

LUIZ CLÁUDIO FERREIRA BITTENCOURT

**EFEITOS DA CITARABINA E DA MITOMICINA C SOBRE OS
FIBROBLASTOS EPISCLERAIS EM COELHOS**

Estudo Experimental Histopatológico

Dissertação apresentada ao Curso de Pós-Graduação em
Clínica Cirúrgica do Setor de Ciências da Saúde da
Universidade Federal do Paraná, para a obtenção do
Grau de Mestre.

Coordenação: Prof. Dr. Osvaldo Malafaia

CURITIBA

1998

LUIZ CLÁUDIO FERREIRA BITTENCOURT

**EFEITOS DA CITARABINA E DA MITOMICINA C SOBRE OS
FIBROBLASTOS EPISCLERAIS EM COELHOS**

Estudo Experimental Histopatológico

Tese apresentada ao Curso de Pós-Graduação em
Clínica Cirúrgica do Setor de Ciências da Saúde da
Universidade Federal do Paraná, para a obtenção do
Grau de Mestre.

Coordenação: Prof. Dr. Osvaldo Malafaia

CURITIBA

1998

Orientador: Prof. Dr. Carlos Augusto Moreira

Dedico a minha esposa DENISE e minha filha AMANDA.

“A perseverança é o grande agente do êxito”

(G. Dargan)

AGRADECIMENTOS

Agradeço aos amigos que direta ou indiretamente colaboraram para a realização deste trabalho:

Ao Prof. Dr. CARLOS AUGUSTO MOREIRA, orientador deste trabalho, meus mais sinceros agradecimentos pelo apoio e incentivo, durante a realização deste estudo e por todos os ensinamentos e exemplos desde os tempos de Faculdade.

Ao Prof. Dr. OSVALDO MALAFAIA, Coordenador do Curso de Pós-graduação em Clínica cirúrgica do Setor de ciências da Saúde, pelo estímulo e oportunidade de realizar o Curso de Mestrado.

Ao LUÍS CARLOS BARANOWSKIJ, da empresa BBZ Laboratório Óptico, pelo apoio e empréstimo do Microscópio.

À EMPRESA ETHICON, de São Paulo, pelo fornecimento dos fios para sutura.

À Edlaine e Marlei, secretárias do Curso de Mestrado e Doutorado em Clínica Cirúrgica, pelo apoio e amizade, durante todo o curso.

Ao Dr. AYRTON ROBERTO BRANCO RAMOS, pelo auxílio e incentivo inicial à realização deste estudo.

A MINHA FAMÍLIA, alicerce fundamental e imprescindível para todo e qualquer projeto.

A **DEUS**, pela oportunidade de realizar este trabalho e pelo convívio com todas estas pessoas.

SUMÁRIO

	LISTA DE TABELAS QUADROS E GRÁFICOS.....	x
	LISTA DE FIGURAS.....	xi
	LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS.....	xiii
	RESUMO.....	xiv
	ABSTRACT.....	xv
1	INTRODUÇÃO	1
2	OBJETIVOS	8
3	REVISÃO DA LITERATURA	10
3.1	MANEJO CIRÚRGICO DO GLAUCOMA.....	11
3.2	CICATRIZAÇÃO DA FERIDA OPERATÓRIA.....	12
3.3	USO DOS INIBIDORES DA FIBROPLASIA.....	19
3.3.1	Betaterapia.....	19
3.3.2	5-Fluorouracil.....	20
3.3.3	Mitomicina-C.....	23
3.3.4	Citarabina.....	29
3.3.5	Outros agentes anti-fibroblásticos.....	30

4	MATERIAL E MÉTODO	35
4.1	AMOSTRA/ANIMAIS DE EXPERIMENTAÇÃO.....	36
4.2	ESTUDO PILOTO.....	37
4.3	PRÉ-OPERATÓRIO.....	37
4.4	ANESTESIA.....	37
4.5	IDENTIFICAÇÃO DOS ANIMAIS.....	38
4.6	DROGAS ANTI-FIBROBLÁSTICAS.....	38
4.7	TÉCNICA OPERATÓRIA.....	39
4.7.1	Material Utilizado.....	39
4.7.2	Procedimento cirúrgico.....	40
4.7.3	Registros fotográficos.....	41
4.8	PÓS-OPERATÓRIO.....	41
4.9	SACRIFÍCIO DOS ANIMAIS.....	42
4.10	ACONDICIONAMENTO DAS PEÇAS CIRÚRGICAS.....	43
4.11	TÉCNICA HISTOLÓGICA.....	43
4.11.1	Processamento das peças.....	43
4.11.2	Estudo histopatológico.....	44
4.11.3	Registros fotográficos.....	45
4.12	Metodologia estatística.....	46
5	RESULTADOS	49
5.1	GRUPO A – OLHOS SUBMETIDOS À APLICAÇÃO DE MITOMICINA C E PLACEBO.....	50
5.1.1	Primeiro dia pós-operatório.....	50

5.1.2	Sétimo dia pós-operatório.....	50
5.1.3	Trigésimo dia pós-operatório.....	51
5.2	GRUPO B – OLHOS SUBMETIDOS À APLICAÇÃO DE CITARABINA E PLACEBO.....	51
5.2.1	Primeiro dia pós-operatório	51
5.2.2	Sétimo dia pós-operatório	52
5.2.3	Trigésimo dia pós-operatório	52
5.3	REGISTROS FOTOGRÁFICOS	52
5.4	ANÁLISE ESTATÍSTICA	56
6	DISCUSSÃO	60
7	CONCLUSÕES	67
	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	69

LISTA DE TABELAS, QUADROS e GRÁFICOS

TABELAS

1	RELAÇÃO DA DIVISÃO DOS ANIMAIS EM GRUPOS, SUBGRUPOS E DIAS DE SACRIFÍCIO.....	42
---	--	----

QUADROS

1	DADOS GERAIS DA MITOMICINA C E DO SEU CONTROLE, NO 1º, 7º E 30º DIA PÓS-OPERATÓRIO	57
2	DADOS GERAIS DA CITARABINA E DO SEU CONTROLE, NO 1º, 7º E 30º DIA PÓS-OPERATÓRIO.....	58
3	RESULTADO DOS TESTES APLICADOS NA COMPARAÇÃO DOS DADOS DA MITOMICINA C COM A CITARABINA, NOS DIFERENTES MOMENTOS.....	59

GRÁFICOS

1	SÍNTESE DO COLÁGENO.....	64
---	--------------------------	----

LISTA DE FIGURAS

1	Fotografia demonstrando preparação do animal para a cirurgia, com abertura das pálpebras, através de blefarostato.....	47
2	Fotografia demonstrando dissecação do retalho conjuntival.....	47
3	Fotografia demonstrando a aplicação da droga através de cotonete.....	48
4	Fotografia apresentando o aspecto final da cirurgia, com a síntese conjuntival com fio seda 8-0 (seta).....	48
5	Fotomicrografia do primeiro dia pós-operatório, de coelho tratado com Mitomicina C, corada com HE x 100. E – esclera; H – hemorragia; C – conjuntiva.....	53
6	Fotomicrografia do primeiro dia pós-operatório, de coelho tratado com Mitomicina C, corada com Tricrômica de Mallory x 100. E – esclera; H – hemorragia; C – conjuntiva.....	53
7	Fotomicrografia do sétimo dia pós-operatório, de coelho tratado com placebo, corada com HE x 100. E – esclera; H – tecido cicatricial; C – conjuntiva.....	54
8	Fotomicrografia do sétimo dia pós-operatório, de coelho tratado com placebo, corada com Tricrômica de Mallory x 100. E – esclera; H – tecido cicatricial; C – conjuntiva.....	54

9	Fotomicrografia do trigésimo dia pós-operatório, de coelho tratado com Citarabina, corada com HE x 100. E – esclera; C – conjuntiva; N – neovasos.....	55
10	Fotomicrografia do sétimo dia pós-operatório, de coelho tratado com Ciatabina, corada com Tricrômica de Mallory x 100. E – esclera; C – conjuntiva; N – neovasos.....	55

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

5-Fu – 5-Fluorouracil ou 5-fluoracil

Ara C – Citarabina

BSS – Solução Salina Balanceada

MMC – Mitomicina C

PIO – Pressão intra-ocular

RESUMO

O uso de antimetabólicos como auxiliares à cirurgia de glaucoma tem permitido aumentar suas taxas de sucesso, principalmente em cirurgias de prognóstico desfavorável. Este estudo objetiva verificar a capacidade da Citarabina (0,2 ug/ml) em reduzir a cicatrização episcleral em coelhos, comparando com a Mitomicina C (2 ug/ml). Utilizaram-se 48 olhos de 24 coelhos, divididos em 2 grupos de 24 olhos cada. Em um olho aplicou-se, no espaço sub-conjuntival, o placebo (Solução Salina Balanceada) e no outro olho o agente a ser testado. Os animais foram sacrificados no 1º, 7º, e 30º dias de pós-operatório. Não houve diferença estatística entre os olhos em que se aplicou a Citarabina e Mitomicina C. Concluiu-se que a Citarabina atrasa o processo de cicatrização sub-conjuntival em coelhos.

ABSTRACT

Antimetabolites as adjunctive in glaucoma surgery has allowed better results in surgeries with poor prognosis. This study analysed the ability of citarabin (AraC) and mitomycin to reduce the wound healing in rabbit eyes. Forty-eight eyes of 24 rabbits were equally divided into two groups. In each group the placebo was applied in one eye and the antimetabolic agent in the other. The eyes were enucleated on the 1st, 7th, 30th postoperative days. No significant difference was found between the groups. This study indicated that Citarabin can delay the wound healing in rabbit eyes.

1 INTRODUÇÃO

1 INTRODUÇÃO

O glaucoma é uma moléstia que afeta 0,5% da população. Nos Estados Unidos, corresponde à segunda causa de cegueira na população geral, e à primeira na raça negra. Já no Reino Unido é a terceira causa de cegueira (SEDDON, 1991).

Dentre suas diversas formas de apresentação, a mais comum é o glaucoma crônico de ângulo aberto, também chamado de glaucoma crônico simples. É uma doença crônica, indolor e progressiva, que afeta inicialmente a visão periférica e em fases mais avançadas também a visão central de forma irreversível. Este tipo de glaucoma sofreu nos últimos anos, grandes alterações em seu conceito e terapêutica. O glaucoma crônico de ângulo aberto foi descrito inicialmente, e até bem pouco tempo aceito como uma doença causada unicamente pelo aumento da pressão intra-ocular (PIO) e suas conseqüências. Deste modo, qualquer indivíduo com pressão intra-ocular acima daquela citada como normal, era portador de glaucoma e deveria ser convenientemente tratado. Esta fase no estudo do glaucoma foi descrita por CARVALHO (1993), como "fase pressão-dependente".

Atualmente, a definição mais aceita para o glaucoma crônico de ângulo aberto é aquela que diz: "O glaucoma é uma neuropatia óptica multifatorial, bilateral e assimétrica, caracterizada essencialmente por dano típico da papila óptica e baixa sensibilidade retiniana à luz, associada a diversos fatores de risco". A elevação da

pressão intra-ocular é o fator de risco mais importante. Além deste, outros fatores de risco conhecidos são: raça negra, idade avançada, história familiar, doenças sistêmicas (hipertensão arterial sistêmica e diabetes mellitus), miopia e suscetibilidade individual (WILENSKY, 1994).

O manejo do glaucoma é baseado nos seguintes conceitos gerais (HODDAPP, 1992):

1. Maior a PIO, maior o risco de dano ao nervo óptico;
2. Existem outros fatores que contribuem ao dano glaucomatoso e determinam uma suscetibilidade individual a sofrer com o aumento da PIO, mas eles são desconhecidos;
3. Em portadores de glaucoma, ao diminuir a pressão intra-ocular, diminuem a intensidade do dano glaucomatoso, mas não existe forma de saber qual o nível máximo de pressão aceitável para cada pessoa;
4. Todo método utilizado para diminuir a pressão intra-ocular, é dispendioso e possui efeitos colaterais;
5. O sucesso no tratamento do glaucoma consiste em diminuir a pressão intra-ocular a níveis que permitam a preservação de uma boa visão durante toda a vida do paciente, mas com os menores índices de efeitos colaterais e menor custo.

Mesmo a pressão intra-ocular sendo fator de risco e não agente etiológico, em pacientes suspeitos ou portadores de glaucoma, a PIO deverá ser reduzida a níveis próximos a 15 mmHg de forma clínica ou cirúrgica. Esta redução deve ser obtida, porque em pacientes com estes níveis tensionais, o controle da progressão do dano glaucomatoso ocorre na maioria dos casos (PERKINS, 1994).

Para o tratamento medicamentoso do glaucoma existem diversos grupos de drogas que agem de forma diferente. Não existe uma medicação isolada que seja

indicada para todos os pacientes e cada caso deve ser avaliado individualmente (GROSS, 1997). Estes grupos de drogas são (KAUFMAN E MITTAG, 1994):

1. Drogas que agem sobre o Sistema Nervoso Autônomo:

1.1. Colinérgicos:

1.1.1. Ação Direta: Pilocarpina e Carbacol.

1.1.2. Ação Indireta (Anti-colinesterásicos): Demecarium e ecotiofato.

1.2. Adrenérgicos:

1.2.1. Agonistas dos receptores α_2 : Apraclonidina e Brimonidina.

1.2.2. Agonistas dos receptores β_2 : Epinefrina e Dipiverina.

1.3. Anti-Adrenérgicos:

1.3.1. Bloqueadores dos receptores α : Dapiprazole.

1.3.2. Bloqueadores dos receptores β não seletivos: Timolol, Levobunolol, Metipranolol e Carteolol.

1.3.3. Bloqueadores dos receptores β_1 relativamente seletivos:

Betaxolol.

2. Inibidores da Anidrase Carbônica:

2.1. Administrados por Via Sistêmica: Acetazolamida, Metazolamida e Diclorfenamida.

2.2. Administrados por Via Tópica: Dorzolamida.

3. Prostaglandinas: Latanoprost

4. Hiperosmóticos: Glicerol, Isossorbida e Manitol.

Naqueles casos em que o tratamento clínico não consegue controlar satisfatoriamente os níveis tensionais, pode-se optar pela realização de trabeculoplastia, iridoplastia ou iridectomia a LASER (WILENSKY, 1994).

Para o tratamento cirúrgico, existem diversas técnicas. DE WECKER (1882) criou o primeiro tipo de fistula protegida entre a câmara anterior e o espaço subconjuntival. A partir daí, criaram-se inúmeras variantes deste tipo de cirurgia. Atualmente destaca-se a trabeculectomia associada à iridectomia periférica. Este tipo de cirurgia possui muitas variantes da técnica cirúrgica inicialmente descrita. Por isso atualmente prefere-se denominá-las Cirurgias Fistulizantes Antiglaucomatosas.

O sucesso deste procedimento é de cerca de 76% (LAMPING, BELLOWS HUTCHINSON E AFRAN, 1986). Como está diretamente ligado à cicatrização incompleta da ferida cirúrgica, SKUTA e PARRISH (1987), TAHERY e LEE (1989) e COSTA, SPAETH, EIFERMAN e ORENGO-NANIA (1993) realizaram ampla revisão sobre o assunto e desde então o conhecimento sobre a cicatrização pós-operatória nestes casos evoluiu muito, auxiliando o uso de drogas que inibam a proliferação de fibroblastos após a cirurgia, evitando ou retardando o fechamento da fistula.

Apesar da indiscutível eficácia destas drogas como coadjuvantes à terapia cirúrgica, a indicação de terapias anti-fibroblásticas ainda é controversa. Alguns autores acreditam que deva ser usada apenas em casos com falência anterior. Outros citam que naqueles casos de mau prognóstico cirúrgico, como os glaucomas em negros, os congênitos e os secundários, estas terapias sejam usadas em cirurgias primárias (RADER e PARRISH II, 1991).

Inicialmente tentou-se usar a radiação beta, que corresponde à porção dos elétrons da radiação e tem capacidade de penetração nos tecidos de cerca de 1 a 2 mm. Seu uso pós-operatório aumentou o sucesso cirúrgico das cirurgias fistulizantes antiglaucomatosas (ZACHARIA, DEEPERMAN E SCHUMAN, 1993), mas apresenta diversos efeitos colaterais, incluindo: simbléfaro, úlceras de córnea, atrofia localizada de íris e escleromalácia que em alguns casos evoluiu para perfuração do globo ocular (COSTA, SPAETH, EIFERMAN E ORENGO-NANIA, 1993).

A primeira droga a ser utilizada para reduzir a cicatrização pós-operatória nas trabeculectomias foi o 5-fluorouracil, aplicado através de injeções sub-conjuntivais no pós-operatório imediato. A grande desvantagem do uso desta droga é a necessidade de diversas aplicações pós-operatórias (muito dolorosas) e seus diversos efeitos colaterais, principalmente corneanos, como a ceratite puntata superficial persistente, úlceras de córnea, perfuração do globo ocular e endoftalmite (KNAPP, HEUER, STERN e DRIEBE JR., 1987).

Devido às complicações relacionadas com o uso do 5-fluorouracil, iniciou-se o uso intraoperatório de Mitomicina-C, diminuindo os efeitos colaterais e aumentando o sucesso cirúrgico, com a vantagem desta droga ser aplicada apenas durante a cirurgia (COSTA, SPAETH, EIFERMAN E ORENGO-NANIA, 1993). Atualmente, as pesquisas em relação a esta droga tentam determinar qual a menor dose para diminuir suficientemente a proliferação de fibroblastos, com o menor índice possível de complicações (COSTA, WILSON, MOSTER, SCHIMIDT, GANDHAM e SMITH, 1995)

A Citarabina (1-β-D-arabinofuranosilcitosina), é uma droga que “in vitro” tem uma capacidade semelhante à da mitomicina-C em inibir a proliferação de fibroblastos

da Episclera e Cápsula de Tenon (MALLICK, HAJEK e PARRISH II, 1985), mas ainda carece de estudos “in vivo” para determinar qual sua real eficácia e efeitos colaterais.

A técnica cirúrgica a ser utilizada na realização da trabeculectomia com o uso de anti-metabólicos, bem como o local da aplicação da droga ainda diverge muito entre os autores. A confecção de retalho conjuntival com a base voltada para o fórnix ou limbo são atualmente aceitas para este tipo de cirurgia e seus resultados são semelhantes, embora a síntese conjuntival seja tecnicamente mais difícil quando a dissecação é com base fórnix (SILVA e PARANHOS, 1994).

O local de aplicação da droga antimetabólica, varia entre os diversos autores, sendo feita:

- Sobre a Cápsula de Tenon, antes da dissecação do retalho escleral (SKUTA, BEESON, HIGGINBOTHAM, 1992 e KHAW, DOYLE, SHERWOOD, SMITH E MCGORRAY, 1993);

- Entre os lábios do retalho escleral, antes da abertura da câmara anterior (KITAZAWA, KAWASE, MATSUSHITA E MINOBE, 1991), (SUSANNA JR E TAKAHASHI, 1993 e 1995) e (CASTRO, SAADI, CORRÊA-MEYER e VILELA, 1996).

2 OBJETIVOS

2 OBJETIVOS

1 Avaliar a capacidade da citarabina em inibir "in vivo" a proliferação de fibroblastos subconjuntivais em coelhos.

2 Comparar a potência de ação da Citarabina, com a Mitomicina-C

3 REVISÃO DA LITERATURA

3 REVISÃO DA LITERATURA

3.1 MANEJO CIRÚRGICO DO GLAUCOMA

SHUSTER, KRUPIN, KOLKER e BECKER (1984) em estudo randomizado e prospectivo realizado em pacientes com glaucoma submetidos a trabeculectomia com dissecação do retalho conjuntival com base fornix e limbo, não encontraram diferença estatisticamente significativa nos resultados obtidos com as duas técnicas.

TRAVERSO, TOMEY e ANTONIOS (1987) estudando pacientes em que se realizaram trabeculectomias nos dois olhos, sendo base fornix em um e base limbo no outro, não obtiveram qualquer diferença estatística quanto a resultados ou complicações entre as duas técnicas estudadas.

MATTOX (1995) descreve que uma trabeculectomia típica envolve oito incisões separadas: conjuntival, sub-tenoniana, inserção da Cápsula de Tenon no

limbo, episclera, bordas do flap escleral, base do flap escleral, trabeculectomia e iridectomia periférica. A única destas incisões que deve ser completamente selada é a conjuntival. Excessiva cicatrização em qualquer uma das outras incisões pode causar falência cirúrgica. As causas internas, como obstrução da trabeculectomia por fibrina, por encarceramento da íris ou por vítreo, são incomuns. As causas mais frequentes na falha de filtração são as externas, principalmente a fibrose da interface entre episclera e Cápsula de Tenon, causada pela proliferação de fibroblastos após o trauma cirúrgico.

VENTURA e YAMANE (1995) obtiveram um índice de sucesso cirúrgico de 86,0% em 93 olhos de 72 pacientes portadores de glaucoma, submetidos a trabeculectomia. Não houve diferença significativa nos índices de sucesso, comparando-se sexo, tipo de dissecação conjuntival (base fórnix ou limbo) e idade. Contudo, comparando-se raça, houve diminuição significativa no sucesso em pacientes da raça negra.

3.2 CICATRIZAÇÃO DA FERIDA OPERATÓRIA

MAUMENEE (1960) demonstrou que a principal causa de falência cirúrgica, nas cirurgias fistulizantes antiglaucomatosas, é a proliferação de fibroblastos provenientes da Episclera e Cápsula de Tenon, ocluindo a fístula criada pela cirurgia.

SEETNER E MORIN (1979) estudaram por histopatologia, a cicatrização de cirurgias fistulizantes antiglaucomatosas em coelhas. Descreveram a seguinte evolução do processo cicatricial:

2º Dia pós-operatório: formação de grande coágulo de fibrina, com delineamento da bolha filtrante por material eosinofílico. Poucas fibras colágenas no local.

7º Dia pós-operatório: Proliferação fibroblástica pronunciada. Finas fibras colágenas coradas em azul pela técnica de MASSON. As fibras colágenas da borda da ferida aparecem edemaciadas e misturadas com os fibroblastos do coágulo. A incisão conjuntival apresenta tecido de granulação, neovasos e fibroblastos. Proliferação de camada multicelular de células epitelióides na parede interna da bolsa.

14º Dia pós-operatório: Bolha filtrante ausente. Espessamento dos tecidos subconjuntivais, com proliferação celular e neovasos. O local da incisão na câmara anterior aparece ocluído por fibroblastos e colágeno frouxo. O tecido subconjuntival aparece firmemente aderido à esclera e à íris no local da trabeculectomia.

30º Dia pós-operatório: Os tecidos sub-conjuntivais apresentam espessura próxima ao normal. Há pouca proliferação celular e a ferida escleral aparece coberta por colágeno denso.

PEIFFER JR, LIPPER, MERRIT, WRIGHT e JONES (1981) estudando através de microscopia óptica e eletrônica, a cicatrização de trabeculectomias e esclerectomias em coelhos, gatos e cães, notaram que quantitativamente, o tecido de reparação foi maior nos olhos submetidos a esclerectomia. As células de reação inflamatória crônica estavam ausentes, exceto em torno das suturas conjuntivais. As

células proeminentes no processo de reparação foram os fibroblastos, alguns com características de miofibroblastos, originados provavelmente dos tecidos subconjuntivais adjacentes à ferida operatória. Das 3 espécies estudadas, o coelho foi o que apresentou a maior reação fibroblástica, que ocorreu entre o 7º e o 14º dia.

ADDICKS, QUIGLEY, GREEN e ROBIN (1983) examinando através de histopatologia, bolhas filtrantes de olhos doados a um banco de olhos, descreveram os aspectos histológicos daquelas funcionantes e não funcionantes. Em ambas o epitélio conjuntival e corneano apareceram normais. Nos casos em que houve falência da cirurgia, o tecido conjuntivo subepitelial apareceu mais denso e mais espesso em toda a extensão da bolha filtrante. Naqueles com bolha filtrante funcionante, o tecido colágeno apresentava-se mais frouxo. As fibras colágenas em ambos os casos tinham aspecto normal. Os autores reafirmaram a antiga idéia de que em olhos com menor proliferação fibroblástica, há maior probabilidade de se obter sucesso cirúrgico.

HITCHINGS e GRIERSON (1983) estudaram a histopatologia de pacientes submetidos a cirurgia fistulizante antiglaucomatosa, em que não houve sucesso cirúrgico. Nos casos em que a falência foi precoce, observaram resposta inflamatória intensa nos tecidos subconjuntivais, às custas de macrófagos e linfócitos. Houve grande observação de fibroblastos ativados, com aumento no número de fibras colágenas. Naqueles em que a falência cirúrgica ocorreu após o 9º mês a bolha filtrante apareceu circundada por uma espessa camada de fibrina, com poucos fibroblastos e algumas fibras colágenas e elásticas dispostas de forma irregular.

REDDICK, MERRIT, ROSS, AVERY e PEIFFER (1985) realizaram esclerectomias e trabeculectomias em gatos, estudando através de microscopia óptica e eletrônica a presença de miofibroblastos no local da cirurgia. Sob microscopia óptica, os fibroblastos foram proeminentes entre o 7º e o 14º dia após a cirurgia. Localizaram-se em torno das bordas da ferida operatória, tanto nas esclerectomias, quanto nas trabeculectomias. Sob microscopia eletrônica, estas células apresentaram um núcleo irregular, freqüentemente localizado em um dos pólos da célula. O citoplasma apresentou coleções de microfilamentos com condensações em diversos pontos. As outras organelas citoplasmáticas e o retículo endoplasmático estavam presentes na porção média da célula, próximo aos microfilamentos. A matriz extracelular constituiu-se de feixes de colágeno. As células inflamatórias estavam ausentes.

DESJARDINS, PARRISH II, FOLBERG, NEVAREZ, HEUER e GRESSEL (1988) estudando cirurgias fistulizantes antiglaucomatosas de espessura total em macacos, observaram que todas as fístulas fecharam até o 14º dia após a cirurgia, devido à migração e proliferação de fibroblastos das tecidos episclerais para o local da esclerostomia.

JOSEPH, MILLER e HITCHINGS (1988) descreveram a evolução clínica de bolhas filtrantes através da análise de fotografias oculares seriadas. Nos primeiros dias, os tecidos conjuntivais que circundam a bolha filtrante aparecem hiperêmicos e edemaciados. A conjuntiva sobre a bolha aparece elevada e com pouca hiperemia. Explicaram a hiperemia em torno da bolha, como resultado de um ingurgitamento

venoso, devido ao aumento na drenagem local e à lesão vascular causada nas incisões conjuntivais com a base voltada para o limbo. Notaram que naqueles casos em que a cirurgia estava fracassando, a hiperemia era muito mais intensa e nos casos de incisão conjuntival com base limbo, há uma movimentação anterior da linha de sutura, devido à fibrose e contração dos tecidos subconjuntivais.

JAMPEL, MCGUIGAN, DUNKELBERGER, L'HERNHAULT e QUIGLEY (1988) em estudo experimental em macacos, demonstraram que no período entre 24 e 48 horas após a cirurgia existe proliferação celular, cujo pico está entre o 3º e o 5º dia, retomando a seu nível basal no 11º dia. A principal célula envolvida neste processo é o fibroblasto.

JOSEPH, GRIERSON e HITCHINGS (1989 a) postularam que "in vitro", o humor aquoso obtido durante cirurgias de catarata e glaucoma possui ação quimiotáctica positiva sobre os fibroblastos da Cápsula de Tenon humana e de coelho.

JOSEPH, GRIERSON e HITCHINGS (1989 b) estudando o aquoso obtido em facectomias, sugeriram que há uma ação quimiotáctica do aquoso derivada da fibronectina presente no aquoso e de um fator de crescimento semelhante ao secretado pelas plaquetas, que possivelmente existe no vítreo.

MILLER, GRIERSON, UNGER E HITCHINGS (1989) em estudo clínico e histopatológico da cicatrização de cirurgias fistulizantes em coelhos, descreveram:

Trans-operatório: O aquoso passou de sua forma fluida normal, para espessa e viscosa, ao final das cirurgias. Houve formação de bolha filtrante difusa e volumosa, logo após a síntese conjuntival.

1º Dia pós-operatório: A bolha filtrante apareceu preenchida por líquido corado através da injeção do corante Tricrômico de Mallory dentro da bolha, indicando a presença de fibrina. Houve pequena presença de células monomorfonucleares.

3º Dia pós-operatório: A bolha filtrante apareceu elevada e com bordos delimitados; a câmara anterior rasa, com reação celular e "flare". Ausência de Células de Goblet sobre a superfície da bolha filtrante. Houve proliferação epitelial conjuntival e vasodilatação subconjuntival com aumento no número de fibroblastos e edema da conjuntiva. Encontraram colágeno neoformado, corado através da coloração de Gomori, em torno da bolha filtrante. Não houve sinais inflamatórios e fibroblastos nas bordas esclerais.

10º Dia pós-operatório: Aparecem bolhas filtrantes elevadas em 42% dos olhos; câmara anterior profunda e com pouca reação celular; pequena quantidade de Células de Goblet sobre a bolha filtrante e células gigantes em torno das suturas conjuntivais. Apareceu ainda edema no estroma conjuntival, com fibroblastos fusiformes. Ocorreu evidente neoformação de colágeno em torno da bolha, evidenciado através da coloração de Gomori. Em alguns olhos ocorreu fechamento da fístula escleral por tecido de granulação.

17º Dia pós-operatório: A bolha filtrante aparece elevada em apenas um olho, sem nenhuma fístula funcionante. Ausência de reação de câmara anterior. A ferida escleral está coberta por denso tecido cicatricial. Já aumenta a população de Células de

Goblet sobre a bolha filtrante. A coloração de Gomori demonstra grande presença de colágeno.

24° Dia pós-operatório: Não aparecem bolhas filtrantes. Normaliza-se o número de células de Goblet. Os feixes de colágeno apresentam-se orientados paralelamente à linha escleral. A porção interna da cicatriz escleral aparece coberta por endotélio.

31° Dia pós-operatório: Diminui o número de fibroblastos, as fibras colágenas aparecem ainda mais orientadas sobre a esclera e em alguns casos, o tecido cicatricial chega até o ângulo da câmara anterior

59° Dia pós-operatório: O aspecto histológico é semelhante ao 31° dia, diferindo apenas pela ausência de vasodilatação e maior organização da cicatriz escleral.

RADER e PARRISH II (1991) e COSTA, SPAETH, EIFFERMANN e ORENGO-NANIA (1993) enumeram os episódios que ocorrem logo após o trauma cirúrgico. Todos sucedem-se em todas as cirurgias fistulizantes antiglaucomatosas, em maior ou menor grau.

1. Migração de componentes intravasculares (plasma e proteínas sangüíneas) para o espaço extravascular, devido à lesão vascular e à secreção de fatores vasoativos, como histamina, serotonina, prostaglandinas, leucotrienos e proteínas do sistema complemento.

2 Acúmulo de fibrinogênio, fibronectina e plaquetas no tecido danificado, provocando a formação de fibrina. As plaquetas aderem ao endotélio dos vasos danificados e à malha de fibrina que se forma no local, estimuladas pelo tromboxane A₂. Com este processo, forma-se o coágulo.

3. Os fatores quimiotáticos secretados pelas plaquetas e o sistema complemento, atraem neutrófilos para a região lesada. A maior quantidade de neutrófilos estará presente no segundo dia pós-trauma.

4. Macrófagos derivados dos tecidos vizinhos e dos monócitos sanguíneos, provocam uma "limpeza" da área e estimulam a migração e proliferação de fibroblastos.

5. Os fibroblastos, derivados das células mesenquimatosas do sangue e tecidos vizinhos (Cápsula de Tenon e Episclera), aderem à parede vascular através da fibronectina e outros hormônios tissulares, como serotonina e prostaglandinas. Aparecem na terceiro dia após a trauma e, no quinto dia constituem o tipo celular predominante, sendo essenciais para o processo de formação da cicatriz, por secretarem o pró-colágeno que sofrerá transformações, passando pelas formas de tropocolágeno, fibras de colágeno solúvel e finalmente colágeno maduro.

6. Ocorre a angiogênese, onde há migração de células endoteliais dos vasos lesados sobre a malha de colágeno, formando neovasos. O tecido fibrovascular formado em consequência deste processo é denominado de tecido de granulação.

3.3 USO DOS INIBIDORES DA FIBROPLASIA

3.3.1 Betaterapia

FRIEDMAN, DUEKER, SOLOMON e WANG (1986) estudando os efeitos da radiação beta sobre a conjuntiva e culturas de fibroblastos de coelhos, descreveram

que, em doses de 750 a 2.500 rads, possui efeitos inibitórios sobre a cicatrização, devido à redução na produção de colágeno, por inibição da proliferação epitelial, endarterite obliterativa, redução de fibroblastos e células inflamatórias no local e atraso no processo de contração.

MCDONALD e WILDER (1955) demonstraram em modelo animal (coelhos), que a radiação beta em doses de 2.500 rads ou maiores, tem a capacidade de retardar a cicatrização corneana, quando aplicada três meses antes da cirurgia.

3.3.2 5-Fluorouracil

BLUMENKRANZ, CLAFLIN e HAJEK (1984) avaliando a inibição da proliferação de fibroblastos sub-conjuntivais em culturas, obtiveram esta com concentrações de 1 mg/L de doxorubicina e 5-fluoracil; 11 a 40 mg/L de indometacina; 200 mg/L de dexametasona; 150 mg/L de triamcinolona; o metotrexate demonstrou eficácia limitada. Com os resultados obtidos, sugerem que o 5-fluorouracil pode auxiliar no tratamento cirúrgico do glaucoma.

HEUER, PARRISH II E GRESSEL (1984) e (1986) demonstraram que o 5-Fu provoca redução da pressão intra-ocular e aumento nos índices de sucesso cirúrgico das cirurgias antiglaucomatosas.

GRESSEL, PARRISH II E FOLBERG (1984) demonstraram a capacidade desta droga em inibir a proliferação de fibroblastos, reduzindo a síntese de colágeno e atrasando a formação da cicatriz, com uma DL_{50} de aproximadamente 10 mg/ml.

RUDERMAN, WELCH, SMITH E SHOCH (1987) em estudo randomizado com pacientes glaucomatosos com mau prognóstico cirúrgico, submetidos a cirurgia com auxílio do 5-Fu. O controle da pressão intra-ocular foi significativamente maior no grupo de estudo onde ocorreram 2 falências nas 14 cirurgias realizadas. Já no grupo controle, ocorreram 9 falências em 12 cirurgias realizadas.

THE FLUOROURACIL FILTERING SURGERY STUDY GROUP (1989) avaliando o resultado de 230 trabeculectomias com uso pós-operatório de 5-fluorouracil, em estudo randomizado para determinar a eficácia e segurança desta terapia em casos de mau prognóstico cirúrgico. O controle da pressão intra-ocular, foi significativamente maior no grupo em que se usou o 5-fluorouracil. Houve falência cirúrgica em 27% dos olhos operados com 5-fluorouracil e 50% dos olhos do grupo controle. A toxicidade corneana foi maior nos casos em que se usou o 5-fluorouracil e não houve diferença estatística significativa entre os dois grupos, quando comparou-se as alterações de campo visual e sensibilidade de contraste. Indicaram o uso do 5-fluorouracil, como adjuvante à cirurgia de glaucoma pós-facectomia e em casos de falência anterior.

JAMPEL, JABS E QUIGLEY (1990) reviram prontuários de 12 pacientes portadores de glaucoma inflamatório, com níveis tensionais acima de 26 mmHg, submetidos a trabeculectomia, com auxílio de 5-fluorouracil. Em todos os casos ocorreu controle da Pressão intra-ocular (abaixo de 20 mmHg).

WOLNER, LIEBMANN, SASSANI, RITCH, SPEAKER E MARMOR (1991) avaliando de modo retrospectivo prontuários de 229 trabeculectomias com o uso pós-operatório de 5-fluorouracil, encontraram a ocorrência de endoftalmite de aparecimento tardio em 13 (5,7%) olhos, sendo 9 (9,4%) olhos de 96 operados com trabeculectomia inferior e 4 (3,0%) olhos de 133 operados com trabeculectomia superior.

TICHO E OPHIR (1992) em estudo randomizado para a avaliação da eficácia do uso do 5-fluorouracil no pós-operatório de cirurgias primárias de glaucoma, obtiveram um índice de sucesso de 96% no grupo de estudo e de 76%, no grupo controle, após um período médio de 19 meses após a cirurgia.

SUSANNA Jr. e TAKAHASHI (1993) comparando a eficácia da aplicação de 5-fluorouracil pós-operatório (5 mg/dia) e Mitomicina C intraoperatória (0,2 mg/ml), não obtiveram diferença estatística entre eficácia e efeitos colaterais da Mitomicina C e do 5 fluorouracil.

CALABRESI e PARKS (1996) o descrevem como um análogo da pirimidina, que tem a capacidade de inibir a enzima timidilato-sintetase, impedindo a síntese de DNA. Atua também incorporando-se ao DNA, bloqueando a atividade de algumas enzimas. É principalmente ativo, quando aplicado em células que encontram-se na fase S do ciclo celular, quando está havendo grande síntese de DNA. Células que encontram-se nas fases G₀, G₁ e G₂, podem começar a proliferar assim que a exposição ao 5-Fluorouracil termine.

CASTRO, SAADI, CORRÊA-MEYER e VILELA (1996) em artigo de revisão, descrevem como complicações do uso sub-conjuntival do 5-fluorouracil: ceratite puntacta epitelial, defeitos do epitélio conjuntival no local das aplicações, descolamento de coróide, atalamia, maculopatia por hipotensão, degeneração cistóide e melanoceratose estriada.

3.3.3 Mitomicina-C

CHEN, HUANG, BAIR E LEE (1990) utilizaram pela primeira vez a Mitomicina-C como auxiliar à cirurgia fistulizante antiglaucomatosa. Obtiveram um índice de sucesso em 77,8% de 45 olhos com glaucomas refratários à terapêutica clínica, submetidos a este tipo de cirurgia

DERICK, PASQUALE, QUIGLEY e JAMPEL (1991), demonstraram que, a mitomicina-C, quando injetada em uma dose de 50uL na câmara anterior de coelhos,

através de paracentese, provoca em 24 horas uma severa reação inflamatória da câmara anterior. Em 72 horas as córneas estão opacas e, na maioria dos casos, evoluem para ceratopatia bolhosa irreversível. Estudos histopatológicos realizados 2 semanas após a injeção, demonstraram ausência total de endotélio normal, ingurgitamento dos vasos da íris, necrose da íris e do corpo ciliar e presença de células de reação inflamatória aguda na câmara anterior. Nestes casos não houve toxicidade retiniana.

PALMER (1991) citou que a ocorrência de efeitos colaterais devidos ao uso intra-operatório de Mitomicina-C em trabeculectomias, é maior conforme aumenta-se a concentração e o tempo de aplicação da droga.

JAMPEL (1992), estudando "in vitro" e "in vivo" os efeitos da Mitomicina-C sobre fibroblastos episclerais demonstraram a grande atividade desta droga em inibir a proliferação destas células. A DL_{50} calculada foi de 0,06 mg/ml e a DL_{90} , de 0,4 mg/ml.

JAMPEL, PASQUALE e DIBERNARDO (1992) e ZACHARIA, DEPPERMAN e SCHUMAN (1993), demonstram que a aplicação da Mitomicina-C, durante as cirurgias fistulizantes antiglaucomatosas, leva à formação de bolhas filtrantes grandes e isquêmicas, podendo causar prolongada hipotonia provocando a maculopatia hipotônica que corresponde a um pregueamento da retina com aumento da tortuosidade e ingurgitamento vascular. Nestes casos, o descolamento de coróide e

edema macular cistoide estão normalmente ausentes e a acuidade visual encontra-se geralmente próxima a 20/100 ou 20/200, podendo ou não melhorar com a normalização da pressão intra-ocular. É uma complicação muito rara da trabeculectomia, mas com o uso de mitomicina-C, a incidência desta complicação é de 3 a 6% dos casos operados, sendo mais freqüente em pessoas jovens e míopes.

COSTA, SPAETH, EIFFERMAN e ORENGO-NANIA (1993) citam Dellen, endoftalmite tardia, descolamento de coróide e catarata, como complicações relacionadas ao uso de Mitomicina-C.

CHAIB, REHDER e BARAKAT (1994) estudaram 28 pacientes glaucomatosos, tratados com trabeculectomia, com aplicação intra-operatória de mitomicina C em concentração de 0,2 mg/ml. Observaram uma redução média da pressão intra-ocular de 44,8% após seis meses da cirurgia e um índice de complicações de 38,28%.

MATTAR, ALVES, SILVA e KARA JOSÉ (1994) estudando em coelhos a regeneração do epitélio corneano, após a aplicação de tiotepa e Mitomicina C sobre o defeito epitelial criado, notaram que o tiotepa não retardou a cicatrização, mas a Mitomicina C nas concentrações de 0,04% e 0,02% retardou significativamente a regeneração epitelial.

CARDILLO, ALVES, TRAJAN NETO, KARA-JOSÉ, POTÉRIO e CAMARGO (1995) estudando em pacientes operados de pterígio, a sensibilidade táctil corneana através do estesiômetro de Cochet e Bonet, a integridade do epitélio corneano através do teste do Rosa Bengala a 1% e a função do filme lacrimal, através do teste de Schirmer I e tempo de ruptura do filme lacrimal. Em seus resultados, não houve qualquer alteração nos testes realizados, em comparação aos olhos controle.

COSTA, WILSON, MOSTER, SCHIMIDT, GANDHAM e SMITH (1995) usando a Mitomicina-C na dose de 0,4 mg/ml, durante as cirurgias antiglaucomatosas, obtiveram uma taxa de sucesso (controle adequado da pressão intra-ocular) de 83,5% após cerca de 6 meses em casos com mau prognóstico. Descreveram como complicações descolamento de coróide, câmara anterior rasa e maculopatia por hipotonia.

MATTAR, ALVES, SILVA e KARA JOSÉ (1995) estudando a reparação epitelial em olhos de coelhos, após a aplicação subconjuntival de Mitomicina C a 0,04% durante 5 minutos, não obtiveram diferenças significativas em relação ao grupo controle.

SAMPAIO, KARA JOSÉ e ALVES (1995) avaliando os efeitos da instilação tópica de Mitomicina C em olhos de ratas, notaram que após 2 semanas, nas doses de 0,08% e 0,16%, apareceu reação blefaroconjuntival moderada e ceratite puntacta

superficial que regrediram 5 dias após a suspensão do uso. Em doses de 0,02% e 0,04% não foi detectado efeito colateral.

ALVES, SALDIVA, LEMOS E KARA JOSÉ (1996) avaliando a regeneração do epitélio corneano em coelhas, após a instilação de colírio de mitomicina C, descreveram que nas córneas em que manteve-se o epitélio íntegro, ocorreram alterações na região limbar, que pode ser notada através de morfometria até 3 meses após a aplicação de droga. Nos casos que se produziu defeito epitelial, apareceu hipertrofia celular, redução na relação núcleo-citoplasmática e diminuição no número de núcleos.

CALABRESI E PARKS (1996) citam que a Mitomicina-C foi isolada da fermentação do *Streptomyces caespitosus* em 1958. Contém em sua estrutura molecular um anel mitosano, um grupo quinona e um grupo aziridina, que agem nas reações de alquilação biorredutora do DNA, podendo ser seletivamente tóxica para células hipóxicas. Após a redução enzimática intracelular da quinona e perda do grupo metoxi, torna-se um agente alquilante bifuncional ou trifuncional. Inibe a síntese de DNA e faz ligações cruzadas no DNA, com intensidade proporcional ao seu conteúdo de guanina e citosina. As quebras unifilamentares de DNA são causadas pela mitomicina reduzida. Isto pode ser evitado pela presença de radicais livres. Sua ação é mais proeminente no final da fase G1 e início de S do ciclo celular. É teratogênica para roedores. Suas propriedades imunossupressoras são relativamente fracas.

CASTRO, SAADI, CORRÊA-MEYER e VILELA (1996) em artigo de revisão, citam que a Mitomicina C pode ser usada de forma tópica (0,02%) para a prevenção de recidivas de neoplasias intra-epiteliais. Quanto ao uso intra-operatório nas cirurgias anti-glaucomatosas são descritas como complicações: maculopatia hipotônica, resposta inflamatória severa, ceratopatia bolhosa, erosão corneana, vazamento do humor aquoso, catarata, hifema, lesão coroídea, endoftalmite, baixa capacidade antibacteriana celular e atalamia.

MITRE, BONOMO, FARAH e CURSINO (1996) estudando em coelhos a injeção intra-vítrea de Mitomicina C, nas doses de 0,1 e 0,5 mg/0,1ml. As alterações anatomopatológicas encontradas foram: edema de córnea, pregas de Descemet, ceratite, vacúolos cristalinos e catarata, necrose de corpo ciliar e íris, necrose de retina, descolamento de coróide e do epitélio pigmentar da retina, necrose e fibrose de coróide. Quando usada a dose de 5 mg, provocou alterações de cristalino, retina, coróide e corpo ciliar, com muito maior incidência e gravidade.

BERNARDI, COSTA, GULLO, MALTA E KARA JOSÉ (1997) verificaram que não há diferença estatística entre o índice de sucesso ou de complicações em olhos com glaucoma refratário, submetidos a trabeculectomia com aplicação de doses intra-operatórias de 0,3 e 0,5 mg/ml de mitomicina C.

KANGAS, GREENFIELD, FLYNN, PARRISH II e PALMBERG (1997) revisando prontuários de pacientes submetidos a trabeculectomias com aplicação intra-

operatória de Mitomicina C, notaram grande aumento na incidência de endoftalmite tardia em relação a olhos submetidos apenas a trabeculectomia. Notaram também que o patógeno principal foi o Streptococos sp. e que a recuperação visual foi pior que naqueles casos acometidos por endoftalmite aguda no pós-operatório de catarata.

3.3.4 Citarabina

BARRADA, PEYMAN, GREENBERG, STELMACK e FISCELLA (1983)

estudando os efeitos da aplicação de drogas anti-neoplásicas como fluidos de infusão para vitrectomia em coelhos, obtiveram como dose não tóxica para o 5-fluoracil 250 ug/ml, 1,2 ug/ml para a citarabina e 0,8 ug/ml para a mitomicina. A toxicidade observada para estas drogas abrangeu degeneração dos fotorreceptores e desorganização retiniana com formação de cicatriz glial.

PEYMAN, GREENBERG, FISHMAN, FISCELLA e THOMAS (1984)

estudando a toxicidade da aplicação intra-vítrea de drogas anti-neoplásicas, determinaram que a dose total não-tóxica da mitomicina C é de 2 ug e da citarabina de 30 ug.

MALLICK, HAJEK e PARRISH II (1985)

estudando a inibição de células epiteliais corneanas e fibroblastos sub-conjuntivais de coelho pela Citarabina e 5-fluorouracil, em culturas, demonstraram que "in vitro" a proliferação das células

epiteliais corneanas, foi inibida em 50% em relação ao grupo controle com doses de 0,6 mg/L de 5-Fu ou 30ug/L de Citarabina. Para os fibroblastos conjuntivais a inibição de 50% do grupo controle ocorreu com doses de 0,5 mg/L de 5-Fu ou 50 ug/L de Citarabina.

CALABRESI E PARKS (1996) citam que é um antimetabólico análogo da pirimidina, como o 5-fluorouracil e age na fase S do ciclo celular, causando fragmentação do DNA, sem concomitante inibição da síntese de DNA. Isto leva a um crescimento desequilibrado da célula, com um aumento pronunciado do volume celular em relação ao volume nuclear, provocando sua lise. Para agir, precisa ser ativada pela conversão em nucleotídeo 5'-monofosfato (AraCMP), em uma reação catalisada pela desocitidina cinase. Pode então reagir com os nucleotídeos cinase apropriados, para formar os nucleotídeos difosfato e trifosfato (AraCDP e AraCTP). O acúmulo de AraCTP causa potente inibição da síntese de DNA, pela incorporação da molécula de AraC à sua cadeia. Há uma relação significativa entre a inibição da síntese de DNA e a quantidade de moléculas de AraC incorporada ao DNA, assim 5 moléculas de AraC por 104 bases no DNA diminui a clonogenicidade celular em 50%. O mecanismo preciso da morte celular causada pela AraC não está compreendido. É observada fragmentação do DNA em células tratadas com AraC e há evidências citológicas e bioquímicas de apoptose em tecidos tumorais e normais. A ação desta droga ocorre principalmente na Fase S do ciclo celular.

3.3.5 Outros agentes anti-fibroblásticos

FISCELLA, ELVART, PEYMAN e YUE (1985) avaliando “in vitro” as taxas de inibição celular da dexametasona e oito agentes antineoplásicos (5-fluoracil, tiotepa, vincristina, bleomicina, citarabina, doxorubicina, metotrexate e VP-16). O menor índice de inibição (20%) ocorreu com o metotrexate e o maior (72%), com a doxorubicina. A dexametasona não apresentou efeito significativo de inibição celular.

STARITA, FELLMAN, SPAETH, PORYZEES, GREENIDGE e TRAVERSO (1985) estudaram de modo prospectivo e randomizado para avaliar a eficácia dos corticóides administrados por via tópica e sistêmica no pós-operatório de trabeculectomias. Obtiveram significativo aumento no sucesso cirúrgico dos pacientes em que se administrou acetato de prednisolona a 1% por via tópica. Não houve qualquer sinal de melhora nos resultados com o uso de corticóides administrados por via sistêmica.

GIANGIACOMO, DUEKER e ADELSTEIN (1986) estudando o efeito da aplicação, 7 dias antes da cirurgia, de 4 mg de acetato de triamcinolona no local a ser realizada a trabeculectomia, em olhos considerados de alto risco para falência cirúrgica. Obtiveram controle da pressão (18 mmHg ou menos) em 14 olhos e falência cirúrgica em apenas 1 caso.

KAY, LITIN, JONES, FRYCZOWSKI, CHVAPIL E HERSCHLER (1986) estudando em coelhos o efeito de implantes de colágeno, com 5-fluorouracil e bleomicina sobre a longevidade de bolhas filtrantes. Obtiveram um prolongamento da existência das bolhas semelhantes nos dois grupos, mas o aspecto clínico e a função das bolhas filtrantes, foi superior no grupo tratado com bleomicina.

McGUIGAN, COOK e YABLONSKI (1987) estudaram em coelhos os efeitos da aplicação tópica pós-operatória de dexametasona 0,01% e de D-penicilamina 10% subconjuntival. Ambas aumentaram a duração das bolhas filtrantes.

FOURMAN (1988) Estudando os efeitos da instilação tópica de β -aminopropionitrilo no pós-operatório de trabeculectomias em coelhos, obtiveram um aumento significativo no sucesso cirúrgico após 2 e 4 semanas, sem qualquer indício de efeito colateral que pudesse ser atribuído à substância estudada.

McGUIGAN, QUIGLEY, LUTTY, ENGER e YOUNG (1988) estudando os efeitos da D-penicilamina e Daunorrubicina sobre culturas de fibroblastos conjuntivais, observaram que ambas as drogas apresentaram efeitos antiproliferativos, mas a D-penicilamina necessitou uma concentração 2000 vezes maior que a daunorrubicina para alcanças os mesmos níveis de inibição.

FOURMAN E VAID (1989) estudando a aplicação intra-camerular de 25 μg de TPA (Inibidor do Plasminogênio Tecidual) durante cirurgias fistulizantes antiglaucomatosas de espessura total em coelhos. Obtiveram maior índice de bolhas filtrantes formadas, com uma semana de seguimento. Com 2 semanas, não houve diferença estatística em relação ao placebo.

JAMPEL (1990) estudando os efeitos do ácido ascórbico que está presente em altas concentrações no aquoso, sobre culturas de fibroblastos da Cápsula de Tenon, obteve redução no número de células de até $90 \pm 5\%$ e sugeriu que se os mesmos efeitos fossem obtidos “in vivo”, o ácido ascórbico poderia ser de grande utilidade nas Cirurgias Fistulizantes Antiglaucomatosas.

LEE, LEE, CORTES e KITADA (1990) estudando culturas de fibroblastos provenientes da Cápsula de Tenon humana, tratados com mitramicina, mitomicina, daunorrubicina e bleomicina. Foi calculada a DL_{50} destas drogas e com estas doses, somente a daunorrubicina apresentou efeito citotóxico, mas todas apresentaram efeitos antiproliferativos. A DL_{50} calculada foi de 10^{-8} M, 0,11 $\mu\text{g/ml}$, 5 ng/ml e 10 $\mu\text{g/ml}$ respectivamente para mitramicina, mitomicina, daunorrubicina e bleomicina.

KHAW, SHERWOOD, MACKAY, ROSSI e SCHULTZ (1992) estudando a aplicação de floxuridina sobre culturas de fibroblastos da Cápsula de Tenon humana, notaram que altas concentrações (15000 $\mu\text{g/ml}$) de floxuridina possuem efeito citotóxico, como a Mitomicina. Já o fluoracil possui efeitos apenas citostáticos.

SHARIR (1994) estudou os efeitos da instilação tópica de minoxidil no pós-operatório de cirurgias fistulizantes de espessura total em coelhos. Obtiveram redução no número de fibroblastos e aumento no tempo de sobrevivência das bolhas filtrantes com concentrações de 120 mM.

4 MATERIAL E MÉTODO

4 MATERIAL E MÉTODO

Este estudo experimental, longitudinal, controlado, randomizado e cego foi realizado no Hospital de Clínicas da Universidade Federal do Paraná e Hospital Evangélico de Curitiba.

Aplicaram-se as normas da Associação Brasileira de Normas Técnicas (NBR-6023) de 1989 e as Normas para Apresentação de Trabalhos da Universidade Federal do Paraná (1992) para referências bibliográficas e abreviaturas de títulos e periódicos.

Para a descrição anatômica dos animais, utilizou-se da descrição de PRINCE (1964).

4.1 AMOSTRA / ANIMAIS DE EXPERIMENTAÇÃO

Os experimentos foram realizados em coelhos da raça Nova Zelândia, do sexo masculino e com peso entre 1,5 e 2,0 Kg, sem sinais de doença, provenientes do biotério da Associação de Proteção à Maternidade e à Infância “SAZA LATTES”.

A amostra foi dividida conforme a droga aplicada em 2 grupos:

GRUPO A - 12 animais aplicada Mitomicina C;

GRUPO B - 12 animais aplicada Citarabina.

4.2 ESTUDO PILOTO

Como grupo piloto, foram operados 4 coelhos (2 de cada grupo), para treinar a técnica e verificar as dificuldades encontradas. Realizou-se a aplicação subconjuntival da Mitomicina C e da Citarabina para estudar sua ação sobre os fibroblastos da cápsula de Tenon, que constituem o principal fator na falência das cirurgias fistulizantes antiglaucomatosas (SILVA E MELLO, 1995).

4.3 PRÉ-OPERATÓRIO

Os animais ficaram alojados no biotério do Instituto de Pesquisas Médicas do Hospital Evangélico de Curitiba, em gaiolas com no máximo 4 animais cada. Receberam ração rotina deste biotério e água "ad libitum". Foram observados antes das cirurgias, por um período de 7 a 10 dias. Neste período procurou-se notar algum sinal de doença ou característica que diferenciasse o animal do restante do grupo.

A distribuição dos animais para os grupos A e B e a escolha do olho (direito ou esquerdo) que receberia a droga ou placebo, ocorreu de forma aleatória, lançando-se moeda ao alto, durante o período de realização das cirurgias.

4.4 ANESTESIA

As cirurgias foram realizadas sob anestesia geral, obtida com a associação de Ketamina (KETALAR®), na dose de 50 mg/Kg e Cloridrato de 2-(2,6-xilidino)-5,6-

dihidro-4H-1,3-tazina (ROMPUM ®), na dose de 10 mg/Kg, aplicados via intramuscular, conforme descrição de DERICK, PASQUALE, QUIGLEY e JAMPEL (1991) e KHAW, DOYLE, SHERWOOD, SMITH e MCGORRAY (1993).

4.5 IDENTIFICAÇÃO DOS ANIMAIS

Com o animal já anestesiado, foi realizado um sorteio, para escolher a qual grupo pertenceria o animal (Grupo A ou B), sendo anotado este dado em ficha individual.

A identificação dos animais deu-se através da pintura de números com ácido picróico na face interna das orelhas.

4.6 DROGAS ANTI-FIBROBLÁSTICAS

As drogas anti-fibroblásticas, utilizadas durante as cirurgias, foram diluídas em Solução Salina Balanceada (BSS ®- Laboratórios ALCON), até obter a concentração desejada.

A concentração utilizada para a MMC foi de 20 ug/ml e para a Ara-C de 0,2 ug/ml. Foram escolhidas estas concentrações, pelo fato de representarem a dose necessária para inibir 50% do crescimento das células em relação ao controle, nos estudos de JAMPEL (1992) e MALLICK, HAJEK e PARRISH (1985), respectivamente para a Mitomicina-C e Citarabina.

Nos animais do Grupo A, foi aplicada Mitomicina-C em um olho, e Solução Salina Balanceada (BSS ® - Laboratórios ALCON), no outro. Naqueles do Grupo B, foi aplicado Citarabina em um olho, e no outro Solução Salina Balanceada (BSS ® - Laboratórios ALCON)

4.7 TÉCNICA OPERATÓRIA

As cirurgias realizadas nos animais do grupo A foram semelhantes às realizadas nos animais do grupo B, diferindo apenas no agente anti-fibroblástico utilizado: Mitomicina C no grupo A e Citarabina no grupo B.

4.7.1 Material Utilizado

Para a realização das cirurgias, foi utilizado o seguinte material:

- Microscópio cirúrgico D-F-V (D.F. Vasconcelos, Brasil), especial para cirurgia oftalmológica, em aumento de 16 vezes;

- Blefarostatos, tesouras, pinças e porta-agulhas para microcirurgia oftalmológica (ROCA materiais cirúrgicos, LTDA, Brasil),

- Fios para sutura Vicryl 8-0 (Ethicon, Johnson & Johnson Produtos Profissionais, Ltda, Brasil);

- Seringas descartáveis de 5 e 10 ml; agulhas descartáveis 25x7 (Becton & Dickinson Ind. Cirúrgicas Ltda., Brasil).

4.7.2 Procedimento cirúrgico

Já anestesiado, o animal foi colocado sobre campos estéreis, sendo realizada antissepsia da região peri-ocular com solução de Povidine a 50%, sem realizar tricotomia.

A seguir, foi coberto com campo fenestrado, permitindo a apresentação apenas da região ocular.

Rotineiramente, operou-se primeiro o olho direito e a seguir o esquerdo do animal.

As pálpebras foram mantidas abertas através do uso de blefarostato, sem provocar tensão sobre a conjuntiva (Figura 1).

A dissecação conjuntival foi iniciada a 6 mm do limbo, dissecando-se um retalho com base próxima ao limbo esclero-corneano. A confecção deste retalho foi cuidadosa no intuito de não lesar a conjuntiva. Naqueles casos em que houve formação de solução de continuidade conjuntival, o animal foi imediatamente substituído. Escolhemos o retalho conjuntival com base voltada para o limbo, pelo fato de sua síntese ser tecnicamente mais fácil, em relação ao retalho com base voltada para o fórnix conjuntival (Figura 2).

Determinou-se através de sorteio, se no olho operado seria aplicada a droga anti-fibroblástica ou o placebo (Solução Salina Balanceada), anotando em ficha individual.

Aplicou-se a substância embebida em um cotonete, durante 3 minutos dentro do retalho conjuntival, entre a Cápsula de Tenon e o tecido conjuntivo episcleral (Figura

3). A seguir retirou-se o excesso da droga com cotonete seco, lavando-se copiosamente o local da aplicação com 40 ml de BSS.

A síntese conjuntival foi obtida através de chuleio contínuo com fio Vicryl 8-0 (Poliglactina 910 - ETHICON® - agulha TG 140-8), abrangendo conjuntiva e Cápsula de Tenon, em plano único (Figura 4).

A seguir, foi repetido o procedimento cirúrgico no olho esquerdo, com a outra substância (agente anti-fibroblástico ou BSS).

Não foi realizada oclusão ou aplicação de qualquer medicamento no local ou sistêmico, nos animais operados.

4.7.3 Registros fotográficos

O Registro fotográfico dos principais passos cirúrgicos realizados, foi feito em película fotográfica KODAK Pro-image® Asa 100, com câmara fotográfica CANON EF-M ® acoplada a tubo de extensão CANON EF25® e teleobjetiva de 50 mm e flash circular para macrofotografia VIVITAR Macroflash 5000®.

4.8 PÓS-OPERATÓRIO

Após a cirurgia, os animais foram encaminhados novamente ao biotério, sendo submetidos a jejum de 4 horas e depois sendo liberada dieta normal. Não administrou-se qualquer medicação no local da cirurgia ou sistêmica, no período pós-operatório.

4.9 SACRIFÍCIO DOS ANIMAIS

Sob anestesia geral, foi realizada a injeção intra-cardíaca de altas doses de pentobarbital sódico para o sacrifício dos animais. Foi então realizada enucleação dos olhos, sempre mantendo com o globo ocular, a maior quantidade de conjuntiva, procurando não lesá-la. Cada grupo de animais foi subdividido de forma aleatória em 3 subgrupos. O grupo A foi subdividido nos subgrupos A1, A2 e A3 e o grupo B, nos subgrupos B1, B2 e B3. Cada subgrupo composto por 4 animais.

Os animais dos subgrupos, foram sacrificados respectivamente no 1º, 7º e 30º dia pós-operatório. A Tabela I demonstra a relação dos grupos, subgrupos e respectivos dias de sacrifício.

TABELA I - RELAÇÃO DA DIVISÃO DOS ANIMAIS EM GRUPOS, SUBGRUPOS E DIAS DE SACRIFÍCIO.

GRUPO	SUBGRUPO	SACRIFÍCIO
A	A1	1º Dia
	A2	7º Dia
	A3	30º Dia
B	B1	1º Dia
	B2	7º Dia
	B3	30º Dia

4.10 ACONDICIONAMENTO DAS PEÇAS CIRÚRGICAS

Logo após as enucleações, os olhos foram colocados em frascos identificados e submersos em solução fixadora de formalina a 10% e encaminhadas para exame histopatológico.

4.11 TÉCNICA HISTOLÓGICA

Após a fixação das peças por 48 horas, foi realizada excisão dos sítios cirúrgicos, compreendendo córnea, limbo, esclera, raiz da íris, conjuntiva e tecido subconjuntival. Isto foi realizado para obter uma perfeita ação das soluções desidratantes e parafina, utilizadas no processamento para microscopia óptica.

4.11.1 PROCESSAMENTO DAS PEÇAS

As peças foram então desidratadas em soluções de etanol a 70, 80 e 90% sucessivamente, permanecendo 2 horas em cada e etanol absoluto, durante 1 hora. A seguir foram diafanizadas em xilol a 100% durante 2 horas. Foram então emblocadas, em parafina a 50°C. Foram então realizados cortes com espessuras de 5 a 7 micrômetros, colados em lâminas para microscopia com albumina. Foi realizada identificação das lâminas com caneta de diamante.

As lâminas foram então coradas através das técnicas de Hematoxilina-Eosina (HE) e Tricrômica de Mallory.

Após realizada a coloração, foi colada lamínula para microscopia, com bálsamo do Canadá.

4.11.2 Estudo Histopatológico

Neste exame foi avaliada através de microscopia a intensidade da resposta fibroblástica e presença de sinais locais de toxicidade que pudessem estar relacionados ao agente utilizado.

Nas lâminas foram avaliadas: conjuntiva, esclera e tecido cicatricial.

1 - O epitélio conjuntival foi avaliado quanto à presença ou ausência de células de Goblet, presença ou ausência de hemorragia sub-conjuntival.

-HEMORRAGIA SUB-CONJUNTIVAL: Presente ou ausente

-CÉLULAS DE GOBLET: Normais ou diminuídas em número

2 - A esclera foi avaliada quanto à presença de hemorragia, espessamento e infiltração de polimorfonucleares, como descrito por RAMOS (1995).

-HEMORRAGIA: presente ou ausente

-ESPESSAMENTO: presente ou ausente

-INFILTRAÇÃO DE POLIMORFONUCLEARES: graduada de + a ++++:

+ 5 a 10 polimorfonucleares, por campo de grande aumento

++ 10 a 50 polimorfonucleares, por campo de grande aumento

+++ 50 a 100 polimorfonucleares, por campo de grande aumento

++++ mais de 100 polimorfonucleares, por campo de grande aumento

3 - O tecido cicatricial foi avaliado, quanto à presença de macrófagos, polimorfonucleares, fibroblastos, fibrina, fibras colágenas e neovasos.

-POLIMORFONUCLEARES: usada a mesma graduação da esclera

-MACRÓFAGOS: graduados de + a +++:

+ 5 a 10 polimorfonucleares, por campo de grande aumento

++ 10 a 50 polimorfonucleares, por campo de grande aumento

+++ mais de 50 polimorfonucleares, por campo de grande aumento

-FIBROBLASTOS: graduada de + a ++++:

+ 5 a 10 fibroblastos, por campo de grande aumento

++ 10 a 50 fibroblastos, por campo de grande aumento

+++ 50 a 100 fibroblastos, por campo de grande aumento

++++ mais de 100 fibroblastos, por campo de grande aumento

-FIBRINA: presente ou ausente

-FIBRAS COLÁGENAS: presente ou ausente

-NEOVASOS: presente ou ausente

4.11.3 Registros Fotográficos

Os Registros fotográficos das lâminas coradas por Hematoxilina-eosina e pela técnica Tricrômica de Mallory, foram realizadas em Película KODAK Gold® Asa 100, com Câmera fotográfica ZENIT 122®, acoplada através de Adaptador MINOLTA®, a um Microscópio NIKON®.

4.12 METODOLOGIA ESTATÍSTICA

Recorreu-se à análise descritiva dos dados através de quadros.

Para a comparação dos dados de Mitomicina C, Citarabina e Controle, entre si, nos diferentes momentos, foram utilizados os testes não-paramétricos “Qui-Quadrado, com correção de Yates” e “Exato de Fisher” (através do software “Primer of Biostatistics”), para amostras independentes.

O nível de significância (ou probabilidade de significância) mínimo adotado foi de 5%.

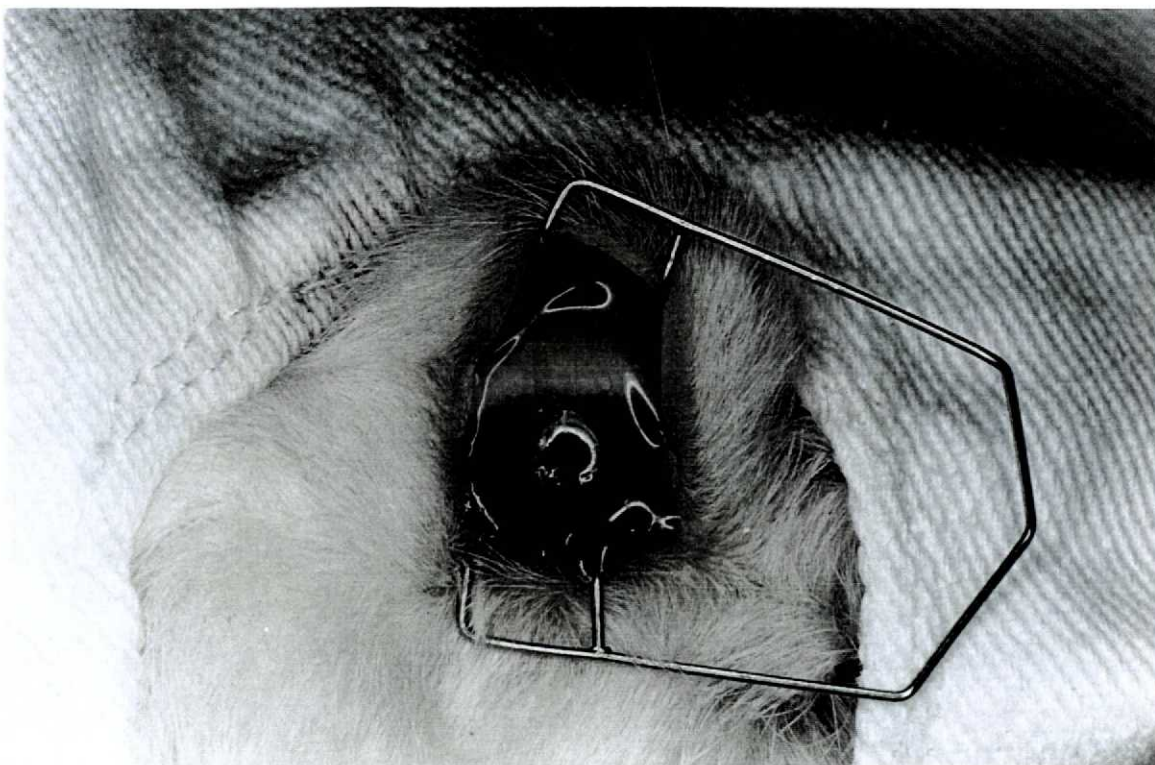


Figura 1 – Fotografia demonstrando preparação do animal para a cirurgia, com abertura das pálpebras, através de blefarostato.

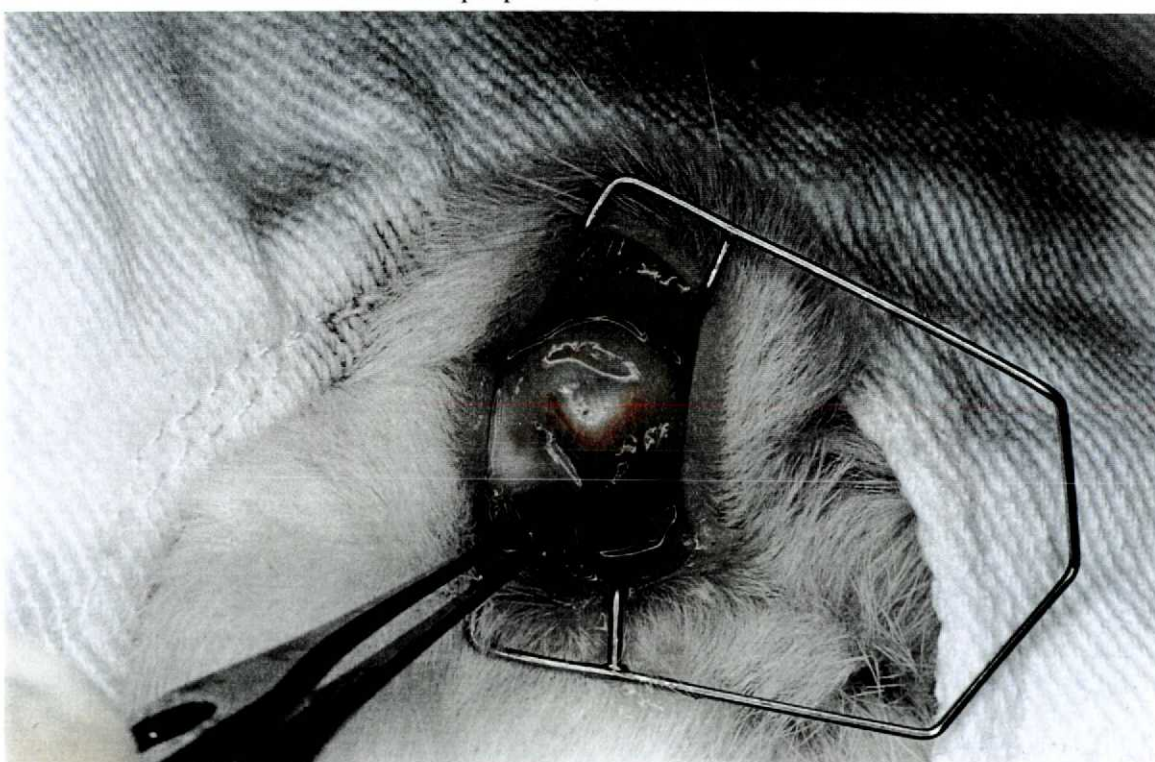


Figura 2 – Fotografia demonstrando dissecação do retalho conjuntival.

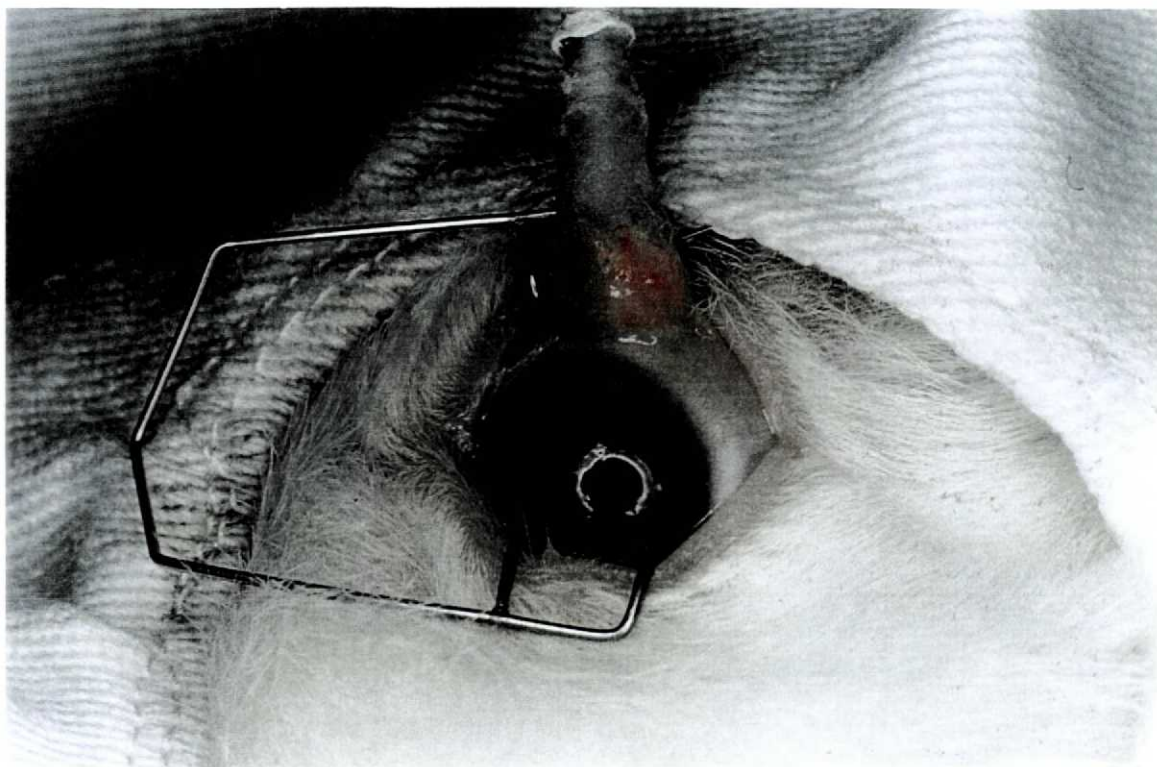


Figura 3 – Fotografia demonstrando a aplicação da droga através de cotonete.

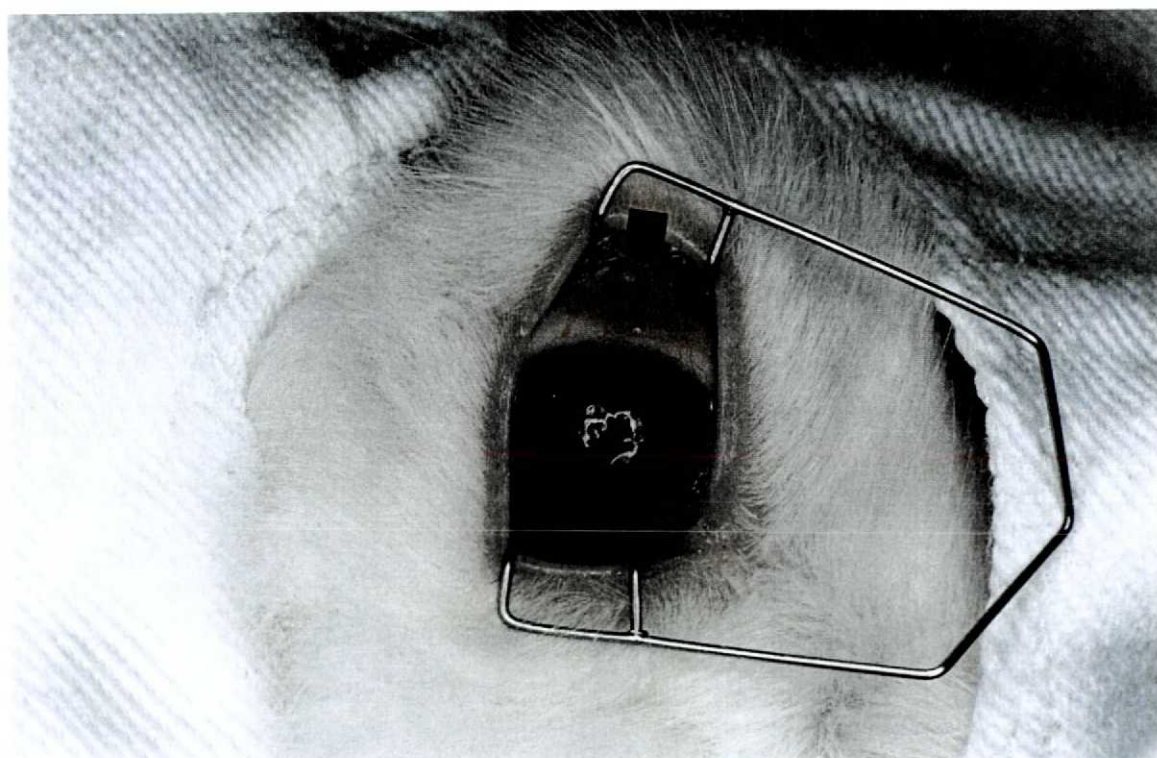


Figura 4 – Fotografia apresentando o aspecto final da cirurgia, com a síntese conjuntival com fio seda 8-0 (seta).

5 RESULTADOS

5 RESULTADOS

5.1 GRUPO A (N= 24) – OLHOS SUBMETIDOS À APLICAÇÃO DE MITOMICINA C E PLACEBO

5.1.1 Primeiro dia pós-operatório – 8 olhos

Houve hemorragia subconjuntival em 5 olhos estudados. O epitélio conjuntival apareceu normal em todos os olhos, com diminuição no número das células de Goblet em 5 olhos. A esclera apareceu espessada em todos os olhos, sem ocorrência de hemorragia ou infiltração por polimorfonucleares. O tecido subconjuntival no local da incisão apresentou macrófagos +/3 em 2 olhos e presença de fibrina em todos os olhos. Não foi evidenciado colágeno ou neovasos em nenhum caso. Em 7 olhos foram identificados fibroblastos +/4 e ++/4 em 1 olho (QUADRO 1).

5.1.2 Sétimo dia pós-operatório – 8 olhos

A hemorragia sub-conjuntival foi evidenciada em 1 olho. As células de Goblet apareceram diminuídas em 4 olhos. A esclera apresentou-se normal em todos os olhos.

O tecido subconjuntival apresentou macrófagos ++/3 em 5 olhos; presença de fibrina em 5 olhos; fibroblastos +/4 em 4 olhos e +++/4 em 4 olhos. Identificadas algumas fibras colágenas em 2 olhos e início de neovascularização em 3 olhos (QUADRO 1).

5.1.3 Trigésimo dia pós-operatório – 8 olhos

O epitélio conjuntival e a esclera apareceram normais em todos os olhos. O tecido subconjuntival apresentou macrófagos +/3 em todos os olhos, fibroblastos +/4 em 6 olhos, ++/4 em 1 olho e +++/4 em 1 olho. Grande incidência de colágeno, com suas fibras organizadas paralelamente à esclera e neovascularização evidente em todos os olhos (QUADRO 1).

5.2 GRUPO B (N=24) – OLHOS SUBMETIDOS À APLICAÇÃO DE CITARABINA E PLACEBO

5.2.1 Primeiro dia pós-operatório – 8 olhos

Foi encontrada hemorragia sub-conjuntival em 7 olhos. Em todos os olhos estudados o epitélio conjuntival apareceu normal, com diminuição no número das células de Goblet, em 5 olhos. A esclera apareceu espessada em todos os olhos, sem ocorrência de hemorragia. Houve infiltração por polimorfonucleares +/4 em 1 olho. O tecido subconjuntival apresentou macrófagos +/3 em 1 olho e ++/4 em 1 olho; em

todos os olhos foi evidenciada fibrina; não foi evidenciado colágeno nem neovasos. Em 6 olhos apareceram fibroblastos +/4 e em 2 olhos +++/4 (QUADRO 2).

5.2.2 Sétimo dia pós-operatório – 8 olhos

Foi evidenciada hemorragia subconjuntival em 1 olho. As células de Goblet apareceram em número diminuído em 4 olhos. A esclera apresentou-se normal em todos os olhos. O tecido subconjuntival demonstrou macrófagos ++/3 em 3 olhos e +/4 em 2 olhos, presença de fibrina em 7 olhos, fibroblastos +/4 em 3 olhos, +++/4 em 2 olhos e ++++/4 em 3 olhos. Foram identificadas fibras colágenas em 3 olhos e início de neovascularização em 3 olhos (QUADRO 2).

5.2.3 Trigésimo dia pós-operatório – 8 olhos

O epitélio conjuntival e a esclera apareceram normais em todos os olhos. O tecido sub-conjuntival apresentou macrófagos +/3 em todos os olhos; fibroblastos ++/4 em 1 olho e +/4 em 7 olhos. Houve grande incidência de fibras colágenas e neovascularização evidente (QUADRO 2).

5.3 REGISTROS FOTOGRÁFICOS

Os aspectos histopatológicos principais nas diversas etapas estudadas serão demonstrados a seguir nas figuras 5 a 10.

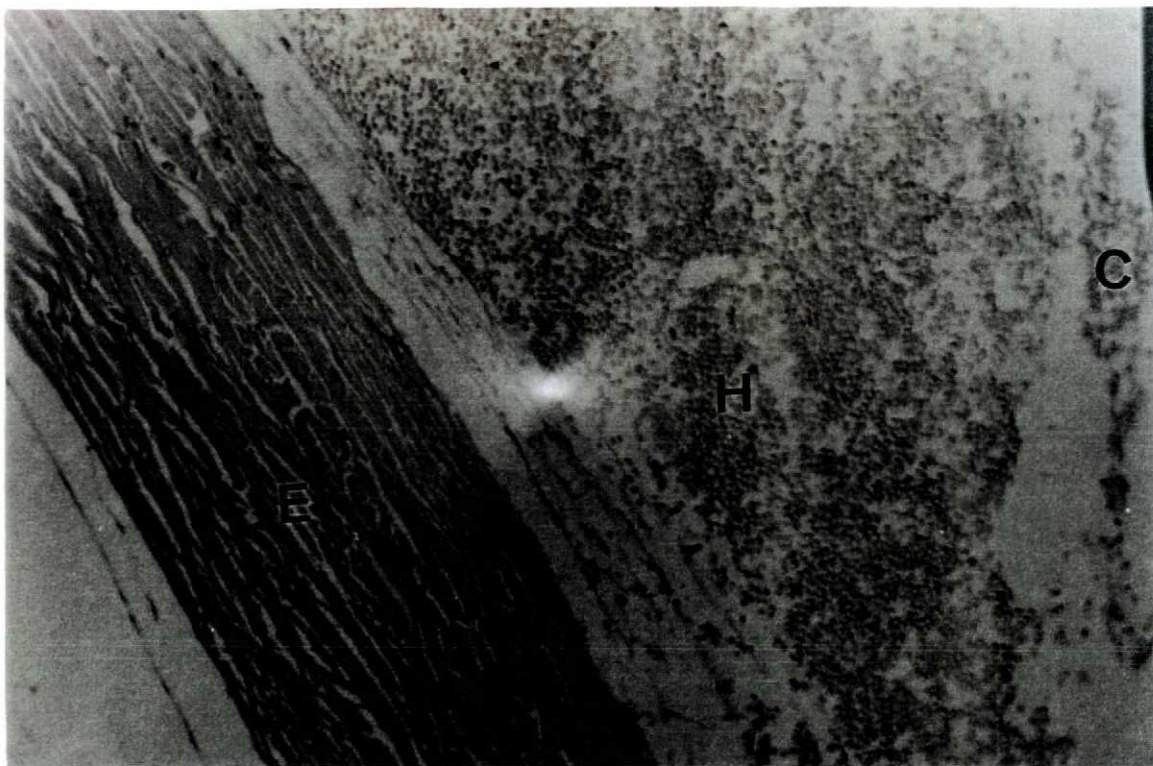


FIGURA 5 – Fotomicrografia do primeiro dia pós-operatório, de coelho tratado com Mitomicina C, corada com HE x 100. E – esclera; H – hemorragia; C – conjuntiva



FIGURA 6 - Fotomicrografia do primeiro dia pós-operatório, de coelho tratado com Mitomicina C, corada com Tricrômica de Mallory x 100. E – esclera; H – hemorragia; C – conjuntiva



FIGURA 7 – Fotomicrografia do sétimo dia pós-operatório, de coelho tratado com placebo, corada com HE x 100. E – esclera; H – tecido cicatricial; C -

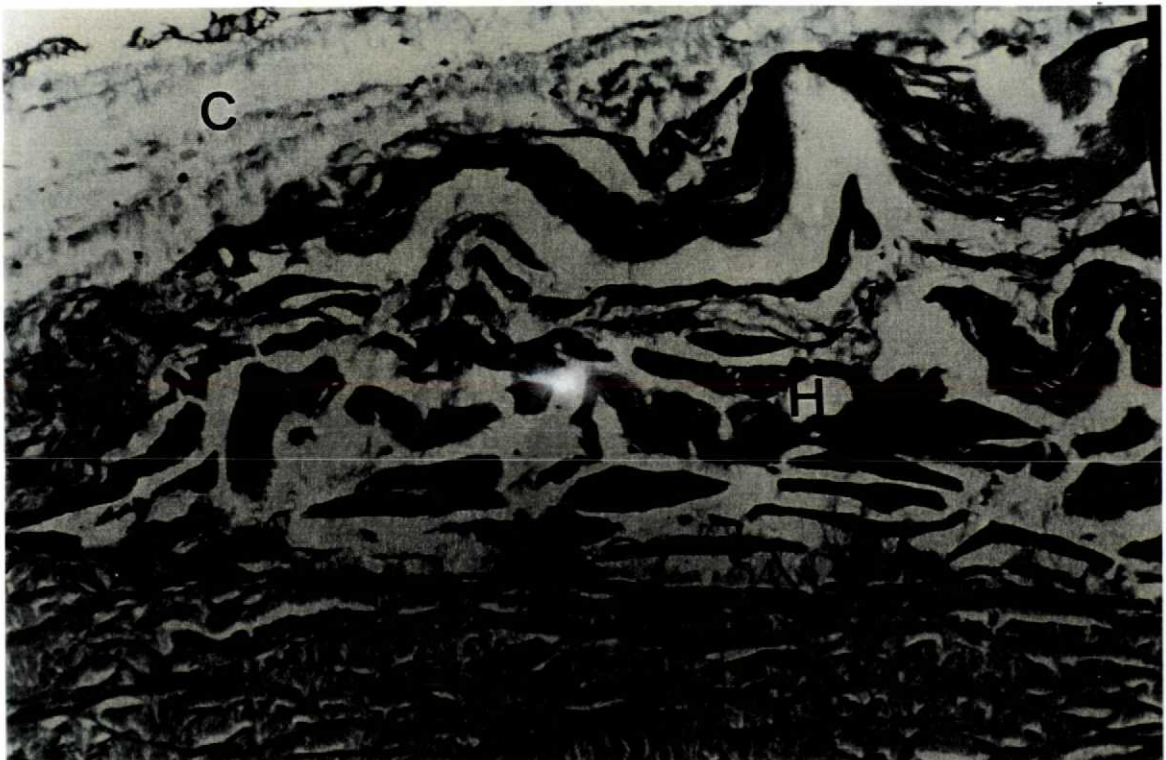


FIGURA 8 - Fotomicrografia do sétimo dia pós-operatório, de coelho tratado com placebo, corada com Tricrômica de Mallory x 100. E – esclera; H – tecido cicatricial; C – conjuntiva

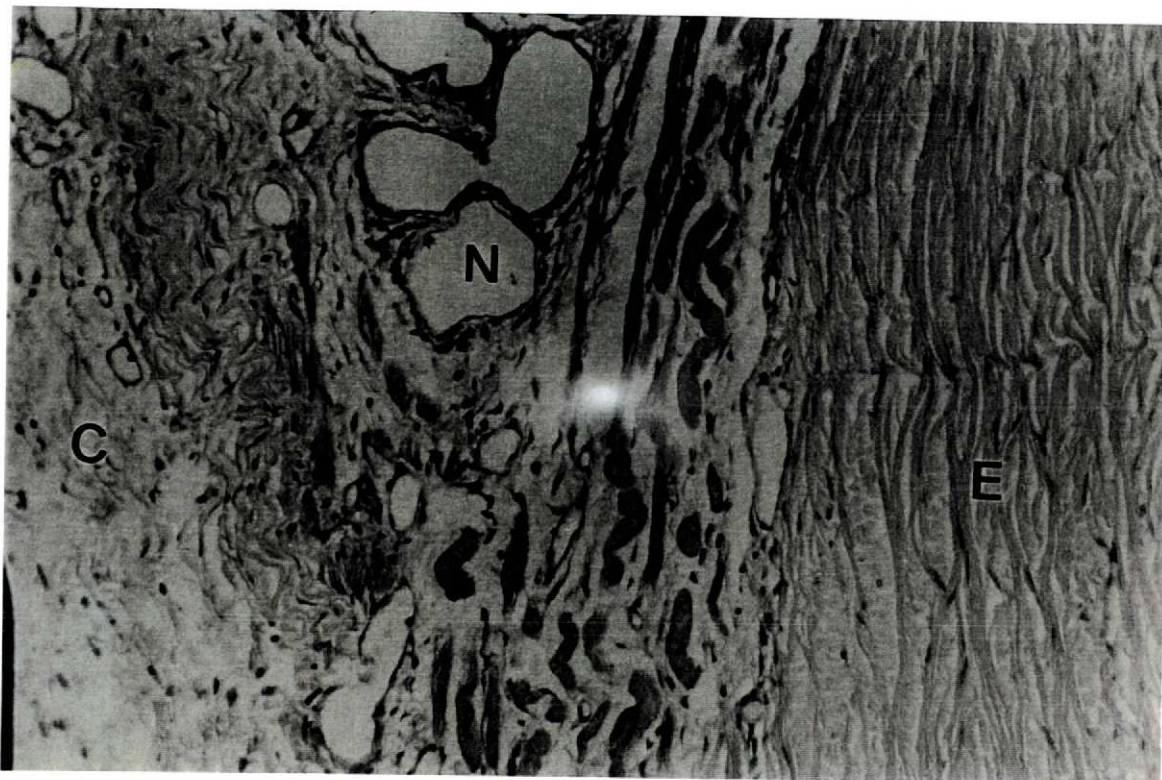


FIGURA 9 – Fotomicrografia do trigésimo dia pós-operatório, de coelho tratado com Citarabina, corada com HE x 100. E – esclera; C – conjuntiva; N - neovasos

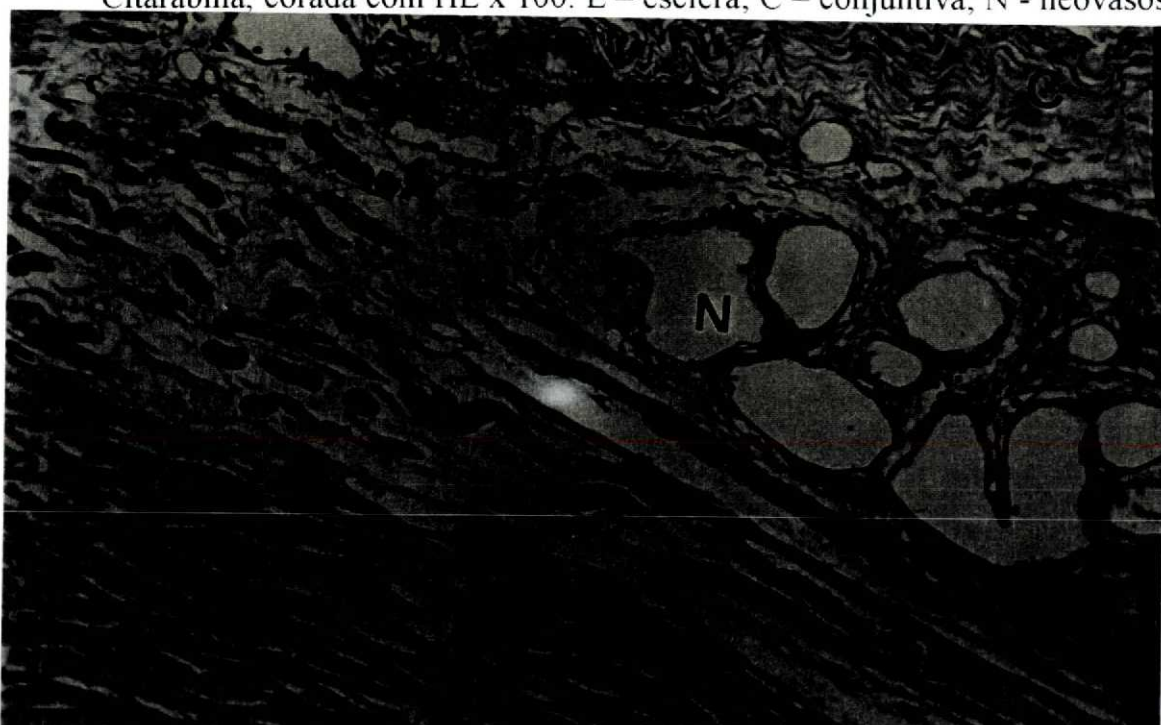


FIGURA 10 - Fotomicrografia do trigésimo dia pós-operatório, de coelho tratado com Citarabina, corada com Tricrômica de Mallory x 100. E – esclera; C – conjuntiva; N – neovasos.

5.4 ANÁLISE ESTATÍSTICA

Na avaliação da presença de hemorragia subconjuntival não houve diferença estatisticamente significativa entre os 2 grupos em nenhum momento do estudo ($p = 0,6666$) (QUADRO 3).

Quanto ao número de Células de Goblet não houve diferença estatística ($p = 0,6788$) entre os 2 grupos (QUADRO 3).

Não houve diferença estatística entre os 2 grupos ($p = 0,6788$) na avaliação da presença de macrófagos em nenhum momento do estudo (QUADRO 3).

Quanto à quantidade de fibrina no local não houve diferença estatística ($p = 0,5000$) entre os 2 grupos em nenhum momento do estudo (QUADRO 3).

A presença e quantidade de fibroblastos nos 2 grupos foi muito semelhante e não permitiu cálculo estatístico.

Quanto à frequência e incidência de colágeno, não houve diferença estatística no decorrer do estudo ($p = 0,5000$) (QUADRO 3).

A análise dos neovasos não demonstrou diferença estatística entre os 2 grupos ($p = 0,6788$) (QUADRO 3).

QUADRO 1 – DADOS GERAIS DA MITOMICINA C E DO SEU CONTROLE, NO 1º, 7º E 30º DIA PÓS-OPERATÓRIO

DADOS	MITOMICINA C							
	1º Dia (n = 04)		7º Dia (n = 04)		30º Dia (n = 04)		Total (n = 12)	
	Nº	%	Nº	%	Nº	%	Nº	%
HEMORRAGIA SUBCONJUNTIVAL								
• Presente	03	75,0	01	25,0	-	-	04	33,3
• Ausente	01	25,0	03	75,0	04	100,0	08	66,7
CÉLULAS DE GOBLET								
• Normais	01	25,0	02	50,0	04	100,0	07	58,3
• Diminuídas	03	75,0	02	50,0	-	-	05	41,7
MACRÓFAGOS								
• Presente	01	25,0	03	75,0	04	100,0	08	66,7
• Ausente	03	75,0	01	25,0	-	-	04	33,3
FIBRINA								
• Presente	04	100,0	03	75,0	-	-	07	58,3
• Ausente	-	-	01	25,0	04	100,0	05	41,7
FIBROBLASTOS								
• Pequena	03	75,0	03	75,0	04	100,0	10	83,3
• Grande	01	25,0	01	25,0	-	-	02	16,7
COLÁGENO								
• Presente	-	-	-	-	04	100,0	04	33,3
• Ausente	04	100,0	04	100,0	-	-	08	66,7
NEOVASOS								
• Presente	-	-	01	25,0	04	100,0	05	41,7
• Ausente	04	100,0	03	75,0	-	-	07	58,3

DADOS	CONTROLE							
	1º Dia (n = 04)		7º Dia (n = 04)		30º Dia (n = 04)		Total (n = 12)	
	Nº	%	Nº	%	Nº	%	Nº	%
HEMORRAGIA SUBCONJUNTIVAL								
• Presente	02	50,0	-	-	-	-	02	16,7
• Ausente	02	50,0	04	100,0	04	100,0	10	83,3
CÉLULAS DE GOBLET								
• Normais	02	50,0	02	50,0	04	100,0	08	66,7
• Diminuídas	02	50,0	02	50,0	-	-	04	33,3
MACRÓFAGOS								
• Presente	01	25,0	02	50,0	04	100,0	07	58,3
• Ausente	03	75,0	02	50,0	-	-	05	41,7
FIBRINA								
• Presente	04	100,0	02	50,0	-	-	06	50,0
• Ausente	-	-	02	50,0	04	100,0	06	50,0
FIBROBLASTOS								
• Pequena	04	100,0	01	25,0	02	50,0	07	58,3
• Grande	-	-	03	75,0	02	50,0	05	41,7
COLÁGENO								
• Presente	-	-	02	50,0	04	100,0	06	50,0
• Ausente	04	100,0	02	50,0	-	-	06	50,0
NEOVASOS								
• Presente	-	-	02	50,0	04	100,0	06	50,0
• Ausente	04	100,0	02	50,0	-	-	06	50,0

QUADRO 2 - DADOS GERAIS DA CITARABINA E DO SEU CONTROLE, NO 1º, 7º E 30º DIA PÓS-OPERATÓRIO

DADOS	CITARABINA							
	1º Dia (n = 04)		7º Dia (n = 04)		30º Dia (n = 04)		Total (n = 12)	
	Nº	%	Nº	%	Nº	%	Nº	%
HEMORRAGIA SUBCONJUNTIVAL								
• Presente	04	100,0	-	-	-	-	04	33,3
• Ausente	-	-	04	100,0	04	100,0	08	66,7
CÉLULAS DE GOBLET								
• Normais	01	25,0	02	50,0	04	100,0	07	58,3
• Diminuídas	03	75,0	02	50,0	-	-	05	41,7
MACRÓFAGOS								
• Presente	-	-	02	50,0	04	100,0	06	50,0
• Ausente	04	100,0	02	50,0	-	-	06	50,0
FIBRINA								
• Presente	04	100,0	04	100,0	-	-	08	66,7
• Ausente	-	-	-	-	04	100,0	04	33,3
FIBROBLASTOS								
• Pequena	03	75,0	02	50,0	04	100,0	09	75,0
• Grande	01	25,0	02	50,0	-	-	03	25,0
COLÁGENO								
• Presente	-	-	01	25,0	04	100,0	05	41,7
• Ausente	04	100,0	03	75,0	-	-	07	58,3
NEOVASOS								
• Presente	-	-	01	25,0	04	100,0	05	41,7
• Ausente	04	100,0	03	75,0	-	-	07	58,3

DADOS	CONTROLE							
	1º Dia (n = 04)		7º Dia (n = 04)		30º Dia (n = 04)		Total (n = 12)	
	Nº	%	Nº	%	Nº	%	Nº	%
HEMORRAGIA SUBCONJUNTIVAL								
• Presente	03	75,0	01	25,0	-	-	04	33,3
• Ausente	01	25,0	03	75,0	04	100,0	08	66,7
CÉLULAS DE GOBLET								
• Normais	02	50,0	02	50,0	04	100,0	08	66,7
• Diminuídas	02	50,0	02	50,0	-	-	04	33,3
MACRÓFAGOS								
• Presente	02	50,0	03	75,0	04	100,0	09	75,0
• Ausente	02	50,0	01	25,0	-	-	03	25,0
FIBRINA								
• Presente	04	100,0	03	75,0	-	-	07	58,3
• Ausente	-	-	01	25,0	04	100,0	05	41,7
FIBROBLASTOS								
• Pequena	03	75,0	01	25,0	03	75,0	07	58,3
• Grande	01	25,0	03	75,0	01	25,0	05	41,7
COLÁGENO								
• Presente	-	-	02	50,0	04	100,0	06	50,0
• Ausente	04	100,0	02	50,0	-	-	06	50,0
NEOVASOS								
• Presente	-	-	03	75,0	04	100,0	07	58,3
• Ausente	04	100,0	01	25,0	-	-	05	41,7

QUADRO 3 - RESULTADO DOS TESTES APLICADOS NA COMPARAÇÃO DOS DADOS DA MITOMICINA C COM A CITARABINA, NOS DIFERENTES MOMENTOS

DADOS	RESULTADO DO TESTE	TESTE APLICADO	VALOR TABELADO	SIGNIFICÂNCIA
1º DIA PÓS-OPERATÓRIO				
• Hemorragia Subconjuntival	-	Fisher	p = 0,5000	NS
• Células de <i>Goblet</i>	-	"	p = 0,7857	NS
• Macrófagos	-	Fisher	p = 0,5000	NS
• Fibrina	-	-	-	-
• Fibroblastos	-	Fisher	p = 0,7857	NS
• Colágeno	-	-	-	-
• Neovasos	-	-	-	-
7º DIA PÓS-OPERATÓRIO				
• Hemorragia Subconjuntival	-	Fisher	p = 0,5000	NS
• Células de <i>Goblet</i>	-	"	p = 0,7571	NS
• Macrófagos	-	"	p = 0,5000	NS
• Fibrina	-	"	p = 0,5000	NS
• Fibroblastos	-	"	p = 0,5000	NS
• Colágeno	-	"	p = 0,5000	NS
• Neovasos	-	Fisher	p = 0,7857	NS
30º DIA PÓS-OPERATÓRIO				
• Hemorragia Subconjuntival	-	-	-	-
• Células de <i>Goblet</i>	-	-	-	-
• Macrófagos	-	-	-	-
• Fibrina	-	-	-	-
• Fibroblastos	-	-	-	-
• Colágeno	-	-	-	-
• Neovasos	-	-	-	-
TOTAL GERAL				
• Hemorragia Subconjuntival	-	Fisher	p = 0,6666	NS
• Células de <i>Goblet</i>	0,17	Qui-Quadrado	p = 0,6788	NS
• Macrófagos	0,17	Qui-Quadrado	p = 0,6788	NS
• Fibrina	-	Fisher	p = 0,5000	NS
• Fibroblastos	-	"	p = 0,5000	NS
• Colágeno	-	Fisher	p = 0,5000	NS
• Neovasos	0,17	Qui-Quadrado	p = 0,6788	NS

NOTA: Resultado do teste obtido através do software "EPI-INFO".

6 DISCUSSÃO

6 DISCUSSÃO

Para definir a técnica cirúrgica ideal, foram realizados 3 estudos pilotos. Durante a realização de um primeiro estudo tentou-se realizar uma cirurgia completa de glaucoma, onde encontrou-se grande dificuldade na dissecação do retalho escleral da trabeculectomia, devido à pequena espessura escleral e rigidez limbar nos animais.

Tentou-se então realizar uma fístula escleral protegida, através do procedimento de Scheie modificado, conforme descrito por MILLER, JOSEPH, GRIERSON e HITCHINGS (1985). Neste novo estudo piloto, também com 4 animais, verificou-se a pequena reprodutibilidade desta cirurgia em coelhos e a intensa coagulação do aquoso, que poderiam agir como fatores de erro no estudo.

Os coelhos possuem má anatomia para a realização de cirurgias fistulizantes, devido à pequena espessura da esclera que dificulta a dissecação do retalho escleral e adesão de fibras zonulares e processos ciliares à face posterior da íris, dificultando as iridectomias e provocando sangramento (SKUTA E PARRISH, 1987). Apesar destas dificuldades, é um animal que apresenta grande resposta ao trauma, constituindo um modelo ideal para o estudo de sua cicatrização.

Decidiu-se no terceiro grupo piloto pelo estudo da cicatrização sub-conjuntival e sua inibição pela Mitomicina C e pela Citarabina, sem atuar sobre a câmara anterior.

Realizou-se no mesmo animal a aplicação da droga em teste em um olho e do placebo (BSS) no outro, para minimizar as variações individuais de resposta ao trauma de cada animal. A seleção do grupo ao qual pertencia o animal e do olho que seria controle e do olho que receberia a droga a ser testada, foi realizada de forma aleatória. Este estudo foi considerado cego, porque o patologista não sabia a que grupo pertencia o animal, quando examinava a lâmina. Todos os procedimentos operatórios foram realizados pelo mesmo profissional e todas os exames histopatológicos foram realizados pelo mesmo patologista, para minimizar as variações. Não foi realizada medicação pós-operatória, para prevenir qualquer efeito sobre a cicatrização conjuntival, que também pudesse agir como fator de erro.

Existem atualmente diversas pesquisas sobre drogas que possam auxiliar no controle da cicatrização pós-operatória em cirurgias de glaucoma. Escolhemos para o estudo a citarabina, pelo seu valor comercial mais baixo e por ser uma droga que “in vitro” apresenta efeitos antiproliferativos sobre a cápsula de Tenon, com doses muito menores que o 5-fluorouracil (MALLIK, HAJEK e PARRISH II, 1985) e com doses não-tóxicas para a infusão intra-ocular semelhantes ou menores que a mitomicina C (PEYMAN, GREENBERG, FISHMAN, FISCELLA E THOMAS, 1984).

A escolha de coelhos para a realização deste experimento deveu-se à grande resposta ao trauma destes animais (PEIFFER JR, MERRIT, WRIGHT E JONES, 1981). Como não foi realizada cirurgia sobre a esclera e câmara anterior, as dificuldades anatômicas, e a necessidade do uso de heparina intra-camerular não atuaram como fator de erro no estudo.

Nas cirurgias fistulizantes antiglaucomatosas é criada uma fistula entre a câmara anterior e o espaço sub-conjuntival, permitindo o fluxo de humor aquoso para o espaço

sub-conjuntival e conseqüente diminuição da pressão intra-ocular. Se ocorrer a cicatrização da fistula criada pela cirurgia, haverá falência cirúrgica. A oclusão da fistula ocorre pela proliferação de fibroblastos do espaço sub-conjuntival para a esclera e local da trabeculectomia. A esclera possui ação desprezível ou inexistente neste processo (MAUMENEE, 1960), por este motivo escolhemos o espaço sub-conjuntival para a realização do estudo.

Atualmente é freqüente o uso de drogas anti-fibroblásticas para reduzir a cicatrização no pós-operatório das cirurgias de glaucoma. Seus resultados são indiscutíveis, mas seus efeitos colaterais a curto e longo prazo não podem ser desprezados. As pesquisas atuais tentam definir quais as drogas e concentrações que apresentam melhor ação, com o menor índice possível de efeitos colaterais, bem como a técnica operatória a escolher.

Alguns autores preferem a aplicação do agente anti-fibroblástico entre os lábios do retalho escleral, outros no espaço sub-conjuntival antes da delaminação escleral. Concordamos com a aplicação no espaço sub-conjuntival, pois a delaminação escleral, pode criar microfissuras que permitam a penetração do agente fibroblástico na câmara anterior. Desde 1960 é sabido que a esclera não possui ação significativa no processo de oclusão da fistula e os agentes anti-fibroblásticos são extremamente tóxicos às estruturas intra-oculares, mesmo em doses muito baixas (DERICK, PASQUALE, QUIGLEY E JAMPEL, 1991). Este motivo nos levou a apenas estudar a ação destes agentes sobre os tecidos subconjuntivais, minimizando fatores de erro sobre o estudo.

A inibição da cicatrização pode ser realizada em diversos estágios, segundo COSTA, SPAETH, EIFFERMANN e ORENGO-NANIA (1993): formação do coágulo de fibrina (TPA e heparina), fase inflamatória (corticosteróides), proliferação

de fibroblastos (Radiação beta, 5-fluorouracil, mitomicina C, Citarabina, anti-TGF), produção de colágeno (Anti-TGF e Gama-Interferon) e maturação do colágeno (D-penicilamina).

Atualmente as drogas mais usadas são aquelas que provocam inibição da proliferação dos fibroblastos, reduzindo a produção de colágeno, com retardo ou inibição da cicatrização. Os fibroblastos envolvidos neste processo derivam das células mesenquimatosas do sangue e tecidos episclerais e da Cápsula de Tenon (RADER e PARRISH II, 1991). Estes fibroblastos aparecem no terceiro dia após o trauma e após o quinto dia correspondem ao tipo celular predominante.

Os fibroblastos secretam procolágeno, que será transformado em tropocolágeno no espaço extracelular. As fibras de tropocolágeno unem-se para formar fibras de colágeno solúvel, que transformam-se em colágeno maduro (GRÁFICO I). Os fibroblastos secretam também mucopolissacárides que tem a função de estabilizar as redes formadas pelas fibras colágenas (COSTA, SPAETH, EIFFERMANN e ORENGO-NANIA, 1993).

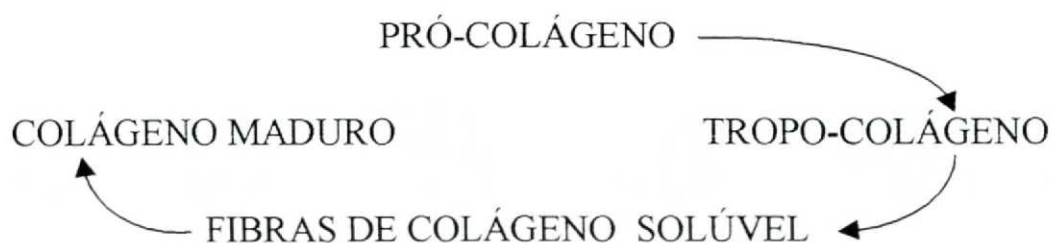


GRÁFICO I – SÍNTESE DO COLÁGENO

Em nosso estudo, a avaliação histopatológica demonstrou que no epitélio conjuntival, as células de Goblet apareceram diminuídas em número em 5 olhos, na

avaliação dos subgrupos 1 e 2 (1^o e 7^o dia pós-operatório) ($p = 0,5000$). Nos animais sacrificados no trigésimo dia pós-operatório, as células de Goblet apareceram em número normal. Comparando com o estudo de MILLER, GRIERSON, UNGER E HITCHINGS (1989), o resultado é semelhante, pois obtivemos pequeno número de células de Goblet no pós-operatório imediato, com aumento da população no sétimo dia e normalização no trigésimo dia pós-operatório.

A presença de fibrina em todos os períodos estudados foi muito semelhante nos dois grupos, não permitindo o cálculo estatístico.

Os fibroblastos apareceram diminuídos, de forma semelhante em ambos os grupos no sétimo dia pós-operatório ($p= 0,2429$). Isto demonstrou que a citarabina, apresenta efeitos inibitórios sobre os fibroblastos episclerais, semelhantes à Mitomicina C. No trigésimo dia também aparecem em número semelhante em ambos os grupos ($p=0,2143$) e com número próximo ao normal, pelo fato do processo de cicatrização encontrar-se em fase de remodelação.

As fibras colágenas apareceram nos exames do sétimo dia pós-operatório, em feixes desordenados e estatisticamente semelhantes nos olhos nos dois grupos ($p=0,2143$). Isto ocorre como consequência da inibição dos fibroblastos e não por ação direta. No trigésimo dia as fibras apareceram mais orientadas em relação à esclera e também sem diferença entre os grupos.

Com a avaliação dos resultados, notamos que mitomicina C e citarabina foram eficientes nas doses estudadas para inibir dos fibroblastos e reduzir a produção de colágeno em coelhos, retardando o processo cicatricial. Não podemos afirmar que estes resultados sejam semelhantes quando aplicados em cirurgias fistulizantes antiglaucomatosas.

Devido às diferenças anatômicas e de resposta ao trauma, não podemos afirmar que estes resultados possam ser extensíveis ao ser humano.

Com os resultados obtidos, chegamos à conclusão da igualdade de ação das duas drogas. Com isso abre-se as portas para o estudo da toxicidade que a citarabina possa eventualmente apresentar quando aplicada no espaço sub-conjuntival.

7 CONCLUSÕES

7 CONCLUSÕES

Os estudos hitopatológicos dos efeitos da Mitomicina C e da citarabina sobre a cicatrização subconjuntival em coelhos, permitem as seguintes conclusões:

1 A citarabina possui ação anti-proliferativa “in vivo” sobre os fibroblastos subconjuntivais de coelhos.

2 A potência de ação da Citarabina, foi equivalente à Mitomicina-C.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ADDICKS, E. M.; QUIGLEY, H. A.; GREEN, W. R.; ROBIN, A. L.** Histologic characteristics of filtering blebs in glaucomatous eyes. *Archives of Ophthalmology* 101: 795-798; 1983.
- ALVES, M. R.; SALDIVA, P. H. N.; LEMOS, M.; KARA-JOSÉ, N.** Efeitos do uso tópico de mitomicina C no epitélio corneano de coelhas. Análise histopatológica pela morfometria. *Arquivos Brasileiros de Oftalmologia*. 59(5): 431-437, 1996.
- BARRADA, A.; PEYMAN, G. A.; GREENBERG, D.; STELMACK, T.; FISCELLA, R.** Toxicity of antineoplastic drugs in vitrectomy infusion fluids. *Ophthalmic Surgery*. 14(10): 845-847; 1983.
- BERNARDI, L.; COSTA, V. P.; GULLO, R. M.; MALTA, R. F. S. E KARA JOSÉ, N.** Mitomicina C 0,3 mg/ml versus 0,5 mg/ml intraoperatória em glaucomas refratários: Um estudo prospectivo e randomizado. *Revista Brasileira de Oftalmologia*. 56(4): 251-256, 1997.
- BLUMENKRANZ, M. S.; CLAFLIN, A.; HAJEK S.** Selection of Therapeutic agents for intraocular proliferative disease – Cell culture evaluation. *Archives of Ophthalmology*. 102: 598-604; 1984.
- CALABRESI, P.; PARKS, R. E.** Quimioterapia das doenças neoplásicas. In: **GILMAN, A. G.** As bases farmacológicas da terapêutica 7 ed. Rio de Janeiro - RJ Ed. Guanabara, p. 843, 1996.
- CARDILLO, J. A.; ALVES, M. R.; TRAJAN NETO, A.; KARA-JOSÉ, N.; POTÉRIO, M. B.; CAMARGO, J. C. F.** Efeitos do uso intra-operatório da Mitomicina C na sensibilidade táctil corneana, no filme lacrimal e no epitélio corneo-conjuntival de olhos operados de pterígio. *Revista Brasileira de Oftalmologia*. 54(9): 653-656; 1995.
- CARVALHO, C. A.** Glaucoma crônico simples - Modificações de conceito. *Arquivos Brasileiros de Oftalmologia*. 56(5): 230-3; 1993.
- CASTRO, T. N.; SAADI, A. K.; CORRÊA-MEYER, G.; VILELA, M.** Uso dos antimetabólicos nas cirurgias do segmento anterior - Revisão da literatura. *Revista Brasileira de Oftalmologia*. 55(7):69,74; 1996.
- CHAIB, A. R.; REHDER, J. R. L.; BAKARAT, M. A.** Mitomicina-C per-operatória em trabeculectomia. *Revista Brasileira de Oftalmologia*. 54(3). 201-4; 1995.
- CHEN, C. W.; HUANG, H. T.; BAIR, J. S.; LEE, C. C.** Trabeculectomy with simultaneous topical application of mitomycin-c in refractory glaucoma. *Journal of ocular pharmacology*. 6(3): 175-182; 1990.

- COSTA, V. P.; SPAETH G. L.; EIFERMAN, R. A., ORENCO-NANIA, S.** Wound healing modulation in glaucoma filtration surgery. *Ophthalmic Surgery*. 24(3): 152-170; 1993
- COSTA, V. P.; WILSON, R. P.; MOSTER, M. R.; SCHMIDT, C. M.; GANDHAM, S., SMITH, M.** Uso intraoperatório de Mitomicina C em glaucomas refratários. *Revista Brasileira de Oftalmologia* 54(1): 7-13, 1995.
- DERICK, R. J.; PASQUALE, L., QUIGLEY, H. A.; JAMPEL, H.** Potential toxicity of mitomycin C [letter]. *Archives of Ophthalmology*. 109: 1635; 1991.
- DE WECKER, L.** La cicatrice a filtration. *Annales Oculist*. 87: 133-43; 1882.
- DESJARDINS, D. C.; PARRISH II, R. K.; FOLBERG, R.; NEVAREZ, J.; HEUER, D. K.; GRESSEL, M. G.** Wound healing after filtering surgery in owl monkeys. *Archives of Ophthalmology* 104: 1835-1839; 1986.
- FISCELLA, R.; ELVART, J.; PEYMAN, G.A.; YUE, B.** In vitro evaluation of cellular inhibitory potential of various antineoplastic drugs and dexamethasone. *Ophthalmic Surgery*. 16(4): 247-249; 1985.
- FOURMAN, S.** Effects of aminopropionitrile on glaucoma filter blebs in rabbits. *Ophthalmic Surgery*. 19(9): 649-652; 1988.
- FOURMAN, S.; VAID, K.** Effects of tissue plasminogen activator on glaucoma filter blebs in rabbit. *Ophthalmic Surgery*. 20(9): 663-667; 1989.
- FRIEDMAN, S. M.; DUEKER, D. K.; SOLOMON, H. M.; WANG, R. J.** The effect of beta radiation on normal rabbit conjunctiva and fibroblasts in culture. *Investigative Ophthalmology and Visual Sciences*. 27(suppl): 212-214; 1986.
- GIANGIACOMO, J.; DUEKER, D. K.; ADELSTEIN, E. A.** The effect of preoperative subconjunctival triamcinolone administration on glaucoma filtration. *Archives of Ophthalmology*. 104: 838-841; 1986.
- GROSS, R. L.** Glaucoma therapy - New advances in medical management. *Revista Brasileira de Oftalmologia*. 56(9): 689-702; 1997.
- GRESSEL, M. G.; PARRISH II, R. K.; FOLBERG, R.** 5-fluorouracil and glaucoma filtration surgery: I. An animal model. *Ophthalmology*. 91(4): 378-83; 1984.
- HEUER, D. K.; PARRISH II, R K.; GRESSEL, M. G.; HODDAP, E.; PALMBERG, P. F.; ANDERSON, D. R.** 5-fluorouracil and glaucoma filtering surgery. II: A pilot study. *Ophthalmology*. 91(4): 384-94; 1984.
- HEUER, D. K.; PARRISH II, R K.; GRESSEL, M. G.; HODDAP, E.; DESJARDINS, D. C.; SKUTA, G. L.; PALMBERG, P. F.; NEVAREZ, J. A.; ROCKWOOD, E. J.** 5-fluorouracil and glaucoma filtering surgery. III: Intermediate follow-up of a pilot study. *Ophthalmology* 93(12): 1537-1546; 1986.
- HITCHINGS, R. A.; GRIERSON, I.** Clinico pathological correlation in eyes with failed fistulizing surgery. *Transactions of the ophthalmological societies of the United Kingdom*. 103(1): 84-88; 1983.
- HODAPP, É.** Clinical decisions in glaucoma. St.Louis -USA; MOSBY, 1992; 200 P.
- JAMPEL, H. D.** Ascorbic acid is cytotoxic to dividing human tenon's capsule fibroblasts – A possible contributing factor in glaucoma filtration surgery success. *Archives of Ophthalmology*. 108: 1323-1325; 1990.

- JAMPEL, H. D.** Effect of brief exposure to mitomycin C on viability and proliferation of cultured human tenon's capsule fibroblasts. *Ophthalmology*. 99(9): 1471-1476; 1992.
- JAMPEL, H. D.; JABS, D. A.; QUIGLEY, H. A.** Trabeculectomy with 5-fluorouracil for adult inflammatory glaucoma. *American Journal of Ophthalmology*. 109(2): 168-173; 1990.
- JAMPEL, H. D.; McGUIGAN, J. B.; DUNKELBERGER, G. R.; L'HERNAULT, N. L.; QUIGLEY, H. A.** Cellular proliferation after experimental glaucoma filtration surgery. *Archives of Ophthalmology*. 106: 89-94; 1988.
- JAMPEL, H. D.; PASQUALE, L. R.; DIBERNARDO, C.** Hypotony maculopathy following trabeculectomy with mitomycin C (letter). *Archives of Ophthalmology*. 110: 1049-1050; 1992.
- JOSEPH, J. P.; GRIERSON, I.; HITCHINGS, R. A.** Chemotactic Activity of Aqueous Humor. *Archives of Ophthalmology*. 107: 69-74; 1989. a
- JOSEPH, J. P.; GRIERSON, I.; HITCHINGS, R. A.** Partial characterization of the fibroblast chemotactic constituents of human aqueous humour. *International Ophthalmology* 13: 125-130; 1989. b
- JOSEPH, J. P.; MILLER, M. H.; HITCHINGS, R. A.** Wound healing as a barrier to successful filtration surgery. *Eye*. 2(suppl): 113-123; 1988.
- KANGAS, T. A.; GREENFIELD, D. S.; FLYNN, H. W.; PARRISH II, R. K.; PALMBERG, P.** Delayed-onset endophthalmitis associated with conjunctival filtering blebs. *Ophthalmology*. 104(5): 746-752; 1997.
- KAUFMAN, P. L.; MITTAG, T. W.** Medical therapy of glaucoma. In: PODOS, S. M.; YANOFF, M. Glaucoma. New York: Mosby, 1994. P. 9.7-9.29.
- KAY, J. S.; LITIN, B. S.; JONES, M. A.; FRYCZKOWSKI, A. W.; CHVAPIL, M.; HERSCHLER, J.** Delivery of antifibroblast agents as adjuncts to filtration surgery - Part II: Delivery of 5-fluorouracil and bleomycin in a collagen implant: Pilot study in the rabbit. *Ophthalmic Surgery*. 17(12): 796-801; 1986.
- KHAW, P. T.; DOYLE, J. W.; SHERWOOD, M. B.; GRIERSON, I.; SCHULTZ, G.; McGORRAY, S.** Prolonged localized effects from 5-minute exposures to fluorouracil and mitomycin C. *Archives of Ophthalmology*. 111: 263-267; 1993.
- KHAW, P. T.; DOYLE, J. W.; SHERWOOD, M. B.; SMITH, M. F.; McGORRAY, S.** Effects of intraoperative 5-fluorouracil or mitomycin C on glaucoma filtration surgery in the rabbit. *Ophthalmology*. 100(3): 367-372; 1993.
- KHAW, P. T.; SHERWOOD, M. B.; MACKAY, S. L. D.; ROSSI, M. J.; SCHULTZ, G.** Five-minute treatments with fluorouracil, floxuridine and mitomycin have long-term effect on human tenon's capsule fibroblasts. *Archives of Ophthalmology*. 110: 1150-1154; 1992.
- KITAZAWA, Y.; KAWASE, K.; MATSUSHITA, H.; MINOBE, M.** Trabeculectomy with mitomycin: A comparative study with fluorouracil. *Archives of Ophthalmology*. 109: 1693-1698; 1991.
- KNAPP, A.; HEUER, D. K.; STERN, G. A.; DRIEBE JR., W. T.** Serious corneal complications of glaucoma filtering surgery with postoperative 5- fluorouracil. *American Journal of Ophthalmology*. 103: 183-7; 1987.

- LAMPING, K. A.; BELLOWS, R.; HUTCHINSON, B. T.; AFRAN, S. I. Long-term evaluation of initial filtration surgery. *Ophthalmology*. 93(1): 91-101; 1986.
- LEE, D. A.; LEE, T. C.; CORTES, A. E.; KITADA, S. Effects of mithramycin, mitomycin, daunorubicin e bleomycin on human subconjunctival fibroblast attachment and proliferation. *Investigative Ophthalmology & Visual Science*. 31(10): 2136-2144; 1990.
- MALLICK, K. S.; HAJEK, A. S.; PARRISH II, R. K. Fluorouracil (5-FU) and cytarabine (Ara-C) inhibition of corneal epithelial cell and conjunctival fibroblast proliferation. *Archives of Ophthalmology*. 103: 1398-1402; 1985.
- MATTAR, D. B.; ALVES, M. R.; SILVA, M. H. T.; KARA JOSÉ, N. Estudo comparativo da ação do tiotepa e da Mitomicina C na reparação do epitélio corneano em coelhas. *Arquivos Brasileiros de Oftalmologia*. 57(4): 270-273; 1994.
- MATTAR, D. B.; ALVES, M. R.; SILVA, M. H. T.; KARA JOSÉ, N. Estudo da Influência da aplicação subconjuntival da mitomicina C na reparação do defeito epitélial corneano em coelhas. *Arquivos Brasileiros de Oftalmologia*. 58(1): 65-67; 1995.
- MATTOX, C. Glaucoma filtration surgery and antimetabolites. *Ophthalmic Surgery and Lasers*. 26(5): 473-480; 1995.
- MAUMENEE, A. E External filtering operations for glaucoma. The mechanism of function and failure. *Transactions of the Ophthalmological Societes of the United Kingdom* 55: 319-21; 1960.
- McDONALD, J E., WILDER, H. C. The effect of beta irradiation on corneal healing. *American Journal of Ophthalmology*. 40: 170-179; 1955.
- McGUIGAN, L. J. B.; COOK, D. J.; YABLONSKI, M. E. Dexamethasone, D-penicillamine, and glaucoma filter surgery in rabbits. *Investigative Ophthalmology & Visual Science*. 27(12): 1755-1757; 1986.
- McGUIGAN, L. J. B.; QUIGLEY, H. A.; LUTTY, G.; ENGER, C.; YOUNG, E. The effects of D-penicillamine and daunorubicin on conjunctival fibroblast proliferation and collagen synthesis. *Investigative Ophthalmology & Visual Science*. 29(1): 112-118; 1988.
- MILLER, M. H.; GRIERSON, I.; UNGER, W. I.; HITCHINGS, R. A. Wound healing in na animal model of glaucoma fistulizing surgery in the rabbit. *Ophthalmic Surgery*, 20(5): 350-357; 1989.
- MILLER, M. H.; JOSEPH, K. W.; GRIERSON, I.; HITCHINGS, R. A. Na animal model of filtration surgery. *Transactions of the Ophthalmological Societes of the United Kingdom*. 104: 893-897; 1985.
- MITRE, J.; BONOMO, P. P.; FARAH, M. E.; CURSINO, W. Ação da mitomicina C nas estruturas intra-oculares de coelhos. *Arquivos Brasileiros de Oftalmologia*. 59(1): 37-43; 1996.
- OPHIR, A.; TICHO, U. A randomized study of trabeculectomy and subconjunctival administration of fluorouracil in primary glaucomas. *Archives of Ophthalmology*. 110: 1072-1075; 1992.
- PALMER, S. S. Mitomycin as adjunct chemotherapy with trabeculectomy. *Ophthalmology*. 98(3): 317-21; 1991.

- PEIFFER Jr, R. L.; LIPPER, S.; MERRIT, J. C.; WRIGHT, W.; JONES, B.** Myofibroblasts in the healing of filtering wounds in rabbit, dog, and cat. *Glaucoma* 3(5): 277-280; 1981.
- PERKINS, T. W.** Treatment of glaucoma by lowering intraocular pressure. IN: **PODOS, S. M.; YANOFF, M.** Glaucoma. New York: Mosby, 1994. P. 9.1-9.6.
- PEYMAN, G. A.; GREENBERG, D.; FISHMAN, G. A.; FISCELLA, R.; THOMAS, A.** Evaluation of toxicity of intravitreal antineoplastic drugs. *Ophthalmic Surgery*. 15(5): 411-413; 1984.
- RADER, J. E.; PARRISH II, R. K.** Update on adjunctive antimetabolites in glaucoma surgery. *Ophthalmology Clinics of North America*. 4(4): 861-888; 1991.
- RAMOS, A. R. B.** Uso do adesivo biológico de fibrina no descolamento de retina regmatogênico em coelhos: estudo experimental histopatológico. Curitiba, 1995. Dissertação (Mestrado em clínica cirúrgica) – Setor de ciências da saúde, Universidade Federal do Paraná.
- REDDICK, R.; MERRIT, J. C.; ROSS, G.; AVERY, A.; PEIFFER, R. L.** Myofibroblasts in filtration operations. *Annals of Ophthalmology* 17(3): 200-203; 1985.
- RUDERMAN, J. M.; WELCH, D. B.; SMITH, M. F.; SHOCH, D. E.** A randomized study of 5-fluorouracil and filtration surgery. *American Journal of Ophthalmology*. 104(15): 218-224; 1987.
- SAMPAIO, M. W.; KARA JOSÉ, N.; ALVES, M. R.** Efeitos do uso tópico da Mitomicina C em olhos de ratas. *Arquivos Brasileiros de Oftalmologia*. 58(1): 56,59; 1995.
- SEDDON, J. M.** The differential burden of blindness in the United States. *New England Journal of Medicine*. 325(20): 1440-1442; 1991.
- SEETNER, A.; MORIN, J. D.** Healing of trabeculectomies in rabbits. *The Canadian Journal of Ophthalmology* 14(2): 121-125; 1979.
- SHARIR, M.** Topical minoxidil for glaucoma filtration surgery in the rabbit. *Exp. Eye Res.* 59: 707-714; 1994.
- SHUSTER, J. N.; KRUPIN, T.; KOLKER, A. E.; BECKER, B.** Limbus- v fornix-based conjunctival flap in trabeculectomy – A long-term randomized study. *Archives of Ophthalmology*. 102: 361-362; 1984.
- SILVA, F. A.; PARANHOS, F. R. L.** Trabeculectomia: retalho conjuntival base-limbo versus base-fórnice. *Arquivos Brasileiros de Oftalmologia* 57(1): 51-55; 1994.
- SILVA, D. B. M.; MELLO, P. A. A.** Bolha encapsulada: Estudo crítico dos fatores predisponentes. *Arquivos Brasileiros de Oftalmologia*. 58(6): 469-471; 1995.
- SKUTA, G. L.; BEESON, C. C.; HIGGINBOTHAM, E. J.; LICHTER, P. R.; MUSCH, D. C.; BERGSTROM, T. J.; KLEIN, T. B.; FALCK, F. Y.** Intraoperative mitomycin versus postoperative 5-fluorouracil in high-risk glaucoma filtering surgery. *Ophthalmology*. 99(3): 438-444; 1992.
- SKUTA, G. L.; PARRISH II, R. K.** Wound healing in glaucoma filtering surgery. *Survey of Ophthalmology*. 32(3): 149-170; 1987.

- STARITA, R. J.; FELLMAN, R. L.; SPAETH, G. L.; PORYZEES, E. M.; GREENIDGE, K. C.; TRAVERSO, C. E.** Short- and Log-term effects of postoperative corticosteroids on trabeculectomy. *Ophthalmology*. 92(7): 938-945; 1985.
- SUSANNA Jr, R.; TAKAHASHI, W. Y.** Estudo comparativo entre o uso do 5-fluorouracil e da mitomicina em olhos trabeculectomizados. *Arquivos Brasileiros de Oftalmologia*. 56(1): 25-28; 1993.
- SUSANNA Jr, R.; TAKAHASHI, W. Y.** Estudo comparativo entre o uso de Mitomicina-C e 5-fluoracil em cirurgias combinadas. *Revista Brasileira de Oftalmologia* 54(7): 7-10; 1995.
- TAHERY, M. M.; LEE, D. A.** Review: Pharmacologic control of wound healing in glaucoma filtration surgery. *Journal of Ocular Pharmacology*. 5(2): 155-179; 1989.
- THE FLUOROURACIL FILTERING SURGERY STUDY GROUP.** Fluorouracil filtering surgery study group one year follow-up. *American Journal of Ophthalmology*. 108(6): 625-635; 1989.
- TRAVERSO, C. E.; TOMEY, K. F.; ANTONIOS, S.** Limbal – vs fornix-based conjunctival trabeculectomy flaps. *American Journal of Ophthalmology*. 104: 28-32; 1987.
- VENTURA, P. M.; YAMANE, R.** Trabeculectomia no glaucoma primário – Análise de possíveis fatores de risco no prognóstico da cirurgia. *Revista Brasileira de Oftalmologia* 54(12): 885-896, 1995.
- WILENSKY, J. T.** Laser Trabeculoplasty. In: **PODOS, S. M.; YANOFF, M.** Glaucoma. New York: Mosby, 1994. P. 9.31-9.36.
- WOLNER, B.; LIEBMANN, J.M.; SASSANI, J. W.; RITCH, R.; SPEAKER M.; MARMOR, M.** Late bleb-related endophthalmitis after trabeculectomy with adjunctive 5-fluorouracil. *Ophthalmology*. 98(7): 1053-1060; 1991.
- ZACHARIA, P. T.; DEPPERMAN, S. R.; SCHUMAN, J. S.** Ocular hypotony after trabeculectomy with mitomycin C. *American Journal of Ophthalmology*. 116: 314-326; 1993.