

# ERG e AgS em filhos de pacientes com retinose pigmentar<sup>1</sup>

Augusta Neves Tamiozo<sup>2</sup>; Hilton Rocha<sup>3</sup>; Elisabete Ribeiro Gonçalves<sup>4</sup>;  
Lucyr Jones Antunes<sup>5</sup>

## I — HIPÓTESE DE TRABALHO

Como, de acordo com os trabalhos de **ROCHA & ANTUNES**, pretende-se incluir a Retinose pigmentar entre as doenças de auto-agressão, sendo o antígeno retiniano solúvel (AgS) o responsável, surgiu naturalmente a linha terapêutica através de imunomoduladores ou imunodepressores.

Acontece que os pacientes que nos chegam sempre em fase avançada da enfermidade, a permitir sem dúvida a comprovação imunológica, mas dificilmente se podendo aferir o resultado da terapêutica.

Ocorre-nos então, aliás já com lastro em outros autores, tentar rastrear a enfermidade em seu nascedouro, antes mesmo que conspícuas manifestações clínicas estejam presentes. Em outras palavras, buscamos verificar como os descendentes de portadores da Retinose pigmentar se comportam, em face do ERG e do AgS, na crença de que poderemos, através desses meios, identificar mui precocemente o mal, abrindo-se assim, mais válidas perspectivas terapêuticas.

A nossa hipótese de trabalho é, pois, o estudo comparativo entre Eletrorretinograma e pesquisa de sensibilidade ao antígeno retiniano solúvel (AgS), em filhos de portadores de Retinose pigmentar.

## II — REVISÃO DA LITERATURA

Procuramos sintetizar neste capítulo, os trabalhos existentes na literatura sobre o assunto.

Achamos melhor focalizar inicialmente, os que tratam das prováveis etiologias genéticas e imunológicas para depois nos referirmos à Eletrorretinografia.

O termo Retinose pigmentar foi introduzido na literatura por **DONDERS** em 1855<sup>3</sup>.

É definida como sendo uma doença de etiologia ainda não bem definida, mas com

tendência hereditária, caracterizada por um curso crônico e progressivo, em que o sistema de bastonetes é o primeiro a ser afetado e o sistema de cones o é em etapas posteriores.

Vários autores têm proposto uma etiologia genética para a Retinose pigmentar. Em 1958, **FRANÇOIS**<sup>19</sup> e **von GRAEF**<sup>15</sup>, levantaram a hipótese de uma natureza genética para a doença, e **LIEBREICH** (1861) estudou a prevalência da consanguineidade entre as famílias.

Em 1963, **FRANCESCHETTI et alii**<sup>20</sup> apresentaram novos estudos genéticos nas degenerações heredogenerativas retinianas, sendo seguidos por vários autores.

Essa diversidade de padrões hereditários da doença leva a divergências classificatórias, isto porque é dito que a Retinose pigmentar tem um componente hereditário com diversas variantes genéticas. A Retinose pigmentar é classificada em 3 (três) formas genéticas: autossômica recessiva (a mais frequente), autossômica dominante e ligada ao sexo.

Vários são os autores que defendem a origem imunológica ou pelo menos a imunogenética.

**GOWER** em 1902, criou o termo "abiotrofia", mas foi **COLLINS** (1919) quem o introduziu em oftalmologia no seu estudo de Retinose pigmentar, afirmando que a "Retinose pigmentar seria uma abiotrofia do neuroepitélio retiniano" e que "essa abiotrofia ou senescência precoce era consequência de uma fragilidade nata ou herdada"<sup>11</sup>.

**HESS** e **ROMER** (1906) sugeriram, pela primeira vez, ser a retina de origem antigênica e, em 1944, **BURKE et alii**, demonstraram alterações na retina sensorial e epitélio pigmentar, após injetarem antígeno em embrião de porco, confirmando a origem imunológica proposta anteriormente por **HESS**<sup>43</sup>.

**FESSEL**, em 1962, encontrou nos pacientes portadores de Retinose pigmentar uma

<sup>1</sup> Trabalho elaborado no Instituto Hilton Rocha (IHR) — Belo Horizonte (MG).

<sup>2</sup> Ex-residente do Instituto Hilton Rocha.

<sup>3</sup> Prof. Emérito da Clínica Oftalmológica da Faculdade de Medicina da UFMG e Diretor-Presidente do IHR.

<sup>4</sup> Chefe do Serviço de Eletrofisiologia ocular, Assistente do Serviço de Vítreo-Retina e Coordenador de Pós-graduação do IHR e FHR.

<sup>5</sup> Assistente de Imunologia da Faculdade de Medicina da UFMG e Imunologista do IHR.

percentagem de 40% de altos títulos de fator reumatoide e 60% de IgM elevada<sup>18</sup>.

De acordo com FRANCESCETTI et alii (1963), a Retinose pigmentar resultaria de distúrbios metabólicos ao nível da retina sensorial, devido principalmente à alterações enzimáticas, que causariam inicialmente lesão na camada de cones e bastonetes e posteriormente no epitélio pigmentar<sup>20</sup>.

A natureza uveitogênica da retina foi primeiro suspeitada por WACKER e LIPTON em 1964 em cobaias, e posteriormente confirmada em coelhos (WACKER/LIPTON — 1968) e em macacos (LAERNER et alii — 1968). Esses autores trabalhando com extratos retinianos, sugeriram a presença de duas substâncias antigênicas, uma solúvel (AgS) e outra insolúvel (AgP), responsáveis pelas reações imunes em cobaias, e que, uma dessas substâncias (AgS), estaria localizada na porção externa dos fotorreceptores retinianos.

RAHI em 1970 e 1973, também verificou a presença de altos títulos de IgM em casos de Retinose, sugerindo um processo auto-imune da doença<sup>44</sup>.

Conforme se registra na bibliografia de ROCHA & ANTUNES, desde 1973, ROCHA teve a concepção de que a Retinose pigmentar poderia ser uma auto-agressão. E, a partir daí, uma série de trabalhos e de conferências por ele tem sido realizadas, defendendo suas idéias, que poderemos considerar pioneira, isto porque alguns trabalhos anteriores haviam apenas tangenciado o tema, sem caracterizar a hipótese autoimune<sup>46</sup>.

A idéia de ROCHA & ANTUNES surgiu, em virtude da observação de alguns casos de uveíte binocular (coriorretinite difusa), que evoluíram para uma Retinose pigmentar, com as características de primária<sup>49</sup>.

ROCHA & ANTUNES prosseguem nas pesquisas clínicas e imunológicas, que vão robustecendo a hipótese original, e que, naturalmente, os levou à linha terapêutica oscilante entre imunomodulação e imunodepressão.

CHAR em 1974 testou 20 pacientes com RP e comparou-os com um grupo controle; pesquisou a imunidade celular contra células de cultura de tecidos derivados de retinoblastoma, melanoma e carcinoma. Verificou que, 17 dos 20 pacientes, mostravam maior citotoxicidade contra as células da linhagem de retinoblastoma (o que não ocorreu com o grupo controle) e não mostravam citotoxicidade contra células do melanoma e carcinoma<sup>10</sup>.

BRINKMAN et alii em 1980, encontraram um aumento de IgM no soro de pacien-

tes com Retinose pigmentar sugerindo o envolvimento da autoimunidade na doença<sup>6</sup>.

Em 1981, HEREDIA et alii, estudando o soro de 54 pacientes portadores de Retinose pigmentar, observaram que havia uma redução de LTa e LTs<sup>25</sup>.

Em 1983, esses mesmos autores pesquisaram imunocomplexos circulantes em 30 pacientes com Retinose, e encontraram níveis variáveis de imunocomplexos circulantes (ICC) e redução das frações C3 e C4, aumentando ainda mais a possibilidade de autoimunidade<sup>26,27</sup>.

Nesse mesmo ano (1983), HOOKS, estudando linfócitos de pacientes com Retinose pigmentar, verificou que havia uma dificuldade desses linfócitos em produzir as linfoquinas e interferon-gama. O interferon-gama, como sabemos, promove uma variedade de funções, incluindo uma atividade antiviral e imunorreguladora<sup>31</sup>.

KUMAR et alii, em 1983, estudaram 25 casos de Retinose pigmentar pela técnica de contagem de rosáceas, para estudar os linfócitos, testes cutâneos (cândida, PPD, DNCB), e pesquisaram anticorpos anti-retinianos pela técnica de hemaglutinação, verificando que a imunidade celular estava significativamente deprimida e os anticorpos anti-retinianos estavam presentes em 60% dos casos. Concluíram que a Retinose pigmentar é geneticamente determinada, mas os pacientes desenvolvem uma imunidade celular<sup>34</sup>.

DUKE ELDER e YANOFF<sup>15,60</sup> descrevem que o fator primordial da patogênese da Retinose pigmentar é uma degeneração progressiva do neuroepitélio retiniano, acometendo primariamente os bastonetes e secundariamente os cones, seguindo-se uma atrofia geral de toda a retina. Os vasos retinianos mostram alterações tróficas com espessamento hialino de suas paredes, resultando em redução de seus calibres. Até um período avançado da doença, a camada de células ganglionares e a camada de fibras nervosas podem permanecer sem alterações, resultando fundoscópicamente em uma papila óptica praticamente normal.

Com a evolução do processo, essas duas camadas sofrem atrofia e a retina vai sendo substituída por proliferação glial e despigmentação do epitélio pigmentar, por migração dos pigmentos para dentro da retina onde são vistos oftalmoscopicamente.

No diagnóstico da Retinose pigmentar, além do campo visual e quadro oftalmoscópico clássico de palidez papilar, atenuação vascular e presença de pigmentos de formas variadas na média periferia, o eletrorretinograma (ERG) é importante, não só para di-

ferenciar a forma primária da secundária, como também para detectar precocemente a doença.

Em 1865 HOLMGREN<sup>30</sup> registra variações do potencial elétrico ocular após a ação da luz sobre o olho e nomeia o fenômeno de "corrente retiniana", "corrente de iluminação" ou "potencial de ação".

No início deste século, esse "potencial de ação" recebe nova terminologia — Eletroretinograma — e entra para a rotina do linguajar oftalmológico.

Por definição, Eletroretinograma significa a "onda polifásica retiniana obtida em resposta a um estímulo luminoso"<sup>2</sup>. Eletroretinografia é, portanto, um capítulo dentro da eletrofisiologia ocular que se ocupa do registro e análise da atividade retiniana, quando estimulada pela luz.

Em 1964, BROWN & MURAKAMI<sup>7</sup> descobrem que a primeira manifestação elétrica de um olho foto iluminado não é a onda "a" do ERG, mas um potencial mais precoce, chamado de Potencial receptor precoce (PRP). Sua latência é inferior a 1useg. O PRP é formado por uma onda inicial R1, positiva e por uma onda R2, negativa, mais ampla e mais lenta. Para obtermos o PRP, devemos utilizar um estímulo extremamente breve e intenso, cerca de 10.000 vezes mais forte que a estimulação habitualmente usada em eletroretinografia. O PRP mantém estreita relação com a destruição das moléculas de pigmento visual sob ação da luz. O PRP tem origem no deslocamento brutal das cargas elétricas distribuídas sobre a proteína do pigmento visual durante o processo de fotólise. A formação da metarodopsina I (ou de seu equivalente nos cones) originaria a onda R1 do PRP, enquanto que a formação da metarodopsina II (ou de seu equivalente nos cones) seria responsável por R2<sup>12</sup>. Fig. 1.

Didaticamente, podemos reunir os diversos "potenciais retinianos" como se segue:

- 1) **Potencial de repouso — Electrooculograma (EOG)**  
Obtido com o olho em repouso sensorial, isto é, sem estimulação retiniana.
- 2) **Potencial de ação:**
  - a) Precoce: potencial receptor precoce (PRP)
  - b) Tardio: Eletroretinograma (ERG)  
Obtidos com a estimulação luminosa do olho.

De maneira geral, a semiologia retiniana é variável segundo a forma dos tracados. Intervêm elementos temporais (latência, culminância, duração, frequência crítica de fusão) e bio-elétricos (medida da amplitude

em micro-volts). Um estímulo breve e isolado originará o ERG padrão (fig. 2).

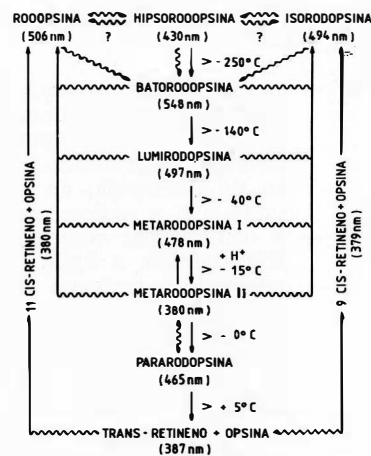


Fig. 1 — Ciclo dos pigmentos visuais. As reações fotoquímicas estão simbolizadas por linhas onduladas e as reações térmicas por linhas retas.

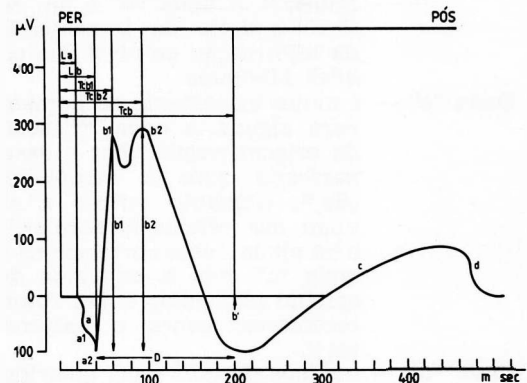


Fig. 2 — Eletroretinograma padrão.

Na fig. 2 observamos que, de início desenvolve-se uma onda negativa, onda "a", de baixa amplitude; segue-se uma deflexão positiva, onda "b", de amplitude bem mais acentuada; logo após, o traçado exhibe outra onda eletronegativa, onda "b", a qual, supõe-se, corresponde ao registro do reflexo fotomotor. Em seguida, o traçado se torna novamente eletropositivo, onda "c", após a qual temos a deflexão terminal, onda "d" ou "pós-efeito". As ondas "a" e "b" podem se desdobrar em "a1" e "a2" e em "b1" e "b2", respectivamente, o que tem um nítido significado funcional. A onda "a1" é o componente fotópico da "a" enquanto "a2" é o seu componente escotópico. A onda "b1"

ou "x" é o componente fotópico de "b" e "b2" é o seu componente escotópico.

#### Origem e significado dos diversos componentes do ERG:

**Onda "a"** — representa a resposta dos fotorreceptores à estimulação luminosa, especificamente dos seus artículos internos. No curso da adaptação ao escuro, a onda "a2" é maior que "a1"<sup>2</sup>.

**Onda "b"** — é o principal componente do ERG clínico. A onda "b1" corresponde à resposta dos cones e a onda "b2" à dos bastonetes. A onda "b" parece representar um fenômeno de despolarização ao nível das células de Müller. Ela não tem nenhuma relação com a transmissão do influxo nervoso ao nervo óptico. Elas se originam (b1 e b2) nas células gliais e, mais particularmente, nas células de Müller<sup>32</sup>. A onda "b" é um reflexo indireto da transmissão da informação ao nível das células bipolares.

**Onda "c"** — é muito inconstante no homem. Para alguns, a onda "c" seria de origem pupilo-ciliar e desapareceria após a atropinização<sup>42</sup>, enquanto outros a situam nas células amácrinas<sup>32</sup>, e há ainda quem correlacione a onda "c" com a atividade do epitélio pigmentar e dos fotorreceptores, cones e bastonetes<sup>14</sup>.

**Onda "d"** — ou "pós-efeito" — sua polaridade depende do tipo de retina: negativa nas retinas de bastonetes e positiva nas retinas de cones. No homem, a onda "d" é negativa se usamos estímulos fracos, e positiva com estímulos fortes<sup>4</sup>. Praticamente sem nenhum interesse clínico, aparece após cessação do estímulo luminoso.

Podemos ainda, em determinadas condições identificar na ERG os chamados "potenciais oscilatórios", ondas "h" ou ondas "o". Esses potenciais oscilatórios são de dois tipos:

1) **Potenciais oscilatórios rápidos ou ondas "e" (POR)** — são ondas sinusoidais, em número de 4 a 5 no escuro e de 3 a 4 na adaptação à luz. Os POR dependem

da atividade das células amácrinas, à exceção do primeiro<sup>30</sup>, que dependeria das células horizontais ou que resultaria, simplesmente, da interação entre a onda "a" e o início da onda "b"<sup>56</sup>. Essas ondas sinusoidais estão ligadas à fenômenos de excitação e são, provavelmente, transmitidas ao nervo óptico.

2) **Potenciais oscilatórios tardios (POT)** — em condições fotópicas, b1 é seguida de 2 a 3 oscilações com frequência entre 20 a 25 ciclos/seg. Esses potenciais são provavelmente de origem fotópica, pois estão ausentes na acromatopsia e presentes nos comprometimentos retinianos periféricos (hemeralopia e algumas formas de DTR).

Na retina podemos identificar um sistema fotópico, mediado pelos cones e um sistema escotópico, mediado pelos bastonetes. Os cones são sensíveis a estímulos luminosos fortes e de grande comprimento de onda, particularmente o vermelho<sup>22</sup>.

Para identificar esses dois sistemas, normalmente existem duas técnicas:

1) ERG dinâmico — fazemos a estimulação retiniana em níveis de adaptação diferentes: adaptação à luz (ERG fotópico) e adaptação ao escuro (ERG escotópico).

2) ERG estático — aqui estimulamos a retina com estímulos monocromáticos de diferentes comprimentos de ondas (filtros interferenciais):

a) A resposta dos cones (a1 e b1) é obtida com estímulo vermelho (651 nm), de intensidade máxima, em ambiente fotópico: é o ERG macular fotópico.

b) A resposta dos bastonetes (a2 e b2) obtemos com filtro azul (446 nm) em ambiente escotópico.

c) O estímulo branco, de máxima intensidade e em ambiente escotópico, origina uma resposta dependente tanto de cones como de bastonetes (resposta global).

d) O estímulo laranja faz aparecer b1 e b2 muito nítidas<sup>6</sup>.

A dualidade funcional da retina pode ser claramente ilustrada na fig. 3 que representa, esquematicamente, a curva adaptométrica e o ERG correspondente aos diferentes estádios dessa adaptação<sup>7</sup>.

Na fig. 3, o ERG registrado nos primeiros minutos de adaptação (segmento fotópico da curva adaptométrica) mostra as respostas fotópicas (a1 e b1) maiores que as respostas escotópicas (a2 e b2). A altura do

ponto alfa da curva adaptométrica, onde há um equilíbrio dos sistemas fotópico (cones) e escotópico (bastonetes), as ondas fotópicas ( $a_1$  e  $b_1$ ) têm a mesma amplitude das ondas escotópicas ( $a_2$  e  $b_2$ ). A medida que a adaptação prossegue, há uma inibição progressiva do sistema fotópico, e, em contrapartida, uma ativação do sistema escotópico. Nessas condições, os componentes fotópicos ( $a_1$  e  $b_1$ ) perdem em amplitude para os componentes escotópicos do ERG ( $a_2$  e  $b_2$ ). Ao final da adaptação ao escuro (em torno de 45 minutos), fica difícil a separação da onda "b" em  $b_1$  e  $b_2$ , temos a onda "b" monofásica.

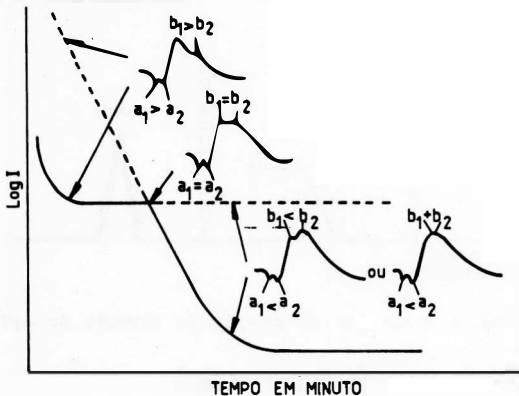


Fig. 3 — Comparação entre curva adaptométrica e ERG.

A propedêutica eletrofisiológica da Retinose pigmentar vai nos possibilitar:

- 1) confirmar um diagnóstico.
- 2) classificar certas formas com poucas evidências clínicas.
- 3) fazer uma idéia sobre a evolução da doença, isto é, sobre seu prognóstico.
- 4) examinar ascendentes e descendentes, visando não só caracterizar a forma genética, essencial para o aconselhamento, mas também o diagnóstico precoce, na ausência de manifestações fundoscópicas.

Possibilidades essas que podemos assim sintetizar:

- 1) ERG na forma típica recessiva — há um retardo do tempo de culminação e diminuição da amplitude de  $b_2$  e, mais tardiamente, de  $b_1$ . Com a evolução da Retinose, a resposta escotópica se extingue. As alterações do ERG são precoces e antecedem as manifestações fundoscópicas, perimétricas e adaptométricas. Inicialmente temos, então, uma síndrome escotópica, isto é, comprometimento seletivo do sistema escotópico bastone-

tes). Com o passar do tempo, também o sistema fotópico (cones) é comprometido, configurando a síndrome mista.

- 2) Nas formas dominantes — a resposta escotópica, embora de menor amplitude, persiste durante muito tempo. Nesses casos, o ERG é subnormal, jamais extinto<sup>32</sup>.
- 3) O tempo de culminação de  $b_2$  ( $b$  escotópica) está aumentado em todos os casos de Retinose pigmentar, qualquer que seja o modo de transmissão<sup>3</sup>: herança autossômica dominante com penetrância completa ou incompleta, herança autossômica recessiva ou herança ligada ao sexo.

A resposta escotópica é sempre de baixa amplitude. Quanto à resposta dos cones, o tempo de culminação da onda  $b_1$  está igualmente aumentado, salvo nas Retinoses pigmentares dominantes com penetrância completa. A resposta fotópica tem sempre sua amplitude reduzida nos casos recessivos. Nos casos dominantes, a amplitude da resposta pode ser normal. O aumento do tempo de culminação da onda "b" do ERG, pode ser considerado como um "índice de extensão" da lesão retiniana, frequentemente indicando a presença de uma disfunção generalizada e progressiva.

- 4) O exame dos descendentes e ascendentes permite classificar as retinoses em formas recessivas (90%), formas dominantes (5%) e formas ligadas ao sexo (1%). O ERG detecta enfim, os portadores dos gens<sup>32</sup>.

### III — MATERIAL E MÉTODOS

Realizamos a presente pesquisa em 20 pacientes filhos de portadores de Retinose pigmentar, examinados no Instituto Hilton Rocha. Todos foram submetidos a exame oftalmológico completo com oftalmoscopia binocular indireta (Schepens), Eletrorretinografia e pesquisa imunológica de antígeno retiniano solúvel (AgS): teste cutâneo, pesquisa de anticorpos anti-úvea (U) e anti-retina (S) por técnica de hemaglutinação e Teste de inibição da aderência dos leucócitos (LAI-S).

Os resultados desses exames foram comparados com os de 20 (vinte) pacientes normais do ponto de vista oftalmoscópico e sem história de Retinose pigmentar na família (grupo controle).

#### Preparo do AgS

O antígeno S ou antígeno retiniano solúvel é encontrado na camada externa dos

fotorreceptores retinianos. É obtido de retinas de boi, homogeneizadas no menor volume possível de tampão fosfato (pH 7.2, 0,05 M).

Esse homogeneizado é centrifugado à 4.000 rpm durante 30 minutos e o sobrenadante separado. Ao sobrenadante, mistura-se igual volume de solução saturada de sulfato de amônio e deixa-se sedimentar à temperatura de 4°C durante 24 horas.

Faz-se nova centrifugação a 7.000 rpm durante 30 minutos.

O precipitado obtido é dissolvido em 20 ml de tampão fosfato e dialisado contra água destilada e solução salina tamponada. Esse dialisado é concentrado por liofilização e em seguida submetido à cromatografia em Sephadex G200.

No primeiro pico é excluída a grande maioria das proteínas retinianas e é no segundo pico que está localizado o AgS. Este antígeno S é em seguida concentrado por liofilização para sua posterior utilização nos testes. (fig. 4-5-6).

Nas figuras 4, 5 e 6 vemos as diversas fases do preparo do AgS:

- 1) Obtenção do extrato retiniano a partir do macerado de retina que é centrifugado e adicionado de tampão. O sobrenadante é precipitado com sulfato de amônio e o sedimento é centrifugado com tampão, restando o extrato solúvel, onde se situa o AgS (fig. 4).

#### OBTENÇÃO do EXTRATO

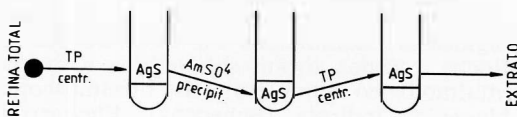


Fig. 4 — 1.ª fase do preparo do AgS.

- 2) O extrato retiniano obtido na 1.ª fase é submetido à coluna de SEPHADEX G200, onde é separado em diferentes picos; o primeiro é o chamado "pico de exclusão" referente às proteínas de maior PM e o segundo pico será o AgS impuro (fig. 5).
- 3) consiste na purificação do AgS, isto é, do AgS impuro, serão removidas proteínas à custa do tampão  $\text{KH}_2\text{PO}_4$ , em concentrações crescentes, em coluna de Hidroxi-apatita. (fig. 6).

#### ISOLAMENTO AgS (SEPHADEX G 200)

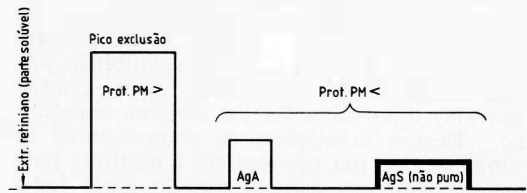


Fig. 5 — 2.ª fase do processo de obtenção do AgS.

#### PURIFICAÇÃO do AgS

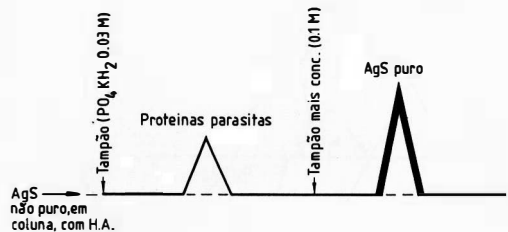


Fig. 6 — 3.ª fase do processo de obtenção do AgS.

#### Teste intradérmico com AgS

Um volume de 0,1 ml da solução do AgS contendo 10  $\mu\text{g.}$ , foi injetado por via intradérmica na face ventral do ante-braço. A leitura foi feita medindo-se a endureção que se formou após um período de 24 horas.

#### Determinação do título de anticorpos (U-S)

Usamos o método de GOLD e FUNDENBERG, que consiste na preparação de uma suspensão de hemácias humanas do grupo "O" Rh negativo a 5%, em solução de cloreto de sódio a 0,85 gr%.

Mistura-se igual volume de hemácias e de cloreto crômico durante 1 minuto e em seguida acrescenta-se igual volume de antígeno (úvea ou retina).

Incubamos durante 5 minutos à temperatura ambiente. As hemácias sensibilizadas são centrifugadas e o "pellet" ressuspenso a 2,5% em cloreto de sódio a 0,85 gr%.

Os sôros dos pacientes foram inativados a 56°C durante 30 minutos e diluídos em cloreto de sódio 0,85 gr% a 1:10, 1:20, 1:40, 1:80 e 1:160 num volume final de 0,5 ml. Quando utilizamos o plasma, não fizemos o aquecimento e a salina utilizada continha EDTA suficiente para inibir o sistema do complemento.

As diluições do soro e plasma foram adicionadas duas gotas de hemácias sensibilizadas. Os tubos foram deixados em repouso e a leitura dos títulos feita 24 horas após, considerando os padrões ou as aglutinações visíveis no fundo dos tubos, conforme o esquema da fig. 7.

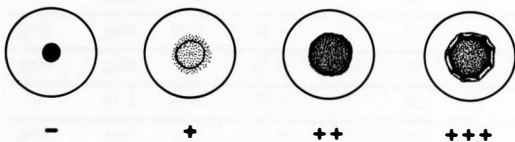


Fig. 7 — Leitura do título de anticorpos contra úvea e retina.

A fig. 7 representa esquematicamente os fundos dos tubos na pesquisa de anticorpos anti-úvea e anti-retina (U e S) em que vemos os vários padrões de hemaglutinações: reação negativa: simples botão hemático reações positivas: aglutinados granulados de intensidades crescentes (+, ++ e +++).

#### LAI (inibição da aderência dos leucócitos)

Utilizamos uma modificação da técnica de HALLADAY, que consiste na utilização da "câmara de Terasaky" como suporte dos leucócitos, em lugar da "câmara contaglóbulos".

Após colher 10 ml de sangue (contendo anticoagulante) de cada paciente, deixamos sedimentar por aproximadamente 2 horas, para separar o plasma do soro.

Retiramos o plasma, colocando-o em tubos e centrifugamos durante 10 minutos em baixa rotação. Retiramos o sobrenadante e ficamos com os leucócitos sedimentados.

Os leucócitos desses pacientes são colocados em 6 orifícios da "câmara de Terasaky", sendo que, em 4 orifícios da placa (dos seis) foram colocados 5 µl do antígeno em teste e, em dois orifícios, a solução salina.

As placas são incubadas a 37°C durante 1h e a seguir invertidas com um movimento brusco com a finalidade de se eliminarem as células não aderidas no fundo da placa. Isto porque, quando os leucócitos sensibilizados em presença do antígeno segregam o fator de inibição da aderência dos leucócitos observa-se a diminuição das células no fundo do orifício; e, nos orifícios onde não se usou o antígeno ou naqueles onde não existem leucócitos sensibilizados, observamos maior número de células aderidas no fundo do orifício.

Baseado nisso, foi feita uma graduação arbitrária da intensidade da reação, conforme o esquema da fig. 8: reação negativa e reações positivas (+, ++ e +++).

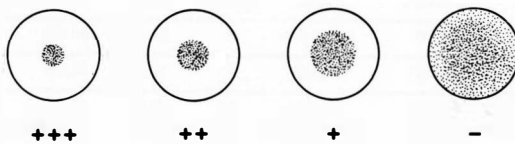


Fig. 8 — Leitura do LAI.

#### Eletrorretinograma (ERG)

O exame eletrorretinográfico dos pacientes foi realizado com o eletrorretinógrafo PANTOPS M2 da Biophysic Medical S.A., constituído de uma unidade de estimulação e uma unidade de processamento e controle.

O aparelho funciona no sistema de estimulação com uma frequência de 4 Hz com flashes de duração de 5 microsegundos. O exame foi feito na seguinte ordem:

- 1) dilatamos a pupila dos pacientes com uma mistura de tropicamida (Midriacyl 1%), fenilefrina a 10% (colírio de fenilefrina) e colírio de atropina a 1%.
- 2) após midríase ampla instilamos colírio anestésico em ambos os olhos (proparacaina 0,5%).
- 3) fazemos limpeza com éter sulfúrico da região frontal e lóbulos das orelhas, untando em seguida com "pasta de condutividade", antes de colocarmos os eletrodos respectivos.
- 4) colocamos as lentes de contacto com os eletrodos em ambos os olhos.
- 5) o paciente senta-se com o queixo e a testa bem apoiados no aparelho e olhando em direção à luz do mesmo. Em crianças de baixa idade, pela impossibilidade de realizar o exame do modo descrito, costumamos fazer o ERG sob anestesia geral (narcose com halotano).
- 6) ligamos o aparelho e iniciamos a estimulação com luz branca, laranja, vermelha e azul, passando a observar o registro do traçado (ERG fotópico e ERG escotópico).

#### IV — RESULTADOS

Os pacientes foram divididos em dois grupos (I e II):

##### I) Grupo controle

Os dados gerais, oftalmológicos, eletrorretinográficos e imunológicos estão representados na tabela I.

**TABELA I**  
Grupo controle

N.º	Nome	Idade	Sexo	AV		FO		ERG		AgS			
				OD	OE	OD	OE	OD	OE	ID	U	S	LAI-S
1	I.S.P.	20 anos	F	20/20	20/20	N	N	N	N	N/R	Neg	Neg	Neg
2	E.C.C.	9 anos	F	20/20	20/20	N	N	N	N	N/R	1:10	Neg	+
3	J.G.N.	8 anos	M	20/20	20/20	N	N	N	N	N/R	1:10	Neg	Neg
4	B.O.B.	15 anos	M	20/20	20/20	N	N	N	N	N/R	1:10	Neg	Neg
5	J.L.G.	10 anos	M	20/20	20/20	N	N	N	N	N/R	Neg	1:10	+
6	J.S.R.	13 anos	F	20/20	20/20	N	N	N	N	N/R	Neg	Neg	Neg
7	V.F.P.	13 anos	F	20/20	20/20	N	N	N	N	N/R	Neg	Neg	Neg
8	S.C.M.	8 anos	F	20/20	20/20	N	N	N	N	N/R	Neg	Neg	+
9	L.H.S.	10 anos	M	20/20	20/20	N	N	N	N	N/R	Neg	Neg	Neg
10	A.C.A.	12 anos	F	20/20	20/20	N	N	N	N	N/R	1:10	1:10	Neg
11	C.L.S.	13 anos	F	20/20	20/20	N	N	N	N	N/R	Neg	Neg	Neg
12	A.N.T.	10 anos	F	20/20	20/20	N	N	N	N	N/R	Neg	Neg	Neg
13	R.S.T.	9 anos	M	20/20	20/20	N	N	N	N	N/R	Neg	Neg	Neg
14	P.E.R.	3 anos	M	20/20	20/20	N	N	N	N	N/R	Neg	Neg	Neg
15	B.S.P.	8 anos	F	20/20	20/20	N	N	N	N	N/R	Neg	Neg	Neg
16	E.R.C.	6 anos	F	20/20	20/20	N	N	N	N	N/R	1:10	Neg	Neg
17	C.F.O.	8 anos	M	20/20	20/20	N	N	N	N	N/R	Neg	Neg	+
18	M.B.N.	10 anos	M	20/20	20/20	N	N	N	N	N/R	Neg	Neg	Neg
19	C.B.F.	9 anos	M	20/20	20/20	N	N	N	N	N/R	Neg	1:10	Neg
20	S.C.T.	4 anos	F	20/20	20/20	N	N	N	N	N/R	Neg	Neg	+

Conforme já mencionamos anteriormente, todos os pacientes do grupo controle não apresentavam alterações fundoscópicas, eletrorretinográficas e nem eram descendentes de portadores de Retinose pigmentar.

Dos 20 pacientes do grupo controle, 11 eram do sexo feminino e 09 do sexo masculino. A faixa etária variou de 08 a 20 anos (média: 10 anos).

## II) Grupo de filhos de portadores de RP

Os dados gerais, oftalmológicos, Eletrorretinográficos e imunológicos estão representados na tabela II.

No grupo de filhos de pacientes com Retinose pigmentar, todos apresentaram exame fundoscópico normal e visão igual a 1 (20/20).

Nesse grupo, 11 eram do sexo masculino e 09 do sexo feminino, com faixa etária de 01 a 18 anos.

Vejamos a seguir os resultados eletroretinográficos e imunológicos:

### 1) Resultados eletrorretinográficos

No grupo controle, todos os pacientes apresentaram Eletrorretinograma normal.

Entre os filhos de portadores de RP, encontramos 10 pacientes com ERG subvoltados, 02 com ERG extintos e 08 com ERG normais (figs. 10, 11 e 12).

### 2) Resultados imunológicos

Consideramos como valores de positividade imunológica os seguintes dados:

- Reação intradérmica: qualquer resultado positivo
- Pesquisa de anticorpos anti-úvea (U) e antiretina (S): títulos iguais ou maiores de 1:20
- LAI-S: títulos iguais ou maiores de duas cruzes.

Nos pacientes do grupo controle (tabela I), a pesquisa do AgS variou dentro dos seguintes padrões:



**TABELA II**  
Filhos de portadores de RP

N.º	Nome	Idade	Sexo	AV		FO		ERG		AgS			
				OD	OE	OD	OE	OD	OE	ID	U	S	LAI-S
1	L.M.M.	3 anos	F	20/20	20/20	N	N	N	N	N/R	1:10	1:40	+
2	T.A.F.	1 ano	F	—	—	N	N	subv.	subv.	N/R	1:10	1:10	Neg
3	H.L.R.	8 anos	M	20/20	20/20	N	N	N	N	N/R	1:10	1:10	+
4	R.L.S.	2 anos	M	20/20	20/20	N	N	ext.	ext.	6 mm	Neg	Neg	+++
5	L.R.P.	1 ano	F	20/20	20/20	N	N	N	N	N/R	1:10	1:20	Neg
6	R.B.R.	7 anos	M	20/20	20/20	N	N	N	N	N/R	1:10	1:10	+
7	F.D.M.	6 anos	M	20/20	20/20	N	N	subv.	ext.	1 mm	1:10	1:10	+
8	W.L.R.	14 anos	F	20/20	20/20	N	N	N	N	N/R	1:10	1:10	Neg
9	R.M.B.	11 anos	M	20/20	20/20	N	N	subv.	subv.	1 mm	1:10	1:20	++
10	R.M.B.	6 anos	M	20/20	20/20	N	N	subv.	subv.	N/R	Neg	1:20	+
11	H.D.O.	6 anos	M	20/20	20/20	N	N	subv.	subv.	1 mm	1:10	1:20	Neg
12	V.R.L.	16 anos	M	20/20	20/20	N	N	N	N	2 mm	1:10	1:10	+
13	K.L.B.	3 anos	M	20/20	20/20	N	N	ext.	ext.	N/R	1:20	1:10	+
14	D.F.R.	2 anos	F	20/20	20/20	N	N	subv.	subv.	N/R	Neg	Neg	Neg
15	B.S.F.	10 anos	F	20/20	20/20	N	N	N	N	N/R	1:10	1:10	Neg
16	R.S.F.	12 anos	F	20/20	20/20	N	N	N	N	N/R	Neg	Neg	+
17	G.M.F.	13 anos	F	20/20	20/20	N	N	subv.	subv.	1 mm	1:10	1:10	Neg
18	M.O.A.	9 anos	M	20/20	20/20	N	N	subv.	subv.	N/R	Neg	Neg	Neg
19	V.A.S.	12 anos	M	20/20	20/20	N	N	subv.	subv.	N/R	Neg	Neg	Neg
20	M.O.A.	18 anos	F	20/20	20/20	N	N	subv.	subv.	N/R	Neg	Neg	Neg

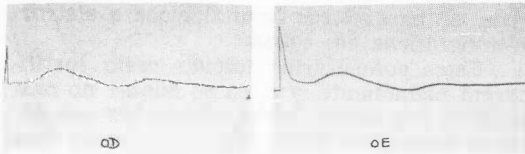


Fig. 10 — ERG subvoltage (paciente T.A.F.).

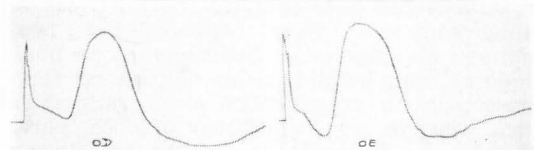


Fig. 12 — ERG Normal (paciente R.B.R.).



Fig. 11 — ERG Extinto (paciente R.L.S.).

Teste intradérmico: não reator (N/R) em todos os casos  
 Anticorpo anti-úvea (U) e anti-retina (S): ou reação negativa ou positiva a 1:10  
 LAI-S: reação negativa ou positiva de uma cruz.

Em pacientes filhos de portadores de RP o AgS variou:  
 Teste intradérmico: desde não reator até reator de 6 mm  
 Anticorpo anti-úvea (U): reação negativa ou positiva até 1:20  
 Anticorpo anti-retina (S): reação negativa até títulos de 1:40  
 LAI-S: de reação negativa até três cruces.

Analisando os resultados imunológicos nos filhos de portadores de RP (tabela II) vemos que:

ID: foi negativo em 14 pacientes; com 1 mm de reação em 04 casos; 2 mm em 01 caso e 6 mm em 01 caso (R.L.S.)

Hemaglutinação para pesquisa de anticorpo, assim se apresentou:

a) com antígeno uveal (U): negativo em 7 casos; positivo a 1:10 em todos os outros casos, com exceção do paciente K.L.B. que apresentou positividade a 1:20

b) com antígeno retiniano (S): foi negativo em 6 casos, positivo a 1:10 em 9 casos; positivo a 1:20 em 4 casos e a 1:40 em 1 caso (L.M.M.)

O teste do LAIS foi negativo em 10 casos; com uma cruz em 7 casos; duas cruzes em 2 casos e três cruzes em 1 caso (R.L.S.).

### 3) Análise geral

No grupo dos filhos de portadores de RP, dos 20 pacientes analisados, 05 apresentaram apenas alterações eletrorretinográficas, estando o exame imunológico dentro dos parâmetros considerados normais; 07 mostraram alterações eletrorretinográficas e imunológicas; em 03, somente alterações imunológicas (ERG normal); e 05 com ERG e testes imunológicos para pesquisa de AgS sem alterações.

## V — COMENTÁRIOS

Já fizemos referência à precocidade das alterações eletrorretinográficas na Retinose pigmentar, frequentemente anteriores às manifestações fundoscópicas, perimétricas e adaptométricas. Esse conhecimento nos animou a submeter os descendentes de portadores, sem manifestações clínicas ou fundoscópicas, à propedêutica eletrorretinográfica, visando ao diagnóstico precoce, para fins de confrontação com eventuais alterações imunológicas AgS-induzidas.

O nosso exame procurou ser o mais exaustivo possível, pois realizamos o ERG estático e dinâmico, utilizando estímulos policromáticos (luz branca) e monocromáticos (laranja, vermelho e azul), através de filtros interferenciais. Com essa técnica, procuramos estudar a amplitude e os elementos temporais<sup>2</sup> das diversas ondas do ERG.

Ao lado dessas verificações eletrorretinográficas, todos os descendentes de portadores de Retinose pigmentar foram submetidos aos 3 testes que rotineiramente realizamos com o AgS. Isto naturalmente atendo para nossa hipótese de trabalho de que a Retinose pigmentar poderia ser, em muitos casos, uma manifestação de autoimunidade.

Convém recordar que a hipótese de trabalho, relacionando possivelmente a RP com o antígeno S, leva-nos a destacar sobretudo a importância dos fotorreceptores, e de um modo particular dos bastonetes.

Sabe-se que, nos segmentos externos desses fotorreceptores, é que se localiza o AgS. E admite-se que esse antígeno fique ali de certo modo sequestrado, para que uma intercorrência qualquer (virose, por exemplo) vá liberá-lo ou desnaturá-lo. E assim, liberado ou alterado, o AgS passa a ser um antígeno "non self", capaz portanto de agredir o organismo. Agressão essa que os testes realizados (ID, AC, LAI) comprovam-nos tanto no sentido humoral como celular.

Esses elementos, gerados pelos LT e pelos LB, poderão ser agressores da própria retina de onde provém o antígeno.

Perguntar-se-ia então, por que todas as pessoas ou um grande número não seriam agredidas, se as viroses por exemplo não nos faltam. E por que o caráter hereditário que lhe é peculiar? Temos para nós, como hipótese de trabalho, que o fato se filia essencialmente a um fenômeno imunogenético.

A existência possível e provável de um HLA premonitório, não só lastrearia a hereditariedade, como explicaria que as pessoas portadoras desse HLA fossem suscetíveis.

Ora, sendo os fotorreceptores os elementos visados no contexto imunológico, também a esse nível (sistema bipolar) encontraríamos a matriz do ERG. Em outras palavras, as lesões do mesmo sítio mostrariam os parâmetros imunológicos e eletrorretinográficos em causa.

Estes comentários iniciais creio justificarem plenamente que, ao se buscar no nascimento, em baixa idade, alterações precursoras do quadro distrófico, sejam esses dois parâmetros (imunológico e eletrorretinográfico) que devem ser buscados.

Esse raciocínio esclarecedor de nossa conduta em verdade se consolida, quando vemos os casos evoluídos da doença, em que precocemente o ERG é extinto e os testes com o AgS frequentemente positivados.

Se portanto, em filtros de portadores da doença, encontramos patentes as alterações dos dois parâmetros, mesmo que o exame oftalmológico rotineiro seja normal, temos o direito de admitir que estamos em face de crianças já com o "germe" da enfermidade.

Antes de comentarmos rapidamente os resultados de nossa observação, a priori podemos estabelecer que as alterações do ERG ganham prioridade, por já apresentarem, na literatura, bases de viabilidade.

Resolvemos, para maior rigor, levantar os resultados num grupo controle de pacientes normais, sem ascendência de qualquer enfermidade que pudesse se relacionar com a Retinose pigmentar. E, nesse grupo controle, todos os ERG foram absolutamente normais, dando peso assim, à nossa convicção apriorística, de que sua indiscutível alteração quase afirmará o prenúncio da enfermidade.

A mesma eloquência de resultados não se pode aferir no setor imunológico. Principalmente porque, como se pode notar na Tabela I, no grupo controle, não foram raros os casos em que pequeno grau de positividade se constatou, nos 3 ou em alguns dos testes realizados. Porém um fato sobre-nada, isto é, as positivities foram sempre de baixo grau. Assim nunca tivemos, nesse grupo controle, título de anticorpo superior a 1:10, nem no LAI positividade acima de uma cruz. E, mais expressivo, o teste ID, que espelha a imunidade celular, sempre foi negativo.

Podemos pois, em face dessa premissa, considerar como suspeitos os descendentes que apresentem:

- 1) ERG extinto ou nitidamente subvoltageado
- 2) Qualquer grau de positividade ao teste ID
- 3) Positividade de anticorpos à partir de 1:20, e do LAI, à partir de duas cruces.

E já vimos que, o ERG mostrou-se normal em 8 casos, subvoltageado em 10 casos e extinto em 2 casos (pacientes de n.ºs 4 e 13 da tabela II).

Ora, um ERG extinto nessa idade (2 a 3 anos de idade) com todo o exame oftalmológico normal, em filhos de portadores de Retinose pigmentar, quase nos poderá afirmar que a doença neles se desenvolverá.

Continuemos a raciocinar com esses dois casos de ERG extinto. De muito valor será, sem dúvida, verificar neles a sensibilidade ao AgS. Se no paciente de n.º 13 os resultados imunológicos não são eloquentes, o mesmo não diremos do caso n.º 4. Neste último caso, um teste ID de 6 mm e um LAI de 3 cruces conjugam-se eloquentemente com o ERG extinto.

E o que fazer num caso como esse, em que as pesquisas apontam uma Retinose pigmentar em latência? Iniciar desde logo uma terapêutica (que ainda é de prova), ou apenas mantermos o paciente sob controle periódico? Parece-nos que a segunda alternativa seria de momento a mais válida, para repetir-se o eletrorretinograma e também os testes imunológicos já referidos. Há mes-

mo, no nosso serviço, uma linha de se ampliar a pesquisa imunológica, incluindo-se a busca da citotoxicidade do sangue dos pacientes, em face de células retinianas oriundas de retinoblastomas cultivados. Isto seria a réplica do trabalho de CHAR, já citado na revisão bibliográfica, e que certamente dará contribuição valiosa para uma conclusão mais ponderada.

Tudo isto é válido a partir de um ERG extinto. Logicamente, nos casos subvoltageados, como vimos em 9 dos nossos casos (tabela II), a conclusão ficará mais difícil, porém a suspeição conservada de pé, porque no grupo controle a negatividade é unânime.

Fizemos esses comentários partindo dos resultados do ERG. Se fizermos a nossa análise ao revés, isto é, partindo dos resultados imunológicos, não adiantaremos muito. Principalmente porque os testes mais eloquentes foram no caso de n.º 4, de ERG extinto. Se tomarmos o LAI como ponto de referência, iremos ver dois casos (9-10) com duas cruces, casando-se bem com o título de anticorpo de 1:20. Queremos dizer que, nesses dois casos (9 e 10), a suspeição imunológica existe, e vê-la-emos reforçada com a subvoltageagem dos eletrorretinogramas.

Fizemos assim uma sumária análise dos resultados, confrontando os dois parâmetros pesquisados, o que, não nos permitindo nenhuma conclusão definitiva, levantará fortes conotações prognósticas, máxime quando depararmos com casos semelhantes ao de n.º 4.

## VI — CONCLUSÕES

Longe de querer concluir algo, objetivamos sim, abrir uma nova linha de pesquisas, tendo em vista tentar diagnosticar precocemente a Retinose pigmentar e, quem sabe no futuro, tratá-la ou pelo menos tentar bloquear a auto-agressão retiniana através de imunomoduladores.

Vamos sintetizar, como conclusões, alguns dos nossos achados:

- 1) O ERG em pacientes normais sem ascendência de Retinose pigmentar foi sempre normal. Nos 20 filhos de portadores de RP, encontramos 2 casos extintos e 10 subvoltageados.
- 2) As pesquisas imunológicas deram resultado positivo (sensibilidade ao AgS) em 8 casos (N.ºs 1, 4, 5, 9, 10, 11, 12, 13).
- 3) Desses oito casos positivos, num confronto com ERG, o de número 4 seria altamente eloquente; os de n.º 9, 10, 11 e 13, colocados em observação, bem como

os de n.º 1, 5 e 12, apesar dos dois últimos terem ERG normal.

- 4) O ERG extinto é tanto mais sugestivo, dos testes imunológicos (caso de n.º 4), quanto mais se ajuste à positividade
- 5) A existência de ERG subvoltado ou extinto e dos testes imunológicos positivos contra AgS nos filhos de pacientes com Retinose pigmentar, seriam os primeiros sinais da doença.
- 6) Estamos convencidos de que esta linha de pesquisa tornar-se-á em futuro compulsória, especialmente se pudermos re-quentar a linha imunológica.

#### RESUMO

Realizamos a presente monografia com o objetivo básico de tentar diagnosticar precocemente a Retinose pigmentar em filhos de portadores dessa doença.

Submetemos 40 pacientes a exame oftalmológico completo, eletrorretinograma e pesquisa de sensibilidade ao antígeno retiniano solúvel: teste cutâneo, pesquisa de anticorpos por hemaglutinação (anti-úvea e anti-retina) e teste de inibição da aderência dos leucócitos (LAI-S), sendo 20 pacientes não descendentes de portadores de Retinose pigmentar (grupo controle) e 20 filhos de portadores de Retinose pigmentar.

A comparação entre os dois grupos é mostrada nas tabelas I e II.

Verificamos que alguns pacientes apresentaram somente alterações eletrorretinográficas ou nos testes de pesquisa do AgS, enquanto outros mostraram tanto um ERG alterado como títulos positivos ao AgS nos testes imunológicos.

O ERG foi normal no grupo controle; nos filhos de portadores de Retinose pigmentar, houve 2 casos extintos e vários subvoltados. Um dos casos extintos também mostrou nítida positividade aos testes imunológicos.

O ERG extinto em filhos de portadores de Retinose pigmentar deve ser considerado um valioso dado de alerta.

#### SUMMARY

We realize this monography with the basic objective to make precocious diagnosis of the Retinosis pigmentary in children with this illness.

We submit 40 patients to ophthalmologic examen. ERG and we look for the hypersensibility to retina antigen soluble (AgS): intradermic test, research for antibody by hsemaglutination (anti-uvea and anti-retina) and LAI (Leucocytes inhibition adherence test) were performed in 20 patients that aren't descendent's RP (control group) and 20 patient's children with RP.

The analyse between two groups are presented in table I and II.

We verity that some patients present alterations either on the ERG or in the antigen test; others patients presented alterations in both, ERG and immunologic tests, became clear the value of ERG and the immunologic tests for reactivity against the retina antigens.

The ERG was normal on the control group; in children son of patients with RP there was 2 cases with ERG extints and many with ERG subvolted. In one of this cases, the ERG extint has also positivity on the immunologic tests.

The ERG extint and subvolted in children son of patients with RP, may be considered as a great alert.

#### REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. ARDEN, O. B. & FOJAS, M. R. — Electrophysiological abnormalities in Pigmentary degenerations of the retina. Arch. Ophth., 68: 369-89, 1962.
2. AUERBACH, E. & BURIAN, H. — Studies on the photopic-scotopic relationships in the human electroretinogram. Am. J. Ophth., 40: 42-60, 1955.
3. BERSON, E. L. — Electroretinographic testing as aid in determining visual progress in families with hereditary retinal degeneration. In: — Pruett, R. C. and Regan, C. D. J. — Editors: Retina Congress, N.Y., 1974, Appleton-Century-Crofts, pp. 41-55.
4. BIERSDORF, W. R. — Rod and cone contributions to the offset of the human ERG. Invest. Ophth., 7: 371-7, 1968.
5. BJORK, A. & KARPE, G. — The electroretinogram in Retinitis pigmentosa. Acta Ophth., 29: 361-71, 1951.
6. BRINKMAN, C. J. J. et alii — Immune reactivity to different retinal antigens in patients suffering from Retinitis pigmentosa. Inv. Ophth. Vis. Sci., 19: 743-50, 1980.
7. BROWN, K. T. & MURAKAMI, M. — A new receptor potential of the monkey retina with no detectable latency. Nature, 204: 626-8, 1964.
8. BURIAN, H. M. — Electroretinography and its clinical application. Arch. Ophth., 49: 241-51, 1953.
9. BURNET, F. M. — Transfer factor. A theoretical discussion. J. Clin. Immunol., 54: 1-13, 1974.
10. CHAR, D. H.; BERGSMAN, D. R. & ROBSON, A. S. — Cell mediated immunity to retinal antigens in patients with pigmentary retinal degenerations. Inv. Ophth., 13: 198-203, 1974.
11. COLLINS, E. T. — Abiopathy of the retinal neuroepithelium or "Retinitis pigmentosa". Trans. Ophth. Soc. UK., 39: 165-95, 1919.
12. CONE, R. A. — Early receptor potential: photoreversible charge displacement in rodhopsin. Science, 144: 1128-31, 1967.
13. CORWIN, J. M. & WEITER, J. J. — Immunology of chorioretinal disorders. Surv. Ophth., 25: 287-305, 1981.
14. DEHON, P. — Exploration electrophysiologique de la rétine. ERG et EOG normaux. J. Fr. Ophth., 4: 323-38, 1978.
15. DUKE-ELDER, S. — System of Ophthalmology — V. X. London, Henry Kimpton, 1966.
16. FAURE, J. P. et alii — Experimental autoimmune uveo-retinitis and specificity of retinal antigens. Mod. Probl. Ophth., 16: 21-9, 1976.
17. FAURE, J. P. et alii — Lésions chorio-rétiniennes expérimentales chez le cobaye par immunization contre l'antigène rétinien. Bull. Mem. Soc. Fr. Ophth., 85: 301-10, 1972.
18. FESSEL, W. J. — Serum protein disturbance in Retinitis pigmentosa. Am. J. Ophth., 53: 640-2, 1962.
19. FRANÇOIS, J. — The differential diagnosis of tapetoretinal degenerations. Arch. Ophth., 59: 88-120, 1958.
20. FRANCESCHETTI, A.; FRANÇOIS, J. & BABEL, J. — Les hérédo-dégénérescences chorioretiniennes. Paris, Masson & Cie. Ed. 1963.
21. FUDENBERG, H. H. — Basic and Clinical Immunology. Lange, 1978, p. 274.
22. GONÇALVES, E. — Eletrorretinografia. In — Doenças da mácula (Maculopatias). Relatório oficial do XVI Congresso Brasileiro de Oftalmologia, pp. 513-24. Campinas, 1971.
23. GONIN, J. — Examen anatomique d'un oeil atteint de Retinite pigmentaire avec scotome zonulaire. Ann. Ocul., 129: 758-9, 1903.
24. GOURAS, P. & CARR, R. — Electrophysiological studies in early Retinitis pigmentosa. Arch. Ophth., 72: 104-10, 1964.
25. HEREDIA, C. D. et alii — Altered cellular immunity and suppressor cell activity in patients with primary retinitis pigmentosa. Brit. J. Ophth., 65: 850-4, 1981.
26. HEREDIA, C. D. & GARCIA CALDERON — Alteraciones numericas y funcionales del sistema inmune en diferentes tipos de Retinosis pigmentaria. Rev. d'OR de Oftalmologia, 3: 45-55, 1983.
27. HEREDIA, C. D. et alii — Subpoblaciones linfoides definidas por anticuerpos monoclonales en la Retinosis pigmentaria. Rev. d'OR de oftalmologia 4: 61-7, 1983.

28. HEREDIA, C. D. — Estudio genético en familias con Retinosis pigmentaria. *Rev. d'OR de Oftalmologia*, 3: 45-8, 1983.
29. HERRON, W. L. et alii — Retinal dystrophy in the rat-A pigment epithelial disease. *Inv. Opht.*, 8: 595-604, 1969.
30. HOLMGREN, F. — Method att objectivera effecten av ljusintyck på retina. *Uppsala lakaref furh*, 1: 177, 1865 (1866).
31. HOOKS, J. J. et alii — Retinitis pigmentosa associated with a defect in the production of interferon-gamma. *Am. J. Opht.*, 96: 755-8, 1983.
32. HUDELO, J. — L'Electrophysiologie clinique oculaire. *Conférences Lyonnaises d'Ophthalmologie*, 156: 5-70, 1983.
33. JACOBSON, L. J. & O'BRIEN, J. M. — Electroretinographic Studies in cases of Pigmentary degeneration. *Arch. Opht.*, 4: 375-81, 1953.
34. KUMAR, M.; GUPTA, R. M. & NEMA, H. V. — Role of autoimmunity in Retinitis pigmentosa. *Annals Oht.*, 15: 838-40, 1983.
35. LAVAIL, M. M. & MULLEN, J. — Role of the pigment epithelium in inherited retinal degeneration analyzed with experimental mouse chimeras. *Exp. Eye Res.*, 23: 227-45, 1976.
36. LAWRENCE, H. S. & VALENTINE, F. T. — Transfer factor and other mediators of cellular immunity. *Am. J. Pathol.*, 60: 437-50, 1970.
37. LAWRENCE, H. S. — The transfer in human of delayed skin sensitivity to streptococcal M substance and to tuberculin with disrupted leucocytes. *J. Clin. Invest.*, 34: 219-30, 1955.
38. MILLER, J. F. A. P. — Significance of cellular interactions in the immune responses. *J. Allergy Clin. Immunol.*, 55: 1-9, 1975.
39. NOVEN, D. et alii — Radiolimmunocytochemical localization of retinal S-antigen with monoclonal antibodies. *J. Histochem.*, 32: 834-8, 1984.
40. PACCINI, L. — Eletroretinografia. *Rev. Bras. Oft.*, 38: 147-69, 1979.
41. PAPERMASTER, D. S. & DREYER, W. J. — Rhodopsin in content in the outer segment membranes of bovine and frog retinal rods. *Biochemistry*, 13: 2438-44, 1974.
42. PEARLMAN, J. T. — The c-wave of the human ERG: its intensity dependence and pupillo-ciliary origin. *Arch. Opht.*, 68: 823-30, 1962.
43. RAHI, A. H. S. — Autoimmunity and the retina. *Brit. Jour. Opht.*, 54: 441-4, 1970.
44. RAHI, A. H. S. — Raised serum IgM levels in Retinitis pigmentosa. *Brit. J. Opht.*, 57: 904-9, 1973.
45. RAHI, A. H. S. & GARNER, A. — Immunopathology of the eye. Oxford, Black. Scient. Publ., 1976.
46. ROCHA, H. & ANTUNES, L. — Novas perspectivas imunológicas em Oftalmologia. *Medicina de Hoje*, 3: 8-13, 1975.
47. ROCHA, H. & ANTUNES, L. — Primary Retinitis pigmentosa. Autoimmunity? *Metabolic Opht.*, 1: 153-6, 1977.
48. ROCHA, H. — Fator de transferência em Oftalmologia. *Actas do X Congresso Argentino de Oftalmologia*, p. 235-71, 1975.
49. ROCHA, H. — Novas perspectivas imunológicas em Oftalmologia. *XIX Cong. Bras. Oftal.*, pp. 235-71, 1977.
50. ROCHA, H. — Der transferfaktor in der Ophthalmologie. *Klin. Mon. Augen.*, 171: 63-70, 1977.
51. ROCHA, H. — Auto-agressão em Oftalmologia. *Anais do II Cong. Luso-Hispano-Basileiro de Oftal.*, 1: 1-30, 1972.
52. ROCHA, H. & ANTUNES, L. — Imunoterapia em Oftalmologia. *Presente e futuro. Arq. Bras. Oftal.*, 41: 53-66, 1978.
53. RUEDMANN, A. D. & NOELL, W. K. — Contribution to the electroretinogram of Retinitis pigmentosa. *Am. J. Opht.*, 47: 546-73, 1959.
54. SKEEHAN, L. C. R. A. et alii — Retinitis pigmentosa with normal electroretinogram. *Arch. Opht.*, 57: 536-8, 1957.
55. SPALTON, D. J.; RAHI, A. H. S. & BIRD, A. C. — Immunological studies in Retinitis pigmentosa associated with retinal vascular leakage. *Brit. J. Opht.*, 6: 183-7, 1978.
56. TSUCHIDA, Y. et alii — Isolation of faster components in the electroretinogram and visually evoked responses in man. *Am. J. Opht.*, 75: 846-52, 1973.
57. WACKER, W. B. & KALSOW, C. M. — The role of uveal and retinal antigens in experimental autoimmune ocular pathology. *Mod. Probl. Opht.*, 16: 12-20, 1976.
58. WOODS, A. C. — Allergy and immunity in Ophthalmology. Baltimore, Johns Hopkins press, 1933.
59. YAMAMOTO, K. & YAMORI, K. — A hypothesis on the pathogenesis of retinitis pigmentosa as opsin autoimmunity. *Folia Opht. Japon.*, 17: 255-9, 1968.
60. YANOFF FINE — *Ocular Pathology*. Philadelphia, Harper & Row, 1982.