

RESSALVA

Atendendo solicitação do(a) autor(a), o texto completo desta dissertação será disponibilizado somente a partir de 24/04/2027.



UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
"JÚLIO DE MESQUITA FILHO"
Câmpus de Botucatu



MECANISMOS EPIGENÉTICOS E A PATOGÊNESE DO PTERÍGIO:
ABORDAGEM BASEADA NA CARACTERIZAÇÃO DO
PERFIL GLOBAL DE METILAÇÃO DO DNA

DEBORA KAZUMI MAEDA

BOTUCATU – SP

Abril/2025



UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
"JÚLIO DE MESQUITA FILHO"
Câmpus de Botucatu



UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA "JÚLIO DE MESQUITA FILHO"
INSTITUTO DE BIOCIÊNCIAS DE BOTUCATU

MECANISMOS EPIGENÉTICOS E A PATOGÊNESE DO PTERÍGIO:
ABORDAGEM BASEADA NA CARACTERIZAÇÃO DO
PERFIL GLOBAL DE METILAÇÃO DO DNA

Mestranda: Debora Kazumi Maeda

Orientadora: Profa. Dra. Cláudia Aparecida Rainho

Dissertação apresentada ao Instituto de Biociências de Botucatu, Campus de Botucatu, UNESP, como parte dos pré-requisitos necessários para obtenção do título de Mestre junto ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Biológicas (Genética).

BOTUCATU – SP

Abril/2025

M184m

Maeda, Debora Kazumi

Mecanismos epigenéticos e a patogênese do pterígio: abordagem baseada na caracterização do perfil global de metilação do DNA / Debora Kazumi Maeda. -- Botucatu, 2025

85 p.

Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual Paulista (UNESP), Instituto de Biociências, Botucatu

Orientadora: Cláudia Aparecida Rainho

1. Olhos Doenças. 2. Genética molecular humana. 3. Epigenética. 4. Metilação de DNA. 5. Sequenciamento de nucleotídeos em larga escala. I. Título.

ATA DA DEFESA PÚBLICA DA DISSERTAÇÃO DE MESTRADO DE DEBORA KAZUMI MAEDA, DISCENTE DO PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS BIOLÓGICAS (GENÉTICA), DO INSTITUTO DE BIOCIÊNCIAS - CÂMPUS DE BOTUCATU.

Aos 24 dias do mês de abril do ano de 2025, às 8h30min, por meio de Videoconferência, realizou-se a defesa de DISSERTAÇÃO DE MESTRADO de DEBORA KAZUMI MAEDA, intitulada **Mecanismos epigenéticos e a patogênese do pterígio: abordagem baseada na caracterização do perfil global de metilação do DNA**. A Comissão Examinadora foi constituída pelos seguintes membros: Profa. Dra. CLAUDIA APARECIDA RAINHO (Orientador(a) - Participação Virtual) do(a) Departamento de Genética, Microbiologia e Imunologia / Instituto de Biociências de Botucatu UNESP, Profa. Dra. MÔNICA DE CÁSSIA ALVES (Participação Virtual) do(a) Departamento de Oftalmologia e Otorrinolaringologia / Faculdade de Ciências Médicas – Universidade Estadual de Campinas, Pesquisadora Dra. MARIANA CAMARGO MASCHIETTO (Participação Virtual) do(a) Centro de Pesquisa / Centro Infantil Boldrini. Após a exposição pela mestranda e arguição pelos membros da Comissão Examinadora que participaram do ato, de forma presencial e/ou virtual, a discente recebeu o conceito final: **APROVADA**. Nada mais havendo, foi lavrada a presente ata, que após lida e aprovada, foi assinada pelo(a) Presidente(a) da Comissão Examinadora.

Documento assinado digitalmente
 CLAUDIA APARECIDA RAINHO
Data: 28/04/2025 17:48:03-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Profa. Dra. CLAUDIA APARECIDA RAINHO

Dedicatória

Aos meus pais, Marie e Cristiano, dedico este trabalho.

Agradecimentos

Agradeço,

Aos meus pais, Cristiano Hiroyoshi Maeda e Marie Missaki Maeda, à minha irmã, Bianca Honami Maeda, aos meus avôs e avós Yukio Missaki, Kazuko Missaki, Timoteo Yoshito Maeda (*in memoriam*) e Elsa Tamiko Maeda (*in memoriam*), e toda a minha família pelo apoio e incentivo durante a minha trajetória, por vibrarem em todas as minhas conquistas e nunca me deixarem desistir de um sonho. Por serem meu aconchego, meu porto seguro e a minha casa. A vocês, serei eternamente grata.

À minha orientadora, Profa. Dra. Cláudia Aparecida Rainho, por todos os ensinamentos, conselhos, pelas oportunidades e experiências que me proporcionou. Obrigada pela orientação, esforço, dedicação e suporte, dentro e fora do laboratório.

Às minhas colegas de laboratório, Dra. Bárbara Mitsuyasu Barbosa, Dra. Naiade Calanca, MSc. Fernanda Aparecida dos Santos France, Kailany Peres Martins Nascimento e Mai Ono, pelo aprendizado em conjunto, pela amizade e convivência que tornou a rotina mais leve e alegre.

Aos meus amigos e companheiros nesta jornada, Marcel Rodrigues Ferreira, Poliana Veneziano Martini, Ivan Rossi Moraes e Gabriel Bacil Prata que são sinônimo de acolhimento, conforto e parceria. Com vocês, a risada é sempre garantida e eu me sinto extremamente privilegiada por poder colecionar nossas boas memórias.

À Profa. Tit. Silvana Artioli Schellini, Dra. Magda Massae Hata Viveiros, Aline Apis e Yasmin Yumi Uehara, pela parceria e colaboração neste projeto que possibilitou meu crescimento acadêmico e alavancou minha paixão pela genética.

À Profa. Tit. Silvia Regina Rogatto, Dr. Rolando André Rios Villacis, Luiza Côrtes, Jeferson Santos Souza e aos funcionários do *Department of Clinical Genetics* do *Lillebaelt University Hospital of Southern Denmark University*, pelo acolhimento, ensinamentos e auxílio durante o meu período de capacitação na Dinamarca.

Aos meus colegas da turma LV de Ciências Biomédicas, em especial Guilherme de Lima Brenno, Nicole Malachias Nacarato, Bruna Naomi Watanabe, Natália Magosso, Natália Calixto Miranda Santos e Beatriz Costa Silveira, que foram grandes companheiros durante a graduação, e sempre demonstraram muito apoio e carinho.

Às minhas amigas de colégio e da vida, Larissa Barreto Rangel, Letícia Lino Bueno Gonçalves, Letícia Matias Simões, Lorena Olifiers, Louise Ferrari Leonezi, Nayara Flores Mariscal, que puderam acompanhar a minha jornada, desde o ensino fundamental à pós-graduação. Agradeço a torcida, o apoio e a amizade longeva.

Aos membros titulares e suplentes da banca examinadora do exame geral de qualificação e da defesa: Prof. Tit. Danilo Moretti-Ferreira, Prof. Tit. Ivan de Godoy Maia, Profa. Tit. Silvana Artioli Schellini, Prof. Dr. José Álvaro Pereira Gomes, Profa. Dra. Mônica Alves, Profa. Dra. Sarah Santiloni Cury, Dr. Erick da Cruz Castelli, Dra. Magda Massae Hata Viveiros, Dra. Mariana Camargo Maschietto.

Ao Dr. Uilian de Andreis e à empresa Zymo Research Corporation, em especial à Emily Chen, pelo suporte e pela viabilização do serviço de sequenciamento realizado neste projeto.

Aos professores doutores Robson Francisco Carvalho e Sarah Santiloni Cury, pelo auxílio e por disponibilizarem a estrutura computacional de seus laboratórios.

Ao programa de pós-graduação em Ciências Biológicas (Genética) e servidores do Instituto de Biociências de Botucatu, que permitiram a realização do meu mestrado nessa instituição que eu tanto aprecio e tenho carinho.

Aos pacientes do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina de Botucatu (HC-FMB) que participaram deste estudo.

À CAPES pela bolsa concedida no país (processo n° 88887.826934/2023-00) e ao Programa Institucional de Internacionalização PrInt/CAPES – UNESP, pela bolsa de capacitação no exterior (processo n° 88887.889772/2023-00). À FAPESP pelo auxílio financeiro (processo n° 2023/02014-0).

Epígrafe

"Um cientista no seu laboratório não é apenas um técnico: é, também, uma criança colocada à frente de fenômenos naturais que impressionam como se fossem um conto de fadas."

- Marie Curie

"You've got no reason to be afraid"

"Você não tem motivos para ter medo"

-Taylor Alison Swift

(Tradução livre)

Resumo

O pterígio é uma condição oftalmológica comum e de alta recorrência, cuja etiologia permanece pouco compreendida, embora se reconheça sua origem multifatorial. Evidências recentes indicam que alterações na metilação do DNA, um dos principais mecanismos epigenéticos de regulação da expressão gênica, podem estar envolvidos na patogênese do pterígio. Considerando que a cabeça do pterígio é a região associada aos processos migratórios e proliferativos, investigá-la sob a perspectiva epigenética pode fornecer *insights* sobre os mecanismos que facilitam a invasão das células conjuntivais na córnea. Assim, este estudo visa caracterizar o perfil global de metilação do DNA na cabeça do pterígio, e comparar os genes diferencialmente expressos reportados na literatura. Ao todo, 12 amostras foram analisadas por sequenciamento RRBS (*Reduced Representation Bisulfite Sequencing*), incluindo seis amostras de pterígio primário, duas amostras pareadas de pterígio primário e recorrente, e dois *pools* de conjuntivas não expostas (NE-conjuntiva). A análise de metilação diferencial, para identificação de citosinas e regiões diferencialmente metiladas (DMCs e DMRs, respectivamente), foi realizada com o pacote methylKit, enquanto a anotação funcional, considerando o contexto CpG (ilhas, *shores* e *shelves*) e a localização genômica (promotor, corpo do gene ou região intergênica), foi conduzida com o pacote annotatr. Baseado nos genes relacionados às DMRs, foi realizada a análise de enriquecimento de vias para investigar os mecanismos moleculares subjacentes, com o pacote gProfiler. Deste modo, foram identificadas 1759 DMCs entre as amostras de pterígio e NE-conjuntiva. As amostras primárias agruparam-se em um *cluster* distinto, enquanto as amostras recorrentes exibiram um perfil molecular divergente, sem formar um agrupamento coeso com as demais. Com base nessa distinção, realizamos uma análise comparativa entre a NE-conjuntiva e os dois subgrupos do pterígio separadamente. Assim, foram identificadas 704 DMRs no pterígio primário e 1641 DMRs no pterígio recorrente. Em ambas as comparações, genes importantes da via de sinalização Wnt (*WNT7B* e *WNT9A*) foram detectados hipermetilados no corpo do gene, sugerindo um mecanismo regulatório que leva ao aumento da expressão desses genes, complementando dados transcriptômicos da literatura. Múltiplos genes da superfamília das caderinas, em especial as caderinas clássicas e protocaderinas, foram identificados diferencialmente metilados, sugerindo alterações em vias de adesão celular. De modo geral, nossos dados indicam que a metilação do DNA pode desempenhar um papel relevante na origem e progressão do pterígio, impactando funcionalmente genes envolvidos em vias e processos anteriormente identificados como diferencialmente expressos em estudos transcriptômicos. Esses achados são valiosos para

direcionar estudos subsequentes, e sugerem que a modulação epigenética pode desempenhar papel importante na patogênese do pterígio.

Palavras-chave: (1) maquinaria epigenética; (2) RRBS; (3) DMC; (4) DMR; (5) conversão por bissulfito; (6) superfície ocular.

Abstract

Pterygium is a common ocular condition with a high recurrence rate. Its etiology remains poorly understood, although it is recognized as a multifactorial lesion. Recent evidences suggest that alterations in DNA methylation, an epigenetic mechanism that regulates gene expression, may be involved in pterygium pathogenesis. Considering that the head of the pterygium is the region associated with migratory and proliferative processes, investigating it from an epigenetic perspective may provide insights into the mechanisms that facilitate conjunctival cell invasion into the cornea. In this sense, this study aimed to characterize the global DNA methylation profile in the pterygium head and compare the findings with differentially expressed genes previously reported in the literature. In total, 12 samples were analyzed by Reduced Representation Bisulfite Sequencing (RRBS), including six primary pterygium tissues, two paired primary and recurrent samples, and two pools of non-exposed conjunctival tissues (NE-conjunctiva). Differential methylation analysis was performed to identify differentially methylated cytosines (DMCs) and regions (DMRs), using the methylKit package, while functional annotation, considering the CpG context (islands, shores, and shelves) and the genomic location (promoter, gene body, or intergenic region), was conducted with the annotatr package. Based on the genes associated with DMRs, pathway enrichment analysis was performed using the gProfiler package to explore underlying molecular mechanisms. A total of 1759 DMCs were identified between pterygium and NE-conjunctiva. Primary samples clustered into a distinct group, whereas recurrent samples displayed a divergent molecular profile, not forming a cohesive cluster with the others. Based in this analysis, we performed a comparative analysis between NE-conjunctiva and the two pterygium subgroups separately. In this manner, 704 DMRs were identified in primary pterygium and 1641 DMRs in recurrent pterygium. In both comparisons, key Wnt signaling pathway genes (e.g., *WNT7B* and *WNT9A*) were found hypermethylated within the gene body, suggesting a regulatory mechanism that leads to increased gene expression, consistent with transcriptomic data reported in the literature. Additionally, multiple genes from the cadherin superfamily, particularly classical cadherins and protocadherins, were differentially methylated, indicating alterations in cell adhesion pathways. Overall, our data suggest that DNA methylation may play a relevant role in the onset and progression of pterygium by functionally impacting genes involved in pathways previously identified as differentially expressed by transcriptomic studies. These findings are valuable to guide future research and suggest that epigenetic modulation may play an important role in the pathogenesis of pterygium.

Key words: (1) epigenetic machinery; (2) RRBS; (3) DMC; (4) DMR; (5) bisulfite conversion; (6) ocular surface.

Lista de figuras

Figura 1. Estadiamento do pterígio baseado em sua extensão sobre a córnea, conforme os critérios de Johnston, Williams e Sheppard (2004).	13
Figura 2. Mapa de prevalência do pterígio em diferentes regiões.....	14
Figura 3. Linha do tempo indicando as evidências em literatura sobre o envolvimento dos mecanismos epigenéticos no pterígio, com foco nas alterações da metilação em genes candidatos.	25
Figura 4 (apêndice). Gráficos da cobertura do sequenciamento distribuídos de acordo com A) sítios CpG, B) Ilha CpG, C) Promotor e D) Corpo do Gene. Estes gráficos demonstram que a maioria das leituras atingiram nível satisfatório de cobertura, que resultaram valores médios de cobertura de 10X. O sequenciamento foi enriquecido para as regiões codificadoras do genoma e/ou para regiões de ilhas CpG, as quais são de interesse funcional para o estudo da metilação do DNA.	70

Referentes ao Capítulo 1

Figure 1. Workflow of data processing steps.	42
Figure 2. A) The first two principal components (PC1 and PC2) were plotted to visualize the variance among samples. B) Pie charts illustrating the distribution of all differentially methylated cytosines (DMCs) in pterygium compared to normal conjunctiva. The central pie chart represents the proportion of hypermethylated and hypomethylated CpGs. The upper graphs detail the distribution of DMCs across gene promoters, gene bodies (introns and exons), and intergenic regions. The lower plots show the proportion of DMCs located in open sea regions, CpG islands, shores, and shelves. C) Hierarchical clustering of all 1,759 DMCs shows two clusters, with distinct patterns between pterygium and normal conjunctiva samples.	45
Figure 3. A) Dot plot graph representing pathway enrichment analysis based on Gene Ontology (GO) biological processes of genes within the DMRs identified between primary pterygium and NE-conjunctiva. B) Venn diagrams of hypermethylated genes (left) and hypomethylated genes (right). ..	49

Lista de tabelas

Tabela 1. Genes com alteração no padrão de metilação reportados na literatura.....	23
--	----

Referente ao Capítulo 1

Table 1. Summary of DNA methylation percentage considering the cytosine context. Methylation calling was performed considering three distinct contexts: CHH, CHG and CpG, where H can be A, T or C. The methylation percentage was calculated following the equation: % methylation = 100 x reads of cytosines/total of reads.....	43
Table 2. Pathway enrichment analysis using Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes (KEGG) terms, based on genes identified within DMRs of primary pterygium.	47

Lista de material suplementar

Referente ao Capítulo 1

Supplementary Table S1. Detailed information of all 11 patients enrolled in the study.....	61
Supplementary Table S2. Summary of sequencing quality.....	62
Supplementary Table S3. Pathway enrichment analysis using Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes (KEGG) terms, based on genes identified within DMRs of recurrent pterygium.....	63

Lista de abreviações

5-FU	5-fluorouracil
5mC	5-metilcitosina
8-OHdG	8-hydroxydeoxyguanosine
b-FGF	<i>Basic fibroblast growth factor</i>
bp	<i>Base pairs</i>
CA	Cabeça do Pterígio
CD24	<i>Cluster of differentiation 24</i>
CDH	<i>Cadherin</i>
<i>CDH1</i>	<i>Cadherin-1</i>
<i>CDKN2A</i>	<i>Cyclin Dependent Kinase Inhibitor 2A</i>
CN	Conjuntiva Normal
CP	Corpo do Pterígio
CGI	Ilha CpG
CMV	<i>Cytomegalovirus</i>
CTGF	<i>Connective Tissue Growth Factor</i>
DEG	<i>Differentially Expressed Gene</i>
DNA	<i>Deoxyribonucleic Acid</i>
DMC	<i>Differentially Methylated Cytosine</i>
DMR	<i>Differentially Methylated Region</i>
DNMT	<i>DNA Methyltransferase</i>
DNMT1	<i>DNA Methyltransferase 1</i>
DNMT3a	<i>DNA Methyltransferase 3a</i>
DNMT3b	<i>DNA Methyltransferase 3b</i>
EBV	<i>Epstein-Barr Virus</i>
ECM	Matriz extracelular
EMT	Transição epitelial-mesenquimal
ERK	<i>Extracellular Signal-Regulated Kinase</i>
GO	<i>Gene Ontology</i>
FZD	<i>Frizzled class receptors</i>
FZD1	<i>Frizzled class receptor 1</i>
HB-EGF	<i>Heparine Binding Epidermal Growth Factor</i>
HCC	<i>Hepatocellular Carcinoma</i>
HPV	<i>Human Papillomavirus</i>
HRAS	<i>Harvey rat sarcoma viral oncogene homolog</i>
HSV	<i>Herpes-Simplex Virus</i>

IHC	Imunohistoquímica
IL	Interleucina
IL-6	Interleucina 6
IL-8	Interleucina 8
KEGG	<i>Kyoto Encyclopedia of Genes and Genome</i>
KRAS	<i>Kirsten rat sarcoma viral oncogene homolog</i>
LATS1	<i>Large Tumor Supressor Kinase 1</i>
LATS2	<i>Large Tumor Supressor Kinase 2</i>
LESC	<i>Limbal Epithelial Stem-Cells</i>
LRP5	<i>LDL Receptor Related Protein 5</i>
LRP6	<i>LDL Receptor Related Protein 6</i>
MAPK	<i>Mitogen-Activated Protein Kinase</i>
MDM2	<i>Murine Double Minute 2</i>
MMC	Mitomicina C
MMP	<i>Matrix metalloproteinase</i>
MMP-1	<i>Matrix metallopeptidase 1</i>
MMP-2	<i>Matrix metallopeptidase 2</i>
MMP-3	<i>Matrix metallopeptidase 3</i>
MMP-7	<i>Matrix metallopeptidase 7</i>
MMP-9	<i>Matrix metallopeptidase 9</i>
MS-PCR	<i>Methylation-Specific Polymerase Chain Reaction</i>
ncRNA	<i>Non-coding Ribonucleic Acid</i>
NE-conjunctiva	<i>Non-exposed conjunctiva</i>
NO	<i>Nitric Oxide</i>
NRAS	<i>Neuroblastoma RAS viral oncogene homolog</i>
OSSN	<i>Ocular Surface Squamous Neoplasia</i>
PAX6	<i>Paired box 6</i>
PCA	<i>Principal Component Analysis</i>
PCDH	<i>Protocadherin</i>
PCR	<i>Polymerase Chain Reaction</i>
PDGF	<i>Platelet Derived Growth Factor</i>
ROS	<i>Reactive Oxygen Species</i>
qPCR	<i>Quantitative Polymerase Chain Reaction</i>
RNA	<i>Ribonucleic Acid</i>
RRBS	<i>Reduced Representative Bisulfite Sequencing</i>
RT-PCR	<i>Reverse Transcription-Polymerase Chain Reaction</i>

RT-qPCR	<i>Reverse Transcription- quantitative Polymerase Chain Reaction</i>
TCLE	Termo de Consentimento Livre e Esclarecido
TET	<i>Ten-eleven Translocation Methylcytosine Dioxygenase</i>
TGF- β	<i>Transforming Growth Factor-β</i>
TGM2	Transglutaminase 2
UVA	<i>Ultraviolet A</i>
UVB	<i>Ultraviolet B</i>
UVC	<i>Ultraviolet C</i>
UVR	<i>Ultraviolet Radiation</i>
VEGF	<i>Vascular Endothelial Growth Factor</i>
WGBS	<i>Whole Genome Bisulfite Sequencing</i>

Sumário

Introdução.....	12
Panorama geral: aspectos clínicos, epidemiológicos e moleculares do pterígio	12
Definição e aspectos clínicos	12
Tratamento	13
Epidemiologia	14
Fatores de risco e a biologia molecular do pterígio.....	15
1. Infecções virais.....	15
2. Radiação ultravioleta (UVR).....	16
3. Fatores apoptóticos e supressores tumorais.....	17
4. Inflamação e fatores de crescimento	17
5. Remodelamento da matriz extracelular (ECM).....	19
6. Transição epitelial-mesenquimal (EMT).....	20
Epigenética.....	21
Epigenética do pterígio.....	22
Objetivos	26
Geral.....	26
Específicos	26
Referências bibliográficas.....	27
Capítulo 1- Manuscrito a ser submetido	34
Abstract	35
Introduction	36
Materials & Methods.....	39
<i>Sample collection</i>	39
<i>DNA extraction and Reduced Representative Bisulfite Sequencing (RRBS)</i>	40
<i>Data processing and DNA methylation profiling</i>	40
<i>Functional enrichment analysis</i>	42
Results	43
<i>DNA methylation sequencing reveals distinct profiles between pterygium and NE-conjunctiva, and highlights the unique signature of pterygium</i>	43
<i>GO and KEGG analysis identified dysregulated biological processes that may reveal potential pathways involved in pathogenesis</i>	46
<i>Recurrent cases exhibited distinct methylation profile and may reveal potential biomarkers for recurrence</i>	47
Discussion	50
Conclusion.....	55

References	56
Supplementary material.....	61
Conclusões.....	64
Anexos	65
Anexo I- Parecer do Comitê de Ética em Pesquisa da Faculdade de Medicina de Botucatu (FMB)	65
Anexo II- Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE)	68
Apêndices	70
Análise de controle de qualidade do sequenciamento.....	70
Tabela das citosinas e regiões diferencialmente metiladas:	71
Atividades complementares	72

Introdução

Panorama geral: aspectos clínicos, epidemiológicos e moleculares do pterígio

Definição e aspectos clínicos

O pterígio é uma lesão relativamente comum da superfície ocular de formato triangular. É caracterizado pela proliferação e invasão das células dos tecidos epitelial e fibrovascular da conjuntiva bulbar, para a córnea adjacente. Pode acometer a região nasal ou temporal, ou ambos, sendo o pterígio nasal mais frequente. Esse distúrbio pode afetar a visão, levando a complicações como astigmatismo, oclusão do eixo visual, alterações no filme lacrimal, vermelhidão e irritação, além de prejuízos estéticos e na qualidade de vida do portador (Wanzeler *et al.*, 2019; Chu *et al.*, 2020).

O tecido pterigial totalmente formado pode ser dividido em três partes. A cabeça (CA) é avascular e firmemente conectada à córnea, onde ocorrem os processos de proliferação, migração e invasão celular. O corpo (CP) é a parte escleral, altamente vascularizada, onde há a proliferação do tecido conectivo subepitelial. O pescoço é uma região de transição, que conecta a cabeça ao corpo do pterígio, e possui pequenos vasos recém-formados (Martín-López *et al.*, 2021).

Do ponto de vista histológico, o pterígio é definido como uma desordem proliferativa e inflamatória, com degenerações e adaptações celulares. É um tecido heterogêneo, formado por células-tronco epiteliais limbais (LESCs) alteradas, células epiteliais com metaplasia escamosa e células caliciformes hiperplásicas. O estroma subjacente é rico em fibroblastos ativos e vasos recém-formados, com degeneração elastoide, infiltrado inflamatório e ruptura da membrana de Bowman (Chui *et al.*, 2008).

Este distúrbio ocular pode ser classificado seguindo diferentes critérios, sendo o mais frequente baseado na extensão do pterígio sobre a córnea. O pterígio de grau 1 ocorre quando o tecido fibrovascular atinge o limbo do olho; o grau 2 é caracterizado pela invasão do pterígio, em cerca de 2 mm da córnea; o grau 3 ocorre quando o pterígio atinge a pupila, e o grau 4 quando excede a pupila (Figura 1) (Johnston; Williams; Sheppard, 2004). Outra forma de classificação do pterígio menos frequente baseia-se em sua morfologia, classificando-o em atrófico, intermediário ou carnosos. O pterígio atrófico ou T1 é delgado e atenuado, permitindo a visualização dos vasos episclerais (que recobrem a esclera), enquanto o pterígio carnosos ou

T3 é denso, espesso e encobre essa superfície. Por fim, o pterígio intermediário ou T2 permite a visualização parcial dos vasos episclerais (Tan *et al.*, 1997).

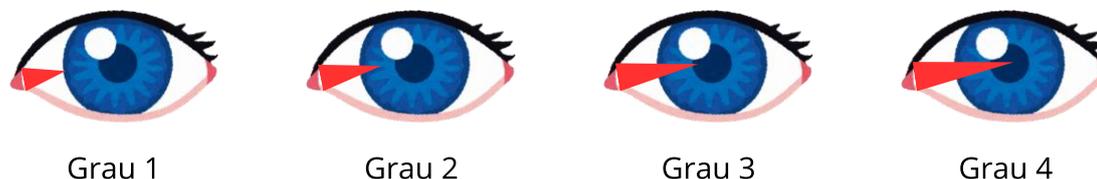


Figura 1. Estadiamento do pterígio baseado em sua extensão sobre a córnea, conforme os critérios de Johnston, Williams e Sheppard (2004).

Tratamento

Atualmente, a única abordagem amplamente utilizada para tratar o pterígio é a exérese cirúrgica. Entretanto, essa estratégia pode apresentar uma série de riscos durante a cirurgia, como perfurações no globo ocular, prejuízo do músculo reto medial, sangramento, e riscos pós-cirúrgicos, tais como edema, infecções, hematoma subconjuntival e recorrência (Baheran *et al.*, 2023; Ang; Chua; Tan, 2007).

O insucesso no tratamento do pterígio deve-se especialmente à alta taxa de recorrência, podendo chegar a 88%, dependendo da técnica cirúrgica empregada. O método denominado “*bare sclera*” (do inglês, “esclera nua”), é o mais antigo e consiste somente na retirada do pterígio, deixando parte da esclera exposta após a exérese. Esta estratégia apresenta as maiores taxas de recorrência, variando entre 38-88% (Alpay; Ugurbas; Erdogan, 2009; Chen *et al.*, 1995). Outras técnicas mais recentes, como o autotransplante de conjuntiva, apresentam menor taxa de recorrência, entre 0-15% (Gris; Guell; Del Campo, 2000; Al Fayed, 2002). Contudo, esse procedimento demanda maior capacitação e experiência do cirurgião, além de estender a duração da cirurgia (Hacioğlu; Erdöl, 2017).

Estratégias de terapia adjuvante têm sido adotadas, na tentativa de aumentar o sucesso da abordagem cirúrgica. Anti-neoplásicos, como a mitomicina C (MMC) e 5-fluorouracil (5-FU), anti-VEGF e a radioterapia têm sido eficazes em reduzir as altas taxas de recorrência, quando associados à cirurgia. Entretanto, ainda não há padronização da dose e do tempo de exposição seguros para cada droga, o que leva a uma grande discrepância de dados reportados na literatura (Hacioğlu; Erdöl, 2017; Shahraki; Arabi; Feizi, 2021). Enquanto alguns estudos relataram sucesso no uso de MMC, sem distúrbios significativos (Zaky; Khalifa, 2012), outros relataram

sérias complicações após exposição ao fármaco, como necrose escleral, perfuração da córnea, catarata, glaucoma, fotofobia e dor (Safianik; Bem-Zion; Garzosi, 2002; Hayasaka *et al.*, 2000; Rubinfeld *et al.*, 1992). Neste sentido, ainda não há um recurso medicamentoso seguro e eficaz bem estabelecido para o tratamento do pterígio. Isso evidencia a urgência da melhor compreensão da etiologia desta doença, a fim de auxiliar na busca de alternativas terapêuticas.

Epidemiologia

A prevalência do pterígio na população global é de aproximadamente 12% (Rezvan *et al.*, 2018), existindo uma grande variação em diferentes regiões geográficas. A menor taxa reportada, até então, foi de um estudo realizado em 2013 na Arábia Saudita, que reportou a prevalência de 0.07% (Alqahtani, 2013). A maior taxa foi detectada no Brasil, em um município no interior do estado do Amazonas, com 58.8% de prevalência (Fernandes *et al.*, 2020). De acordo com um estudo prévio do grupo, a taxa de prevalência na cidade de Botucatu, em 2010, foi de 8.12% (Shiratori *et al.*, 2010).

A região localizada entre as latitudes 37° norte e 37° sul da linha do Equador foi apelidada como “zona de pterígio”, devido às maiores taxas de prevalência da lesão (Figura 2). Acredita-se que essa maior frequência se deve à maior intensidade de radiação ultravioleta (UVR) que incide nessa zona, uma vez que a exposição crônica à UVR foi associada como um dos principais fatores de risco do pterígio (Van Acker *et al.*, 2021).

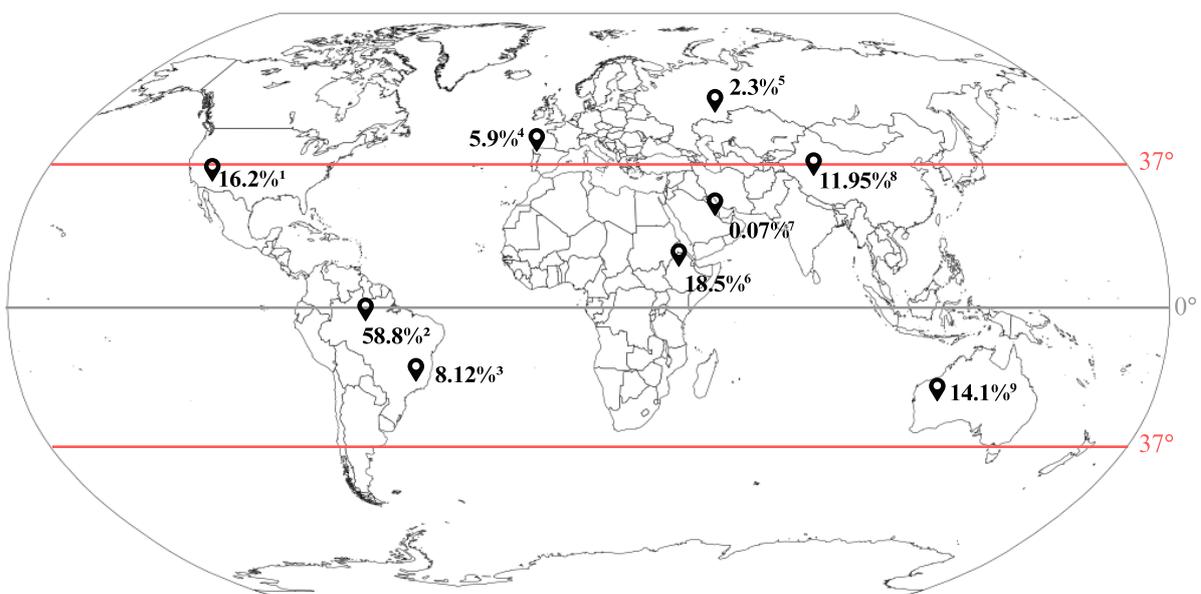


Figura 2. Mapa de prevalência do pterígio em diferentes regiões. A zona do pterígio é a região entre as linhas vermelhas, que correspondem às latitudes 37°N e 37°S. A linha do Equador está representada pela linha cinza, na

latitude 0°. Foram destacados alguns estudos de prevalência em diferentes países: (1) Bogales e Tucson, Arizona, Estados Unidos da América (West; Munoz, 2009); (2) Parintins, Amazonas, Brasil (Fernandes et al., 2020); (3) Botucatu, São Paulo, Brasil (Shiratori et al., 2010); (4) Salnés, Espanha (Viso; Gude; Rodríguez-Ares, 2011); (5) Ufa, Bascortostão, Rússia (Bikbov et al., 2019); (6) Kola Diba, Etiópia (Kassie Alemayehu et al., 2020); (7) Al Khobar, Arábia Saudita (Alqahtani, 2013); (8) Xinjiang, China (Chen et al., 2015); (9) Região rural do oeste da Austrália (McGlacken-Byrne et al., 2021). Nota-se um menor número de estudos disponíveis na literatura em regiões externas à zona do pterígio. Essa limitação possivelmente decorre da menor prioridade atribuída ao estudo dessa condição, dado que o pterígio acomete uma parcela reduzida dessa população.

Fatores de risco e a biologia molecular do pterígio

O conhecimento acumulado acerca dos fatores de risco e mecanismos envolvidos na origem do pterígio ainda não foram completamente elucidados, indicando a necessidade de maiores investigações. Foram propostos diversos fatores relacionados a essa condição, sendo os mais estudados a exposição crônica à radiação ultravioleta (UVR) e à poeira, infecções virais e hereditariedade. Além disso, mecanismos como a transição epitelial-mesenquimal, angiogênese, inflamação e remodelamento da matriz extracelular, bem como alterações genéticas e epigenéticas, e modificações em fatores de proliferação celular e apoptose, têm sido associados ao desenvolvimento desse distúrbio (Cárdenas-Cantú *et al.*, 2014).

1. Infecções virais

Diversos estudos detectaram a presença do HPV (do inglês, *Human Papilloma Virus*), CMV (do inglês, *Cytomegalovirus*), HSV (do inglês, *Herpes-Simplex Virus*) e EBV (do inglês, *Epstein-Barr Virus*), em amostras de pterígio. Supõe-se que o desenvolvimento do pterígio ocorra por meio de um processo de "dois *hits*". O primeiro "*hit*" seria a hereditariedade ou a exposição à UVR, enquanto o segundo "*hit*" envolveria a infecção por um agente viral ou outros fatores ambientais. Esses eventos combinados levariam ao desenvolvimento do pterígio em indivíduos geneticamente predispostos à lesão (Chalkia; Spandidos; Detorakis, 2013).

O HPV é o vírus mais detectado no pterígio, porém os dados são altamente discrepantes, com estudos demonstrando taxas de 0% no Brasil (Schellini *et al.*, 2006), 32.6% na Turquia (Nergiz; Süren; Süren, 2023) e 100% na Itália (Piras *et al.*, 2003). Segundo um estudo de meta-análise, a prevalência geral de casos de pterígio HPV-positivos é de 18.6% (Di Girolamo, 2012). Essa disparidade pode ser causada por fatores geográficos, étnicos, culturais e/ou pelas diferenças entre as técnicas empregadas para a detecção do vírus (Cárdenas-Cantú *et al.*, 2014). Do ponto de vista molecular, acredita-se que os fatores E6 e E7, produzidos pelo HPV, alteram a função normal da proteína supressora tumoral p53, responsável pela regulação do ciclo celular

e reparo ao dano no DNA. Desta forma, o HPV contribuiria para a instabilidade cromossômica e progressão do ciclo celular, levando ao desenvolvimento do pterígio (Ding; Wang; He, 2024).

2. Radiação ultravioleta (UVR)

A exposição à luz ultravioleta é um dos fatores de risco mais estudados e parece ser fundamental na origem do pterígio. Além da alta prevalência desse distúrbio em regiões próximas à linha do Equador (Rezvan *et al.*, 2018), o maior número de casos de pterígio na porção nasal reforça essa teoria, dado que a intensidade da radiação UV que incide nessa região é cerca de 20 vezes maior do que na porção temporal (Coroneo, 2011). Em adição, as características histopatológicas encontradas no pterígio são similares aos aspectos da pele danificada pela exposição crônica à UVR (Di Girolamo *et al.*, 2004).

A radiação ultravioleta é classificada em UVA (320-400 nm), UVB (280-320 nm) e UVC (200-280 nm), sendo que a maior parte da radiação UVC é absorvida pela camada de ozônio, e apenas as radiações UVA e UVB incidem na superfície ocular. Ambos os raios estão implicados em diversas atividades biológicas, tais como causa de dano ao DNA, estresse oxidativo e ativação de vias de sinalização intracelular. Acredita-se que a radiação UVB seja a principal envolvida na gênese do pterígio, devido à sua maior absorção pela córnea (Ding; Wang; He, 2024; Wanzeler *et al.*, 2019).

Dushku e colaboradores demonstraram que a formação do pterígio se inicia no epitélio limbal, em vez do epitélio conjuntival, como se acreditava inicialmente (Dushku *et al.*, 2001). Uma das principais hipóteses acerca da origem da lesão é a disfunção das células-tronco epiteliais limbais (LESCs). O foco de incidência da luz UV na região nasal do limbo afeta diretamente as LESCs que residem nesta região, levando a danos no DNA e estresse oxidativo, que resultam na transformação dessas células (Di Girolamo *et al.*, 2004). Dessa forma, a ativação das LESCs resulta em expansão clonal, migração e invasão da córnea. Adicionalmente, ocorre disfunção localizada da barreira limbal, que é responsável por separar a conjuntiva da córnea, permitindo a invasão de células conjuntivais ao tecido corneano (Chui *et al.*, 2011).

Uma hipótese de duas etapas foi proposta para explicar o papel da radiação UV na patogênese do pterígio. Acredita-se que o primeiro estágio seja responsável pela iniciação da lesão, na qual as LESCs são transformadas e a barreira limbal é prejudicada, levando ao segundo estágio que contribui para a progressão do pterígio, onde ocorrem processos

secundários a essa condição, como a inflamação, angiogênese, ativação de fatores de crescimento e remodelamento da matriz extracelular (Zhou *et al.*, 2016).

3. Fatores apoptóticos e supressores tumorais

A proteína supressora tumoral p53 desempenha papel fundamental na resposta ao dano do DNA e ao estresse celular, estando envolvida em diversos processos, incluindo o reparo do DNA, a regulação do ciclo celular, apoptose e senescência. Alterações na expressão ou funcionamento da p53 podem levar à instabilidade genômica, sendo que mutações em seu gene codificador, *TP53*, são as alterações mais frequentes encontradas no câncer (Hafner *et al.*, 2019).

Diversos estudos identificaram a expressão da proteína p53 no pterígio, a qual normalmente não é detectada na conjuntiva saudável (Turan; Turan, 2020; Cao *et al.*, 2018; Tsai *et al.*, 2005a; Weinstein *et al.*, 2002). A MDM2 (do inglês, *murine double minute 2*), uma ligase de ubiquitina, atua como antagonista da p53, induzindo a sua degradação, ou conduzindo-a ao citoplasma, onde a proteína parece ter função reduzida (Zafar; Khan; Naeem, 2023). Cao e colaboradores detectaram altos níveis de MDM2 no pterígio, concomitantemente à imunorreatividade de p53, que estava predominantemente localizada no citoplasma (Cao *et al.*, 2018). Adicionalmente, a exposição à radiação UVB aumenta os níveis da survivina, uma proteína anti-apoptótica regulada pela p53, que foi reportada como aumentada no pterígio e parece induzir resistência à apoptose (Maxia *et al.*, 2008). Essas evidências sugerem que, embora a proteína p53 esteja em níveis aumentados no pterígio, sua função parece ser reduzida. Adicionalmente, é provável que exista um desequilíbrio em toda a via de ação da p53, e as alterações não se restringem apenas à proteína supressora tumoral (Chu *et al.*, 2020).

4. Inflamação e fatores de crescimento

A inflamação crônica é observada na maioria dos casos de pterígio e acredita-se que seja uma resposta à exposição aos raios UVB. Essa exposição induz a produção de espécies reativas de oxigênio (ROS), que resulta em estresse oxidativo. Esse processo está envolvido na liberação de quimiocinas, citocinas pró-inflamatórias e fatores de crescimento (Bradley *et al.*, 2010). O marcador de lesão oxidativa, 8-OHdG (do inglês, *8-hydroxydeoxyguanosine*) foi detectado em diversos casos de pterígio (Kau *et al.*, 2006; Tsai *et al.*, 2005b), o que pode indicar que o estresse

oxidativo, causado pela UVR, é um processo importante na patogênese da lesão (Zhang, *et al.*, 2024).

A radiação UVB induz a ativação das vias ERK (do inglês, *extracellular signal-regulated kinase*) e MAPK (do inglês, *mitogen-activated protein kinase*), em células epiteliais do pterígio (Di Girolamo; Coroneo; Wakefield, 2003). A ativação dessas vias contribui para a proliferação celular e resposta inflamatória, aumentando a expressão das interleucinas 6 (IL-6) e 8 (IL-8), MMP-1 (do inglês, *matrix metalloproteinase 1*) e VEGF (do inglês, *vascular endothelial growth factor*) (Zhang, *et al.*, 2024).

As interleucinas são citocinas secretadas pelos leucócitos e agem como importantes mediadores da inflamação (Brocker *et al.*, 2010). Di Girolamo e colaboradores demonstraram que a IL-6 e IL-8 estão em níveis aumentados, do ponto de vista transcricional e proteico, no pterígio. Ademais, após exposição à radiação UVB, os níveis dessas interleucinas aumentaram de forma dose e tempo dependentes. Ambas as interleucinas estão envolvidas em processos observados no pterígio, como angiogênese, quimiotaxia leucocítica e atividade anti-apoptótica (Di Girolamo *et al.*, 2002).

O processo inflamatório também é um importante indutor da angiogênese do pterígio, contribuindo para o seu desenvolvimento (Bradley *et al.*, 2010). Além da indução da expressão de VEGF pelo estresse oxidativo, a ativação de TGF- β (do inglês, *transforming growth factor beta*), resultante do processo inflamatório, também aumenta os níveis de VEGF (Naginei *et al.*, 2003). Adicionalmente, como resposta protetiva ao dano oxidativo, há a liberação de óxido nítrico (NO), que reage com esses radicais livres e forma produtos mais estáveis (Zhang *et al.*, 2024). No entanto, a produção excessiva de NO aumenta os níveis e a atividade de VEGF, estimulando a neovascularização (Lee *et al.*, 2001). Em adição, ROS também eleva os níveis de outro fator angiogênico, o b-FGF (*basic fibroblast growth factor*), que também foi observado em altos níveis no tecido pterigial em comparação à conjuntiva saudável (Kria; Ohira; Amemiya, 1996)

O estresse oxidativo induz a ativação de outros fatores de crescimento, como PDGF (*platelet derived growth factor*), TGF- β (Kria; Ohira; Amemiya, 1996; Bianchi *et al.*, 2012) CTGF (*connective tissue growth factor*) (van Setten *et al.*, 2003) e HB-EGF (*heparine binding epidermal growth factor-like epidermal growth factor*) (Nolan *et al.*, 2003). Desta forma, o

estresse oxidativo contribui para a perda do controle da proliferação células epiteliais, dos fibroblastos, células endoteliais e inflamatórias no pterígio (Anguria *et al.*, 2014).

5. Remodelamento da matriz extracelular (ECM)

O remodelamento da matriz extracelular (ECM, do inglês, *extracellular matrix*) é uma característica frequentemente observada no pterígio, caracterizada pela degeneração elastoide, com acúmulo de colágeno e disruptura da camada de Bowman (Di Girolamo *et al.*, 2004). A matriz extracelular é essencial para manter a estrutura do tecido e pela manutenção da homeostase, além de participar de processos de sinalização, diferenciação, proliferação e migração celular. Alterações na ECM, como observadas no pterígio, podem contribuir para o fenótipo invasivo da lesão (Martín-López *et al.*, 2021).

As MMPs (do inglês, *matrix metalloproteinases*) constituem uma subfamília de proteases, que desempenham papel fundamental na degradação da ECM. Adicionalmente, as MMPs participam, direta ou indiretamente, por meio de interações com outras proteases, nos processos de angiogênese, apoptose, inflamação, viabilidade, migração celular e modulação da resposta imunológica (Stamenkovic, 2003). Essas enzimas já foram associadas a diversas doenças neurodegenerativas e cardiovasculares, e ao câncer (Raeeszadeh-Sarmazdeh; Do; Hritz, 2020).

As MMPs são predominantemente sintetizadas pelos fibroblastos, os quais apresentam função alterada no pterígio e parecem desempenhar um papel fundamental na patogênese da lesão (Martín-López *et al.*, 2021). Um estudo recente sugere que a exposição à UVR leva à ativação dos fibroblastos, por meio do dano ao DNA, ou pela ativação mediada pelas LSCs alteradas, via mecanismos dependentes de TGF- β e b-FGF (Shahraki; Arabi; Feizi, 2021). Desta forma, os fibroblastos ativados produzem níveis anormais de MMPs (Zhou *et al.*, 2016).

Altos níveis de expressão de MMP-1, MMP-3 (Li *et al.*, 2001), MMP-2, MMP-9 (Yang *et al.*, 2009) e MMP-7 (Di Girolamo; Coroneo; Wakefield, 2001) foram reportadas no pterígio, em comparação à conjuntiva saudável. Esse aumento foi observado, principalmente, na cabeça do pterígio, região responsável pelo avanço do pterígio na córnea (Di Girolamo; Wakefield; Coroneo, 2000; Li *et al.*, 2001). Concomitante à alteração nos níveis de expressão de MMP-2, Riau e colaboradores reportaram a hipometilação no promotor do gene codificador dessa enzima, sugerindo que o padrão de metilação de genes envolvidos no remodelamento da matriz extracelular pode estar envolvido na patogênese do pterígio (Riau *et al.*, 2011). Ademais, as

MMPs parecem estar envolvidas com a degradação da membrana de Bowman, permitindo que o estroma corneal seja invadido pelo tecido fibrovascular conjuntival, reafirmando o papel das MMPs na migração e invasão celular (Tsai *et al.*, 2010).

6. Transição epitelial-mesenquimal (EMT)

A transição epitelial-mesenquimal (EMT, do inglês, *epithelial-mesenchymal transition*) é o processo pelo qual as células epiteliais perdem a adesão célula-célula e passam a apresentar um fenótipo mesenquimal. O epitélio é caracterizado por uma camada única ou múltiplas camadas de células justapostas, que se comunicam via junções intracelulares, e funcionam como barreiras protetoras que delimitam tecidos e órgãos. No entanto, essas células podem perder essas características, após uma série de eventos, e passar a apresentar um fenótipo mesenquimal, ao adquirir motilidade e capacidade de degradação da ECM, permitindo um comportamento migratório e invasivo (Lamouille; Xu; Deryck, 2014).

A EMT possui papel fundamental no desenvolvimento embrionário e na cicatrização, durante a fase adulta. Entretanto, a ativação anormal da EMT pode levar à progressão maligna de células neoplásicas, contribuindo para a iniciação e metástase de diversos tipos de cânceres (Dongre; Weinberg, 2019).

Alguns estudos detectaram alterações em marcadores característicos da EMT no pterígio. Foi reportada a diminuição da expressão de *CDHI* (do inglês, *cadherin-1*), gene codificador da proteína E-caderina que atua na adesão célula-célula, associada à hipermetilação de sua região promotora (Young *et al.*, 2010). Outros aspectos, como acúmulo intranuclear de β -catenina (Kato *et al.*, 2007), diminuição dos níveis de TGM-2 (do inglês, *transglutaminase 2*), e aumento dos níveis de expressão de *CD24* (do inglês, *cluster of differentiation 24*) (Riau *et al.*, 2011) e *TWIST1* (Meshkani *et al.*, 2019), também foram identificados na lesão.

Presume-se que a EMT esteja envolvida na origem dos fibroblastos do pterígio. Considera-se que essas células possam derivar de células epiteliais do limbo que sofreram EMT, em decorrência da ativação de TGF- β ou b-FGF, ou como consequência direta da radiação UV (Chui *et al.*, 2008). Desta forma, a EMT pode ter papel fundamental na patogênese do pterígio e representar um importante alvo terapêutico para esse distúrbio.

Epigenética

A epigenética abrange o estudo dos diferentes estados da cromatina que levam a alterações na expressão gênica, interligando as informações contidas no genoma humano aos perfis de expressão gênica tecido-específicos, sem alterar a sequência do DNA. Os mecanismos epigenéticos podem ser didaticamente organizados em metilação do DNA, modificações pós-traducionais das histonas e RNAs não codificantes (ncRNAs) (Gibney; Nolan, 2010). A heterocromatina e eucromatina são os estados altamente e levemente condensados da cromatina, respectivamente. Essa dinamicidade da condensação modula a acessibilidade dos fatores de transcrição às regiões regulatórias do genoma, conseqüentemente modulando a expressão gênica (Ventakesh; Workman, 2015).

As modificações bioquímicas da cromatina são dinâmicas e reversíveis, sendo coordenadas por proteínas classificadas em *writers*, *erasers* e *readers*, que adicionam, removem e identificam essas modificações, respectivamente. Os mecanismos epigenéticos estão envolvidos na regulação da transcrição, reparo do DNA e replicação (Ventakesh; Workman, 2015). O desbalanço epigenético pode levar a padrões anormais da expressão gênica, contribuindo para o desenvolvimento e progressão de diversas doenças, como o câncer, distúrbios neurológicos e diabetes (Cavalli; Heard, 2019; Dawson; Kouzarides, 2012; Dawson, 2017).

A metilação do DNA é um dos mecanismos epigenéticos mais estudados em mamíferos, e está envolvida em diversos processos biológicos, como repressão transcricional de elementos transponíveis, inativação do cromossomo X em fêmeas e o *imprinting* genômico. Essa modificação compreende a adição de um grupamento metil (CH_3) no carbono 5 dos resíduos de citosinas, formando a 5-metilcitosina (5mC). Em geral, a metilação do DNA ocorre no contexto de dinucleotídeos CpG, em que uma citosina precede uma guanina, ou em ilhas CpG (CGIs) (Moore; Le; Fan, 2013; Schübeler, 2015).

Inicialmente, as ilhas CpG eram definidas como regiões genômicas com mais de 200 pares de base (bp), com um conteúdo de dinucleotídeos CpG igual ou superior a 50%, e razão de CpG observado/esperado de 0.6 (Gardiner-Gardner; Frommer, 1987). Entretanto, essa definição incluía sequências repetitivas do genoma que não desempenhavam papel na regulação gênica. Desta forma, Takai e Jones propuseram uma nova definição, que é utilizada atualmente, na qual as CGIs são caracterizadas por regiões de, no mínimo, 500 bp, com conteúdo de dinucleotídeos CpG maior ou igual a 55%, e razão de CpG observado/esperado de 0.65 (Takai;

Jones, 2002). Cerca de 60-70% dos promotores gênicos humanos estão associados a CGIs, sendo essas regiões importantes elementos para a regulação da expressão gênica. Em sua maioria, as ilhas CpG não se encontram metiladas, contribuindo para a atividade transcricional do gene (Illingworth; Bird, 2009). Além disso, as regiões adjacentes às ilhas CpG (CGIs), conhecidas como *shores* (até 2 kb de distância) e *shelves* (entre 2 e 4 kb de distância), também parecem estar envolvidas na regulação da expressão gênica. No entanto, seus papéis biológicos ainda não estão completamente elucidados (Irizarry *et al.*, 2009).

Ainda, embora menos frequente, a metilação também pode ocorrer em contextos CHH e/ou CHG, onde 'H' representa qualquer base exceto guanina (Adenina, Citosina ou Timina). Normalmente, a metilação nesses sítios é uma característica de células-tronco, representando cerca de 25% das citosinas metiladas. Em contraste, nas células somáticas, a metilação em CHH/CHG representam aproximadamente 1% (He; Ecker, 2015).

As enzimas DNA metiltransferases (DNMTs) catalisam a metilação das citosinas, sendo a DNMT1 responsável pela manutenção do padrão de metilação do DNA durante a divisão celular, enquanto as DNMT3a e DNMT3b são responsáveis pelo estabelecimento de novos padrões de metilação (metilação *de novo*) (Jones, 2012; Edwards *et al.*, 2017). Perfis anormais de metilação do DNA, bem como mutações e alterações na expressão das DNMTs, podem levar a padrões aberrantes de expressão gênica, e são amplamente reportados em diversos tipos de câncer (Cavalli; Heard, 2019).

Epigenética do pterígio

A investigação do papel dos mecanismos epigenéticos na patogênese do pterígio tem ganhado crescente destaque, especialmente com o avanço de estudos baseados em sequenciamento em larga escala. Recentemente, uma análise por ChIP-Seq (Chromatin Immunoprecipitation Sequencing) revelou que modificações nos níveis de metilação de histonas podem estar associadas ao desenvolvimento do pterígio, influenciando diversas vias relacionadas ao processo de desenvolvimento (Choi *et al.*, 2025). Entre os mecanismos epigenéticos, a metilação do DNA parece ser o mais impactado na doença (Lanza *et al.*, 2019). No entanto, seu papel na etiologia e progressão do pterígio ainda é pouco explorado, ressaltando a necessidade de investigações mais aprofundadas.

Em 2006, Chen e colaboradores realizaram o primeiro estudo que investigou a metilação do gene *CDKN2A* (do inglês, *cyclin dependent kinase inhibitor 2A*) no pterígio, baseando-se na técnica de MS-PCR (do inglês, *methylation-specific polymerase chain reaction*). Foi detectada a hipermetilação do promotor desse gene, codificador da proteína p16, em 16.3% das amostras de pterígio (Chen *et al.*, 2006). A proteína p16 é um gene supressor tumoral, envolvido na regulação do ciclo celular e está associado à iniciação e progressão tumoral, cuja regulação da expressão gênica é majoritariamente mediada pela metilação de sua região promotora (Nuovo *et al.*, 1999). Em adição, foi identificada a expressão de DNMT3b em todos os casos com hipermetilação de *CDKN2A*, evidenciando uma possível correlação entre os dois eventos. Esses achados foram as primeiras evidências que sugeriam que alterações na metilação do DNA podem desempenhar um papel fundamental no desenvolvimento do pterígio (Chen *et al.*, 2006). Estudos subsequentes avaliaram os níveis de metilação no pterígio, se baseando, em sua maioria, na mesma metodologia de MS-PCR, com exceção a dois estudos que se basearam nas técnicas EpiTYPER e Illumina Infinium Methylation EPIC v2.0 BeadChip array (Tabela 1).

Tabela 1. Genes com alteração no padrão de metilação reportados na literatura.

Gene	Nível de metilação	Expressão	Técnicas empregadas	Citação
<i>CDKN2A</i>	Hipermetilado	Diminuída	MS-PCR, IHC	Chen <i>et al.</i> , 2006
<i>CDH1</i>	Hipermetilado	Diminuída	MS-PCR, IHC	Young <i>et al.</i> , 2010
<i>LATS1</i> <i>LATS2</i>	Hipermetilado	Diminuída	MS-PCR, qPCR	Najafi; Kordi-Tamandani; Arish, 2016
<i>TGM2</i>	Hipermetilado	Diminuída	EpiTYPER, RT-PCR	Riau <i>et al.</i> , 2011
<i>CD24</i> <i>MMP2</i>	Hipometilado	Aumentada		
<i>MDM2</i>	Hipometilado	Aumentada	MS-PCR, RT-qPCR	Arish <i>et al.</i> , 2016
<i>P14</i>	Sem diferença estaticamente significativa	Sem diferença estaticamente significativa		
<i>CTLA4</i>	Sem diferença estaticamente significativa	Aumentada	MS-PCR, qPCR	Ebrahimi; Kordi-Tamandani; Arish, 2016
<i>SAMSNI</i> <i>CBX4</i>	Hipermetilado	Diminuída	Illumina Infinium Methylation EPIC v2.0 BeadChip array, RT-qPCR	L <i>et al.</i> , 2025
<i>FBLN5</i> <i>ZEB1</i> <i>MMP2</i>	Hipometilado	Aumentada		

Outros genes supressores tumorais, como *LATS1* e *LATS2* (do inglês, *large tumor suppressor kinase 1 e 2*), também foram detectados como metilados no pterígio, concomitantes à diminuição da expressão desses genes (Najafi; Kordi-Tamandani; Arish, 2016). Ambos os genes codificam proteínas envolvidas na resposta ao dano no DNA induzida pela radiação ultravioleta, sendo responsáveis pela manutenção da estabilidade genômica (Furth; Aylon, 2017). Adicionalmente, o gene *MDM2*, responsável por mediar a degradação da proteína supressora tumoral p53, foi reportado hipometilado no pterígio, com níveis aumentados de expressão gênica (Arish *et al.*, 2016).

Ainda, foram identificadas alterações em genes envolvidos no remodelamento da matriz extracelular e transição epitelial-mesenquimal. O gene *CDH1* normalmente é expresso em células epiteliais, e a perda da expressão dessa proteína contribui para a transição epitelial-mesenquimal, sendo um biomarcador conhecido desse processo (Van Roy; Berx, 2008). No pterígio, foi reportada a hipermetilação do gene *CDH1*, associada à diminuição nos níveis de expressão desse gene, em comparação à conjuntiva saudável (Young *et al.*, 2010). Adicionalmente, Riau e colaboradores reportaram a hipermetilação de *TGM2*, e hipometilação de *CD24* e *MMP2*, associadas à diminuição e aumento nos níveis de expressão gênica, respectivamente. No geral, a alteração nos níveis de metilação e, conseqüentemente, alteração nos padrões de expressão desses genes, contribuem para a perda de adesão das células epiteliais e levam ao remodelamento da ECM, favorecendo a transição epitelial-mesenquimal e invasão das células epiteliais à córnea adjacente (Riau *et al.*, 2011).

Recentemente, um estudo realizou a investigação em larga escala dos níveis de metilação do DNA de amostras de pterígio, utilizando a estratégia de microarranjos Illumina Infinium Methylation EPIC v2.0 BeadChip, a qual investigou os níveis de metilação de cerca de 930 mil sítios CpG, baseado em sondas. Este estudo destacou diversos genes diferencialmente metilados, implicados em vias de adesão celular, remodelamento da matriz extracelular, angiogênese, dano oxidativo, via canônica Wnt/ β -catenina, que podem estar envolvidos na patogênese do pterígio (L *et al.*, 2025).

Apesar dessas evidências, há uma escassez de estudos que avaliaram a metilação do DNA no pterígio (Figura 3). Até o momento, todos os estudos se basearam em técnicas semi-quantitativas (MS-PCR e microarranjo) ou quantitativa para uma lista restrita de genes (EpiTYPER), e avaliaram o pterígio inteiro, sem considerar as diferentes porções do tecido. Neste contexto, este estudo pretende avaliar o perfil de metilação global no pterígio, utilizando

a técnica quantitativa RRBS (*Reduced representation bisulfite sequencing*), de amostras da cabeça do pterígio. Nossa hipótese é que a cabeça esteja envolvida na gênese do pterígio, e é onde ocorrem os processos migratórios e proliferativos que levam à formação do pterígio. O RRBS é uma estratégia adequada para a análise dos níveis de metilação em ilhas CpG, sendo ideal para o *screening* da avaliação do perfil de metilação global do pterígio (Kurdyukov; Bullock, 2016).

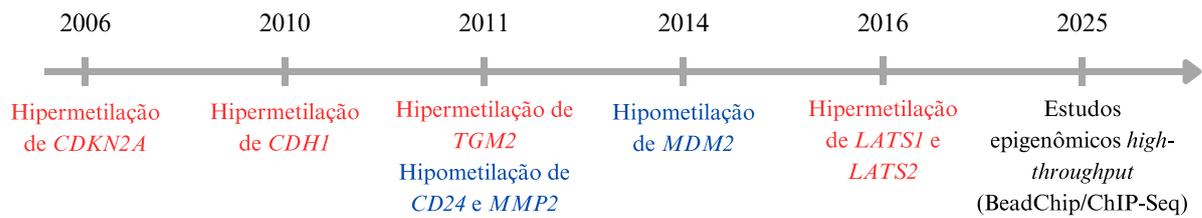


Figura 3. Linha do tempo indicando as evidências em literatura sobre o envolvimento dos mecanismos epigenéticos no pterígio, com foco nas alterações da metilação em genes candidatos.

Referências bibliográficas

AL FAYEZ, M. Limbal versus conjunctival autograft transplantation for advanced and recurrent pterygium. **Ophthalmology**, v. 109, n. 9, p. 1752–1755, 2002.

ALPAY, A.; UGURBAS, S.H.; ERDOGAN, B. Comparing techniques for pterygium surgery. **Clinical Ophthalmology**, v.3, p. 69-74, 2009.

ALQAHTANI, J.M. The prevalence of pterygium in Al-Khobar: a hospital-based study. **Journal of Family and Community Medicine**, v. 20, n. 3, p. 159, 2013.

ANG, L. P.; CHUA, J. L.; TAN, D. T. Current concepts and techniques in pterygium treatment. **Current Opinion in Ophthalmology**, v. 18, n. 4, p. 308–313, 2007.

ANGURIA, P. *et al.* The role of heredity in pterygium development. **International Journal of Ophthalmology**, v. 7, n. 3, p. 563-573, 2014.

ARISH, M. *et al.* Assessment of promoter hypermethylation and expression profile of P14ARF and MDM2 genes in patients with pterygium. **Eye & Contact Lens: Science & Clinical Practice**, v. 42, n. 1, p. e4–e7, 2016.

BAHERAN, S. S. *et al.* Pharmacological treatment strategies of pterygium: drugs, biologics, and novel natural products. **Drug Discovery Today**, v. 28, n. 1, p. 103416, 2023.

BIANCHI, E. *et al.* Immunohistochemical profile and VEGF, TGF- β and PGE₂ in human pterygium and normal conjunctiva: experimental study and review of the literature. **International Journal of Immunopathology and Pharmacology**, v. 25, n. 3, p. 607–615, 2012.

BIKBOV, M. M. *et al.* Pterygium prevalence and its associations in a Russian population: the Ural Eye and Medical Study. **American Journal of Ophthalmology**, v. 205, p. 27–34, 2019.

BRADLEY, J. C. *et al.* The science of pterygia. **British Journal of Ophthalmology**, v. 94, n. 7, p. 815–820, 2010.

BROCKER, C. *et al.* Evolutionary divergence and functions of the human interleukin (IL) gene family. **Human Genomics**, v. 5, n. 1, p. 30, 2010.

CAO, D. *et al.* p53 inhibition by MDM2 in human pterygium. **Experimental Eye Research**, v. 175, p. 142–147, 2018.

CÁRDENAS-CANTÚ, E. *et al.* Molecular basis of pterygium development. **Seminars in Ophthalmology**, p. 1–17, 2014.

CAVALLI, G.; HEARD, E. Advances in epigenetics link genetics to the environment and disease. **Nature**, v. 571, n. 7766, p. 489–499, 2019.

CHALKIA, A.K., SPANDIDOS, D.A., DETORAKIS, E.T. Viral involvement in the pathogenesis and clinical features of ophthalmic pterygium (review). **International Journal of Molecular Medicine**, v. 32, p. 539-543, 2013.

- CHEN, P-L. *et al.* Hypermethylation of the p16 gene promoter in pterygia and its association with the expression of DNA methyltransferase 3b. **Molecular Vision**, v. 12, p. 1411-1416, 2006.
- CHEN, P. P. *et al.* A randomized trial comparing mitomycin C and conjunctival autograft after excision of primary pterygium. **American Journal of Ophthalmology**, v. 120, n. 2, p. 151–160, 1995.
- CHEN, T. *et al.* Prevalence and racial differences in pterygium: a cross-sectional study in Han and Uyur adults in Xinjiang, China. **Investigative Ophthalmology & Visual Science**, v. 56, n. 2, p. 1109–1117, 2015.
- CHOI, D. *et al.* Histone H3 lysine 9 tri-methylation is associated with pterygium. **BMC Ophthalmology**, v. 25, n. 1, p. 106, 2025.
- CHU, W. K. *et al.* Pterygium: new insights. **Eye**, v. 34, n. 6, p. 1047–1050, 2020.
- CHUI, J. *et al.* The pathogenesis of pterygium: current concepts and their therapeutic implications. **The Ocular Surface**, v. 6, n. 1, p. 24–43, 2008.
- CHUI, J. *et al.* Ophthalmic pterygium: a stem cell disorder with premalignant features. **The American Journal of Pathology**, v. 178, n. 2, p. 817–827, 2011.
- CORONEO, M. Ultraviolet radiation and the anterior eye. **Eye & Contact Lens: Science & Clinical Practice**, v. 37, n. 4, p. 214–224, 2011.
- DAWSON, M. A. The cancer epigenome: concepts, challenges, and therapeutic opportunities. **Science**, v. 355, n. 6330, p. 1147–1152, 2017.
- DAWSON, M. A.; KOUZARIDES, T. Cancer epigenetics: from mechanism to therapy. **Cell**, v. 150, n. 1, p. 12–27, 2012.
- DI GIROLAMO, N. Association of human papilloma virus with pterygia and ocular-surface squamous neoplasia. **Eye**, v. 26, n. 2, p. 202–211, 2012.
- DI GIROLAMO, N.; CORONEO, M. T.; WAKEFIELD, D. Active matrilysin (MMP-7) in human pterygia: potential role in angiogenesis. **Investigative Ophthalmology & Visual Science**, v. 42, n. 9, 2001.
- DI GIROLAMO, N.; CORONEO, M. T.; WAKEFIELD, D. UVB-elicited induction of MMP-1 expression in human ocular surface epithelial cells is mediated through the ERK1/2 MAPK-dependent pathway. **Investigative Ophthalmology & Visual Science**, v. 44, n. 11, p. 4705, 2003.
- DI GIROLAMO, N.; WAKEFIELD, D.; CORONEO, M. T. Differential expression of matrix metalloproteinases and their tissue inhibitors at the advancing pterygium head. **Investigative Ophthalmology & Visual Science**, v. 41, n. 13, 2000.
- DI GIROLAMO, N. *et al.* UVB-mediated induction of interleukin-6 and -8 in pterygia and cultured human pterygium epithelial cells. **Investigative Ophthalmology & Visual Science**, v. 43, n. 11, p. 3430-3437, 2002.

DI GIROLAMO, N. *et al.* Pathogenesis of pterygia: role of cytokines, growth factors, and matrix metalloproteinases. **Progress in Retinal and Eye Research**, v. 23, n. 2, p. 195–228, 2004.

DING, P.; WANG, R.; HE, Y. Risk factors for pterygium: latest research progress on major pathogenesis. **Experimental Eye Research**, v. 243, p. 109900, 2024.

DONGRE, A.; WEINBERG, R. A. New insights into the mechanisms of epithelial–mesenchymal transition and implications for cancer. **Nature Reviews Molecular Cell Biology**, v. 20, n. 2, p. 69–84, 2019.

DUSHKU, N. *et al.* Pterygia pathogenesis: corneal invasion by matrix metalloproteinase expressing altered limbal epithelial basal cells. **Archives of Ophthalmology**, v. 119, n. 5, p. 695-706, 2001.

EBRAHIMI, M. E.; KORDI-TAMANDANI, D. M.; ARISH, M. A novel approach to investigation of the pathogenesis of pterygium based on assessment of promoter hypermethylation and expression profile of CTLA4 gene. **Gene**, v. 583, n. 2, p. 130–133, 2016.

EDWARDS, J. R. *et al.* DNA methylation and DNA methyltransferases. **Epigenetics & Chromatin**, v. 10, n. 1, p. 23, 2017.

FERNANDES, A. G. *et al.* Pterygium in adults from the Brazilian Amazon Region: prevalence, visual status and refractive errors. **British Journal of Ophthalmology**, v. 104, n. 6, p. 757–763, 2020.

FURTH, N.; AYLON, Y. The LATS1 and LATS2 tumor suppressors: beyond the Hippo pathway. **Cell Death & Differentiation**, v. 24, n. 9, p. 1488–1501, 2017.

GARDINER-GARDNER, M.; FROMMER, M. CpG islands in vertebrate genomes, **Journal of Molecular Biology**, v. 196, p. 261-282, 1987.

GIBNEY, E. R.; NOLAN, C. M. Epigenetics and gene expression. **Heredity**, v. 105, n. 1, p. 4–13, 2010.

GRIS, O.; GÜELL, J. L.; DEL CAMPO, Z. Limbal-conjunctival autograft transplantation for the treatment of recurrent pterygium. **Ophthalmology**, v. 107, n. 2, p. 270–273, 2000.

HACIOĞLU, D.; ERDÖL, H. Developments and current approaches in the treatment of pterygium. **International Ophthalmology**, v.4, p. 1073-1081, 2017.

HAFNER, A. *et al.* The multiple mechanisms that regulate p53 activity and cell fate. **Nature Reviews Molecular Cell Biology**, v. 20, n. 4, p. 199–210, 2019.

HAYASAKA, S. *et al.* Late complications after pterygium excision with high dose mitomycin C instillation. **British Journal of Ophthalmology**, v. 9, p. 1081-1082, 2000.

HE, Y.; ECKER, J.R. Non-CG Methylation in the Human Genome. **Annual Review of Genomics and Human Genetics**, v. 16, p. 55-77, 2015.

ILLINGWORTH, R. S.; BIRD, A. P. CpG islands – ‘a rough guide’. **FEBS Letters**, v. 583, n. 11, p. 1713–1720, 2009.

IRIZARRY, R.A. *et al.* The human colon cancer methylome shows similar hypo- and hypermethylation at conserved tissue-specific CpG island shores. **Nature Genetics**, v. 41, n. 2, p. 178-186, 2009.

JOHNSTON, S.C.; WILLIAMS, P.B.; SHEPPARD, J.D.J. A comprehensive system for pterygium classification. **Investigative Ophthalmology & Visual Science**, v. 45, p. 2940, 2004.

JONES, P. A. Functions of DNA methylation: islands, start sites, gene bodies and beyond. **Nature Reviews Genetics**, v. 13, n. 7, p. 484–492, 2012.

KASSIE ALEMAYEHU, T. *et al.* Prevalence and associated factors of pterygium among adults living in Kolla Diba town, northwest Ethiopia. **Clinical Ophthalmology**, v. 14, p. 245-255, 2020.

KATO, N. *et al.* β -catenin activation and epithelial-mesenchymal transition in the pathogenesis of pterygium. **Investigative Ophthalmology & Visual Science**, v. 48, n. 4, p. 1511, 2007.

KAU, H.-C. *et al.* Increased oxidative DNA damage, 8-hydroxydeoxy- guanosine, in human pterygium. **Eye**, v. 20, n. 7, p. 826–831, 2006.

KRIA, L.; OHIRA, A.; AMEMIYA, T. Immunohistochemical localization of basic fibroblast growth factor, platelet derived growth factor, transforming growth factor- β and tumor necrosis factor- α in the pterygium. **Acta Histochemica**, v. 98, n. 2, p. 195–201, 1996.

KURDYUKOV, S.; BULLOCK, M. DNA methylation analysis: choosing the right method. **Biology**, v. 5, n. 1, p. 3, 2016.

L, M. *et al.* Genome-wide methylation analysis unveils genes and pathways with altered methylation profiles in pterygium. **Experimental Eye Research**, v. 255, p. 110353, 2025.

LAMOUILLE, S.; XU, J.; DERYNCK, R. Molecular mechanisms of epithelial–mesenchymal transition. **Nature Reviews Molecular Cell Biology**, v. 15, n. 3, p. 178–196, 2014.

LANZA, M. *et al.* Clinical role of epigenetics and network analysis in eye diseases: a translational science review. **Journal of Ophthalmology**, v. 2019, p. 1–11, 2019.

LEE, D-H. *et al.* Expression of vascular endothelial growth factor and inducible nitric oxide synthase in pterygia: **Cornea**, v. 20, n. 7, p. 738–742, 2001.

LI, D-Q. *et al.* Overexpression of collagenase (MMP-1) and stromelysin (MMP-3) by pterygium head fibroblasts. **Archives of Ophthalmology**, v. 119, p. 71-80, 2001.

MARTÍN-LÓPEZ, J. *et al.* The role of the stromal extracellular matrix in the development of pterygium pathology: an update. **Journal of Clinical Medicine**, v. 10, n. 24, p. 5930, 2021.

MAXIA, C. *et al.* Expression of survivin protein in pterygium and relationship with oxidative DNA damage. **Journal of Cellular and Molecular Medicine**, v. 12, n. 6a, p. 2372–2380, 2008.

MCGLACKEN-BYRNE, A. B. *et al.* Gender and ethnic differences in pterygium prevalence: an audit of remote Australian clinics. **Clinical and Experimental Optometry**, v. 104, n. 1, p. 74–77, 2021.

MESHKANI, S. E. *et al.* Signaling roadmap to epithelial–mesenchymal transition in pterygium, *TWIST1* centralized. **Journal of Cellular Physiology**, v. 234, n. 10, p. 18146–18155, 2019.

MOORE, L. D.; LE, T.; FAN, G. DNA methylation and its basic function. **Neuropsychopharmacology**, v. 38, n. 1, p. 23–38, 2013.

NAGINENI, C. N. *et al.* Transforming growth factor- β induces expression of vascular endothelial growth factor in human retinal pigment epithelial cells: involvement of mitogen-activated protein kinases. **Journal of Cellular Physiology**, v. 197, n. 3, p. 453–462, 2003.

NAJAFI, M.; KORDI-TAMANDANI, D. M.; ARISH, M. Evaluation of *LATS1* and *LATS2* promoter methylation with the risk of pterygium formation. **Journal of Ophthalmology**, v. 2016, p. 1–5, 2016.

NERGIZ, D., SÜREN, E., SÜREN, D. The role of HPV in the etiopathogenesis of pterygium and the relationship with recurrence. **International Ophthalmology**, v. 43, p. 3793–3801, 2023.

NOLAN, T. M. *et al.* The role of ultraviolet irradiation and heparin-binding epidermal growth factor-like growth factor in the pathogenesis of pterygium. **The American Journal of Pathology**, v. 162, n. 2, p. 567–574, 2003.

NUOVO, G. J. *et al.* *In situ* detection of the hypermethylation-induced inactivation of the *p16* gene as an early event in oncogenesis. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 96, n. 22, p. 12754–12759, 1999.

PIRAS, F. *et al.* Detection of human papillomavirus DNA in pterygia from different geographical regions. **British Journal of Ophthalmology**, v. 97, p. 864–866, 2003.

RAEESZADEH-SARMAZDEH, M.; DO, L.; HRITZ, B. Metalloproteinases and their inhibitors: potential for the development of new therapeutics. **Cells**, v. 9, n. 5, p. 1313, 2020.

REZVAN, F. *et al.* Prevalence and risk factors of pterygium: a systematic review and meta-analysis. **Survey of Ophthalmology**, v. 63, n. 5, p. 719–735, 2018.

RIAU, A. K. *et al.* Aberrant DNA methylation of matrix remodeling and cell adhesion related genes in pterygium. **PLoS ONE**, v. 6, n. 2, p. e14687, 2011.

RUBINFELD, R. S. *et al.* Serious complications of topical mitomycin-C after pterygium surgery. **Ophthalmology**, v. 99, n. 11, p. 1647–1654, 1992.

SAFIANIK, B.; BEN-ZION, I; GARZOZI, H.J. Serious corneoscleral complications after pterygium excision with mitomycin C. **British Journal of Ophthalmology**, v. 3, p. 357–358, 2002.

SCHELLINI, S.A. *et al.* Lack of papillomavirus (HPV) in pterygia of a Brazilian sample. **Arquivos Brasileiros de Oftalmologia**, v. 69, n. 4, p. 519–521, 2006.

SCHÜBELER, D. Function and information content of DNA methylation. **Nature**, v. 517, n. 7534, p. 321–326, 2015.

SHAHRAKI, T.; ARABI, A.; FEIZI, S. Pterygium: an update on pathophysiology, clinical features, and management. **Therapeutic Advances in Ophthalmology**, v. 13, p. 251584142110201, 2021.

SHIRATORI, C.A. *et al.* Prevalência do pterígio no município de Botucatu – estado de São Paulo, Brasil. **Arquivos Brasileiros de Oftalmologia**, v. 73, n. 4, p. 343-345, 2010.

STAMENKOVIC, I. Extracellular matrix remodelling: the role of matrix metalloproteinases. **The Journal of Pathology**, v. 200, n. 4, p. 448–464, 2003.

TAKAI, D.; JONES, P. A. Comprehensive analysis of CpG islands in human chromosomes 21 and 22. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 99, n. 6, p. 3740–3745, 2002.

TAN, D.T.H. *et al.* Effect of pterygium morphology on pterygium recurrence in a controlled trial comparing conjunctival autografting with bare sclera excision. **Archives of Ophthalmology**, v. 115, p. 1235-1240, 1997.

TSAI, Y.-Y. *et al.* p53 expression in pterygium by immunohistochemical analysis: a series report of 127 cases and review of the literature. **Cornea**, v. 24, n. 5, p. 583–586, 2005a.

TSAI, Y.-Y. *et al.* Oxidative DNA damage in pterygium. **Molecular Vision**, v. 11, p. 71-75, 2005b.

TSAI, Y.-Y. *et al.* Effect of TIMP-1 and MMP in pterygium invasion. **Investigative Ophthalmology & Visual Science**, v. 51, n. 7, p. 3462, 2010.

TURAN, M.; TURAN, G. Bcl-2, p53, and Ki-67 expression in pterygium and normal conjunctiva and their relationship with pterygium recurrence. **European Journal of Ophthalmology**, v. 30, n. 6, p. 1232–1237, 2020.

VAN ACKER, S. I. *et al.* Pterygium—the good, the bad, and the ugly. **Cells**, v. 10, n. 7, p. 1567, 2021.

VAN SETTEN, G. *et al.* Connective tissue growth factor in pterygium: simultaneous presence with vascular endothelial growth factor - possible contributing factor to conjunctival scarring. **Graefe's Archive for Clinical and Experimental Ophthalmology**, v. 241, n. 2, p.135-139, 2003.

VAN ROY, F.; BERX, G. The cell-cell adhesion molecule E-cadherin. **Cellular and Molecular Life Sciences**, v. 65, n. 23, p. 3756–3788, 2008.

VENKATESH, S.; WORKMAN, J. L. Histone exchange, chromatin structure and the regulation of transcription. **Nature Reviews Molecular Cell Biology**, v. 16, n. 3, p. 178–189, 2015.

VISO, E.; GUDE, F.; RODRÍGUEZ-ARES, M. T. Prevalence of pinguecula and pterygium in a general population in Spain. **Eye**, v. 25, n. 3, p. 350–357, 2011.

WANZELER, A. C. V. *et al.* Mechanisms and biomarker candidates in pterygium development. **Arquivos Brasileiros de Oftalmologia**, v. 82, n. 6, 2019.

WEINSTEIN, O. *et al.* Overexpression of p53 tumor suppressor gene in pterygia. **Eye**, v. 16, n. 5, p. 619–621, 2002.

WEST, S.; MUNOZ, B. Prevalence of pterygium in Latinos: proyecto VER. **British Journal of Ophthalmology**, v. 93, p. 1287-1290, 2009.

YANG, S.-F. *et al.* Increased expression of gelatinase (MMP-2 and MMP-9) in pterygia and pterygium fibroblasts with disease progression and activation of protein kinase C. **Investigative Ophthalmology & Visual Science**, v. 50, n. 10, p. 4588, 2009.

YOUNG, C.-H. *et al.* E-cadherin promoter hypermethylation may contribute to protein inactivation in pterygia. **Molecular Vision**, v. 16, p. 1047-1053, 2010.

ZAFAR, A.; KHAN, M. J.; NAEEM, A. MDM2- an indispensable player in tumorigenesis. **Molecular Biology Reports**, v. 50, n. 8, p. 6871–6883, 2023.

ZAKY, K.; KHALIFA, Y. Efficacy of preoperative injection versus intraoperative application of mitomycin in recurrent pterygium surgery. **Indian Journal of Ophthalmology**, v. 60, n. 4, p. 273, 2012.

ZHANG, M. *et al.* The role of oxidative stress in the pathogenesis of ocular diseases: an overview. **Molecular Biology Reports**, v. 51, n. 1, p. 454, 2024.

ZHOU W-P. *et al.* The role of ultraviolet radiation in the pathogenesis of pterygia (review). **Molecular Medicine Reports**, v. 14, n. 1, p. 3-15, 2016.

Conclusões

- As amostras da cabeça do pterígio apresentaram perfil de metilação do DNA distinto da conjuntiva não-exposta;
- Apesar de manterem características semelhantes às amostras primárias pareadas, os tecidos recorrentes não se agruparam a elas, sugerindo um possível acúmulo de alterações nos níveis de metilação do DNA;
- A maioria das citosinas diferencialmente metiladas (DMCs) foram localizadas na porção codificadora do genoma, principalmente em regiões de corpo do gene;
- Os principais genes diferencialmente metilados estão relacionados a vias de adesão celular, em especial genes da superfamília das caderinas, e a via de sinalização Wnt;
- Análises transcriptômicas reportaram a expressão diferencial de diversos genes também envolvidos em vias de adesão celular e Wnt. Nossos dados complementam esses estudos, uma vez que o padrão de metilação observado está alinhado com os perfis de expressão gênica previamente descritos, como a hipermetilação no corpo dos genes *WNT7B* e *WNT9A* e sua expressão aumentada.