



**PONTIFÍCIA UNIVERSIDADE CATÓLICA DE GOIÁS
PRÓ-REITORIA DE PÓS-GRADUAÇÃO E PESQUISA PROGRAMA DE PÓS-
GRADUAÇÃO MESTRADO EM GENÉTICA**

**ANÁLISE DO POLIMORFISMO DO GENE CYP3A5 EM
AMOSTRAS DE PTERÍGIO EM GOIÂNIA – GOIÁS**

**Goiânia
2021**

LETÍCIA CLAUDINO DE ARAÚJO

**ANÁLISE DO POLIMORFISMO DO GENE CYP3A5 EM
AMOSTRAS DE PTERÍGIO EM GOIÂNIA – GOIÁS**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós Graduação Mestrado em Genética – MGene, Pontifícia Universidade Católica de Goiás – PUC Goiás, como parte das exigências para obtenção do Título de Mestre em Genética.

Orientadora: Profa. Dra. Kátia Karina Verolli de Oliveira Moura.

**Goiânia
2021**

A663a Araújo, Leticia Claudino

Análise do polimorfismo do gene CYP3A5 em amostras
de Pterígio em Goiânia-Goiás / Leticia Claudino
Araújo. -- 2021.

51 f.; il.;

Texto em português com resumo em inglês.

Dissertação (mestrado) -- Pontifícia Universidade
Católica de Goiás, Escola de Ciências Agrárias e Biológicas,
Goiânia, 2021

Inclui referências, f. 45-48

1. Manifestações oculares de doenças. 2. Polimorfismo
(Genética) - Goiânia (GO)I.Costa, Iasmim Ribeiro da.
II.Pontifícia Universidade Católica de Goiás - Programa
de Pós-Graduação em Genética - 2021. III. Título.

CDU: Ed. 2007 -- 617.75(043)



**PUC
GOIÁS**

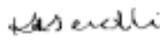
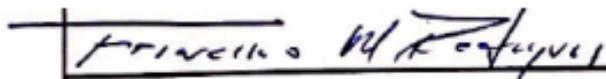
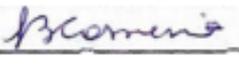


ATA DE SESSÃO PÚBLICA DE DEFESA DE DISSERTAÇÃO DE Mestrado NO PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO STRICTO SENSU EM GENÉTICA DA PONTIFÍCIA UNIVERSIDADE CATÓLICA DE GOIÁS.

No dia 02 de março de 2021, às 17h02m via webconferência em plataforma digital, de acordo com a portaria 36/2020 CAPES **Leticia Claudino Araujo**, discente do Programa de Pós-Graduação *Stricto Sensu* em Genética (MGENE) da Pontifícia Universidade Católica de Goiás, expôs, em Sessão Síncrona e Remota de Defesa de Dissertação de Mestrado, o trabalho intitulado **Análise do polimorfismo do gene CYP3A5 em amostras de pteriglio em Goiânia-Goiás**, para Comissão de Avaliação composta pelos (as) docentes: Profa. Dra. Iasmim Ribeiro da Costa –Presidente- PUC Goiás; Profa. Dra. Kátia; Karina Verolli O Moura / Co-Orientadora –PUC Goiás; Prof. Dr. Paulo Roberto de Melo Reis / PUC Goiás; Prof. Dr. Francisco Weliton Rodrigues/ PUC Goiás; Profa. Dra. Luciana Barbosa Carneiro /UFG e FUBOG . O trabalho da Comissão de Avaliação foi conduzido pelo(a) docente Presidente que, inicialmente, após apresentar os docentes integrantes da Comissão, concedeu 30 minutos ao(a) discente candidato(a) para que este(a) expusesse o trabalho. Após a exposição, o(a) docente Presidente concedeu a palavra a cada membro convidado da Comissão para que estes arguissem o(a) discente candidato(a). Após o encerramento das arguições, a Comissão de Avaliação, reunida isoladamente, avaliou o trabalho desenvolvido e o desempenho do(a) discente candidato(a) na exposição, considerando a trajetória deste(a) no curso de mestrado. Como resultado da avaliação, a Comissão de Avaliação deliberou pela:

Aprovação da dissertação

Banca Examinadora considerou o(a) estudante APROVADA com a nota **10,0 (DEZ INTEIROS)** equivalente ao conceito **"A"** Comissão de Avaliação pode sugerir alterações de forma e/ou conteúdo considerado aceitáveis, não impeditivo da aprovação do trabalho. As alterações deverão ser indicadas no Anexo ao presente documento e/ou podem constar na versão lida pelo membro da Comissão de Avaliação para a sessão de defesa da dissertação. Neste caso, a versão lida corrigida deverá ser entregue ao(à) discente candidato(a) no final da sessão. O(A) discente candidato(a) terá o prazo de sessenta (60) dias para os ajustes e entrega da versão final na Secretaria do Programa de Pós-Graduação *Stricto Sensu* em Genética, contado a partir da data da sessão de defesa da dissertação.

A Comissão de Avaliação (Assinaturas):	Para uso da Coordenação/Secretaria do MGENE:
<p align="center">Profa. Dra. Iasmim Ribeiro da Costa Presidente- PUC Goiás</p> 	<p>Prof. Dr. Aparecido Divino da Cruz Coordenador do Programa de Pós-Graduação <i>Stricto Sensu</i> em Genética Pontifícia Universidade Católica de Goiás</p>
<p>Profa. Dra. Kátia Karina Verolli O Moura Co-Orientadora –PUC Goiás</p> 	<p>Observações:</p> <p>Conforme normas institucionais esta banca de defesa ocorreu de forma síncrona e remotamente por meio de webconferência e a participação de todos os membros avaliadores é atestada pelo Presidente da Banca.</p>
<p>Prof. Dr. Paulo Roberto de Melo Reis PUC Goiás</p> 	<p>1. O Presidente da Banca deverá informar qual recurso foi utilizado para realização da banca. 2. () Skype 3. (X) Microsoft Teams 4. () Outro(s) informar _____</p>
<p>Prof. Dr. Francisco Weliton Rodrigues PUC Goiás</p> 	
<p>Profa. Dra. Luciana Barbosa Carneiro UFG e FUBOG</p> 	



ANEXO DA ATA DE SESSÃO PÚBLICA DE DEFESA DE DISSERTAÇÃO DE MESTRADO NO PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO STRICTO SENSU EM GENÉTICA DA PONTIFÍCIA UNIVERSIDADE CATÓLICA DE GOIÁS.

Discente: **Letícia Claudino Araujo**

Título da Dissertação **Análise do polimorfismo do gene CYP3A5 em amostras de pterígio em Goiânia-Goiás,**

Data do exame: 02 de março de 2021, às 17:02h

Correções; modificações; alterações; comentários; observações; pontos para reformulação etc. (Assinatura obrigatória).

Profa. Dra. Iasmim Ribeiro da Costa (Membro Presidente) | Assinatura _____

Assinale em caso afirmativo: [] O exemplar lido para o exame foi entregue ao discente com as correções necessárias.

Observações adicionais (Opcional):

Profa. Dra. Kátia Karina Verolli O Moura (Co-Orientador) | Assinatura _____

Assinale em caso afirmativo: [] O exemplar lido para o exame foi entregue ao discente com as correções necessárias.

Observações adicionais (Opcional):

Profa. Dra. Luciana Barbosa Carneiro (Membro Convidado Externo) Assinatura: _____

Assinale em caso afirmativo: [] O exemplar lido para o exame foi entregue ao discente com as correções necessárias.

Observações adicionais (Opcional):

Prof. Dr. Francisco Weliton Rodrigues (Membro Convidado Interno) | Assinatura: _____

Assinale em caso afirmativo: [X_] O exemplar lido para o exame foi entregue ao discente com as correções necessárias.

Observações adicionais (Opcional):

--



**PUC
GOIÁS**



Prof. Dr. Paulo Roberto de Melo Reis (Membro Convidado Interno)

Assinatura: 

Assinale em caso afirmativo: [] O exemplar lido para o exame foi entregue ao discente com as correções necessárias.
Observações adicionais(Opcional):

DEDICATÓRIA

Dedico esse trabalho aos meus pais, Thânia Maria Claudino de Oliveira Araújo e Emival Martins de Araújo, por todo apoio e ter me ensinado sobre dedicação e ternura.

AGRADECIMENTOS

Agradeço ao Senhor Deus por toda força, auxílio e amparo nessa caminhada.

Agradeço aos meus pais por ter me dado bom exemplo e apoio em toda minha vida estudantil, sem medir esforços.

Agradeço aos meus queridos irmãos Vinícius Claudino Araújo e Adriano Claudino Araújo, cunhada Lorena Marques e noivo Felipe Teles por toda cumplicidade e tranquilidade.

Agradeço às minhas queridas amoras Thamise Vilela, Tamires Rodrigues, Tharcyana, Carla, Renata, Rafaela Chioquetta e Ursula Soares Barbosa por todo amparo.

Agradeço às minhas orientadoras professoras Dra Kátia e Dra Iasmim Ribeiro pelas orientações, correções e esclarecimentos realizados com tanta paciência e maestria.

Agradeço aos mestres Dr Francisco Weligton e Dra Luciana Barbosa por todos os conselhos, dicas, ensinamentos sem cessar, meu muito obrigada.

Agradeço aos meus queridos professores do Mgene Dr Alex Silva da Cruz, Dr Aparecido Divino da Cruz, Dra Flávia melo Rodrigues, Dr Marc Alexandre Duarte Gigonzac, Dra Mariana Pires de Campos Teles, Dra Emília, Dra Thais Cidália Vieira Gigonzac e Iasmim Ribeiro, que tanto enriqueceram meus conhecimentos.

Agradeço aos meus queridos colegas do Mgene que tanto me ajudaram nessa caminhada Elza, Oximano, Hérída, Ana Flávia, Ulisses, Maria, Jaqueline e Adriana.

EPÍGRAFE

“O correr da vida embrulha tudo.
A vida é assim: esquentando e esfria,
aperta e daí afrouxa,
sossega e depois desinquieta.
O que ela quer da gente é coragem”

Guimarães Rosa

SUMÁRIO

.....	Erro! Indicador não definido.
.....	Erro! Indicador não definido.
1 INTRODUÇÃO	14
2 REFERENCIAL TEÓRICO	16
2.1 Definição	16
2.2 Apresentação clínica	16
2.3 Epidemiologia.....	17
2.4 Tratamento	18
2.5 Fatores de risco	22
2.5.1 Exposição solar	23
2.5.2 Infecções virais.....	24
2.5.3 Mecanismos moleculares	25
2.5.4 Genes supressores de tumores.....	25
2.5.5 Fator de crescimento	25
2.5.6 Interleucinas (IL).....	26
2.5.7 Proteínas relacionadas a apoptose	26
2.5.8 Moléculas de adesão celular.....	27
2.5.9 Proteínas relacionadas à proliferação.....	28
2.5.10 Proteínas de choque térmico (HSP)	28
2.5.11 Proteínas <i>tight junction</i>	29
2.5.12 Proteínas da matriz extracelular	29
2.5.13 Matriz metaloproteinase (MMP) e inibidores teciduais de metaloproteinases	30
2.5.14 Glutationa S- transferase (GSTs)	30
2.5.15 Citocromo P450 (CPYs)	31
3 OBJETIVOS	35
3.1 Objetivo geral:.....	35
3.2 Objetivos específicos:.....	35
4 MATERIAIS E MÉTODOS.....	36
4.1 Casuística	36
4.2 Análise molecular	36
RESULTADOS	39
DISCUSSÃO	43
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	49
ANEXO I.....	53

ANEXO II.....	54
----------------------	-----------

RESUMO

Pterígio é definido como uma doença ocular externa, causada pelo crescimento anormal de tecido fibrovascular. Apresenta forma triangular que parte da conjuntiva bulbar nasal podendo encobrir a córnea. Diversos fatores estão associados ao desenvolvimento do pterígio, dentre eles podemos citar aspectos físicos – calor, poeira, partículas da atmosfera – e mecanismos imunológicos como a reorganização da matriz extracelular, citocinas, fatores de crescimento, angiogênese, apoptose, entre outros. Estudos apontam que a expressão das enzimas da família CYP1A1 no pterígio se correlaciona com a variação alélica e pode ser usada como um marcador de risco independente para doença. Esse estudo busca analisar os genótipos do gene CYP3A5 em relação ao pterígio. Foi observado que o genótipo mais frequente na população em Goiânia é heterozigoto *CYP3A5* *1/*3. O genótipo *CYP3A5* não está relacionado aos fatores de risco analisados: gênero, etnia, história familiar de patologias oculares, exposição ocupacional, tabagismo e álcool.

Palavras-chaves: pterígio, polimorfismo, *CYP3A5*.

ABSTRACT

Pterygium is defined as an external eye disease, caused by abnormal growth of fibrovascular tissue. It has a triangular shape that starts from the nasal bulbar conjunctiva and can cover the cornea. Several factors are associated with the development of the pterygium, like physical aspects - heat, dust, particles of the atmosphere - and immunological mechanisms such as the reorganization of the extracellular matrix, cytokines, growth factors, angiogenesis, apoptosis, among others. Studies show that the expression of enzymes of the CYP1A1 family in the pterygium correlates with allelic variation and can be used as an independent risk marker for disease. This study seeks to analyze the genotypes of the CYP3A5 gene in relation to the pterygium. It was observed that the most frequent genotype in the population in Goiânia is heterozygous CYP3A5 * 1 / * 3. The CYP3A5 genotype is not related to the risk factors analyzed: gender, ethnicity, family history of ocular pathologies, occupational exposure, smoking and alcohol.

Keywords: pterygium, polimorphism, CYP3A5.

1 INTRODUÇÃO

Pterígio é definido como uma doença ocular externa, causada pelo crescimento de tecido fibrovascular hiperplásico. Apresenta forma triangular que parte da conjuntiva bulbar nasal podendo encobrir a córnea (DI CAO *et al.* 2018). Esta patologia pode gerar sintomas oftalmológicos importantes, como olho vermelho persistente, lacrimejamento, prurido, irritação ocular, astigmatismo regular e irregular e perda visual (SHUANG *et al.* 2018).

A etiologia da doença ainda se mantém incerta, porém alguns fatores de riscos são citados como intensa radiação solar, estimulação e inflamação crônica (QING, 2018). Estudos também mencionam como possíveis fatores de riscos: baixa renda, tabagismo, idade avançada, sexo masculino e latitude (FARHAD *et al.* 2018). Percebe-se uma maior distribuição do pterígio nas regiões equatoriais (baixas latitudes) e menor nas regiões de altas latitudes (MODENESE *et al.*, 2018). A prevalência do pterígio é variável quanto ao grupo populacional a ser estudado e tipo de estudo empregado, variando entre 0,07% a 53% (FARHAD *et al.* 2018).

O tratamento cirúrgico do pterígio está indicado nos casos de inflamação recorrente, astigmatismo induzido ou perda visual relacionada com acometimento do eixo visual (DI CAO *et al.* 2018). As técnicas cirúrgicas relacionadas são excisão simples do pterígio, associadas ou não com transplante limbar autólogo e uso de mitomicina C, bezucizumab ou sangue autólogo (QING *et al.* 2018). Infelizmente, a taxa de recorrência da doença no pós-operatório é comum, atingindo de 2,6 a 45% dos casos (DI CAO *et al.* 2018).

Alguns genes foram demonstrados em estudos genéticos que parecem estar associados ao desenvolvimento da doença (QING-YANG *et al.* 2018). Di Cao et al sugerem que a inibição de p53, gene inibidor de tumores, pode ser responsável por um mecanismo patogênico do pterígio (DI CAO *et al.* 2018).

Alterações nos genes GSTM1 e GSTT1 também foram descritas. Um estudo realizado em Goiânia, Goiás (De PR JUNIOR *et al.* 2015) analisou a associação entre polimorfismo em GSTM1 e formação de pterígio, colhendo amostras de sangue periférico de 90 pacientes com diagnóstico de pterígio e 23 pacientes sem a doença. Sugere-se uma diferença significativa entre a frequência do genótipo GSTM1 nulo nos grupos pacientes e no controle.

Além disso, as enzimas da família do citocromo P450 (CYP4) estão associadas com inflamação (variante do gene CYP4F3B), barreira cutânea (variante do gene CYP4F22), função ocular (variante do gene CYP4V2) e saúde cardiovascular (variante CYP4A11) e câncer (variante do gene CYP4B1 e CYP4Z1) (JARRAR, 2019).

Ao analisar a literatura sobre o assunto, há pesquisas que mostram associação entre vários polimorfismos genéticos e a doença. Quase não há estudos relacionando polimorfismo do gene CPY3A5 e pterígio, o que torna nosso estudo inédito.

Busca-se, neste estudo, avaliar os diferentes polimorfismos do gene CPY3A5 de pacientes com pterígio e verificar possíveis associações entre os genótipos CYP5A3 e os fatores de risco para a doença: sexo, etnia, casos na família, exposição ocupacional e fumo.

É esperado que os polimorfismos do gene CPY3A5 sejam um marcador para predição da susceptibilidade do pterígio. Seria possível instituir tratamentos mais eficazes e precoces de acordo com a gravidade da doença. Além disso, as doses dos medicamentos serem adaptadas de acordo com alterações genotípicas e fenotípicas para aumentar a eficácia do fármaco e reduzir efeitos adversos. Assim, busca-se reduzir os custos decorrentes da patologia e contribuir com a melhora da qualidade vida dos pacientes acometidos.

2 REFERENCIAL TEÓRICO

2.1 Definição

Pterígio é uma degeneração benigna da conjuntiva, constituindo uma frequente doença ocular (FONSECA, 2017). Trata-se de um crescimento fibrovascular incontrolável que parte da conjuntiva bulbar em direção a córnea e apresenta formato triangular “em asa” (REVZAN, 2018; ZENG, 2017).

As alterações histológicas da doença são caracterizadas por degenerações do colágeno e elastina, células inflamatórias, neovascularização, remodelamento da matriz extracelular e alteração das células epiteliais do limbo e proliferação fibrovascular (FONSECA, 2017).

Tal condição oftalmológica crônica causa problemas estéticos, irritação e hiperemia ocular. Em casos mais graves, pode gerar restrição da motilidade ocular, diplopia e astigmatismo irregular (REVZAN, 2018; ZENG, 2017). Se não houver tratamento apropriado, provoca morbidade visual importante e até potencial cegueira em casos extremos (SONG, 2017).



Figura 1. (A) pterígio inativo, com vascularização menos intensa, vasos afinados e aspecto claro; (B) pterígio ativo, com maior vascularização e aspecto mais hiperemiado.

Fonte: FONSECA *et al.* 2017.

2.2 Apresentação clínica

O diagnóstico de pterígio é realizado através do aparelho de lâmpada de fenda. Pode classificado em grau 1, quando o tecido fibrovascular acomete o limbo, em grau 2, quando tal tecido cobre córnea em aproximadamente 2 mm, em grau 3, quando atinge a borda pupilar e em grau 4, quando cobre a pupila (VIEGAS *et al.* 2016).

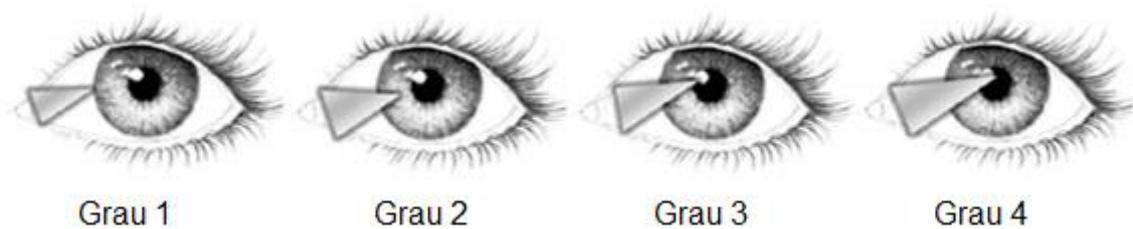


Figura 2. Classificação de pterígio

Fonte: WANZELER *et al.* 2019 modificado.

Morfologicamente, o pterígio pode ser classificado como involutivo ou atrófico, quando é possível visualizar as estruturas abaixo dele e como inflamado, quando seu tecido fibrovascular é carnoso e impossibilita a visualização das estruturas mais internamente (WANZELER *et al.* 2019).

2.3 Epidemiologia

Observa-se uma maior prevalência da doença no chamado “cinto do pterígio”, que corresponde a 30 graus ao norte e 30 graus ao sul da linha do Equador. As taxas de prevalência variam amplamente, dependendo da população a ser estudada, podendo variar de 2,8% a 38,7% (SINGH *et al.* 2017; SARKAR *et al.* 2020).

Estudos recentes determinaram incidência da doença na Coreia do Sul de 8,8%, enquanto no Arizona (EUA) 16% e de 38,7% no Nordeste da Etiópia (PYO *et al.* 2016; SONG *et al.* 2017; WEST *et al.* 2009).

Em uma revisão sistemática da literatura, Revzan *et al* sugere uma incidência de 12% da doença no mundo. A menor taxa de incidência detectada foi de 0,07% em um estudo na Arábia Saudita e a maior foi de 53% na China (REVZAN, 2018).

Todavia, as diferenças nos critérios de inclusão, bem como nas etapas metodológicas poderiam explicar as divergências entre as estimativas de prevalência da doença entre os estudos. Sugere-se implementações de mais estudos de coortes sobre tema e uso de mesmas diretrizes entre as pesquisas (REVZAN, 2018).

No Brasil, ainda não ocorreram estudos sobre prevalência do pterígio no país, apenas algumas pesquisas sobre regiões específicas. Um estudo com populações ribeirinhas do rio Solimões e Japurá, no estado do Amazonas, mostrou uma taxa de prevalência na população geral de 21,1%. Outra pesquisa, na Amazônia brasileira, demonstrou uma prevalência de 36,6%

na população indígena local. Na região sudeste, um estudo na cidade de Botucatu, revelou uma prevalência de 8,12% (WANZELER *et al.* 2019).

Rocha e colaboradores, em 2012, identificaram as doenças oculares mais comumente identificadas no serviço de urgência do Centro de Referência em Oftalmologia (CEROF) em Goiânia - Goiás através de análise de prontuários de atendimentos realizados no período de abril de 2009 a março de 2010. Doenças da córnea, conjuntiva e esclera foram o principal grupo de patologias (71,63%) responsáveis pelos atendimentos de urgência. Dentre elas, pterígio e pingueculite foram uma frequente causa de procura ao oftalmologista na urgência (5,27%) (ROCHA *et al.*, 2012).

O pterígio é mais frequente em adultos jovens, porém raro antes dos 15 anos, e homens, mas alguns estudos mostram mesmas proporções entre os sexos ou mesmo mais prevalente em mulheres (SARKAR *et al.* 2020).

2.4 Tratamento

O crescimento do pterígio pode gerar perda visual devido ao astigmatismo induzido e opacificação do eixo visual. Além disso, causa irritação ocular, prurido, hiperemia ocular e sensação de corpo estranho. Na maioria dos casos, isso pode ser amenizado com o uso lubrificantes oculares, anti-inflamatórios tópicos – hormonais e não hormonais- e auxílios ópticos como óculos e lentes de contato (CLEARFIELD *et al.* 2019).

O tratamento cirúrgico é considerado quando ocorre redução da acuidade visual com envolvimento do eixo visual e astigmatismo importante ou inflamação e desconforto frequente não responsivo ao tratamento tópico. As técnicas cirúrgicas incluem exérese de pterígio com esclera nua, auto-enxerto de conjuntiva, transposição de enxerto conjuntival e enxerto com membrana amniótica (Nuzzi *et al.* 2018). Pode-se associar tais técnicas com tratamentos adjuvantes como uso de mitomicina C, 5-fluoracil, radiação, ciclosporina e injeção conjuntival de Anti – VEGF (Antivascular endothelial growth factor) (NUZZI *et al.* 2018).

A técnica de excisão do pterígio com esclera nua está associada a piores resultados, devido a maior taxa de recorrência (24-89%). Esta foi a primeira técnica criada para remoção do pterígio e é caracterizada pela simples excisão, permitindo que o leito escleral se reepitelize. Deve ser associada a tratamentos adjuvantes ou técnicas alternativas para cobertura completa do defeito conjuntival com auto-enxerto conjuntival ou transposição do enxerto conjuntival (SARKAR *et al.* 2020).

O auto-enxerto conjuntival foi descrito primeiramente em 1985 por Kenyon e colaboradores. Esta técnica envolve a realização de um auto-enxerto livre próximo à conjuntiva que será aplicada sobre o leito escleral exposto com a retirada do pterígio. Esse procedimento é associado a baixas taxas de recorrência comparado a técnica de esclera nua e com maior eficácia a longo prazo. Este é considerado o método mais efetivo para tratamento cirúrgico de pterígio, embora a taxa de recorrência varie entre os estudos (5,4% a 33%). Uma variante da técnica chamada “*pterygium extended removal followed by extended conjunctival transplantation*” (P.E.R.F.E.C.T.) foi conduzida na Austrália com um follow-up de mais de um ano e taxa de recorrência de 1,6% (SARKAR *et al.* 2020; NUZZI *et al.* 2018).

O auto-enxerto de conjuntiva, no entanto, apresenta algumas desvantagens no tratamento do pterígio. Demanda um longo tempo cirúrgico, especialmente na fixação de suturas. Estas podem ter deiscência no pós-operatório, gerando perda o enxerto, além de desconforto ocular. Outra desvantagem do método de auto-enxerto, é a impossibilidade de ser utilizada em paciente com insuficiência de conjuntiva, devido à escassez do tecido (NUZZI, 2018; CLEARFIELD, 2019).

O enxerto rotacional de conjuntiva é realizado desde a década de 1940 com diferentes taxas de recorrência. Comparado com auto-enxerto conjuntival, sua evolução é eficaz e seguro. As duas técnicas promovem baixas taxas de recorrência, sem complicações graves. Porém, o enxerto rotacional de conjuntival gera menos efeito torcional nos tecidos oculares e apresenta melhores resultados estéticos no pós-operatório recente e tardio quando comparado com enxerto conjuntival. O método de enxerto rotacional de conjuntiva possui limitações para recobrir grandes defeitos e sua técnica é de complexo aprendizado (NUZZI *et al.* 2018).

Outra técnica cirúrgica se trata do enxerto de membrana amniótica. Esta é a camada mais interna da placenta e apresenta espessa membrana basal e uma matriz estromal avascular. Pode ser utilizada como enxerto devido às propriedades anti-inflamatórias e anti-fibróticas, fornecendo vários fatores de crescimento e proliferação e diferenciação de células epiteliais. Reduz a inflamação, cicatrização e vascularização. A matriz do estroma tecidual é eficaz na supressão da expressão da TGF-beta (fator de crescimento de transformador beta) e da transformação de miofibroblastos no pterígio (NUZZI *et al.* 2018; SARKAR *et al.* 2020).

A membrana amniótica humana é útil em cirurgias oftalmológicas, incluindo pterígio e outras doenças da conjuntiva ocular. Deve ser inserida sobre a esclera nua, com a membrana basal voltada para cima e o estroma voltado para baixo. Cola biológica de fibrina pode auxiliar na fixação do enxerto sobre a esclera nua. Aplicação da membrana amniótica é considerada

segura e efetiva no tratamento cirúrgico de pterígio e mostra menos taxas de recorrência quando comparado com a técnica de esclera nua (NUZZI *et al.* 2018; SARKAR *et al.* 2020).

As taxas de recorrência com o método de enxerto de membrana amniótica entre os diferentes estudos podem variar de 3,8% a 40,9%. Quando comparado com enxerto conjuntival, a eficácia da membrana amniótica parece controversa, podendo ser reservada para pacientes com insuficiência de conjuntiva, histórico de cirurgia anti-glaucomatosa e grandes defeitos conjuntivais (NUZZI *et al.* 2018).

O tratamento cirúrgico de pterígio é desafiador devido a sua alta taxa de recorrência. Dessa forma, tratamentos adjuvantes foram desenvolvidos para redução da inflamação após a cirurgia. Dentre eles, pode-se citar o uso de mitomicina C, 5- fluororacil, radiação, ciclosporina A tópica e Anti-VEGF (antivascular endothelial growth factor) (ZHANG *et al.* 2018).

A mitomicina C é uma substância isolada do *Streptomyces caespitosus* que apresenta ação antibiótica e antineoplásica, além de inibir a proliferação de fibroblastos durante a cirurgia para reduzir a chance de recorrência. A mitomicina C é utilizada no tratamento adjuvante do pterígio desde o início dos anos 1960 (MARTINS TG, 2016). Estudos sugerem resultados positivos após aplicação intra-operatória de Mitomicina C na concentração de 0,02%. A recorrência após o uso da droga foi de 7% em pterígios primários e 9% nos pterígios recorrentes (NUZZI *et al.* 2018).

A associação da técnica cirúrgica de esclera nua com 5 minutos de mitomicina C a 0,02 promoveu a redução de 5% da taxa de recorrência. Pesquisas não mostram diferença estatística entre mitomicina C 0,02% por 5 dias ou no intra-operatório em diferentes dosagens quando combinado com enxerto conjuntival rotacional. O auto-enxerto conjuntival é associado à taxas significativamente mais baixas quando comparado com a excisão com mitomicina C intra-operatória (CLEARFIELD *et al.* 2019).

Atualmente, não há dados que apontam que a mitomicina C seja mais eficaz quando combinada com a cirurgia de auto-enxerto conjuntival. As complicações mais comuns com o uso de mitomicina C incluem fotofobia, irritação no pós-operatório, desconforto ocular e lacrimejamento, principalmente em doses mais baixas. Existem complicações graves que ocorrem mesmo após vários meses do tratamento inicial. Estes são: afinamento ou necrose escleral, catarata, simbléfaro, opacificação e úlcera corneana, defeitos conjuntivais e esclerais persistentes (NUZZI *et al.* 2018; CLEARFIELD *et al.* 2019).

A concentração de Mitomicina C mais comum utilizada é de 0,02% (0,2 mg/mL) e com o tempo de aplicação de 3 minutos. A maioria dos estudos sugere que o aumento da exposição da mitomicina C, seja através da dose e da duração, é associada a menor recorrência, porém

maiores riscos de complicações. Há necessidade de novos estudos a longo prazo para determinar a dosagem e a duração ideais para administração da mitomicina C (MARTINS TG, 2016; NUZZI *et al.* 2018).

O uso de radioterapia como tratamento adjuvante do pterígio é descrito desde 1912. Desde 1950, o material radioativo usado para o tratamento do pterígio por irradiação é o estrôncio. Este elemento emite raios beta, cuja energia diminui rapidamente à medida que penetram nos tecidos subjacentes, evitando danos à estruturas mais profundas (ENG *et al.* 2020; NUZZI *et al.* 2018).

Dados comprovam resultados positivos em casos de pós-operatórios imediatos de radioterapia de 25 Gy, em uma única fração, após exérese de pterígio com a técnica esclera nua. No entanto, não existem nenhum esquema unificado de radiação fracionada. Os efeitos colaterais da radiação podem ser autolimitados e são irritação ocular, atrofia escleral e neovascularização. Complicações tardas incluem escleromalacia grave e ulceração corneana, apresentando elevada toxicidade corneoescleral (ENG *et al.* 2020; NUZZI *et al.* 2018).

O 5-fluorouracil (5-FU) é um metabólico sintetizado pela primeira vez em 1957 e possui efeitos inibidores na proliferação das células epiteliais da córnea e fibroblastos localizados na conjuntiva e cápsula de Tenon. Eventos adversos discretos e temporários foram descritos após uso de 5-FU na cirurgia de pterígio. Dentre eles podemos citar: defeito epitelial corneano persistente e úlcera bacteriana de córnea (ENG *et al.* 2020; NUZZI *et al.* 2018).

Quando utilizado associado com a técnica da esclera nua, mostra taxas de recorrência de variam de 11,4% a 60,0%. Doses mais altas de 5-FU (50 mg/mL) levam a uma diminuição da recorrência em torno de 11%, porém sem vantagens estatisticamente significantes quando comparado ao auto-enxerto conjuntival isolado (ENG *et al.* 2020; NUZZI *et al.* 2018).

A ciclosporina A tópica é uma droga anti-inflamatória e imunossupressora que pode ser utilizada no pós-operatório da cirurgia para tratamento de pterígio. A substância parece suprimir seletivamente os linfócitos T, que podem produzir citocinas inflamatórias e mediadores (interleucinas-6 e 8). Além disso, também pode inibir a angiogênese desencadeada pelo VEGF (fator de crescimento endotelial vascular) (ZHANG *et al.* 2018).

A ciclosporina A é considerada uma substância adjuvante bem tolerada no tratamento do pterígio, embora seja contraindicada em casos de afinamento escleral e apresente altos custos. Há evidências limitadas quanto à eficácia da substância no tratamento da doença. Apenas pode-se sugerir que comparada à simples exérese de pterígio, a ciclosporina A é significativamente útil na redução das taxas de recorrência (ZHANG *et al.* 2018; NUZZI *et al.* 2018).

Não é possível afirmar que o uso adjuvante da ciclosporina A pode reduzir o risco de recorrência do pterígio em cirurgias de auto-enxerto conjuntival ou rotação do retalho de conjuntival. Dessa forma, são necessários novos estudos com amostras maiores e acompanhamentos mais prolongados (ZHANG *et al.* 2018; NUZZI *et al.* 2018).

Sabe-se que VEGF é expresso de forma mais intensa nos pterígios recorrentes e está relacionado com a angiogênese e neovascularização nesses casos. Estudos sugerem que a administração de agentes anti-VEGF no tratamento de pterígio é segura em geral, apresentando boa tolerabilidade. Algumas complicações são descritas como hemorragia subconjuntival e defeito epitelial persistente (HUANG *et al.* 2018).

A maioria dos estudos apontam que o anti-VEGF reduz de forma significativa a taxa de recorrência. Porém, novos estudos devem ser realizados para avaliar a ótima dosagem de anti-VEGF e real eficácia no tratamento do pterígio (HUANG *et al.* 2018; NUZZI *et al.* 2018).

2.5 Fatores de risco

Acredita-se que exposição a poeira, calor, inflamação, infecção da superfície ocular, residência rural, idade avançada, baixos níveis de educação e atividade ao ar livre são fatores de risco importante para desenvolvimento da doença oftalmológica do pterígio (CLEARFIELD *et al.* 2019; CÁRDENAS-CANTÚ *et al.* 2016).

Revzan e colaboradores mostram em seu estudo que o risco pterígio é 1,3 maior em homens do que em mulheres. A maioria dos estudos sugerem o sexo masculino como fator de risco, já outras pesquisas como fator protetor. A principal causa da divergência de risco de desenvolver a doença entre os sexos seriam diferenças no estilo de vida, como passar mais horas ao ar livre (REVZAN, 2018). Alguns estudos ocorreram em contextos de minorias étnicas do Oeste da China, em que a cultura é altamente matriarcal e as mulheres trabalhariam mais horas ao ar livre do que os homens, com agricultura, por exemplo. (ZHONG *et al.* 2016).

Pesquisas epidemiológicas indicam que existe um acréscimo da prevalência de doenças e condições oculares com a idade. A prevalência do pterígio aumenta com a idade de acordo com os estudos, podendo a 19,5% em indivíduos maiores de 80 anos (REVZAN *et al.* 2018).

Outro fator a ser analisado no desenvolvimento do pterígio seria o tabagismo. Estudos sugerem que a nicotina retarda a proliferação e migração das células dos pterígios humanos primários. Isso indica que o processo de cicatrização de feridas pelas células do pterígio é reduzido com exposição a nicotina e cotinina. *In vitro*, houve redução da expressão do epitélio

mesenquimal (EMT) e da proteína das metaloproteinases (MMP) após exposição a nicotina e cotinina. Assim, tais estudos mostram uma associação inversa entre tabagismo e incidência do pterígio (YANG *et al.* 2018).

Consumo de álcool também é um fator de risco relacionado a estilo de vida para desenvolvimento da doença ocular. De acordo com algumas pesquisas, o risco de pterígio é dez por cento maior em consumidores de álcool quando comparados com não consumidores. Na maioria dos estudos epidemiológicos realizados em diferentes partes do mundo, não houve diferença estatisticamente significativa entre exposição alcóolica e incidência de pterígio. No entanto, verifica-se que são aplicados vários critérios para definir o consumo de álcool e sua classificação em grupos consumidores e não consumidores. Portanto, torna-se necessários novos estudos de coorte e dose álcool dependente (REVZAN *et al.* 2018).

2.5.1 Exposição solar

A radiação ultravioleta (UV) é um importante fator de risco no desenvolvimento do pterígio. Ela pode ser dividida através da luz solar em três categorias: UVA, UVB e UVC (CÁRDENAS-CANTÚ *et al.* 2016).

A UVA apresenta maior comprimento de onda (320 a 400 nm) e máximo poder de penetração, portanto, não pode ser atenuado pela camada de ozônio. A UVA é considerada um significativo indutor de pigmentação e contribui para o envelhecimento prematuro da pele, imunossupressão e carcinogênese (CÁRDENAS-CANTÚ *et al.* 2016).

Já os UVBs possuem comprimento de onda de 280 a 320 nm e é absorvido pela camada de ozônio, sendo responsável por cerca de 1 a 10% da radiação ultravioleta total que atinge a superfície da Terra. Também pode causar queimaduras solares, imunossupressão e carcinogênese (SARKAR *et al.* 2020).

Por sua vez, a UVC apresenta comprimento de onda entre 200 e 280 nm e maior energia entre as três categorias de radiação ultravioleta, mostrando fortes propriedades mutagênicas. Felizmente, é quase totalmente absorvido pela camada de ozônio (SARKAR *et al.* 2020).

A exposição à luz UVB é descrita como principal fator causal para o desenvolvimento do pterígio. Esse tipo de radiação altera células e tecidos através de efeitos fototóxicos diretos ao DNA celular e geração de espécies reativas de oxigênio. Esse estresse oxidativo gera aumento da geração de mediadores potenciais de crescimento do pterígio (REVZAN *et al.* 2018).

Estudos mostram que, considerando a exposição solar ocupacional, o pterígio é uma doença ocular frequente em trabalhadores ao ar livre (externos) expostos à radiação solar ocupacional por muitas horas durante o dia por muitos anos. Foi constatado que a exposição ocupacional está associada também a gravidade da doença, principalmente mais de cinco horas por dia. Além disso, o pterígio foi especificamente associado à duração do emprego (MODENESE *et al.* 2017).

Devido ao impacto importante da exposição da luz solar ao desenvolvimento do pterígio, é necessário educar a população em risco a se proteger desse fator de risco. O uso de óculos escuros e chapéus de abas largas ofereceram associação negativa com o desenvolvimento de pterígio. Alguns estudos sugerem redução de 53% comparando usuários regulares e não regulares de óculos escuros (MODENESE *et al.* 2017).

2.5.2 Infecções virais

A técnica de reação da cadeia da polimerase (PCR) permitiu o envolvimento de infecções virais no processo de patogênese do pterígio. Foram constatados em estudos a presença do vírus do herpes simples e papiloma vírus humano (HPV) em amostras de pterígio (CHALKIA *et al.* 2019; SARKAR *et al.* 2020).

O HPV foi identificado em várias lesões da superfície ocular. Uma forte associação entre os subtipos 6 e 11 do HPV e papiloma conjuntival já foi estabelecido. Os vírus codificam proteínas que inativam a p53, levando à instabilidade cromossômica e a probabilidade de progressão celular para malignidade (CHALKIA *et al.* 2019; CÁRDENAS-CANTÚ *et al.* 2016).

Um estudo realizado em Goiânia, Goiás (Rodrigues *et al.* 2008), o HPV foi detectado em tecidos conjuntivais e pterígio. O DNA do HPV tipos 1 e 2 foram encontrados no grupo do pterígio e 16 no grupo controle, o que sugere que podem estar relacionados com a patogênese dessas lesões (RODRIGUES *et al.* 2008).

O HPV é frequentemente encontrado no pterígio, com taxas de prevalência variáveis. Sugere-se que funciona como cofator para patogênese do pterígio, mas ainda há controvérsias. Se HPV fosse comprovadamente envolvido na patogênese e recorrência do pterígio, medicações antivirais ou vacinação poderiam ser empregadas no tratamento da doença ocular (CHALKIA *et al.* 2019).

2.5.3 Mecanismos moleculares

Várias pesquisas propõem possíveis mecanismos de desenvolvimento do pterígio, dentre eles temos: estresse oxidativo, moduladores da matriz extracelular, proteínas apoptóticas e oncogênicas, metilação do DNA, mediadores inflamatórios, linfangiogênese, transição de células epiteliais mesenquimais e alterações do metabolismo do colesterol (SARKAR *et al.* 2020; CÁRDENAS-CANTÚ *et al.* 2016).

Esses estudos indicam evidências de que várias moléculas estão relacionadas à proliferação, inflamação, angiogênese e fibrose. Elas são: metaloproteinases de matriz (MMPS), fatores de crescimento e interleucinas (ILS) (CÁRDENAS-CANTÚ *et al.* 2016).

2.5.4 Genes supressores de tumores

Os genes supressores de tumores impedem a transformação de células em cancerígenas e regulam o crescimento celular juntamente com os proto-oncogenes. O p53 foi um dos genes supressores de tumores que foi bastante estudado ao longo dos anos (SARKAR *et al.* 2020).

Pesquisas apontam que mais de 20% de amostras de pterígio foram positivas para expressão p53. Já outro estudo chegou a encontrar 54% das amostras de pterígio positivas para expressão aberrante de p53. Dessa forma, sugere-se que a expressão aberrante desse gene promova proliferação celular e diminua a apoptose, acelerando a formação do pterígio. (CÁRDENAS-CANTÚ *et al.* 2016).

Além do p53, outros genes supressores de tumor estão possivelmente envolvidos no desenvolvimento no pterígio, tais como p63, p16 e p27. O p63 é expresso nas camadas basais e parabasais no pterígio primário e no epitélio do pterígio recorrente. Tanto o p63 quanto o p16 parecem estar raramente expressos na conjuntiva normal (WANZELER *et al.* 2019).

2.5.5 Fator de crescimento

O fator de crescimento é definido como uma substância natural responsável por estimular o crescimento, proliferação e diferenciação celular. São importantes na regulação de vários processos celulares, como mitose. Sabe-se que vários fatores de crescimento têm um papel na patogênese do pterígio, tais como: fator de crescimento endotelial vascular (VEFG), fator de crescimento beta (TGFbeta), fator de crescimento básico de fibroblasto (bFGF), fator

de crescimento nervoso e fator de crescimento do tecido conjuntivo (CTGF) (FENG *et al.* 2017).

O aumento da expressão do VEGF leva a angiogênese e linfangiogênese, que pode influenciar o metabolismo normal das células conjuntivais e promover o crescimento vascular. Estudos apontam níveis mais altos de VEGF quando comparado à conjuntiva normal. O TGF beta regula vários processos comuns ao reparo e à doença tecidual, incluindo proliferação de fibroblastos, angiogênese, síntese e degradação de proteínas da matriz extracelular. Pesquisas mostram que TGF beta 1 e 2 estão associados positivamente ao pterígio, enquanto o receptor de crescimento de transformação 1 e 2 (TGFRbeta1, beta2) foram associados negativamente (FENG *et al.* 2017; WANZELER *et al.* 2019).

2.5.6 Interleucinas (IL)

As ILs são um grupo de citocinas e proteínas secretadas pelos glóbulos brancos (leucócitos). Estas desempenham fundamental papel na inflamação, parecendo estar intimamente relacionadas ao pterígio (FENG *et al.* 2017; CÁRDENAS-CANTÚ *et al.* 2016).

Já foi detectada por imunofluorescência no epitélio conjuntival normal e no pterígio primário a expressão de proteínas precursoras de IL1alfa, IL1beta, ILbeta RA e IL1beta. Porém, níveis aumentados de proteínas da família IL1 estavam presentes apenas as amostras de pterígio. Da mesma forma, a IL1alfa foi altamente expressa nos pterígios primários e nos pterígios recorrentes (FENG *et al.* 2017; CÁRDENAS-CANTÚ *et al.* 2016).

O IL-6 e IL-8 foram fortemente expressas no epitélio do pterígios em comparação com a córnea, conjuntiva e limbo normais. Além disso, quando os pterígio foram tratados com UVB, as taxas de proteínas IL-6 e IL-8 foram significativamente elevadas. Isso sugere que o UVB poderia induzir a secreção de tais interleucinas. Estudos apontam expressão aumentada da IL-10 no pterígio quando comparado com a conjuntiva normal (FENG *et al.* 2017; CÁRDENAS-CANTÚ *et al.* 2016).

2.5.7 Proteínas relacionadas a apoptose

Survivina é uma proteína codificada pelo gene BIRC5 em humanos. Este é um membro da família de genes inibidores da apoptose e é expresso no epitélio do pterígio. A regulação da survivina parece estar associada à proteína p53, embora não haja consenso sobre os seus mecanismos moleculares. Acredita-se que o estresse oxidativo é causado pela ativação

da survivina, gerando crescimento do pterígio. Além disso, demonstrou-se que a survivina é altamente expressa em todos os tecidos do pterígio, porém não foi encontrada na conjuntiva humana normal. Está relacionada à COX-2 no pterígio primário, o que sugere um mecanismo anti-apoptótico (FENG *et al.* 2017)

O BCL-2 é membro fundador da família BCL-2 de proteínas reguladoras de apoptose, que podem induzir ou inibir a apoptose. É codificada pelo gene BCL-2 em humanos. Sua expressão foi observada na camada epitelial basal de todas as células do pterígio, enquanto na conjuntiva normal não houve sua evidência (FENG *et al.* 2017).

Os micro-RNA (miR122) são um grupo de RNAs endógenos e pequenos (20 a 25 nt) não codificadores, e proporciona importante papel na repressão pós-transcricional da expressão de proteínas através da ligação à região 3' não traduzida dos transcritos de RNA mensageiros para induzir degradação do RNA mensageiros ou a inibição da tradução de RNA mensageiros alvo (CUI *et al.* 2016).

A redução da expressão de miR122 no pterígio pode gerar anormalidades da apoptose celular devido à sua regulação da expressão de Bcl-w, também gene da família Bcl-2, anti-apoptótico, e conseqüentemente contribui para desenvolvimento do pterígio (FENG *et al.* 2017).

O complexo de rapamicina (mTORC1) é um regulador central do crescimento celular, proliferação, síntese, autofagia e transcrição. Ativa a tradução de proteínas e regula negativamente o receptor 3 do fator de crescimento de fibroblastos (FGFR3) através da inibição de p73, estimulando, portanto, a proliferação celular no pterígio (FENG *et al.* 2017).

Dessa forma, acredita-se que a sinalização do mTORC1 é altamente ativada no pterígio e fornece novas vias para a sua patogênese e progressão (FENG *et al.* 2017).

2.5.8 Moléculas de adesão celular

As moléculas de adesão celular exercem um papel enorme em fenômenos fisiológicos e patológicos. Tais proteínas estão localizadas na superfície celular e estão relacionadas na ligação celular e outras matrizes extracelulares associadas à adesão celular, incluindo selectina e integrina (FENG *et al.* 2017; CÁRDENAS-CANTÚ *et al.* 2016).

A expressão da molécula de adesão intercelular1 (ICAM1) está presente no pterígio e ausente no epitélio de uma conjuntiva normal. Além disso, a ecaderina e betacatenina foram encontradas de forma concentrada no tecido do pterígio e estão possivelmente envolvidas na proliferação e adesão epitelial (FENG *et al.* 2017; WANZELER *et al.* 2019).

2.5.9 Proteínas relacionadas à proliferação

As proteínas relacionadas à proliferação desempenham um papel fundamental no ciclo celular. Dentre elas podemos citar: ki67, ciclina d1 e antígeno de proliferação nuclear (FENG *et al.* 2017; CÁRDENAS-CANTÚ *et al.* 2016).

O Ki67 é um marcador expressivo para proliferação celular. Sua expressão anormal foi encontrada em amostras de pterígio quando comparada a conjuntiva normal. Já o antígeno nuclear de célula proliferativa (PCNA) é uma proteína nuclear necessária para síntese de DNA e sua expressão pode ser utilizada como marcador de proliferação celular. Sua expressão foi significativamente maior no pterígio do que na conjuntiva normal (FENG *et al.* 2017; CÁRDENAS-CANTÚ *et al.* 2016).

A ciclina D1 é um gene bem conhecido de controle do ciclo celular e promove sua progressão. Estudos demonstraram que o PCNA e ciclina D1 estão exacerbadamente expressos na parte limbal das células epiteliais do pterígio quando comparadas com células normais. A expressão da proteína ciclina d1 foi significativamente maior nos pterígios carnosos do que nos atróficos (FENG *et al.* 2017; CÁRDENAS-CANTÚ *et al.* 2016).

2.5.10 Proteínas de choque térmico (HSP)

As proteínas de choque térmico são uma família de proteínas produzidas pelas células em resposta às condições estressantes. Foram descritas primeiramente em relação ao choque térmico, porém recentemente são conhecidas por serem expressas durante outras tensões, tais como exposições às temperaturas baixas, luz ultravioleta e durante cicatrização de feridas ou remodelação de tecidos (FENG *et al.* 2017; CÁRDENAS-CANTÚ *et al.* 2016).

A expressão de HPS, isto é, HPS 27, HPS 70 e HPS 90 e o fator-1 alfa hipóxia induzível (hif1alfa) está aumentados no pterígio (FENG *et al.* 2017; WANZELER *et al.* 2019). A expressão do HSP27 também foi detectada no epitélio, endotélio e músculos lisos vasculares do pterígio e apenas no epitélio da conjuntiva normal. Acredita-se que as alterações nos níveis de HIF-1-alfa e HSP no pterígio representem um processo adaptativo para a sobrevivência celular em condições estressantes (WANZELER *et al.* 2019).

2.5.11 Proteínas *tight junction*

As proteínas *tight junction* representam uma forma de adesão célula-célula nas células epiteliais ou endoteliais, formando selos contínuos ao redor das células e também atuam como barreira física para impedir que solutos e água passem livremente pelo espaço celular (FENG *et al.* 2017; CÁRDENAS-CANTÚ *et al.* 2016).

As proteínas da família Claudin são uma parte relevante dessa barreira funcional e estrutural e desregulação de sua expressão pode resultar em várias doenças, incluindo o câncer. São proteínas indispensáveis para formação e manutenção das *tight junctions* (CÁRDENAS-CANTÚ *et al.* 2016; WANZELER *et al.* 2019).

Na córnea e na conjuntiva normais, a claudin1 e claudin4 foram encontradas imunohistoquimicamente. Nas amostras de epitélio da conjuntiva, uma forte expressão imunohistoquímica da claudin1 foi encontrada, no entanto, sua expressão nas amostras de pterígio foi baixa. Dessa forma, a diminuição significativa da expressão da claudin1 no pterígio em comparação a conjuntiva normal parece estar envolvida na patogênese do pterígio (FENG *et al.* 2017; CÁRDENAS-CANTÚ *et al.* 2016).

2.5.12 Proteínas da matriz extracelular

A matriz extracelular é uma coleção de moléculas extracelulares secretadas por células de suporte que fornecem suporte estrutural e bioquímico às células circundantes (FENG *et al.* 2017; CÁRDENAS-CANTÚ *et al.* 2016).

Demonstrou-se que a expressão aberrante das proteínas da matriz extracelular possa estar diretamente associada ao crescimento proliferativo do pterígio, porque é um tecido fibrovascular caracterizado por uma deposição excessiva da matriz extracelular e crescimento vascular (FENG *et al.* 2017; CÁRDENAS-CANTÚ *et al.* 2016).

As proteínas da matriz extracelular contêm queratina, elastina, colágeno, fibrina, entre outros. As amostras de pterígio exibiram um nível mais alto de RNA mensageiro e expressão de topoelastina do que o tecido conjuntival normal (FENG *et al.* 2017; CÁRDENAS-CANTÚ *et al.* 2016).

Por sua vez, a expressão do colágeno tipo II foi positiva apenas no pterígio, enquanto os colágenos tipos I, III e IV foram detectados no pterígio e na conjuntiva normal (FENG *et al.* 2017; WANZELER *et al.* 2019).

2.5.13 Matriz metaloproteinase (MMP) e inibidores teciduais de metaloproteinases

As metaloproteinases da matriz (MMPs) hidrolisam os componentes da matriz extracelular. Essas proteinases desempenham papel central em vários processos biológicas como embriogênese, remodelamento normal de tecidos, cicatrização de feridas, angiogênese e em doenças como ateroma, artrite, câncer e ulceração tecidual (FENG *et al.* 2017; KIM *et al.* 2017).

As MMPs são uma família multigênica de mais de 25 enzimas que processam ou degradam várias matrizes extracelulares. Podem ser divididas em 5 subgrupos baseados no substrato de preferência: colagenases (mmp1, mmp8, mmp13), gelatinases (mmp2, mmp9), estromelinas (mmp3, mmp10), membrana-associados a mmps (mt1mmp, mt2-mmp) e outros (mmp12, mmp19, mmp20) (HU *et al.* 2018; KIM *et al.* 2017).

Os inibidores de metaloproteinases (TIMPs) se ligam nos tecidos e impedem as atividades da maioria das MMPs. A MMP1, MMP2, MMP3, TIMP1 e TIMP3 foram detectados em maiores quantidades nos tecidos do pterígio, células epiteliais e fibroblastos quando comparados à conjuntiva normal. A quebra de equilíbrio entre mmp e os timps podem ser considerados responsáveis pela progressão ou recorrência do pterígio (FENG *et al.* 2017; KIM *et al.* 2017).

Hu et al realizou um estudo da associação da análise dos genótipos do MMP-8 799C/T, Val436Ala e Lys460Thr para o risco de pterígio. Não houve diferença estatisticamente significativa para a distribuição das frequências alélicas entre o grupo do pterígio e o controle para MMP-8 799C/T e Lys460Thr. Além disso, não houve associação entre os genótipos MMP-8 val436ala e lys460thr e o aumento do risco do pterígio (HU *et al.* 2018).

2.5.14 Glutathione S-transferase (GSTs)

A glutathione é um dos antioxidantes celulares mais importantes do ciclo celular. É conjugada a espécies eletrofílicas reativas pelas enzimas glutathione S-transferase (GSTs). Desempenham um papel crucial na detoxificação celular de produtos químicos tóxicos, incluindo agentes cancerígenos químicos e produtos do estresse oxidativo da conjugação da glutathione a várias substâncias eletrofílicas (KARADAG *et al.* 2016).

Os GSTs reduzem a atividade de hidroperóxido lipídico e desintoxicam dos produtos finais da peroxidação lipídica. As classes mais bem caracterizadas foram denominadas alfa, ômega, mu (GSTM), kappa, pi (GSTP) e theta (GSTT) (KARADAG *et al.* 2016).

Vários estudos mostram relação entre as isoenzimas de GST e sua relação com distúrbios da retina, catarata e glaucoma. Todavia, há poucas pesquisas sobre as isoenzimas de gst no tecido do pterígio (KARADAG *et al.* 2016).

Estudos sugerem aumento significativo da expressão do GSTP1 e GSTT1 no pterígio. Isso pode indicar uma resposta compensatória à formação excessiva de radicais livres da exposição aos raios ultravioleta para manter a capacidade antioxidante no pterígio. Tais achados podem significar que o pterígio se trata de uma condição de estresse oxidativo (KARADAG *et al.* 2016; de PR JUNIOR *et al.* 2015).

O locus da família m (GSTM) está localizado no cromossomo 1 (1p13.3). São três alelos GSTM1 (0), GSTM1(A) e GSTM1(B). GSTM1(0) corresponde a uma deleção e homocigoto não expressa nem RNAm nem proteína correspondente. Por sua vez, o GSTM1 0/0 é chamado GSTM-polimorfismo nulo. Os alelos GSTM1(a) e (b) codificam monômeros que formam enzimas homo e heterodiméricas (KARADAG *et al.* 2016, De PR JUNIOR *et al.* 2015).

As classes mu (GSTM1) e theta (GSTT1) são genes polimórficos e homocigóticos em 50 e 24% das diferenças populações étnicas respectivamente. Participam da desativação de agentes oxidantes envolvidos nos processos celulares de inflamação, envelhecimento e doenças degenerativas (KARADAG *et al.* 2016, De PR JUNIOR *et al.* 2015).

O genótipo GSTM1-nulo é associado ao aumento da susceptibilidade do desenvolvimento de pterígio na idade jovem, mas houve associação para doença de início tardio. Apresentam maior inflamação após exposição à radiação solar e maior risco de câncer de pele (KARADAG *et al.* 2016, De PR JUNIOR *et al.* 2015).

Um estudo realizado em Goiânia, Goiás (De PR JUNIOR *et al.* 2015) analisou a associação entre polimorfismo em GSTM1 e formação de pterígio, colhendo amostras de sangue periférico de 90 pacientes com diagnóstico de pterígio e 23 pacientes sem a doença. Sugere-se uma diferença significativa entre a frequência do genótipo GSTM1 nulo nos grupos pacientes e no controle. No entanto, a análise do subgrupo descobriu que o genótipo GSTM1 nulo foi estatisticamente significativo e, homens e caucasianos, mas isso não foi observado em mulheres e pardos ou negros. Além disso, o genótipo gstm1 nulo não foi relacionado a nenhum dos fatores de risco analisados: casos na família, exposição ocupacional, tabagismo, hipertensão e diabetes (KARADAG *et al.* 2016, De PR JUNIOR *et al.* 2015).

2.5.15 Citocromo P450 (CPYs)

O citocromo P450 são uma superfamília de enzimas localizadas na membrana interna de mitocôndrias ou na membrana do retículo endoplasmático de células eucarióticas (JARRAR *et al.* 2019). Encontradas na maioria dos tecidos do corpo humano e estão relacionadas com metabolismo de compostos tóxicos potenciais, incluindo drogas, síntese e degradação de hormônios, síntese de vitamina D e colesterol (CHEN *et al.* 2018; DONG *et al.* 2015).

Enzimas individuais dentro da superfamília do citocromo P450 são categorizadas por semelhanças na sequência de aminoácidos. Cada enzima é nomeada de acordo com um número de família, uma letra de subfamília, um número de enzima individual e um asterisco seguido por um número para cada variante alélica (CHEN *et al.* 2018; DONG *et al.* 2015).

Existem 57 proteínas CYP codificadas no genoma humano e são responsáveis pelo metabolismo de numerosos compostos endógenos e exógenos. Os CYPs oxidam principalmente esses compostos para gerar mais metabólitos hidrofílicos, aumentando sua excreção fora do corpo, desempenhando um importante papel na desintoxicação de produtos químicos (JARRAR *et al.* 2019).

Geralmente, as famílias CYP 1, 2 e 3 incluem as principais enzimas que metabolizam xenobióticos. Já as enzimas CYP4 estão envolvidas no metabolismo dos ácidos graxos, como suas estreitas ligações com doenças genéticas. Também são responsáveis pela eliminação do excesso de gordura livre do organismo, bem como síntese de níveis adequados de moléculas de ácidos graxos bioativos (JARRAR *et al.* 2019).

As enzimas da família do citocromo P450 (CYP4) estão associados com inflamação (variante do gene CYP4F3B), barreira cutânea (variante do gene CYP4F22), função ocular (variante do gene CYP4V2) e saúde cardiovascular (variante CYP4A11) e câncer (variante do gene CYP4B1 e CYP4Z1) (JARRAR *et al.* 2019).

Estudos indicam que as enzimas CYP3A4, CYP3A5 e CYP2C8 entre outras enzimas CYP apresentam uma expressão aumentada em tecidos malignos e não malignos da mama, próstata, pulmão, endométrio e ovários (EIJK *et al.* 2019)

Suzuki e colaboradores (2019) estudaram a atividade de CYP3A5 em pacientes com insuficiência renal. Sabe-se que compostos como Sulfato de indoxila, hormônio da paratireóide (PTH), interleucina-6 (IL-6) e fator de necrose tumoral alfa (TNF- α) causam redução da atividade da CYP3A em pacientes com insuficiência renal (fenoconversão). Foram analisados o polimorfismo de CYP3A5 em 63 pacientes japoneses receptores de transplante renal bem como as concentrações plasmáticas de 4 β -hidroxicolesterol, indoxil sulfato, PTH intacto, IL6 e TNF- α . Concluiu-se que a maior concentração plasmática de indoxil sulfato pode estar envolvida na Fenoconversão CYP3A. O ajuste da dose dos medicamentos metabolizados pelo

CYP3A pode ser necessário em pacientes com alelo CYP3A5 * 1 e indoxil sulfato em concentrações sanguíneas altas.

Chen e colaboradores (2017) avaliaram os polimorfismos dos genes CYP2D6 * 10 e CYP3A5 * 3 e a eficácia do tratamento com etanercepte para pacientes com Espondilite anquilosante (EA). O inibidor do fator de necrose tumoral alfa (TNF- α), etanercepte, provou ser eficaz no tratamento de espondilite anquilosante (EA), enquanto o polimorfismo genético pode afetar o metabolismo da droga ou o receptor da droga, resultando em interindividual variabilidade na distribuição e eficácia do medicamento. Foram avaliados 312 pacientes com EA. Analisou-se seus polimorfismos genéticos para os genes citados e sua resposta clínica com uso de etanercepte. O estudo indicou que o genótipo CC de CYP2D6*10 polimorfismo e genótipo de CYP3A5*3*3 estão correlacionados com a eficácia do tratamento com etanercepte para pacientes com EA.

Uma mutação pontual de timina/citosina no sítio de restrição MSP I do citocromo P450 1A1 (CYP1A1) está relacionado à susceptibilidade a cânceres relacionados ao tabagismo, e alguns casos, ao aumento da atividade enzimática. Estudos apontam que a expressão CYP1A1 no pterígio se correlaciona com a variação alélica e pode ser usada como um marcador de risco independente (PENG *et al.* 2012).

Pesquisas mostram níveis de RNA mensageiro de CYP4B1 duas vezes maiores em amostras de pterígio do que nos casos controles. Também foram encontrados níveis pró-inflamatórios de lipoxigenases e 15- ácido hidroxieicosatetraenóico (HETE) derivados de CYP4B1 dez vezes maiores no pterígio quando comparados com o grupo controle (FOX *et al.* 2013).

2.5.15.1 O gene CYP3A5

Pelo menos 57 genes que codificam proteínas do citocromo P450 e 58 pseudogenes foram identificados até agora. Entre esses, CYP2C9, CYP2C19, CYP2D6 e os genes CYP3A5 são altamente polimórficos e é responsável por cerca de 40% do metabolismo dos medicamentos de uso clínico. Muitas variações nos genes CYP causam mudanças na função ou nível de expressão de suas enzimas codificadoras correspondentes, resultando em graves efeitos adversos ou resistência à terapia (CHEN *et al.* 2018; DONG *et al.* 2015).

De acordo com a atividade catalítica das enzimas CYP codificado por genes CYP do portador, o fenótipo pode ser classificado em categorias: metabolizador fraco (PM), metabolizador intermediário (IM), extenso metabolizador (EM) ou metabolizador ultrarrápido

(UM) fenótipo, que só existe em portadores de genes CYP2D6 ativos duplicados ou multiduplicados (CHEN *et al.* 2018).

Portanto, as dosagens de medicamentos devem ser adaptadas a essas classes genotípico-fenotípicas para aumentar a eficácia do medicamento e reduzir efeitos adversos, especialmente para as drogas com um estreito (DONG *et al.* 2015).

CYP3A é um dos muitos citocromos P450, uma superfamília de proteínas que desempenha um papel significativo no metabolismo de milhares de substâncias exógenas e endógenas (DONG *et al.* 2015).

A subfamília CYP3A é especialmente importante nesta última função, uma vez que cerca de metade de todos os medicamentos comercializados sofre metabolismo por meio dessas enzimas.¹⁰ Em humanos, quatro isoenzimas CYP3A diferentes foram identificadas: CYP3A4, CYP3A5, CYP3A7 e CYP3A43.¹¹ Em adultos, a isoenzima dominante é o CYP3A4, que se expressa no intestino e no fígado (CHEN *et al.* 2018;).

O CYP3A5 também está presente nesses tecidos, mas, além disso, também está presente na próstata e nos rins. O CYP3A7 predomina em neonatos, mas torna-se regulado para baixo logo após o nascimento. Seu papel como isoenzima metabolizadora de drogas é considerado insignificante em adultos. O CYP3A43 é menos estudado e muito pouco se sabe sobre suas funções (CHEN *et al.* 2018).

3 OBJETIVOS

3.1 Objetivo geral:

Avaliar o polimorfismo do gene CYP3A5 em amostras de pacientes submetidos à cirurgia para excisão de pterígio na Fundação Banco de Olhos de Goiás.

3.2 Objetivos específicos:

- Analisar o polimorfismo do gene CYP3A5 nas amostras de pterígio.
- Verificar qual o genótipo mais frequente relacionado ao Pterígio na população estudada.
- Verificar possíveis associações entre os genótipos CYP3A5 e os fatores de risco para a doença: sexo, etnia, casos na família, exposição ocupacional e fumo.

4 MATERIAIS E MÉTODOS

4.1 Casuística

Houve a coleta de 18 amostras, 10 ml de sangue periférico em seringa heparinizada, de pacientes portadores de pterígio e, posteriormente foi realizada análise molecular para o polimorfismo de gene CYP3A5.

As amostras de sangue periférico foram coletadas no Hospital do Banco de Olhos de Goiás em Goiânia- Goiás; e a análise genética molecular foi realizada no Núcleo de Pesquisas Replicon-PUC-Goiás. Todos os pacientes responderam a um questionário (Anexo I) com dados relativos a nome, sexo, etnia, profissão, hábito de fumar e o hábito de ingerir bebida alcoólica, bem como assinaram o Termo de Consentimento Livre Esclarecido (Anexo II).

Em início de 2020, iniciou-se no Brasil a epidemia de SARS-COVID-19. Em março de 2020, foram adotadas no país e no mundo medidas de isolamento social e *lock-down*, sendo realizada a interrupção de atividades presenciais de faculdades e consultas e cirurgias eletivas. O laboratório de genética da Mgene, da mesma forma, apresentou fechamento por quase todo ano de 2020. Infelizmente, devido a essa conjuntura, não foi possível obter novas amostras de pacientes com pterígio e conseqüentemente, novas análises moleculares para ampliação do n da pesquisa. Para cumprimento dos prazos da defesa dissertação, foram avaliadas apenas 18 amostras.

4.2 Análise molecular

A partir das amostras de sangue periférico coletadas, a extração do DNA foi realizada a partir das instruções do kit Kaswi (Genomic DNA Purification Kit), no Laboratório do Núcleo de Pesquisas Replicon da PUC Goiás.

Foi realizada a quantificação no espectrofotômetro NanoVue™ Plus de acordo com as instruções do fabricante, tendo relevância apenas as amostras cujo resultado da quantificação em relação a concentração de DNA foi superior a 5 ng/ul.

O DNA foi mantido à temperatura de -20 graus Celsius até a amplificação pelo método de Reação em Cadeira de Polimerase (PCR).

Após a extração do DNA, as amostras foram submetidas à amplificação por Reação em Cadeia da Polimerase (*Polymerase Chain Reaction* – PCR) para detectar o polimorfismo do

gene CYP3A5, em capela de fluxo laminar buscando a minimização da contaminação, sendo o volume final de 25 uL, de acordo com o protocolo proposto por Frare (2011).

A reação de cada amostra foi em duplicada, uma parte para amplificar o alelo do tipo *1(selvagem) e outra para amplificar o alelo *3 (mutante). O primer *forward* foi mantido comum para ambos os genes e dois primers reversos para permitir amplificação seletiva dos alelos.

Tabela 1 - Sequência nucleotídica dos primers

	Forward primer: 5'CACTTGATGATTTACCTGCCTTC 3'	
CYP3A5*1	Reverse primer wild-type: 5' GGTCCAAACAGGGAAGAGATAT 3'	218 pb
CYP3A5*3	Reverse primer mutante: 5' GGTCCAAACAGGGAAGAGATAC 3'	

Fonte: (ASHAVAID *et al.* 2010).

A PCR para o gene CYP3A5*1 e CYP3A5*3 foi realizada com a concentração de 1,5mM de cloreto de magnésio, 1,25 U/uL de cada desoxinucleotídeo trifosfato, 2,5 U/uL de Taq polimerase, 20 pMol de primer e aproximadamente 200 ng/uL de DNA genômico.

Para o protocolo de termociclagem do gene CYP3A5*1 e CYP3A5*3 utilizou-se 95°C por 5 minutos na primeira etapa de desnaturação; seguido de 95°C por 5 minutos na primeira etapa de desnaturação, seguido de 30 ciclos de 95°C por 1 minuto e 58°C por 1 minuto e 72°C por 1 minuto; e uma extensão final a 72°C por 10 minutos.

Os produtos da PCR foram submetidos à eletroforese em gel de agarose a 1,5%. Em solução Tris-borato de ETDA (TBE) a 1 X, em campo elétrico de 10 V/cm.

Os géis foram corados com brometo de etídio (5mg/mL), posteriormente visualizados no Sistema de Vídeo Documentação Gel DocTMXR + System.

Tabela 2 - Protocolo para amplificação do alelo selvagem CYP3A5*1 para a PCR.

REAGENTES	CONCENTRAÇÃO UTILIZADA	VOLUME PARA 1 AMOSTRA
-----------	---------------------------	-----------------------

Tampão (10X)	1X	2,5 uL
MgCl ₂	1,5 Mm	2,5 uL
dNTPs	1,25 mM de cada	0,75 ul de cada = 3,0 uL
Taq polimerase 5U/ul	2,5 U/uL	0,3 uL
Primer forward	20 pM	0,5 uL
Primer reverse wild-type	20 pM	0,5 uL
Hso Mili Q	-	11,7 uL
DNA amostra	200 ng/ul	4,0 uL

Volume final 25,0 uL

Fonte: (ASHAVAID *et al.* 2010).

Tabela 3 - Protocolo para amplificação do alelo selvagem CYP3A5*3 (mutante) para a PCR.

REAGENTES	CONCENTRAÇÃO UTILIZADA	VOLUME PARA 1 AMOSTRA
Tampão (10X)	1X	2,5 uL
MgCl ₂	1,5 Mm	2,5 uL
dNTPs	1,25 mM de cada	0,75 ul de cada = 3,0 uL
Taq polimerase 5U/ul	2,5 U/uL	0,3 uL
Primer forward	20 pM	0,5 uL
Primer reverse wild-type	20 pM	0,5 uL
Hso Mili Q	-	11,7 uL
DNA amostra	200 ng/ul	4,0 uL

Volume final 25,0 uL

Fonte: (ASHAVAID *et al.* 2010).

Tabela 4 - Protocolo de termociclagem para amplificação dos primer CYP3A*1 e *3 para técnica de PCR

	Temperatura (°C)	Tempo (minutos)	Ciclos
Desnaturação	95°C	5	1
Desnaturação	95°C		
Anelamento	58°C	1	30
Polimerização	72°C		
Extensão final	72°C	10	1

Armazenamento	4°C	∞	-
---------------	-----	---	---

Fonte: (ASHAVAID *et al.* 2010).

4.3 Análises Estatísticas

Os dados do polimorfismo do gene *CYP3A5**3 foram tabulados em planilhas do software Excel® (2003). Posteriormente, o teste de G foi utilizado para verificação de possíveis associações entre a análise molecular do polimorfismo e a doença ocular pterígio. O programa BioEstat® 5,3 (Sociedade Civil Mamirauá / MCT-CNPq) foi utilizado para realização dos testes.

RESULTADOS

Foram analisadas 18 amostras de sangue periférico de pacientes portadores de pterígio. Destes, 61,1% (11/18) eram do sexo feminino e 38,8% (7/18) do sexo masculino.

O polimorfismo do gene *CPY3A5* foi objeto de análise. Os genótipos *CPY3A5**1/*1 (selvagem), *CPY3A5**3/*3 (mutante) e *CPY3A5**1/*3 (*heterozigoto*) foram analisados nas amostras coletadas. Na maioria dos pacientes foi encontrado o genótipo heterozigoto (*1/*3), ou seja, 66% das amostras (ou 12/18). O genótipo *CPY3A5**1/*1 (selvagem) estava presente em 4 das amostras, o que equivale a 22% do total. Já o genótipo *CPY3A5**3/*3 (mutante) estava presente em 2 pacientes apenas (11% do total) (tabela 1).

Tabela 1 – Presença genotípica do polimorfismo do gene *CYP3A5* no grupo caso

	*1/*1		*1/*3		*3/*3		Total		*p
	n	%	n	%	n	%	n	%	
Caso	4	22,2%	12	66,76%	2	11,1%	18	100%	0,0094

*teste qui-quadrado

Na tabela 2, pode-se observar a frequência do polimorfismo do gene *CYP3A5* em relação ao sexo. No sexo masculino, verificou-se que o genótipo *CYP3A5**1/*3 está presente em 71,4% (5/7) dos casos do sexo masculino. Enquanto o genótipo *CYP3A5**1/*1 está presente em 28,5% (2/7). Não houve presença do genótipo *CYP3A5**3/*3 nas amostras do sexo masculino.

Já no grupo de casos do sexo feminino, observa-se 63,6% (7/11) das amostras com polimorfismo *CYP3A5**1/*3. Já os genótipos *CYP3A5**1/*1 e *CYP3A5**3/*3 estão presentes em 18,1% (2/11) das amostras do sexo feminino cada um. Não houve um resultado estatisticamente significativo relacionando o sexo e o polimorfismo do *CYP3A5* ($p= 0,3310$).

Tabela 2 – Frequência do polimorfismo do gene *CYP3A5* em relação ao sexo

Sexo	*1/*1		*1/*3		*3/*3		Total		*p
	n	%	n	%	n	%	n	%	
Masculino									
Caso	2	28,56%	5	71,4%	0	0	7	100%	0,3310
Feminino									
Caso	2	18,12%	7	63,6%	2	18,18%	11	100%	

*teste G

Os diferentes polimorfismos do gene *CPY3A5* foram avaliados em pacientes com familiares portadores e não portadores de doenças oftalmológicas, como pterígio e catarata. Dentre os pacientes com familiares com doenças oftalmológicas, 14,2% (2/14) destes apresentaram polimorfismo *1/*1, já 10/14 dos casos (71,4%) polimorfismo *1/*3 e o restante dos casos, ou seja, 2/14 dos casos (14,2%) revelaram polimorfismo *3/*3*. Dentre os pacientes com familiares sem doenças oftalmológicas, metade das amostras, ou seja, 2/4 destes apresentaram polimorfismo *1/*1, e a outra metade, isto é, 2/4 (50%) dos casos (71,4%) apresentaram polimorfismo *1/*3. Não houve casos neste grupo de polimorfismo *3/*3 (tabela 3). A diferença entre os grupos de pacientes com familiares com e sem patologias oculares em relação aos genótipos de *CYP3A5* não foi estatisticamente significativa ($p= 0,2578$).

Tabela 3 – Frequência genotípica do polimorfismo do gene *CYP3A5* em pacientes com patologias oculares

	*1/*1		*1/*3		*3/*3		Total		*p
	n	%	n	%	n	%	n	%	
Pacientes com familiares com patologias oculares	2	14,2%	10	71,4%	2	14,2%	14	100,0%	0,2578
Pacientes com familiares sem patologias oculares	2	50,0%	2	50,0%	0	0,0%	4	100,0%	

* teste G

Outra frequência genotípica analisada foi de pacientes com diferentes etnias (brancos, negros e amarelos (cor de pele autodenominada)) no grupo caso com o polimorfismo CYP3A5*3 (tabela 4). Dos pacientes com etnia branca, detectou-se 25% (4/16) com o genótipo com o genótipo CPY3A5*1/*1, 62,5% (10/16) com o genótipo CPY3A5*1/*3 foram detectados e 12,5% (2/16) com genótipo CPY3A5*3/*3. Dos pacientes negros e amarelos, cem por cento das amostras apresentaram o genótipo CPY3A5*1/*3 (1/1). Não foi detectado resultado estatisticamente significativo ($p= 0,7826$) comparando o polimorfismo do gene CPY3A5 e as diferentes etnias (cor de pele).

Tabela 4 – Frequência genotípica do polimorfismo do gene CYP3A5 em pacientes com diferentes etnias

	*1/*1		*1/*3		*3/*3		Total		*p
	n	%	n	%	n	%	n	%	
Branco	4	25,0%	10	62,5%	2	12,5%	16	100%	0,7826
Negro	0	0,0%	1	100%	0	0,0%	1	100%	
Amarelo	0	0,0%	1	100%	0	0,0%	1	100%	

* teste G

Também foi feita a análise entre o polimorfismo do gene CYP3A5 com pacientes com profissões ao ar livre (pedreiro, lavrador, fazendeiro, gari) e com outras profissões. Dentre os pacientes com profissões ao livre, 50% (2/4) apresentaram genótipo CYP3A5*1/*1 e o restante dos pacientes demonstraram genótipo CYP3A5*1/*3.

Dentre os pacientes que não trabalham ao ar livre, o genótipo mais prevalente foi o CYP3A5*1/*3 com 71,4% dos casos (10/14). Os outros genótipos CYP3A5*1/*1 e CYP3A5*3/*3 representaram cada um deles 2/14 destes casos (14,2%) como representado na tabela 5. Analisando a variável profissão ao ar livre e os diferentes genótipos, não foi verificado diferença estatisticamente significativa ($p= 0,2578$).

Tabela 5 – Frequência genotípica do polimorfismo do gene CYP3A5 em pacientes com profissões ao ar livre

	*1/*1		*1/*3		*3/*3		Total		*p
	n	%	n	%	n	%	n	%	
Pacientes com familiares com	2	50,0%	2	50,0%	0	0	4	100,0%	0,2578

profissões ao ar livre									
Pacientes com outras profissões	2	14,2%	10	71,4%	2	14,2%	4	100,0%	

* teste G

Outra variável analisada foi o consumo de álcool como pode ser visualizado na tabela 6. O genótipo CYP3A5*1/*3 foi o mais frequente tanto no grupo de pacientes consumidores de álcool com 75% (3/4) e nos pacientes não consumidores de álcool com 64,2% (9/14). Não houve resultado estatisticamente significativo ($p= 0,2465$) entre o consumo de álcool e os genótipos de CYP3A5.

Tabela 6 – Frequência genotípica do polimorfismo do gene CYP3A5 em pacientes consumidores de álcool

	*1/*1		*1/*3		*3/*3		Total		*p
	n	%	n	%	n	%	n	%	
Pacientes consumidores de álcool	0	0	3	75%	1	25%	4	100%	0,2465
Pacientes não consumidores de álcool	4	25,5%	9	64,2%	1	7,1%	14	100%	

* teste G

DISCUSSÃO

Pterígio é definido como uma condição ocular benigna e consiste em uma mal formação fibrovascular caracterizada por um tecido altamente vascularizado que se prolifera excessivamente e se sobrepõe à superfície da córnea. Geralmente, causa irritação ocular, sensação de corpo estranho, olho vermelho e sensação de queimação ocular. Diversos fatores estão associados ao desenvolvimento do pterígio, dentre eles podemos citar aspectos físicos – calor, poeira, partículas da atmosfera – e mecanismos imunológicos como a reorganização da matriz extracelular, citocinas, fatores de crescimento, angiogênese, apoptose, entre outros (DE PR JÚNIOR, 2015; TSAI *et al.* 2020).

Nos últimos anos, evidências científicas demonstraram que os fatores genéticos apresentam uma significativa influência no desenvolvimento do pterígio (DE PR JÚNIOR, 2015; TSAI *et al.* 2020). Ao analisar a literatura sobre o assunto, há estudos que mostram associação entre vários polimorfismos genéticos e a doença. Todavia quase não há pesquisas relacionando polimorfismo do gene CPY3A5 e pterígio, o que torna nosso estudo inédito.

Dentre desses estudos, pode-se citar de Tung *et al* (2010), em que foi evidenciado a formação de um aduto de DNA semelhante ao BPDE (benzo [a] pireno 7,8-diol 9,10-epóxido) associada a polimorfismos de CYP1A1 em amostras de pterígio. O BPDE é um metabólito final do benzopireno, que ataca a desoxiguanosina para formar um aduto BPDE-N2-dG, gerando mutações do p53. Além disso, o citocromo P4501A1 (CYP1A1) e a glutathione S-transferase M1 (GSTM1) estão envolvidos no metabolismo dos hidrocarbonetos aromáticos policíclicos (Tung *et al*, 2010).

Dessa forma, Tung *et al* (2010) realizaram coloração imuno-histoquímica usando um anticorpo policlonal em adutos de DNA semelhantes ao BPDE em 103 amostras de pterígio para a análise dos polimorfismos de CYP1A1 e GSTM1. A formação desse aduto nas amostras de pterígio estava associada com polimorfismo de CYP1A1 (Tung *et al*, 2010).

Young *et al* (2010) também correlacionaram o polimorfismo de CPY1A1 e pterígio e indicaram que pode se tornar um marcador para predição da susceptibilidade do pterígio. Duzentos e cinco espécimes de pterígio e 206 controles normais foram coletados neste estudo para a análise dos polimorfismos dos genes *CYP1A1* e *GSTM1*. Houve uma diferença significativa entre os grupos de caso e controle no genótipo *CYP1A1* ($p = 0,0161$) (Young *et al*, 2010).

Em uma importante pesquisa, FOX *et al.* (2013) encontraram níveis de RNA mensageiro de CYP4B1 duas vezes maiores em amostras de pterígio do que nos casos controles. Também foram encontrados níveis pró-inflamatórios de lipoxigenases e 15- ácido hidroxicicosatetraenóico (HETE) derivados de CYP4B1 dez vezes maiores no pterígio quando comparados com o grupo controle (FOX *et al.* 2013).

De forma semelhante, Mel'nichenko *et al.* estudaram a associação de doenças inflamatórias oculares crônicas (blefarite, conjuntivite e blefaroconjuntivite) e doenças distróficas (pingüécula e pterígio) com polimorfismos do citocromo P450 (CYP1A1 E CYP2E1). Foram avaliadas amostras de 91 trabalhadores de duas empresas metalúrgicas. Concluiu-se que o polimorfismo CYP1A1 Ile462Val se associa ao desenvolvimento de pingüécula e pterígio ao contrário do polimorfismo de CYP2E1 -1293 G/C (MEL'NICHENKO *et al.*, 2012).

Já Kuo *et al* (2010) associaram o gene CYP3A5 à recorrência de pterígio. Foram coletadas cabeças de pterígio de 21 pacientes asiáticos submetidos à exérese de pterígio com transplante conjuntival autólogo em dois hospitais no Japão. Através de uma análise transcricional de *network*, 184 genes apresentaram uma dupla mudança significativa no genoma em relação à recorrência do pterígio. Dentre esses genes, foi identificado o CYP3A5 (Kuo *et al*, 2010).

Em seu estudo, Van Eijk *et al* (2019) consideraram as subfamílias 3A e 2C das enzimas do citocromo P450 (CYP) como as mais importante no metabolismo dos agentes taxane anticancer. A partir disso, avaliaram suas respectivas atividades enzimáticas em tecidos de tumores da mama, próstata, pulmões, endométrio e ovários. Embora as evidências permaneçam contraditórias e muitos estudos limitados por tamanhos amostrais baixos, Eijk *et al* afirmam que parece haver uma expressão relevante das enzimas CYP3A4, CYP3A5 e CYP2C8 que metabolizam o taxano nos tecidos malignos e não malignos dos órgãos citados. Dessa forma, pode-se inferir que o gene CYP3A5 pode estar associado tecidos não malignos, como pterígio e pingüéculas (Van Eijk *et al*, 2019).

Em nosso estudo, na maioria dos pacientes, foi encontrado o genótipo heterozigoto (*1/*3), ou seja, 66% das amostras (ou 12 pacientes). O genótipo *CPY3A5*1/*1* (selvagem) estava presente em 4 das amostras, o que equivale a 22% do total. Já o genótipo *CPY3A5*3/*3* (mutante) estava presente em 2 pacientes apenas (11% do total).

Tal resultado corrobora com pesquisas como de Tung e colaboradores (2010), em que a análise dos polimorfismos *CYP1A1* MSPI no pterígio mostrou que 52,4% dos casos eram heterozigotos para o genótipo CYP1A1 m2/m2 e 33,0% eram homozigotos para o genótipo

CYP1A1 m1 / m1 e 14,6% eram homozigotos para o genótipo *CYP1A1* m2 / m2. Já Young et al (2010) analisou polimorfismos *CYP1A1* no pterígio e evidenciou que 68 (33,2%) eram homozigotos para o genótipo *CYP1A1* m1 / m1, 29 (14,1%) eram homozigotos para o genótipo *CYP1A1* m2 / m2 e 108 (52,7%) eram heterozigotos para o genótipo *CYP1A1* m1 / m2 (Tung et al, 2010).

No presente estudo, não houve um resultado estatisticamente significativo relacionando gênero e o polimorfismo do CYP3A5 ($p= 0,3310$).

No entanto, pesquisas como de Revzan *et al* (2018) mostram que o risco pterígio é 1,3 maior em homens do que em mulheres. A maioria dos estudos sugere o sexo masculino como fator de risco. Pacientes do sexo feminino tendem a procurar auxílio médico de forma mais precoce que os homens e são mais preocupadas com o prejuízo da estética que o pterígio pode gerar (Revzan *et al*, 2018).

Também no estudo de Tung *et al* (2010), ao analisar os polimorfismos de CYP1A1 e GST1M1 e os níveis de aduto de DNA, o gênero masculino foi indicado como predominante na pesquisa, embora não fosse constatado diferença estatisticamente relevante ($p=0,142$) (Tung *et al*, 2010).

Na presente pesquisa, os resultados foram semelhantes ao analisarmos diferentes etnias (negros, caucasianos e amarelos) e os genótipos de CPY3A5 no desenvolvimento de pterígio ($p=0,7826$). Kohlrausch *et al* (2014) avaliaram 179 brasileiros saudáveis com ancestrais africanos e europeus residentes no sul do Brasil. Os genes analisados foram *CYP 1A2*, *2C19*, *3A4* e *3A5*. Verificou-se diferença significativa na distribuição genotípica e alélica entre os descendentes africanos e europeus em relação aos genes CPY3A4 e CPY3A5. Foi observada uma maior frequência do CYP3A4B nos participantes da pesquisa com descendência africana do que nos de descendência europeia. Já em relação ao CYP3A5, houve maior prevalência nos descendentes europeus do que descendentes africanos (Kohlrausch *et al*, 2014).

Nos nossos resultados, em relação aos genótipos de CYP3A5 , não houve diferença estatisticamente relevante entre grupos dos pacientes com familiares com doenças oftalmológicas e dos pacientes sem histórico familiar de patologias oftalmológicas ($p=0,2578$). Malekifar *et at* (2017) avaliaram 210 pacientes com pterígio ou pinguécua e 210 casos controles saudáveis. Foram questionados sobre história de familiares com pterígio, ocupação externa, doenças sistêmicas, uso de óculos e outros possíveis fatores de risco para pterígio. A história familiar de pterígio foi associada com o desenvolvimento da doença de forma significativa ($p=0,001$) (Malekifar *et at*, 2017).

Romano *et al* (2016), por sua vez, descreveram em seu estudo duas gerações de uma família caucasiana de cinco membros do Reino Unido, quatro desses desenvolveram pterígio quando adulto jovens com herança autossômica dominante. Isso reforça o significado da hereditariedade na patogênese da doença (Romano *et al*, 2016).

Em nosso estudo, também foram avaliadas as profissões dos pacientes. Estas foram distribuídas em dois grupos – profissões ao ar livre e profissões não desempenhadas ao ar livre – e associadas ao diferentes genótipos do gene CPY3A5. No entanto, não foi verificado diferença significativa ($p=2,578$).

Por exemplo, Li e colaboradores (2015) realizaram um seguimento de cinco anos de 1520 pacientes com pterígio em uma comunidade rural na China. Foram avaliados aspectos como idade, sexo e ocupação profissional do participantes. As profissões ao ar livre foram um fator associado significativamente a maior incidência de pterígio na região (Li *et al*, 2015).

Em uma revisão sistemática da literatura, Modenese *et al* (2018) evidenciou que a exposição ocupacional à luz ultravioleta é um dos mais relevantes fatores para presença do pterígio e está relacionado à severidade da doença. Em mais de um estudo, a revisão apontou que a ocorrência do pterígio está especificamente associada a um número total de anos trabalhados (Modenese *et al*, 2018).

Apesar de não ter sido verificado diferença significativa ($p=2,578$), os nossos resultados corroboram com a maioria dos estudos que relacionam a formação de pterígio e profissões ao livre com exposição a luz ultra-violeta.

Na presente pesquisa, avaliamos a associação dos genótipos de CYP3A5 e o consumo de álcool. Porém, não houve resultado estatisticamente significativo para essa variável ($p=0,2465$). No entanto, ao estudar a literatura sobre assuntos, trabalhos discordam desse resultado. Como por exemplo o trabalho de Alemayehu *et al* (2020), que concluiu que o consumo de álcool está significativamente associado ao desenvolvimento de pterígio. Foram avaliados em Kolla Diba, noroeste da Etiópia, 605 pessoas submetidas a exame de lâmpada de fenda e questionário estruturado sobre vários itens como profissão, consumo de álcool, exposição ao vento e sol, entre outros (Alemayehu *et al*, 2020).

Já Viso *et al* (2011) também associa fortemente álcool ao desenvolvimento de pterígio e pingüecula. Neste estudo científico, 937 pacientes da cidade de O Salnés (Espanha) foram avaliados acerca do estilo de vida, doenças sistêmicas e história oftalmológica (Viso *et al*, 2011).

No presente trabalho, não houve associação significativa entre o tabagismo no desenvolvimento do pterígio e os genótipos de CPY3A5. Wang *et al*. (2020) investigaram a

prevalência de pterígio e fatores associados na Mongólia. Etnia, gênero, tabagismo, diabetes e pressão arterial sistêmica não foram associados ao pterígio (Wang *et al.*, 2020).

Por sua vez, Rim *et al.* (2017) estudaram influência do cigarro e a incidência do pterígio em homens adultos na Coreia do Sul. Foi verificado que o tabagismo de longa duração e consumo de grandes quantidades de cigarro está associado a menor incidência da doença do pterígio (Rim *et al.*, 2017).

CONCLUSÃO

- Neste estudo, o genótipo mais frequente na população estudada é heterozigoto *CYP3A5* *1/*3
- O genótipo *CYP3A5* não foi relacionado aos fatores de risco analisados: gênero, etnia, história familiar de patologias oculares, exposição ocupacional, tabagismo e álcool

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ASHAVAID, T.F., RAJE, H.S., SHAH, B.V., et al. 2010. Design of Allele Specific PCR for Rapid Detection of CYP3A5 (A6986G) and Mdr-1 (C3435T) Polymorphisms. *Indian Journal of Clinical Biochemistry*, v. 26, n. 1, p. 18-21.

CARDENAS-CANTU, Eduardo et al. Molecular basis of pterygium development. In: **Seminars in ophthalmology**. Informa Healthcare, 2016. p. 567-583.

CHALKIA, Aikaterini K. et al. Human papillomavirus infection and ocular surface disease. **International journal of oncology**, v. 54, n. 5, p. 1503-1510, 2019.

CLEARFIELD, Elizabeth et al. Conjunctival autograft for pterygium. **Cochrane Database of Systematic Reviews**, n. 2, 2016.

CUI, Yu-Hong et al. Regulation of Apoptosis by miR-122 in Pterygium via Targeting Bcl-w. **Investigative ophthalmology & visual science**, v. 57, n. 8, p. 3723-3730, 2016.

DEMURTAS, Paolo et al. Association between the ACE insertion/deletion polymorphism and pterygium in Sardinian patients: a population based case-control study. **BMJ open**, v. 4, n. 10, 2014.

DE PR JÚNIOR, A. et al. Analysis of the GSTM1-null polymorphism in patients with pterygium from Goiania, Goias Brazil. **Genetics and Molecular Research**, v. 14, n. 2, p. 6173-6181, 2015.

DOS SANTOS MARTINS, Thiago Gonçalves et al. Mitomycin C in pterygium treatment. **International journal of ophthalmology**, v. 9, n. 3, p. 465, 2016.

ELMAZAR, Sameh Mohamed Elgouhary Hesham Fouad; NAGUIB, Mariana Ibrahim. Role of oxidative stress and vascular endothelial growth factor expression in pterygium pathogenesis and prevention of pterygium recurrence after surgical excision. 2020.

ENG, Tony Y. et al. Radiation Therapy for Benign Disease: Keloids, Macular Degeneration, Orbital Pseudotumor, Pterygium, Peyronie Disease, Trigeminal Neuralgia. **Hematology/Oncology Clinics**, v. 34, n. 1, p. 229-251, 2020.

FENG, Qing-Yang et al. Aberrant expression of genes and proteins in pterygium and their implications in the pathogenesis. **International journal of ophthalmology**, v. 10, n. 6, p. 973, 2017.

FONSECA, Ellen Carrara. **Comparação entre os tratamentos adjuvantes no pterígio primário ressecado: uma network metanálise**. 2017. Tese (Doutorado em Mecanismos Fisiopatológicos nos

Sistemas Visual e Audio-Vestibular) - Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto, 2017. doi:10.11606/T.17.2018.tde-10042018-140930. Acesso em: 2022-02-06.

FOX, Timothy et al. Dysregulated heme oxygenase-ferritin system in pterygium pathogenesis. **Cornea**, v. 32, n. 9, p. 1276, 2013.

FRARE, Ariane Bocaletto. Investigação dos polimorfismos GSTM1 e GSTT1 Em mulheres com endometriose, 2011. 89 f. Dissertação (Mestrado em Genética), Pontifícia universidade Católica de Goiás, Brasil, 2011.

FREDERICKS, Salim et al. Genotyping cytochrome P 450 3A5 using the Light Cycler. **Annals of clinical biochemistry**, v. 42, n. 5, p. 376-381, 2005.

GONDHOWIARDJO, Tjahyono D. et al. CYP1A1 gene polymorphism in inflammatory and non inflammatory pterygium. **Journal of Medical Sciences (Faisalabad)**, v. 17, n. 1, p. 26-30, 2017.

HU, Pei-Shin et al. The association of MMP7 genotype with pterygium. **in vivo**, v. 34, n. 1, p. 51-56, 2020.

HU, Pei-Shin et al. The association of MMP-8 genotypes with pterygium. **in vivo**, v. 32, n. 1, p. 41-46, 2018.

JARRAR, Yazun Bashir; LEE, Su-Jun. Molecular Functionality of Cytochrome P450 4 (CYP4) Genetic Polymorphisms and Their Clinical Implications. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 20, n. 17, p. 4274, 2019.

KARADAG, Remzi et al. Investigation of glutathione S-Transferase isoenzyme protein expression in patients with pterygium. **Cornea**, v. 35, n. 8, p. 1089-1092, 2016.

KIM, Yeoun-Hee et al. Inhibition of pterygium fibroblast migration and outgrowth by bevacizumab and cyclosporine A involves down-regulation of matrix metalloproteinases-3 and-13. **PLoS One**, v. 12, n. 1, p. e0169675, 2017.

KIT, Chu W. et al. Pterygium: new insights. **Eye (London, England)**, 2020.

KOHLRAUSCH, Fabiana B.; CARRACEDO, Ángel; HUTZ, Mara H. Characterization of CYP1A2, CYP2C19, CYP3A4 and CYP3A5 polymorphisms in South Brazilians. **Molecular biology reports**, v. 41, n. 3, p. 1453-1460, 2014.

KUO, Chuan-Hui et al. Role of periostin and interleukin-4 in recurrence of pterygia. **Investigative ophthalmology & visual science**, v. 51, n. 1, p. 139-143, 2010.

LI, Lan et al. Five-Year incidence and predictors for pterygium in a rural community in China: the Yunnan minority eye study. **Cornea**, v. 34, n. 12, p. 1564-1568, 2015.

MALEKIFAR, Parviz et al. Risk factors for pterygium in Ilam Province, Iran. **Journal of ophthalmic & vision research**, v. 12, n. 3, p. 270, 2017.

MARMAMULA, Srinivas; KHANNA, Rohit C.; RAO, Gullapalli N. Population-based assessment of prevalence and risk factors for pterygium in the South Indian state of Andhra Pradesh: the Andhra Pradesh Eye Disease Study. **Investigative ophthalmology & visual science**, v. 54, n. 8, p. 5359-5366, 2013.

- MEL'NICHENKO, M. A. et al. Chronic inflammatory and dystrophic diseases of the eye anterior segment and their association with genetic polymorphisms in workers of metallurgic industry. **Medicsina truda i promyshlennaia ekologiia**, n. 6, p. 7, 2012.
- MODENESE, Alberto; GOBBA, Fabriziomaria. Occupational exposure to solar radiation at different latitudes and pterygium: a systematic review of the last 10 years of scientific literature. **International journal of environmental research and public health**, v. 15, n. 1, p. 37, 2018.
- MODENESE, Alberto; KORPINEN, Leena; GOBBA, Fabriziomaria. Solar radiation exposure and outdoor work: an underestimated occupational risk. **International journal of environmental research and public health**, v. 15, n. 10, p. 2063, 2018.
- PENG, Mei-Ling et al. CYP1A1 protein activity is associated with allelic variation in pterygium tissues and cells. **Molecular Vision**, v. 18, p. 1937, 2012.
- PYO, Eun-Young; MUN, Gui Hyeong; YOON, Kyung Chul. The prevalence and risk factors for pterygium in South Korea: the Korea National Health and Nutrition Examination Survey (KNHANES) 2009-2010. **Epidemiology and health**, v. 38, 2016.
- REZVAN, Farhad et al. Prevalence and risk factors of pterygium: a systematic review and meta-analysis. **Survey of ophthalmology**, v. 63, n. 5, p. 719-735, 2018.
- RIM, Tyler Hyungtaek et al. Protective effect of smoking against pterygium development in men: a nationwide longitudinal cohort study in South Korea. **BMJ open**, v. 7, n. 11, 2017.
- ROCHA, Maria Nice Araujo Moraes et al. Análise das causas de atendimento e prevalência das doenças oculares no serviço de urgência. **Revista Brasileira de Oftalmologia**, v. 71, n. 6, p. 380-384, 2012.
- RODRIGUES, F. W. et al. TP53 gene expression, codon 72 polymorphism and human papillomavirus DNA associated with pterygium. **Genet Mol Res**, v. 7, n. 4, p. 1251-8, 2008.
- ROMANO, Vito et al. Further evidence for heredity of pterygium. **Ophthalmic genetics**, v. 37, n. 4, p. 434-436, 2016.
- SARKAR, Prathama; TRIPATHY, Koushik. Pterygium. **StatPearls [Internet]**, 2020.
- SINGH, Sanjay Kumar. Pterygium: epidemiology prevention and treatment. **Community eye health**, v. 30, n. 99, p. S5, 2017.
- SONG, Peige et al. Variations of pterygium prevalence by age, gender and geographic characteristics in China: A systematic review and meta-analysis. **PLoS One**, v. 12, n. 3, p. e0174587, 2017.
- SUZUKI, Yosuke et al. Factors involved in phenoconversion of CYP3A using 4 β -hydroxycholesterol in stable kidney transplant recipients. **Pharmacological Reports**, v. 71, n. 2, p. 276-281, 2019.
- TSAI, Chong-Bin et al. The significant association of MMP-1 genotypes with Taiwan pterygium. **Anticancer research**, v. 40, n. 2, p. 703-707, 2020.

- TUNG, Jai-Nien et al. An association between BPDE-like DNA adduct levels and CYP1A1 and GSTM1 polymorphisms in pterygium. **Molecular Vision**, v. 16, p. 623, 2010.
- VAN EIJK, Maarten et al. Cytochrome P450 3A4, 3A5, and 2C8 expression in breast, prostate, lung, endometrial, and ovarian tumors: relevance for resistance to taxanes. **Cancer chemotherapy and pharmacology**, p. 1-13, 2019.
- VAN GELDER, Teun et al. The clinical impact of the C0/D ratio and the CYP3A5 genotype on outcome in tacrolimus treated kidney transplant recipients. **Frontiers in Pharmacology**, v. 11, p. 1142, 2020.
- VIEGAS, Marco Túlio Chater et al. Avaliação da qualidade de vida em portadores de pterígio ocular no município de Palmas. **Revista de Atenção à Saúde**, v. 14, n. 47, p. 5-11, 2016.
- WANG, Yuhan et al. Prevalence and associated factors for pterygium in Han and Mongolian adults: a cross-sectional study in inner Mongolian, China. **BMC ophthalmology**, v. 20, n. 1, p. 45, 2020.
- WANZELER, Ana Cláudia Viana et al. Mechanisms and biomarker candidates in pterygium development. **Arquivos brasileiros de oftalmologia**, v. 82, n. 6, p. 528-536, 2019.
- WARING, Rosemary H. Cytochrome P450: genotype to phenotype. **Xenobiotica**, v. 50, n. 1, p. 9-18, 2020.
- WEST, Sheila; MUNOZ, Beatriz. Prevalence of pterygium in Latinos: Proyecto VER. **British journal of ophthalmology**, v. 93, n. 10, p. 1287-1290, 2009.
- YANG, Qichen et al. Continuous exposure of nicotine and cotinine retards human primary pterygium cell proliferation and migration. **Journal of cellular biochemistry**, v. 120, n. 3, p. 4203-4213, 2019.
- YOUNG, Chi-Hsien et al. CYP1A1 gene polymorphisms as a risk factor for pterygium. **Molecular vision**, v. 16, p. 1054, 2010.
- ZENG, Wen et al. Anti-fibrotic, anti-VEGF or radiotherapy treatments as adjuvants for pterygium excision: a systematic review and network meta-analysis. **BMC ophthalmology**, v. 17, n. 1, p. 211, 2017.
- ZHANG, Qing et al. Adjuvant use of cyclosporine a in the treatment of primary pterygium: a systematic review and meta-analysis. **Cornea**, v. 37, n. 8, p. 1000-1007, 2018.
- ZHONG, Hua et al. Ethnic variations in pterygium in a rural population in southwestern China: The Yunnan minority eye studies. **Ophthalmic epidemiology**, v. 23, n. 2, p. 116-121, 2016.
- ZHOU, Wei-Ping et al. The role of ultraviolet radiation in the pathogenesis of pterygia. **Molecular medicine reports**, v. 14, n. 1, p. 3-15, 2016.

ANEXO I

QUESTIONÁRIO DE HÁBITOS SOCIAIS Análise do polimorfismo do gene CYP5A3 em amostras de pterígio:

Nome: _____ Ficha de inscrição (BANCO DE OLHOS): _____ Idade: _____ Sexo: () masculino () feminino Cor: () Branco () Negra () Amarela Outros: _____ Nível de escolaridade: () sem escolaridade () 2 grau completo () 1 grau completo () 2 grau incompleto () 1 grau incompleto () nível superior : _____ Outros: _____

Você tem alguma dessas doenças abaixo relacionadas? Pressão Alta () Diabetes () Enxaqueca () Má circulação ou varizes () Pressão Baixa () Problemas no coração () Qual? _____ Outras doenças: _____

Você tem alguém na família com problema ocular? () sim () não () não sei Se a resposta for sim, qual é o grau de parentesco e qual a doença? _____

Qual a sua profissão? Há quanto tempo a exerce? _____

Você fuma? Sim: () Não : () As vezes : () Se a resposta for sim ou às vezes, quantos cigarros você fuma? _____ Há quanto tempo você fuma? _____

Você ingere bebida alcoólica? Sim () Não () As vezes () Se a resposta for sim ou às vezes, quantos dias da semana você ingere bebidas alcoólicas? _____

Você ingere carne? Sim () Não () As vezes () Se a resposta for sim ou às vezes, quantos dias da semana você ingere carne? _____

Você pratica algum esporte ou atividade física? Sim () Não () As vezes () Se a resposta for sim ou às vezes, quantos dias da semana você pratica e qual é atividade que você faz? _____

Assinatura do paciente: _____

ANEXO II

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO PRÓ-REITORIA DE PÓS-GRADUAÇÃO E PESQUISA COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

Você está sendo convidado (a) para participar, como voluntário, de uma pesquisa científica. Após ser esclarecido (a) sobre as informações a seguir, no caso de aceitar fazer parte do estudo, assine ao final deste documento, que está em duas vias. Uma delas é sua e a outra é do pesquisador responsável. Em caso de recusa você não será penalizado de forma alguma. Em caso de dúvida você pode procurar o Comitê de Ética em Pesquisa da Universidade Católica de Goiás pelos telefones 3946-1071. INFORMAÇÕES SOBRE A PESQUISA: Título: Análise dos polimorfismos dos genes TP53, GSTM1 e GSTT1 em amostras de pterígio. Coordenador Responsável: Dra. Katia Karina Verolli de Oliveira Moura Telefones para contato: 3946-1385 e 3946-1442 Eu, abaixo qualificado, após ter sido esclarecido verbalmente e depois de ler o resumo do projeto realizado pelo Núcleo de Pesquisa Replicon da Universidade Católica de Goiás, declaro assumir, por espontânea vontade, livre de qualquer coação, a responsabilidade pela participação voluntária e gratuita, no grupo de pacientes integrantes da pesquisa. Estou ciente de que o trabalho consiste na análise molecular de amostras biológicas, e que os mesmos serão armazenados e utilizados em trabalhos posteriores mantendo o objetivo de complementar o diagnóstico. A referida cirurgia tem como objetivo eliminar a doença ou ao menos diminuir os sintomas decorrentes da mesma, tendo como principal complicação a recorrência da condição, além de formação de granulomas, simbléfaro, formação de cicatrizes corneanas no local da retirada do pterígio; sendo rara a possibilidade de piora ou perda da visão nesses casos. A equipe médica envolvida, bem como a instituição coparticipante se comprometem a acompanharem os casos que evoluírem com intercorrências, sendo responsáveis pelo encaminhamento dos mesmos quando necessário. A instituição responsável se compromete a indenizar os sujeitos da pesquisa quanto aos custos decorrentes de sua participação na pesquisa, ou mesmo quanto aos eventuais possíveis danos causados aos mesmos decorrentes de sua participação na pesquisa. DECLARO que compreendi que a obtenção das amostras citadas acontecerá sob minha total ciência, e sob os procedimentos adequados pela equipe responsável pela pesquisa, sem qualquer prejuízo a minha pessoa e que será mantido o total sigilo dos resultados, que serão entregues apenas a mim ou responsável. Outrossim, tenho pleno

conhecimento de que o material será utilizado apenas e tão somente para fins de pesquisa, além de autorizar, pelo presente, que os testes e os resultados sejam utilizados em estudos científicos, ressaltando o sigilo quanto ao meu nome, reservando-me o direito de conhecer ou não os resultados da referida pesquisa. Assinatura do pesquisador:

_____ Assinatura do paciente:

_____ Data: ____/____/____