

**UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
FACULDADE DE MEDICINA DE RIBEIRÃO PRETO**

**FREQÜÊNCIA DE HIPERTENSÃO OCULAR E
GLAUCOMA EM PACIENTES COM ORBITOPATIA DE
GRAVES E ANÁLISE DE MARCADORES DE
SUSCETIBILIDADE GENÉTICA NOS SUBTIPOS DA
ORBITOPATIA DE GRAVES**

Fabrizio Leon Mascaro da Silva

Ribeirão Preto

2006

Livros Grátis

<http://www.livrosgratis.com.br>

Milhares de livros grátis para download.

FABRIZIO LEON MASCARO DA SILVA

**FREQÜÊNCIA DE HIPERTENSÃO OCULAR E
GLAUCOMA EM PACIENTES COM ORBITOPATIA DE
GRAVES E ANÁLISE DE MARCADORES DE
SUSCETIBILIDADE GENÉTICA NOS SUBTIPOS DA
ORBITOPATIA DE GRAVES**

Tese apresentada à Faculdade de
Medicina de Ribeirão Preto –
Universidade de São Paulo para
Obtenção do título de Doutor

Área de Concentração: Oftalmologia

Orientadora: Profa. Dra Maria de Lourdes Veronese Rodrigues

Ribeirão Preto

2006

FICHA CATALOGRÁFICA

Silva, Fabrizio Leon Mascaro da

Frequência de hipertensão ocular e glaucoma em pacientes com orbitopatia de Graves e análise de marcadores de suscetibilidade genética nos subtipos da orbitopatia de Graves.

Ribeirão Preto, 2006

69 p; 30 cm

Orientadora: Profa. Dra. Maria de Lourdes Veronese Rodrigues

Tese (Doutorado) – Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo. Departamento de Oftalmologia, Otorrinolaringologia e Cirurgia de Cabeça e Pescoço.

1. Glaucoma. 2. Orbitopatia de Graves. 3. Alelos de Histocompatibilidade Classe II. I. Universidade de São Paulo. Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto. Departamento de Oftalmologia, Otorrinolaringologia e Cirurgia de Cabeça e Pescoço.

Este trabalho foi realizado com o apoio financeiro
da CAPES

DEDICATÓRIA

Ao meu avô Nicolino Mascaro[†],
pelo suporte, dedicação e exemplo de vida

AGRADECIMENTOS

- à minha orientadora Prof^a. Dr^a Maria de Lourdes Veronese Rodrigues, pela orientação, dedicação, atenção e disponibilidade constantes, e por sua amizade desde sempre;
- ao Prof. Dr. Antonio Augusto Velasco e Cruz, pelas idéias e dicas valiosas durante a tese;
- ao Prof. Dr. Eduardo Antonio Donadi, por ter permitido a realização dos exames no laboratório de Imunologia Molecular;
- à Dr^a. Patrícia Akaishi pela ajuda na classificação dos pacientes com orbitopatia de Graves em subtipos;
- à Dr^a. Daniela Felipe Crosta, Dr. Eduardo Melani Rocha e Dr. Jayter Silva de Paula, por terem atuado como juízes, classificando os pacientes quanto à presença de glaucoma;
- à Elisete, pela realização dos campos visuais dos pacientes dessa tese;
- à bióloga Neife Hassan Saloum Deghaide, por ter realizado a tipificação dos antígenos de histocompatibilidade (HLA);
- às secretárias do Departamento, Cecília, Amélia, Rita e também Rogério e Edson, pela atenção e ajuda em vários momentos;
- aos meus pais, especialmente à minha mãe, pelo seu amor e apoio incondicionais;
- à minha esposa, Fernanda, pela compreensão e carinho.

LISTA DE ABREVIATURAS

HIO – hipertensão intra-ocular

GPAA – Glaucoma primário de ângulo aberto

CV – Campimetria visual

GHT – *Glaucoma hemifield test*

OG – Orbitopatia de Graves

TC – Tomografia computadorizada

MEO – Musculatura extra-ocular

DG – Doença de Graves

TSH – Hormônio estimulador da tireóide

TSH-R – Receptor do hormônio estimulador da tireóide

CPH – Complexo principal de histocompatibilidade

HLA – *Human leucocyte antigens* (antígenos leucocitários humanos)

TNF – Fator de necrose tumoral

PCR – Reação em cadeia da polimerase

SSP – *Primers* de seqüência específica

RR – Risco relativo

RA – Risco atribuível

OR – *Odds ratio*

FE – Fração etiológica

FP – Fração preventiva

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Representação esquemática da localização dos genes do complexo principal de histocompatibilidade (CPH)	10
Figura 2. Critérios diagnósticos para Orbitopatia de Graves (Bartley & Gorman, 1995)	20
Figura 3. Tomografia computadorizada de órbita (corte coronal), mostrando a proximidade dos músculos reto superior/levantador da pálpebra e reto medial/oblíquo superior	22
Figura 4. Tomografia computadorizada de órbita (corte axial) para determinação das áreas do tecido adiposo	23
Figura 5. Fotografia da cabeça de nervo óptico e exame de CV de olho direito e esquerdo de paciente glaucomatoso	34
Figura 6. Distribuição da pressão intra-ocular nos 214 olhos dos 107 pacientes com orbitopatia de Graves	35
Figura 7. Distribuição das áreas musculares do grupo controle e pacientes com orbitopatia de Graves	36

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Frequência dos alelos HLA-DRB1 e DQB1 em pacientes brasileiros com doença de Graves com orbitopatia e controles	38
Tabela 2. Frequência dos alelos HLA-DRB1 e DQB1 em pacientes brasileiros com OG subtipo miogênico e controles	39
Tabela 3. Frequência dos alelos HLA-DRB1 e DQB1 em pacientes brasileiros com OG subtipo não miogênico e controles	40
Tabela 4. Frequência dos alelos HLA-DRB1 e DQB1 em pacientes brasileiros com subtipo miogênico e não miogênico da OG	41

LISTA DE QUADROS

Quadro 1. Prevalência (%) de hipertensão intra-ocular em pacientes com orbitopatia de Graves e na população geral	8
Quadro 2. Condições de amplificação dos alelos de HLA-DR e HLA-DQ	26
Quadro 3. Identificação dos grupos de especificidades dos alelos HLA-DRB1 pelo método SSP-PC. Os tamanhos dos respectivos produtos de amplificação são também mostrados	28
Quadro 4. Identificação dos grupos de especificidades dos alelos HLA-DQB pelo método SSP-PCR. Os tamanhos dos respectivos produtos de amplificação são também mostrados	29
Quadro 5. Prevalência (%) de hipertensão intra-ocular e glaucoma em pacientes com orbitopatia de Graves	45

SUMÁRIO

Resumo

Abstract

1. Introdução	1
1.1. Considerações gerais sobre orbitopatia de Graves	2
1.2. Considerações gerais sobre glaucoma	4
1.3. Associação entre orbitopatia de Graves e glaucoma	6
1.4. Marcadores genéticos	9
1.4.1. Sistema dos antígenos leucocitários humanos (HLA)	9
1.4.2. O sistema HLA e doença de Graves/orbitopatia de Graves	12
1.4.3. O sistema HLA e glaucoma	13
2. Objetivos	16
3. Casuística e método	18
3.1. Delineamento do estudo	19
3.2. Aspectos éticos	19
3.3. Primeira parte: <i>screening</i> de glaucoma nos pacientes com OG	19
3.4. Segunda parte: análise de alelos HLA Classe II em pacientes com OG e seus subtipos	21
3.4.1. Determinação dos subtipos da OG através de análise tomográfica quantitativa	21
3.4.2. Tipificação dos alelos HLA-DRB1 e HLA-DQB1 nos pacientes com OG subtipos miogênico e não miogênico	24
3.4.2.1. Extração do DNA	24
3.4.2.2. Amplificação do DNA	25
3.4.2.3. Análise do produto amplificado em gel de agarose	27
3.5. Análise Estatística	30

4. Resultados	32
4.1. Primeira parte : Frequência de HIO e Glaucoma em pacientes com OG	33
4.2. Segunda parte : Análise dos alelos HLA-DRB1 e HLA-DQB1 nos pacientes com OG e seus subtipos	35
4.2.1. Deteminação dos subtipos da OG por meio de análise tomográfica quantitativa	35
4.2.2. Tipificação e análise das frequências alélicas dos HLA-DRB1 e HLA-DQB1	37
5. Discussão	42
5.1. Frequência de HIO e Glaucoma em pacientes com OG	43
5.2. Análise dos subtipos da OG e da presença de marcadores de suscetibilidade genética na OG	46
6. Conclusões	49
7. Referências Bibliográficas	51
8. Anexos	57
ANEXO A – Protocolo de <i>screening</i> para glaucoma dos pacientes com OG	58
ANEXO B – Características dos pacientes com OG (pressão intra-ocular e Idade)	59
ANEXO C – Especificidades HLA classe II encontradas nos pacientes com OG	62
ANEXO D – Anexo de publicação	63

RESUMO

RESUMO

Objetivos do estudo: determinar a frequência de hipertensão ocular e glaucoma nos pacientes com orbitopatia de Graves e avaliar a presença de marcadores de suscetibilidade genética nos subtipos da OG em uma amostra desses pacientes.

Métodos: foram avaliados 107 pacientes com diagnóstico de orbitopatia de Graves, acompanhados no setor de Oculoplástica do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto, através de tonometria de aplanção, campimetria visual computadorizada (Humphrey 30-2, Full Threshold) e análise e documentação fotográfica do nervo óptico. Os pacientes considerados suspeitos foram reavaliados 1 ano após, para confirmação ou exclusão diagnóstica. Em 38 pacientes, selecionados aleatoriamente, foram colhidas amostras de sangue periférico para análise de alelos de histocompatibilidade de classe II, e realizada análise tomográfica quantitativa para classificação dos pacientes em subtipos miogênico e não miogênico.

Resultados: foi observada prevalência de hipertensão ocular de 3,74% (4 pacientes) e de glaucoma de 2,80 % (3 pacientes). O alelo HLA DRB1*16 foi mais frequente no subtipo miogênico ($p=0,0008$; $pc=0,027$; *odds ratio: 9,76*), em comparação com grupo controle.

Conclusões: observou-se frequência semelhante de HIO e glaucoma nos pacientes com orbitopatia de Graves à observada na população geral. Porém, quando se considerou apenas pacientes com idade superior a 40 anos de idade, a frequência observada foi maior do que na população geral. A presença do alelo HLA DRB1*16 esteve associado à predisposição ao subtipo miogênico da OG.

ABSTRACT

ABSTRACT

Purpose: to determine the relationship between ocular hypertension and glaucoma in patients with Graves' orbitopathy and to evaluate the HLA profile in a sample of these patients.

Patients and Methods: a total of 107 patients with a diagnosis of Graves' orbitopathy, followed at the Oculoplasty sector of the University Hospital, Medical School of Ribeirão Preto, were evaluated by applanation tonometry, computed visual campimetry (Humphrey 30-2, Full Threshold) and analysis and photographic documentation of the optic nerve. The patients considered to have a suspicion of the disease were re-evaluated one year later for diagnostic confirmation or exclusion. Computed Tomography of the orbits of 38 patients were analyzed in order to classify in subtypes myogenic and non-myogenic; it was, also, performed, using molecular biology methods, the typing for class II HLA alleles.

Results: a 3.74% prevalence of ocular hypertension (4 patients) and a 2.80% prevalence of glaucoma (3 patients) was observed. The frequency of HLA DRB1*16 was significantly high in myogenic group than in controls ($p=0.0008$; $pc=0.027$; *odds ratio*: 9.76; EF:0.41).

Conclusions: the present study did not reveal a statistically significant difference in the prevalence of ocular hypertension or glaucoma between patients with Graves' orbitopathy and the general population. When considering only patients older than 40 years, the prevalence of ocular hypertension and glaucoma were higher than the expected. The presence of HLA DRB1*16 allele was associated with susceptibility to the myogenic subtype of Graves Orbitopathy.

1. INTRODUÇÃO

1. INTRODUÇÃO

1.1 Considerações gerais sobre orbitopatia de Graves

A orbitopatia de Graves (OG) é uma doença auto-imune orbitária, caracterizada pela presença de retração palpebral, associada à proptose, estrabismo restritivo e/ou neuropatia óptica (BURCH & WARTOFSKY, 1993; BARTLEY & GORMAN, 1995).

A retração palpebral é o sinal mais freqüente da OG e ocorre em 90% dos indivíduos afetados. A proptose ou exoftalmo ocorre em 60% dos casos, e está relacionada com o aumento dos tecidos muscular e adiposo orbitários. Como consequência do aumento muscular, 42,5% dos pacientes desenvolvem estrabismo restritivo e 5% evoluem para neuropatia óptica por compressão do nervo óptico no ápice da órbita (BARTLEY, FATOURECHI *et al.*, 1996).

A OG possui 2 subtipos: miogênico e não miogênico, apresentando comportamentos clínicos diferentes (NUNERY, 1991). Em pacientes com subtipo miogênico, o envolvimento muscular é notório, causando diplopia e proptose assimétrica. Há sinais inflamatórios evidentes e risco de neuropatia óptica compressiva. No subtipo não miogênico existe aumento da gordura orbitária e pouco ou nenhum aumento muscular. Esses pacientes apresentam motilidade ocular normal, proptoses simétricas e ausência de sinais inflamatórios orbitários, tendo geralmente evolução mais benigna pelo fato de não haver disfunção muscular.

Os fibroblastos orbitários têm sido apontados como as principais células efectoras na OG, devido à sua capacidade de resposta à ação de algumas citocinas, produzindo

mediadores inflamatórios quando estimulados. Além disso, esses fibroblastos expressam proteínas que os distinguem dos fibroblastos extra-orbitários (BAHN, 2003).

Em estudo recente, foram demonstradas diferenças fenotípicas e funcionais entre os fibroblastos do tecido adiposo e muscular orbitários (KOUMAS, SMITH *et al.*, 2002; SMITH, KOUMAS *et al.*, 2002). A diferença fenotípica é dada pela expressão de uma molécula de superfície celular denominada Thy-1. Os fibroblastos perimisiais expressam essa molécula de maneira homogênea e não possuem capacidade de neo-adipogênese, ao contrário dos fibroblastos do tecido adiposo. Esses dados são de extrema importância, pois foram os primeiros a fornecer substrato histopatológico para os subtipos clínicos e indicam a possibilidade de mecanismos fisiopatogênicos distintos, atuando na produção da OG.

A grande maioria dos pacientes com OG apresenta alguma disfunção tireoidiana auto-imune, com destaque para o hipertireoidismo ou doença de Graves (DG), que ocorre em 90% dos casos (BARTLEY, FATOURECHI *et al.*, 1996). Embora exista forte relação temporal entre o início do hipertireoidismo e da orbitopatia (GORMAN, 1983), aproximadamente 50% dos pacientes com hipertireoidismo não apresentam manifestações oculares e 5% dos pacientes com orbitopatia nunca manifestam disfunção tireoidiana (FELDON, 1990).

A associação entre orbitopatia e DG sugere mecanismos fisiopatogênicos compartilhados entre órbita e tireóide, possivelmente mediados por antígenos comuns aos dois tecidos (BAHN, DUTTON *et al.*, 1998; WU, YANG *et al.*, 1999).

Como a doença é mediada por mecanismos imunológicos, a busca por genes de suscetibilidade concentra-se nos genes que regulam a resposta imune (RATNASINGAM &

GOUGH, 2002). As principais associações estão relacionadas aos genes HLA classe II, localizados no cromossomo 6 (ORHAN, AZEZLI *et al.*, 1993; MACIEL, RODRIGUES *et al.*, 2001), e ao gene 4 associado ao linfócito T citotóxico – CTLA-4 – localizado no cromossomo 2 (YANAGAWA, HIDAKA *et al.*, 1995).

1.2 Considerações gerais sobre glaucoma

Inicialmente reconhecido pelos gregos por volta de 400 a.C., o glaucoma aparece descrito como *glaucoise*, nas escritas de Hipócrates, em referência ao aspecto verde azulado do olho afetado (FRONIMOPOULOS & LASCARATOS, 1991). Entretanto, esse termo foi aplicado a uma grande variedade de condições que causam cegueira, incluindo a catarata. Nos escritos arábicos, foi descrito associação com pressão intra-ocular elevada, mas, apenas no século XIX, o glaucoma foi reconhecido como um grupo distinto de alteração ocular e o primeiro instrumento para medir a pressão ocular foi introduzido por Von Graefe, em 1863.

O glaucoma é um importante problema de saúde pública em todo o mundo, por ser a principal causa de cegueira irreversível e a segunda causa de cegueira global (QUIGLEY, 1996). Estatísticas da Organização Mundial de Saúde (OMS), publicadas em 1995, mostraram que existiam 5,1 milhões de pessoas com cegueira bilateral pelo glaucoma (THYLEFORS, NEGREL *et al.*, 1995). Estima-se que esse número aumente para 8,4 milhões de pessoas em 2010 e 11,2 milhões de pessoas em 2020. Estima-se também, que haverá 60,5 milhões de pessoas com glaucoma em 2010, aumentando para 79,6 milhões em 2020 (QUIGLEY & BROMAN, 2006).

Há vários estudos em diferentes países sobre a prevalência de glaucoma, mas estima-se que a frequência de glaucoma na população geral seja de 1,5 a 2% (GIAMPANI, 1999). Nos EUA, a prevalência de glaucoma primário de ângulo aberto na população acima de 40 anos é estimada em 1,86% (FRIEDMAN, WOLFS *et al.*, 2004).

O termo glaucoma não se refere a uma entidade patológica única, mas sim a um grupo heterogêneo de doenças, que têm como característica comum a neuropatia óptica característica, associada a alterações de campo visual (VAN BUSKIRK & CIOFFI, 1992), resultado de vários fatores de risco, como a pressão intra-ocular (PIO) aumentada (mais importante), hereditariedade, idade e raça.

Um modelo simplificado para classificar o glaucoma, desenvolvido pela OMS, o subdivide-o em (THYLEFORS & NEGREL, 1994):

- * glaucomas congênitos (genéticos ou do desenvolvimento);
- * glaucomas primários (ângulo aberto ou ângulo fechado);
- * glaucomas secundários.

A avaliação da função visual através de técnicas perimétricas convencionais mostra que os defeitos de campo visual no glaucoma só são detectados tardiamente na evolução da doença. Por outro lado, as alterações do disco óptico e da camada de fibras nervosas da retina constituem o primeiro e mais precoce sinal da lesão glaucomatosa (SOMMER, KATZ *et al.*, 1991).

As alterações do nervo óptico, encontradas em pacientes com glaucoma, são: aumento da escavação, alterações da rima neuroretiniana, assimetria de escavação, desnudamento do vaso circunlinear, atrofia peripapilar, hemorragia do nervo óptico, fosseta

adquirida do nervo óptico, alterações da lâmina cribiforme (estriações), vasos colaterais no disco óptico e estreitamento arteriolar. Dos numerosos sinais descritos na literatura, a assimetria da escavação entre ambos os olhos e as presenças de *notch*, fosseta adquirida e hemorragia em chama de vela são os mais importantes, sendo os três últimos quase que patognomônicos da doença (SUSANNA JUNIOR & MEDEIROS, 2003).

1.3. Associação entre orbitopatia de Graves e glaucoma

Uma das primeiras descrições de glaucoma associado com doença tireóideia foi relatada em 1897 (KING & NETLAND, 2002). Embora a maioria dos estudos na literatura não dê suporte a uma relação causal entre glaucoma e doença de Graves, a pressão intra-ocular elevada tem sido associada com orbitopatia de Graves. Essa associação foi descrita pela primeira vez pelo oftalmologista alemão Karl Wessely (KING & NETLAND, 2002).

O nível de pressão intra-ocular é determinado pelo equilíbrio entre produção e escoamento do humor aquoso, produzido nos processos ciliares por mecanismos complexos que parecem envolver difusão, ultrafiltração e secreção a partir do plasma sanguíneo. Uma parte do humor aquoso passa pela câmara posterior do olho, atravessa a pupila, entra na câmara anterior, atravessa as malhas trabeculares e deixa o olho pelo canal de Schlemm, canais coletores e veias episclerais e da conjuntiva. Outra parte do aquoso deixa o olho por quase todas as estruturas do olho, mas principalmente pelo trato uveal (LAURETTI FILHO, ROMÃO *et al.*, 2001).

A fórmula a seguir determina, genericamente, os fatores que influenciam a pressão intra-ocular e podem, portanto, ser causas do glaucoma:

$$P_o = \frac{F}{C} + P_v$$

P_o = pressão intra-ocular

F = fluxo do humor aquoso

P_v = pressão das veias episclerais

C = coeficiente de facilidade de escoamento

Vários mecanismos têm sido implicados no aumento da pressão intra-ocular em pacientes com OG. A hipertrofia dos músculos extra-oculares e gordura orbitária podem induzir uma congestão orbitária importante, que leva ao aumento da pressão retrobulbar em níveis que ocasionam maior compressão de estruturas como a veia oftálmica, provocando aumento da pressão venosa episcleral (WEINREB & KARWATOWSKI, 1996; DALLOW & NETLAND, 1994). Fibrose restritiva do músculo reto inferior causa compressão mecânica na posição primária do olhar, o que leva à leitura tonométrica elevada nessa posição. Outro mecanismo que também pode contribuir para o aumento da pressão intra-ocular nesses pacientes é o acúmulo de depósitos de mucopolissacárides na rede de drenagem do aquoso, o qual diminuiria a drenagem do humor aquoso (HIGGINBOTHAM, 2000). Tem sido descrito que a exposição corneana pode causar reação severa de câmara anterior, levando à formação de sinéquia anterior periférica, associada com glaucoma (PLITZ-SEYMOUR & STONE, 1996; HIGGINBOTHAM, 2000).

A associação entre doença ou orbitopatia de Graves e hipertensão intra-ocular tem sido demonstrada em vários estudos (COCKERHAM, PAL *et al.*, 1997; HADDAD, 1967; KALMANN & MOURITS, 1998; OHTSUKA, 1997). A prevalência de hipertensão ocular

em pacientes com doença de Graves tem sido encontrada entre 5 e 15% (MANOR, KURZ *et al.*, 1974; VANNI & VOZZA, 1960; HADDAD, 1967). Em estudo prospectivo de 104 pacientes japoneses com doença de Graves, 22% (23 pacientes) tiveram hipertensão ocular, valor marcadamente maior que aquele observado na população japonesa (1,37%) (OHTSUKA & NAKAMURA, 2000).

No Quadro 1 é apresentado um resumo da prevalência de hipertensão ocular na orbitopatia de Graves e na população geral, encontrada em alguns estudos.

	Orbitopatia de Graves (%)	População geral (%)
Ohtsuka (1997) (n = 95)	22	1,37
Kalman & Mourits (1998) (n = 482)	3,9	1.6
Cockerham <i>et al.</i> (1997) (n = 500)	24	5

Quadro 1. Prevalência (%) de hipertensão intra-ocular em pacientes com orbitopatia de Graves e na população geral

A prevalência de glaucoma nos pacientes com doença ou orbitopatia de Graves, entretanto, não está claramente determinada. Alguns estudos mostraram que a prevalência de glaucoma em pacientes com OG é similar à da população geral (COCKERHAM, PAL *et al.*, 1997; KALMANN & MOURITS, 1998; CHENG & PERKINS, 1967). Em estudo realizado em Pittsburgh com 500 pacientes com OG, somente 7 foram classificados como

glaucomatosos e 2 pacientes mostraram anormalidades de campo visual e disco óptico progressivos (COCKERHAM, PAL *et al.*, 1997). Entretanto, um estudo prospectivo japonês encontrou prevalência maior (13%) de glaucoma primário de ângulo aberto em pacientes com doença de Graves do que na população geral japonesa (OHTSUKA & NAKAMURA, 2000).

1.4. Marcadores genéticos

1.4.1. Sistema dos antígenos leucocitários humanos (HLA)

O desenvolvimento das doenças auto-imunes é conseqüência da disfunção do sistema imune, que deixa de reconhecer constituintes do próprio indivíduo, tratando-os como antígenos estranhos. A predisposição às doenças imunes está associada aos genes do complexo principal de histocompatibilidade (CPH) que tem, como função primordial, codificar moléculas fundamentais na apresentação de antígenos para linfócitos T. A região CPH está localizada no braço curto (p) do cromossomo 6 e recebeu essa denominação porque, quando descrita, esteve associada à rejeição aos tecidos transplantados em animais. O complexo gênico codifica moléculas ou antígenos de histocompatibilidade, recebendo, no ser humano, o nome de sistema HLA (*human leucocyte antigens*). Didaticamente, esses genes podem ser reunidos em três grupos, denominados genes de classe I, II e III.

A Figura 1 apresenta um esquema didático da localização dos genes do sistema HLA.

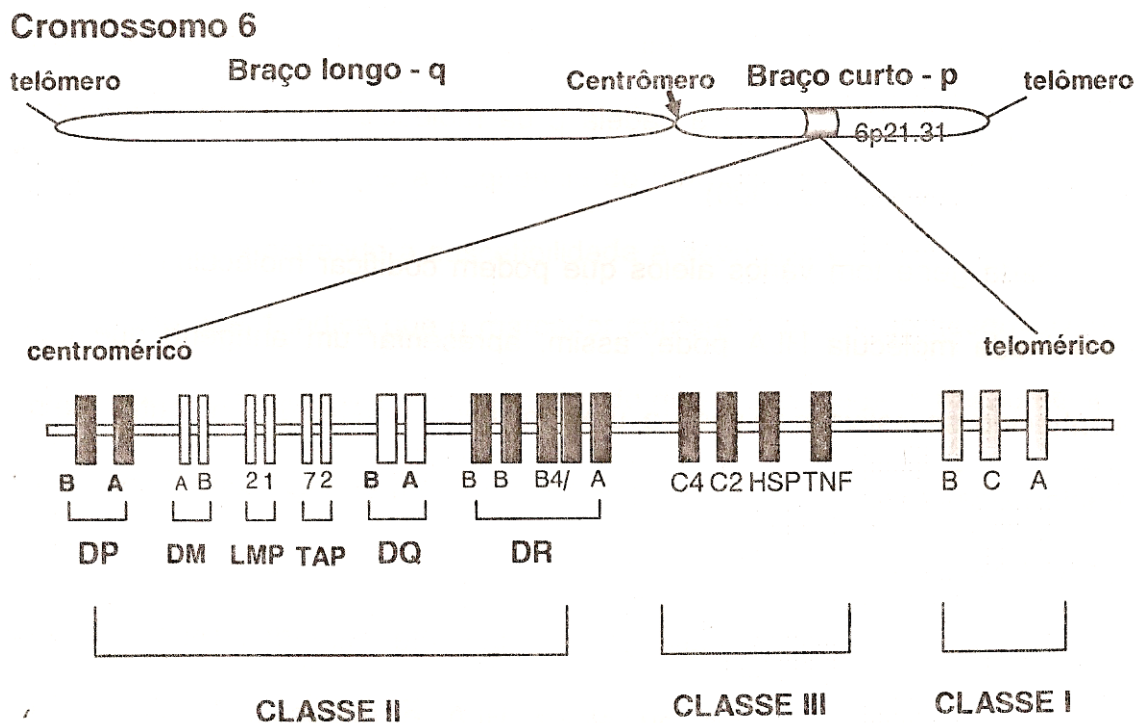


Figura 1. Representação esquemática da localização dos genes do complexo principal de histocompatibilidade (CPH).

Os genes HLA que estão envolvidos na resposta imune pertencem às classes I e II. Os genes de classe I codificam as moléculas HLA A-A, B e C. Os genes de classe II codificam as moléculas HLA-DM, DO, DP, DQ e DR (KLEIN & SATO, 2000).

Os produtos dos genes de classe I e II são moléculas que ficam na superfície celular, cuja função é a apresentação de peptídeos antigênicos às células T. As moléculas de classe I estão presentes na maioria das células somáticas e as de classe II ocorrem, predominantemente, em linfócitos B e macrófagos, células apresentadoras de

antígenos e, ainda, em linfócitos T ativados. A nomenclatura segue a designação de seu *loco* no cromossomo 6 e consiste de 3 letras: a primeira (D) indica a classe, a segunda (M, O, P, Q ou R) indica a família e a terceira (A ou B) indica a cadeia α ou β . Cada grupo de alelos é identificado por dois algarismos arábicos que vêm precedidos de um asterisco. Assim, o HLA-DRB1*0301, por exemplo, significa que é um gene de classe II da família R que codifica uma cadeia β pelo alelo 0301 (KLEIN & SATO, 2000).

Os estudos populacionais são amplamente utilizados para determinar as associações entre antígenos ou alelos HLA e doenças. Nesses estudos, a frequência do antígeno ou alelo, observada nos pacientes não aparentados, é comparada com aquela verificada em indivíduos que não apresentam a mesma doença ou em indivíduos sadios. A ocorrência de associação entre HLA e doenças é, rotineiramente, avaliada pela comparação de frequência dos antígenos nos dois grupos, utilizando os dados de uma tabela de contingência 2x2 e empregando-se o teste exato de Fisher ou o teste do qui-quadrado. A força de associação é estimada pelo risco relativo (RR) ou pelo *odds ratio* (OR), mais utilizado quando o estudo for caso-controle. Ambos indicam quão mais frequentemente uma doença pode ocorrer em portadores de um determinado marcador de histocompatibilidade em relação aos indivíduos que não apresentam o marcador (SVEJGAARD, PLATZ *et al.*, 1983). Quando o RR é maior que 1, calcula-se a fração etiológica (FE), que estima a magnitude de susceptibilidade em termos populacionais; quando o RR é menor que 1, calcula-se a fração preventiva (FP), que informa a magnitude da proteção, também em termos populacionais.

1.4.2. O sistema HLA e doença de Graves/orbitopatia de Graves

Quando foram definidas as bases imunológicas da DG, iniciou-se a busca dos genes reguladores da resposta imune. Pacientes com DG apresentam anticorpos contra vários antígenos tireóideos, principalmente contra o receptor de TSH. Assim, as pesquisas focaram principalmente nos genes que expressam o antígeno receptor do TSH, entre os quais, os do sistema HLA. O antígeno HLA-DR3 estaria associado com predisposição, inclusive em pacientes brasileiros, assim como o subtipo HLA-DR5, relatado principalmente em japoneses e coreanos. No entanto, o risco relativo é baixo. Por outro lado, o alelo DQB1*0602 protegeria contra o desenvolvimento da DG (MACIEL, RODRIGUES *et al.*, 2000).

A predisposição ao desenvolvimento da OG tem sido relatada em algumas populações. Ohtsuka & Nakamura observaram predisposição às formas graves da OG em pacientes japoneses, excluindo pacientes que não apresentavam aumento muscular, associado aos antígenos HLA-DR14 e DQ1 (DQ5 e DQ6) (OHTSUKA & NAKAMURA, 1998). Bednarczuk e cols. (BEDNARCZUK, HIROMATSU *et al.*, 2004) mostraram a associação da OG, em pacientes poloneses, com o HLA-DRB1*03, em presença do TNF g-238 (alelo da região promotora do TNF). Esses autores consideram, em seu estudo, todos os pacientes com OG que possuem proptose, envolvimento muscular, alterações corneanas ou neuropatia óptica (classificação de Werner).

Em estudo recente realizado em uma amostra de pacientes brasileiros, Akaishi avaliou 101 pacientes com orbitopatia de Graves e classificou os pacientes em subtipos

miogênico e não miogênico, através de análise de tomografia computadorizada de órbitas, quantificando as áreas da musculatura extra-ocular e da gordura orbitária. O subtipo miogênico exibiu menor predisposição em relação ao sexo do que o subtipo não miogênico (relação feminino/masculino = 1,8:1) e ocorreu em faixas etárias mais avançadas (5a e 6a décadas). As formas mais severas da OG, com neuropatia óptica e estrabismo restritivo, ocorreram somente nesse subtipo. O subtipo sem aumento muscular predominou em mulheres (9:1), jovens (4a década de vida) e não se associou à diplopia e neuropatia óptica. Nesse mesmo estudo, foi coletado amostra de sangue periférico de 51 pacientes para análise dos alelos HLA e dos microssatélites do TNF, mostrando que a suscetibilidade ao subtipo miogênico foi relacionada ao HLA-DRB1*16 (RR=6,027) e TNFb3 (RR=2,743). Concluiu-se que, embora os riscos relativos conferidos pelos alelos sejam relativamente baixos, esses resultados indicaram que fatores imunogenéticos podem influenciar o desenvolvimento dos subtipos da OG (AKAISHI, 2005).

1.4.3. O sistema HLA e glaucoma

Diversos pesquisadores, ao longo das últimas décadas, estudaram a possível associação do sistema HLA com o glaucoma primário de ângulo aberto. Duas dessas pesquisas foram realizadas no Estado de São Paulo (TORRES, SILVA *et al.*, 1989; CASTALDELLI, 2000) e seus resultados sugerem que alguns dos genes de susceptibilidade ao glaucoma de ângulo aberto são do sistema HLA.

O estudo de Castaldelli foi realizado na Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo (FMRP-USP). Nesse estudo foram avaliados 50 pacientes, com ângulo aberto, com hipertensão ocular ou glaucoma. Encontrou-se diferenças estatisticamente significantes entre as freqüências de diversos antígenos de classe I, destacando-se os subtipos HLA-A66 e HLA-68, nos pacientes com glaucoma e aquelas encontradas nos controles. Também o alelo HLA-DRB1*01 apareceu mais freqüentemente em pacientes com glaucoma/hipertensão ocular.

Também foi realizada, na FMRP-USP, investigação do perfil HLA (classe II) em pacientes com ângulo estreito, aparecendo o alelo HLA-DRB1*03 como protetor contra o desenvolvimento desse tipo de glaucoma, com fração preventiva = 0,2323 (GOMES, 2002).

O presente estudo foi delineado com a finalidade de observar a freqüência de hipertensão ocular e glaucoma em pacientes com orbitopatia de Graves. Durante o seu desenvolvimento, decidiu-se avaliar também o perfil HLA (alelos HLA classe II DR e DQ), em uma amostra desses pacientes. Pretendeu-se verificar se a freqüência dos subtipos apontados como relacionados com glaucoma primário de ângulo aberto/hipertensão ocular, ou com a proteção contra o fechamento angular, não diferiam das freqüências observadas na população geral, de nossa região, uma vez que diferenças significativas poderiam causar vieses. Além disso, o HLA-DRB1*16 está associado à susceptibilidade ao subtipo miogênico da orbitopatia de Graves (AKAISHI, 2005), e

julhou-se pertinente verificar se os achados dessa pesquisa estariam presentes, também, nos participantes do presente estudo.

2. OBJETIVOS

2. OBJETIVOS

Os objetivos do estudo são :

- observar a frequência de hipertensão ocular e glaucoma em pacientes com orbitopatia de Graves em pacientes brasileiros, da Região Sudeste do país ;
- avaliar a presença de marcadores de suscetibilidade genética (localizados no complexo de histocompatibilidade principal, representados pelos genes da classe II, DR e DQ) na orbitopatia de Graves e seus subtipos.

3. CASUÍSTICA E MÉTODO

3. CASUÍSTICA E MÉTODO

3.1. Delineamento do estudo

O presente estudo foi dividido em 2 partes. A primeira parte foi constituída pela realização de exames para diagnóstico de glaucoma nos pacientes com orbitopatia de Graves.

A segunda parte foi composta pela coleta de sangue periférico de uma amostra dos pacientes com OG, selecionada aleatoriamente, para determinar a frequência dos alelos HLA-DR e DQ nesses pacientes. Foi realizado também análise tomográfica quantitativa desses pacientes para identificação dos subtipos da orbitopatia de Graves, com a finalidade de se avaliar a presença de marcadores de suscetibilidade genética nesses subtipos.

3.2. Aspectos éticos

Antes de serem incluídos na pesquisa, os pacientes foram informados dos objetivos e métodos e concordaram em participar do estudo, assinando o termo de consentimento livre e esclarecido e o projeto foi aprovado pelo Comitê de Ética do HC-FMRP-USP.

3.3. Primeira parte: *Screening* de glaucoma nos pacientes com OG

Foram avaliados 107 pacientes com diagnóstico de orbitopatia de Graves atendidos no ambulatório de Oculoplástica do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto – USP (HCFMRP-USP). O diagnóstico da OG foi baseado em critérios propostos por Bartley e Gorman (BARTLEY & GORMAN, 1995), que estabelecem o

diagnóstico clínico da OG em pacientes que apresentam retração palpebral associada a, pelo menos, um dos seguintes sinais: disfunção tireoidiana, proptose, estrabismo ou neuropatia óptica, depois de afastadas outras causas possíveis, por meio de exames de imagem. Quando não há retração palpebral, o diagnóstico da OG só pode ser considerado se alguns dos sinais mencionados estiverem associados à disfunção tireoidiana, na ausência de outros fatores causais.

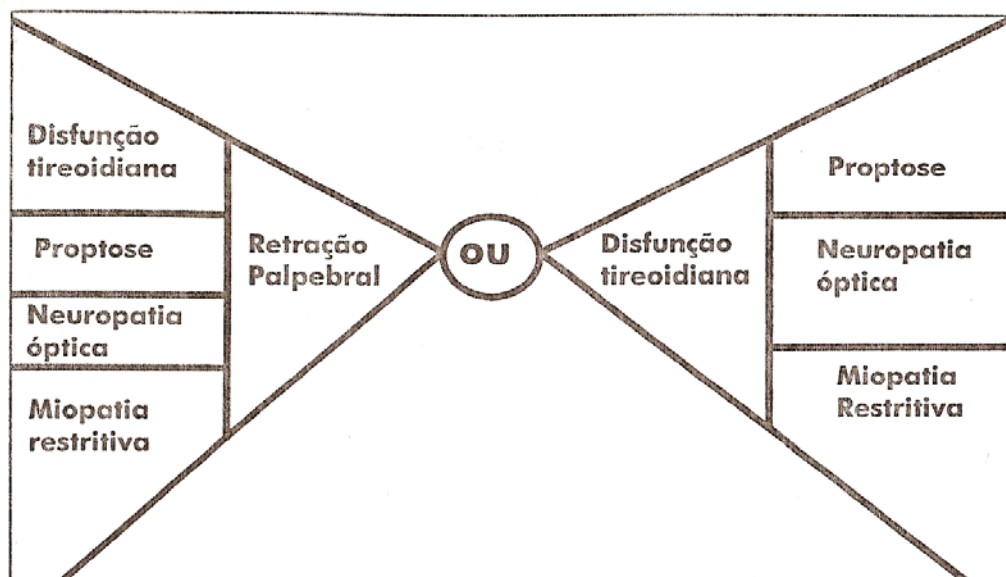


Figura 2. Critérios diagnósticos para orbitopatia de Graves (BARTLEY & GORMAN, 1995)

Os 107 pacientes foram submetidos à medida da pressão intra-ocular com tonômetro de aplanção de Goldman, documentação fotográfica do nervo óptico, através de retinógrafo digital da marca Opto e campimetria visual (campímetro Humphrey – estratégia 30-2 *Full Threshold*). Os exames foram catalogados e avaliados por 3 juízes (especialistas

em glaucoma), para determinação de diagnóstico (normal, suspeito ou glaucoma). O diagnóstico foi considerado quando havia concordância de, pelo menos, 2 juízes.

Os pacientes que foram considerados “suspeitos” permaneceram em acompanhamento nos setores ambulatoriais responsáveis do HCFMRP-USP, e aproximadamente 1 ano após, foram reavaliados, sendo feito novo exame, constando: exame de refração, pesquisa dos fatores de risco, tonometria, campimetria e documentação fotográfica do disco óptico. Esses exames foram novamente avaliados pelos juízes, juntamente com os exames anteriores, para observação de possível progressão para lesão glaucomatosa.

3.4. Segunda parte: análise de alelos HLA classe II em pacientes com OG e seus subtipos

3.4.1. Determinação dos subtipos da OG através de análise tomográfica quantitativa

Foram analisados TC orbitárias de 38 pacientes com OG (30 mulheres e 8 homens), atendidos no ambulatório de Oculoplástica do HCFMRP – USP, por um especialista em órbita e pelo autor.

Somente uma órbita de cada paciente foi selecionada para análise. Para casos com envolvimento orbitário assimétrico, selecionou-se a órbita mais acometida e, nos casos simétricos, foi selecionado o exame de melhor padrão radiológico. Cada órbita foi avaliada através de 1 corte coronal e 1 corte axial. A posição dos cortes tomográficos foi constante,

ou seja, cortes coronais posicionados a 9 mm posteriores do fechamento do rebordo orbitário e cortes axiais que incluíam os músculos retos medial e lateral e o nervo óptico.

As imagens selecionadas foram fotografadas com uma câmera fotográfica digital Nikon Coolpix 995 e transferidas para um computador PC, modelo Pentium 4, onde foram processadas pelo programa ImageG (programa desenvolvido no National Institute of Health por Wayne Rasband, disponível gratuitamente no *site*: <http://rsb.info.nih.gov/ij/download.html>). No corte coronal, os limites musculares foram delineados determinando suas áreas. Os músculos retos lateral e inferior foram analisados individualmente; os grupos musculares reto superior/levantador da pálpebra e reto medial/oblíquo superior foram analisados em conjunto, pois, devido à sua proximidade, perdem seus limites, impossibilitando a análise individual (Figura 3).

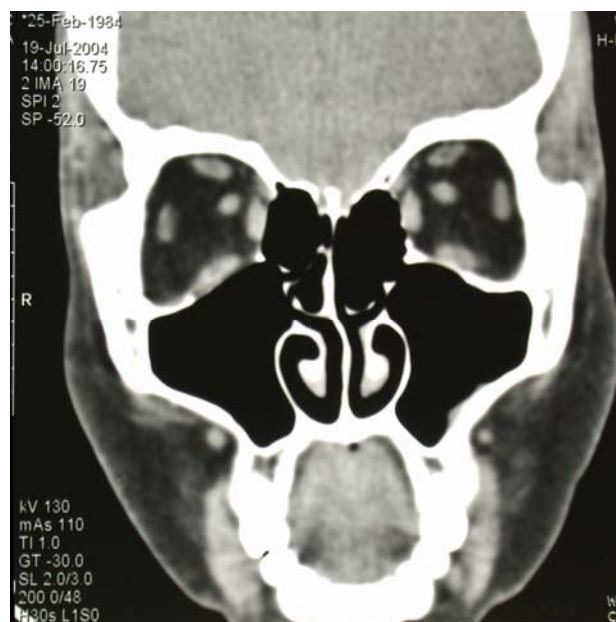


Figura 3. Tomografia computadorizada de órbita (corte coronal), mostrando a proximidade dos músculos reto superior/levantador da pálpebra e reto medial/oblíquo superior

O corte axial foi utilizado para determinação das áreas do tecido adiposo, presente entre as paredes orbitárias e os músculos retos medial e lateral (gordura extraconal) e entre esses e o nervo óptico (gordura intraconal) (Figura 4).

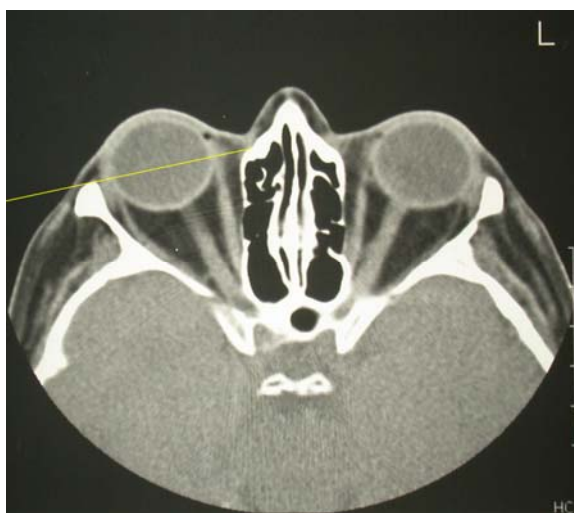


Figura 4. Tomografia computadorizada de órbita (corte axial) para determinação das áreas do tecido adiposo

As mesmas medidas foram obtidas de grupo controle com 56 órbitas normais de pacientes sem patologias sistêmicas, submetidos ao exame tomográfico devido a patologias orbitárias unilaterais.

Para determinar os subtipos da OG, de acordo com o tecido orbitário aumentado (músculo e/ou gordura), as medidas das áreas musculares e da gordura orbitária dos pacientes com OG foram arbitrariamente consideradas anormais quando as áreas desses tecidos excediam 2 desvios padrões acima da média do grupo controle.

3.4.2. Tipificação dos alelos HLA-DRB1 e HLA-DQB1 nos pacientes com OG subtipos miogênico e não miogênico

A tipificação dos alelos HLA de classe II – HLA-DRB1 e HLA-DQB1 – foi realizada no Laboratório de Imunologia Molecular do HCFMRP-USP.

Foram obtidas amostras do sangue periférico dos 38 pacientes com OG submetidos à análise tomográfica. De acordo com os critérios para estratificação em subtipos, 25 pacientes (22 mulheres, 3 homens) pertenciam ao subtipo não miogênico e 13 pacientes (8 mulheres, 5 homens) pertenciam ao subtipo miogênico. Todos os pacientes apresentavam o diagnóstico de hipertireoidismo auto-imune. A frequência dos alelos HLA-DRB1 e DQB1 foi comparada entre os subtipos da OG, entre os 38 pacientes com OG e 44 pacientes com DG sem orbitopatia e 161 controles pertencentes à mesma região geográfica (região noroeste do Estado de São Paulo). Essa população apresenta substrato genético de múltiplas etnias, decorrente da forte miscigenação característica da população brasileira, conforme definida em estudo prévio (LOUZADA-JUNIOR, SMITH *et al.*, 2001).

Para tipificação dos alelos HLA de classe II, DRB1 e DQB1, o DNA genômico foi extraído a partir de 20 mL de sangue venoso periférico, colhido de cada indivíduo, utilizando-se tubos de Vacutainer (Beckton & Dickinson, USAO, contendo EDTA K3 (0.054 mL/tubo).

3.4.2.1. Extração do DNA

O DNA foi extraído por *salting-out*, conforme metodologia previamente descrita (MILLER, DYKES *et al.*, 1988). Utilizou-se de 10 mL de sangue total, ao qual se adicionou 4 volumes de tampão de lise de glóbulos vermelhos (sacarose 0,3M, Tris-HCl 10

mM, MgCl₂ 5mM e TRITON X-100 a 1%). A solução foi homogeneizada por inversão e centrifugada a 2400xg, por 5 minutos, a 4°C. O sobrenadante foi cuidadosamente desprezado e ao precipitado foram adicionados 4,5 mL de tampão de lise de glóbulos brancos (NaCl 0,075M, Na-EDTA 0,024M), 1,1 mL de perclorato de sódio 5M e 125 µL de SDS a 10%. A preparação foi agitada vigorosamente por 10 segundos à temperatura ambiente. Para a extração de proteínas, foram adicionados 2,0 mL de NaCl a 6,0 mM, agitando-se os tubos vigorosamente por 15 segundos. Após a centrifugação a 1500xg por 5 minutos à temperatura ambiente, o sobrenadante foi recolhido em um tubo de polipropileno de 50 mL, sendo adicionados 7 mL de isopropanol absoluto. A precipitação do DNA ocorreu por inversão manual lenta. O DNA precipitado foi, então, retirado com auxílio de uma pipeta Pasteur selada. O DNA foi lavado duas vezes em 3 mL de etanol a 70% e redissolvido em 100 a 300 µL de água bidestilada desionizada esterilizada (H₂Odd). O DNA foi então quantificado por espectrofotometria em 260 e 280 nm. O grau de pureza do DNA extraído foi calculado pela razão entre as absorvâncias obtidas em 260 e 280 nm (A₂₆₀:A₂₈₀), sendo considerados adequados valores entre 1,6 e 2,0.

3.4.2.2. Amplificação do DNA

As tipificações dos alelos de classe II HLA-DRB e HLA-DQB foram realizadas por intermédio da hibridação de DNA amplificado pela reação em cadeia da polimerase (Polimerase Chain Reaction-PCR) com iniciadores (*primers*) seqüência específicos (SSP-Sequence Specific Primers) utilizando-se *kits* comerciais preparados pelo Grupo de Transplantes de Heidelberg (Ruprecht-Karls-Universitat, Heidelberg, Alemanha). Para as

tipificações dos grupos de alelos de classe II HLA-DRB e DQB, cerca de 1-2 μL de DNA (0,5-1,0 $\mu\text{g}/\mu\text{L}$) a ser amplificado, era adicionado a 17 μL de soluções previamente preparadas pelo fornecedor, contendo os pares de iniciadores específicos, as bases nitrogenadas, o tampão da enzima Taq-polimerase e 50 mM de MgCl_2 . Somente após a preparação dessa mistura, adicionavam-se 2,0 μL da enzima Taq-polimerase (1U/reação; Pharmacia, Suécia). Como controle negativo, em todas as reações, foram utilizados todos os reagentes acima, exceto o DNA. A reação foi realizada no termo-reciclador PE-9600 (Perkin-Elmer-CA, EUA), utilizando-se os ciclos de temperatura/tempo descritos no Quadro 2.

Estágio	Temperatura	Tempo	Ciclos
Desnaturação inicial	94°C	2'	
1. Desnaturação	94°C	10"	10x
2. Pareamento e extensão	65°C	1'	
3. Desnaturação	94°C	10"	20X
4. Pareamento	61°C	50"	
5. Extensão	72°C	30"	

Quadro 2. Condições de amplificação dos alelos de HLA-DR e HLA-DQ

Aos produtos amplificados foram adicionados 2 μ L de solução contendo 0,25% de azul de bromofenol e 15% de Ficoll em água, para posterior discriminação dos fragmentos de amplificação em géis de agarose.

3.4.2.3. Análise do produto amplificado em gel de agarose

Os produtos de amplificação foram separados por eletroforese em gel, contendo agarose a 2% em tampão 5XTAE (Tris HCl 10mM, pH=7,5; Na-EDTA 1,0mM, pH=8,0). A agarose foi dissolvida por ebulição e resfriada até 60°C, com adição de 1% de brometo de etídio (Sigma, St. Louis, USA). Um pente de teflon foi colocado na borda superior do gel, que permaneceu em repouso por uma hora à temperatura ambiente. Após a solidificação e remoção do pente, o gel foi colocado na cuba de eletroforese (Pharmacia-GNA200-Suécia), com nível da solução tampão (5X TAE) de 2 a 3 mm acima da superfície do gel. Os produtos da amplificação foram aplicados sempre na mesma ordem padronizada, o controle negativo foi colocado por último. A eletroforese foi realizada por 15 a 25 minutos, a 170 V. Após esse período, o gel foi colocado em transiluminador UV (312nm-Hybaib-EUA) e fotografado para documentação e interpretação. A tipificação HLA-DRB genérica foi realizada por intermédio de 24 reações de amplificação por indivíduo, sendo 21 para DRB1 (DRB1*01-*16). No Quadro 3 estão descritas as especificidades e tamanhos dos produtos de amplificação. Para a tipificação HLA-DQB, foram realizadas 13 reações de amplificação por indivíduo e uma reação controle negativo. As especificidades e os tamanhos dos produtos de amplificação para os alelos DQB1 estão ilustradas no Quadro 4.

ESPECIFICIDADES IDENTIFICADAS	TAMANHOS (PARES DE BASE-pb)
DRB1*0101-*0102	200
DRB1*0103	200
DRB1*1501-*1511	215
DRB1*1601-*1602	210
DRB1*03011-*0320	225
DRB1*0301*0801*1402*1201	170/175
DRB1*03011/012	220
DRB1*03021/*1302-*1305-*1402-*1403-	190
DRB1*0401-*1410	260
DRB1*0701-*0703*0704*0705	115
DRB1*0801	165/215
DRB1*09012	235
DRB1*10011/2	205
DRB1*1101-	125
DRB1*1201-*1208	105
DRB1*1301-*1302	130
DRB1*1303-*1304	170
DRB1*1305	130
DRB1*1301*1304	200
DRB1*1305*1402-*1403-*1406-*1409	145/150
DRB1*1401-*1404-*1405-*1407-*1408	165/175/215/225

Quadro 3. Identificação dos grupos de especificidades dos alelos HLA-DRB1 pelo método SSP-PC. O tamanho dos respectivos produtos de amplificação são também mostrados

ESPECIFICIDADES IDENTIFICADAS	TAMANHOS (PARES DE BASE-pb)
DQB1*0501 - *0504	218
DQB1*0601	218
DQB1*0602 - *0603	152
DQB1*0604 - *0606	212
DQB1*0201*0202*0203	199
DQB1*0301 - *0304	209
DQB1*0302*0307	125
DQB1*0303*0306*0203	128
DQB1*0302*0303*0305*0306*04*0503	143
DQB1*0305	145
DQB1*0306	192
DQB1*03011*0302*0303*0304*0307	156
DQB1*0401 - *0402	208

Quadro 4. Identificação dos grupos de especificidades dos alelos HLA-DQB pelo método SSP-PCR. Os tamanhos dos respectivos produtos de amplificação são também mostrados

As frequências gênicas foram calculadas dividindo-se o número de alelos observados pelo número de alelos da população estudada. Essas frequências foram comparadas pelo teste exato de Fisher, utilizando o programa GraphPad in Stat, versão 3.0. A força de associação foi estimada pelo cálculo do risco relativo, sendo, também, determinadas a fração etiológica ou preventiva.

3.5. Análise Estatística

Para testar as diferenças entre os dois grupos, foram construídas tabelas 2x2, conforme a distribuição abaixo.

		Doença		Total
		Sim	Não	
Presença de alelo	Sim	a	b	a + b
	Não	c	d	c + d
	Total	a + c	b + d	a + b + c + d

Os valores de probabilidade p foram obtidos através do teste exato de Fisher bicaudal com correção de Yates. Foram considerados significantes valores iguais ou inferiores a 0,05 (Intervalo de Confiança = 95%) (SIEGEL, 1959).

Com base no que é preconizado nos trabalhos de SVEJGAARD & RYDER (1994) e de SVEJGAARD (1986), os valores de p foram corrigidos, multiplicando-o pelo número de especificidades testadas (34 alelos de classe II). Obteve-se, assim, o valor denominado de “ p corrigido” (pc), considerando-se significantes os valores iguais ou inferiores a 0,05.

Quando as diferenças entre os grupos foram significantes ($pc \leq 0,05$) realizou-se, também, os cálculos do *odds ratio* (OR), do percentual de risco atribuível (RA%) e da fração etiológica (FE) ou da fração preventiva (FP).

O cálculo do OR, que permite fazer uma estimativa do risco relativo em estudos “caso-controle”, foi realizado de acordo com a fórmula:

$$\mathbf{OR = ad/bc} \quad (\text{HENNEKENS \& BURING, 1987}),$$

Para calcular a proporção da doença atribuível à presença de determinado alelo, foi utilizada a fórmula:

$$\mathbf{RA\% = (OR - 1/OR) \times 100} \quad (\text{HENNEKENS \& BURING, 1987}),$$

Quando o OR era maior que 1, calculou-se a FE, que estima o risco atribuível em termos populacionais, de acordo com a fórmula:

$$\mathbf{FE = (OR - 1/OR) hp};$$

sendo:

$$\mathbf{hp = a/a+b},$$

isto é, frequência do alelo nos pacientes (SVEJGAARD, 1986).

Quando o OR foi inferior a 1, calculou-se a FP, indicativa de proteção contra a doença em estudo, conferida pela presença do alelo, de acordo com a fórmula:

$$\mathbf{FP = (1 - OR) hp / OR (1 - hp) + hp}$$

(SVEJGAARD, 1986).

As frequências gênicas foram calculadas dividindo-se o número de alelos observados pelo número de alelos da população estudada. Essas frequências foram comparadas pelo teste exato de Fisher, utilizando-se o programa GraphPad in Stat, versão 3.0. A força da associação foi estimada pelo cálculo do risco relativo, sendo, também, determinadas a fração etiológica ou preventiva.

4. RESULTADOS

4. RESULTADOS

4.1. Primeira parte: Frequência de HIO e glaucoma em pacientes com OG

Dos 107 pacientes com OG, submetidos aos exames para diagnóstico de glaucoma, 20 (18,69%) eram do sexo masculino e 87 (81,31%) do sexo feminino. A média de idade foi de 41,57 anos (variando de 10 a 74 anos). Dos 107 pacientes avaliados, 84 foram considerados normais, 22 considerados suspeitos e 1 com diagnóstico de glaucoma. Após nova avaliação dos pacientes suspeitos, os juízes classificaram 2 pacientes como glaucomatosos. Portanto, do total de pacientes com orbitopatia de Graves avaliados, 3 (2,80%) tiveram o diagnóstico de glaucoma (IC 95%: 0,58% a 7,98%).

A Figura 5 mostra a cabeça do nervo óptico e o campo visual de 1 paciente com glaucoma.

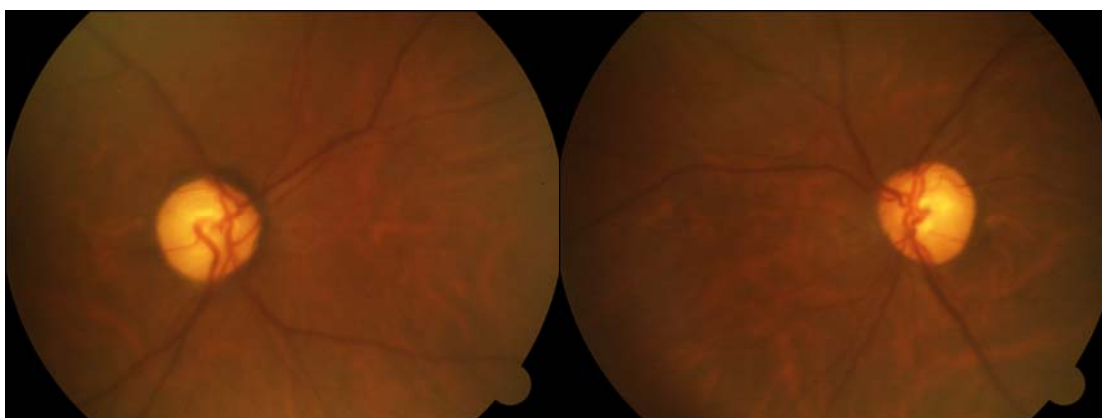
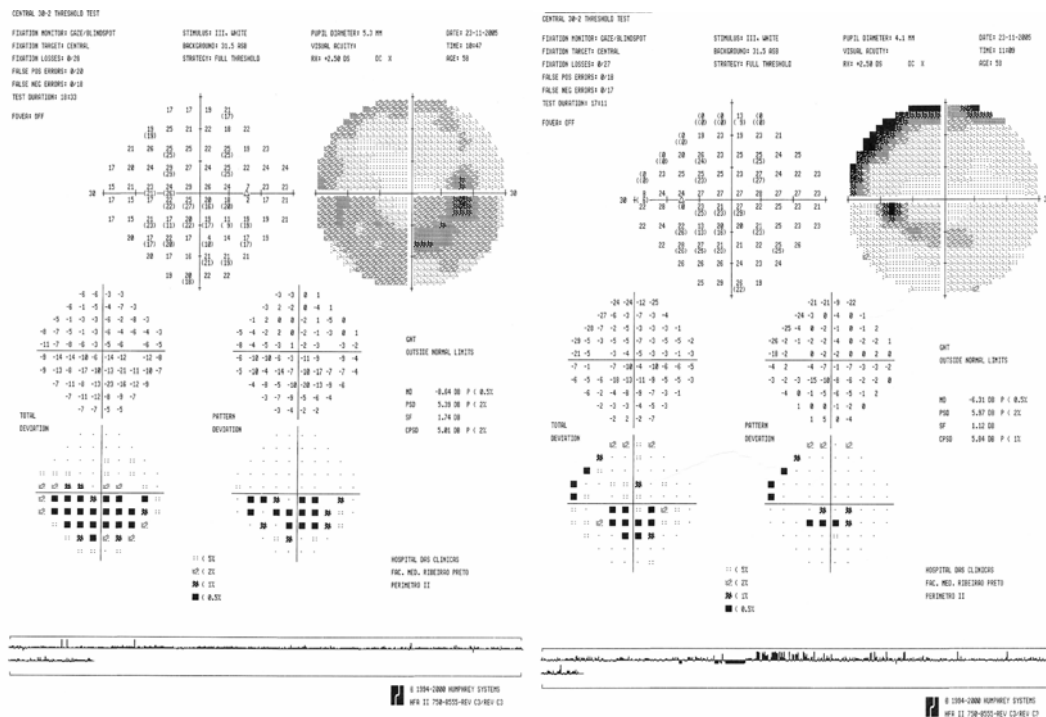


Figura 5. Fotografia da cabeça nervo óptico e exame de CV de olho direito e esquerdo de paciente glaucomatoso

Ao examinar o disco óptico desse paciente com glaucoma, observa-se aumento da escavação vertical em ambos os olhos e afilamento da rima superior do olho direito

compatível com *notch*. O campo visual mostra-se com perda correspondente e GHT fora dos limites normais.

A hipertensão ocular, em pelo menos um olho, foi encontrada em 4 pacientes (3,74%; IC 95%: 1,03% a 9,30%). A Figura 6 mostra a distribuição da pressão intra-ocular dos 214 olhos dos pacientes deste estudo.

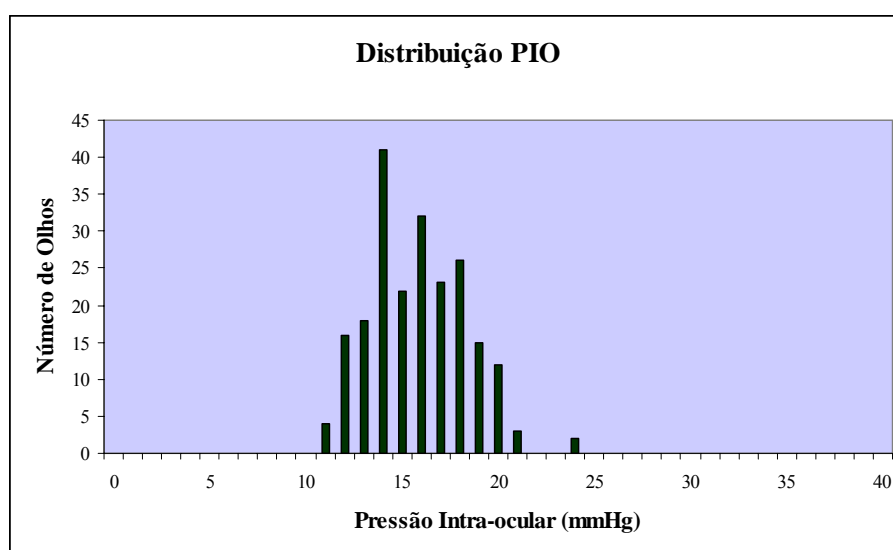


Figura 6. Distribuição da pressão intra-ocular nos 214 olhos dos 107 pacientes com orbitopatia de Graves

4.2. Segunda parte: análise dos alelos HLA-DRB1 e HLA-DQB1 nos pacientes com OG e seus subtipos

4.2.1. Determinação dos subtipos da OG por meio de análise tomográfica quantitativa

Foram avaliados 38 tomografias de pacientes com diagnóstico de orbitopatia de Graves, sendo 30 mulheres e 8 homens.

A distribuição das áreas da gordura orbitária e da MEO dos pacientes está demonstrada na Figura 7. Os valores acima da linha identificam os pacientes com aumento muscular e os valores abaixo/esquerda mostram os pacientes com aumento da gordura orbitária.

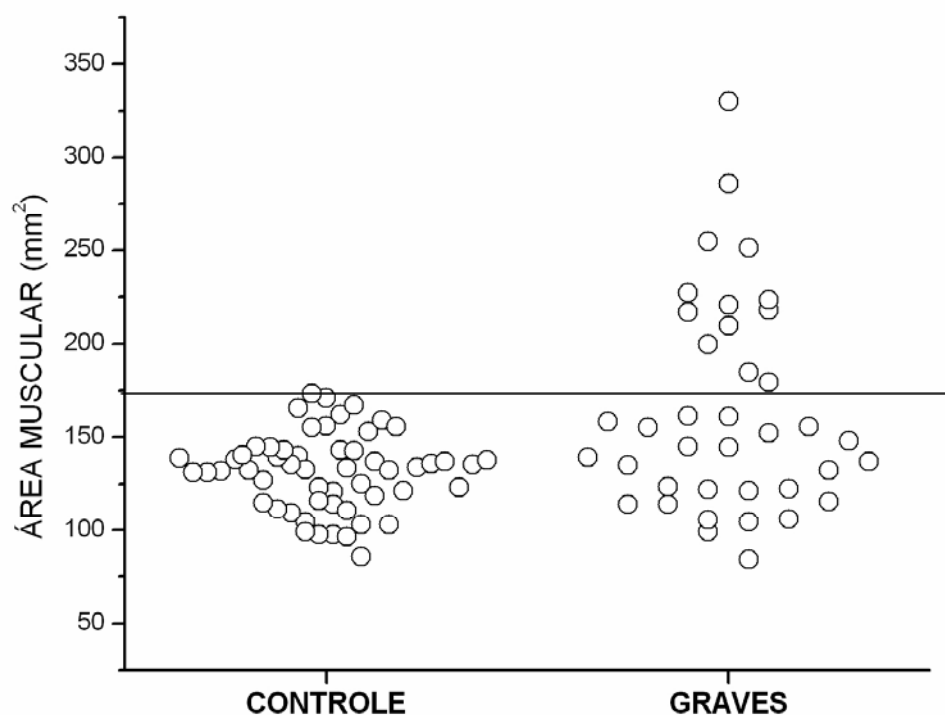


Figura 7. Distribuição das áreas musculares do grupo controle e pacientes com orbitopatia de Graves. A linha indica o valor correspondente à média mais 2 desvios padrões da distribuição do grupo controle. Os 13 pacientes acima da linha são classificados como subtipo miogênico.

A OG ocorreu predominantemente em mulheres (30:8), com tendência à redução da relação feminino:masculino (8:5) no subtipo miogênico.

4.2.2. Tipificação e análise das frequências alélicas dos HLA-DRB1 e HLA-DQB1

A frequência dos alelos analisados foi comparada entre os seguintes grupos:

1. orbitopatia de Graves (n=38) e controle (n=161) (Tabela 1);
2. subtipo miogênico (n=13) e controle (n=161) (Tabela 2);
3. subtipo não miogênico (n=25) e controle (n=161) (Tabela 3);
3. subtipo miogênico (n=13) e não miogênico (n=25) (Tabela 4).

Tabela 1. Frequência dos alelos HLA-DRB1 e DQB1 em pacientes brasileiros com doença de Graves com orbitopatia e controles

HLA	Pacientes N: 38 (%)	Controle N: 161(%)	p	pc	OR	FE	RA%
DRB1							
*01	8 (21,05)	24 (14,91)	0,49				
*15	8 (21,05)	33 (20,50)	0,88				
*16	8 (21,05)	13 (8,07)	0,03 *	1,02			
*03	15 (39,47)	42 (26,09)	0,14				
*04	34 (10,53)	39 (24,22)	0,10				
*07	5 (13,16)	27 (16,77)	0,76				
*08	5 (13,16)	20 (12,42)	1,0				
*09	0 (0)	7 (4,35)	0,35				
*10	1 (2,63)	5 (3,11)	1,0				
*11	9 (23,68)	44 (27,33)	0,80				
*12	0 (0)	6 (3,73)	0,5				
*13	5 (13,16)	46 (28,57)	0,07				
*14	3 (7,89)	15 (9,32)	1,0				
DQB1							
*05	14 (36,84)	60 (37,27)	0,89				
*06	12 (31,58)	65 (40,37)	0,41				
*02	18 (47,37)	63 (39,13)	0,45				
*03	13 (34,21)	94 (58,39)	0,01 *	0,34			
*04	3 (7,89)	23 (14,29)	0,42				

p: probabilidade pelo teste exato de Fisher bicaudal; pc = p corrigido; OR: *odds ratio*; FE: fração etiológica; RA% = porcentagem de risco atribuível

Tabela 2. Frequência dos alelos HLA-DRB1 e DQB1 em pacientes brasileiros com OG subtipo miogênico e controles

HLA	Pacientes N: 13 (%)	Controle N: 161(%)	p	pc	OR	FE	RA%
DRB1							
*01	2 (15,38)	24 (14,91)	1,0				
*15	1 (7,69)	33 (20,5)	0,46				
16	6 (46,15)	13 (8,07)	0,0008	0,0272	9,76	0,41	89
*03	2 (15,38)	42 (26,09)	0,52				
*04	3 (23,08)	39 (24,22)	1,0				
*07	1 (7,69)	27 (16,77)	0,69				
*08	0 (0)	20 (12,42)	0,36				
*09	0 (0)	7 (4,35)	1,0				
*10	1 (7,69)	5 (3,11)	0,37				
*11	5 (38,46)	44 (27,33)	0,52				
*12	0 (0)	6 (3,73)	1,0				
*13	2 (15,38)	46 (28,57)	0,51				
*14	2 (15,38)	15 (9,32)	0,61				
DQB1							
*05	7 (53,85)	60 (37,27)	0,37				
*06	4 (30,77)	65 (40,37)	0,69				
*02	3 (23,08)	63 (39,13)	0,37				
*03	6 (46,15)	94 (58,39)	0,57				
*04	0 (0)	23 (14,29)	0,22				

p: probabilidade pelo teste exato de Fisher bicaudal; pc = p corrigido; OR: *odds ratio*; FE: fração etiológica; RA% = porcentagem de risco atribuível

Tabela 3. Frequência dos alelos HLA-DRB1 e DQB1 em pacientes brasileiros com OG subtipo não miogênico e controles

HLA	Pacientes N: 25 (%)	Controle N: 161(%)	p	pc	OR	FE	RA%
DRB1							
*01	6 (24,0)	24 (14,91)	0,24				
*15	7 (28,0)	33 (20,5)	0,55				
*16	2 (8,0)	13 (8,07)	1,0				
*03	13 (52,0)	42 (26,09)	0,016				
*04	1 (4,0)	39 (24,22)	0,04				
*07	4 (16,0)	27 (16,77)	1,0				
*08	5 (20,0)	20 (12,42)	0,34				
*09	0 (0)	7 (4,35)	0,59				
*10	0 (0)	5 (3,11)	1,0				
*11	4 (16,0)	44 (27,33)	0,33				
*12	0 (0)	6 (3,73)	1,0				
*13	3 (12,0)	46 (28,57)	0,13				
*14	1 (4,0)	15 (9,32)	0,70				
DQB1							
*05	7 (28,0)	60 (37,27)	0,50				
*06	8 (32,0)	65 (40,37)	0,56				
*02	15 (60,0)	63 (39,13)	0,08				
*03	7 (28,0)	94 (58,39)	0,008 *	0,272			
*04	3 (12,0)	23 (14,29)	1,0				

p: probabilidade pelo teste exato de Fisher bicaudal; pc = p corrigido; OR: *odds ratio*; FE: fração etiológica; RA% = porcentagem de risco atribuível

Tabela 4. Frequência dos alelos HLA-DRB1 e DQB1 em pacientes brasileiros com subtipos miogênico e não miogênicos da OG

HLA	Subtipo miogênico N: 13 (%)	Subtipo não miogênico N: 25(%)	p	pc	OR	FE	RA%
DRB1							
*01	2 (15,38)	6 (24,0)	0,68				
*15	1 (7,69)	7 (28,0)	0,22				
*16	6 (46,15)	2 (8,0)	0,01 *	0,34			
*03	2 (15,38)	13 (52,0)	0,06				
*04	3 (23,08)	1 (4,0)	0,1				
*07	1 (7,69)	4 (16,0)	0,64				
*08	0 (0)	5 (20,0)	0,14				
*09	0 (0)	0 (0)	-				
*10	1 (7,69)	0 (0)	0,34				
*11	5 (38,46)	4 (16,0)	0,22				
*12	0 (0)	0 (0)	-				
*13	2 (15,38)	3 (12,0)	1,0				
*14	2 (15,38)	1 (4,0)	0,26				
DQB1							
*05	7 (53,85)	7 (28,0)	0,16				
*06	4 (30,77)	8 (32,0)	1,0				
*02	3 (23,08)	15 (60,0)	0,06				
*03	6 (46,15)	7 (28,0)	0,3				
*04	0 (0)	3 (12,0)	0,5				

p: probabilidade pelo teste exato de Fisher bicaudal; pc = p corrigido; OR: *odds ratio*; FE: fração etiológica; RA% = porcentagem de risco atribuível.

5. DISCUSSÃO

5. DISCUSSÃO

5.1. Frequência de HIO e glaucoma em pacientes com OG

Os participantes do estudo apresentaram dois subtipos da OG, que se diferenciaram pelo aumento da musculatura orbitária, sendo o não miogênico mais freqüente que o miogênico, na população estudada. Nos dois subtipos, proporcionalmente, mais mulheres foram afetadas, porém, no subtipo miogênico houve maior proporção de homens (relação feminino:masculino de 1,6:1), do que no subtipo não miogênico (relação 3,75:1).

Existem vários estudos em diferentes países sobre a prevalência de glaucoma, mas estima-se que a frequência de glaucoma na população geral seja de 1,5 a 2% (GIAMPANI, 1999). Nos EUA, a prevalência de glaucoma de ângulo aberto na população acima de 40 anos é estimada em 1,86% (FRIEDMAN, WOLFS *et al.*, 2004). Em estudo realizado na Espanha, com pessoas entre 40 e 79 anos, foi observado prevalência de 2,1% de GPAA (ANTON, ANDRADA *et al.*, 2004).

No Brasil, não há estudos multicêntricos para verificação da prevalência de glaucoma. Em pesquisa realizado em Joinville (SC), com 8061 pacientes com mais de 20 anos de idade, foi observada prevalência de 1,48% a partir de 20 anos, 1,75% a partir de 40 anos de idade, subindo para 2,07% acima dos 50 anos (GHANEM, 1989). Outro estudo, realizado na região de Piraquara(PR), com 1953 pacientes acima de 40 anos, detectou-se 79 casos (4,05%) de glaucoma, sendo 73 casos (3,74%) de GPAA e 6 pacientes (0,31%) com diagnóstico de glaucoma secundário ou glaucoma de ângulo estreito (SAKATA, SCAPUCIN *et al.*, 2002). Em campanha de glaucoma, realizada em São Paulo, com 1438

pacientes com idade superior a 40 anos, observou-se uma prevalência de 7,3% de glaucoma (PÓVOA, NICOLELA *et al.*, 2001).

No presente estudo foi encontrada prevalência de 3,74% de hipertensão ocular e 2,80% de glaucoma nos pacientes com orbitopatia de Graves, valores semelhantes àqueles observados na população geral. Considerando apenas os pacientes com idade acima de 40 anos, foi encontrada prevalência de 6,34% de HIO e 4,76% de glaucoma, maior que a observada na maioria dos estudos sobre prevalência de glaucoma, apesar dessas frequências estarem no intervalo de confiança das médias encontradas nesta investigação (IC 95%: 1,0 a 13,3%).

Em estudo retrospectivo de 482 pacientes com orbitopatia de Graves, detectou-se a presença de 3,9% de HIO nesses pacientes, comparados com 1,6% na população geral e prevalência de 0,8% de glaucoma (KALMANN & MOURITS, 1998). Um outro estudo realizado em Pittsburgh, com 500 pacientes com orbitopatia de Graves, mostrou 24% de hipertensão ocular comparado com 5% na população geral. Nesse mesmo estudo, somente 7 pacientes (1,45%) foram classificados como glaucomatosos e 2 pacientes mostraram anormalidades de campo visual e disco óptico progressivos (COCKERHAM, PAL *et al.*, 1997). Na população japonesa, foi observada prevalência de 22% de hipertensão ocular em pacientes com orbitopatia de Graves (OHTSUKA, 1997) e de 13% de glaucoma em pacientes com doença de Graves (OHTSUKA & NAKAMURA, 2000).

Assim, a frequência de hipertensão ocular encontrada em nosso estudo (3,7%) é similar à de 3,9%, encontrada por Kalmann & Mourits (1998), e muito menor do que àquelas relatadas nos estudos de Cockerham *et al.* (1997) e Ohtsuka (1997), 24 e 22%,

respectivamente. No que diz respeito à frequência de glaucoma, aquela encontrada no presente estudo (2,8%) foi maior do que as relatadas por Kalmann & Mourits (1998) e por Cockerham *et al.* (1997) – 0,8% e 1,4% e inferior à encontrada por Ohtsuka & Nakamura (2000) -13%. Vale ressaltar que, no último estudo (OHTSUKA & NAKAMURA, 2000), foram realizados em pacientes com doença de Graves, com ou sem orbitopatia. Possivelmente as diferenças encontradas são devidas a fatores étnicos, às fases da doença e às diferenças de idade dos pacientes incluídos nos estudos. O Quadro 5 resume a prevalência de hipertensão ocular e glaucoma em pacientes com OG.

	Hipertensão intra-ocular (%)	Glaucoma (%)
Presente estudo (n = 107)	3,7	2,8
Kalmann & Mourits (1998) (n = 482)	3,9	0,8
Cockerham <i>et al.</i> (1997) (n = 500)	24	1,4
Ohtsuka (1997) (n=95) e Ohtsuka & Nakamura (2000) (n=104)*	22	13*

*pacientes com doença de Graves

Quadro 5. Prevalência (%) de hipertensão intra-ocular e glaucoma em pacientes com orbitopatia de Graves

Portanto, quando comparados com outros estudos de prevalência de glaucoma em pacientes com orbitopatia de Graves, a frequência observada nesse estudo foi um pouco

superior à encontrada em outros artigos (KALMANN & MOURITS, 1998; COCKERHAM, PAL *et al.*, 1997), porém apenas a prevalência encontrada no estudo de Ohtsuka & Nakamura (2000) não esteve dentro do intervalo de confiança determinado pela frequência desse estudo (IC 95%: 0,58% a 7,98%).

Apesar de se ter estudado, aqui, o maior número de pacientes possível e de esse número ser adequado para atingir os objetivos propostos, somente com a futura ampliação do tamanho da amostra poder-se-á afirmar com segurança se o fator etário está presente, também, em glaucomas por aumento da pressão venosa episcleral. Se estiver presente, a hipótese seria que as alterações trabeculares que ocorrem na involução seriam fator coadjuvante para o desenvolvimento de glaucoma na OG, o que poderia ser comprovado em estudos da hidrodinâmica do humor aquoso.

5.2. Análise dos subtipos da OG e da presença de marcadores de susceptibilidade genética na OG

As doenças auto-imunes, incluindo a doença de Graves, estão associadas aos genes do Complexo Principal de Histocompatibilidade (CPH), denominado no ser humano “Sistema HLA”.

Existem algumas hipóteses sobre os mecanismos de associação entre o sistema HLA e doenças: 1 – as moléculas de histocompatibilidade podem funcionar como receptores para alguns agentes etiológicos; 2 - **a molécula HLA seleciona os peptídeos antigênicos a serem apresentados ao linfócito T**; 3 – haveria mimetismo molecular entre os antígenos HLA e os agentes etiológicos; 4 – haveria indução aberrante de expressão de moléculas

HLA de classe II; e 5 – poderia haver participação de outros genes do complexo principal de histocompatibilidade, ou de fora dele, que estivessem em desequilíbrio de ligação com os genes de histocompatibilidade (DONADI, 2000).

A principal função dos genes HLA é codificar moléculas essenciais na apresentação de antígeno para linfócitos T. Seus produtos são moléculas que ficam na superfície celular e apresentam os peptídeos antigênicos para as células T. O mecanismo de associação entre sistema HLA e doença de Graves (DG) está relacionado a essa função principal, pois pacientes com essa doença apresentam anticorpos contra vários antígenos tireóideos, principalmente contra receptor de TSH.

Como também algumas formas de glaucoma podem estar associadas a alelos HLA de classe II, uma das preocupações ao investigar o perfil HLA dos participantes deste estudo foi verificar se esse grupo não tinha uma tendência para o desenvolvimento de glaucoma, ou não tinha um perfil que indicasse proteção contra alguma forma dessa doença, o que poderia causar vieses nos resultados. Além disso, o alelo DRB1*03 (protetor contra o desenvolvimento de glaucoma de ângulo estreito) estaria associado com predisposição para a DG, conforme observado em estudo realizado por pesquisadores da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto, sem orbitopatia (MACIEL, RODRIGUES *et al.*, 2000). Mas, como pode ser observado na Tabela 1 (p.38), não foram encontradas diferenças entre as frequências nos participantes do estudo e na população geral dos subtipos HLA-DRB1*01 (relacionado a glaucoma primário de ângulo aberto) e DRB1*03.

No presente estudo, quando comparados pacientes com orbitopatia de Graves (OG) com os controles populacionais, o subtipo HLA-DRB1*16 foi mais frequente em pacientes

com OG e o subtipo HLA-DQB1*03 mais freqüente nos controles. No entanto, as significâncias estatísticas não persistiram com a correção pelo número de especificidades testadas. Com relação ao primeiro subtipo, foi observado por Akaishi (2005) que ele é mais freqüente no subtipo miogênico da OG do que na população geral. Assim, a diferença encontrada pode ser atribuída à presença dos pacientes com subtipo miogênico na amostra. No que diz respeito ao alelo HLA-DQB1*03, pode-se dizer que houve tendência à proteção contra o desenvolvimento de OG. Essa diferença volta a aparecer quando se compara o subtipo não miogênico com a população geral (Tabela 3, p. 40) No entanto, isso somente poderá ser comprovado ou rejeitado com o desenvolvimento de estudos com tamanho amostral maior.

Quando comparado o subtipo miogênico com os controles populacionais (Tabela 2, p.39), observou-se que 46,15% dos pacientes apresentaram o alelo HLA-DRB1*16, enquanto que a freqüência nos controles foi 8,08% ($p=0,0008$, $pc=0,0272$; $OR=9,76$; $FE=0,41$; e $RA\%= 89$), confirmando os achados de Akaishi (2005). Isso indica que indivíduos portadores desse alelo têm uma chance 9,76% maior de desenvolver o subtipo miogênico da OG do que os que não o possuem.

6. CONCLUSÕES

6 – CONCLUSÕES

1. Observou-se frequência semelhante de HIO e glaucoma nos pacientes com orbitopatia de Graves à observada na população geral. Porém, quando se considerou apenas pacientes com idade superior a 40 anos de idade, a frequência observada foi maior que na população geral.
2. O alelo HLA-DRB1*16 está associado à predisposição ao subtipo miogênico da orbitopatia de Graves, confirmando os achados de Akaishi (2005).

7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AKAISHI PMS. "Subtipos da Orbitopatia de Graves. Análise tomográfica quantitativa e associação com marcadores de suscetibilidade genética". Tese de Doutorado. Departamento de Oftalmologia, Otorrinolaringologia e Cirurgia de Cabeça e Pescoço, FMRP - USP. Ribeirão Preto: 2005.

ANTON A, ANDRADA MT, MUJICA V, CALLE MA, PORTELA J, MAYO A. "Prevalence of primary open-angle glaucoma in a Spanish population: the Segovia study". J Glaucoma **13**(5):371-6, 2004.

BAHN RS. "Clinical review 157: Pathophysiology of Graves' ophthalmopathy: the cycle of disease". J Clin Endocrinol Metab **88**(5):1939-46, 2003.

BAHN RS, DUTTON CM, NATT N, JOBA W, SPITZWEG C, HEUFELDER AE. "Thyrotropin receptor expression in Graves' orbital adipose/connective tissues: potential autoantigen in Graves' ophthalmopathy". J Clin Endocrinol Metab **83**(3):998-1002, 1998.

BARTLEY GB, FATOURECHI V, KADRMAS EF, JACOBSEN SJ, ILSTRUP DM, GARRITY JA, *et al.* "Chronology of Graves' ophthalmopathy in an incidence cohort". Am J Ophthalmol **121**(4):426-34, 1996.

BARTLEY GB, GORMAN CA. "Diagnostic criteria for Graves' ophthalmopathy". Am J Ophthalmol **119**(6):792-5, 1995.

BEDNARCZUK T, HIROMATSU Y, SEKI N, PLOSKI R, FUKUTANI T, KURYLOWICZ A, *et al.* "Association of tumor necrosis factor and human leukocyte antigen DRB1 alleles with Graves' ophthalmopathy". Hum Immunol **65**(6):632-9, 2004.

BURCH HB, WARTOFSKY L. "Graves' ophthalmopathy: current concepts regarding pathogenesis and management". Endocr Rev **14**(6):747-93, 1993.

CASTALDELLI RMOB. "Prevalência de Antígenos de Histocompatibilidade Classes I e II em pacientes portadores de Glaucoma Primário de Ângulo Aberto ou Hipertensão Ocular". Tese de Doutorado. Departamento de Oftalmologia, Otorrinolaringologia e Cirurgia de Cabeça e Pescoço, FMRP - USP. Ribeirão Preto: 2000.

CHENG H, PERKINS ES. "Thyroid disease and glaucoma". Br J Ophthalmol **51**(8):547-53, 1967.

COCKERHAM KP, PAL C, JANI B, WOLTER A, KENNERDELL JS. "The prevalence and implications of ocular hypertension and glaucoma in thyroid-associated orbitopathy". Ophthalmology **104**(6):914-7, 1997.

DALLOW RL, NETLAND PA. "Management of thyroid ophthalmology (Graves' disease)". In: Albert DM, Jakobiek FA, eds. Principles and Practice of Ophthalmology. Philadelphia: WB Saunders:1905-22, 1994.

DONADI EA. "Como entender a nomenclatura e os mecanismos de associação entre os antígenos e os alelos de histocompatibilidade com as doenças". Medicina **33**(1):7-18, 2000.

FELDON SE. "Graves' ophthalmopathy. Is it really thyroid disease?" Arch Intern Med **150**(5):948-50, 1990.

FRIEDMAN DS, WOLFS RC, O'COLMAIN BJ, KLEIN BE, TAYLOR HR, WEST S, *et al.* "Prevalence of open-angle glaucoma among adults in the United States". Arch Ophthalmol **122**(4):532-8, 2004.

FRONIMOPOULOS J, LASCARATOS J. "The terms glaucoma and cataract in the ancient Greek and Byzantine writers". Doc Ophthalmol **77**(4):369-75, 1991.

GHANEM CC. "Levantamento de casos de Glaucoma em Joinville - Santa Catarina". Arq Bras Oftalmol **52**(2):40-3, 1989.

GIAMPANI J. "Hereditariedade e Genética". In: Susanna Junior R, ed. Glaucoma (Manual CBO). Rio de Janeiro: Cultura Médica:9-12, 1999.

GOMES LES. "Análises de alelos de histocompatibilidade de classe II, em pacientes com Glaucoma Primário de Ângulo Fechado". Tese de Doutorado. Departamento de Oftalmologia, Otorrinolaringologia e Cirurgia de Cabeça e Pescoço, FMRP - USP. Ribeirão Preto: 2002.

GORMAN CA. "Temporal relationship between onset of Graves' ophthalmopathy and diagnosis of thyrotoxicosis". Mayo Clin Proc **58**(8):515-9, 1983.

HADDAD HM. "Tonography and visual fields in endocrine exophthalmos. Report on 29 patients". Am J Ophthalmol **64**(1):63-7, 1967.

HENNEKENS CH, BURING JE. Epidemiology in Medicine. Boston/Toronto: Little Brown, p. 54-100, 1987.

HIGGINBOTHAM EJ. "Glaucoma associated with increased episcleral venous pressure". In: Albert DM, Jakobiek FA, Azar DT, Gragoudas E, Power SM, Robinson NL, eds.

Principles and Practice of Ophthalmology. 2nd ed. Philadelphia: WB Saunders:2781-92, 2000.

KALMANN R, MOURITS MP. "Prevalence and management of elevated intraocular pressure in patients with Graves' orbitopathy". Br J Ophthalmol **82**(7):754-7, 1998.

KING JS, NETLAND PA. "Glaucoma in Thyroid Eye Disease". In: Dutton JJ, Haik BG, eds. Thyroid Eye Disease, Diagnosis and Treatment. New York: Marcel Dekker Inc.:319-24, 2002.

KLEIN J, SATO A. "The HLA system. First of two parts". N Engl J Med **343**(10):702-9, 2000.

KLEIN J, SATO A. "The HLA system. Second of two parts". N Engl J Med **343**(11):782-6, 2000.

KOUMAS L, SMITH TJ, PHIPPS RP. "Fibroblast subsets in the human orbit: Thy-1+ and Thy-1- subpopulations exhibit distinct phenotypes". Eur J Immunol **32**(2):477-85, 2002.

LAURETTI FILHO A, ROMÃO E, LAURETTI CR. "Glaucomas do Adulto". In: Rodrigues MLV, Dantas AM, eds. Oftalmologia Clínica. 2. ed. Rio de Janeiro: Cultura Médica:311-40, 2001.

LOUZADA-JUNIOR P, SMITH AG, HANSEN JA, DONADI EA. "HLA-DRB1 and -DQB1 alleles in the Brazilian population of the northeastern region of the state of Sao Paulo". Tissue Antigens **57**(2):158-62, 2001.

MACIEL LMZ, RODRIGUES SS, DIBBERN RS, NAVARRO PAA, DONADI EA. "Associação de alelos do complexo principal de histocompatibilidade de classe II com a doença de Graves, em pacientes brasileiros". Medicina. **33**(1):42-6, 2000.

MACIEL LMZ, RODRIGUES SS, DIBBERN RS, NAVARRO PAA, DONADI EA. "Association of the HLA-DRB1*0301 and HLA-DQA1*0501 alleles with Graves' disease in a population representing the gene contribution from several ethnic backgrounds". Thyroid **11**(1):31-5, 2001.

MANOR RS, KURZ O, LEWITUS Z. "Intraocular pressure in endocrinological patients with exophthalmos". Ophthalmologica **168**(4):241-52, 1974.

MILLER SA, DYKES DD, POLESKY HF. "A simple salting out procedure for extracting DNA from human nucleated cells". Nucleic Acids Res **16**(3):1215, 1988.

NUNERY WR. "Ophthalmic Graves'disease. A dual theory of pathogenesis". Ophthalmology Clinics of North America **4**:73-87, 1991.

OHTSUKA K. "Intraocular pressure and proptosis in 95 patients with Graves ophthalmopathy". Am J Ophthalmol **124**(4):570-2, 1997.

OHTSUKA K, NAKAMURA Y. "Human leukocyte antigens associated with hyperthyroid Graves ophthalmology in Japanese patients". Am J Ophthalmol **126**(6):805-10, 1998.

OHTSUKA K, NAKAMURA Y. "Open-angle glaucoma associated with Graves disease". Am J Ophthalmol **129**(5):613-7, 2000.

ORHAN Y, AZEZLI A, CARIN M, ARAL F, SENCER E, MOLVALILAR S. "Human lymphocyte antigens (HLA) and Graves' disease in Turkey". J Clin Immunol **13**(5):339-43, 1993.

PLITZ-SEYMOUR JR, STONE RA. "Glaucoma associated with systemic disease". In: Rich R, Shields MB, Krupin T, eds. The Glaucomas. 2nd ed. St. Louis: Mosby:1157-76, 1996.

PÓVOA CA, NICOLELA MT, VALLE ALSL, GOMES LES, NEUSTEIN I. "Prevalência de glaucoma identificada em campanha de detecção em São Paulo". Arq Bras Oftalmol **64**(4):303-7, 2001.

QUIGLEY HA. "Number of people with glaucoma worldwide". Br J Ophthalmol **80**(5):389-93, 1996.

QUIGLEY HA, BROMAN AT. "The number of people with glaucoma worldwide in 2010 and 2020". Br J Ophthalmol **90**(3):262-7, 2006.

RATNASINGAM, GOUGH. "Genetics of Graves' disease". In: Dutton JJ, Haik BG, eds. Thyroid Eye Disease Diagnostic and Treatment. New York: Marcel Dekker, Inc.:113-25, 2002.

SAKATA K, SCAPUCIN L, SAKATA LM, CARVALHO ACA, SELONKE I, SAKATA VM, *et al.* "Projeto glaucoma – resultados parciais 2000 na região de Piraquara – PR". Arq Bras Oftalmol **65**(3):333-7, 2002.

SIEGEL S. Estatística não paramétrica. São Paulo: Mc Graw Hill, p. 107-124, 1959.

SMITH TJ, KOUMAS L, GAGNON A, BELL A, SEMPOWSKI GD, PHIPPS RP, *et al.* "Orbital fibroblast heterogeneity may determine the clinical presentation of thyroid-associated ophthalmopathy". J Clin Endocrinol Metab **87**(1):385-92, 2002.

SOMMER A, KATZ J, QUIGLEY HA, MILLER NR, ROBIN AL, RICHTER RC, *et al.* "Clinically detectable nerve fiber atrophy precedes the onset of glaucomatous field loss". Arch Ophthalmol **109**(1):77-83, 1991.

SUSANNA JUNIOR R, MEDEIROS F. Nervo óptico no glaucoma. Rio de Janeiro: Cultura Médica, 2003.

SVEJGAARD A. "HLA and disease". In: Rose NR, Friedman H, Fahrey JL, eds. Manual of clinical laboratory imunology. 3rd ed. Washington D.C.: American Society for Microbiology:912-20, 1986.

SVEJGAARD A, PLATZ P, RYDER LP. "HLA and disease 1982--a survey". Immunol Rev **70**:193-218, 1983.

THYLEFORS B, NEGREL AD. "The global impact of glaucoma". Bull World Health Organ **72**(3):323-6, 1994.

THYLEFORS B, NEGREL AD, PARARAJASEGARAM R, DADZIE KY. "Global data on blindness". Bull World Health Organ **73**(1):115-21, 1995.

TORRES EA, SILVA MRBM, BORTOLOZZI J, PELLEGRINO-JR J, DELIMA MG. "Complexo HLA e glaucoma crônico simples". Rev Bras Alergia Imunopatol **12**:198-201, 1989.

VAN BUSKIRK EM, CIOFFI GA. "Glaucomatous optic neuropathy". Am J Ophthalmol **113**(4):447-52, 1992.

VANNI V, VOZZA R. "[Behavior of ocular tension in various types of exophthalmos.]". Boll Ocul **39**:189-97, 1960.

WEINREB RN, KARWATOWSKI WSS. "Glaucoma associated with elevated episcleral venous pressure". In: Rich R, Shields MB, Krupin T, eds. The Glaucomas. 2nd ed. St. Louis: Mosby:1143-55, 1996.

WU SL, YANG CS, WANG HJ, LIAO CL, CHANG TJ, CHANG TC. "Demonstration of thyrotropin receptor mRNA in orbital fat and eye muscle tissues from patients with Graves' ophthalmopathy by in situ hybridization". J Endocrinol Invest **22**(4):289-95, 1999.

YANAGAWA T, HIDAKA Y, GUIMARAES V, SOLIMAN M, DEGROOT LJ. "CTLA-4 gene polymorphism associated with Graves' disease in a Caucasian population". J Clin Endocrinol Metab **80**(1):41-5, 1995.

8. ANEXOS

**ANEXO A – Protocolo de *screening* para Glaucoma dos pacientes com
Orbitopatia de Graves**

Número:

Paciente:

Registro:

AP:

AF:

Medicação ocular:

Tonometria

Data	OD	OE
//		
//		

Fundo de Olho

Data	OD	OE	Foto
//			
//			

AR + TL: OD:

AV:

OE:

AV:

Adição para perto:

Observação:

ANEXO B – Características dos pacientes com OG (pressão intra-ocular, sexo e idade)

	Iniciais	PIO OD (mmHg)	PIO OE (mmHg)	Sexo	Idade
1	MAS	16	16	F	52
2	EFB	19	19	F	26
3	MJC	18	20	M	46
4	MFR	18	18	F	40
5	JAM	14	14	F	20
6	RCMS	11	13	F	25
7	SACS	14	14	F	39
8	VLC	17	19	F	35
9	ICM	16	19	F	30
10	MLC	14	14	F	74
11	ISR	16	14	F	47
12	VMF	15	15	F	43
13	AFS	20	20	F	61
14	MOS	13	14	F	42
15	ACS	17	20	F	31
16	LAR	14	15	M	57
17	MACG	19	19	F	48
18	LBC	18	18	F	38
19	MBA	19	19	F	54
20	VAV	17	17	F	40
21	MFB	19	20	F	49
22	DAS	11	11	F	65
23	AGS	18	18	M	25
24	WB	18	19	M	50
25	DM	15	15	F	15
26	MGP	12	12	F	54
27	SRFP	16	16	F	38
28	DRP	16	18	F	56
29	MP	15	17	M	53
30	AM	14	14	F	40
31	CAJ	16	16	F	71
32	SRD	17	17	F	26
33	MGO	16	16	F	42
34	DRQ	18	18	F	40
35	EAS	15	17	F	41

	Iniciais	PIO OD (mmHg)	PIO OE (mmHg)	Sexo	Idade
36	MSS	20	18	F	49
37	LAM	16	16	F	43
38	MGM	18	18	F	50
39	IAS	14	18	F	32
40	MAS	15	15	F	37
41	LHTC	14	15	F	44
42	MMN	14	16	M	52
43	CAT	16	19	F	46
44	RLB	15	16	M	24
45	MAC	16	17	F	67
46	JBG	19	19	F	58
47	MAJ	13	14	F	29
48	IPR	18	16	F	52
49	MGM	14	14	F	34
50	ESC	20	21	F	55
51	EAS	12	12	F	37
52	DGM	24	24	M	51
53	A.MS	16	17	F	62
54	NCS	18	17	F	51
55	JJF	21	18	M	56
56	MCR	14	12	F	39
57	NMJ	15	12	F	56
58	MCB	14	20	F	51
59	DFS	14	14	F	35
60	SERS	18	18	F	39
61	LRB	13	13	F	10
62	IS	20	20	M	26
63	AAP	13	13	M	24
64	LDM	16	17	M	15
65	MIPA	17	17	F	55
66	NBM	18	17	F	35
67	MLC	12	12	F	49
68	MARA	16	16	F	46
69	RAN	17	16	F	33
70	PC	16	16	M	60
71	ACP	19	19	M	22
72	MMS	15	15	F	24
73	SPA	12	12	F	46
74	SFB	15	15	F	20
75	RB	14	14	M	35

	Iniciais	PIO OD (mmHg)	PIO OE (mmHg)	Sexo	Idade
76	MGM	21	17	F	45
77	RGS	14	14	F	19
78	NFC	14	14	F	56
79	AFS	20	20	F	55
80	RLM	14	14	M	48
81	DMFR	15	13	F	49
82	MNBC	12	13	F	48
83	HPB	14	14	F	40
84	RAS	11	13	F	31
85	JVLR	14	17	M	45
86	LCS	16	17	F	35
87	IAL	15	17	F	39
88	LF	18	18	F	49
89	FCA	13	13	M	46
90	CGO	13	14	M	24
91	VAC	13	13	F	47
92	JDSG	14	14	F	48
93	ARS	18	18	F	60
94	CAB	13	12	F	37
95	MFBB	16	16	F	46
96	MQN	16	18	F	29
97	ESS	12	12	F	20
98	AAS	14	14	F	41
99	GAG	13	13	F	26
100	MFR	17	17	M	37
101	MIS	15	16	F	49
102	DCPF	15	17	F	19
103	ALMN	15	15	F	27
104	RAB	14	14	F	48
105	VSR	14	14	F	40
106	IPR	16	16	F	52
107	CCS	12	12	F	32

ANEXO C – Especificidades HLA classe II encontradas nos pacientes com OG

Iniciais	Subtipo	HLA DRB1*	HLA DQB1*
MP	miogênico	11,16	5
MLPC	não miogênico	7,15	2
MFTR	miogênico	11,16	5
MCR	não miogênico	8	2,4
AP	não miogênico	1	2,5
JF	miogênico	7,16	2,5
MARA	não miogênico	3	2
VLAC	miogênico	1,13	5,6
SFB	não miogênico	3,15	2,6
IAOL	não miogênico	8,16	3
RGS	não miogênico	1,3	2,5
NMJ	não miogênico	1,3	5
RB	miogênico	14	3
ICM	não miogênico	3,15	2,6
MGO	miogênico	4,10	3,5
NCOS	não miogênico	3,11	2,3
RLM	miogênico	4,14	3,6
GAIG	não miogênico	3,11	2,3
SACS	miogênico	4,11	3
RAS	miogênico	1,16	6
JAM	não miogênico	3	2
MIS	não miogênico	3,13	4,6
MGDP	miogênico	11,16	3,5
RAN	não miogênico	14,15	6
MGM	não miogênico	13,16	5,6
EAS	não miogênico	3,4	2,3
MMCS	miogênico	3,11	2,3
DRP	miogênico	13,16	5
LDM	não miogênico	11,15	6
VASC	não miogênico	1,3	2,5
LNS	não miogênico	7,8	3
VAV	não miogênico	11,15	6
ESS	não miogênico	7,8	2,3
AFS	não miogênico	3,7	2
LCS	não miogênico	1,13	3,5
CAVT	não miogênico	3,15	2,6
NFAC	não miogênico	1,8	4,5
LAR	miogênico	3,15	2,6

ANEXO D – Anexo de publicação

Frequency of HLA class II alleles in patients with the myogenic and non-myogenic subtypes of Graves' orbitopathy

Fabrizio Leon Mascaro da Silva, Maria de Lourdes Veronese Rodrigues, Patricia Mitiko Santello Akaishi, Antonio Augusto Velasco e Cruz & Eduardo Antonio Donadi

Abstract

Objective : To evaluate the presence of HLA subtypes related to susceptibility to or protection against the development of Graves' orbitopathy and its subtypes.

Methods : A peripheral blood sample was collected from 38 patient with a diagnosis of Graves' orbitopathy followed at the Oculoplasty Sector of HCFMRP-USP. Quantitative tomography was performed for patient classification into subjects with the myogenic and non-myogenic forms of the disease. Analysis of HLA class II alleles was performed by hybridization of DNA amplified by the polymerase chain reaction with sequence-specific primers.

Results : The frequency of the HLA DRB1*16 allele was 46.15% among the patients with the myogenic subtype, as opposed to 8.08% among controls ($p = 0.0008$, $pc = 0.0272$; OR = 9,76; EF = 0,41 e RA = 89).

Conclusion : The HLA DRB1*16 allele is associated with predisposition to the myogenic subtype of Graves' orbitopathy, a result confirming data obtained in a previous study.

Introduction

Graves' orbitopathy (GO) is an autoimmune disease characterized by the presence of eyelid retraction associated with proptosis, restrictive strabismus, and/or optic neuropathy^{1,2}. GO occurs in two subtypes, myogenic and non-myogenic, which present different clinical behaviors³. Orbit fibroblasts, the cells responsible for the tissue remodeling that occurs in GO, have been pointed out as the main effector cells in this disease due to their ability to respond to the action of some cytokines, producing inflammatory mediators when stimulated. In addition, these fibroblasts express proteins that distinguish them from extra-orbital fibroblasts⁴.

Phenotypic and functional differences between adipose tissue fibroblasts and orbital muscle fibroblasts have been demonstrated in recent studies^{4,5}. The phenotypic difference was due to the expression of the cell surface molecule denoted Thy-1. Perimysial fibroblasts express this molecule in a homogeneous manner and do not have the ability to induce neo-adipogenesis, in contrast to adipose tissue fibroblasts⁴. These data were the first

to provide a histopathological substrate for the clinical subtypes, indicating the possibility that different physiopathogenic mechanisms act on the production of GO.

Most patients with GO present some type of autoimmune thyroid dysfunction, with emphasis on hyperthyroidism or Graves' disease (GD), which occurs in 90% of cases⁶. The association between orbitopathy and GD suggests that the orbit and the thyroid share physiopathogenic mechanisms possibly mediated by antigens common to the two tissues^{7,8}.

Since the disease is mediated by immunologic mechanisms, the search for susceptibility genes focuses on genes that regulate the immune response⁹. The main associations are related to the HLA class II genes located on chromosome 6^{10,11}.

The objective of the present study was to evaluate the presence of markers of genetic susceptibility or protection (located in the major histocompatibility complex and represented by class II, DR and DQ genes) in GO and its subtypes.

Materials and Methods

We evaluated 38 patients with a diagnosis of GO attended at the Oculoplasty Outpatient Clinic of the University Hospital, Faculty of Medicine of Ribeirão Preto, USP (HCFMRP-USP). The diagnosis of GO was based on the criteria proposed by Bartley and Gorman² who established the clinical diagnosis of GO in patients who present palpebral retraction associated with at least one of the following signs: thyroid dysfunction, proptosis, strabismus or optic neuropathy, after other possible causes are excluded by imaging exams. When there is no eyelid retraction, a diagnosis of GO can be considered only if some of the above signs are associated with thyroid dysfunction in the absence of other causal factors.

CT scans of 38 patients with GO (30 women and 8 men) attended at the Oculoplasty Outpatient Clinic of HCFMRP, USP, were evaluated.

Only one orbit of each patient was selected for analysis. For cases with asymmetrical orbital involvement the most affected orbit was selected and, in symmetrical cases, the exam with the best radiologic pattern was selected. Each orbit was evaluated on the basis of one coronal section and one axial section. The position of the tomographic sections was constant, i.e., the coronal sections were positioned 9 mm posterior to the closure of the orbital margin and the axial sections included the rectus medialis and rectus lateralis muscles and the optic nerve.

The selected images were photographed with a Nikon Coolpix 995 digital camera and transferred to a model Pentium 4 personal computer for processing with the ImageG software (developed at the National Institute of Health by Wayne Rasband and available free of charge at the site: <http://rsb.info.nih.gov/ij/download.html>). In the coronal section, the muscle limits were delineated in order to determine their areas. The rectus inferior and rectus superior muscles were analyzed individually, and the rectus superior/levator palpebrae superioris muscle and the rectus medialis/obliquus superior muscle were analyzed together because, due to their proximity, they lose their limits, preventing individual analysis (Figure 1).

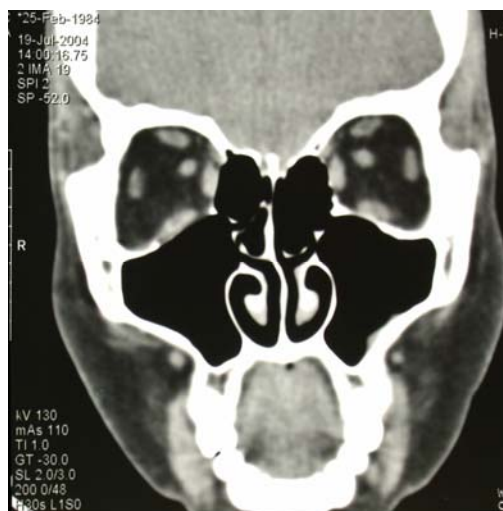


Figure 1. Computed tomography of an orbit (coronal section) showing the proximity of the rectus superior/levator palpebrae superioris muscle and the rectus medialis/obliquus superior muscle.

The axial section was used to determine the areas of adipose tissue present between the orbital walls and the medial rectus and lateral rectus muscles (extraconal fat) and between these and the optic nerve (intraconal fat) (Figure 2).

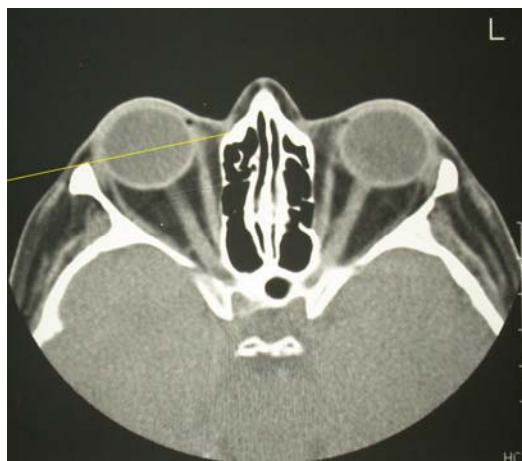


Figure 2. Computed tomography of an orbit (axial section) for the determination of adipose tissue areas.

The same measurements were obtained for the control group of 56 normal orbits of patients with no systemic diseases who were submitted to tomographic examination due to unilateral orbital diseases.

In order to determine the subtype of GO according to increased orbital tissue (muscle and/or fat), the measurements of the orbital muscle and fat areas of patients with GO were arbitrarily considered to be abnormal when they exceeded the mean plus 2 standard deviation for the control group.

HLA Typing

Typing of the class II human leukocyte antigen (HLA) (HLA-DRB1 and HLA-DQB1) was performed by hybridization of DNA amplified by the polymerase chain reaction (PCR) using sequence-specific primers (SSP) and commercial kits prepared by the Heidelberg Transplant Group (Ruprecht-Karls-University, Heidelberg, Germany).

Data were analyzed statistically by the two-tailed Fisher test. The p values were corrected (pc) according to the number of specificities tested and the number of comparisons made. Differences were considered to be significant when $pc \leq 0.05$. The relative risk (RR) and the etiologic fraction (EF) or preventive fraction (PF) were also calculated.

Results

Of the 38 patients evaluated by quantitative tomographic analysis, 13 were classified as having the myogenic subtype (with muscle increase) and 25 as having the non-myogenic subtype (with increased orbital fat). The distribution of the areas of orbital fat and of MEO for the patients is illustrated in Figure 3.

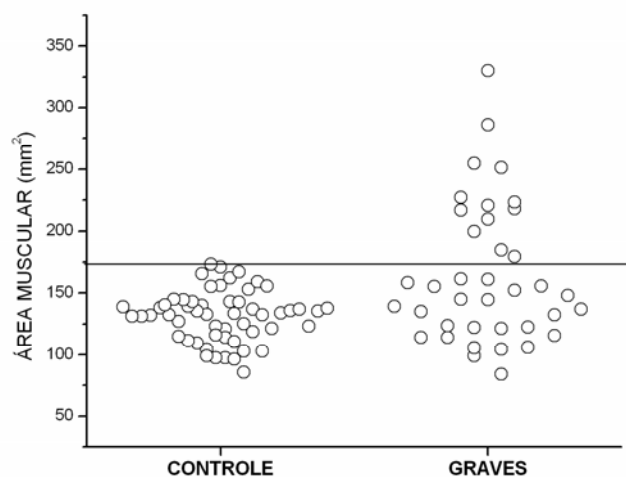


Figure 3. Distribution of the muscle areas of the control group and of the patients with Graves' orbitopathy. The line indicates the mean plus 2 standard deviations for the distribution of the control group. The 13 patients above the line were classified as having the myogenic subtype.

The frequencies of the HLA class II alleles detected in the study groups, with uncorrected p values, are shown in Table 1.

Table 1. Frequency of HLA class II alleles in patients with Graves' orbitopathy (group 1), myogenic subtype (group 2) and non-myogenic subtype (group 3) and controls (group 4).

HLA	Group 1 n=38	Group 2 n=13	Group 3 n=25	Group 4 n=161	Uncorrected p-values		
					1x4	2x4	3x4
DRB1*01	8 (21,0)	2 (15,4)	6 (24)	24 (14,9)	ns	ns	ns
DRB1*15	8 (21,0)	1 (7,7)	7 (28)	33 (20,5)	ns	ns	ns
DRB1*16	8 (21,0)	6 (46,1)	2 (8)	13 (8,1)	0,03	0,0008	ns
DRB1*03	15 (39,5)	2 (15,4)	13 (52)	42 (26,1)	ns	ns	0,016
DRB1*04	34 (10,5)	3 (23,1)	1 (4)	39 (24,2)	ns	ns	0,04
DRB1*07	5 (13,2)	1 (7,7)	4 (16)	27 (16,8)	ns	ns	ns
DRB1*08	5 (13,2)	0 (0)	5 (20)	20 (12,4)	ns	ns	ns
DRB1*09	0 (0)	0 (0)	0 (0)	7 (4,3)	ns	ns	ns
DRB1*10	1 (2,6)	1 (7,7)	0 (0)	5 (3,1)	ns	ns	ns
DRB1*11	9 (23,7)	5 (38,5)	4 (16)	44 (27,3)	ns	ns	ns
DRB1*12	0 (0)	0 (0)	0 (0)	6 (3,7)	ns	ns	ns
DRB1*13	5 (13,2)	2 (15,4)	3 (12)	46 (28,6)	ns	ns	ns
DRB1*14	3 (7,9)	2 (15,4)	1 (4)	15 (9,3)	ns	ns	ns
DQB1*05	14 (36,8)	7 (53,8)	7 (28)	60 (37,3)	ns	ns	ns
DQB1*06	12 (31,6)	4 (30,8)	8 (32)	65 (40,4)	ns	ns	ns
DQB1*02	18 (47,4)	3 (23,1)	15 (60)	63 (39,1)	ns	ns	ns
DQB1*03	13 (34,2)	6 (46,1)	7 (28)	94 (58,4)	0,01	ns	0,008
DQB1*04	3 (7,9)	0 (0)	3 (12)	23 (14,3)	ns	ns	ns

Considering all patients with GO (Group 1), the subtype HLA DRB1*16 was more frequent in them than in controls. In the other hand, the frequency of the allele HLA DQB1*03 is higher in controls. When compared the Groups 3 and 4, there was differences in the frequencies of the subtypes HLADRB1*03 (susceptibility) and HLA DRB1*04 and HLA DQB1*03 (protection). Nevertheless, when the p values were corrected, significant differences were obtained only for HLA DRB1*16 in the myogenic subtype, which was significantly higher compared to control group ($pc = 0.0272$), with an OR of 9.76 and EF of 0.41.

Discussion

Predisposition to the development of GO has been reported for some populations. Ohtsuka & Nakamura¹² observed predisposition to the severe forms of GO in Japanese patients, excluding patients who did not present muscular increase, associated with the HLA-DR14 and DQ1 (DQ5 and DQ6) antigens.

In a study on Polish patients, Bednarczyk et al.¹³ showed the association of GO with HLA-DRB1*03, in the presence of TNF g-238 (an allele of the promoter region of TNF). In their study, these investigators considered all patients with GO who had proptosis, muscle involvement, corneal changes, or optic neuropathy (Werner Classification).

In a recent study conducted on Brazilian patients, Akaishi¹⁴ evaluated 51 patients with GO with the myogenic and non-myogenic subtype of the disease and analyzed the

HLA alleles and the TNF microsatellites. The authors showed that susceptibility to the myogenic subtype was related to HLA-DRB1*16 (RR = 6.027) and TNFb3 (RR = 2.743).

In the present study, when patients with GO were compared with population controls, the HLA-DRB1*16 subtype was found to be more frequent in patients with GO and the HLA-DQB1*03 was found to be more frequent in the controls. However, statistical significance did not persist when the data were corrected for the number of specificities tested. When the myogenic subtype was compared to the population control, the HLA-DRB1*16 allele was detected in 46.15% of the patients, as opposed to 8.08% of the controls ($p = 0.0008$, $pc = 0.0272$, $OR = 9.76$, $EF = 0.41$; $RA = 89$), confirming the data reported by Akaishi¹⁴. This indicates that individuals carrying this allele have a 9.76% higher chance of developing the myogenic subtype of GO than individuals who do not carry it.

Conclusion : The HLA DRB1*16 allele is associated with predisposition to the myogenic subtype of Graves' orbitopathy, a result confirming data obtained in a previous study.

Acknowledgments

Research supported by CAPES.

References

- 1 - BARTLEY GB, GORMAN CA. "Diagnostic criteria for Graves' ophthalmopathy". *Am J Ophthalmol* **119**(6):792-5, 1995.
- 2 - BURCH HB, WARTOFSKY L. "Graves' ophthalmopathy: current concepts regarding pathogenesis and management". *Endocr Rev* **14**(6):747-93, 1993.
- 3 - NUNERY WR. "Ophthalmic Graves'disease. A dual theory of pathogenesis". *Ophthalmology Clinics of North America* **4**:73-87, 1991.
- 4 - SMITH TJ, KOUMAS L, GAGNON A, BELL A, SEMPOWSKI GD, PHIPPS RP, *et al.* "Orbital fibroblast heterogeneity may determine the clinical presentation of thyroid-associated ophthalmopathy". *J Clin Endocrinol Metab* **87**(1):385-92, 2002.
- 5 - KOUMAS L, SMITH TJ, PHIPPS RP. "Fibroblast subsets in the human orbit: Thy-1+ and Thy-1- subpopulations exhibit distinct phenotypes". *Eur J Immunol* **32**(2):477-85, 2002.
- 6 - BARTLEY GB, FATOURECHI V, KADRMAS EF, JACOBSEN SJ, ILSTRUP DM, GARRITY JA, *et al.* "Chronology of Graves' ophthalmopathy in an incidence cohort". *Am J Ophthalmol* **121**(4):426-34, 1996.
- 7 - BAHN RS, DUTTON CM, NATT N, JOBA W, SPITZWEG C, HEUFELDER AE. "Thyrotropin receptor expression in Graves' orbital adipose/connective tissues: potential autoantigen in Graves' ophthalmopathy". *J Clin Endocrinol Metab* **83**(3):998-1002, 1998.
- 8 - BAHN RS. "Clinical review 157: Pathophysiology of Graves' ophthalmopathy: the cycle of disease". *J Clin Endocrinol Metab* **88**(5):1939-46, 2003.
- 9 - RATNASINGAM, GOUGH. "Genetics of Graves' disease". In: Dutton JJ, Haik BG, eds. *Thyroid Eye Disease Diagnostic and Treatment*. New York: Marcel Dekker, Inc.:113-25, 2002.
- 10 - ORHAN Y, AZEZLI A, CARIN M, ARAL F, SENCER E, MOLVALILAR S. "Human lymphocyte antigens (HLA) and Graves' disease in Turkey". *J Clin Immunol* **13**(5):339-43, 1993.
- 11 - MACIEL LMZ, RODRIGUES SS, DIBBERN RS, NAVARRO PAA, DONADI EA. "Association of the HLA-DRB1*0301 and HLA-DQA1*0501 alleles with Graves' disease in a

population representing the gene contribution from several ethnic backgrounds". Thyroid **11**(1):31-5, 2001.

12 - OHTSUKA K, NAKAMURA Y. "Human leukocyte antigens associated with hyperthyroid Graves ophthalmology in Japanese patients". Am J Ophthalmol **126**(6):805-10, 1998.

13 - BEDNARCZUK T, HIROMATSU Y, SEKI N, PLOSKI R, FUKUTANI T, KURYLOWICZ A, *et al.* "Association of tumor necrosis factor and human leukocyte antigen DRB1 alleles with Graves' ophthalmopathy". Hum Immunol **65**(6):632-9, 2004.

14 - AKAISHI, PMS. "Subtipos da Orbitopatia de Graves. Análise tomográfica quantitativa e associação com marcadores de suscetibilidade genética". Tese de Doutorado. Departamento de Oftalmologia, Otorrinolaringologia e Cirurgia de Cabeça e Pescoço, FMRP - USP. Ribeirão Preto: 2005.

Livros Grátis

(<http://www.livrosgratis.com.br>)

Milhares de Livros para Download:

[Baixar livros de Administração](#)

[Baixar livros de Agronomia](#)

[Baixar livros de Arquitetura](#)

[Baixar livros de Artes](#)

[Baixar livros de Astronomia](#)

[Baixar livros de Biologia Geral](#)

[Baixar livros de Ciência da Computação](#)

[Baixar livros de Ciência da Informação](#)

[Baixar livros de Ciência Política](#)

[Baixar livros de Ciências da Saúde](#)

[Baixar livros de Comunicação](#)

[Baixar livros do Conselho Nacional de Educação - CNE](#)

[Baixar livros de Defesa civil](#)

[Baixar livros de Direito](#)

[Baixar livros de Direitos humanos](#)

[Baixar livros de Economia](#)

[Baixar livros de Economia Doméstica](#)

[Baixar livros de Educação](#)

[Baixar livros de Educação - Trânsito](#)

[Baixar livros de Educação Física](#)

[Baixar livros de Engenharia Aeroespacial](#)

[Baixar livros de Farmácia](#)

[Baixar livros de Filosofia](#)

[Baixar livros de Física](#)

[Baixar livros de Geociências](#)

[Baixar livros de Geografia](#)

[Baixar livros de História](#)

[Baixar livros de Línguas](#)

[Baixar livros de Literatura](#)
[Baixar livros de Literatura de Cordel](#)
[Baixar livros de Literatura Infantil](#)
[Baixar livros de Matemática](#)
[Baixar livros de Medicina](#)
[Baixar livros de Medicina Veterinária](#)
[Baixar livros de Meio Ambiente](#)
[Baixar livros de Meteorologia](#)
[Baixar Monografias e TCC](#)
[Baixar livros Multidisciplinar](#)
[Baixar livros de Música](#)
[Baixar livros de Psicologia](#)
[Baixar livros de Química](#)
[Baixar livros de Saúde Coletiva](#)
[Baixar livros de Serviço Social](#)
[Baixar livros de Sociologia](#)
[Baixar livros de Teologia](#)
[Baixar livros de Trabalho](#)
[Baixar livros de Turismo](#)