

JOAQUIM PEREIRA PAES

***TRATAMENTO CIRÚRGICO DO PTERÍGIO COM
TRANSPLANTE DE MEMBRANA AMNIÓTICA***

CAMPINAS

2004

JOAQUIM PEREIRA PAES

***TRATAMENTO CIRÚRGICO DO PTERÍGIO COM
TRANSPLANTE DE MEMBRANA AMNIÓTICA***

*Dissertação de Mestrado apresentada à Pós-Graduação
da Faculdade de Ciências Médicas, da Universidade
Estadual de Campinas para obtenção do título de Mestre
em Ciências Médicas, Área de Oftalmologia.*

ORIENTADOR: PROF. DR. NILO HOLZCHUH

CAMPINAS

2004

**FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA
BIBLIOTECA DA FACULDADE DE CIÊNCIAS MÉDICAS
UNICAMP**

P138t	Paes, Joaquim Pereira Tratamento cirúrgico do pterígio com transplante de membrana amniótica / Joaquim Pereira Paes. Campinas, SP : [s.n], 2004. Orientador: Nilo Holzchuh Dissertação (Mestrado) Universidade Estadual de Campinas. Faculdade de Ciências Médicas. 1. Conjuntiva. 2. Córnea. 3. Oftalmologia. I. Nilo Holzchuh. II. Universidade Estadual de Campinas. Faculdade de Ciências Médicas. III. Título.
-------	--

Banca examinadora da Dissertação de Mestrado

Orientador(a): Prof(a). Dr(a). Nilo Holzchuh

Membros:

1. Prof(a). Dr(a). Hélia Soares Angotti

2. Prof(a). Dr(a). Rosane Silvestre de Castro

3. Prof(a). Dr(a). Nilo Holzchuh

Curso de pós-graduação em Ciências Médicas, da Faculdade de Ciências Médicas da Universidade Estadual de Campinas.

Data: 25.08.2004

DEDICATÓRIA

A minha amada esposa, Rita, por sua dedicação, estímulo, compreensão e companheirismo constantes.

Aos meus amados filhos, Ana Marcella e Pedro Lucas, por seu carinho inocente nos momentos que não poderia dar-lhes atenção em função do estudo.

Aos meus adorados pais, Nicanor e Maria Aparecida, pelos exemplos de vida e por sempre acreditarem no meu sucesso.

A minha irmã, Renata, pelo carinho e amizade.

A minha “mãe” e amiga Hélia Angotti, “tia Hélia”, pelos conhecimentos transmitidos, sejam estes de cunho científico, humano e profissional.

A minha sogra, Teresinha pelo carinho e colaboração nos momentos difíceis da elaboração desta tese.

A vó Rosa pela preocupação e torcida incansáveis.

A tia Zélia pelo exemplo de determinação e profissionalismo. Pelas palavras e gestos carinhosos em momentos difíceis.

AGRADECIMENTO ESPECIAL

*Aos Profs. Dr. Newton Kara José,
Dr. Carlos Arieta, Dr. Nilo Holzchuh
por terem me recebido de braços
abertos nesta Instituição e me
oferecido a oportunidade de
aprimoramento científico de valor
inestimável.*

AGRADECIMENTOS

A todos os colegas do Oftalmocentro, o meu agradecimento.

A todos os colegas do Serviço de Oftalmologia da Faculdade de Medicina do Triângulo Mineiro.

Ao amigo Firmani que esteve presente durante a elaboração desta tese, pelo apoio e incentivo.

Aos colegas do serviço de Oftalmologia da Faculdade de Ciências Médicas da Universidade Estadual de Campinas.

A Marcinha pela colaboração e compreensão.

A Ana Rita, Valter e Solange.

A todos os pacientes que fizeram parte deste estudo.

SUMÁRIO

	<i>Pág.</i>
RESUMO.....	<i>xi</i>
ABSTRACT.....	<i>xiii</i>
INTRODUÇÃO.....	15
OBJETIVO.....	24
MATERIAL E MÉTODOS.....	26
RESULTADOS.....	32
DISCUSSÃO.....	37
CONCLUSÃO.....	41
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	43
ANEXOS.....	56

LISTA DE TABELAS

	<i>Pág.</i>
TABELA 1- Pacientes com quadro de recidiva.....	33

LISTA DE FIGURAS

	<i>Pág.</i>
FIGURA 1- (A) Placenta sendo lavada com soro fisiológico 0,9%; (B) Córion e âmnion sendo separados; (C) âmnion totalmente separado e lavado com solução antibiótica; (D) Papéis de nitrocelulose previamente cortados sendo colocados sobre o âmnion da membrana amniótica; (E) Papel de nitrocelulose já com a membrana amniótica; (F) Papéis de nitrocelulose com membrana amniótica em solução de glicerina.....	29
FIGURA 2- (A) Pterígio primário grau II; (B) Dissecção da cabeça do pterígio; (C) Área nua de esclera após dissecção ampla de todo pterígio; (D) Colocação da membrana amniótica; (E) Início da sutura com ponto escleral; (F) Sutura completa de toda membrana sobre a área de esclera exposta.....	31
FIGURA 3- Fotos de paciente do gênero feminino que teve recidiva no sexto mês pós-operatório (A) Paciente no pré-operatório de pterígio grau II; (B) Paciente no primeiro dia pós-operatório de exérese de pterígio com membrana amniótica; (C) Paciente no terceiro mês pós-operatório e (D) Paciente no sexto mês pós-operatório com recidiva do pterígio.....	35
FIGURA 4- Fotos de paciente do gênero feminino (olho esquerdo) que não teve recidiva. (A) Paciente no pré-operatório; (B) Paciente no primeiro mês pós-operatório de exérese de pterígio com membrana amniótica; (C) Paciente no sexto mês pós-operatório e (D) Paciente com uma ano pós-operatório.....	36

LISTA DE GRÁFICOS

	<i>Pág.</i>
GRÁFICO 1- Resultados quanto aos critérios: recidiva do pterígio, satisfação estética e dor no pós-operatório.....	34



RESUMO

Pterígio é uma displasia invasiva da conjuntiva bulbar sobre o limbo corneal na fissura interpalpebral de forma triangular e aspecto carnosos e elevado. O presente estudo tem por objetivo determinar se o transplante de membrana amniótica é um procedimento eficaz no tratamento cirúrgico de pterígio quanto a recidiva, satisfação estética e conforto pós-operatório. Foi realizado um estudo prospectivo de 126 pacientes (126 olhos) com pterígio primário grau II submetido ao procedimento proposto no período de janeiro de 2000 a outubro de 2002 no bloco cirúrgico do Hospital Escola da Faculdade de Medicina do Triângulo Mineiro. A média de idade foi 35 anos, sendo 60,31% dos pacientes do gênero masculino e 39,69% do gênero feminino. Os pacientes tiveram um seguimento de 1 ano e o critério de recidiva foi a invasão corneana por tecido fibrovascular. Foram observados 8 quadros de recidiva (6,3%), 102 pacientes relataram estar satisfeitos com a estética e 63 (50%) queixaram-se de dor pós-operatória. Não foram constatadas complicações pós-operatórias. O transplante de membrana amniótica mostrou-se eficiente no tratamento cirúrgico de pterígio com baixa recidiva e alto percentual de satisfação estética.



ABSTRACT

Introduction: The Word pterygium originates from Greek and means “small wing”. Scientifically, it’s defined as an invasive displasia of the bulbar conjunctiva on the corneal limb in the eye-slits fissure in a triangular shape and elevated meat aspect.

Objective: Determine the best procedure for the surgical treatment of the primary pterygium related to the recidivation, esthetic satisfaction and confort after surgery.

Material and Methods: A prospective study was made on 126 patients (126 eyes) primary pterygium grade II beares, diagnosed by biomicroscopy, submitted to a surgery treatment in a period from January 2000 a October 2002 at the Faculdade de Medicina do Triângulo Mineiro.

Results: In the group was observed 8 recidivation cases, 6 of that in male and 2 in female. The patients age average was 39,6 years old. The recidivations occurred in average about 3,3 months. 102 patients stated as being very satisfied with stetics and 63 complained of pain after surgery treated with common oral analgesics.

Conclusion: The amniotic membrane transplant was satisfactory in the criterions of recidivation rate, stetics patient satisfaction and pain in the first 48 hours after surgery in the primary pterygium treatment. However, we couldn’t affirm that the amniotic membrane transplant has to be considered the first choice in the primary pterygium surgery treatment.



INTRODUÇÃO

A superfície ocular é revestida pelo epitélio corneano, límbico e conjuntival, cada um com um fenótipo celular distinto. A conjuntiva reveste as superfícies internas das pálpebras superior e inferior, e cobre a episclera e a esclera anterior antes de terminar no epitélio do limbo, que é a transição entre os epitélios corneano e conjuntival. O epitélio corneano, juntamente com o filme lacrimal contribuem para a manutenção da superfície opticamente regular da córnea, promovendo uma visão nítida e adequada (ERGIN et al, 2001). Para assegurar uma superfície ocular íntegra é necessário que esta esteja constantemente coberta por um filme lacrimal estável. Recentemente, cinco importantes conceitos foram relatados para explicar como um sistema de defesa eficaz e organizado é estabelecido para se atingir este objetivo (KENYON 1989). Estes cinco conceitos são: (1) O bom estado da superfície ocular é assegurado por uma estreita relação entre o epitélio da superfície ocular e o filme lacrimal; (2) A estabilidade do filme lacrimal é mantida por anexos externos; (3) O mecanismo de proteção em sua íntegra é controlado por uma integração neuroanatômica eficaz; (4) As células germinativas (CG) epiteliais corneanas estão localizadas no limbo; (5) A função das células epiteliais da superfície ocular é mantida pela matriz e por fibroblastos do estroma. Dentre as disfunções do meio estromal das células germinativas do limbo, encontra-se o pterígio e o pseudopterígio (NAKAGAMI et al, 2000).

A palavra pterígio origina do grego e significa “asa pequena”. Cientificamente o definimos como uma displasia invasiva da conjuntiva bulbar sobre o limbo corneal na fissura interpalpebral de forma triangular e aspecto carnosos elevado (BARRAQUER, 1980). Em superfície o pterígio se divide em 3 partes: corpo, cabeça e capuz.

A sua fisiopatogenia é muito controversa e a teoria mais plausível parece ser a de exposição a radiação ultravioleta (BARRAQUER, 1980). A prevalência do pterígio é maior em pessoas entre 20 e 50 anos, sem variabilidade significativa entre os gêneros, em negros, em pessoas que praticam atividades externas com exposição à radiação (TAYLOR, 1989), em países próximos ao Equador até 40° de latitude (MACKENZIE et al. 1992) e em soldados. Acredita-se que haja uma predisposição genética ao pterígio. Alguns estudos sugerem um modelo de herança autossômica dominante (SPANDIDOS et al, 1997).

Classifica-se (ONER et al, 2000) os pterígios primários (aqueles que não sofreram reincidência) em 3 graus:

Grau	Características
I	translúcido, vasos abaixo do corpo visíveis
II	aparência intermediária
III	opaco vasos abaixo do corpo obscuros

ALVES (1990) sugere a seguinte conduta frente ao pterígio:

Nos estágios iniciais, o pterígio constitui principalmente um problema cosmético, manifestando-se por inflamação e hiperemia. Embora frequentemente assintomático, pode produzir ardor, queimação, sensação de corpo estranho ou leve fotofobia. Nestes casos, o desconforto pode ser controlado com o uso tópico de lubrificantes, vasoconstritores, compressas frias e com o paciente evitando ambientes poluídos com fumaça e partículas em suspensão no ar, e usando lentes com filtro protetor contra ultravioleta.

Com a progressão, o pterígio pode estender-se sobre a córnea, obscurecendo a visão e induzindo astigmatismo (ONER et al, 2000) e/ou limitação de motilidade ocular extrínseca ou diplopia. Nestas condições, o seu tratamento é cirúrgico.

Os procedimentos cirúrgicos seguem uma dessas linhas:

- 1) Redirecionamento da cabeça do pterígio para longe da córnea.
- 2) Excisão simples do pterígio.
- 3) Excisão do pterígio, deixando-se a esclera exposta.
- 4) Excisão do pterígio, recobrimo-se a esclera com retalho conjuntival pedunculado.

- 5) Excisão do pterígio e transplante de conjuntiva autólogo.
- 6) Excisão do pterígio e transplante de conjuntiva e limbo.
- 7) Excisão do pterígio e transplante da membrana amniótica.

A cirurgia de pterígio é frequentemente complicada pelo desenvolvimento de um tecido fibrovascular, conhecido como pterígio recorrente. Este tende a ser mais agressivo no que diz respeito ao seu padrão de crescimento do que a lesão inicial. Acredita-se, atualmente, que o trauma cirúrgico e subsequente inflamação pós-operatória ativem a proliferação dos fibroblastos conjuntivais, das células endoteliais e de matrizes protéicas extracelulares, levando à formação do pterígio recorrente. (BRUNI et al, 2001)

A taxa de recorrência dos casos operados por uma cirurgia de exérese simples fica entre 32% e 89% (HARO HARO, 1984), o que levou vários autores buscarem novas técnicas cirúrgicas e terapias coadjuvantes que fossem eficientes no controle das recorrências. Uma dessas técnicas foi a do transplante autólogo de conjuntiva.

BARRAQUER (1980) foi o primeiro a introduzir a técnica de transplante autólogo de conjuntiva para o tratamento do pterígio. Mais tarde, esta técnica seria reenfatizada por KENYON (1989). Estes autores descreveram a retirada do enxerto de conjuntiva livre da região temporal superior da conjuntiva do mesmo olho para recobrir a área de esclera exposta após a exérese do pterígio, podendo também ser usada a do olho contralateral.

A taxa de recorrência nos casos de transplante autólogo varia entre 2% e 35% (MCCOOMBES JÁ, 1994; KWITKO S, 1995), e esta técnica está associada a um baixo índice de complicações, sendo que a mais encontrada foi à formação de simbléfaro.

Os principais fatores sugeridos por RIORDAN-EVA et al (1993) para reduzir a taxa de recorrência são:

- 1) A presença de células germinativas límbicas orientadas corretamente na área limbar da exérese do pterígio;

- 2) A não inclusão de tecido episcleral;
- 3) O fechamento completo da área ressecada com posicionamento de tecido conjuntival normal, impedindo a proliferação e o avanço de tecido anormal.

A técnica de transplante autólogo de conjuntiva não produz cicatriz ou perda de motilidade conjuntival no local doador, onde a conjuntiva simplesmente se regenera. A sua contra-indicação principal seria o fato desta técnica poder ser prejudicial para pacientes que necessitem de uma futura cirurgia filtrante (ALEMANY GONZALEZ et al, 1996).

Outra técnica cirúrgica bastante difundida para o tratamento do pterígio recidivado é a do retalho conjuntival superior. Esta técnica utiliza, para a confecção do retalho, parte da conjuntiva bulbar superior. Esta porção é escolhida por estar recoberta pela pálpebra superior, protegida da poluição e dos raios ultravioletas, ocorrendo também um grau menor de agressão à região episcleral; fatos que possibilitam o aparecimento de baixos índices de recidiva (cerca de 10%). A sua principal complicação seria o leucoma de córnea periférico (JAPA et al, 1999).

Uma alternativa ao transplante autólogo e ao retalho de conjuntival superior é o uso de terapias clínicas coadjuvantes para reduzir as taxas de recorrência, dentre elas podemos citar a betaterapia, o uso de oncotiotepe e o uso de agentes antimióticos, como a mitomicina C (antibiótico antineoplásico, com propriedades radiomiméticas, que inibem a síntese de DNA, RNA e proteínas), (DI GIROLAMO et al, 1963)

A betaterapia se baseia na aplicação do estrôncio 90 na região episcleral, e vem sendo usada para o tratamento do pterígio desde 1950. Mostrou uma redução na taxa de recorrência após cirurgia de pterígio para 1,7 a 12%. A dosagem total de irradiação deve ser inferior a 3.200 rad, devendo ser aplicada no momento da cirurgia ou no pós operatório. Sua ação consiste em provocar mudanças iônicas no núcleo e citoplasma das células suscetíveis a neovascularização, causando endarterites obliterantes e detendo a proliferação de fibroblastos. (DUSENBERY et al, 1992 ; FUJISHIMA, et al, 1996).

Apesar da betaterapia diminuir as taxas de recorrência, complicações como necrose escleral, simbléfaro, atrofia de íris, infecções secundárias e formação de catarata foram reportadas, podendo ocorrer em até dez anos após o seu uso (DUSENBERY KE et al, 1992; SMITH RA et al, 2001). Atualmente, a betaterapia, devido às complicações que

podem advir do seu uso, muitas vezes de difícil manuseio, praticamente não tem sido usada na prática oftalmológica.

O oncotiotepe é uma droga radiomimética que oblitera os vasos sangüíneos por inibição dos capilares endoteliais, usada originalmente como agente antitumoral, e há muito passou a ser utilizada para diminuir a recorrência do pterígio. Porém, segundo ALVES (1990), esta droga provoca alterações no epitélio corneano e conjuntival, na sensibilidade corneana e no filme lacrimal (volume e estabilidade). ROBERTSON & CREAMAN (1972) também constataram alterações tanto no número quanto nas funções das células caliciformes, juntamente com a presença de ceratite persistente, hipertrofia conjuntival, alergia ocular e despigmentação irreversível das pálpebras, fatores que levaram a uma sensível redução do seu uso nas cirurgias do pterígio.

Em relação a mitomicina C, o seu uso intra-operatório é eficaz, propiciando uma taxa de recorrência entre 2,7% e 12,5% (CHEN PP et al, 1995). . A maioria dos estudos mostrou bons resultados com o uso intra-operatório da mitomicina C na concentração de 0,02 mg/ml por um período de três minutos (MYPET & OKIO, 2000). A ação de inibir a replicação do DNA, através da formação de ligações covalentes com resíduos de guanosina no DNA é atribuída a mitomicina C, considerada como um agente radiomimético de longa duração (LEE et al, 2001). Entretanto, a inibição da mitose pode levar à morte celular. Estudos da cápsula de Tenon humana mostraram que uma única dose de mitomicina C afeta irreversivelmente a proliferação celular (REYES EE et al, 2000). Sendo relatadas várias complicações oculares após o seu uso, dentre elas, ceratite ponteada superficial, edema corneano, iridociclite, necrose escleral tardia, infecção bacteriana, catarata e endoftalmite (EWING-CHOW DA et al, 1992).

O uso de mitomicina C em oftamologia começou a partir de 1963, após trabalhos de KUNITOMO & MORI (1963), a ser usada topicamente no pós operatório de exérese de pterígio na concentração de 0.4 mg/ml (0,04%), na dose de quatro vezes ao dia por duas semanas, para redução da recorrência do pterígio. Outros autores (REYES EE, 2000; LOSADA RODRIGUEZ AN et al, 1998), porém, descreveram o seu uso na concentração de 0,02% administrada duas vezes ao dia com uma taxa de recorrência de

6,9% e com menor risco para os pacientes. Embora, a menor dosagem efetiva e segura para a administração da mitomicina C após a exérese do pterígio continue controversa.

Em vários estudos, como o de CARDILLO et al (1995)., ambos os métodos de utilização da mitomicina C se mostraram igualmente eficazes. Porém outros autores advogam o uso intra-operatório, por este ter uma melhor penetração no epitélio, provocar proliferação de fibroblastos restrita ao local de sua aplicação e agir por longo período.

Estudos recentes (TSENG & TSUBOTA, 1997) mostram que o transplante de membrana amniótica pode ser indicado para reconstrução da superfície conjuntival como uma alternativa às técnicas convencionais como enxerto conjuntival ou rotação de retalho.

MECANISMOS DE AÇÃO DO TRANSPLANTE DE MEMBRANA AMNIÓTICA

A membrana amniótica, ou âmnion, camada interna da placenta, consiste de uma membrana basal densa e matriz estromal avascular (DANFORTH et al, 1958; BLEGGI et al, 1998; GRIS et al, 2002). O transplante de membrana amniótica tem sido descrito para a reconstrução de estruturas em diferentes sub-especialidades médicas. Na literatura, a membrana placentária sem preservação, incluindo âmnion e córion foi primeiro usada por DE ROTTH (1940) para a reconstrução da superfície conjuntival. Retrospectivamente, observa-se que foi devido ao método de preparação e inclusão do córion, a causa de não se obter um resultado satisfatório, e consequentemente explica porque este procedimento não foi seguido por outros especialistas. O transplante de membrana amniótica foi recentemente reintroduzido para utilização em procedimentos oftalmológicos por KIM E TSENG (1995). Resultados encorajadores têm sido relatados por diferentes pesquisadores (TSUBOTA et al, 1996; SHIMAZAKI et al, 1997; MONTEIRO et al, 2000; SOLOMON et al, 2001), atribuídos presumivelmente pela melhora dos métodos de processamento e preservação (MELLER & TSENG, 1998). A membrana amniótica pode ser utilizada como uma matriz para recuperar o estroma danificado da superfície ocular em diferentes indicações clínicas (AZUARA-BLANCO et al, 1998; KIM & TSENG, 1995; PRABHASAWAT et al, 2001).

Recentes estudos científicos indicam que os mecanismos de ação em potencial são os seguintes: a membrana basal da membrana amniótica é um substrato ideal para garantir o crescimento e o desenvolvimento de células epiteliais germinativas, prolongando o seu período de vida e mantendo sua capacidade de produzir colônias (clonogenicidade) (PRABHASAWAT & TSENG, 1997). Este mecanismo explica porque o transplante de membrana amniótica pode ser usado para expandir células germinativas do limbo e células amplificadoras de transição da córnea durante o tratamento da deficiência límbica parcial, e facilitar a epitelização nos defeitos epiteliais corneanos persistentes com ulceração estromal (PUANGSRICHARERN & TSENG, 1995 ; TSENG et al, 1998; ANDERSON et al, 2001). Em cultura de tecidos, a membrana amniótica suporta o crescimento de células epiteliais do limbo através de cultura de explantes, e em seguida a membrana amniótica com células epiteliais pode ser transplantada para a reconstrução da superfície corneana afetada (PRABHASAWAT et al, 1997). A membrana amniótica pode ser usada também para promover a diferenciação de células não caliciformes do epitélio conjuntival e o co-cultivo com fibroblastos conjuntivais na membrana basal da membrana amniótica que favorece a diferenciação das células caliciformes conjuntivais (FUKUDA et al, 1999). Esses dados explicam porque a densidade das células de “goblet” é aumentada após o transplante de membrana amniótica “in vivo”.

O lado do estroma da membrana amniótica contém componentes raros da matriz, os quais suprimem a sinalização de TGF- β proliferação e diferenciação miofibroblástica de fibroblastos da córnea e do limbo (CHOI TH & TSENG, 2001). Esta ação explica porque o transplante de membrana amniótica ajuda a reduzir a formação de tecido cicatricial durante a reconstrução da superfície conjuntival e a prevenir a recorrência de tecido cicatricial após a remoção de pterígeo (HAO et al, 2000; SHIMMURA et al, 2001).

A matriz do estroma da membrana contém vários inibidores de protease (NA BK et al, 1998; KIM et al, 2000; SHIMMURA et al, 2001), podendo também debelar as células inflamatórias levando-as para rápida apoptose (KOIZUMI et al, 2000; WANG MX et al, 2001). Esta ação da membrana amniótica explica porque a inflamação do estroma e a neovascularização corneana são reduzidas após o transplante de membrana amniótica, e

é importante ressaltar que este mecanismo de ação prepara o estroma para receber as células germinativas do limbo transplantadas no mesmo ato cirúrgico ou posteriormente.



OBJETIVO

Determinar a incidência de recidiva, a satisfação estética e o conforto pós-operatório de pacientes submetidos a cirurgia para tratamento de pterígio primário, utilizando o transplante de membrana amniótica.



MATERIAL E MÉTODO

Foi realizado estudo prospectivo de 126 pacientes (126 olhos) portadores de pterígio primário grau II diagnosticados à biomicroscopia, submetidos a tratamento cirúrgico, exérese de pterígio seguida de transplante de membrana amniótica, no período de janeiro de 2000 a outubro de 2002 no bloco cirúrgico do Hospital Escola da Faculdade de Medicina do Triângulo Mineiro.

Os critérios de inclusão dos pacientes neste estudo foram os seguintes: 1) idade entre 18 a 60 anos; 2) portadores de pterígio primário grau II (2 a 4 mm de invasão corneana); 3) ausência de infecção em superfície ocular; 4) seguindo tabela de dígitos aleatórios (anexo 2) os pacientes que se enquadravam nos critérios anteriores eram divididos em dois grupos: I) quando a soma dos números da tabela era par, o paciente era incluído no estudo; II) quando a soma dos números era ímpar, o paciente era excluído do estudo e submetido a outra técnica cirúrgica.

Os pacientes foram fotografados no pré-operatório, primeiro pós-operatório, um mês, seis meses e doze meses pós-operatório. O seguimento foi diário na primeira semana, no 15º pós-operatório e depois mensalmente até completar um ano. O critério de recidiva considerado foi a invasão corneana por tecido fibrovascular no período de um ano pós-cirurgia. O curativo foi trocado duas vezes por dia durante uma semana e após foi retirado, sendo prescrito ao paciente associação de polimixina B, neomicina e dexametasona colírio 6 vezes ao dia por 1 semana, 3 vezes ao dia por mais uma semana e depois suspender o colírio. Os pontos foram retirados 15 dias pós-operatório. O protocolo do paciente pode ser observado no anexo 1. Todos os procedimentos foram realizados pelo mesmo cirurgião.

Todos os pacientes foram submetidos a exame oftalmológico completo (composto de avaliação da melhor acuidade visual corrigida, refrações dinâmica e estática, biomicroscopia indireta e tonometria de aplanção) e foram devidamente instruídos e assinaram um termo de consentimento sobre o tratamento a que seriam submetidos (anexo 3).

A obtenção, preparação e preservação da membrana amniótica foram realizadas de acordo com as normas do protocolo aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Faculdade de Ciências Médicas/UNICAMP. Essas normas foram baseadas no protocolo proposto por TSENG et al (1996), segundo as premissas impostas pela “United States Food and Drug Administration” e “The American Association of Tissue Banking”.

A membrana amniótica foi obtida a partir de placentas provenientes de cesáreas eletivas de pacientes de clínicas obstétricas particulares de Uberaba – MG e do Departamento de Ginecologia e Obstetrícia da Faculdade de Medicina do Triângulo Mineiro, após consentimento assinado pelas gestantes (anexo 4). Todas essas pacientes apresentavam exames sorológicos negativo para HIV-1, hepatite B (HbsAg), Toxoplasmose (IgM), sífilis (VDRL) e Citomegalovírus, que foram reconfirmados pela realização de sorologia do sangue do cordão umbilical após o parto.

Após a obtenção da placenta no centro cirúrgico obstétrico, procedeu-se a sua lavagem com soro fisiológico 0,9% em ambiente estéril (figura I-A). Utilizando-se tesoura e pinça estéreis, dissecou-se o tecido separando-se o âmnio do córion (figura I-B e C). O âmnio então foi lavado em solução tampão fosfato contendo 50 µg/ml de penicilina, 50 µg/ml de estreptomicina, 100 µg/ml de neomicina e 2,5 µg/ml de anfotericina B. Deixou-se a membrana amniótica mergulhada nesta solução por 15 minutos e depois lavou-se novamente com soro fisiológico 0,9%. O âmnio foi colocado em filtro de nitrocelulose estéril (Millipore, Bedford, MA, EUA), que foi cortado em fragmentos de aproximadamente 3x4 cm de diâmetro (figuras I-D, E e F), com a face endotelial da membrana voltada para o filtro e após estocado em recipiente estéril, contendo glicerol (Baxter Healthcare Corporation, Stone Mountain, GA, EUA) e mantido em ambiente refrigerado a temperatura de +4°C (KRUSE et al, 2000). O tempo máximo para utilização das membranas foi de 60 dias. (ADDS et al, 2001)

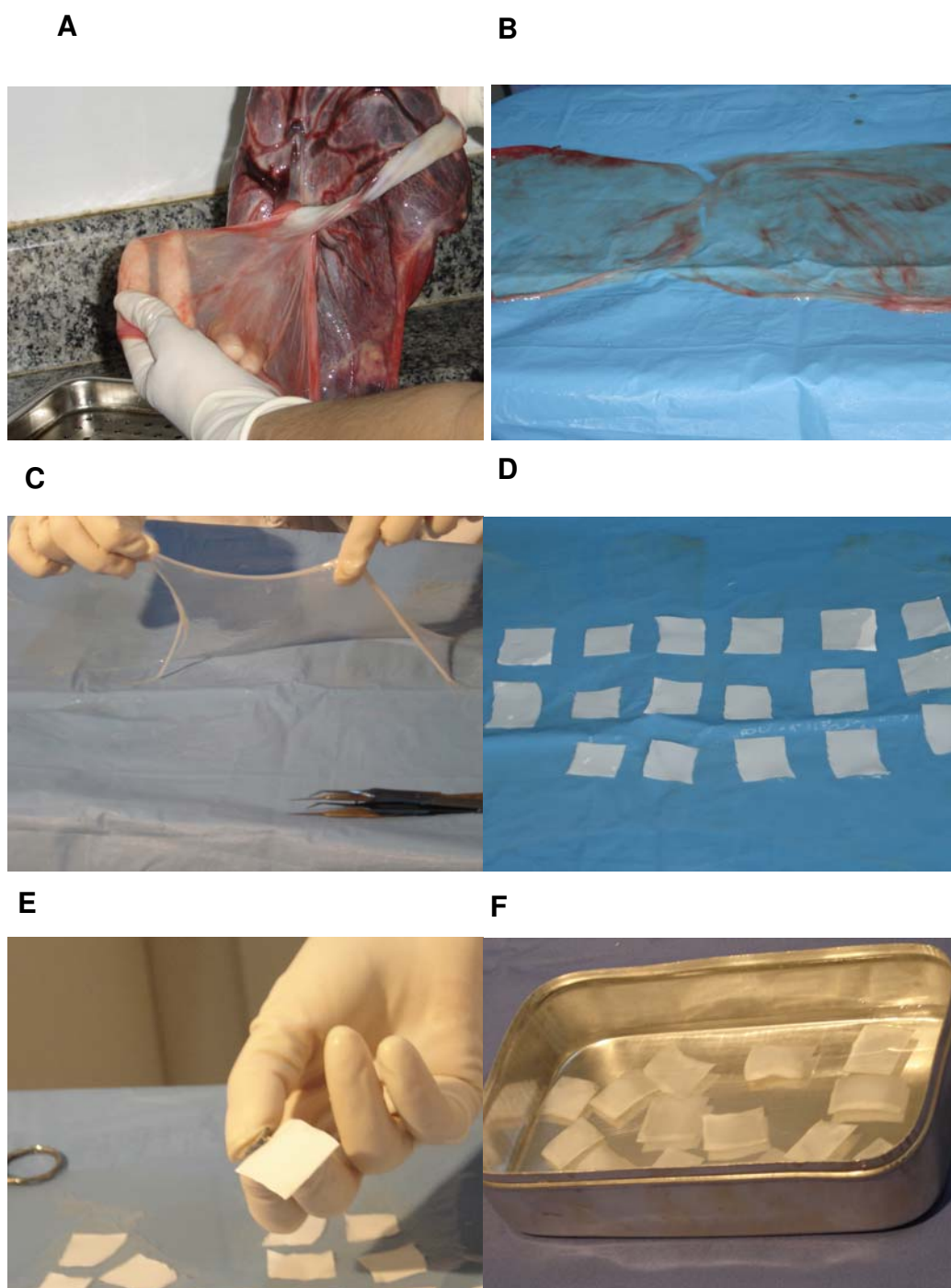


FIGURA 1-(A) Placenta sendo lavada com soro fisiológico 0,9%; (B) Córion e âmnion sendo separados; (C) âmnion totalmente separado e lavado com solução antibiótica; (D) Papéis de nitrocelulose previamente cortados sendo colocados sobre o âmnion da membrana amniótica; (E) Papel de nitrocelulose já com a membrana amniótica; (F) Papéis de nitrocelulose com membrana amniótica em solução de glicerina.

Técnica do transplante de membrana amniótica (Figura I)

- 1) Instilação de gotas de colírio de tetracaína a 0,5%;
- 2) Infiltração de conjuntiva e do corpo do pterígio com 1,5 ml de lidocaína a 2% sem vasoconstrictores;
- 3) Exérese ampla da Tenon da região dissecada;
- 4) Dissecção da cabeça do pterígio na córnea com bisturi com lâmina curva;
- 5) Colocação da membrana amniótica como enxerto sobre a área dissecada inclusive a área corneana desepitelizada;
- 6) Sutura das bordas da membrana com a conjuntiva, usando fio mononylon 10.0;
- 7) Curativo oclusivo com associação de polimixina B, neomicina e dexametasona em apresentação de pomada.

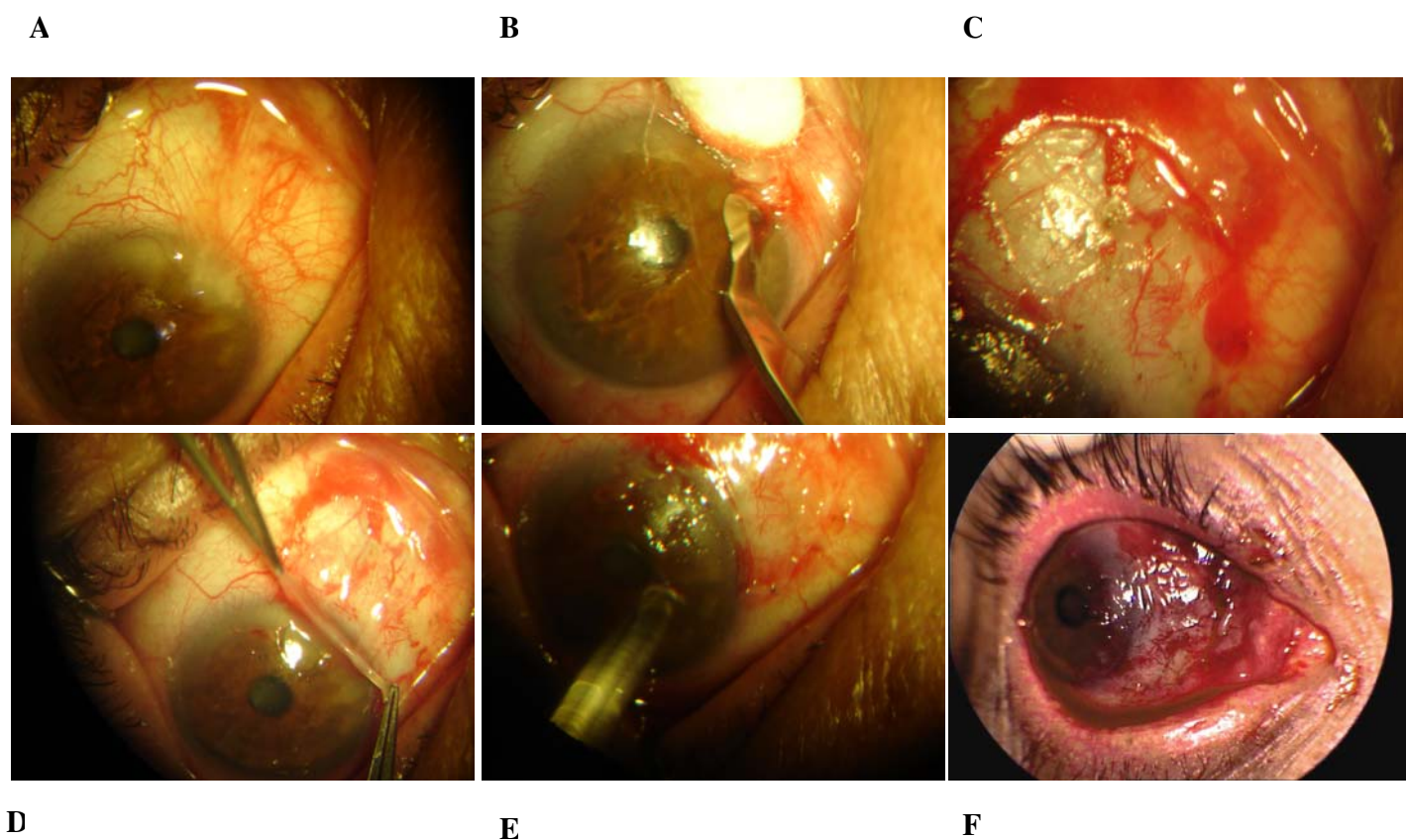


FIGURA 2-(A) Pterígio primário grau II; (B) Dissecção da cabeça do pterígio; (C) Área nua de esclera após dissecção ampla de todo pterígio; (D) Colocação da membrana amniótica; (E) Início da sutura com ponto escleral; (F) Sutura completa de toda membrana sobre a área de esclera exposta.



RESULTADOS

Setenta e seis pacientes (60,31%) eram do gênero masculino e 50 (39,69%) do gênero feminino. A média de idade foi de 35 anos (variando de 20 a 53 anos). Todos os pacientes eram de raça branca.

Observou-se 8 casos de recidiva sendo 6 em pacientes dos gênero masculino e duas no gênero feminino. A média de idade desses pacientes foi de 39,6 anos (variando de 22 a 53 anos). As recidivas ocorreram em média com 3,3 meses (variando do 2º ao 7º mês) (tabela I).

Cento e dois pacientes (80%) relataram estar muito satisfeitos com a estética e 63 pacientes (50%) queixaram-se de dor no pós operatório (até 48 horas) que cedia ao uso de analgésicos comuns administrados por via oral (gráfico I).

Em 120 pacientes (95,23%) foi observada a presença de secreção mucóide em fundo de saco conjuntival na 1ª semana pós-cirurgia. Não foi constatada formação de granuloma em nenhum paciente e nem de rejeição ao enxerto proposto. A hiperemia conjuntival pós operatória desapareceu no prazo médio de 13 dias (variando de 10 a 30 dias).

Tabela 1-Pacientes com quadro de recidiva

Paciente	Gênero	Idade (anos)	Mês da recidiva	Relato de dor nas 48 h pós- operatória.
03991	Masculino	22	2º	Sim
01119	Masculino	31	3º	Sim
83436	Masculino	39	2º	Sim
66497	Feminino	53	7º	Sim
06345	Masculino	27	2º	Sim
20857	Feminino	52	6º	Não
19019	Masculino	49	3º	Sim
53152	Masculino	44	2º	Sim

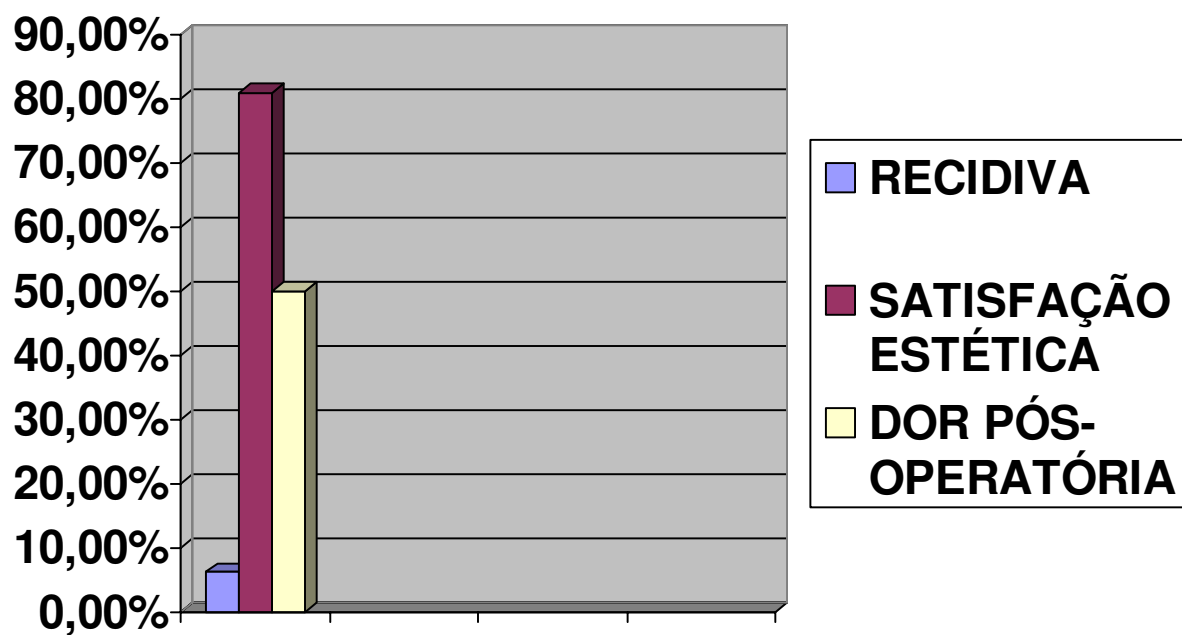


Gráfico 1-Resultados quanto aos critérios recidiva do pterígio, satisfação estética e dor no pós-operatório.

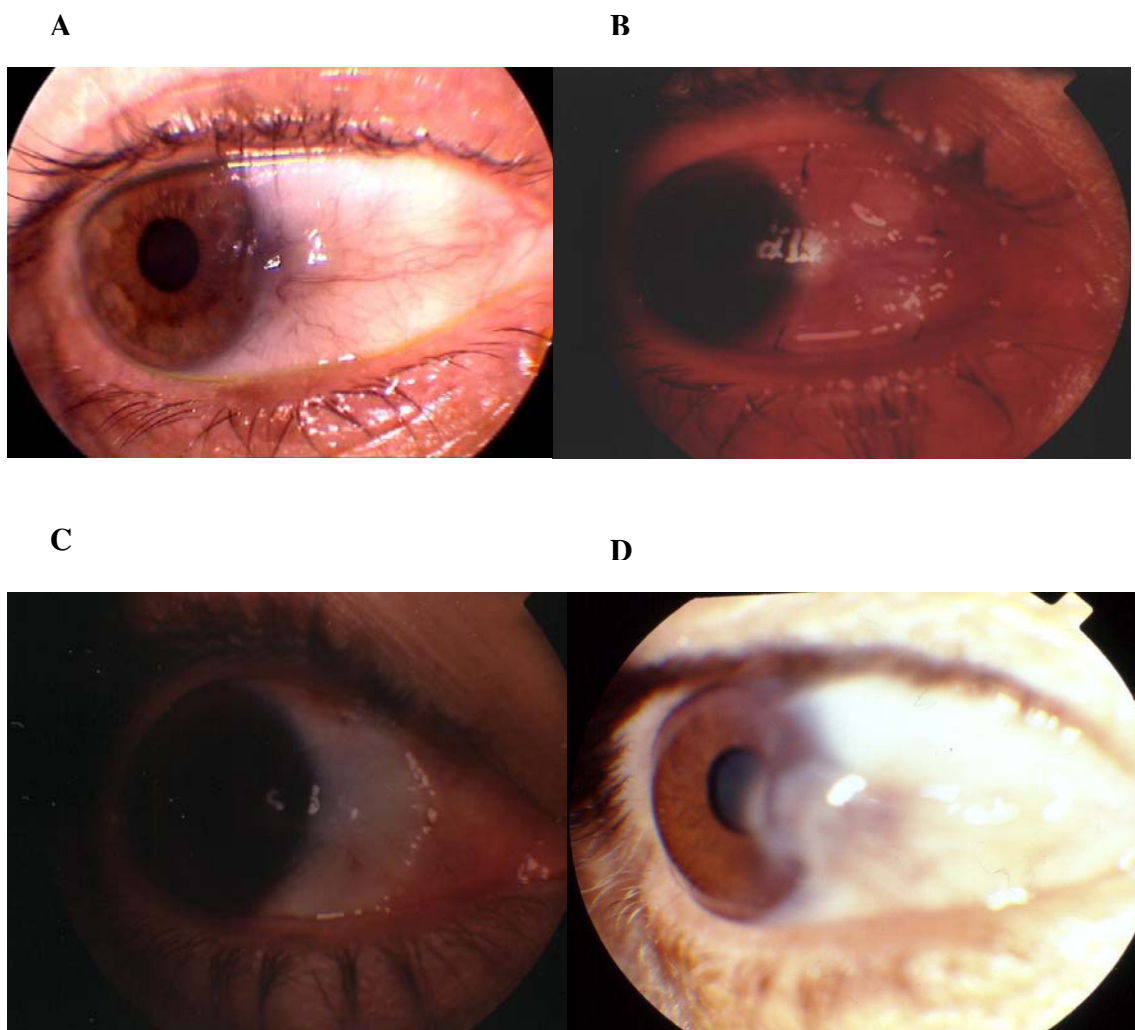


FIGURA 3-Fotos de paciente do gênero feminino que teve recidiva no sexto mês pós-operatório (A) Paciente no pré-operatório de pterígio grau II; (B) Paciente no primeiro dia pós-operatório de exérese de pterígio com membrana amniótica; (C) Paciente no terceiro mês pós-operatório e (D) Paciente no sexto mês pós-operatório com recidiva do pterígio.

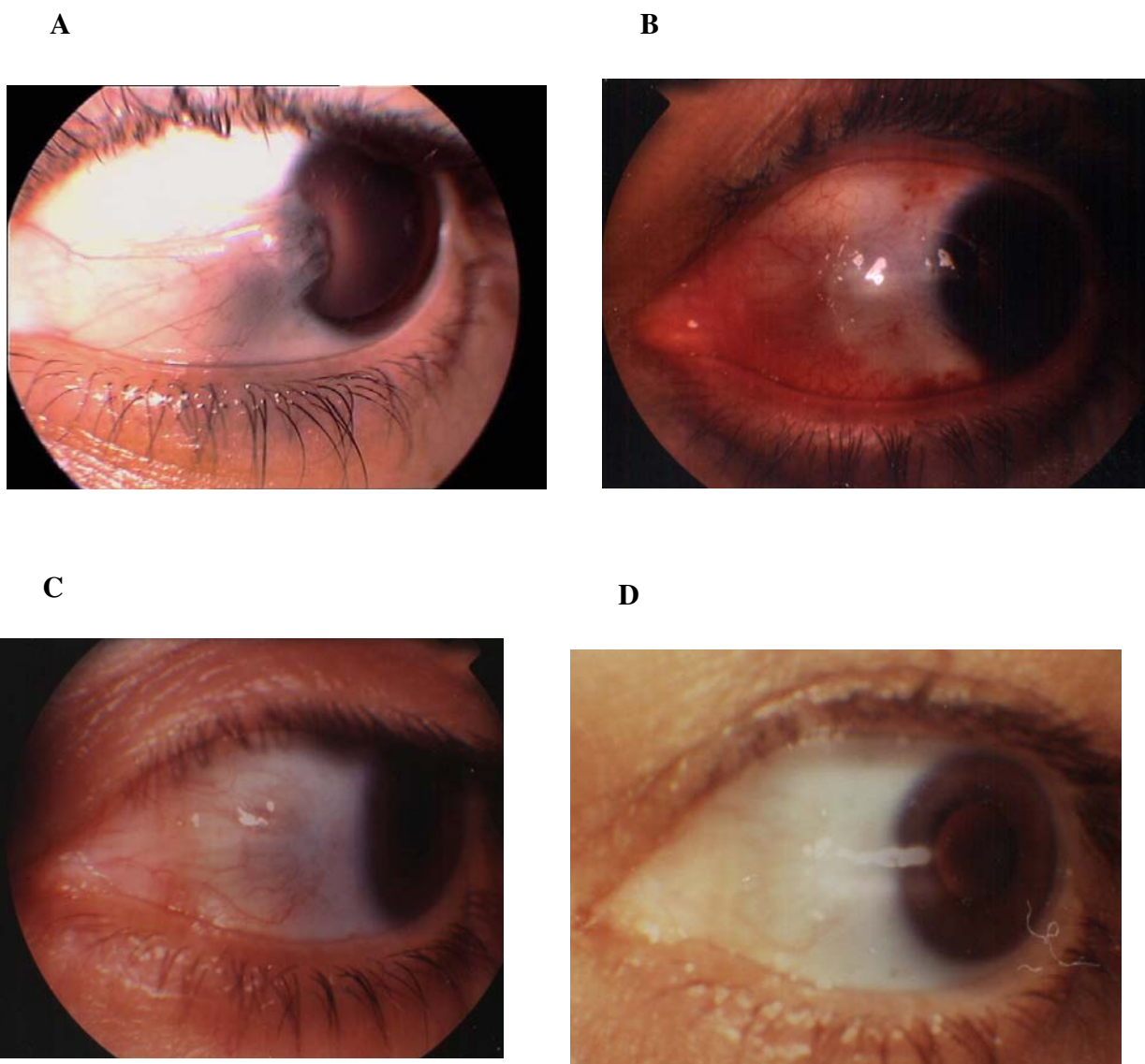


FIGURA 4-Fotos de paciente do sexo feminino (olho esquerdo) que não teve recidiva. (A) Paciente no pré-operatório; (B) Paciente no primeiro mês pós-operatório de exérese de pterígio com membrana amniótica; (C) Paciente no sexto mês pós-operatório e (D) Paciente com uma ano pós-operatório.



DISCUSSÃO

Os índices de recidiva do pterígio citados na literatura são extremamente variáveis e dependem de diversos fatores como: amostra estudada, localização geográfica, tipo de atividade profissional do paciente, se a lesão é primária ou recidivada, tempo de seguimento, uso de tratamentos coadjuvantes, técnica cirúrgica empregada e mesmo a definição do que seria a recidiva. Todos estes fatores tornam muito difícil a comparação entre os estudos.

Nos últimos anos vários estudos foram realizados com membrana amniótica objetivando substituir o transplante autólogo de conjuntiva pelo alto potencial da membrana amniótica de reconstrução de superfícies (TSENG et al, 1997).

Neste estudo, a taxa de recidiva do pterígio com o uso de membrana amniótica foi de 6,3%. As taxas de recorrência encontradas na literatura são muito variáveis, mostrando valores entre 3% (SOLOMON et al, 2001) a 25% (SHIMAZAKI et al, 1998). Na maior parte destes estudos o número de pacientes avaliados não ultrapassa 50 (média de 37), os critérios de inclusão e exclusão são vagos e não há sistema de aleatorização.

Acredita-se que a baixa taxa de recorrência neste estudo deva-se a extensa remoção do pterígio e dos mecanismos de ação da membrana amniótica, ressaltando-se a inibição da proliferação de fibroblastos por bloqueio da sinalização de TGF- β (CHOI et al, 2001) e o desencadeamento da apoptose de células inflamatórias (NA BK et al, 1998; WANG MX et al, 2001; SHIMMURA et al, 2001).

Complicações comumente encontradas nas pesquisas com o uso de membrana amniótica, como granuloma piogênico e simbléfaro (PRABHASAWAT et al, 1997), não foram observadas neste estudo, o que pode ser justificado pela colocação da membrana esticada sobre a superfície e com as abas cobertas pela conjuntiva, pela força de tração aplicada na sutura e pelo tipo de fio utilizado no procedimento.

Também não foram observadas rejeições com o transplante, nem quadros de infecções, o que pode ser justificado pelas propriedades imunológicas e antibactericida da membrana amniótica. (TALMI et al, 1991)

Cento e quatorze pacientes deste estudo (90,01%) praticavam atividades com exposição a radiação ultravioleta, o que condiz com a teoria mais plausível sobre a fisiopatogenia do pterígio proposta por BARRAQUER (1980).

MCCOOMBES et al (1994) referem que a maior parte das recidivas de pterígios se dão em pacientes com menos de 40 anos de idade, o que foi também observado neste estudo.

ALVES (1990) cita que o tempo de seguimento dos pacientes submetidos a exérese de pterígio em revisão bibliográfica é de 6 a 12 meses, embora alguns trabalhos façam acompanhamento por 30 meses (GOMEZ et al, 1999). A recidiva, segundo o mesmo autor, surge nos 12 primeiros meses, o que foi observado neste estudo (média de 3,3 meses).

O conforto pós operatório no estudo foi devido-se a propriedade analgésica da membrana amniótica. FERREIRA et al, (1992); CHOWERS et al (2001) referem que o conforto pós-operatório quando outras técnicas são aplicadas é menor (média de 80% referem dor nas 48 primeiras horas pós-operatória). A maior parte dos pacientes com recidiva queixavam dor no pós-operatório imediato. No entanto não podemos afirmar que a dor seja um sinal prodromico para recidiva. A dor se deve a manipulação cirúrgica com liberação de mediadores algicos presentes no campo imunológico conjuntival, escleral e tenoniano . (NAKAGAMI et al, 2000; PARK & JIN, 2000)

A satisfação estética dos pacientes do grupo pode ser explicada pela não vascularização da membrana (aspecto de transparência) e pela fina espessura como já foi abordado por outros autores. (DUA & BLANCO, 1999; GABRIC et al, 1999; GOMES et al, 1999)

No estudo as recidivas foram encontradas em maior proporção (75%) em indivíduos do sexo masculino. Isso pode ser explicado em parte pela amostra maior de indivíduos do sexo masculino (1,5:1) segundo REYES & VILLA (2000) a frequência de pterígios é maior em indivíduos do sexo masculino pelas atividades profissionais que exercem estarem mais relacionadas com a exposição a radiação ultravioleta, no entanto, no

estudo não houve diferença estatística significativa entre as atividades profissionais de ambos os gêneros.

Acreditamos que a confiabilidade do presente estudo se deva a fatores principais: tamanho da amostra, critérios de inclusão e exclusão claras, definição do critério de recidiva e tempo de seguimento dos pacientes.



CONCLUSÃO

O transplante de membrana amniótica mostrou-se eficaz quanto a baixa recidiva, satisfação estética do paciente e dor nas primeiras 48 horas pós operatório no tratamento cirúrgico do pterígio primário. No entanto, não podemos afirmar que o mesmo deva ser considerado como primeira escolha no tratamento cirúrgico do pterígio primário.

Estudos de longo prazo, multicêntricos e randomizados são necessários para determinar qual o melhor tratamento.



REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ADDS P J; HUNT C J; DART J K. Amniotic membrane grafts, “fresh” or frozen? A clinical and in vitro comparison. **Br J Ophthalmol** 2001;85 (8): 905-7.
- ADINOLFI M, AKLE CA, MC COLL I, FENSOM AH, TANSLEY L, CONNOLLY P, ET AL. Expression of HLA antigens, B2 microglobulina and enzymes by human amniotic epithelial cells. **Nature** 1982;295:325-7.
- ALEMANY GONZALEZ, MT; PADRON ALVAREZ, V; MARTIN VALDES, ME; GARCIA GONZALEZ, F. Autoplasia conjuntival en el pterigium primario. **Rev Cuba Oftalmol** 1996;9(2):81-5.
- ALVES, MR. Contribuição ao estudo dos efeitos locais do Tiotepa no pós-operatório do pterígio. **Arq Bras Oftal** 53(5):203-209, 1990.
- ANDERSON DF; ELLIES P; PIRES RT; TSENG SC. Amniotic membrane transplantation for partial limbal stem cell deficiency. **Br J Ophthalmol** 2001;85(5):567-75.
- AVILA M; ESPAÑA M; MORENO C; PEÑA C. Reconstruction of ocular surface with heterologous limbal epithelium and amniotic membrane in a rabbit model. **Cornea** 2001; 20(4):414-20.
- AZUARA-BLANCO A., PILLAI CT, SARHAN A, DUA HS. Amniotic Membrane Transplantation for ocular surface reconstruction. **Invest Ophthalmol Vis Sci** 1998;39,S428.
- BARRAQUER J I. Etiology, pathogenesis, and treatment of the pterygium. Transactions of the New Orleans Academy of Ophthalmology, Symposium on Medical and Surgical Diseases of the Cornea. Mosby, St. Louis, 1980;167-78.
- BLEGGI-TORRES, LF; WERNER, B; PIAZZA, MJ. Ultrastructural study of the normal human amniotic membrane. **J Bras Patol** 1998;34(3):140-3.
- BRUNI, FL; SCHELLINI, SA; JAQUETA, E; PADOVANI, CR. Transplante de membrana amniótica para tratamento do pterígio recidivado. **Arq Bras Oftal** 2001;64:195-8.
- CARDILLO , JÁ; ALVES, MR; AMBROSIO, LE; POTÉRIO, MB; JOSE, NK. Single intraoperative application versus postoperative mitomycin C eye drops in pterygium surgery. **Ophthalmology** 102(12): 1949-1952,1995.

- CHEN PP, ARIYASU RG, KAZA V, LA BREE LD, MC DONNELL PJ. A randomized trial comparing mitomycin C and conjunctival autograft after excision of primary pterygium. **Am J Ophthalmol** 1995;120:151-60.
- CHOI TH; TSENG SC. In vivo and in vitro demonstration of epithelial cell-induced myofibroblast differentiation of keratocytes and na inhibitory effect by amnioti membrane. **Cornea** 2001;20(2):197-204.
- CHOWERS L; PE'ER J; ZAMIR E; LIVNI N; LLSAR M; FRUCHT-PERY J. Proliferative activity and p53 expression in primary and recurrent pterygia. **Ophthalmology** 2001;108(5):985-8.
- COLOCHO G, GRAHAM III WP, GREENE AE, MATHESON DW, LYNCH D. Human amniotic membrane as a physiologic wound dressing. **Arch Surg** 1974;109:370-3.
- DANFOTH DM, HULL RW. The microscopic anatomy of the fetal membranes with particular reference to the detailed structure of the amnion. **Am J Obstret Gyecol** 1958;75:536-50.
- DE ROTH A. Plastic repair of conjunctival defects with fetal membrane. **Arch Ophthalmol** 1940;23:522-5.
- DETORAKIS ET; SOURVINOS G; SPANDIDOS DA. Detection of herpes simplex virus and human papiloma virus in ophthalmic pterygium. **Cornea**.2001;20(2):164-7.
- DI GIROLAMO N; CORONEO MT; WAKEFIELD D.Active matrilysin (MMP-7) in human pterygia:potential role in angiogenesis. **Invest Ophthalmol Vis Sci** 2001; 42(9):1963-8.
- DI GIROLAMO N; WAKEFIELD D; CORONEO MT. Differential expression of matri metalloproteinases and their tissue inhibitors at the advancing pterygium head. **Invest Ophthalmol Vis Sci** 2000;41(13):4142-9.
- DUA, HS; AZUARA-BLANCO, A. Amniotic membrane transplantation. **Br J Ophthalmol** 1999;83(6):748-52.
- DUCHESNE B; TAHI H; GALAND A . Use of human fibrin glue and amniotic membrane transplant in corneal perforation. **Cornea** 2001; 20(2):230-2.

- DUSENBERY KE, ALUL IH, HOLLAND EJ, KHAN FM, LEVITT SH, B irradiation of recurrent pterygia-results and complications. **Int J Radiat Oncol Biol Phys**. 1992;24:315-20.
- ERGIN A; BOZDOGAN O .Study on tear function abnormality in pterygium. **Ophthalmologica**. 2001;215(3):204-8.
- Ewing-Chow DA, Romanchuk KG, Gilmour GR, Underhill JH, Climenhaga DB. Corneal melting after pterygium removal followed by topical mitomycin C therapy. **Can J Ophthalmol** 1992;27:197-9.
- Eye Bank Association of America. **Medical Standards**, June 1993. Washington: EBAA, 1993.
- Eye Bank Association of America. **Procedures Manual**, February 1992. Washington: EBAA,1992.
- FERREIRA, PCP; ROQUE, L; RUMJANEK, VM; GOLGHER, RR. Some biological properties of the human amniotic membrane interferon. **Mem Inst Oswaldo Cruz** 1992;87(1):149-54.
- FRANCH A, RAMA P, LAMBIASE A, PONZIN D, CAPRIOGLIO G. Human amniotic membrane transplantation. **Invest Ophthalmol Vis Sci** 1998;39:S90.
- FUJISHIMA H, SHIMAZAKI J, TSUBOTA K. Temporary corneal stem cell dysfunction after radiation therapy. **Br J Ophthalmol** 1996;80;911-4.
- FUJISHIMA, H; SHIMAZAKI, J; SHINOZAKI, N; TSUBOTA, K. Trabeculectomy with the use of amniotic membrane for uncontrollable glaucoma. **Ophthalmic Surg Lasers** 1998;29(5):428-31.
- FUKUDA K, CHIKAMA T, NAKAMURA M, NISHIDA T. Differential distribution of subchains of the basement membrane components type IV collagen and laminin among the amniotic membrane, cornea and conjunctiva. **Cornea** 1999;18:73-9.
- GABRIC, N; MRAVICIC, I; DEKARIS, I; KARAMAN, Z; MITROVIC, S. Human amniotic membrane in the reconstruction of the ocular surface. **Doc Ophthalmol** 1999;98(3): 273-83.
- GEORGIADIS NS; TERZIDOU CD.Epiphora caused by conjunctivochalasis: treatment with transplantation of preserved human amniotic membrane.**Cornea** 2001;20(6):619-21.

- GOMES JAP, KOMAGOME CM, SANTOS N, CHAVES AP, CUNHA MC, FREITAS D. Membrana Amniótica nas cirurgias reconstrutivas da superfície ocular nas ceratoconjuntivites cicatriciais. **Arq Bras Oftamol** 1999;62:562-76.
- GÓMEZ CARRASQUEL, RM; COLOMBO, F. Reconstrucción de la superficie conjuntival con membrana amniótica posterior a la excisión de pterigión. **Rev Oftalmol** 1999;55(1):13-25.
- GRIS, O; GÜELL, JL; LOPEZ-NAVIDAD, A; CABALLERO, F; DEL CAMPO, Z. Application of the amniotic membrane in ocular surface pathology. **Ann Transplant** 1999; 4(3-4):82-4.
- GRIS, O; WOLLEY-DOD CH, GUELL JL, et al. Histologic findings after amniotic membrane in the human cornea. **Ophthalmology** 2002;109:508-12.
- HAO, Y; MA, DH; HWANG, DG; KIM, WS; ZHANG, F. Identification of antiangiogenic and antiinflammatory proteins in human amniotic membrane. **Cornea** 2000;19(3):348-52.
- HARO HARO, DE. Aspectos quirúrgicos del pterigión. **Rev Peru Oftalmol** 1984;10(1):37-41.
- HOLLAND EJ, SCHWARTZ GS. The evolution of epithelial transplantation for severe ocular surface disease and a proposed classification system. **Cornea** 1996;15:549-56.
- HOLLAND EJ. Epithelial transplantation for the management of severe ocular surface disease. **Trans Am Ophthalmol Soc** 1996;94:677-743.
- HOLLAND EJ. Epithelial transplantation for the management of severe ocular surface disease. **Trans Am Ophthalmol Soc** 1996;94:677-743.
- HOULIHAN JM, BIRO PA, HARPER H, JENSKINSON HJ, HOLMES CH. The human amnion is a site of MHC Class Ib expression. **J Immunol** 1995;154:5665-74.
- INATOMI T, SPURR-MICHAUD SJ, TISDALE AS, ZHAN Q, FELDMAN ST, GIPSON IK. Expression of secretory mucin genes by human conjunctival epithelia. **Invest Ophthalmol Vis Sci** 1996; 37:1684-92.
- JAP A, CHAN C, LIM L, TAN DT. Conjunctival rotation autograft for pterygium. An alternative to conjunctival autografting. **Ophthalmology** 1999;106:67-71.
- JOSEPH A; DUA HS; KING AJ. Failure of amniotic membrane transplantation in the treatment of acute ocular burns. **Br J Ophthalmol** 2001;85(9):1065-9.

KENYON KR, TSENG SCG. Limbal autograft transplantation for ocular surface disorders. **Ophthalmology** 1989;96:709-23.

KIM JC, TSENG SCG. The effects on inhibition of corneal neovascularization after human amniotic membrane transplantation in severely damage rabbit corneas. Korean J. **Ophthalmol** 1995;9:32-46.

KIM JC, TSENG SCG. Transplantation of preserved human amniotic membrane for surface recontruction in severely damaged rabbit corneas. **Cornea** 1995;14:473-84.

KIM, JS; KIM, JC; NA, BK; JEONG, JM; SONG, CY. Amniotic membrane patching promotes healing and inhibits proteinase activity on wound healing following acute corneal alkali burn. **Exp Eye Res** 2000; 70(3):329-37.

KOIZUMI N; INATOMI T; SUZUKI T; SOTOZONO C; KINOSHITA S. Cultivated corneal eptelial stem cell transplantation in ocular surface disorders. **Ophthalmology** 2001;108(9):1569-74.

KOIZUMI, N; FULLWOOD, NJ; BAIRAKTARIS, G; INATOMI, T; KINOSHITA, S; QUANTOCK, AJ. Cultivation of corneal epithelial cells on intact and denuded human amniotic membrane. **Invest Ophthalmol Vis Sci** 2000;41(9):2506-13.

KOIZUMI, NJ; INATOMI, TJ; SOTOZONO, CJ; FULLWOOD, NJ; QUANTOCK, AJ; KINOSHITA, S. Growth factor mRNA and protein in preserved human amniotic membrane. **Curr Eye Res** 2000;20(3):173-7.

KRUSE, FE; JOUSSEN, AM; ROHRSCHEIDER, K; YOU, L; SINN, B; BAUMANN, J; VÜLCKER, HE. Cryopreserved human amniotic membrane for ocular surface reconstruction. Graefes **Arch Clin Exp Ophthalmol** 2000;238(1):68-75.

KRUSE, FE; ROHRSCHEIDER, K; VÜLCKER, HE. Multilayer amniotic membrane transplantation for reconstruction of deep corneal ulcers. **Ophthalmology** 1999; 106(8):1504-10.

KUBO M; SONODA Y; MURAMATSU R; USUI M. Immunogenicity of human amniotic membrane in experimental xenotransplantation. **Invest Ophthalmol Vis Sci** 2001; 42(7):1539-46.

KUNITOMO, N; MORI, S. Studies on the pterygium. Part 4. A treatment of the pterygium by mitomycin C instillation. **Acta Soc Ophthalmol Jpn**, 67:601-608, 1963.

KURPAKUS-WHEATER M. Laminin-5 is a component of preserved amniotic membrane. **Curr Eye Res** 2001;22(5):353-7.

KWITKO S, MARINHO D, BARCARO S, ET AL. Allograft conjunctival transplantation for bilateral ocular surface disorders. **Ophthalmology** 1995;102:1020-5.

LEE JS; OUM BS; LEE SH. Mitomycin c influence on inhibition of cellular proliferation and subsequent synthesis of type 1 collagen and laminin in primary and recurrent pterygia. **Ophthalmic Res**. 2001;33(3):140-6.

LEE S-H, TSENG SCG. Amniotic membrane transplantation for persistent epithelial defects with ulceration. **Am J Ophthalmol** 1997;123:303-12.

LEFEBVRE S; ADRIAN F; MOREAU P; GOURAND L; DAUSSET J; BERRIH-AKNIN S; CAROSELLA ED; PAUL P. Modulation of HLA-G expression in human thymic and amniotic epithelial cells. **Hum Immunol** 2000;61(11):1095-101.

LESSA, S; FLORES, EE; GONÇALVES NETO, P; GONÇALVES FILHO, P. Tratamento do pterígio recidivado com o uso de enxerto livre de mucosa labial de espessura parcial. **Rev Bras Oftalmol** 1995;54(7):508-15.

LOSADA RODRIGUEZ, AN; ZENTENO APARICIO, J; VILLANUEVA MARIN, P; BORGONO, A; SCHWADERER U, H. Pterigium con mitomicina-C al 0.02 porciento: resultados y complicaciones. **Arch Chil Oftalmol** 1998;55(2):31-4.

MA, DH; SEE, LC; LIAU, SB; TSAI, RJ. Amniotic membrane graft for primary pterygium: comparison with conjunctival autograft and topical mitomycin C treatment. **Br J Ophthalmol** 2000;84(9):973-8.

MACKENZIE FD, HISRST LW, BATTISTUTTA D. Risk analysis in the development of pterigia. **Ophthalmology** 1992;99:1056-1061.

MASHIMA Y, YAMADA M, YAMADA H, TSUNODA K, ARIMOTO M. Limbal autograft transplantations for chronic ocular surface failure. **Jpn J Clin Ophthalmol** 1993;47:607-10.

MCCOOMBES JA, HIRST LW, ISBELL GP. Sliding Conjunctival flap for the treatment of primary pterygium. **Ophthalmology** 1994;101:169-73.

MEDINA ZARCO, A; CASTILLO TORRES, F; LUCIO ALVA, ME; MEDINA ZARCO, A. Determinación del grado de contracción de la conjuntiva en patologías derivadas de su pérdida al emplear amnios como cubierta terapéutica. **Rev Mex Oftalmol** 1999;73(6):251-4.

MEJÍA, LF; ACOSTA, C; SANTAMARIA, JP. Use of nonpreserved human amniotic membrane for the reconstruction of the ocular surface. **Cornea** 2000;19(3):288-91.

MELLER D, TSENG SCG. In vitro conjunctival epithelial differentiation on preserved human amniotic membrane. **Invest Ophthalmol Vis Sci** 1998;39:S428.

MELLER D; MASKIN SL; PIRES RT; TSENG SC. Amniotic membrane transplantation for symptomatic conjunctivochalasis refractory to medical treatments. **Cornea** 2000;19(6):796-803.

MELLER, D; PIRES, RT; MACK, RJ; FIGUEIREDO, F; HEILIGENHAUS, A; PARK, WC; PRABHASAWAT, P; JOHN, T; MCLEOD, SD; STEUHL, KP; TSENG, SC. Amniotic membrane transplantation for acute chemical or thermal burns. **Ophthalmology** 2000;107(5):980-9.

MELLER, D; TSENG, SC. Conjunctival epithelial cell differentiation on amniotic membrane. **Invest Ophthalmol Vis Sci** 1999;40(5):878-86.

MESSMER EM. Hypopyon after amniotic membrane transplantation. **Ophthalmology** 2001;108(10):1714-5.

MOLL R, FRANKE WW, SCHILLER DL, GEIGER B, KREPLER R. The catalog of human cytokeratins. Patterns of expression in normal epithelia, tumors and cultured cells. **Cell** 1982;31:11-24.

MONTEIRO ECL, SCHELLINI AS, MARQUES MEA, Kamegasawa A, Padovani CR. Tratamento da úlcera corneana experimental com membrana amniótica. **Arq Bras Oftalmol** 2000;63:33-7.

MOREIRA, H; OLIVEIRA, CS. Transplante de membrana amniótica. **Arq Bras Oftal** 2000;63(4):303-5.

- MORGAN S, MURRAY A. Limbal autotransplantation in the acute and chronic phases of severe chemical injuries. **Eye** 1996;10:349-54.
- MYPET C; OKO H. Results of intra-operative 0.5mg/ml mitomycin C with 20mg depo steroid in the treatment of primary pterygium. **Cent Afr J Med**. 2000 ;46(12):330-2.
- NA BK, HWANG JH, SHIN EJ, SONG CY, JEONG JM, KIM JC. Analysis of human amniotic membrane components as proteinase inhibitors for development of therapeutic agent of recalcitrant Keratitis. **Invest Ophthalmol Vis Sci** 1998;39,S90.
- NAKAGAMI T; WATANABE L; MURAKAMI A; OKISAKA S; EBIHARA N. Expression of stem cell factor in pterygium. **Jpn J Ophthalmol** 2000;44(3):193-7.
- NISHIWAKI-DANTAS MC; DANTAS PE; REGGI JR. Ipsilateral limbal translocation for treatment of partial limbal deficiency secondary to ocular alkali burn. **Br J Ophthalmol** 2001;85(9):1031-3.
- ONER FH; KADERLI B; DURAK L; CINGIL G. Analysis of the pterygium size inducing marked refractive astigmatism. **Eur J Ophthalmol** 2000;10(3):212-4.
- PANDA, A. Amniotic membrane transplantation in ophthalmology (fresh v preserved tissue). **Br J Ophthalmol** 1999;83(12):1410-1.
- PARIDAENS D; BEEKHUIS H; VAN DEN BOSCH W; REMEYER L; MELLES G. Amniotic membrane transplantation in the management of conjunctival malignant melanoma and primary acquired melanosis with atypia. **Br J Ophthalmol** 2001; 85(6):658-61.
- PARK TK; JIN KH. Telomerase activity in pterygeal and normal conjunctival epithelium. **Korean J Ophthalmol** 2000;14(2):85-9.
- PIRES, RTF; PIRES, JLT; TSENG, SCG. Transplante de membrana amniótica para reconstrução da superfície corneana e conjuntival. **Arq Bras Oftalmol** 1999;62(3):340-50.
- PRABHASAWA P, BARTON K, BURKETT G, TSENG SC. Comparison of conjunctival autografts amniotic membrane grafts and primary closure for pterygium excision. **Ophthalmology** 1997;104:974-85.

PRABHASAWAT P, TSENG SCG. Impression cytology study of epithelial phenotype of ocular surface reconstructed by preserved human amniotic membrane. **Arch Ophthalmol** 1997;115:1360-7.

PRABHASAWAT P; KOSRIRUKVONGS P; BOORANAPONG W; VAJARADUL Y. Amniotic membrane transplantation for ocular surface reconstruction. **J Med Assoc Thai** 2001;84(5):705-18.

PUANGSRICHARERN V, TSENG SCG. Cytologic evidence of corneal diseases with limbal stem cell deficiency. **Ophthalmology** 1995; 102:1476-85.

REYES, EE; VILLA , AR. Autoinjerto conjuntival vs mitomicina-c preparada al 0.02 en el tratamiento del pterigión primario. **Rev Mex Oftalmol** 2000;74(5):247-51.

RIORDAN-EVA, P; KIELHORN, I; FICKER, LA; MCG.STEELE, AD; KIRKNESS, CM. Conjunctival autografting in the surgical management of pterygium. **Eye** 7;634-638,1993.

ROBERTSON, DM; CREASMAN, JP. Effects of topical thio-tepa on rat eyes. **Am J Ophthalmol**, 73(1):73-77, 1972.

RODRÍGUEZ-ARES, MT; TOURIÑO, R; CAPEANS, C; SÁNCHEZ-SALORIO, M. Repair of scleral perforation with preserved scleral and amniotic membrane in Marfan's syndrome. **Ophthalmic Surg Lasers** 1999;30(6):485-7.

SATO H, SHIMAZAKI J, SHINOZAKI K, TSUBOTA K. Role of growth factors for ocular surface reconstruction after amniotic membrane transplantation. **Invest Ophthalmol Vis Sci** 1998;39,S428.

SHIMAZAKI J, YANG, HY, TSUBOTA K. Amniotic Membrane transplantation for ocular surface reconstruction in patients with chemical and termal burns. **Ophthalmology** 1997;104:2068-76.

SHIMAZAKI J. SHINOZAKI N, TSUBOTA K. Transplantation of amniotic membrane and limbal autograft for patients with recurrent pterygium associated with symblepharon. **Br J Ophthalmol** 1998;82:235-40.

SHIMMURA S; SHIMAZAKI J; OHASHI Y; TSUBOTA K. Antiinflammatory effects of amniotic membrane transplantation in ocular surface disorders. **Cornea** 2001; 20(4):408-13.

SMITH RA; DZUGAN AS; KOSKO P. Postoperative beta irradiation for control of pterygium. **J Miss State Med Assoc.** 2001; 42(6):167-9.

SPANDIDOS DA, SOURVINOS G, KIARIS R, TSAMPARLAKIS J. Mic-rosatellite instability and loss of heterozygosity in human pterygia. **Br J Ophthalmol** 1997; 81:496.

SOLOMON A, MELLER D, PRABHASAWAT P, JOHN T, ESPANA E.M., STEUHL K-R, TSENG SGC. Amniotic membrane grafts for nontraumatic corneal perforations descemetocelles, and deep ulcers. **Ophthalmology.**2002;109:694-703.

SOLOMON A; PIRES RT; TSENG SC. Amniotic membrane transplantation after extensive removal of primary and recurrent pterygia. **Ophthalmology** 2001;108(3):449-60.

SOLOMON A; ROSENBLATT M; MONROY D; JI Z; PFLUGFELDER SC; TSENG SC. Suppression of interleukin 1 alpha and interleukin 1 beta in human limbal epithelial cells cultured on the amniotic membrane stromal matrix. **Br J Ophthalmol** 2001;85(4):444-9.

SORSBY A, HAYTHORNE J, REED H. Amniotic Membrane grafts in caustic soda burns. **Br J Ophthalmol** 1947;31:401-4.

SRIDHAR MS; SANGWAN VS; BANSAL AK; RAO GN. Amniotic membrane transplantation in the management of shield ulcers of vernal keratoconjunctivitis. **Ophthalmology** 2001; 108(7):1218-22.

TALMI YP, SIGLER L, INGE E, FINKELSTEIN Y, ZOHAR Y. Antibacterial properties of human amniotic membranes. **Placenta** 1991;12:285-6.

TAYLOR RJ, WANG MX. Rate of re-epithelialization following amniotic membrane transplantation. **Invest Ophthalmol Vis Sci** 1998;39:S1038.

TAYLOR HR. Ultraviolet radiation and the eye: an epidemiology study. **Trans Am Ophthalmol Soc** 1989;87:802-853.

THOFT RA. Conjunctival transplantation. **Arch. Ophthalmol** 1997;95:1425-7.

TI SE; TOW SL; CHEE SP. Amniotic membrane transplantation in entropion surgery. **Ophthalmology** 2001; 108(7):1209-17.

TRELFORD JD, TRELFORD-SAUDER M. The amnion in surgery, past and present. **Am J Obstet Gynecol** 1979;134:833-45.

TRELFORD JD, TRELFORD-SAUDER M. The amnion in surgery, past and present. **Am J Obstet Gynecol** 1979;134:833-45.

- TSAI RJF, SUN TT, TSENG SCG. Comparison of limbal and conjunctival autograft transplantation for corneal surface reconstruction in rabbits. **Ophthalmology** 1990;97:446-55.
- TSENG SC, PRABHASSAWAT P, LEE SH. Amniotic Membrane transplantation for conjunctival surface reconstruction. **Am J Ophthalmol** 1997;124:765-74.
- TSENG SCG, CHEN JJY, HUANG AJW, KRUSE FE, MASKIN SL, TSAI RJF. Classification of conjunctival surgeries for corneal disease based on stem cell concept. **Ophthalmol Clin North Am** 1990;3:595-610.
- TSENG SCG, CHEN JJY, HUANG AJW, KRUSE FE, MASKIN SL, TSAI RJF. Classification of conjunctival surgeries for corneal diseases based on stem cell concept. **Ophthalmol Clin North Am** 1990;3:595-610.
- TSENG SCG, HIRST LW, MAUMENEE AE, KENYON KR, SUN T-T, GREEN WR. Possible mechanisms for the loss of goblet cells in mucin deficient disorders. **Ophthalmology** 1984;91:545-52.
- TSENG SCG, PRABHASAWAT P, BARTON K, GRAY T, MELLER D. Amniotic membrane transplantation with or without limbal allografts for corneal surface reconstruction in patients with limbal stem cell deficiency. **Arch Ophthalmol** 1998;116:431-41.
- TSENG SCG, TSUBOTA K. Important concepts for treating ocular surface and tear disorders, **Am J Ophthalmol** 1997;124:825-35.
- TSENG SCG. Ocular surface changes in Sjogren' s syndrome. In: Homma M, Sugai S, Tojo T, Miyasaka N, Akizuki M, eds. Sjogren' s syndrome, State of the art, Proceedings of the Fourth International Symposium on Sjogren Syndrome. Amsterdam/New York: **Kugler Publications** 1994:21-6.
- TSENG SCG. Regulation and clinical implications of corneal epithelial stem cells. **Mol Biol Rep** 1996;23:47-58.
- TSIRONI S; LOACHIM E; MACHERA M; ASPIOTIS M; AGNANTI N; PSILAS K. Presence and possible significance of immunohistochemically demonstrable metallothionein expression in pterygium versus pinguecula and normal conjunctiva. **Eye** 2001;15(Pt1):89-96.

TSUBOTA K, SATAKE Y, OHYAMA M, ET AL. Surgical reconstruction of the ocular surface in advanced ocular cicatricial pemphigoid and Stevens-Johnson syndrome. **Am J Ophthalmol** 1996;122:38-52.

TSUBOTA K, SATAKE Y, OHYAMA M, TODA I, TAKANO Y, ONO M, SHINAZAKI N, SHIMAZAKI I. Surgical reconstruction of the ocular surface in advanced ocular cicatricial pemphigoid and Stevens-Johnson syndrome. **Am J Ophthalmol** 1996;122:38-52.

TYSZKIEWICZ, JT; UHRYNOWSKA-TYSZKIEWICZ, IA; KAMINSKI, A; DZIEDZIC-GOCLAWSKA, A. Amnion allografts prepared in the Central Tissue Bank in Warsaw. **Ann Transplant** 1999; 4(3-4):85-90.

UEDA Y; KANAZAWA S; KITAOKA T; DAKE Y; OHIRA A; QUERTANI AM. AMEMIYA T. Immunohistochemical study of p53, p21 and PCNA in pterygium. **Acta Histochem.** 2001;103(2):159-65.

WANG LJ; LAI WT; LIOU SW; CHIU CZ; HU FR; KAO WW; HUNG PT. Impression cytology of pterygium. **J Ocul Pharmacol Ther** 2000;16(6):519-28.

WANG MX; GRAY TB; PARK WC; PRABHASAWAT P; CULBERTSON W; FORSTER R; HANNA K; TSENG SC. Reduction in corneal haze and apoptosis by amniotic membrane matrix in excimer laser photoablation in rabbits. **J Cataract Refract Surg** 2001;27(2):310-9.

WEI Z-G, WU R-L, LAVKER RM, SUN TT. In Vitro growth and differentiation of rabbit bulbar, fornix, and palpebral conjunctival epithelia. Implication on conjunctival epithelial transdifferentiation and stem cells. **Invest Ophthalmol Vis Sci** 1993;34:1814-28.

WOO HM; KIM MS; KWEON OK; KIM DY; NAM TC; KIM JH. Effects of amniotic membrane on epithelial wound healing and stromal remodelling after excimer laser keratectomy in rabbit cornea. **Br J Ophthalmol** 2001;85(3):345-9.



ANEXOS

ANEXO 1-PROTOCOLO DO PACIENTE:

Nº da Tabela: _____

Nome: _____ Sexo: _____ Idade: _____ Cor: _____

AVSC OD: _____
OE: _____

Ref. dinâmica: OD: _____ = _____
OE: _____ = _____

Ref. estatística: OD: _____ = _____
OE: _____ = _____

Biomicroscopia: _____
pterígio _____ x _____ mm , olho

Tonometria: OD: _____ mm/g
OE: _____ mm/g

Fundoscopia indireta: _____

Cirurgia no dia ____/____/____

Grupo: _____

Bio:

1º P.O.	_____ (Foto nº: _____)
15º P.O.	_____
1º mês	_____ (Foto nº: _____)
2º mês	_____
3º mês	_____
4º mês	_____
5º mês	_____
6º mês	_____ (Foto nº: _____)
7º mês	_____
8º mês	_____
9º mês	_____
10º mês	_____
11º mês	_____
12º mês	_____ (Foto nº: _____)

Intercorrências: _____

Satisfação com a estética: _____

Dor nas 48 h PO: () SIM () NÃO

Desaparecimento da hiperemia conjuntival: _____ dias

ANEXO 2

Tabela de Dígitos Aleatórios

03991	10461	93716	16894	98953	73231	39528	72484	82474	25593
38555	95554	32886	59780	09958	18065	81616	18711	53342	44276
17546	73704	92052	46215	15917	06253	07586	16120	82641	22820
32643	52861	95819	06831	19640	99413	90767	04235	13574	17200
69572	68777	39510	35905	85244	35159	40188	28193	29593	88627
24122	66591	27699	06494	03152	19121	34414	82157	86887	55087
61196	30231	92692	61773	22109	78508	63439	75363	44989	16822
30532	21704	10274	12202	94205	20380	67049	09070	93399	45547
03788	97599	75867	20717	82037	10268	79495	04146	52162	90286
48228	63379	85783	47619	87481	37220	91704	30552	04737	21031
88618	19161	41290	67312	74857	15957	48545	35247	18619	13674
71299	23853	05870	01119	92784	26340	75122	11724	74627	73707
27954	58909	82444	99005	04921	73701	92904	13141	32392	19763
80863	00514	20247	81759	45197	25332	69902	63742	78464	22501
33564	60780	48460	85558	15191	18782	94972	11598	62095	36787
90899	75754	60833	25983	01291	41349	19152	00023	12302	80783
78038	70267	43529	06318	38384	74761	36024	00867	76378	41605
55986	66485	88722	56736	66164	49431	94458	74284	05041	49807
87539	08823	94813	31900	54155	83436	54158	34243	46978	35482
16818	60311	74457	90561	72848	11834	75051	93029	47665	64382
34677	58300	74910	64345	19325	81540	60365	94653	35075	33949
45305	07521	61318	31855	14413	70951	83799	42402	56623	34442
59747	67277	76503	34513	39663	77544	32960	07405	36409	83232
16520	69676	11654	99893	02181	68161	19322	53845	57620	52606
68652	27376	92852	55866	88448	03584	11220	94747	07399	37408
79375	95220	01159	63267	10622	48391	31751	57260	68980	05339
33521	26665	55823	47641	86225	31704	88492	99382	14454	04504
59589	49067	66821	41575	49767	04037	30934	47744	07481	83828
20554	91409	96277	48257	50816	97616	22888	48893	27499	98748
59404	72059	43947	51680	43852	59693	78212	16993	35902	91386

42614	29297	01918	28316	25163	01889	70014	15021	68971	11403
34994	41374	70071	14736	65251	07629	37329	33295	18477	65622
99385	41600	11133	07586	36815	43625	18637	37509	14707	93997
66497	68646	78138	66559	64397	11692	05327	82162	83745	22567
48509	23929	27482	45476	94515	25624	95096	67946	16930	33361
15470	48355	88651	22596	83761	60873	43253	84145	20368	07126
20094	98977	74843	93413	14387	06345	80854	09279	41196	37480
73788	06533	28597	20405	51321	92246	80088	77074	66919	31678
60530	45128	74022	84617	72472	00008	80890	18002	35352	54131
44372	15486	65741	14014	05466	55306	93128	18464	79982	68416
18611	19241	66083	24653	84609	58232	41849	84547	46850	52323
58319	15997	08355	60860	29735	47762	46352	33049	69248	93460
61199	67940	55121	29281	59076	07936	11087	96294	14013	31792
18627	90872	00911	98936	76355	93779	52701	08337	56303	87315
00441	58997	14060	40619	29549	69616	57275	36898	81304	48585
32624	68691	14845	46672	61958	77100	20857	73156	70284	24326
65961	73488	41839	55382	17267	70943	15633	84924	90415	93614
20288	34060	39685	23309	10061	68829	92694	48297	39904	02115
59362	95938	74416	53166	35208	33374	77613	19019	88152	00080
99782	93478	53152	67433	35663	52972	38688	32486	45134	63545

ANEXO 3

Termo de consentimento dos pacientes envolvidos na pesquisa (Aprovado pelo CEP)

O presente estudo tem por objetivo avaliar uma nova possibilidade de técnica cirúrgica para correção de pterígio primário (aquele que nunca foi operado) com o uso de membrana amniótica humana. A membrana amniótica será colhida da placenta de mulheres que foram submetidas a parto Cesário e todos os exames para se evitar infecções no paciente alvo da pesquisa serão realizados (sorologia para toxoplasmose, sífilis, hepatite B, citomegalovírus e HIV). Os pacientes serão distribuídos em dois grupos:

Grupo 1 (teste): utiliza-se o transplante de membrana amniótica

Grupo 2 (controle): utiliza-se a técnica convencional de rotação de retalho.

Esperamos encontrar melhores resultados com o grupo 1. Esses resultados seriam a menor chance de recidiva, maior conforto e melhor estética pós-operatório, menor hiperemia ocular e menor risco de complicações. No entanto, a literatura médica mostra bons resultados com a técnica convencional (grupo 2). Os maiores riscos que existem é de rejeição e recidiva. Esses riscos podem prontamente ser corrigidos pelo cirurgião, assim que diagnosticados sem complicações para o paciente. O cirurgião responsável acompanhará todos os pacientes na primeira semana pós-operatório diariamente e depois todo mês até completar 12 meses. O paciente terá todo esclarecimento sobre a pesquisa e metodologia, inclusive sua inclusão no grupo 1 ou 2, tendo o direito de recusar a sua participação ou retirar seu consentimento em qualquer fase da pesquisa sem nenhum prejuízo ao seu tratamento ou penalidade pelo ato.

Garantimos sigilo sobre os dados confidenciais do paciente envolvido na pesquisa. As cirurgias não terão nenhum custo financeiro ao paciente e nem suas eventuais complicações.

De acordo,

Assinatura do paciente

Assinatura do cirurgião pesquisador.

ANEXO 4

Termo de Consentimento das Gestantes

Autorizo a utilização de minha placenta para preparação de membrana amniótica que será utilizada em pesquisa de cirurgias de exérese de pterígio. Autorizo ainda a realização de exames sorológicos e conhecimento destes resultados, que serão coletados do meu sangue e do cordão umbilical do meu bebê pelo pesquisador responsável.

Assinatura do paciente

Assinatura do pesquisador responsável