Gráfico 2):

Gráfico 2 – Descrição da presença ou ausência das alterações vasculares no pré e no pós-operatórios



Fonte: Dados da pesquisa.

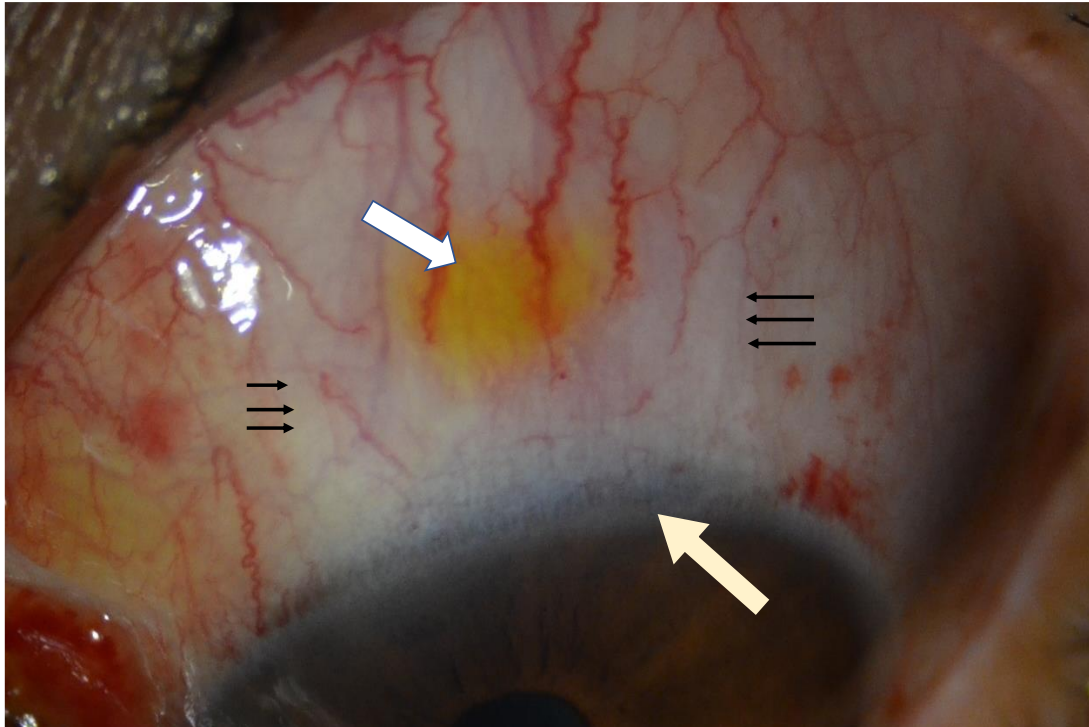
Legenda: DPO (Dias de pós-operatório).

Observa-se, no Gráfico 2, a evolução pós-operatória das modificações apresentadas pelos vasos sanguíneos, na área doadora, em comparação à fotografia pré-operatória.

4.2.1.3 Epitelização

No 7º DPO, vinte (87%) olhos não coravam com a fluoresceína colírio, sendo que os outros três (13%) olhos apresentavam impregnação pelo colírio (Figura 12), no centro da área doadora, sendo um sinal direto da epitelização incompleta. No 30º DPO, nenhum dos olhos apresentou impregnação pela fluoresceína e esse padrão se manteve com 180 DPO.

Figura 12 – Fotografia digital em lâmpada de fenda evidenciando área corada com colírio fluoresceína, em paciente no 7º dia de pós-operatório



Fonte: Fotografia da autora.

Legenda: Observa-se o centro da área doadora conjuntival corando com a fluoresceína colírio, um sinal indireto de epiteliação incompleta. Observa-se ainda que o limbo não corou com a fluoresceína sugerindo que a sua epiteliação já esteja completa.

4.2.1.4 Os examinadores externos

Quanto à presença de alteração do trajeto radial dos vasos com 180 DPO, os dois examinadores encontraram tal achado em dois (13%) e em um (4%) olho, respectivamente para o primeiro e segundo examinador (Tabela 1).

Na avaliação da viabilidade para reintervenção cirúrgica, inclusive para a TREC, o examinador 1 considerou um (4%) olho como inviável, os outros 22 (96%) foram considerados viáveis (Tabela 1). O avaliador 2 considerou os 23(100%) olhos viáveis para reintervenção. Para a mobilidade do conjunto Tenon-conjuntiva, a concordância foi de 100% (n= 23) dos olhos com todos apresentando mobilidade preservada (Tabela 1).

Tabela 1 – Respostas dos avaliadores externos, após exame em lâmpada de fenda

Examinador	Alteração do trajeto radial dos vasos		Viabilidade para reintervenção cirúrgica		Mobilidade do conjunto Tenon-conjuntiva	
	Sim	Não	Sim	Não	Sim	Não
1	2(8,0%)	21(91,3%)	22 (95,6%)	1 (4,0%)	23 (100%)	0
2	1(4,0%)	22 (96,0%)	23 (100%)	0	23 (100%)	0

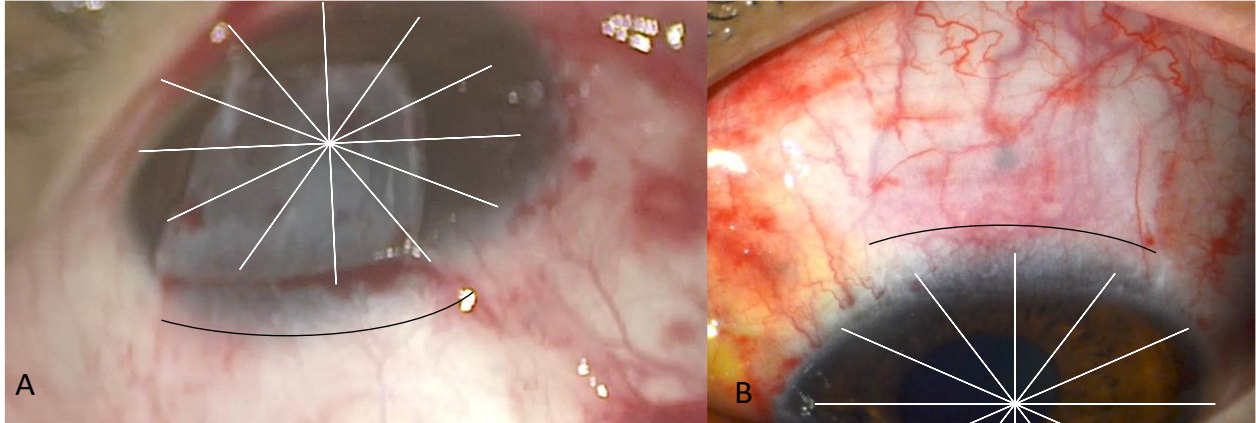
Fonte: Dados da pesquisa.

Legenda: valores absolutos e percentuais das respostas obtidas após a avaliação dos examinadores externos. Os dois avaliadores são especialistas em glaucoma.

4.3 Resultados da avaliação clínica do limbo corneano doador

Em média, a extensão de limbo doado foi de 3 horas contínuas, 11, 12 e uma hora, o que correspondia ao tamanho da área límbica desnuda pela ressecção do pterígio (Figura 13).

Figura 13 – Fotografias evidenciando a extensão da área límbica doada



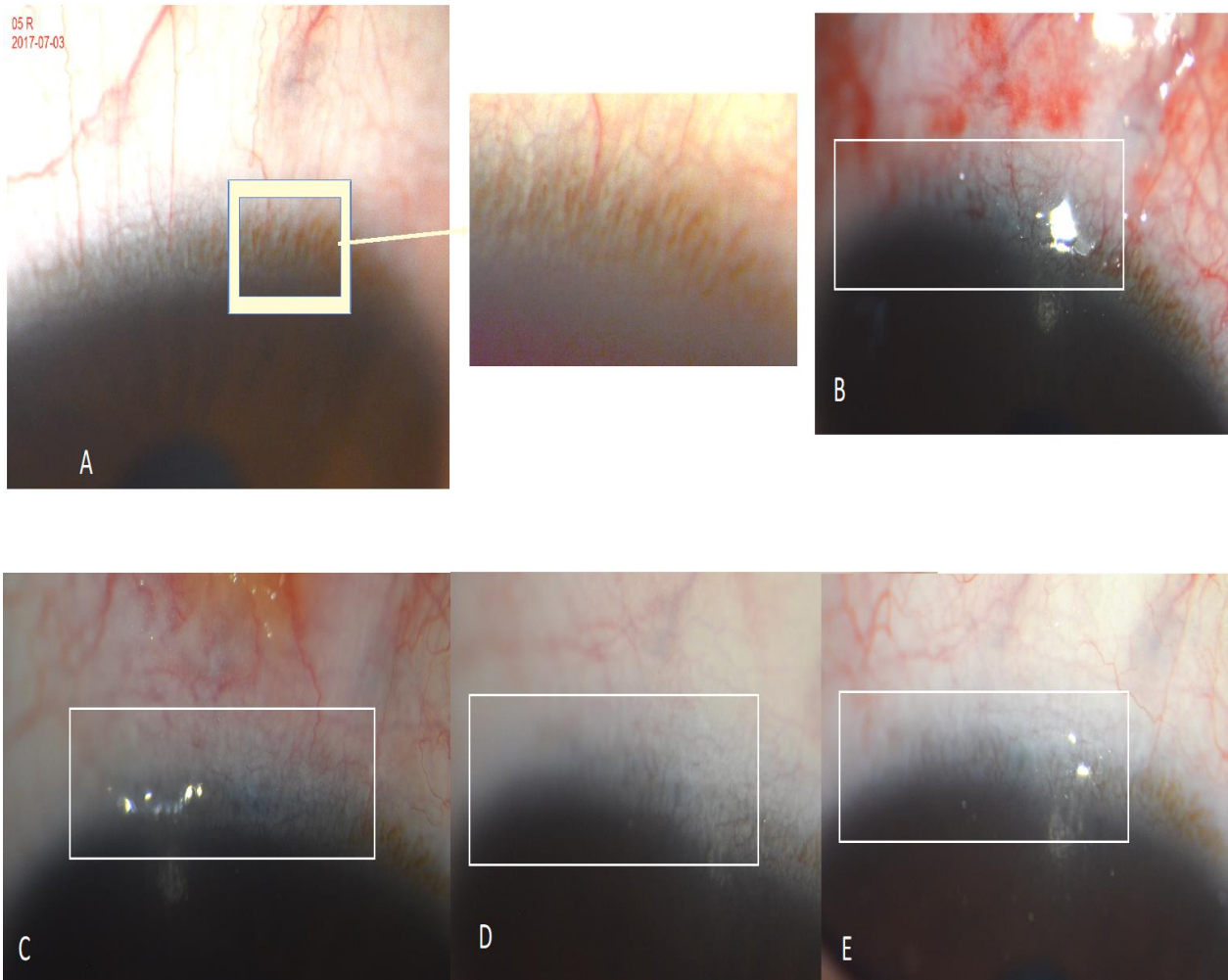
Fonte: Fotografia da autora.

Legenda: A) Imagem per-operatória demonstrando a continuidade do plano de dissecção da conjuntiva com o limbo, até a córnea. Observa-se a extensão, em horas, da ressecção no limbo doador. Essa área era condizente com a área de limbo desnuda pela retirada do pterígio; B) Imagem no 7º DPO, à lâmpada de fenda, em que se observa a extensão, em horas, do limbo doador.

4.3.1 Presença de paliçadas de Vogt

No pré-operatório, em 13 (56,5%) olhos, as PV eram evidentes (Figura 14-A), de fácil identificação na lâmpada de fenda, não sendo visíveis nos outros 10 (43,5%) olhos. Após a doação do TLCA, as PV não foram observadas no 7º DPO (Tabela 2 e Figura 13-C). No entanto, no 30º DPO (Figura 14-D), três olhos voltam a apresentar PV ainda que parcialmente visíveis, no limbo doador. E, após 180 DPO (Figura 14-E), as PV foram observadas em quatro (17%) olhos e mantiveram-se ausentes em 19 (83%) olhos (Figura 15), na área doadora.

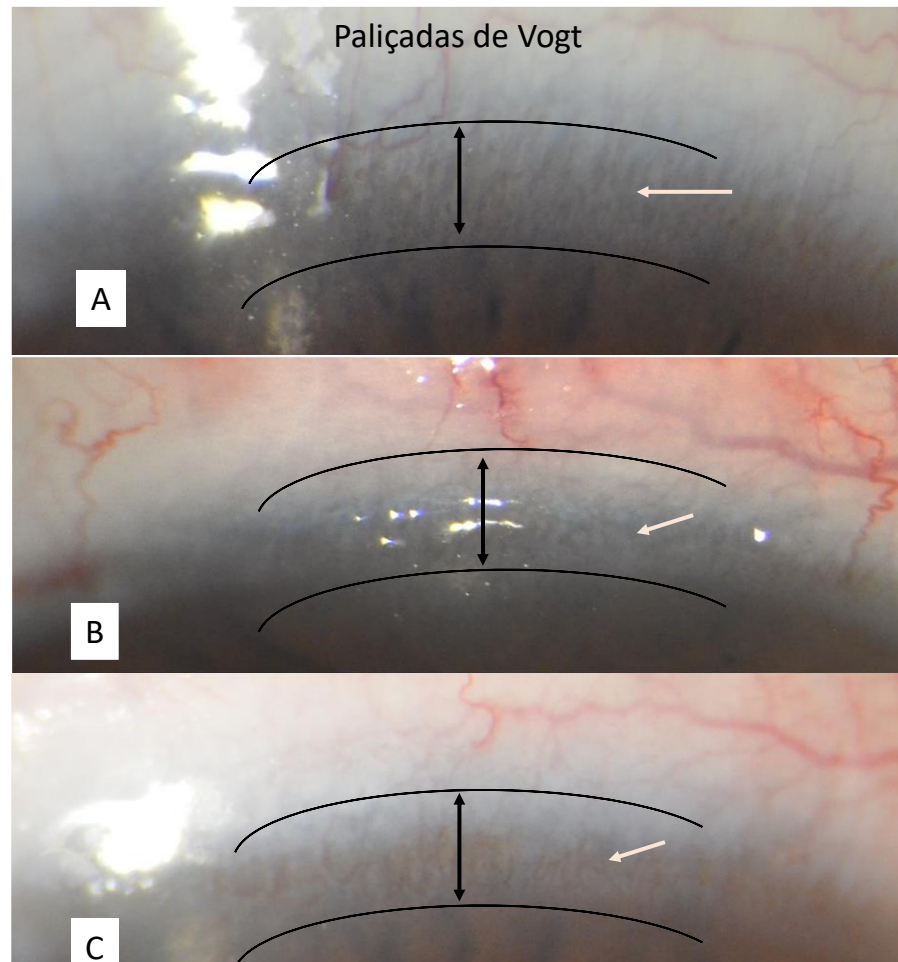
Figura 14 – Fotografias obtidas em lâmpada de fenda demonstrando a evolução pós-operatória da área doadora do transplante lúmbico



Fonte: Fotografia da autora.

Legenda: Fotografias digitais em lâmpada de fenda, com aumento de 16 vezes, demonstrando a evolução pós-operatória de um mesmo paciente – A) No pré-operatório, detalhe para Paliçadas de Vogt; B) No 1º DPO, observa-se o limbo com aspecto cruento; C) 7º DPO ainda com irregularidade na área da ressecção, mas não cora com fluoresceína colírio, demonstrando a epiteliação local completa; D) e E) 30º DPO e após 180 DPO: observa-se a semelhança do aspecto do limbo com 30 e com 180 DPO, não se observa mais as PV na área manipulada, com diminuição dos vasos conjuntivais superficiais comparado ao pré-operatório.

Figura 15 – Fotografia em lâmpada de fenda do limbo doador, no pré e no pós-operatório



Fonte: Fotografia da autora.

Legenda: Fotografias do limbo de outro paciente – A) Pré-operatório: observa-se as PV; B) No 7º DPO observa-se área de ressecção do limbo, sem corar pela fluoresceína, indicando a epitelização precoce, mesmo que com irregularidade de superfície; C) 180º DPO observa-se a regularidade da superfície a mudança na arquitetura das PV, no entanto, sem comprometer a funcionalidade da região, permanecendo a transparência da córnea e a conjuntiva, sem vascularização anômala.

Tabela 2 – Dados obtidos na avaliação biomicroscópica pré e pós-operatória dos pacientes

Variáveis	Pré-operatório		7ºDPO		30º DPO		180º DPO	
	Sim	Não	Sim	Não	Sim	Não	Sim	Não
Paliçadas de Vogt	13 (56,5%)	10 (43,5%)	0	23 (100%)	3 (13%)	20 (87%)	4 (17%)	19 (83%)
Epitelização do limbo (teste fluoresceína)	23 (100%)	0	23 (100%)	0	23 (100%)	0	23 (100%)	0
Epitelização da conjuntiva (teste fluoresceína)	23 (100%)	0	20 (87%)	3 (13%)	23 (100%)	0	23 (100%)	0
Conjuntivalização	0	23 (100%)	0	23 (100%)	0	23 (100%)	0	23 (100%)
Vascularização do limbo	8 (34,8%)	15 (65,2%)	23 (100%)	0	0	23 (100%)	2 (9%)	21 (91%)

Fonte: Dados da pesquisa.

Legenda: DPO (Dias de pós-operatório).

4.3.2 Epitelização do limbo e conjuntiva

Após a doação do TLCA, a epitelização do limbo estava completa no 7º DPO, nos 23 (100%) olhos, com teste de colírio de fluoresceína negativo em todos (Tabela 2). A conjuntiva por sua vez apresentava área desepitelizada, no 7º DPO, localizada centralmente na área de conjuntiva doada, conforme já descrito.

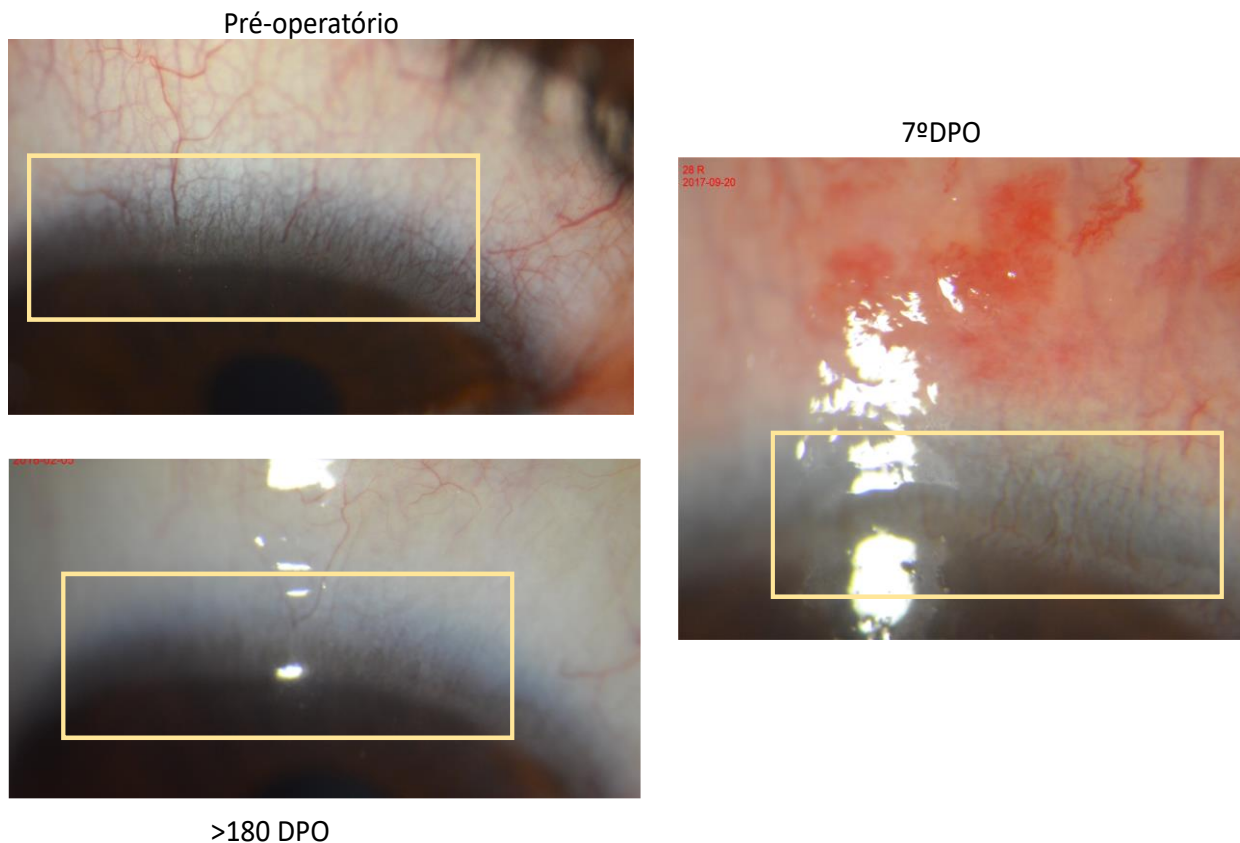
4.3.3 Conjuntivalização

Não houve conjuntivalização do limbo e nem da córnea em nenhum dos olhos, em toda a evolução pós-operatória (Tabela 2).

4.2.4 Vascularização

No pré-operatório, oito (34,8%) olhos apresentavam vasos limbares evidentes, diferente dos 15 (65,2%) olhos restantes. A vascularização límbica aumentou no 7º DPO, ficando evidente em todos os olhos (Tabela 2). Após 180 DPO, apenas dois (9%) olhos apresentavam vascularização límbica evidente, sendo que os demais 21 (91%) olhos não apresentavam vasos limbares evidentes na área doadora (Figuras 16 e 17).

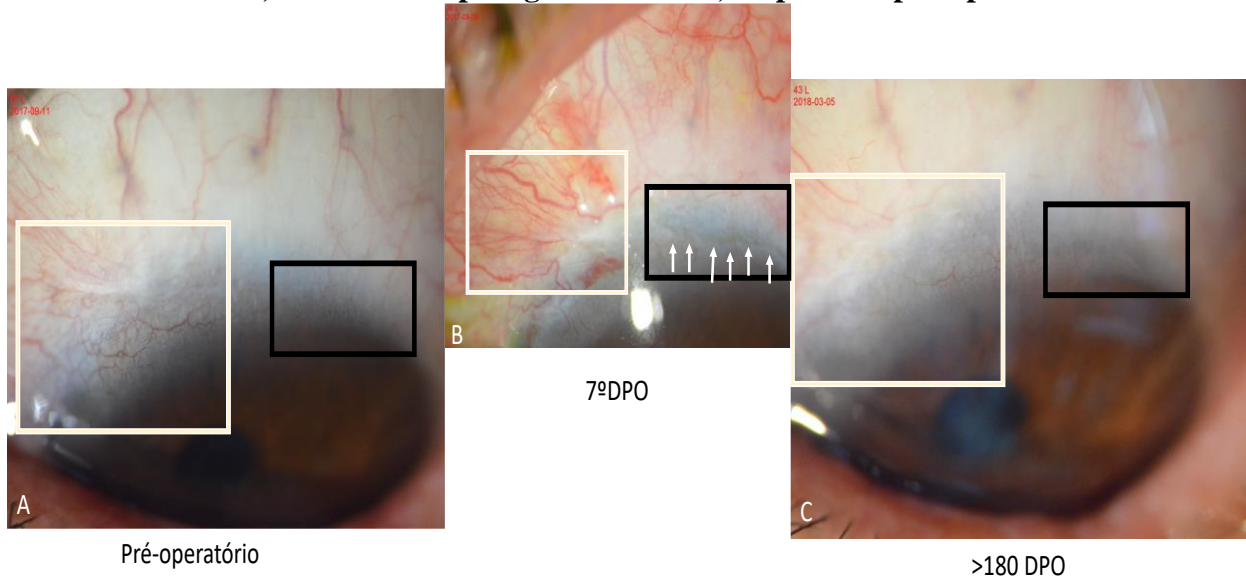
Figura 16 – Fotografias em lâmpada de fenda evidenciando a evolução da vascularização límbica da área doadora, em olho com pterígio extenso primário, no pré e no pós-operatório



Fonte: Fotografia da autora.

Legenda: Fotografia pré-operatória evidenciando a vasculatura límbica evidente no pré-operatório, e a hiperemia bulbar. À direita: imagem obtida no 7º DPO com limbo doado em destaque. Abaixo, pós-operatório maior que 180 dias, com melhora da hiperemia bulbar e da vascularização límbica na área doada.

Figura 17 – Fotografias em lâmpada de fenda evidenciando a evolução da vascularização límbica, em olho com pterígio recidivado, no pré e no pós-operatório



Fonte: Fotografia da autora.

Legenda: A) Imagem pré-operatória de paciente com pterígio recidivado evidenciando, em destaque branco, vasos tortuosos na conjuntiva e no limbo, em preto destaca-se a área em que será retirado tecido limboconjuntival doador; B) No 7º DPO, em destaque preto está a área límbica doadora com linha delimitante do TLCA na córnea, marcada por setas brancas. No destaque branco está a área de vasos tortuosos, que não foi operada, e apresenta congestão dos vasos; C) Após 180 DPO, a área destacada em branco evidencia diminuição dos vasos tortuosos no limbo e na conjuntiva, em comparação à imagem pré-operatória (A). Em destaque preto, observa-se a área doadora reepitelizada, sem conjuntivalização, nem vasos alterados, em comparação ao pré-operatório.

4.4 Resultados da tomografia de coerência óptica do segmento anterior

4.4.1. Resultados da tomografia de coerência óptica do segmento anterior para a área doadora conjuntival

Os resultados obtidos pela *AS-OCT* foram analisados estatisticamente por meio da comparação das médias das espessuras do epitélio conjuntival, do estroma da conjuntiva e da CT no pré-operatório e após 180 DPO (Tabela 3). Esses valores também foram avaliados por meio de gráficos, comparando as médias das espessuras no pré e no pós-operatório acima de 6 meses. (Gráficos 3, 4 e 5).

Tabela 3 – Espessuras do epitélio da conjuntiva, do estroma da conjuntiva e da cápsula de Tenon pela tomografia de coerência óptica do segmento anterior, no pré e no pós-operatório maior que seis meses

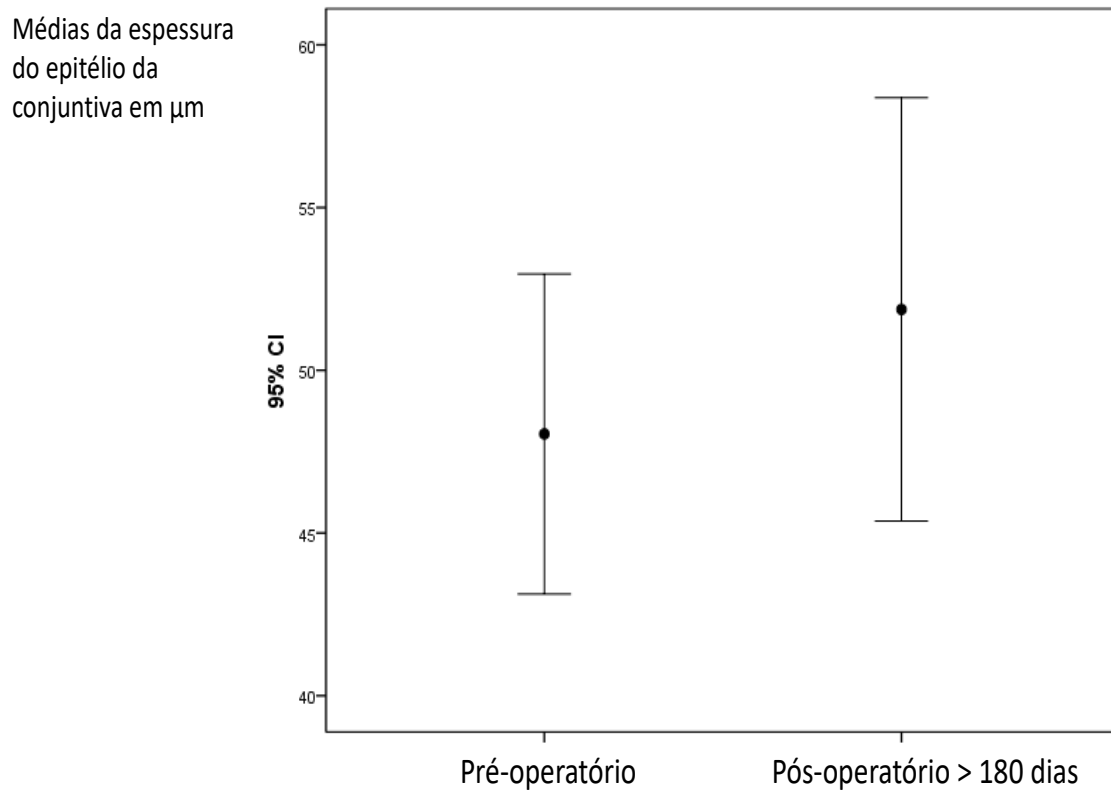
Espessura (μm)	Pré-operatório (média \pm DP)	Pós-operatório após 6 meses (média \pm DP)	Valor p¹
Epitélio da conjuntiva	48,04 \pm 11,37	51,87 \pm 15,04	0,282
Estroma da conjuntiva	85,35 \pm 23,10	101,61 \pm 20,19	0,005
Cápsula de Tenon	117,13 \pm 24,26	118,09 \pm 19,24	0,808

Fonte: Dados da pesquisa.

Legenda: DP (Desvio padrão), μm (micrômetros), ¹ Teste t de *Student* das médias das espessuras pré e pós-operatórias, do seu desvio padrão e do valor de p.

No Gráfico 3, observa-se a pequena variação das médias, com sobreposição do IC sobre o valor da média. A média das medidas da espessura do epitélio conjuntival no pré, 48,04 \pm 11,37 e no pós-operatório, 51,87 \pm 15,04, não mostraram diferença com significância estatística ($p=0,282$).

Gráfico 3 – Valores das médias e do intervalo de confiança de 95% da espessura do epitélio da conjuntiva no pré e no pós-operatório acima de seis meses

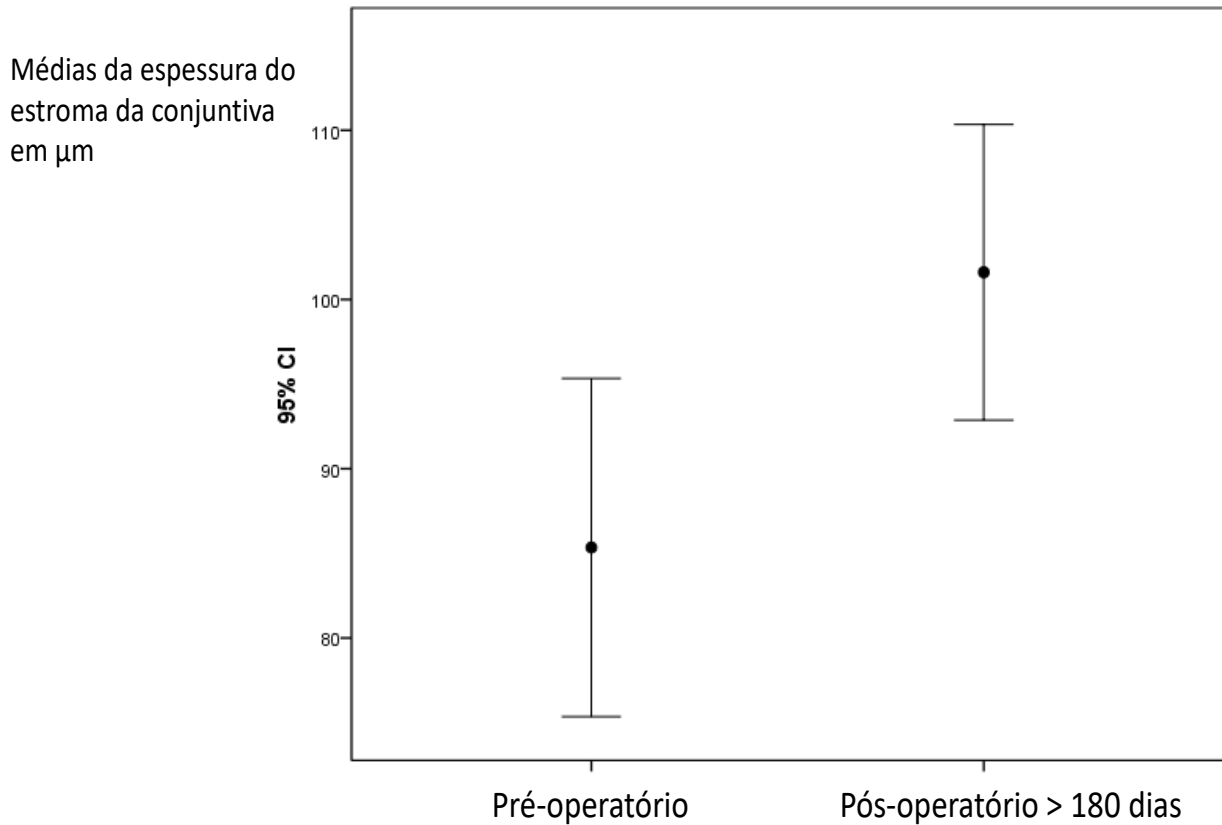


Fonte: Dados da pesquisa.

Legenda: μm (micrômetros) e CI (intervalo de confiança). Observa-se pequena variação das médias, com sobreposição do IC sobre o valor das médias.

No Gráfico 4, observou-se que houve uma diferença estatisticamente significativa ($p < 0,05$) entre as médias das medidas pré e pós-operatórias da espessura do estroma conjuntival ($p = 0,005$), com um aumento da média de $85,35\mu\text{m} \pm 23,10$ no pré, para $101,61\mu\text{m} \pm 20,19$ após 6 meses.

Gráfico 4 – Valores das médias e do intervalo de confiança de 95% para a espessura do estroma conjuntival no pré e pós-operatório acima de seis meses

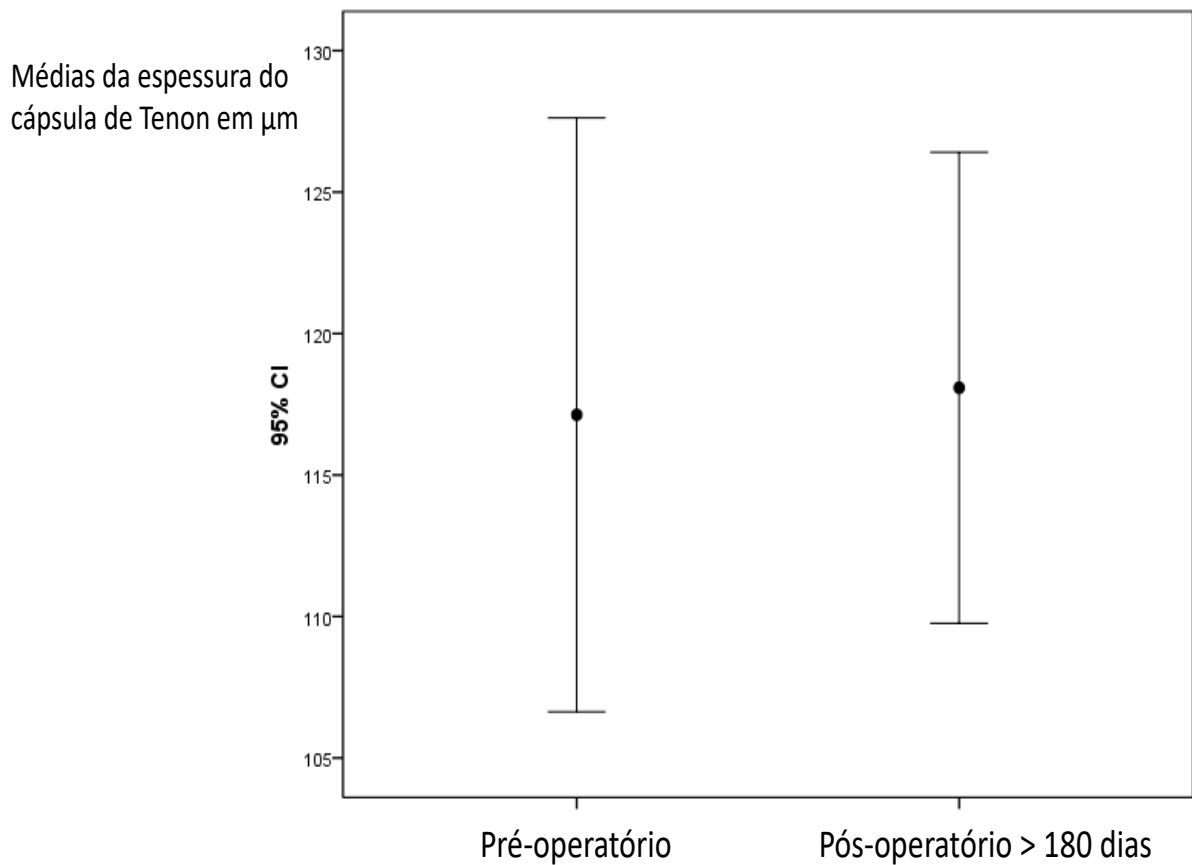


Fonte: Dados da pesquisa.

Legenda: μm (micrômetros) e CI (intervalo de confiança).

No Gráfico 5, observa-se que a média da espessura da CT no pré-operatório era de $117,13 \pm 24,26$, e passou para $118,09 \pm 19,24$ após 180 DPO, não apresentando diferença estatisticamente significativa ($p=0,808$).

Gráfico 5 – Valores das médias e do intervalo de confiança de 95% para a espessura da Cápsula de Tenon no pré e pós-operatório acima de 6 meses



Fonte: Dados da pesquisa.

Legenda: µm (micrômetros) e CI (intervalo de confiança).

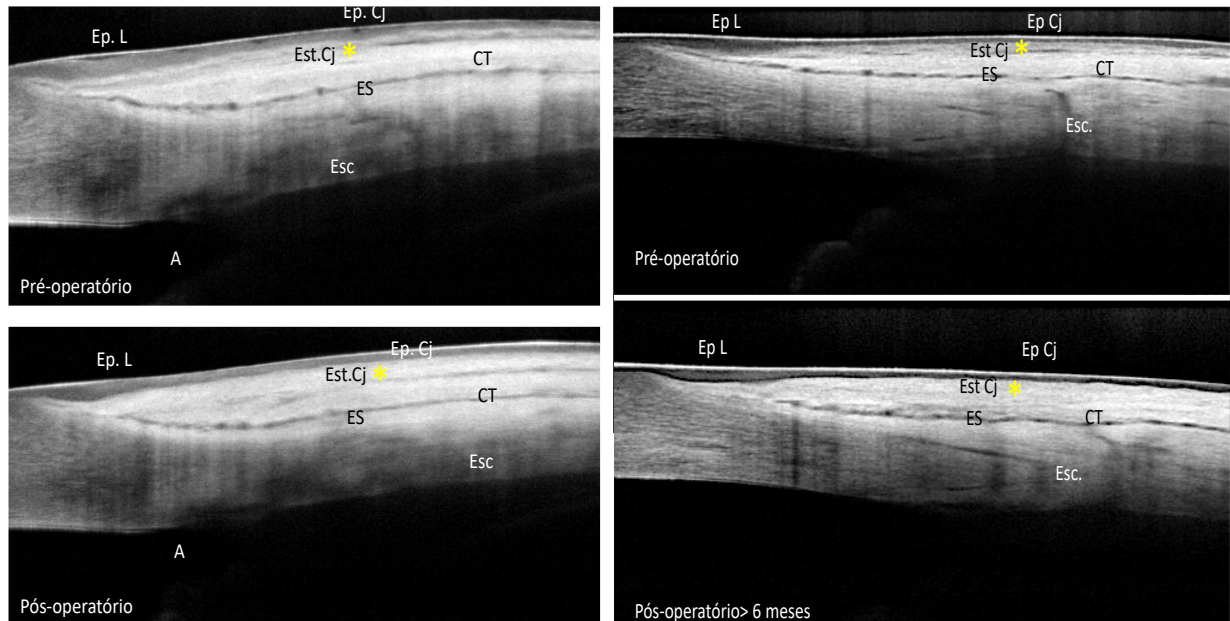
As médias da espessura da CT, no pré e no pós-operatório, não apresentaram diferença estatisticamente significativa ($p=0,808$).

4.4.2 Comparação da refletividade do epitélio conjuntival, do estroma conjuntival e da cápsula de Tenon

O epitélio da conjuntiva não apresentou modificação em sua refletividade, mantendo o seu padrão hiporrefletivo no pré e no pós-operatório nos 23 (100%) olhos. Já o estroma conjuntival,

apresentou aumento da sua refletividade, ao se comparar a imagem pré-operatória com a pós-operatória, como exemplificado na Figura 18.

Figura 18 – Imagens comparativas da tomografia de coerência óptica do segmento anterior, feitas às 12 horas do limbo, no pré e no pós-operatório acima de seis meses



Fonte: Fotografia da autora.

Legenda: Ep.L.: Epitélio Limbico Ep. Cj: Epitélio da Conjuntiva; Est. Cj: Estroma da Conjuntiva, CT: Cápsula de Tenon, ES: Espaço Subtenoniano; Esc: Esclera; A: ângulo iridocorneano. Equipamento utilizado: OPTOVUE-AVANTI® (Optovue Inc.®, Fremont, Califórnia, USA).

Acima: Imagens pré-operatórias de duas pacientes diferentes (primeira à direita e segunda à esquerda): ambas com destaque para o estroma conjuntival, com asterisco amarelo, que se apresenta mais refletivo que o epitélio. Abaixo: Imagens pós-operatórias correspondentes aos pacientes acima, ambas com mais de seis meses de pós-operatório. Observa-se o aumento da refletividade do estroma conjuntival, que se apresenta com refletividade maior em comparação à imagem acima, em ambas as pacientes.

Foram observadas mudança no estroma conjuntival com aumento da sua refletividade em 23 (100%) olhos, o que resulta em imagens mais opacas no pós-operatório (Figura 18). Já o epitélio da conjuntiva manteve o mesmo aspecto pré-operatório, de hiporrefletividade em todos os 23 (100%) olhos. A CT manteve sua refletividade inicial em 19 (82,6%) olhos e houve a preservação do ES no pós-operatório, em 19 (82%) olhos.

4.5 Resultados da tomografia de coerência óptica do segmento anterior para o limbo corneoescleral doador

Para a medida da área do corte transversal do limbo, obtida por meio da *AS-OCT*, compararam-se os valores das médias para o pré-operatório e para o pós-operatório de 30 dias e o pós-operatório maior que 180 dias, apresentados na Tabela 4, abaixo.

Tabela 4 – Médias e desvio-padrão da área do corte transversal do limbo corneano, às 12 horas, medida por meio da tomografia de coerência óptica do segmento anterior.

	Pré-operatório (média ± DP)	Pós-operatório com 30 DPO (média ± DP)	Pós-operatório após 180 DPO(média ± DP)
Área do limbo em μm^2	0,127 ± 0,031	0,109 ± 0,017	0,112 ± 0,021

Fonte: Dados da pesquisa.

Legenda: DP (desvio padrão), μm^2 (micrômetros quadrados), DPO: dias de pós-operatório

Comparando-se primeiro o pré-operatório com o 30º DPO, obteve-se diferença com significância estatística ($p=0,005$), observado na Tabela 5.

Tabela 5 – Comparação da área do corte transversal do limbo no pré-operatório com o pós-operatório de 30 dias

	Pré-operatório (média ± DP)	Pós-operatório com 30DPO (média ± DP)	p¹
Área do epitélio limbo em μm^2	0,127 ± 0,031	0,109 ± 0,017	0,005

Fonte: Dados da pesquisa.

Legenda: DP (desvio padrão) μm^2 (micrômetros quadrados), ¹ Teste T de *Student*. DPO: dias de pós-operatório

Em seguida, foram comparados os médias das medidas obtidas no pré e no pós-operatório de seis meses, obtendo-se uma diferença estatisticamente significativa ($p=0,001$).

Tabela 6 – Comparação da área do corte transversal do limbo no pré-operatório com o pós-operatório acima de 180 dias

	Pré-operatório (média ± DP)	Pós-operatório após 180 dias (média ± DP)	p¹
Área do epitélio limbo em μm^2	0,127 ± 0,031	0,112 ± 0,021	0.001

Fonte: Dados da pesquisa.

Legenda: DP (desvio padrão) μm^2 (micrômetros quadrados), ¹ Teste T de *Student*. DPO: dias de pós-operatório

Também se compararam as médias das medidas obtidas no pós-operatórios de 30 dias com a média das medidas obtidas no pós-operatório maior que 180 DPO, não se observando diferença com significância estatística entre elas ($p=0,453$), como se observa na Tabela 7.

Tabela 7 – Comparação da área do corte transversal do limbo no pós-operatório de 30 dias com o pós-operatório acima de 180 dias

	Pós-operatório com 30 dias (média ± DP)	Pós-operatório após 180 dias (média ± DP)	p¹
Área do epitélio limbo em μm^2	0,109 ± 0,017	0,112 ± 0,021	0,453

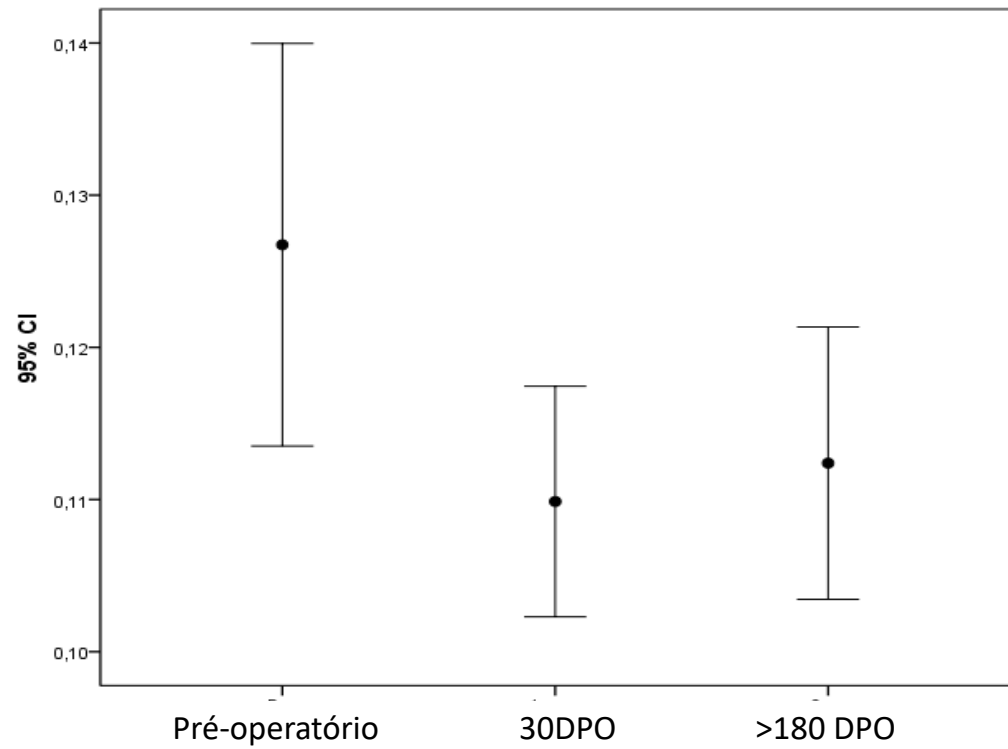
Fonte: Dados da pesquisa.

Legenda: DP (desvio padrão) μm^2 (micrômetros quadrados), ¹ Teste T de *Student*.

O Gráfico 6 apresenta as médias das medidas das áreas do corte transversal do limbo obtidas com a *AS-OCT*. Evidencia a diminuição da área do epitélio límbico entre o pré e pós-operatório de 30 e 180 dias, com valores estatisticamente significantes para essas comparações ($p=0,005$ e $p=0,001$). Demonstra ainda a proximidade dos valores obtidos entre o pós-operatórios de 30 e 180 dias, sem significância estatística para essa comparação ($p=0,453$).

Gráfico 6 – Média das medidas da área do limbo, obtidas em corte transversal por tomografia de coerência óptica do segmento anterior, às 12 horas, feitas no pré-operatório e no pós-operatório com 30 e 180 dias

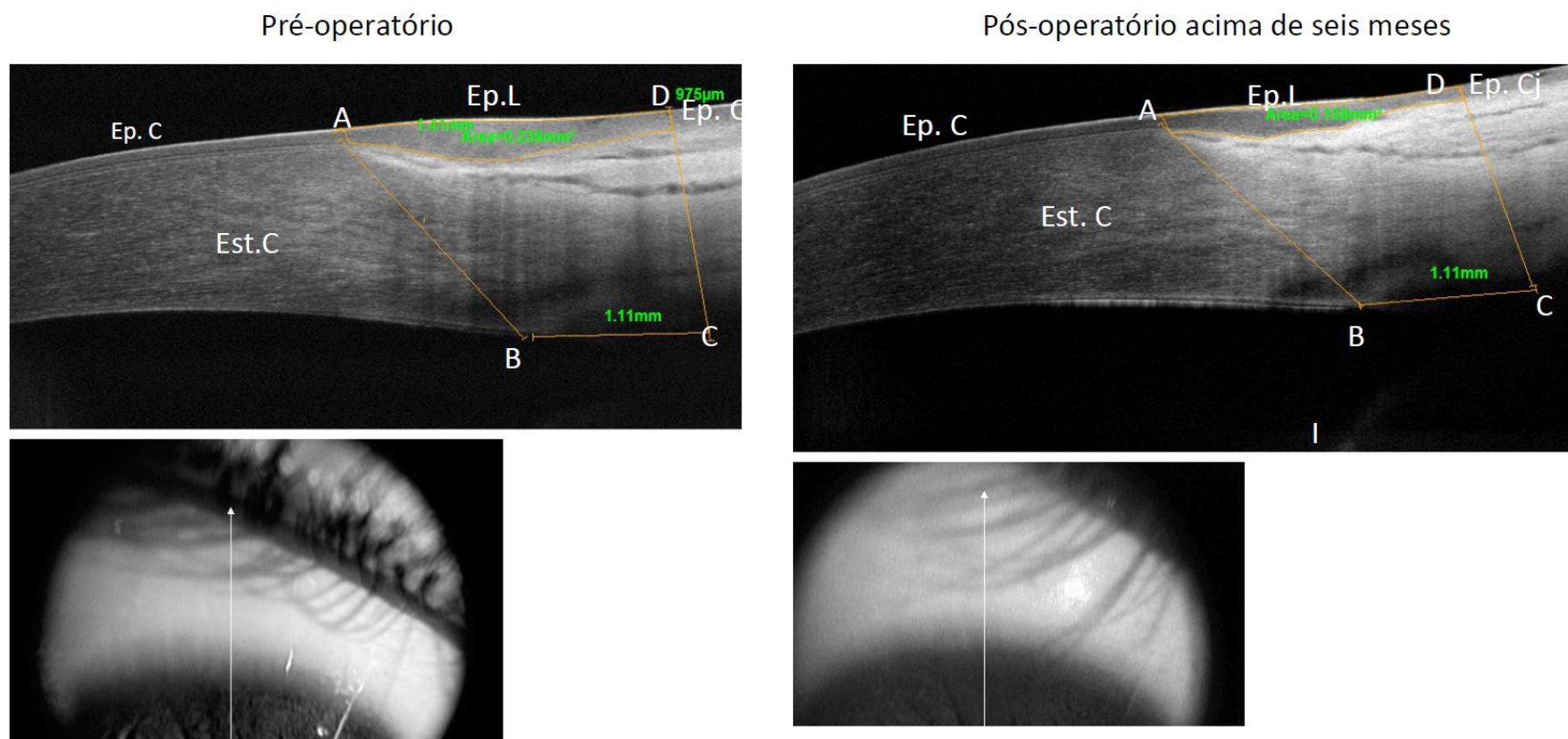
Área do corte transversal do limbo em μm^2



Fonte: Dados da pesquisa.

Legenda: DPO (dias de pós-operatório).

Figura 19 – Imagens do corte transversal do limbo, obtidos por tomografia de coerência óptica do segmento anterior no pré e no pós-operatório com mais de 180 dias



Fonte: Fotografia da autora.

Legenda: Ep.C: epitélio corneano; Ep.L: epitélio límbico; Ep. Cj: epitélio conjuntival; Est.C: estroma corneano; Est.L: estroma límbico; Est.Cj: estroma da conjuntiva; T: cápsula de Tenon, Esc: esclera; A ângulo iridocorneano. A: fim da camada de Bowman, B: fim da membrana de Descemet, C: esporão escleral, D: ponto final da reta perpendicular que une o esporão escleral ao epitélio.

Imagem da AS-OCT de mesmo olho. A esquerda: no pré-operatório a esquerda; a direita: no pós-operatório de 180 dias à direita. Abaixo a seta marca o local do corte feito às 12 horas. Observa-se a continuidade dos epitélios da córnea, do limbo e da conjuntiva, e que o aspecto dessas estruturas, e sua hiporrefletividade são semelhantes antes e após a intervenção cirúrgica.

5 DISCUSSÃO

5.1 A preservação da cápsula de Tenon durante a doação tecidual da conjuntiva

A avaliação clínica teve o intuito de acompanhar e registrar a evolução cicatricial das estruturas estudadas. Assim, evolução da epitelização do limbo e da conjuntiva foi acompanhada pelo teste da fluoresceína colírio. Demonstrando a capacidade regenerativa dos tecidos epiteliais da superfície ocular. Os sinais de fibrose ou distorções cicatriciais dos tecidos estudados foram avaliados através da observação da hiperemia das modificações no trajeto dos vasos durante o pós-operatório. Observou-se que a hiperemia e as alterações do trajeto vascular até o 30º DPO foram muito evidentes na maioria dos olhos. Após 180 DPO, não apresentavam sinais que identificassem reação inflamatória prévia. As fotografias em lâmpada de fenda demonstram a semelhança da área doadora entre o pré e o pós-operatório \geq 180 DPO.

A presença da hiperemia, na área doadora, que no pré-operatório foi observada em quatro (17%) olhos, reduziu para apenas dois casos (8%) após 180 DPO. Esse achado foi observado nos olhos que apresentavam os maiores pterígios, sendo que um deles apresentou recidiva do pterígio. As alterações vasculares observadas durante o período cicatricial, nos 23 (100%) olhos, não se mantiveram após 180 DPO em 17 (74%) olhos, o que sugere que a sua ocorrência deveu-se à fase inflamatória da cicatrização na conjuntiva doada, sem que houvesse fibrose residual após o término da evolução cicatricial, nos planos profundos. Essa hipótese foi corroborada pelos achados obtidos na *AS-OCT*, comparando-se o pré e o pós-operatórios de 180 dias, como visto na Figura 18, em que as estruturas localizadas abaixo do estroma conjuntival (CT e ES) mantém o mesmo padrão de refletividade e espessura no pré e no pós-operatório.

Pelo teste da coloração pela fluoresceína, observamos que a epitelização da área doada já estava completa no 7º DPO em 20 (86%) olhos, demonstrando o rápido potencial regenerativo dos tecidos epiteliais, conjuntival e límbico.

A mobilidade do conjunto conjuntiva-Tenon, foi observada no pré-operatório e preservada no pós-operatório em todos os olhos, tanto na avaliação da autora, quanto na avaliação dos examinadores externos. A preservação dessa mobilidade tecidual é um achado indireto que sugere ausência de fibrose dos tecidos estudados aos planos profundos (episclera e esclera). Tal achado pode ser correlacionado com a técnica cirúrgica utilizada, que buscou preservar a CT durante o per-operatório. Também pode estar relacionado com a preservação da CT e do ES, observados na *AS-OCT* na maioria dos olhos.

Destaca-se ainda a importância da cicatrização da área doadora ocorrer por segunda intenção, sem aproximação de suas bordas. Sugere-se que aproximação da conjuntiva para o fechamento da área doadora poderia levar à distorção da Tenon subjacente, podendo comprometer sua estrutura e mobilidade.

5.1.1 Avaliadores externos

Os dois avaliadores externos são cirurgiões com reconhecida experiência no manuseio cirúrgico da conjuntiva e da Tenon. Ao examinarem os pacientes após seis meses de pós-operatório, não identificaram sinais de fibrose, como alterações vasculares significativas e aderências aos planos profundos, em toda a área doadora. Vinte e dois olhos foram considerados com a área doadora viável para reintervenção cirúrgica, inclusive para TREC, excetuando um paciente que apresentava o pterígio mais extenso. Esse paciente também apresentava hiperemia bulbar prévia

ao procedimento cirúrgico, além do relato de inflamações recorrentes, tendo mantido a hiperemia no pós-operatório, e apresentado recidiva do pterígio.

5.1.2 Tomografia de coerência óptica do segmento anterior

As medidas pré e pós-operatórias com a *AS-OCT* demonstraram preservação da CT e do ES na maioria dos pacientes. As alterações nas medidas de espessura ocorreram apenas no estroma conjuntival na maioria dos olhos. Comparando os achados clínicos e os achados obtidos pela *AS-OCT*, sugere-se a correlação da manutenção da mobilidade do conjunto conjuntiva-Tenon, com a preservação da Tenon e do ES. Essa preservação da CT impediria a reação fibrosa dos planos profundos (CT, ES e episclera), funcionando como um escudo para o ES, local para onde é drenado o HA após a TREC. Assim, os três planos teciduais presentes acima do ES, conforme observou-se na *AS-OCT*, apresentaram comportamentos distintos após a doação conjuntival. O epitélio conjuntival regenerou em torno do 7º DPO após a intervenção cirúrgica, já não corando mais com a fluoresceína em 20 (87%) olhos. As alterações vasculares observadas no 1º, no 7º e no 30º DPO, parecem ter ocorrido acima da CT, conforme se observou-se pela modificação da refletividade e da espessura do estroma da conjuntiva, sugerindo que a fibrose cicatricial tenha ocorrido no estroma conjuntival. A preservação da CT no per-operatório, provavelmente não provocou uma resposta inflamatória cicatricial nesse plano tecidual, que levasse à fibrose, e a aderências à episclera, preservando também o ES, o que também foi evidenciado na *AS-OCT*. Não se encontrou outro trabalho na literatura que estudasse essas estruturas teciduais de maneira distinta, após uma injúria cirurgia, em que os três planos não fossem lesados, como neste trabalho, em que a CT manteve-se preservada.

Dada a importância da cicatrização na região superior do bulbo ocular para viabilizar o tratamento cirúrgico do glaucoma, não é de se surpreender a quantidade de trabalhos que estudaram esse tema.^(93,95, 96, 99,101,129,130) No entanto, na maioria desses trabalhos, não há distinção clara entre a conjuntiva e a CT. A CT é citada, muitas vezes, como tecido subepitelial ou espaço subconjuntival.^(93,99) A fístula transescleral produzida pela TREC libera o HA no espaço subtenoniana, e não no subconjuntival,⁽⁹⁴⁾ ou seja, na interface entre a CT e a episclera, e não entre a conjuntiva e a CT. Observa-se ainda que, nos trabalhos em que foram avaliadas a relação da falência da TREC e cirurgias prévias, tratavam-se de cirurgias com incisão da conjuntiva, da CT^(96,99,131) e da esclera, levando a aderências fibróticas da CT e do ES à episclera, deixando de existir o ES na área operada.

Broadway, Grierson e Hitchings,⁽⁹⁹⁾ em 1998, concluíram que a falência da TREC era maior nos pacientes submetidos a procedimentos com manuseio prévio da conjuntiva. No entanto, naquela época, as cirurgias de catarata eram realizadas com acesso através da conjuntiva e da CT, por via transescleral, diferentemente da técnica atual, com incisão corneana. As retinopexias também eram basicamente por cinta escleral, também com dissecação da conjuntiva e da CT. No entanto, os autores não fizeram distinção entre essas estruturas, considerando-as apenas como conjuntiva.

Em um trabalho mais recente, de 2016, Gozawa *et al.*⁽¹³¹⁾ estudaram pacientes submetidos a facectomia transescleral, com incisão cirúrgica através da região superior do bulbo ocular, em metade dos pacientes, e acesso temporal na outra metade. Realizaram o mesmo procedimento em olhos de coelhos, da mesma maneira, dividindo em dois grupos: um com incisão superior e outro com incisão temporal. Realizaram, em todos os pacientes e em todos olhos de coelhos, a *AS-OCT* apenas da região superior do bulbo, no local da TREC é geralmente realizada. Também realizaram cortes histológicos na região superior do bulbo, no pré e pós-operatório. Esses autores observaram

mudança estrutural da conjuntiva e da CT, após a incisão transescleral superior, à *AS-OCT*, mas não houve alteração na região superior, nos olhos que foram submetidos à incisão temporal. Da mesma maneira, nos cortes histológicos, observaram a presença de células inflamatórias na região superior do bulbo, somente nos olhos que foram submetidos à incisão superior. Nos olhos em que a incisão foi temporal, os cortes histológicos feitos na área superior do bulbo, não operada, não evidenciaram sinais inflamatórios. Assim, esses autores concluíram que os procedimentos cirúrgicos, no local da TREC, modificaram os tecidos (conjuntiva e CT). Concluíram também que, nos olhos em que as incisões foram temporais, a área superior do bulbo se manteve preservada, sem alterações inflamatórias. No entanto, nesse trabalho, os procedimentos cirúrgicos ocorreram com a incisão da conjuntiva, da CT, do ES e da esclera,⁽¹³¹⁾ para a realização da facectomia transescleral. Além disso, o aparelho de *AS-OCT* utilizado para coleta das imagens foi o Casia SS-1000[®] (Tomey Corporation, Nagoya – Aichi, Japão). Esse aparelho tem resolução axial de 10 μm , ou seja, a metade da resolução da *AS-OCT* utilizada no presente trabalho, que é de 5 μm .⁽⁵¹⁾ Logo, nesse trabalho de Gozawa *et al.*,⁽¹³¹⁾ as imagens apresentavam menor resolução, dificultando a diferenciação das estruturas, conjuntiva, CT e ES. Além disso, a incisão cirúrgica envolveu a CT e a esclera, levando à fibrose cicatricial entre essas estruturas, diferentemente do atual trabalho, em que houve a preservação da CT na cirurgia, permitindo a preservação do ES, confirmado pela *AS-OCT*.

Esses mesmos autores publicaram, em 2017, outro estudo comparando as alterações observadas em olhos de coelhos, após vitrectomia minimamente invasiva utilizando sistemas de 20, 23, 25 e 27 *gauges*, avaliando o dano provocado por cada sistema à conjuntiva e à CT.⁽¹¹⁸⁾ Utilizaram o mesmo aparelho de *AS-OCT* do estudo acima, o Cassia SS-1000[®] (Tomey[®] Corporation, Nagoya - Aichi - Japão) e realizaram a análise histológica da região operada no pré-operatório, com 1, com 7 e com 30 DPO. Concluíram que, utilizando sistemas com 25 e 27 *gauges*,

ou seja, com menor diâmetro, provocavam menor lesão do estroma conjuntival e da CT. Nesse estudo, as imagens da *AS-OCT* no pós-operatório, permitiram observar a alteração cicatricial do ES com um mês de pós-operatório, tornando indistintas as estruturas da área operada, com o estroma conjuntival, a CT e o ES apresentando a mesma refletividade e continuidade com o tecido escleral. Aqui, novamente, observa-se a diferença dos resultados obtidos por esses autores, e os observados no presente trabalho, em que a preservação CT e do ES no ato operatório permitiu a manutenção da sua refletividade e de sua espessura no pós-operatório, pela análise com *AS-OCT*.

Consideramos ainda os trabalhos da literatura sobre a Síndrome Restritiva observada no pós-operatório de pacientes submetidos a tratamento cirúrgico do estrabismo ou nos descolamentos de retina, tratados com cinta escleral, em que a CT foi excessivamente manipulada e a dissecação dos músculos foi muito extensa^(116,132,133), levando à restrição por fibrose dos músculos e da CT à episclera.⁽¹³²⁾ Os autores recomendaram, como medida preventiva dessa complicação cirúrgica, a mínima manipulação da CT nesses procedimentos. Posteriormente, com a modificação da técnica cirúrgica do estrabismo para a minimamente invasiva,⁽¹³⁴⁾ com menor dissecação da CT, houve a diminuição da incidência dessa complicação. Analisando essa complicação cirúrgica do estrabismo, e comparando-a com os resultados da presente pesquisa, evidencia-se a importância da preservação da CT para a manutenção da mobilidade do conjunto conjuntiva-Tenon.

Estudos avaliando os fibroblastos da CT têm sido elucidativos para a melhor compreensão da formação da fibrose, que é responsável pela falência da TREC.^(102,112,135-137) Joseph, Miller e Hitchings⁽¹⁰⁵⁾ observaram, em modelo animal sobre a cicatrização na cirurgia fistulizante, que os fibroblastos surgem da episclera e do tecido conectivo subconjuntival, ou seja, das estruturas que delimitam o ES, que são a CT e a episclera, e das proximidades da emergência dos músculos,⁽¹⁰⁰⁾ evidenciando a importância dessas estruturas na fibrose do ES.

Assim, os resultados do presente estudo estão de acordo com a literatura sobre a importância de não lesar a CT para evitar a fibrose pós-operatória. No entanto, nos trabalhos em que a cicatrização da conjuntiva, da CT e do ES foram estudados separadamente,^(118,131) os procedimentos cirúrgicos realizados provocavam a injúria operatória em todas essas estruturas, sem tentativa de preservação de alguma delas, por serem procedimentos com incisões transesclerais, o que difere do presente trabalho, em que a conjuntiva foi excisada e a CT preservada. Logo, destaca-se a importância do presente estudo, em demonstrar a possibilidade da intervenção cirúrgica no plano conjuntival ocorrer com o mínimo prejuízo para a CT e para o ES subjacente.

Destaca-se ainda que a excisão da conjuntiva, com a preservação da CT, permitiu uma cicatrização que se assemelha, em muito, ao aspecto pré-operatório, tanto na fotografia em lâmpada de fenda, quanto na imagem da *AS-OCT*. Além disso, mantém preservado o ES, preservando a mobilidade tecidual sem aderências à episclera. Esses achados são de extrema importância para os pacientes candidatos a tratamentos cirúrgicos da superfície ocular, em especial aqueles que necessitam passar por mais de um procedimento na mesma região, dentre os quais se destacam os que apresentam pterígio e glaucoma.

Novos trabalhos avaliando a reintervenção cirúrgica na área doadora e sua evolução cicatricial necessitam ser realizados para a avaliação da efetividade da TREC após a doação do tecido conjuntival, com preservação da CT.

5.2 O limbo corneoescleral doador

Analisando os resultados do presente estudo, observa-se que a área do corte transversal do limbo corneoescleral doador apresentou redução significativa na comparação entre as médias das medidas do pré e do pós-operatório. Clinicamente, no entanto, não houve comprometimento do

epitélio corneano, nem do limbo e nem do epitélio conjuntival. Seis meses após a doação tecidual, a funcionalidade dessas estruturas estava preservada, o que é evidenciado pela epitelização adequada das estruturas em estudo, o que não ocorre quando há a falência das CTCL, permitindo a vascularização e a conjuntivalização da córnea.^(139,140) Não se observou conjuntivalização na área doadora do limbo, nem vascularização no local da doação límbica, em nenhum dos pacientes.

Os olhos que apresentavam as PV visíveis no pré-operatório evoluíram com ausência das PV no pós-operatório em sua maioria, embora não tivessem apresentado perda da função límbica. No pré-operatório, nove olhos apresentavam a vasculatura do limbo evidente, na área doadora. No pós-operatório, esse achado estava presente em dois olhos (8%), diferentemente do que se esperaria para a região, uma vez que a deficiência das CTCL permitiria a maior vascularização local, além da vascularização corneana,⁽²⁹⁾ como já descrito na literatura sobre a importância das CTCL no controle da apresentação desses vasos.

Entretanto, ressalta-se que o TLCA, obtido no limbo superior, foi usado nesse mesmo olho para tratar a área límbica acometida pelo pterígio, melhorando o estado inflamatório que acometia o limbo, provavelmente provocado pelo pterígio. Ainda, ressalta-se que a única doença da superfície ocular, que pudesse comprometer o microambiente límbico, apresentada por estes pacientes, era o próprio pterígio.

Observou-se que a área doadora para o TLCA apresentou evolução sem complicações pós-operatórias graves. Não houve falência límbica na área doadora, nem na receptora, e nem perda do tecido transplantando.

Existem inúmeros trabalhos realizados estudando o transplante límbico, com foco na recuperação da área receptora. Mas poucos pesquisadores estudaram a área doadora como foi feito neste estudo.^(86,140,141) Busin *et al.*,⁽¹⁴¹⁾ estudaram pacientes com falência límbica total em um olho, após queimadura química, que receberam transplante autólogo do olho contralateral de um quarto

de limbo. Um ano após o TLCA, a área receptora apresentou normalização da epitelização corneana e a área doadora manteve a epitelização limbar e corneana preservadas. Os estudos histológicos foram realizados comparando a área doadora (superior) e o limbo inferior do olho doador, quanto à presença de CTEL, observando resultados semelhantes entre a área doadora superior e a área intacta, quanto à presença de células-tronco. A área doadora não apresentava a arquitetura das PV preservada em seis dos oito pacientes estudados.⁽¹⁴¹⁾ Mas, ainda assim, apresentava as CTEL. Os nossos resultados foram semelhantes aos desses autores: ainda que presentes as alterações nas PV, não houve comprometimento funcional do limbo doador, não havendo conjuntivalização da córnea superior, nem ceratite, e nem vascularização córnea em nenhum paciente.

Holland e Schwartz,⁽⁸⁶⁾ em 1997, e Schwartz e Holland,⁽¹⁴⁹⁾ em 1998, realizaram dois estudos semelhantes, retrospectivos, sobre causas iatrogênicas para a falência límbica superior. Eles avaliaram pacientes que apresentavam falência límbica superior, excluindo pacientes com diagnóstico de doenças que pudessem levar à falência límbica, como aniridia, Steven Jhonson, etc. Todos os pacientes incluídos nos estudos desses autores apresentaram epiteliopatia córnea ou conjuntivalização, setorial ou difusa.^(86,149) Todos foram submetidos a procedimentos cirúrgicos prévios, dentre os quais estavam TREC, facectomia intra e extracapsular, com manipulação de até 180° do limbo superior. Nenhum dos pacientes fora submetido a facoemulsificação, e apenas um paciente foi submetido a ressecção do pterígio e reconstrução com transplante conjuntival. Os autores concluíram que a manipulação cirúrgica do limbo, embora não fosse diretamente a área epitelial do limbo corneano, levava à perda das células tronco e consequente falência límbica, à qual chamaram de falência límbica iatrogênica. No entanto, na época em que este trabalho foi realizado, ainda não estava esclarecida a importância dos nichos ou do microambiente límbico para as células tronco.^(77,144)

Atualmente, a falência límbica adquirida, iatrogênica ou não, pode ser decorrente do dano direto das células tronco ou do seu dano indireto, por meio da lesão do estroma límbico, e consequente alteração no microambiente onde se alojam as CTEL.⁽⁶⁶⁾ Nos resultados do presente estudo, nenhum paciente evoluiu com falência límbica na área doadora. No entanto, nos trabalhos de Holland e Schwartz,^(86,149) todos evoluíram com falência límbica superior ou difusa. A diferença entre a técnica cirúrgica utilizada em nossos pacientes, em comparação às técnicas cirúrgicas citadas por esses autores, baseia-se principalmente no dano estromal. Em nosso trabalho, tentou-se evitar o dano estromal, durante a doação do epitélio límbico. Já nos procedimentos citados por Holland e Schwartz,^(86,149) o trauma cirúrgico ocorrera no estroma límbico em extensão variável (até 180°), o que evoluiu com a perda das CTEL.

A importância da preservação do estroma límbico para a manutenção da homeostase das CTEL deve ser considerada também no sucesso obtido por outros autores, em especial por Pellegrini *et al.*,⁽¹¹⁴⁾ Em trabalhos sobre o transplante das CTEL cultivadas e utilizadas para a repopularização da superfície ocular.^(75,109,142,143) foram apresentados resultados satisfatórios com recuperação da transparência corneana na maioria dos pacientes tratados. São necessários 3%, ou mais, das células cultivadas positivas para o marcador de células tronco p63, para o sucesso do transplante das células cultivadas.⁽¹⁴³⁾ O que é condizente com o achado de que apenas 5% das células presentes no limbo são CTEL. Nos casos em que houve falência do transplante de CTEL cultivadas, o insucesso estava relacionado a alterações do microambiente ou nichos, onde as CTEL se alojam no limbo receptor, ou a presença de menos de 3% de células com o marcador p63 nas culturas transplantadas.^(67,71,77,144)

No consenso global para definição, classificação, diagnóstico e estadiamento da falência límbica,⁽⁶⁶⁾ os autores consideraram a importância das alterações nos nichos, seja por doença, trauma ou inflamação crônica, levando a aplasia ou depleção das CTEL. Yazdanpanah, Jabbehdari

e Djalilian⁽⁶⁷⁾ em um artigo de revisão sobre as estratégias de reconstrução dos nichos no limbo, cita a importância das células mesenquimais ou estromais na manutenção e homeostasia das CTEL. Trabalhos recentes contra-indicam a doação límbica para olhos que apresentem processos inflamatórios crônicos em atividade.⁽¹⁴⁶⁾

Assim, considerando os achados de Busin *et al.*,⁽¹⁴¹⁾ com a repopularização do limbo corneano doador por CTEL após a doação tecidual, e considerando os achados deste trabalho, em que a doação límbica, não comprometeu a renovação epitelial corneana, consideramos que o sucesso tanto da repopularização do limbo pelas CTEL, após a doação tecidual deve-se à manutenção do estroma límbico e à preservação dos nichos, permitindo a sobrevivência e expansão das CTEL.

Portanto, a presença de inflamação crônica influencia negativamente a regeneração e a homeostase das CTEL, levando ao desequilíbrio dos elementos que compõe os nichos,^(67,145) podendo levar a falências setoriais ou difusas do limbo.

5.2.1 O limbo como fonte de células epiteliais conjuntivais

Dentre os olhos dos pacientes estudados, 12% deles (n=3), no 7º DPO, ainda não apresentavam epitelização completa da conjuntiva, o que foi evidenciado de maneira indireta pelo teste da fluoresceína colírio. O limbo, por sua vez, estava completamente epitelizado em todos os (100%) olhos, no mesmo período. A área desepitelizada na conjuntiva doadora nos três pacientes era central, considerando toda a área epitelial doada (Figura 11). Esse achado corrobora com o descrito por Pe'er e Zajicek⁽⁶⁴⁾, a respeito da proliferação das CTCj a partir do limbo em direção ao fórnice, e condiz também com as outras áreas que são focos de células tronco conjuntivais⁽⁶⁹⁾, uma vez que a epitelização da área conjuntival doada ocorreu centripetamente, ou seja, em direção ao

centro da área desepitelizada. Tal achado é de grande importância, quando se considera o limbo como uma área com CTL multipotentes,⁽¹⁴⁷⁾ semelhante à medula óssea, em que uma célula tronco é capaz de gerar cinco linhagens celulares diferentes. Contrária a essa observação, existem autores que consideram o limbo como fonte de apenas uma linhagem celular, a do epitélio da córnea^(109, 148) e que as células tronco para renovação do epitélio conjuntival localizam nos fórnices e em outros locais distalmente ao limbo.⁽⁶⁹⁾ No entanto, nossos achados clínicos estão de acordo com os trabalhos de Pe'er e Zajicek⁽⁶⁴⁾ e Zajicek, Perry e Pe'er⁽⁶⁵⁾ em que a proliferação das CTCj ocorreu do limbo em direção aos fórnices e dos fórnices em direção ao limbo, gerando um padrão de epitelização centrípeto, ficando o centro da área doadora desepitelizado no 7º DPO.

Para a melhor compreensão da cicatrização da superfície ocular, novos estudos precisam ser realizados sobre a repopularização espontânea do limbo corneano doador por suas CTCL, e também abordando a participação do limbo na regeneração epitelial da conjuntiva, após doação tecidual.

5.3 Perspectivas Futuras

Considerando a necessidade do transplante conjuntival autólogo apenas com tecido conjuntival, livre de CT, Fuest *et al.*⁽¹³⁸⁾ realizaram um trabalho utilizando o laser de femtosegundo, para a confecção do enxerto conjuntival. Utilizaram a *AS-OCT* para medir a profundidade da conjuntiva a ser retirada para a doação tecidual. Assim, a preservação da CT, na região doadora, pode ser obtida de maneira exata. Essa técnica pode futuramente ser uma opção no arsenal terapêutico da cirurgia do pterígio e em outras de reconstrução da superfície ocular.

6 CONCLUSÃO

6.1 Para a doação conjuntival e preservação da cápsula de Tenon

Os resultados sugerem que a conjuntiva doada apresentou regeneração de sua porção epitelial, e cicatrização provavelmente por fibrose em sua porção estromal. Sugerem ainda que a preservação da CT durante a ressecção da conjuntiva, permitiu a preservação da mobilidade e do ES na área da doação conjuntival. Esse achado evidencia a ausência de fibrose no plano do espaço subtenoniano, o que pode ser de grande importância para o resultado da TREC.

6.2 Para a doação do epitélio límbico

Os achados sugerem que a doação tecidual límbica, compreendendo área até três horas do limbo corneano epitelial, é um procedimento seguro, sem maiores riscos para a área doadora. Sugerem ainda, que a área límbica doadora apresenta regeneração epitelial no pós-operatório após a doação, ainda que tenha ocorrido a diminuição da área do corte transversal do limbo e do aspecto das paliçadas de Vogt, sua função se mantém preservada.

REFERÊNCIAS

1. Rosenthal JW. Chronology of pterygium therapy. *Am J Ophthalmol.* 1953;36(11):1601-16. doi: 10.1016/0002-9394(53)91792-9.
2. Cardenas-Cantu E, Zavala J, Valenzuela J, Valdez-Garcia JE. Molecular Basis of Pterygium Development. *Semin Ophthalmol.* 2016;31(6):567-83. doi: 10.3109/08820538.2014.971822.
3. Feng QY, HU ZX, Song XL, Pan HW. Aberrant expression of genes and proteins in pterygium and their implications in the pathogenesis. *Int J Ophthalmol.* 2017;10(6):973-81. doi: 10.18240/ijo.2017.06.22.
4. Anguria P, Carmichael T, Ntuli S, Kitinya J. Chronic inflammatory cells and damaged limbal cells in pterygium. *Afr Health Sci.* 2013;13(3):725-30. doi: 10.4314/ahs.v13i3.29.
5. Detorakis ET, Spandidos, D. A. Pathogenetic mechanisms and treatment options for ophthalmic pterygium: Trends and perspectives. *Int J Mol Med.* 2009;23(4):439-47. doi: 10.3892/ijmm_00000149.
6. Chui J, Coroneo MT, Tat LT, Crouch R, Wakefield D, Di Girolamo N. Ophthalmic pterygium: a stem cell disorder with premalignant features. *Am J Pathol.* 2011;178(2):817-27. doi: 10.1016/j.ajpath.2010.10.037.
7. Coroneo MT, Di Girolamo N, Wakefield D. The pathogenesis of pterygia. *Curr Opin Ophthalmol.* 1999;10(4):282-8. doi: 10.1097/00055735-199908000-00011.
8. Reid TW, Dushku N. What a study of pterygia teaches us about the córnea? Molecular mechanisms of formation. *Eye Contact Lens.* 2010;36(5):290-5. doi: 10.1097/ICL.0b013e3181eea8fe.
9. Hill JC, Maske R. Pathogenesis of pterygium. *Eye (Lond).* 1989;3(Pt 2):218-26. doi: 10.1038/eye.1989.31.
10. Clearfield E, Muthappan V, Wang X, Kuo IC. Conjunctival autograft for pterygium. *Cochrane Database Syst Rev.* 2016;11;2:CD011349. doi: 10.1002/14651858.CD011349.pub2.
11. Lee JS, Ha SW, Yu S, Lee GJ, Park YJ. Efficacy and Safety of a Large Conjunctival Autograft for Recurrent Pterygium. *Korean J Ophthalmol.* 2017;31(6):469-478. doi: 10.3341/kjo.2016.0135.
12. Al Fayez MF. Limbal versus conjunctival autograft transplantation for advanced and recurrent pterygium. *Ophthalmology.* 2002;109(9):1752-5. doi: 10.1016/s0161-6420(02)01160-0.
13. Ozer A, Yildirim N, Erol N, Yurdakul S. Long-term results of bare sclera, limbal-conjunctival autograft and amniotic membrane graft techniques in primary pterygium excisions. *Ophthalmologica.* 2009;223(4):269-73. doi: 10.1159/000210444.
14. Liu L, Wu J, Geng J, Yuan Z, Huang D. Geographical prevalence and risk factors for pterygium: a systematic review and meta-analysis. *BMJ Open.* 2013;3(11):e003787. doi:10.1136/bmjopen-2013-003787.
15. Hilgers JH. Pterygium: its incidence, heredity and etiology. *Am J Ophthalmol.* 1960;50:635-44. doi: 10.1016/0002-9394(60)90245-2.
16. Zhou WP, Zhu YF, Zhang B, Qiu WY, Yao YF. The role of ultraviolet radiation in the pathogenesis of pterygia (Review). *Mol Med Rep.* 2016;14(1):3-15. doi: 10.3892/mmr.2016.5223.

17. Coroneo MT. Pterygium as an early indicator of ultraviolet insolation: a hypothesis. *Br J Ophthalmol*. 1993;77(11):734-9. doi: 10.1136/bjo.77.11.734.
18. Sekelj S, Dekaris I, Kondza-Krstonijevec E, Gabric N, Predovic J, Mitrovic S. Ultraviolet light and pterygium. *Coll Antropol*. 2007;31 Suppl 1:45-7..
19. Rezvan F, Khabazkhoob M, Hooshmand E, Yekta A, Saatchi M, Hashemi H. Prevalence and risk factors of pterygium: a systematic review and meta-analysis. *Surv Ophthalmol*. 2018;63(5):719-35. doi: 10.1016/j.survophthal.2018.03.001.
20. Kamel S. Pterygium its nature and a new line of treatment. *Br J Ophthalmol*. 1946;30:549-63.
21. Hogan MJ, Alvarado J. Pterygium and pinguecula: electron microscopic study. *Arch Ophthalmol*. 1967;78(2):174-86. doi: 10.1001/archophth.1967.00980030176010
22. Cameron ME. Histology of pterygium: an electron microscopic study. *Br J Ophthalmol*. 1983;67(9):604-8. doi: 10.1136/bjo.67.9.604.
23. Dushku N, Reid TW. Immunohistochemical evidence that human pterygia originate from an invasion of vimentin-expressing altered limbal epithelial basal cells. *Curr Eye Res*. 1994;13(7):473-81. doi: 10.3109/02713689408999878.
24. Dushku N, Reid TW. P53 expression in altered limbal basal cells of pingueculae, pterygia, and limbal tumors. *Curr Eye Res*. 1997;16(12):1179-92. doi:10.1076/ceyr.16.12.1179.5036.
25. Brash DE , Rudolph JA, Simon JA, Lin A, McKenna GJ, Baden HP, et al. A role for sunlight in skin cancer: UV-induced p53 mutations in squamous cell carcinoma. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 1991;88(22):10124-8. doi: 10.1073/pnas.88.22.10124.
26. Di Girolamo N, Kumar RK, Coroneo MT, Wakefield D. UVB-mediated induction of interleukin-6 and -8 in pterygia and cultured human pterygium epithelial cells. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 2002;43(11):3430-7.
27. Kato N, Shimmura S, Kawakita T, Miyashita H, Ogawa Y, Yoshida S, et al. Beta-catenin activation and epithelial-mesenchymal transition in the pathogenesis of pterygium. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 2007;48(4):1511-7. doi: 10.1167/iovs.06-1060.
28. Kawakita T, Espana EM, He H, Li W, Liu CY, Tseng SC. Intrastromal invasion by limbal epithelial cells is mediated by epithelial-mesenchymal transition activated by air exposure. *Am J Pathol*. 2005;167(2):381-93. doi: 10.1016/S0002-9440(10)62983-5.
29. Notara M, Lentzsch A, Coroneo M, Cursiefen C. The Role of Limbal Epithelial Stem Cells in Regulating Corneal (Lymph)angiogenic Privilege and the Micromilieu of the Limbal Niche following UV Exposure. *Stem Cells Int*. 2018;8620172. doi: 10.1155/2018/8620172.
30. Jaworski CJ, Aryankalayil-John M, Campos MM, Fariss RN, Rowsey J, Agarwalla N, et al. Expression analysis of human pterygium shows a predominance of conjunctival and limbal markers and genes associated with cell migration. *Mol Vis*. 2009;15:2421-34.
31. Kim KW, Park SH, Kim JC. Fibroblast biology in pterygia. *Exp Eye Res*. 2016;142:32-9. doi: 10.1016/j.exer.2015.01.010.
32. Holland EJ. Management of Limbal Stem Cell Deficiency: A Historical Perspective, Past, Present, and Future. *Córnea*. 2015;34 Suppl 10:S9-15. doi: 10.1097/ICO.0000000000000534.
33. Barut Selver Ö, Yağcı A, Eğrilmez S, Gürdal M, Palamar M, Çavuşoğlu T. Limbal Stem Cell Deficiency and Treatment with Stem Cell Transplantation. *Turk J Ophthalmol*. 2017;47(5):285-291. doi: 10.4274/tjo.72593.
34. Hovanesian JA, Starr CE, Vroman DT, Mah FS, Gomes JAP, Farid M, et al. Surgical techniques and adjuvants for the management of primary and recurrent pterygia. *J Cataract Refract Surg*. 2017;43(3):405-19. doi: 10.1016/j.jcrs.2017.03.002.

35. Murube J. Pterygium: evolution of medical and surgical treatments. *Ocul Surf.* 2008;6(4):155-61.
36. Mahar PS, Nwokora GE. Role of mitomycin C in pterygium surgery. *Br J Ophthalmol.* 1993;77(7):433-5. doi: 10.1136/bjo.77.7.433.
37. Hayasaka S, Noda S, Yamamoto Y, Setogawa T. Postoperative instillation of low-dose mitomycin C in the treatment of primary pterygium. *Am J Ophthalmol.* 1988;106(6):715-8. doi: 10.1016/0002-9394(88)90706-4.
38. Kenyon KR, Wagoner MD, Hettlinger ME. Conjunctival autograft transplantation for advanced and recurrent pterygium. *Ophthalmology.* 1985;92(11):1461-70. doi: 10.1016/s0161-6420(85)33831-9.
39. Kenyon KR, Tseng SC. Limbal autograft transplantation for ocular surface disorders. *Ophthalmology.* 1989;96(5):709-22; discussion 22-3. doi: 10.1016/s0161-6420(89)32833-8.
40. Guler M, Sobaci G, Ilker S, Ozturk F, Mutlu FM, Yildirim E. Limbal-conjunctival autograft transplantation in cases with recurrent pterygium. *Acta Ophthalmol (Copenh).* 1994;72(6):721-6. doi: 10.1111/j.1755-3768.1994.tb04688.x.
41. Clearfield E, Muthappan V, Wang X, Kuo IC. Conjunctival autograft for pterygium. *Cochrane Database Syst Rev.* 2016;2:Cd011349. doi: 10.1002/14651858.CD011349.pub2
42. Martins TG, Costa AL, Alves MR, Chammas R, Schor P. Mitomycin C in pterygium treatment. *Int J Ophthalmol.* 2016;9(3):465-8. doi: 10.18240/ijo.2016.03.25
43. Young AL, Ho M, Jhanji V, Cheng LL. Ten-Year Results of a Randomized Controlled Trial Comparing 0.02% Mitomycin C and Limbal Conjunctival Autograft in Pterygium Surgery. *Ophthalmology.* 2013;120(12):2390-2395. doi: 10.1016/j.ophtha.2013.05.033.
44. Abdalla WM. Efficacy of Limbal-conjunctival Autograft Surgery with Stem Cells in Pterygium Treatment. *Middle East Afr J Ophthalmol.* 2009;16(4):260-2. doi: 10.4103/0974-9233.58417.
45. Al Fayez MF. Limbal versus conjunctival autograft transplantation for advanced and recurrent pterygium. *Ophthalmology.* 2002;109(9):1752-5. doi: 10.1016/s0161-6420(02)01160-0.
46. Kaufman SC, Jacobs DS, Lee WB, Deng SX, Rosenblatt MI, Shtein RM. Options and adjuvants in surgery for pterygium: a report by the American Academy of Ophthalmology. *Ophthalmology.* 2013;120(1):201-8. doi: 10.1016/j.ophtha.2012.06.066.
47. Kheirkhah A, Hashemi H, Adelpour M, Nikdel M, Rajabi MB, Behrouz MJ. Randomized trial of pterygium surgery with mitomycin C application using conjunctival autograft versus conjunctival-limbal autograft. *Ophthalmology.* 2012;119(2):227-32. doi: 10.1016/j.ophtha.2011.08.002.
48. Han SB, Liu YC, Noriega KM, Mehta JS. Applications of Anterior Segment Optical Coherence Tomography in Cornea and Ocular Surface Diseases. *J Ophthalmol.* 2016;2016:4971572. doi: 10.1155/2016/4971572.
49. Feng Y, Simpson TL. Corneal, limbal, and conjunctival epithelial thickness from optical coherence tomography. *Optom Vis Sci.* 2008;85(9):E880-3. doi: 10.1097/OPX.0b013e318185272d.
50. Nanji AA, Sayyad FE, Galor A, Dubovy S, Karp CL. High-Resolution Optical Coherence Tomography as an Adjunctive Tool in the Diagnosis of Corneal and Conjunctival Pathology. *Ocul Surf.* 2015;13(3):226-35. doi: 10.1016/j.jtos.2015.02.001.

51. Venkateswaran N, Galor A, Wang J, Karp CL. Optical coherence tomography for ocular surface and corneal diseases: a review. *Eye Vis (Lond)*. 2018;5:13. doi: 10.1186/s40662-018-0107-0.
52. Ang M, Baskaran M, Werkmeister RM, Chua J, Schmidl D, Aranha dos Santos V. Anterior segment optical coherence tomography. *Prog Retin Eye Res*. 2018;66:132-156. doi: 10.1016/j.preteyeres.2018.04.002.
53. Howlett J, Vahdani K, Rossiter J. Bulbar Conjunctival and Tenon's Layer Thickness Measurement using Optical Coherence Tomography. *J Curr Glaucoma Pract*. 2014;8(2):63-6. doi: 10.5005/jp-journals-10008-1163.
54. Kakizaki H, Takahashi Y, Nakano T, Asamoto K, Ikeda H, Ichinose A, et al. Anatomy of Tenons capsule. *Clin Exp Ophthalmol*. 2012;40(6):611-6. doi: 10.1111/j.1442-9071.2011.02745.x.
55. Guise P. Sub-Tenon's anesthesia: an update. *Local Reg Anesth*. 2012;5:35-46. doi: 10.2147/LRA.S16314
56. Kumar DA, Agarwal A, Karnathi S, Patadiya R. Anterior segment optical coherence tomography for imaging the sub-Tenon space. *Ophthalmic Res*. 2013;50(4):231-4. doi: 10.1159/000354381.
57. Sharma R, Sharma A, Arora T, Sharma S, Sobti A, Jha B, et al. Application of anterior segment optical coherence tomography in glaucoma. *Surv Ophthalmol*. 2014;59(3):311-27. doi: 10.1016/j.survophthal.2013.06.005.
58. Soliman W, Mohamed TA. Spectral domain anterior segment optical coherence tomography assessment of pterygium and pinguecula. *Acta Ophthalmol*. 2012;90(5):461-5. doi: 10.1111/j.1755-3768.2010.01994.x.
59. Van Buskirk EM. The anatomy of the limbus. *Eye (Lond)*. 1989;3 (Pt 2):101-8. doi: 10.1038/eye.1989.16.
60. Saghizadeh M, Kramerov AA, Svendsen CN, Ljubimov AV. Concise Review: Stem Cells for Corneal Wound Healing. *Stem Cells*. 2017 Oct;35(10):2105-2114. doi: 10.1002/stem.2667.
61. Joe AW, Yeung SN. Concise Review: Identifying Limbal Stem Cells: Classical Concepts and New Challenges. *Stem Cells Transl Med*. 2014 Mar; 3(3): 318–322. doi: 10.5966/sctm.2013-0137
62. Kinoshita S, Kiorpes TC, Friend J, Thoft RA. Limbal epithelium in ocular surface wound healing. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 1982;23(1):73-80.
63. Lobo EP, Delic NC, Richardson A, Raviraj V, Halliday GM, Di Girolamo N, et al. Self-organized centripetal movement of corneal epithelium in the absence of external cues. *Nat Commun*. 2016;7:12388. doi: 10.1038/ncomms12388.
64. Pe'er J, Zajicek G, Greifner H, Kogan M. Streaming conjunctiva. *Anat Rec*. 1996;245(1):36-40. doi: 10.1002/(SICI)1097-0185(199605)245:1<36::AID-AR6>3.0.CO;2-D.
65. Zajicek G, Perry A, Pe'er J. Streaming of labelled cells in the conjunctival epithelium. *Cell Prolif*. 1995;28(4):235-43. doi: 10.1111/j.1365-2184.1995.tb00066.x.
66. Deng SX, Borderie V, Chan CC, Dana R, Figueiredo FC, Gomes JAP, et al. Global Consensus on Definition, Classification, Diagnosis, and Staging of Limbal Stem Cell Deficiency. *Cornea*. 2019;38(3):364-375. doi: 10.1097/ICO.0000000000001820.
67. Yazdanpanah G, Haq Z, Kang K, Jabbehdari S, Rosenblatt ML, Djalilian AR. Strategies for reconstructing the limbal stem cell niche. *Ocul Surf*. 2019;17(2):230-40. doi: 10.1016/j.jtos.2019.01.002.

68. Ramos T, Scott D, Ahmad S. An Update on Ocular Surface Epithelial Stem Cells: Córnea and Conjunctiva. *Stem Cells Int.* 2015;2015:601731. doi: 10.1155/2015/601731.
69. Stewart RM, Sheridan CM, Hiscott PS, Czanner G, Kaye SB. Human Conjunctival Stem Cells are Predominantly Located in the Medial Canthal and Inferior Forniceal Areas. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 2015;56(3):2021-30. doi: 10.1167/iovs.14-16266.
70. Schlotzer-Schrehardt U, Kruse FE. Identification and characterization of limbal stem cells. *Exp Eye Res.* 2005;81(3):247-64. doi: 10.1016/j.exer.2005.02.016.
71. Dziasko MA, Daniels JT. Anatomical Features and Cell-Cell Interactions in the Human Limbal Epithelial Stem Cell Niche. *Ocul Surf.* 2016;14(3):322-30. doi: 10.1016/j.jtos.2016.04.002.
72. Gonzalez G, Sasamoto Y, Ksander BR, Frank MH, Frank NY. Limbal stem cells: identity, developmental origin, and therapeutic potential. *Wiley Interdiscip Rev Dev Biol.* 2018;7(2): e303. doi: 10.1002/wdev.303.
73. Molvaer RK, Andreasen A, Heegaard S, Thomsen JS, Hjortdal J, Urbak SF, et al. Interactive 3D computer model of the human corneolimbal region: crypts, projections and stem cells. *Acta Ophthalmol.* 2013;91(5):457-62. doi: 10.1111/j.1755-3768.2012.02446.x.
74. Kolega J, Manabe M, Sun TT. Basement membrane heterogeneity and variation in corneal epithelial differentiation. *Differentiation.* 1989;42(1):54-63 doi: 10.1111/j.1432-0436.1989.tb00607.x.
75. Pellegrini G, De Luca M. Eyes on the prize: limbal stem cells and córnea restoration. *Cell Stem Cell.* 2014;15(2):121-2. doi: 10.1016/j.stem.2014.07.011.
76. Guo ZH, Zhang W, Jia YYS, Liu QX, Li ZF, Lin JS. An Insight into the Difficulties in the Discovery of Specific Biomarkers of Limbal Stem Cells. *Int J Mol Sci.* 2018;19(7). pii: E1982. doi: 10.3390/ijms19071982. doi: 10.3390/ijms19071982.
77. Tseng SCG, He H, Zhang S, Chen S-Y. Niche Regulation of Limbal Epithelial Stem Cells: Relationship between Inflammation and Regeneration. *Ocul Surf.* 2016;14(2):100-12. doi: 10.1016/j.jtos.2015.12.002.
78. Schlotzer-Schrehardt U, Dietrich T, Saito K, Sorokin L, Sasaki T, Paulsson M, et al. Characterization of extracellular matrix components in the limbal epithelial stem cell compartment. *Exp Eye Res.* 2007;85(6):845-60. doi: 10.1016/j.exer.2007.08.020.
79. Yazdanpanah G, Jabbehdari S, Djalilian AR. Limbal and córnea epithelial homeostasis. *Current Opinion in Ophthalmology.* 2017;28(4):348-54. doi: 10.1097/ICU.0000000000000378.
80. Zhang Y SH, Liu Y, Chen S, Cai S, Zhu Y, Guo P. The Limbal Epithelial Progenitors in the Limbal Niche Environment. *Int J Med Sci.* 2016;13(11): 835-840. doi: 10.7150/ijms.16563.
81. Masterton S, Ahearne M. Mechanobiology of the córnea epithelium. *Exp Eye Res.* 2018;177:122-9. doi: 10.1016/j.exer.2018.08.001.
82. Kruegel J, Miosge N. Basement membrane components are key players in specialized extracellular matrices. *Cell Mol Life Sci.* 2010;67(17):2879-95 doi: 10.1007/s00018-010-0367-x.
83. Kim KW, Kim JC. Current approaches and future directions in the management of pterygium. *Int J Ophthalmol.* 2018;11(5):709-711. doi: 10.18240/ijo.2018.05.01.
84. Das P, Gokani A, Bagchi K, Bhaduri G, Chaudhuri S, Law S. Limbal epithelial stem-microenvironmental alteration leads to pterygium development. *Mol Cell Biochem.* 2015;402(1-2):123-39. doi: 10.1007/s11010-014-2320-z.

85. Di Girolamo N, Chui J, Coroneo MT, Wakefield D. Pathogenesis of pterygia: role of cytokines, growth factors, and matrix metalloproteinases. *Prog Retin Eye Res.* 2004;23(2):195-228. doi: 10.1016/j.preteyeres.2004.02.002.
86. Holland EJ, Schwartz GS. Iatrogenic limbal stem cell deficiency. *Trans Am Ophthalmol Soc.* 1997;95:95-107; discussion -10. doi: 10.1007/0-387-21570-0_10.
87. Muthusamy K, Tuft SJ. Iatrogenic limbal stem cell deficiency following drainage surgery for glaucoma. *Can J Ophthalmol.* 2018;53(6):574-9. doi: 10.1016/j.jcjo.2018.01.037.
88. Tsai YY, Chang KC, Lin CL, Lee H, Tsai FJ, Cheng YW, et al. p53 Expression in pterygium by immunohistochemical analysis: a series report of 127 cases and review of the literature. *Cornea.* 2005;24(5):583-6. doi: 10.1097/01.ico.0000154404.86462.35.
89. Weinstein O, Rosenthal G, Zirkin H, Monos T, Lifshitz T, Argov S. Overexpression of p53 tumor suppressor gene in pterygia. *Eye (Lond).* 2002;16(5):619-21 . doi: 10.1038/sj.eye.6700150.
90. Al Fayez MF. Limbal-conjunctival vs conjunctival autograft transplant for recurrent pterygia: a prospective randomized controlled trial. *JAMA Ophthalmol.* 2013;131(1):11-6. doi: 10.1001/archophthalmol.2012.2599.
91. Khan FA, Khan Niazi SP, Khan DA. The impact of pterygium excision on corneal astigmatism. *J Coll Physicians Surg Pak.* 2014 Jun;24(6):404-7. doi: 10.2014/JCPSP.404407.
92. Bradley JC, Yang W, Bradley RH, Reid TW, Schwab IR. The science of pterygia. *Br J Ophthalmol.* 2010;94(7):815-20. doi: 10.1136/bjo.2008.151852.
93. Yamanaka O, Kitano-Izutani A, Tomoyose K, Reinach PS. Pathobiology of wound healing after glaucoma filtration surgery. *BMC Ophthalmol.* 2015;15(Suppl 1):157. doi: 10.1186/s12886-015-0134-8.
94. Razeghinejad MR, Fudenberg SJ, Spaeth GL. The changing conceptual basis of trabeculectomy: a review of past and current surgical techniques. *Surv Ophthalmol.* 2012;57(1):1-25. doi: 10.1016/j.survophthal.2011.07.005.
95. Shu DY, Lovicu FJ. Myofibroblast transdifferentiation: the dark force in ocular wound healing and fibrosis. *Prog Retin Eye Res.* 2017;60:44-65. doi: 10.1016/j.preteyeres.2017.08.001
96. Cordeiro MF, Chang L, Lim KS, Daniels JT, Pleass RD, Siriwardena D, et al. Modulating conjunctival wound healing. *Eye (Lond).* 2000;14 (Pt 3B):536-47. doi: 10.1038/eye.2000.141.
97. Zada M, Pattamatta U, White A. Modulation of fibroblasts in conjunctival wound healing. *Ophthalmology.* 2018;125(2):179-92. doi: 10.1016/j.ophtha.2017.08.028.
98. Hollo G. Wound Healing and glaucoma surgery: modulating the scarring process with conventional antimetabolites and new molecules. *Dev Ophthalmol.* 2012;50:79-89. doi: 10.1159/000334790.
99. Broadway DC, Grierson I, Hitchings RA. Local effects of previous conjunctival incisional surgery and the subsequent outcome of filtration surgery. *Am J Ophthalmol.* 1998;125(6):805-18. doi: 10.1016/s0002-9394(98)00045-2.
100. Joseph JP, Miller MH, Hitchings RA. Wound healing as a barrier to successful filtration surgery. *Eye (Lond).* 1988;2 Suppl:S113-23. doi: 10.1038/eye.1988.138.
101. Schlunck G, Meyer-ter-Vehn T, Klink T, Grehn F. Conjunctival fibrosis following filtering glaucoma surgery. *Exp Eye Res.* 2016;142:76-82. doi: 10.1016/j.exer.2015.03.021.

102. Erol YO, Atilla P, Acaroglu G, Muftuoglu S, Karakaya J. A histopathological investigation of Tenon's capsule in diabetic eyes. *Int Ophthalmol*. 2017;37(3):627-633. doi: 10.1007/s10792-016-0316-2.
103. Zhang X, Li Q, Liu B, Zhou H, Wang H, Zhang Z, et al. In vivo cross-sectional observation and thickness measurement of bulbar conjunctiva using optical coherence tomography. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 2011;52(10):7787-91. doi: 10.1167/iovs.11-7749.
104. Shousha MA, Karp CL, Canto AP, Hodson K, Oellers P, Kao AA, et al. Diagnosis of ocular surface lesions using ultra-high-resolution optical coherence tomography. *Ophthalmology*. 2013;120(5):883-91. doi: 10.1016/j.ophtha.2012.10.025.
105. Haagdorens M, Behaegel J, Rozema J, Van Gerwen V, Michiels S, Ní Dhubhghaill S, et al. A method for quantifying limbal stem cell niches using OCT imaging. *Br J Ophthalmol*. 2017 Sep;101(9):1250-1255. doi: 10.1136/bjophthalmol-2016-309549.
106. Sridhar MS. Anatomy of córnea and ocular surface. *Indian J Ophthalmol*. 2018;66(2):190-4. doi: 10.4103/ijo.IJO_646_17.
107. Rosellini A, Papini S, Giannarini C, Nardi M, Revoltella RP. Human conjunctival epithelial precursor cells and their progeny in 3D organotypic culture. *Int J Dev Biol*. 2007;51(8):739-43. doi: 10.1387/ijdb.062198ar.
108. Qi H, Zheng X, Yuan X, Pflugfelder SC, Li DQ. Potential localization of putative stem/progenitor cells in human bulbar conjunctival epithelium. *J Cell Physiol*. 2010 Oct;225(1):180-5. doi: 10.1002/jcp.22215.
109. Pellegrini G, Golisano O, Paterna P, Lambiase A, Bonini S, Rama P, et al. Location and Clonal Analysis of Stem Cells and Their Differentiated Progeny in the Human Ocular Surface. *J Cell Biol*. 1999;145(4):769-82. doi: 10.1083/jcb.145.4.769.
110. Francoz M, Karamoko I, Baudouin C, Labbe A. Ocular surface epithelial thickness evaluation with spectral-domain optical coherence tomography. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 2011;52(12):9116-23. doi: 10.1167/iovs.11-7988.
111. Zhang X, Li Q, Xiang M, Zou H, Liu B, Zhou H, et al. Bulbar conjunctival thickness measurements with optical coherence tomography in healthy chinese subjects. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 2013;54(7):4705-9.
112. Stahnke T, Lobler M, Kastner C, Stachs O, Wree A, Sternberg K, et al. Different fibroblast subpopulations of the eye: a therapeutic target to prevent postoperative fibrosis in glaucoma therapy. *Exp Eye Res*. 2012;100:88-97. doi: 10.1016/j.exer.2012.04.015.
113. Zhang JY, Gao P, Ye W, Xiao YQ. Functional characteristics of connective tissue growth factor on human tenon's capsule fibroblast. *Curr Eye Res*. 2014;39(1):53-61. doi: 10.3109/02713683.2013.833245.
114. Gater R, Ipek T, Sadiq S, Nguyen D, Jones L, El Haj A, et al. Investigation of Conjunctival Fibrosis Response Using a 3D Glaucoma Tenon's Capsule + Conjunctival Model. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 2019;60(2):605-14. doi: 10.1167/iovs.18-25335.
115. Shauly Y, Miller B, Lichtig C, Modan M, Meyer E. Tenon's capsule: ultrastructure of collagen fibrils in normals and infantile esotropia. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 1992;33(3):651-6.
116. Wright KW. The fat adherence syndrome and strabismus after retina surgery. *Ophthalmology*. 1986;93(3):411-5. doi: 10.1016/s0161-6420(86)33726-6.
117. Rockey DC, Bell PD, Hill JA. Fibrosis--a common pathway to organ injury and failure. *N Engl J Med*. 2015;372(12):1138-49. doi: 10.1056/NEJMra1300575.
118. Gozawa M, Takamura Y, Miyake S, Iwasaki K, Arimura S, Takihara Y, et al. Comparison of subconjunctival scarring after microincision vitrectomy surgery using 20-, 23-, 25- and

- 27-gauge systems in rabbits. *Acta Ophthalmol.* 2017;95(7):e602-e9. doi: 10.1111/aos.13459.
119. Baradaran-Rafii A, Eslani M, Jamali H, Karimian F, Tailor UA, Djalilian AR. Postoperative complications of conjunctival limbal autograft surgery. *Córnea.* 2012;31(8):893-9. doi: 10.1097/ICO.0b013e31823f095d.
 120. Ciftci S, Dogan E, Dag U, Ciftci L. Removal of Tenon fortified by conjunctival-limbal autograft in treatment of pterygium. *Int Ophthalmol.* 2017;37(4):813-8. doi: 10.1007/s10792-016-0341-1.
 121. Panda A, Kumar S, Kumar A, Bansal R, Bhartiya S. Fibrin glue in ophthalmology. *Indian J Ophthalmol.* 2009;57(5):371-9. doi: 10.4103/0301-4738.55079.
 122. Malhotra C, Jain AK, Sawhney A, Nawani N, Ram J. Outcomes of fibrin glue-assisted conjunctival versus conjunctivolimbal autograft in primary pterygia with a new technique of conjunctival resection and Tenon extended removal. *Córnea.* 2015;34(2):193-8. doi: 10.1097/ICO.0000000000000318.
 123. Jiang J, Yang Y, Zhang M, Fu X, Bao X, Yao K. Comparison of fibrin sealant and sutures for conjunctival autograft fixation in pterygium surgery: one-year follow-up. *Ophthalmologica.* 2008;222(2):105-11. doi: 10.1159/000112627.
 124. Sharma A, Raj H, Gupta A, Raina AV. Sutureless and Glue-free Versus Sutures for Limbal Conjunctival Autografting in Primary Pterygium Surgery: A Prospective Comparative Study. *J Clin Diagn Res.* 2015;9(11):NC06-9. doi: 10.7860/JCDR/2015/15689.6789.
 125. Rao SK ea. Conjunctival-limbal autografts for primary and recurrent pterygia: technique and results. *Med J Armed Forces India.* 2008; 64(4):337-9. doi: 10.1016/S0377-1237(08)80015-9.
 126. Lin HC, Tew TB, Hsieh YT, Lin SY, Chang HW, Hu FR, et al. Using optical coherence tomography to assess the role of age and region in córneal epithelium and palisades of vogt. *Medicine (Baltimore).* 2016;95(35):e4234. doi: 10.1097/MD.0000000000004234.
 127. Gumus K, Crockett CH, Pflugfelder SC. Anterior segment optical coherence tomography: a diagnostic instrument for conjunctivochalasis. *Am J Ophthalmol.* 2010;150(6):798-806. doi: 10.1016/j.ajo.2010.06.014.
 128. Read SA, Alonso-Caneiro D, Vincent SJ, Bremner A, Fothergill A, Ismail B, et al. Anterior eye tissue morphology: Scleral and conjunctival thickness in children and young adults. *Sci Rep.* 2016;6:33796. doi: 10.1038/srep33796.
 129. Yu DY, Morgan WH, Sun X, Su EN, Cringle SJ, Yu PK, et al. The critical role of the conjunctiva in glaucoma filtration surgery. *Prog Retin Eye Res.* 2009;28(5):303-28. doi: 10.1016/j.preteyeres.2009.06.004.
 130. Francis BA, Du LT, Najafi K, Murthy R, Kurumety U, Rao N, et al. Histopathologic features of conjunctival filtering blebs. *Arch Ophthalmol.* 2005;123(2):166-70. doi: 10.1001/archophth.123.2.166.
 131. Gozawa M, Takamura Y, Miyake S, Yokota S, Sakashita M, Arimura S, et al. Prospective observational study of conjunctival scarring after phacoemulsification. *Acta Ophthalmol.* 2016;94(7):e541-e9. doi: 10.1111/aos.13071.
 132. Price RL. Role of Tenon's capsule in postoperative restrictions. *Int Ophthalmol Clin.* 1976;16(3):197-207.
 133. Carden SM, Sheth S. Transition from anatomy school to the operating theatre for strabismus surgeons. *Clin Exp Ophthalmol.* 2016;44(9):854-5. doi: 10.1111/ceo.12779.
 134. Mojon DS. Review: minimally invasive strabismus surgery. *Eye (Lond).* 2015;29(2):225-33. doi: 10.1038/eye.2014.281.

135. Kim D, Pattamatta U, Kelly E, Healey PR, Carnt N, Zoellner H, et al. Inhibitory Effects of Angiotensin II Receptor Blockade on Human Tenon Fibroblast Migration and Reactive Oxygen Species Production in Cell Culture. *Transl Vis Sci Technol.* 2018;7(2):20. doi: 10.1167/tvst.7.2.20.
136. Shin JH, Seo JH, Jung JH, Kim TW. Anti-scarring effects of butaprost on human subconjunctival Tenon's fibroblasts. *Int J Ophthalmol.* 2017 Jul 18;10(7):1028-1033. doi: 10.18240/ijo.2017.07.02.
137. Crowston JG, Akbar AN, Constable PH, Occlleston NL, Daniels JT, Khaw PT. Antimetabolite-induced apoptosis in Tenon's capsule fibroblasts. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 1998;39(2):449-54.
138. Fuest M, Liu YC, Coroneo MT, Mehta JS. Femtosecond Laser Assisted Pterygium Surgery. *Córnea.* 2017;36(7):889-92. doi: 10.1097/ICO.0000000000001230.
139. Kruse FE, Chen JJ, Tsai RJ, Tseng SC. Conjunctival transdifferentiation is due to the incomplete removal of limbal basal epithelium. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 1990;31(9):1903-13.
140. Chen JJ, Tseng SC. Abnormal córneal epithelial wound healing in partial-thickness removal of limbal epithelium. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 1991;32(8):2219-33.
141. Busin M, Breda C, Bertolin M, Bovone C, Ponzin D, Ferrari S, et al. Córneal Epithelial Stem Cells Repopulate the Donor Area within 1 Year from Limbus Removal for Limbal Autograft. *Ophthalmology.* 2016;123(12):2481-8. doi: 10.1016/j.ophtha.2016.08.018.
142. Pellegrini G, Rama P, Matuska S, Lambiase A, Bonini S, Pocobelli A, et al. Biological parameters determining the clinical outcome of autologous cultures of limbal stem cells. *Regen Med.* 2013 Sep;8(5):553-67. doi: 10.2217/rme.13.43.
143. Rama P, Matuska S, Paganoni G, Spinelli A, De Luca M, Pellegrini G. Limbal stem-cell therapy and long-term córneal regeneration. *N Engl J Med.* 2010;363(2):147-55. doi: 10.1056/NEJMoa0905955.
144. Li W, Hayashida Y, Chen YT, Tseng SC. Niche regulation of córneal epithelial stem cells at the limbus. *Cell Res.* 2007;17(1):26-36. doi: 10.1038/sj.cr.7310137.
145. Nubile M, Curcio C, Dua HS, Calienno R, Lanzini M, Iezzi M, et al. Pathological changes of the anatomical structure and markers of the limbal stem cell niche due to inflammation. *Mol Vis.* 2013;19:516-25.
146. Sacchetti M, Rama P, Bruscolini A, Lambiase A. Limbal Stem Cell Transplantation: Clinical Results, Limits, and Perspectives. *Stem Cells Int.* 2018;2018:8086269. doi: 10.1155/2018/8086269.
147. Thoft RA, Wiley LA, Sundarraj N. The multipotential cells of the limbus. *Eye (Lond).* 1989;3 (Pt 2):109-13. doi: 10.1038/eye.1989.17.
148. Revoltella RP, Papini S, Rosellini A, Michelini M. Epithelial stem cells of the eye surface. *Cell Prolif.* 2007;40(4):445-61. doi: 10.1111/j.1365-2184.2007.00450.x.
149. Schwartz GS, Holland EJ. Iatrogenic limbal stem cell deficiency. *Cornea.* 1998;17(1):31-7. doi: 10.1097/00003226-199801000-00006

APÊNDICE A – TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

Título da Pesquisa: Tratamento do Pterígio: Tomografia de Coerência Óptica do Segmento Anterior na Restauração Límbrica com Transplante Limbo-conjuntival Autólogo Fixado com Selante de Fibrina.

Nome do Pesquisador Principal ou Orientador(a): Dr. Sebastião Cronemberger Sobrinho

Nome do(s) Pesquisadores assistentes/alunos: Fernanda dos Santos Vidal.

1. **Natureza da pesquisa:** o *sra (sr)*._____ *está sendo convidada (o) a participar desta pesquisa que tem como finalidade avaliar o resultado da cirurgia de ressecção do pterígio com transplante limbo-conjuntival, fixados com selante de fibrina.*
2. **Participantes da pesquisa:** serão 32 (trinta e dois) participantes, todos portadores de pterígio, tratados por esta técnica cirúrgica
3. **Envolvimento na pesquisa:** ao participar deste estudo a Sra. (Sr.) permitirá que o (a) pesquisador Fernanda dos Santos Vidal realize os exames pré e pós-operatórios e o procedimento cirúrgico. O (A) Sr. (a).....tem liberdade de se recusar a participar e ainda se recusar a continuar participando em qualquer fase da pesquisa, sem qualquer prejuízo para a Sr. (A). Sempre que quiser, poderá pedir mais informações sobre a pesquisa através do telefone da pesquisadora do projeto e, se necessário através do telefone do Comitê de Ética em Pesquisa.
4. **Sobre as entrevistas:** serão preenchidos questionários pré e pós-operatórios a respeito dos sintomas e sinais observados pelo participante antes e depois do procedimento cirúrgico.
5. **Riscos e desconforto:** *a participação nesta pesquisa não traz complicações legais. Os procedimentos adotados nessa pesquisa obedecem aos Critérios da Ética em Pesquisa com Seres Humanos conforme Resolução no. 196/96 do Conselho Nacional de Saúde. Nenhum dos procedimentos ou exames realizados oferece riscos à sua dignidade.*
 - 1) *O Procedimento cirúrgico é realizado com a ressecção ampla do Pterígio e a reconstrução local com transplante limboconjuntival autólogo, fixado com selante de fibrina (cola biológica), como já é realizado de rotina pela pesquisadora.*
 - 2) *Antes do procedimento cirúrgico os participantes realizarão exames de Tomografia de Coerência Óptica, fotografia do segmento anterior, topografia, paquimetria e microscopia*

especular, para estudo da córnea e do pterígio pré-operatório. E após a cirurgia com 1 mês, 6 meses e 1 ano para acompanhamento da evolução pós-operatória. Nenhum destes exames é invasivo e não oferece risco para os participantes

- 3) *1-2 mm² do tecido límbico sadio será obtido por biópsias de participantes submetidos ao transplante autólogo de limbo para caracterização e identificação das células tronco (stem cell) do limbo. O tecido será então encaminhado ao Laboratório de Imunologia Celular e Molecular (LICM) localizado no ICB - UFMG.*
- 4) *O procedimento cirúrgico será realizado de preferência sob **anestesia local**, acompanhada de sedação apenas em casos excepcionais. Em raros casos pode ser necessária a anestesia geral.*
- 5) *O **objetivo** da cirurgia é a remoção do pterígio, seguida da restauração anatômica local.*
- 6) *Em alguns casos, mesmo após uma cirurgia bem sucedida, o pterígio pode **recidivar**, ou seja, crescer novamente, inclusive maior do que antes da cirurgia. Devido a esse risco de recidiva, esse trabalho foi idealizado, com o intuito de avaliar a restauração limbo conjuntival no local da ressecção do pterígio com técnica minimamente agressiva utilizando o selante de fibrina, evitando fios de sutura.*
- 7) *Nas cirurgias do pterígio, são comuns, no período **pós-operatório**, a dor, a sensação de desconforto, olho vermelho (Hiperemia) e a intolerância à luz (fotofobia), de intensidade variada dependendo do paciente. Tais sintomas são normalmente transitórios e melhoram com a redução da inflamação ocular e a instalação da cicatrização.*
 - 6) *O procedimento, como qualquer intervenção cirúrgica, mesmo sem intercorrências, oferece **riscos potenciais**, ainda que raros, tais como:*
 - *Piora transitória da visão devido à desepitelização (perda parcial da camada mais superficial – de revestimento) da córnea, que se regenera em alguns dias.*
 - *Afilamento em algumas áreas da córnea, o que geralmente melhora com o uso de colírios lubrificantes.*
 - *Mudanças transitórias ou definitivas no grau dos óculos.*
 - *A possibilidade de recidiva do pterígio após dias, semanas, meses ou anos. O que este trabalho visa avaliar com os exames pré e pós-operatórios.*
 - 7) *Você deverá seguir as orientações médicas, adquirir e fazer uso de toda a **medicação** prescrita e comparecer a todas as **consultas pós-operatórias**, além de comunicar imediatamente quaisquer anormalidades que venham a ocorrer após a cirurgia.*

6. **Confidencialidade:** *todas as informações coletadas neste estudo são estritamente confidenciais. Somente o (a) pesquisador (a) e o (a) orientador (a) terão conhecimento dos dados.*
7. **Benefícios:** *ao participar desta pesquisa a Sra. (sr.) terá o mesmo benefício esperado pelos clientes que realizam a cirurgia fora da pesquisa. No entanto, nesse estudo, realizaremos exames de imagem de seu olho operado e esperamos obter informações importantes sobre o tratamento do Pterígio, de forma que o conhecimento que será construído a partir desta pesquisa possa contribuir com melhora terapêutica desta doença, em que o pesquisador se compromete a divulgar os resultados obtidos.*

8. **Pagamento:** *a sra (sr.) não terá nenhum tipo de despesa para participar desta pesquisa, bem como nada será pago por sua participação. E em caso de gasto ou dano sofrido pelo Sr(a) decorrente deste projeto de pesquisa, ocorrerá a devida indenização e o ressarcimento ao participante.*
9. **Vias deste termo:** *Serão disponibilizadas duas vias deste documento, permanecendo uma em posse do pesquisador e uma em posse do voluntário participante da pesquisa. Conforme Resolução CNS n° 466 de 2012;*
10. *Os dados coletados durante este projeto de pesquisa serão armazenados por 5 anos.*
11. Quaisquer dúvidas com relação ao projeto de pesquisa ou quanto a este termo, contactar o pesquisador. As dúvidas sobre questões éticas deverão ser sancionadas junto ao COEP – Comitê de Ética em Pesquisa. Os respectivos contatos estão descritos abaixo.
12. Após estes esclarecimentos, solicitamos o seu consentimento de forma livre para participar desta pesquisa. Portanto preencha, por favor, os itens que se seguem.

Obs: Não assine esse termo se ainda tiver dúvida a respeito.

Consentimento Livre e Esclarecido

Tendo em vista os itens acima apresentados, eu, de forma livre e esclarecida, manifesto meu consentimento em participar da pesquisa. Declaro que recebi cópia deste termo de consentimento, e autorizo a realização da pesquisa e a divulgação dos dados obtidos neste estudo.

Nome do Participante

Assinatura do Participante

Assinatura do Pesquisador

Assinatura do Orientador

Pesquisador Principal: Dr. Sebastião Cronember Sobrinho

Doutoranda: Fernanda dos Santos Vidal

Celular 31- 99418-9191

E-mail: oftalmoceme@gmail.com

COEP - Comitê de Ética em Pesquisa

Av. Antônio Carlos, 6627, Pampulha - Belo Horizonte - MG - CEP 31270-901

Unidade Administrativa II - 2º Andar - Sala: 2005

Telefone: (031) 3409-4592 - E-mail: coep@prpq.ufmg.br

Horário de atendimento do COEP: de 9:00h às 11:00 e de 14:00h às 16:00h .

Assinatura do Participante

Assinatura do Pesquisador Principal

Assinatura do Pesquisador

**APÊNDICE B – PROTOCOLO DE COLETA DE DADOS – ÁREA DOADORA
CONJUNTIVAL**

**PROTOCOLO DE COLETA DE DADOS ÁREA DOADORA:
PRESENTE +/- AUSENTE-**

Fotografias em lâmpada de fenda	Pre-op	1 dia	7 dias	30 dias	180 dias
Hiperemia					
Cora com fluoresceína					
Alteração dos vasos					

Exame à lâmpada de fenda	Pré-operatório	180 DPO
Mobilidade do conjunto conjuntiva-Tenon (P / A)		

P= presente, A=ausente

Tabela de Coleta de dados para as Espessuras obtidas na AS-OCT

AS-OCT	Pre-op	30 dias	>180 dias
Espessura do ep. Conjuntiva			
Espessura do Estroma			
Espessura da Tenon			
Espaço subtenoniano (P / A)			

P= presente, A=ausente

Refletividade medida em maior , menor e igual

AS-OCT	Pre-op	30 dias	>180 dias
Espaço subtenoniano			
Refletividade do epitélio			
Refletividade do estroma			
Refletividade da Tenon			

APÊNDICE C – QUESTIONÁRIO AVALIADORES EXTERNOS

Avaliador externo:

Nome:

CRM:

Avaliação em lâmpada de fenda

1) Alteração no trajeto radial dos vasos sanguíneos em direção ao limbo na área doadora:

() Presente

() Ausente

2) Mobilidade do conjunto Tenon conjuntiva na região doadora, na movimentação com cotonete:

() Presente

() Ausente

3) Você considera a área doadora viável para novo procedimento cirúrgico, inclusive TREC?

() Sim

() Não

**APÊNDICE D – PROTOCOLO DE COLETA DE DADOS – LIMBO
CORNEOESCLERAL**

1 – Avaliação Clínica

Avaliação Clínica	Pré-operatório	1 DPO	7 DPO	30 DPO	>180 DPO
Paliçadas de Vogt:					
Extensão área doadora					
Teste da fluoresceína					
Conjuntivalização					
Vascularização					

Presente 1

Ausente 2

2 – Avaliação AS-OCT

AS-OCT	Pré-operatório	30 DPO	>180 DPO
Área do Limbo			
Refletividade do epitélio límbico			
Refletividade do estroma límbico			
Refletividade do epitélio córnea			
Refletividade epitélio conjuntiva			

Hiporrefletivo: 1

Hiperrefletivo: 2

ANEXO A – PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP DA UFMG

UNIVERSIDADE FEDERAL DE
MINAS GERAIS



PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

DADOS DO PROJETO DE PESQUISA

Título da Pesquisa: Tratamento do Pterígio: Tomografia de Coerência Óptica do Segmento Anterior na Restauração Limbica com Transplante Limbo-conjuntival Autólogo Fixado com Selante de Fibrina

Pesquisador: Sebastião Cronemberger Sobrinho

Área Temática:

Versão: 2

CAAE: 80402017.4.0000.5149

Instituição Proponente: Hospital das Clínicas - Universidade Federal de Minas Gerais

Patrocinador Principal: Financiamento Próprio
Oculare Medicina Especializada Ltda

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 2.470.751

Apresentação do Projeto:

Serão analisados através de Tomografia de Coerência Óptica (OCT), os pacientes portadores de pterígio que serão submetidos a ressecção cirúrgica e reconstrução local com transplante limboconjuntival autólogo, fixado com selante de fibrina. Os exames e os procedimentos cirúrgicos serão realizados na Clínica Oculare, no período de 12 meses. Todos operados e acompanhados pela mesma médica. Serão incluídos pacientes com pterígio unilateral de graus II, III e IV quando primário. E de graus I a IV quando recidivados. Com idade entre 25 e 65 anos, com ou sem episódios de inflamações recorrentes. A inclusão dos pacientes não dependerá de gênero ou etnia. Eles terão avaliação pré e pós-operatória com medida da acuidade visual, biomicroscopia, tonometria e fundoscopia. Fotografia digital e OCT de segmento anterior, no intuito de se estudar a anatomia e as alterações limbares no local do pterígio e na área doadora do transplante limbo conjuntival antes e depois do procedimento cirúrgico. O resultados obtidos serão comparados ao exame do olho contra-lateral de cada paciente. As avaliações pós-operatórias serão no primeiro, sétimo, e trigésimo dia após a intervenção cirúrgica e após 6 e 12 meses de seguimento. Sendo que a biomicroscopia e a fotografia digital serão realizados em todos os retornos, e O OCT de segmento anterior será realizado com 30 dias e 6 meses de pós-operatório. Após 12 meses do procedimento cirúrgico avaliaremos a taxa de recidiva do pterígio. E

Endereço: Av. Presidente Antônio Carlos, 6627 2º Ad SI 2005

Bairro: Unidade Administrativa II **CEP:** 31.270-901

UF: MG **Município:** BELO HORIZONTE

Telefone: (31)3409-4592

E-mail: coep@prpq.ufmg.br

UNIVERSIDADE FEDERAL DE
MINAS GERAIS



Continuação do Parecer: 2.470.751

faremos a comparação do limbo pré-operatório com o limbo pós operatório, no local do pterígio e na área doadora do transplante autólogo com os dados obtidos no exame do olho contra-lateral sem pterígio.

Objetivo da Pesquisa:

Objetivo Primário: Analisar a possibilidade de uma intervenção cirúrgica menos agressiva do que as técnicas atuais para o tratamento do Pterígio. Que utilizam de métodos adjuvantes, como a MMC e outros, com potenciais efeitos deletérios locais. Baseando na restauração limbo-conjuntival da área onde foi ressecado o pterígio como de primordial importância na diminuição da taxa de recidiva no pós-operatório. E numa cirurgia minimamente agressiva utilizando o selante de fibrina, evitando suturas e cauterizações excessivas. **Objetivo Secundário:** Melhor conhecimento anatômico da transição córnea, limbo e conjuntiva na área com pterígio e na área doadora no pré e pós-operatório. e a sua comparação com o olho contra-lateral para se avaliar a restauração anatomica idealizada pelo procedimento cirúrgico

Avaliação dos Riscos e Benefícios:

Riscos: Os pacientes submetidos a ressecção do pterígio e transplante limbo-conjuntival podem apresentar risco de afilamento corneano, Dellen e/ou irregularidades da superfície corneana, leucoma, insuficiência límbica, desinserção do músculo reto medial, perfuração ocular, e recidiva do pterígio

Benefícios: Melhora das inflamações recorrentes e da hiperemia ocular, melhora da instabilidade do filme lacrimal, melhora da acuidade visual, diminuição do grau de astigmatismo corneano e menor chance de recidiva em comparação a outras técnicas.

Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:

Pesquisa relevante para área de Ciências da Saúde. Texto bem fundamentado. Projeto com previsão de início em fevereiro de 2018 e término em janeiro de 2020.

Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:

Foram apresentados os seguintes documentos:

Projeto detalhado;

Informações básicas do projeto;

Folha de rosto;

Parecer fundamentado do Departamento de Oftalmologia e Otorrinolaringologia da Faculdade de Medicina da UFMG;

Endereço: Av. Presidente Antônio Carlos, 6627 2º Ad SI 2005

Bairro: Unidade Administrativa II **CEP:** 31.270-901

UF: MG **Município:** BELO HORIZONTE

Telefone: (31)3409-4592

E-mail: coep@prpq.ufmg.br

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE
MINAS GERAIS**



Continuação do Parecer: 2.470.751

TCLE.

Orçamento e declaração de apoio financeiro.

Questionário a ser aplicado.

Recomendações:

Não há.

Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:

S.M.J. sou da aprovação do projeto.

Considerações Finais a critério do CEP:

Tendo em vista a legislação vigente (Resolução CNS 466/12), o COEP-UFMG recomenda aos Pesquisadores: comunicar toda e qualquer alteração do projeto e do termo de consentimento via emenda na Plataforma Brasil, informar imediatamente qualquer evento adverso ocorrido durante o desenvolvimento da pesquisa (via documental encaminhada em papel), apresentar na forma de notificação relatórios parciais do andamento do mesmo a cada 06 (seis) meses e ao término da pesquisa encaminhar a este Comitê um sumário dos resultados do projeto (relatório final).

Este parecer foi elaborado baseado nos documentos abaixo relacionados:

Tipo Documento	Arquivo	Postagem	Autor	Situação
Informações Básicas do Projeto	PB_INFORMAÇÕES_BÁSICAS_DO_PROJETO_927334.pdf	31/12/2017 16:16:03		Aceito
Outros	CorrecoesTCLE.docx	31/12/2017 16:15:21	FERNANDA DOS SANTOS VIDAL	Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	TCLE.docx	31/12/2017 15:15:21	FERNANDA DOS SANTOS VIDAL	Aceito
Outros	parecerconsubstanciado.pdf	21/11/2017 22:37:51	FERNANDA DOS SANTOS VIDAL	Aceito
Declaração do Patrocinador	apoiofinanceiro.pdf	21/11/2017 22:36:35	FERNANDA DOS SANTOS VIDAL	Aceito
Declaração de Instituição e Infraestrutura	autorizaocular.pdf	21/11/2017 22:34:53	FERNANDA DOS SANTOS VIDAL	Aceito
Projeto Detalhado / Brochura Investigador	brochura.docx	11/11/2017 11:44:54	FERNANDA DOS SANTOS VIDAL	Aceito
Brochura Pesquisa	protocolo.pdf	11/11/2017	FERNANDA DOS	Aceito

Endereço: Av. Presidente Antônio Carlos, 6627 2º Ad Sl 2005

Bairro: Unidade Administrativa II **CEP:** 31.270-901

UF: MG **Município:** BELO HORIZONTE

Telefone: (31)3409-4592

E-mail: coep@prpq.ufmg.br

UNIVERSIDADE FEDERAL DE
MINAS GERAIS



Continuação do Parecer: 2.470.751

Brochura Pesquisa	protocolo.pdf	11:34:32	SANTOS VIDAL	Aceito
Cronograma	Cronograma.docx	11/11/2017 11:27:12	FERNANDA DOS SANTOS VIDAL	Aceito
Folha de Rosto	FR.pdf	11/11/2017 11:12:26	FERNANDA DOS SANTOS VIDAL	Aceito
Outros	80402017parecer.pdf	19/01/2018 18:05:11	Vivian Resende	Aceito
Outros	80402017aprovacao.pdf	19/01/2018 18:05:22	Vivian Resende	Aceito

Situação do Parecer:

Aprovado

Necessita Apreciação da CONEP:

Não

BELO HORIZONTE, 19 de Janeiro de 2018

Assinado por:
Vivian Resende
(Coordenador)

Endereço: Av. Presidente Antônio Carlos, 6627 2º Ad SI 2005

Bairro: Unidade Administrativa II **CEP:** 31.270-901

UF: MG **Município:** BELO HORIZONTE

Telefone: (31)3409-4592

E-mail: coep@prpq.ufmg.br