Felipe Theodoro Bezerra Gaspar Carvalho da Silva

**Análise morfológica e funcional
ocular de pacientes com doença de
Vogt-Koyanagi-Harada no estágio tardio**

Tese apresentada à Faculdade de Medicina
da Universidade de São Paulo para
obtenção do título de Doutor em Ciências

Programa de Oftalmologia

Orientadora: Dra. Joyce Hisae Yamamoto

(Versão corrigida. Resolução CoPGr 5890, de 20 de dezembro de 2010.
A versão original está disponível na Biblioteca FMUSP)

São Paulo
2011

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)

Preparada pela Biblioteca da
Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo

©reprodução autorizada pelo autor

Silva, Felipe Theodoro Bezerra Gaspar Carvalho da
Análise morfológica e funcional ocular de pacientes com doença de Vogt-Koyanagi-Harada no estágio tardio / Felipe Theodoro Bezerra Gaspar Carvalho da Silva. -- São Paulo, 2011.
Tese(doutorado)--Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo.
Programa de Oftalmologia.
Orientadora: Joyce Hisae Yamamoto.

Descritores: 1.Doença de Vogt-Koyanagi-Harada 2.Indocianina verde
3.Angiografia 4.Eletrorretinografia 5.Tomografia de coerência óptica

USP/FM/DBD-166/11

DEDICATÓRIA

Dedico esta tese à minha família. Em especial, à **minha mãe Maria, meu pai Kleber, meus irmãos Thiago e Kleber Jr. e meu sobrinho Dylan**. Todos estiveram comigo em todas minhas empreitadas, uns mais próximos fisicamente, outros mais longe, mas sempre comigo.

Dedico com especial carinho ao meu tio **Klezer** por toda atenção e carinho.

À **Dra Joyce Hisae Yamamoto**, minha Mestra e Amiga. Não há como resumir todas as oportunidades oferecidas, toda compreensão ofertada, exemplos dados, as lições ensinadas e a experiência de ter convivido com a Sra. esses últimos 4 anos. Minha eterna gratidão e admiração.

AGRADECIMENTOS

Aos **Profs. Drs. Newton Kara-José e Remo Susanna Júnior**, sou eternamente grato pela confiança em mim depositada e pela oportunidade de ter feito minha formação nesta grande escola.

Aos **Drs. Edilberto Olivalves e Carlos Eduardo Hirata**, meus Mestres, sempre dispostos a me aconselhar e transmitir sabedoria e conhecimento.

Aos **Drs. Maria Kiyoko Oyamada, Rogério Alves Costa** e ao **Prof. Dr. Walter Yukihiro Takahashi** pelo inestimável auxílio e orientação durante a tese.

Aos **Drs. Rony Carlos Pretti, Sergio Luis Gianotti Pimentel, André Gomes e Francisco Max Damico** pela colaboração na execução desta tese.

Ao **Prof. Dr. Mário Luiz Monteiro Ribeiro** por ter propiciado meu ingresso na pós-graduação em Oftalmologia da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo.

Aos **Profs. Drs. Suel Abujamra e André Maia** por terem gentilmente permitido a realização dos exames angiográficos em suas clínicas.

Aos **Tecnólogos em Oftalmologia Edmilson, Ricardo, Angélica e Alessandro** pelo carinho com os pacientes e esmero na realização dos exames de imagem da retina.

Aos **Profs. Drs. Milton Ruiz Alves e Adamo Lui Netto** pelos conselhos e auxílio em momentos de grande incerteza e aflição.

Ao **Dr. Pedro Carlos Carricondo** por me instruir e supervisionar nas cirurgias de catarata dos pacientes do Setor de Uveítes do HCFMUSP.

A **Regina Ferreira de Almeida** por ter acompanhado meus passos durante toda a pós-graduação. Exemplo de dedicação ao trabalho e de atenção aos alunos e colaboradores.

Ao **Prof. Dr. Jorge Kalil** por ter permitido minha colaboração com os pesquisadores do Laboratório de Imunologia do Instituto do Coração, HCFMUSP.

Às **Dras. Maria Lucia Marin, Anna Carla Goldberg e Luiza Guiherme**, pelo execução dos ensaios imunológicos assim como pelo convívio agradável no âmbito do Laboratório de Imunologia do Instituto do Coração, HCFMUSP.

Aos **pacientes**, com os quais e para quem esta tese foi feita. Espero que os dados aqui compilados sirvam para melhorar o tratamento dos que sofrem assim como daqueles que por ventura venham a padecer da **doença de Vogt-Koyanagi-Harada**.

A todos os **profissionais da Clínica Oftalmológica do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo**, sem os quais este trabalho não seria possível.

À **Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo** pela bolsa e auxílio, que permitiram que eu me dedicasse integralmente à execução das tarefas pertinentes assim como propiciaram condições ideais para execução desta tese.

Ao **Dr. Ricardo Roizenblatt**, meu amigo, por ter estado presente em momentos ruins e bons. Que estes últimos sejam cada vez mais prevalentes.

A todos os **colegas** e **colaboradores** que direta ou indiretamente contribuíram para a conclusão desta tese.

Esta tese está de acordo com as seguintes normas, em vigor no momento desta publicação:

Referências: adaptado de *International Committee of Medical Journals Editors* (Vancouver)

Universidade de São Paulo. Faculdade de Medicina. Serviço de Biblioteca e Documentação. *Guia de apresentação de dissertações, teses e monografias*. Elaborado por Anneliese Carneiro da Cunha, Maria Julia de A. Freddi, Maria F. Crestana, Marinalva de Souza Aragão, Suely Campos Cardodo, Valéria Vilhena. 3ª Ed. São Paulo: Serviço de Biblioteca e Documentação; 2011.

Abreviatura e títulos dos periódicos de acordo com *List of Journals Indexed in Index Medicus*.

Este trabalho recebeu apoio financeiro da **Fundação de Amparo à
Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP)**

(Bolsa doutorado direto 07/57155-5; Auxílio pesquisa 07/57154-9)

SUMÁRIO

Lista de Abreviaturas

Lista de Figuras

Lista de Tabelas

Resumo

Summary

1	INTRODUÇÃO e JUSTIFICATIVA	1
2	REVISÃO DA LITERATURA	7
2.1	Histórico e critérios diagnósticos da doença de Vogt-Koyanagi-Harada	7
2.2	Epidemiologia.....	12
2.2.1	Epidemiologia no Japão e sua correlação imunogenética	12
2.2.2	Epidemiologia no Brasil e no Serviço de Uveítes do HCFMUSP	13
2.3	Etiopatogenia	13
2.3.1	Mecanismos imunológicos da doença de Vogt-Koyanagi-Harada	14
2.3.2	Aspectos histopatológicos e mecanismos fisiopatogênicos da doença de Vogt-Koyanagi-Harada.....	18
2.4	Achados estruturais e sua correlação com a função visual em olhos de pacientes no estágio tardio da doença de Vogt-Koyanagi-Harada	25
2.5	Manifestações clínicas	27
2.5.1	Fases da doença	27
2.5.2	Manifestações extra-oculares	28
2.6	Tratamento	29
2.7	Prognóstico	30
2.8	O conceito de estágio tardio <i>versus</i> fase crônica da doença de Vogt-Koyanagi-Harada	33

2.9	Avaliação morfológica e funcional da retina de pacientes no estágio tardio da doença de Vogt-Koyanagi-Harada	34
2.9.1	Avaliação fundoscópica.....	34
2.9.1.1	Avaliação angiográfica.....	36
2.9.1.2	Protocolo para captura e análise de imagens angiográficas em pacientes com uveítes.....	37
2.9.2	Análise estrutural.....	39
2.9.2.1	Tomografia de coerência óptica de terceira geração (do Inglês, <i>time domain optical coherence tomography</i>).....	39
2.9.2.2	Tomografia de coerência óptica espectral ou de quarta geração (do Inglês, <i>Fourier-domain ou spectral-domain optical coherence tomography</i>)	41
2.9.3	Avaliação funcional da retina.....	44
2.9.3.1	Eletrorretinograma de campo total.....	44
2.9.3.1.1	Componentes do eletrorretinograma de campo total.....	45
2.9.3.2	Eletrorretinograma multifocal	47
2.9.3.2.1	Componentes do Eletrorretinograma multifocal	47
3	OBJETIVOS	49
3.1	Objetivo geral.....	49
3.2	Objetivos específicos	49
4	MÉTODOS	51
4.1	Tipo de estudo	51
4.2	População e amostra	51
4.2.1	Critérios de exclusão	52
4.3	Procedimentos e técnicas	54
4.3.1	Retinografia colorida.....	54
4.3.1.1	Técnica de exame.....	54
4.3.1.2	Padronização dos achados retinográficos	54
4.3.1.3	Análise estatística	56
4.3.2	Angiografia fluoresceínica	56
4.3.2.1	Técnica de exame.....	56

4.3.2.2	Padronização dos achados fluoresceinográficos	57
4.3.2.3	Análise dos achados fluoresceinográficos	57
4.3.3	Angiografia com indocianina verde	57
4.3.3.1	Técnica de exame	57
4.3.3.2	Padronização dos achados da angiografia com indocianina verde	58
4.3.3.3	Análise dos achados da angiografia com indocianina verde.....	59
4.3.4	Tomografia de coerência óptica.....	60
4.3.4.1	Técnica de exame	60
4.3.4.2	Padronização dos achados da tomografia de coerência óptica espectral.....	60
4.3.4.3	Análise dos achados obtidos com a tomografia de coerência óptica espectral.....	60
4.3.5	Eletrorretinograma de campo total.....	61
4.3.5.1	Técnica de exame	61
4.3.5.2	Padronização dos achados do eletrorretinograma de campo total.....	62
4.3.5.3	Análise dos achados do eletrorretinograma de campo total.....	62
4.3.6	Eletrorretinograma multifocal	63
4.3.6.1	Técnica de exame	63
4.3.6.2	Padronização dos achados do eletrorretinograma multifocal	64
4.3.6.3	Análise dos achados do eletrorretinograma multifocal	65
4.3.7	Medida da acuidade visual	65
4.3.8	Análise da correlação morfo-funcional macular: concordância entre estratificação eletrofisiológica e morfológica da mácula em pacientes no estágio tardio da doença de Vogt-Koyanagi-Harada e suas correlações com a acuidade visual	65
5	RESULTADOS.....	66
5.1	Pacientes incluídos por etapa da investigação	66
5.2	Classificação de gravidade de doença de Vogt-Koyanagi-Harada no estágio tardio segundo critérios fundoscópicos e eletrorretinográficos.....	68

5.3	O eletrorretinograma de campo total e seus <i>clusters</i>	69
5.4	Correlação entre gravidade fundoscópica e eletrorretinograma de campo total	71
5.5	Retinografia, angiografia fluoresceínica e angiografia com indocianina verde.....	72
5.6	Alterações funcionais dos fotorreceptores e correlação com acuidade visual	76
5.7	Alterações estruturais dos fotorreceptores em pacientes no estágio tardio da doença de Vogt-Konayagi-Harada.....	82
5.8	Concordância entre as estratégias eletrorretinográfica e estrutural de avaliação da integridade dos fotorreceptores maculares em olhos de pacientes no estágio tardio da doença de Vogt-Koyanagi-Harada.....	83
6	DISCUSSÃO	84
7	CONCLUSÕES	100
8	REFERÊNCIAS	102

APÊNDICES

LISTA DE ABREVIATURAS, SIGLAS E SÍMBOLOS

AF	Angiofluoresceinografia
AICV	Angiografia com indocianina verde
ANOVA	Do Inglês, <i>Analysis of Variance</i> , análise de variância
ART	Do Inglês, <i>Automated Averaging System for Retinal Tomography</i> , sistema automatizado de normalização para tomografias de retina
<i>a-scan</i>	Do Inglês, varredura ou eco a, unidimensional
ASUWOG	Do Inglês, <i>Angiography Scoring for Uveitis Working Group</i> , Grupo de Trabalho para Graduação Angiográfica em Uveítes
AUS	Do Inglês, <i>American Uveitis Society</i> , Sociedade Americana de Uveítes
CAPPesq	Comissão de Ética para Análise de Projetos de Pesquisa
cd/m ²	Candela por metro quadrado
CMSP	Células mononucleares de sangue periférico
CMV	Citomegalovírus
cSLO	Do Inglês, <i>Confocal Scanning Laser Ophthalmoscope</i> , oftalmoscópio confocal de varredura a laser
<i>Dark dots</i>	Pontos escuros ou hipofluorescentes na angiografia com indocianina verde
DER	Descolamento exsudativo de retina
EBV	Vírus Epstein-Barr
EOG	Eletrooculograma

EPR	Epitélio pigmentado da retina
ERGct	Eletrorretinograma de campo total
ERGmf	Eletrorretinograma multifocal
et al.	Do Latim, <i>et alli</i> , e colegas
FAF	Do Inglês, <i>fundus autofluorescence</i>
HCFMUSP	Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo
HLA	Do Inglês, <i>human leucocyte antigen</i> , antígeno leucocitário humano
HSV	Vírus herpes simples
Hz	Hertz
HZV	Vírus herpes zoster
i.e.	Do Latim, <i>id est</i> , isto é
IC 95%	Intervalo de confiança de 95%
IS/OS	Do Inglês, <i>photoreceptors' inner and outer segment junction</i> , junção dos segmentos interno e externo dos fotorreceptores
ISCEV	do Inglês, <i>International Society for Clinical Electrophysiology of Vision</i> , Sociedade Internacional de Eletrofisiologia da Visão
LCR	Líquido cefalorraquidiano
<i>Late diffuse hyperfluorescence</i>	Hiperfluorescência difusa tardia
<i>Leaking fuzzy vessels</i>	Borramento dos grandes vasos da coróide
logMAR	Do Inglês, <i>logarithm of the minimal angle of resolution</i> , logaritmo do menor ângulo de resolução

MHC	Do Inglês, <i>major histocompatibility complex</i> , complexo principal de histocompatibilidade
N	Número de unidades observacionais incluídas
NB-AF	Do Inglês, <i>near-blue autofluorescence</i> , autofluorescência azul
NiR-AF	Do Inglês, <i>near-infrared autofluorescence</i> , autofluorescência infravermelho
Nm	Nanômetro
nV/deg ²	Nanovolt por grau ao quadrado
OCT	Do Inglês, <i>optical coherence tomography</i> , tomografia de coerência óptica
Onda N1	Onda inicial, com deflexão negativa, do eletrorretinograma multifocal
Onda P1	Segunda onda, positiva, do eletrorretinograma multifocal
OP 1, 2 e 3	Do Inglês, <i>oscillatory potentials</i> , potenciais oscilatórios
PCR-RFLP	Do Inglês, <i>polymerase chain reaction - restriction fragment length polymorphism</i> , reação em cadeia da polimerase – polimorfismo de comprimento dos fragmentos de restrição
PCR-SSOP	Do Inglês, <i>polymerase chain reaction - sequence specific oligonucleotides probes</i> , reação em cadeia da polimerase – sondas de oligonucleotídeos sequência-específicos
PCR-SSP	Do Inglês, <i>polymerase chain reaction - sequence specific primers</i> , reação em cadeia da polimerase – iniciadores sequência-específicos
<i>post mortem</i>	Do Latim, depois da morte
PVE	Potencial visual evocado

RG	Retinografia
Spectralis HRA+OCT	Do Inglês, <i>Heidelberg Retina Angiograph®</i> , angiógrafo de retina Heidelberg
SPSS	Do Inglês, <i>Statistical Package for the Social Sciences®</i> , pacote estatístico para as ciências sociais
SUN	Do Inglês, <i>Standardization in Uveitis Nomenclature for reporting clinical data</i> ou Padronização de Nomenclatura para Apresentação de Dados Clínicos em Uveítes
Th1	Linfócito T <i>helper</i> da subclasse 1
Th17	Linfócito T <i>helper</i> da subclasse 17
US	Ultra-som ocular
VKH	Vogt-Koyanagi-Harada
µm	Micrômetro
µV	Microvolt
%	Porcentagem
=	Igual a
<	Menor que
≤	Menor ou igual que
>	Maior que
≥	Maior ou igual que
±	Mais ou menos
®	Marca registrada

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Esquema hipotético da patogênese da doença de Vogt-Koyanagi-Harada.....	18
Figura 2 - Histopatologia da coróide na fase aguda da doença de Vogt-Koyanagi-Harada.....	19
Figura 3 - Histopatologia da coróide na fase crônica da doença de Vogt-Koyanagi-Harada	20
Figura 4 - Achados característicos da fase aguda da doença de Vogt-Koyanagi-Harada.....	22
Figura 5 - Imagens de reflectância com luz infravermelha e tomografia de coerência óptica espectral em paciente no estágio tardio da doença de Vogt-Koyanagi-Harada.	23
Figura 6 - Alterações pigmentares e fibróticas características da doença de Vogt-Koyanagi-Harada no estágio tardio	24
Figura 7 - Curvas de Kaplan-Meier representando pacientes com doença de Vogt-Koyanagi-Harada que iniciaram o acompanhamento de maneira precoce (<30 dias) (acima) e tardia (abaixo)	32
Figura 8 - Aspecto fundoscópico de despigmentação difusa e dos achados focais característicos do estágio tardio da doença de Vogt-Koyanagi-Harada.....	35
Figura 9 - Mosaico de angiografia com indocianina verde obtido segundo o protocolo para pacientes com uveítes	38

Figura 10 - Imagens tomográficas da mácula obtidas com a tomografia de coerência óptica de terceira geração e com a tomografia de coerência óptica espectral.....	43
Figura 11 - Fases e respostas do eletrorretinograma de campo total e principais estruturas da retina envolvidas em cada etapa.....	46
Figura 12 - Componentes do eletrorretinograma multifocal.....	48
Figura 13 - Angiografia com indocianina verde nas fases precoce, intermediária e tardia (da esquerda para direita), mostrando respectivamente borramento dos grandes vasos, pontos hipofluorescentes e hiperfluorescência difusa tardia.....	58
Figura 14 - Retinografia, imagem de autorefectância com luz infravermelha e tomografia de coerência óptica espectral de pacientes com junção dos segmentos interno e externo dos fotorreceptores íntegra e danificada.....	60
Figura 15 - Valores individuais dos 61 hexágonos (triângulos) de pacientes com doença de Vogt-Koyanagi-Harada e valores normativos (linhas; percentis 5 e 95) do eletrorretinograma multifocal.....	78

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Critérios diagnósticos de Sugiura para a doença de Vogt-Koyanagi-Harada	8
Tabela 2 - Critérios diagnósticos para a doença de Vogt-Koyanagi-Harada da Sociedade Americana de Uveítes	9
Tabela 3 - Critérios Diagnósticos Revisados para a doença de Vogt-Koyanagi-Harada propostos pelo Comitê Internacional de Nomenclatura.....	11
Tabela 4 - Classificação analítica dos achados fundoscópicos.	54
Tabela 5 - Características clínicas dos pacientes no estágio tardio da doença de Vogt-Koyanagi-Harada, Setor de Uveítes, HCFMUSP entre 2007 e 2010	66
Tabela 6 - Número de pacientes submetidos aos exames complementares, estágio tardio da doença de Vogt-Koyanagi-Harada, Setor de Uveítes, HCFMUSP entre 2007 e 2010.....	67
Tabela 7 - Concordância inter-observadores dos achados fundoscópicos em pacientes no estágio tardio da doença de Vogt-Koyanagi-Harada. Valores obtidos com o teste <i>kappa</i> e seus respectivos intervalos de confiança 95%, Setor de Uveítes, HCFMUSP entre 2007 e 2010	69
Tabela 8 - Parâmetros do eletrorretinograma de campo total nos 3 grupos de pacientes estratificados com a estratégia <i>cluster</i> , Setor de Uveítes, HCFMUSP entre 2007 e 2010.....	70
Tabela 9 - Concordância entre as estratégias fundoscópica e eletrorretinográfica de estratificação dos pacientes no estágio tardio da doença de Vogt-Koyanagi-Harada, Setor de Uveítes, HCFMUSP entre 2007 e 2010	71

Tabela 10 - Características dos pacientes no estágio tardio da doença de Vogt-Koyanagi-Harada submetidos à angiografia com indocianina verde, Setor de Uveítes, HCFMUSP entre 2007 e 2010	73
Tabela 11 - Correlação entre estratificação fundoscópica e achados na angiografia com indocianina verde de pacientes no estágio tardio da doença de Vogt-Koyanagi-Harada, Setor de Uveítes, HCFMUSP entre 2007 e 2010.....	74
Tabela 12 - Correlação entre achados angiográficos, atividade clínica e gravidade fundoscópica de pacientes no estágio tardio da doença de Vogt-Koyanagi-Harada, Setor de Uveítes, HCFMUSP entre 2007 e 2010.....	75
Tabela 13 - Resultados do eletrorretinograma multifocal de controles e de pacientes no estágio tardio da doença de Vogt-Koyanagi-Harada, Setor de Uveítes, HCFMUSP, 2007-2010	77
Tabela 14 - Resultados do eletrorretinograma multifocal estratificados em grupos leve e grave pela estratégia <i>cluster</i> . Resultados referentes à mediana dos 61 hexágonos do ERGmf combinados, Setor de Uveítes, HCFMUSP, 2007-2010.....	82
Tabela 15 - Concordância entre as estratégias estrutural (tomografia de coerência óptica espectral) e funcional (eletrorretinograma multifocal) de avaliação dos fotorreceptores maculares de pacientes no estágio tardio da doença de Vogt-Koyanagi-Harada, Setor de Uveítes, HCFMUSP, 2007-2010	83

RESUMO

da Silva FTBGC. *Análise morfológica e funcional ocular de pacientes com doença de Vogt-Koyanagi-Harada no estágio tardio* [tese]. São Paulo: Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo; 2011.

OBJETIVO: Caracterizar morfolologicamente e funcionalmente as alterações observadas no fundo de olho de pacientes com a doença de Vogt-Koyanagi-Harada (VKH) no estágio tardio. **MÉTODOS:** Estudo prospectivo, transversal, com inclusão de 36 pacientes com diagnóstico de doença de VKH no estágio tardio (definido como 6 meses ou mais após o início da doença) após obtenção do termo de consentimento livre e esclarecido. Fundo de olho (retinografia, RG) foi estratificado baseado em alterações difusas e focais assim como a função global da retina (eletroretinograma campo total, ERGct) segundo o método matemático de aglomeração (*cluster*). A concordância entre os dois métodos de estratificação foi estimada pelo teste *kappa*. Atividade clínica foi correlacionada com alterações indicativas de atividade de coróide pela angiografia com indocianina verde (AICV) (teste exato de Fisher). Alterações na integridade dos segmentos interno e externo de fotorreceptores (IS/OS) avaliada pela tomografia de coerência óptica espectral (OCT espectral) foram correlacionadas com a função macular (eletroretinograma multifocal, ERGmf) e acuidade visual (AV) (teste de Mann-Whitney). **RESULTADOS:** Houve concordância substancial entre os observadores em relação ao sistema analítico para estratificação fundoscópica proposto ($kappa=0,78$; intervalo de confiança 95%(IC95%)=0,63-0,93). Este sistema analítico também se correlacionou de maneira substancial com os achados do ERGct ($kappa=0,68$; IC 95% 0,52-1,07). Na avaliação com AICV, a proporção dos olhos com resultados compatíveis com atividade subclínica de coróide foi maior em pacientes com doença fundoscópica leve (12/13 olhos) se comparados exclusivamente com aqueles portadores de doença fundoscópica grave (11/19 olhos) ($p=0,049$). Os pacientes estratificados de acordo com as características fundoscópicas não diferiram de maneira substancial quanto aos aspectos clínicos. Atividade subclínica de coróide detectada pela AICV foi observada em 36 dos 51 olhos (72%). Atividade clínica (células na câmara anterior) foi observada em 21 dos 51 olhos (41%). Destes 76% (16/21) demonstravam sinais de atividade de coróide, ao passo que 5 de 21 olhos (24%) não os apresentavam. Dos pacientes com atividade clínica de doença e com AICV negativa, a maioria tinha doença grave (4/5 olhos) e nenhum tinha doença leve pela classificação fundoscópica. Quanto à função macular, as amplitudes e latências das ondas N1 e P1 diferiram dos controles ($p<0,01$). A junção IS/OS macular estava alterada em 17 de 42 olhos (40%) dos olhos. A AV foi diferente entre grupos estratificados de acordo com os resultados do ERGmf (leve= 0,0 [20/20] e grave = 0,2 [20/32]; $p<0,05$) assim como entre os grupos estratificados pelo OCT espectral (IS/OS+ = 0,0 [20/20] e IS/OS- = 0,7 [20/100]; $p<0,05$). O grau de concordância entre estas estratégias foi baixo ($K=0,17$). **CONCLUSÕES:** O sistema analítico para achados fundoscópicos proposto teve alta reprodutibilidade e correlacionou-se com medidas objetivas de função

retiniana (ERGct). A gravidade de doença estimada segundo a estratégia fundoscópica influencia a interpretação da AICV, sendo que pacientes com achados leves tendem a ter maior prevalência de atividade subclínica detectada pela AICV assim como pacientes graves apresentaram exame angiográfico negativo mesmo na vigência de atividade de segmento anterior. Os grupos estabelecidos com as estratégias funcional (ERGmf) e morfológica (OCT espectral) de análise macular diferiram significativamente em termos de acuidade visual, sendo que o ERGmf discerniu grupos com acuidades semelhantes. A concordância entre as duas técnicas de análise macular foi baixa devido à maior sensibilidade do ERGmf em detectar alterações. Estes dados sugerem que o dano funcional pode preceder e/ou ocorrer na ausência de alterações maculares detectáveis com o OCT espectral em pacientes no estágio tardio da doença de VKH.

Descritores: 1.Doença de Vogt-Koyanagi-Harada 2.Indocianina verde 3.Angiografia 4.Eletrorretinografia 5.Tomografia de coerência óptica

SUMMARY

da Silva FTBGC. *Structural and functional ocular analysis of patients with late-stage Vogt-Koyanagi-Harada disease* [thesis]. São Paulo: Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo; 2011.

OBJECTIVES: To characterize the structural and functional derangements observed in eyes of patients with late-stage Vogt-Koyanagi-Harada (VKH) disease. **METHODS:** Cross sectional, prospective study including 36 patients diagnosed with late-stage VKH disease (defined as more than 6 months from disease's onset) after obtainment of informed consent. Fundoscopy (retinography, RG) was stratified based on diffuse and focal findings as well as according to global retinal function (full-field electroretinogram, ffERG) applying *cluster* method of aggregation. The concordance between the two methods of stratification was estimated with the *kappa* test. Clinical disease activity was correlated with findings suggestive of subclinical choroidal activity on indocyanine green angiography (ICGA) (Fisher's exact test). Disruption of photoreceptors inner and outer segments' junction (IS/OS) evaluated using spectral optical coherence tomography (spectral OCT) was correlated with macular function (multifocal electroretinogram, mfERG) and best corrected visual acuity (BCVA) (Mann-Whitney test). **RESULTS:** Substantial interobserver concordance was detected with regard to the analytic system for fundus findings proposed ($kappa=0.78$; confidence interval 95%(CI95%); 0.63-0.93). This system also showed substantial correlation with ffERG findings ($kappa=0.68$; CI 95%; 0.52-1.07). Upon ICGA investigation, the proportion of eyes presenting signs of disease activity on ICGA was significantly greater among mild fundus cases (12/13) when compared exclusively with those presenting severe fundus disease (11/19) ($p=0.049$). The different severity categories based on fundoscopic evaluation did not differ in terms of clinical characteristics. Subclinical choroidal activity was observed in 36 of 51 eyes analyzed (72%). Clinical disease activity (cells in the anterior chamber) was observed in 21 of 51 eyes (41%). Most patients with clinical activity and negative ICGA examination (4/5) had severe disease and none had mild disease according to fundoscopic stratification. On macular evaluation, patients' amplitudes and latencies of N1 and P1 waves differed from controls ($p<0.01$). Macular IS/OS junction was altered in 17 out of 42 eyes (40%). BCVA differed significantly between groups stratified according to both, mfERG (mild = 0.0 [20/20] and severe = 0.2 [20/32]; $p<0.05$) as well as spectral OCT (IS/OS+ = 0.0 [20/20] and IS/OS- = 0.7 [20/100]; $p<0.05$) assessment techniques. Concordance between these strategies of macular assessment was weak ($K=0.17$). **CONCLUSIONS:** The analytic system for fundus findings proposed herein demonstrated high reproducibility and substantial interobserver concordance with objective measures of retinal compromise (ffERG). The severity grading proposed influenced the interpretation of ICGA, as patients with mild disease had a greater proportion of positive findings while patients with severe disease presented negative ICGA in spite of anterior segment activity. Groups established according to both functional (mfERG) and morphological

(spectral OCT) macular analysis strategies differed in terms of BCVA, although the mfERG distinguished groups with similar BCVA. The low concordance between the two strategies detected is attributable to the greater sensibility of the mfERG to detect alterations. These findings suggest that functional derangements may precede and/or occur in absence of alterations detectable with the spectral OCT in patients with late-stage VKH disease.

Descriptors: 1.Vogt-Koyanagi-Harada disease 2.Indocyanine Green
3.Angiography 4.Electroretinography 5.Optical coherence tomography

1 INTRODUÇÃO e JUSTIFICATIVA

A uveíte na doença de Vogt-Konayagi-Harada (VKH) é difusa, bilateral e granulomatosa. Clinicamente pode ser dividida em 4 fases: prodrômica, aguda/uveítica, convalescente e crônica. A fase prodrômica ocorre dias a semanas antes dos sintomas oculares e caracteriza-se pela combinação variável de sintomas como meningismo, zumbido, náuseas e quadro gripal. Na seqüência sobrevém a fase aguda/uveítica, durante a qual ocorre coroidite bilateral, assimétrica, com hiperemia de disco variável, descolamento exsudativo de retina (DER), inflamação vítrea e iridociclite. Há importante queda da acuidade visual levando os pacientes a procurarem profissionais especializados nesta fase. Uma vez instituído o tratamento com corticosteróides em dose alta, as alterações inflamatórias regridem e há recuperação da acuidade visual. A retirada lenta do corticosteroide oral com seguimento clínico adequado leva à remissão da doença em cerca de 2/3 dos pacientes, sem necessidade de tratamentos tópico ou sistêmico adicionais¹⁻³. No Setor de Uveítes, Clínica Oftalmológica, Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo (HCFMUSP), 50% dos pacientes necessitaram de tratamento prolongado no período de 1975 a 2007.⁴

A evolução para cronicidade e pior prognóstico foram correlacionados com diversos fatores, dentre eles idade avançada ao início da doença, apresentação clínica inicial mais grave e tratamento com dose de

corticosteroides reduzida dentre outros⁵⁻⁹. No entanto, tratamento precoce e com dose imunossupressora de corticosteroides seguida de retirada lenta do medicamento tem sido fatores de bom prognóstico apontados de maneira consistente na maioria das análises^{10,11}. A retirada do corticosteroides deve ser realizada em período entre seis meses e um ano. Este processo tem sido geralmente norteado pela intensidade de inflamação no segmento anterior (i.e., células na câmara anterior)¹. Mais recentemente, exames complementares (retinografia [RG], angiografia fluoresceínica [AF], angiografia com indocianina verde [AICV], eletrorretinograma de campo total [ERGct] / multifocal [ERGmf] e tomografia de coerência óptica [OCT]) demonstraram utilidade para avaliação dos pacientes com doença de VKH nesta fase crônica/convalescente (estágio tardio)¹²⁻³¹.

A observação de despigmentação difusa do fundo de olho e detecção histopatológica da presença de células inflamatórias na coróide de pacientes (*post mortem*) nas fases crônica e convalescente levantaram a hipótese de haver acometimento subclínico da coróide e retina nestes pacientes mesmo após a regressão dos achados da fase aguda^{12,13}. Suzuki¹⁴ documentou despigmentação difusa progressiva de pólo posterior assim como estabeleceu que este fenômeno ocorreu de maneira mais pronunciada em pacientes com surtos reentrantes de iridociclite (fase crônica) utilizando retinografias seriadas. Este achado foi interpretado como sendo sugestivo de extensão do processo inflamatório para o segmento posterior, acometendo em particular a coróide e retina. Bouchenaki et al.¹⁵ procuraram sistematizar os achados angiográficos característicos da doença de VKH assim como

relataram a utilidade da AF e AICV no seguimento dos pacientes nas fases convalescente e crônica da doença. Fardeau et al.¹⁶ ressaltaram a importância relativa dos achados angiográficos em fases sucessivas da doença assim como documentaram a regressão destes achados em pacientes com evolução mais favorável. Bacsal et al.¹⁷ demonstraram que pacientes com surtos de iridociclite e aparentemente sem alterações fundoscópicas apresentaram sinais de atividade de doença na coróide detectados com a AICV e que estes achados regrediram após tratamento com altas doses de corticosteróides e/ou imunossupressores. Herbolt et al.¹⁸ e Kawaguchi et al.¹⁹ recomendaram o acompanhamento de pacientes em transição da fase aguda para a fase convalescente com a AICV após constatarem que pacientes com sinais angiográficos de atividade subclínica evoluíram com despigmentação difusa de retina assim como com surtos reentrantes de iridociclite.

Além das alterações pigmentares difusas^{20,21}, a doença de VKH pode evoluir com alterações pigmentares focais, dentre elas lesões numulares (pontos de atrofia completa de retina)^{22,23}, acúmulos de pigmento (formações hiperpigmentadas assumindo formas diversas, como rendas, traves e acúmulos grosseiros e irregulares de pigmento)²⁴ e fibrose subretiniana (formações elevadas, hipocrômicas e irregulares acompanhadas de atrofia de retina subjacente)^{25,26}. Os estudos citados anteriormente não avaliaram sistematicamente o impacto que estas alterações podem ter sobre a interpretação da AICV.

Relatos e séries de casos anteriores investigaram os achados do ERGct nas fases aguda e convalescente²⁷⁻²⁹. Nestes levantamentos foram descritos recuperação parcial ou total das amplitudes de respostas ao longo da fase convalescente. No entanto, o número reduzido de pacientes contemplados assim como a inclusão de pacientes com prognóstico predominantemente favorável limitou a capacidade de generalização dos achados. Nestes mesmos estudos, os achados eletrorretinográficos não foram correlacionados com as alterações fundoscópicas ou sistematizados. No entanto, a correlação entre os achados funcionais (ERGct) e fundoscópicos tornaria possível validar uma estratégia sistemática de estratificação fundoscópica da doença de VKH assim como estimar o impacto funcional das alterações pigmentares focais e difusas sobre a retina.

Os métodos de detecção e análise das alterações fundoscópicas da retina evoluíram sobremaneira desde a introdução do OCT na prática oftalmológica. Os estudos com OCT de terceira geração (do Inglês, *time-domain*) descreveram dois tipos de DER na fase aguda da doença de VKH (DER neurosensorial e DER cístico, intrarretiniano)^{30,31}. Em DERs com cistos, foram detectadas formações lineares intracísticas, interpretadas como septos fibrinóides. Porém, a definição do método de imagem não conseguia detalhamento celular destas estruturas, assim como não delineava as camadas da retina. A partir da fase convalescente, os OCTs de terceira geração permitiam acompanhamento da regressão dos DERs em resposta ao tratamento^{16,32,33}. Já na fase crônica, alterações grosseiras, como edema de mácula, alterações da interface vítreo-retiniana e membranas neovasculares

subretinianas foram diagnosticadas e seguidas com o OCT de terceira geração^{26,34}. A introdução do OCT espectral (de quarta geração) trouxe avanços importantes na propedêutica retiniana³⁵⁻³⁸. Em virtude de apresentar definição axial maior, permitiu visualizar a retina externa com detalhamento. O epitélio pigmentado da retina e camada de fotorreceptores puderam ser distinguidos das outras camadas da retina de maneira precisa. Em análise de imagens de OCT de terceira geração nas fases aguda e convalescente da doença, Lee et al.³¹ monitorizaram a regressão de DERs císticos e neurosensoriais com imagens tomográficas seriadas e medida da acuidade visual. Acreditava-se que a separação entre os segmentos externo e interno dos fotorreceptores (do Inglês, *photoreceptors` inner and outer segment junction*, abreviado IS/OS) acarretasse maior dano aos mesmos. Também foi sugerido que os septos fibrinóides, dentro dos espaços císticos, fossem constituídos da aglomeração de fibrina e segmentos externos de fotorreceptores. Ishihara et al.³⁹ utilizaram o OCT espectral para descrever os constituintes das DERs císticos e neurosensoriais com maior detalhamento celular nas fases aguda e convalescente da doença. Neste estudo foi revelado que ocorre amputação dos segmentos externos dos fotorreceptores na fase aguda em casos com DERs císticos. Já nos DERs neurosensoriais, os fotorreceptores se separam do EPR, porém permanecem com os segmentos interno e externo preservados. Na fase convalescente da doença, a recuperação dos segmentos externos foi parcial, confirmando assim a hipótese de Lee et al.³¹ No fim do período de seguimento, a espessura dos segmentos externos dos fotorreceptores permaneceram

abaixo da normalidade a despeito da recuperação da acuidade visual (20/20 ou melhor). Na fase crônica da doença, estudos com OCT espectral apresentaram alterações do epitélio pigmentado e da retina externa que coincidiram com os achados estruturais macroscópicos e histopatológicos⁴⁰. A aglomeração de células do epitélio pigmentado da retina (EPR) coincidiu com áreas de dano ao segmento externo dos fotorreceptores subjacentes. Os autores sugeriram que o dano aos fotorreceptores segue efeito em cascata. O envolvimento da coriocapilar na fase crônica da doença seria causador das alterações no EPR e fotorreceptores por contiguidade. No entanto não foram estabelecidos critérios sistemáticos para análise dos achados com o OCT espectral assim como análise multimodal em pacientes na fase crônica da doença de VKH.

Estas considerações revelaram que há lacunas no que se refere a:

1. análise sistemática das alterações fundoscópicas,
2. estimativa do impacto funcional (medidas do ERGct) das mesmas
3. influência das alterações fundoscópicas sobre a interpretação da AICV
4. critérios analíticos para imagens da mácula obtidas com OCT de quarta geração
5. correlação entre achados morfológicos maculares (OCT de quarta geração) e medidas funcionais (ERGmf e acuidade visual) ambos analisados de maneira sistemática.

2 REVISÃO DA LITERATURA

2.1 Histórico e critérios diagnósticos da doença de Vogt-Koyanagi-Harada

A doença de VKH foi descrita inicialmente por Vogt em 1906 como uma uveíte bilateral em pacientes com poliose e posteriormente, por Harada, em 1926, que descreveu cinco casos de uveíte posterior bilateral com DER associados à pleocitose no fluído cefalorraquidiano (LCR). Koyanagi em 1929 descreveu 6 pacientes com iridociclite bilateral crônica, associada à despigmentação da pele (vitiligo), perda de cabelo em placas (alopécia) e esbranquecimento dos cabelos associados à surdez e zumbido. Devido às similaridades e aos fatores sobrepostos de ambas as condições clínicas, Babel em 1932 sugeriu que estas manifestações se tratavam da mesma entidade clínica, conferindo-lhe o nome de doença de Vogt-Koyanagi-Harada⁴¹. No entanto, não havia exame laboratorial ou complementar que isoladamente diagnosticasse a doença. Surgiu, portanto a necessidade de critérios diagnósticos bem definidos.

Em 1978, Sugiura⁴² sistematizou critérios diagnósticos para a doença de VKH (Tabela 1). Estes critérios apresentavam algumas limitações. Os critérios propostos tornavam mandatória a coleta de LCR e definia a ausência de linfocitose como critério de exclusão. Em levantamento realizado no Serviço de Uveítes do HCFMUSP abrangendo o período de 1975 a 2007, apenas 20% dos pacientes apresentavam meningismo na apresentação inicial da doença. Destes

pacientes (todos submetidos à punção lombar), 84% apresentavam exame de LCR alterado⁴. Segundo os mesmos critérios, a história pregressa de trauma ou cirurgia intra-ocular também era ignorada, deixando a possibilidade de confusão diagnóstica com oftalmia simpática. Além disso, Sugiura não contemplou critérios para diagnóstico de pacientes que chegam a cuidados médicos na fase crônica da doença. No mesmo levantamento realizado no Serviço de Uveítes do HCFMUSP mencionado previamente, 31% dos pacientes chegaram ao atendimento médico após a fase aguda e muitas vezes sem diagnóstico inicial preciso.

Tabela 1- Critérios diagnósticos de Sugiura para a doença de Vogt-Koyanagi-Harada

Critérios

Critérios maiores

- 1. Uveíte aguda com acometimento dos dois olhos.** Os sintomas podem passar despercebidos por até 10 dias no segundo olho.
- 2. Edema de retina circunscrito, mais pronunciado no pólo posterior.** A angiografia fluoresceínica revela vazamento do corante através do epitélio pigmentado da retina para os espaços subretinianos.
- 3. Pleocitose do líquido cefalorraquidiano no estágio precoce da doença.**

Critérios menores

Disacusia, vertigem e hipersensibilidade do couro cabeludo ao toque são importantes para o diagnóstico precoce, quando presentes.

Células na câmara anterior, precipitados ceráticos granulomatosos e nódulos de íris são sinais importantes, mas podem estar ausentes precocemente.

Alopécia e despigmentação do olho e pele também são sinais importantes na fase convalescente da doença.

Despigmentação do limbo corneano (sinal de Sugiura) aparece de maneira precoce, cerca de 1 mês após o início e também tem valor para estabelecer o diagnóstico.

Os critérios 1 ou 2, e 3 são mandatórios para diagnóstico. Critérios menores (pródromos), se presentes, auxiliam no diagnóstico
Modificado de Sugiura⁴²

Um novo grupo de critérios diagnósticos foi proposto pela Sociedade Americana de Uveítes (*American Uveitis Society*, AUS) em 1980 (Tabela 2)⁴³. Estes apresentavam limitações para o diagnóstico na fase aguda, pois 2 dos 4 critérios ocorrem apenas após a fase aguda, especificamente uveíte anterior crônica ou recorrente e alterações cutâneas.

Tabela 2 - Critérios diagnósticos para a doença de Vogt-Koyanagi-Harada da Sociedade Americana de Uveítes

Critérios
Ausência de cirurgia ocular prévia ou trauma ocular penetrante e 3 dos 4 critérios a seguir:
1. Iridociclíte bilateral crônica
2. Uveíte posterior: descolamento exsudativo de retina, descolamento exsudativo frustro de retina (hiperemia de disco, edema de retina e mácula e despigmentação difusa tardia (<i>sunset glow fundus</i>))
3. Sinais neurológicos: zumbido, meningismo, sintomas envolvendo pares cranianos ou o sistema nervoso central, pleocitose do líquido cefalorraquidiano
4. Sinais cutâneos: alopecia, poliose ou vitiligo

Modificado de Snyder et al.⁴³

Uma vez que o tratamento precoce e adequado foi apontado como importante fator de prognóstico, este aspecto se tornou uma deficiência grave destes critérios^{3,5,20,21,44,45}. Devem ser ressaltados alguns aspectos epidemiológicos encontrados em nosso meio. Dos pacientes em seguimento no Serviço de Uveítes do HCFMUSP no período de 1975 a 2007⁴, apenas

28% apresentaram manifestações cutâneas ao longo da evolução da doença⁴. Outros estudos sugeriram que tanto as manifestações extra-oculares como a cronificação da doença foram dependentes do tratamento, podendo inclusive não se manifestar em casos de evolução favorável⁴⁶⁻⁵⁰. Assim, os critérios da AUS permitiam diagnóstico apenas em pacientes com evolução desfavorável ou de maneira retrospectiva.

O Comitê Internacional de Nomenclatura propôs os Critérios de Diagnósticos Revisados (do Inglês, *Revised Diagnostic Criteria of the International Nomenclature Committee* (Tabela 3) no ano de 2001⁵¹. Este critério sanava as deficiências dos seus precursores pois permitia diagnóstico tanto precoce como tardio da doença e contemplava manifestações extraoculares da doença. No entanto, não excluía pacientes com manifestações exclusivamente oculares. Pacientes com manifestações exclusivamente oculares foram considerados prováveis. Manifestações extraoculares neurológicas/auditivas e/ou cutâneas/integumentares classificavam o paciente nas categorias incompleta (na presença de um tipo de manifestação extraocular) ou completa (na presença das duas categorias de manifestações extraoculares)^{52, 53}.

Tabela 3 - Critérios Diagnósticos Revisados para a doença de Vogt-Koyanagi-Harada propostos pelo Comitê Internacional de Nomenclatura

Critérios
VKH completa: critérios 1–5 presentes
VKH incompleta: critérios 1–3 com 4 ou 5 presente
VKH provável (ocular apenas): critérios 1-3 presentes
1. Ausência de trauma penetrante ou cirurgia ocular antes do início dos sintomas
2. Ausência de doença sistêmica e/ou evidências laboratoriais compatíveis com outras etiologias
3. Acometimento ocular bilateral (a ou b presentes, de acordo com a fase no momento do exame)
a) Manifestações precoces da doença
(1) Coroidite difusa (com ou sem uveíte anterior, células vítreas e/ou hiperemia de disco) manifestando-se como (a) regiões de acúmulo de líquido subretiniano, ou (b) descolamento exsudativo de retina bolhoso
b) Manifestações tardias da doença
(1) História clínica sugestiva de presença anterior dos achados do item 3a associado aos itens de (2) ou (3) abaixo ou múltiplos sinais do item (3)
(2) Despigmentação ocular: (a) <i>sunset glow fundus</i> ou (b) Sinal de Sugiura
(3) Outros sinais oculares (a) lesões numulares, ou (b) acúmulos de pigmento, ou (c) uveíte anterior recorrente ou crônica
4. Achados neurológicos ou auditivos (podem ter sido resolvidos no momento da avaliação)
a) Meningismo (mal-estar, febre, cefaléia, náusea, dor abdominal, rigidez de nuca e coluna, ou a combinação destes fatores), ou
b) Zumbido, ou
c) Pleocitose do líquido cefalorraquidiano
5. Achados integumentares (que não sejam pré-existentes ao início dos sintomas neurológicos ou oculares)
a) Alopecia, ou
b) Poliose, ou
c) Vitiligo

Kitamura et al.⁴⁷ realizaram estudo aplicando os Critérios Diagnósticos Revisados aos pacientes com diagnóstico prévio da doença de VKH. Dos 169 pacientes analisados, foi constatada concordância de 91,7% entre os Critérios Diagnósticos Revisados e os critérios de Sugiura. Os autores ressaltaram que as discordâncias foram causadas por pacientes submetidos à cirurgia de catarata por facoemulsificação antes do início da doença e questionaram se um procedimento minimamente invasivo poderia ter desencadeado a quebra da tolerância imunológica. Cardoso et al.⁴⁹ detectaram 30% de discrepâncias com os critérios da AUS (Sociedade Americana de Uveítes). Após terem excluído os pacientes com prontuários incompletos ou sem dados de fundoscopia, esta cifra alcançou os 16%. Em estudo realizado no HCFMUSP, 100% dos casos previamente diagnosticados com os diagnósticos da AUS preencheram os Critérios Diagnósticos Revisados aplicados de maneira retrospectiva⁴.

2.2 Epidemiologia

2.2.1 Epidemiologia no Japão e sua correlação imunogenética

No Japão a doença correspondeu a 8% de todos os casos de uveítes em geral⁵⁴. Naquele país, a correlação da doença com o HLA-DR4 foi relevante, pois estava presente em 100% dos pacientes com doença de VKH^{55,56}. A tipificação por métodos de biologia molecular revelou a

importância do alelo HLA-DRB1*0405, com 100% de prevalência entre os pacientes com doença de VKH e de 40% na população em geral no Japão^{55, 57,58}.

2.2.2 Epidemiologia no Brasil e no Serviço de Uveítes do HCFMUSP

A doença de VKH representou 0,8% das uveítes em seguimento em serviços terciários no Brasil⁵⁹. Brancos e mestiços corresponderam por mais de 70% dos casos em seguimento no HCFMUSP⁴. Em levantamento previamente publicado, a prevalência do HLA-DRB1*0405 foi estimada em 4% na população geral e em 60% nos pacientes com doença de VKH. A despeito da diversidade genética encontrada no Brasil, pacientes portadores deste alelo apresentaram risco relativo de 11,76 de desenvolver a doença. Já no Japão, este risco relativo foi estimado em 44⁵⁷.

2.3 Etiopatogenia

Estudos histopatológicos demonstraram a presença de células inflamatórias e destruição de melanócitos na úvea e pele na doença de VKH¹³. Estudos imunogenéticos também demonstraram freqüência aumentada das moléculas HLA-DR4 e HLA-DR53 em pacientes em comparação com a população geral^{57,58,60-64}. Clinicamente, a doença apresenta pródromos que mimetizam uma doença viral. Assim, a teoria

mais aceita na atualidade para a patogênese da doença de VKH é da auto-imunidade celular contra melanócitos desencadeada por um agente desconhecido (provavelmente viral) num indivíduo geneticamente suscetível⁶⁵.

2.3.1 Mecanismos imunológicos da doença de Vogt-Koyanagi-Harada

A auto-imunidade é um fenômeno próprio da resposta imune adquirida, no qual o indivíduo reconhece antígenos próprios, agredindo e causando dano tecidual ao órgão ou tecido que exibe o auto-antígeno. A progressão deste fenômeno leva à instalação da doença clínica. Dentre os exemplos de doenças auto-imunes pode-se citar o *Diabetes mellitus* tipo I, a artrite reumatóide e a artrite idiopática juvenil. Todo indivíduo imunocompetente tem em seu organismo um repertório completo de linfócitos T, cada um capaz de reconhecimento de um antígeno ou epitopo específico e, portanto tem também o potencial de reconhecer antígenos próprios.

A doença auto-imune resulta da falência dos mecanismos normalmente responsáveis pela tolerância ao próprio. Há diversas evidências que os linfócitos auto-reativos desempenham importante papel no desencadeamento da doença de VKH. Inicialmente, análises por microscopia eletrônica demonstraram haver um estreito contato entre linfócitos e melanócitos na úvea e no limbo, em pacientes portadores de doença de VKH, indicando ser esta interação importante na patogênese da

doença⁶⁶⁻⁶⁹. Ensaios de proliferação de células mononucleares de sangue periférico (CMSP), utilizando sangue de indivíduos com doença de VKH comparados a controles, mostraram que apenas as CMSP dos doentes eram capazes de responder ao estímulo com pigmento uveal bovino⁷⁰. A citotoxicidade contra células de melanoma humano, efetuada por linfócitos T tanto CD8⁺ como CD4⁺, foi demonstrada em amostras de obtidos de doentes com VKH^{71,72}. Células inflamatórias com o mesmo fenótipo das encontradas no olho também foram encontradas em outros órgãos acometidos na doença de VKH, tais como pele, meninges e Líquor^{73,74}.

Estudos histoquímicos detectaram a presença de linfócitos T ativados na coróide, expressão de marcadores de ativação linfocitária precoces e tardios, expressão de antígenos do MHC II (do Inglês, *Major Histocompatibility Complex* ou Complexo de Histocompatibilidade Principal) em melanócitos da coróide e em células endoteliais da coriocapilar, sugerindo que o processo auto-imune seja devido à hipersensibilidade tardia mediada por linfócitos T contra melanócitos da coróide, que expressam aberrantemente alvos auto-antigênicos⁷⁵⁻⁷⁷. Na fase convalescente também foram encontradas evidências de processo inflamatório com predomínio de linfócitos T e desaparecimento de melanócitos da coróide⁷⁶.

A importância da suscetibilidade genética na doença de VKH tem sido estudada principalmente no Japão, país onde a doença é altamente incidente. O MHC é uma região genômica que carrega um conjunto de genes extremamente polimórficos, denominados HLA. Os genes que codificam as moléculas HLA de classe I e II localizam-se no braço curto do

cromossomo 6, e sua associação com doenças auto-imunes já está bem estabelecida, dentre elas a espondilite anquilosante (HLA-B27), artrite reumatóide (HLA-DR1 e -DR4) e a retinocoroidopatia *birdshot* (HLA-A29)⁷⁸⁻⁸³. Os genes HLA de classe II codificam moléculas expressas na superfície de células apresentadoras de antígenos. As células apresentadoras de antígenos apresentam peptídeos aos linfócitos T CD4+ aninhados nas moléculas HLA de classe II. Vários peptídeos derivados de proteínas presentes no melanócito, tal como a tirosinase, são reconhecidos por linfócitos circulantes no sangue periférico de pacientes com a doença de VKH distintamente de indivíduos normais^{84,85}. O pródromo de infecção viral observado na doença de VKH sugere a participação de um agente infeccioso, seja ele vírus Epstein-Barr⁸⁶ ou citomegalovírus⁶⁷, na quebra da tolerância através de reação cruzada entre sequências homólogas do microrganismo e de antígenos próprios.

Os primeiros genes de suscetibilidade à doença de VKH descritos foram o HLA-DR4 e -DR53, ligados à patogênese da doença em Japoneses⁸⁷ e Americanos⁸⁸. Através das técnicas moleculares de tipificação do HLA como o PCR-SSP (do Inglês, *polymerase chain reaction - sequence specific primers*), PCR-SSOP (do Inglês *polymerase chain reaction - sequence specific oligonucleotide probes*) e PCR-RFLP (*polymerase chain reaction – restriction fragment length polymorphism*) tornou-se possível a identificação de vários alelos e a elucidação das variantes precisas relacionadas à doença⁸⁹. Com estes métodos de maior resolução, foram identificados HLA DRB1*0405 e DRB1*0410, este primeiro

conferindo aos portadores um risco relativo de 44 no Japão e de 12 no Brasil⁵⁷.

Há também estudos que demonstram a presença de imunidade celular contra antígenos da retina (antígeno S e/ou IRBP [do Inglês, *interphotoreceptor binding protein*])^{90,91}, outros que demonstram anticorpos contra os segmentos externos de fotorreceptores e células de Müller⁷⁵ e outras alterações imunológicas no sangue periférico de pacientes com doença de VKH¹⁰. Porém, ainda não se conhece o valor destes achados e pode ser que os mesmos sejam epifenômenos não necessariamente relacionados à etiopatogenia da doença.

Assim sendo, de forma simplificada, na doença de VKH, observa-se a ativação do linfócito T auto-reativo, após a quebra da tolerância, diante do reconhecimento de peptídeos derivados de proteínas de melanócitos no contexto da molécula de HLA classe II DRB1*0405 (Figura 1). Há liberação de citocinas inflamatórias tais como IFN- γ , mediadores do dano tecidual^{10,65,84,85}.

Figura 1 - Esquema hipotético da patogênese da doença de Vogt-Koyanagi-Harada. Uma infecção viral em paciente geneticamente suscetível poderia quebrar mecanismos de tolerância permitindo ativação do linfócito T diante do reconhecimento de proteínas relacionadas ao melanócito sendo apresentadas pelas células apresentadoras de antígeno no contexto da molécula de HLA classe II. A ativação do linfócito T levaria à produção de citocinas com perfil Th1 e Th17, mediadores do dano tecidual. Adaptado de Damico⁶⁵

2.3.2 Aspectos histopatológicos e mecanismos fisiopatogênicos da doença de Vogt-Koyanagi-Harada

A variação das manifestações clínicas da doença de VKH de acordo com as fases clínicas é acompanhada de alterações nos achados histopatológicos. Na fase aguda observa-se uma coroidite granulomatosa difusa (Figura 2), enquanto que na fase convalescente observa-se uma coroidite não-granulomatosa difusa (Figura 3).

Figura 2 - A: Histopatologia da coróide na fase aguda da doença de Vogt-Koyanagi-Harada. Coroidite granulomatosa difusa poupando a coriocalilar (aumento: 10X) B: Imagem em maior aumento (aumento: 40X) demonstrando células epitelióides gigantes multinucleadas contendo grânulos de melanina (flechas). Adaptado de Rao¹³

A característica patológica inicial é o espessamento difuso do trato uveal e inflamação granulomatosa não-necrotizante. Este espessamento é mais proeminente na porção justapapilar da coróide e decresce em direção ao equador e coróide periférica. A infiltração celular não envolve a coriocalilar e retina sobrejacente na fase aguda da doença. Nesta fase ocorre acúmulo subretiniano de líquido e descolamento exsudativo de retina. A coróide, em suas camadas de Haller e Sattler, é infiltrada de maneira intensa e difusa por

células inflamatórias, agrupadas em granulomas. Estes granulomas são compostos principalmente por células mononucleares, linfócitos T CD4⁺, agregados focais de células epitelióides e células multinucleadas gigantes (nódulos de Dálen-Fuchs). O processo granulomatoso difuso poupando a coriocapilar na fase aguda progride para inflamação difusa não-granulomatosa na fase convalescente. Nos casos em que o paciente evolui à cronicidade observa-se novamente uma coroidite granulomatosa difusa semelhante à fase aguda, porém com envolvimento da coriocapilar¹³.

Figura 3 - Histopatologia da coróide na fase crônica da doença de Vogt-Koyanagi-Harada (aumento: 10X). Coroidite difusa não-granulomatosa com envolvimento da coriocapilar (flecha). Adaptado de Rao¹³

Em decorrência da infiltração inflamatória e formação de granulomas na fase aguda da doença, ocorrem aumento da permeabilidade e dilatação dos grandes vasos da coróide, diminuindo a velocidade do fluxo^{92,93}. As regiões ocupadas por granulomas, o EPR e os 2/3 externos da retina entram em isquemia. A falência do EPR, por falta de aporte metabólico,

conjuntamente com a exsudação coroidiana resulta no acúmulo de líquido no espaço subretiniano e/ou intraretiniano^{33,39,94}. Clinicamente são detectadas lesões amarelo-creme na coróide, hiperemia de disco óptico, acúmulo de líquido subretiniano e descolamento de retina de extensão variável (Figura 4)⁴. A porção pré-laminar do nervo óptico pode inclusive ser acometida por quadro de perineurite. Na fase convalescente podem ser observadas coleções focais de células mononucleares abaixo do EPR. Na microscopia eletrônica, estes aglomerados consistem de um agrupado de linfócitos, macrófagos, células epitelióides e células do EPR modificadas. Macroscopicamente podem ser observadas áreas com mobilização de pigmento de aspecto rendilhado, característica esta que se torna mais evidente na autofluorescência e reflectância infra-vermelha (Figura 5)^{40,95}.

Figura 4 - Achados característicos da fase aguda da doença de Vogt-Koyanagi-Harada. De cima para baixo: retinografia (descolamento exudativo de retina), angiofluoresceinografia (huperfluorescência por acúmulo e vazamento), tomografia de coerência óptica (descolamento exudativo de retina) e ultra-som ocular (espessamento da parede ocular). Adaptado de da Silva⁴

Figura 5 - Imagens de reflectância com luz infravermelha (esquerda) e tomografia de coerência óptica espectral (direita) em paciente no estágio tardio da doença de Vogt-Koyanagi-Harada. Ponto hiperreflectante corresponde à área de hiperplasia de EPR (flechas)

O tratamento com corticosteróide em dose adequada reverte estes processos. Os vasos da coróide reduzem sua permeabilidade e calibre com consequente normalização da velocidade de fluxo da coróide, ocorre dissolução dos granulomas reduzindo ou até eliminando as áreas de não-perfusão. Em consequência, ocorre reabsorção do líquido sub- e intra-retiniano. Não obstante, na fase convalescente encontram-se evidências de processo inflamatório com predomínio de linfócitos T e desaparecimento de melanócitos da coróide⁷⁶ assim como ocorre regressão dos granulomas de coróide que se refletem em despigmentação difusa do fundo-de-olho, lesões numulares atróficas e agregados muito finos granulares de pigmento (hipertrofia de EPR) (Figura 6).

Figura 6 - Alterações pigmentares e fibróticas características da doença de Vogt-Koyanagi-Harada no estágio tardio; de cima para baixo, retinografia, angiofluoresceinografia e angiografia com indocianina verde. Adaptado de Damico⁶⁵

2.4 Achados estruturais e sua correlação com a função visual em olhos de pacientes no estágio tardio da doença de Vogt-Koyanagi-Harada

Ao longo da fase convalescente retina, nervo óptico e coróide podem também sofrer alterações focais. As alterações focais apresentam correlação entre seus aspectos histopatológicos, microestruturais (detectados com a tomografia de coerência óptica espectral entre outros) e macroscópicos. Pode-se, grosso modo, as dividir em lesões numulares, acúmulos de pigmento e fibrose subretiniana.

A atrofia completa do EPR e adesão entre remanescentes da retina e da coróide assumem aspecto branco. Previamente denominados de nódulos de Dálen-Fuchs, estas lesões podem assumir aspecto numular, sendo planas e sem pigmento, o que justifica a ocorrência de defeitos em janela na angiofluoresceinografia. As lesões numulares costumam localizar-se na periferia e médio-periferia da retina, porém podem confluir em áreas esbranquiçadas ao redor do nervo óptico (área de atrofia peripapilar) ou se tornar lesão de extensão maior (lesões numulares confluentes). A reorganização grosseira dos pigmentos do EPR pode assumir aspectos variados, não-contíguos (acúmulos de pigmento) ou contíguos (traves e teias de pigmento). As áreas de fibrose subretiniana se apresentam como áreas de acúmulo de tecido fibrótico subretiniano, elevado, esbranquiçado e têm predileção pela região peripapilar (fibrose peridiscal), podendo também ocorrer em outros locais (do Inglês, *subretinal fibrosis elsewhere*). Esta

predileção está associada à maior intensidade de envolvimento da coróide na região peripapilar, evidenciada pelo maior espessamento da coróide nesta região durante a fase aguda. Em casos de cronificação, a coroidite granulomatosa difusa cursa com acometimento da coriocapilar em contraste com a fase aguda. Em casos persistentes e intensos a inflamação da coriocapilar pode levar a metaplasia do EPR sem pigmento no espaço subretiniano e assim formar as áreas de fibrose.

Os achados tanto difusos como focais de fundo de olho podem ser agrupados de modo esquemático para descrever a aparência do fundo de olho, facilitando assim a troca de informações. Considerando que a população brasileira é etnicamente muito diversa, a despigmentação difusa se torna um mau parâmetro para análise, pois é intrínseca dos indivíduos previamente ao início da doença uma vez que está sujeita à variação na pigmentação cutânea assim como à ametropia. Os achados focais sofrem influência predominantemente do curso da doença, uma vez que seu surgimento está intimamente relacionado às alterações patológicas, além de serem de mais fácil detecção e de maior reprodutibilidade entre observadores⁹⁶. Estes aspectos devem ser considerados ao se sumarizar aspectos fundoscópicos em pacientes no estágio tardio da doença de VKH.

2. 5 Manifestações clínicas

2.5.1 Fases da doença

A doença de VKH ocorre cronologicamente em quatro fases: prodrômica, aguda ou uveítica, convalescente e crônica (Figuras 5 e 6).

A fase prodrômica ocorre poucos dias antes dos sintomas oculares, e caracteriza-se por febre, náusea, cefaléia, meningite asséptica, disacusia, tinidos, sintomas de gripe e dor orbitária^{42,97}. A fase aguda é caracterizada por embaçamento visual de início abrupto, geralmente simétrico e bilateral. O acometimento de segmento posterior tipicamente se manifesta como hiperemia e edema do disco óptico assim como da retina circunjacente, decorrentes da infiltração inflamatória da coróide. A inflamação da coróide ocorre de maneira difusa, gerando pontos de falência do EPR. Por consequência, ocorre acúmulo de líquido subretiniano e descolamento exsudativo de retina. A investigação com angiografia fluoresceínica apresenta múltiplos pontos hiperfluorescentes no EPR com vazamento de contraste para o espaço subretiniano (do Inglês, *pin-points*). Em consequência há hiperfluorescência tardia por acúmulo de contraste nas fases tardias do angiograma. O processo inflamatório pode também acometer o vítreo e segmento anterior do olho, manifestando-se como células inflamatórias no vítreo (vitreíte) e uveíte anterior. A uveíte anterior pode ser não-granulomatosa ou granulomatosa. Nesta última, ocorrem precipitados ceráticos granulomatosos do tipo “gordura de carneiro” (do Inglês, *mutton-fat*)

na face posterior da córnea e nódulos na superfície (nódulos de Busacca) e/ou bordo da íris (nódulos de Koeppe). A elevação da pressão ocular, que eventualmente ocorre nesta fase da doença, pode decorrer da inflamação do trabéculo escleral, do bloqueio do trabéculo por células inflamatórias, da presença de sinéquias anteriores extensas assim como do fechamento angular devido à anteriorização do diafragma irido-cristaliniano⁹⁸. O fechamento decorre de infiltração do corpo ciliar por células inflamatórias, com subsequente edema e deslocamento do diafragma irido-cristaliniano anteriormente, gerando crise de glaucoma agudo. Uma vez instituído o tratamento, há reversão destes mecanismos⁹⁷.

A fase convalescente caracteriza-se por alterações pigmentares difusas, mais comumente denominada de *sunset-glow fundus* (do Inglês, fundo de olho em pôr-do-sol), e/ou focais de fundo de olho. Pacientes que passam a apresentar surtos reentrantes de iridociclite (entre 30-75% dos casos) são considerados na fase crônica, necessitando tratamento intensivo e muitas vezes prolongado.

2.5.2 Manifestações extraoculares

Os pacientes podem apresentar alterações extraoculares, afetando o tegumento e sistema nervoso. Dentre as manifestações integumentares pode-se citar alopecia, vitiligo e poliose. Pode ocorrer também acometimento do sistema nervoso central, como meningite linfocítica asséptica, hipoacusia e surdez neurosensorial. Embora estas manifestações sejam muito específicas

da doença de VKH, a ausência destas não exclui o diagnóstico⁵¹. Cabe ressaltar que estas manifestações são frequentemente sutis e transitórias, sujeitas ao efeito de tratamento sistêmico⁴.

2.6 Tratamento

O objetivo do tratamento da doença de VKH é suprimir a atividade inflamatória ocular e sistêmica. Embora tenham sido relatadas diferenças do tratamento entre diferentes países, a abordagem terapêutica clássica consiste na introdução precoce de corticosteroide em dose imunossupressora (1-1,5 mg/kg/dia) seguida de retirada lenta⁹⁷. A monitorização da retirada de corticosteroides sistêmicos é realizada de acordo com os achados propedêuticos convencionais, ou seja biomicroscopia de segmento anterior e de fundo de olho, e com AF. Trabalhos recentes apontam para a importância da propedêutica complementar com AICV, ERGmf e OCT espectral no seguimento destes pacientes^{18,39,102}. O emprego destes exames revelou aspectos morfológicos e funcionais que apontam para necessidade de propedêutica armada durante o desmame da medicação sistêmica assim como tratamento eventualmente mais agressivo mesmo no estágio tardio da doença.

Recentemente foram propostas outras abordagens, dentre elas o uso de triancinolona intravítrea, implante intravítreo de corticosteróide, o uso de medicamentos biológicos além do uso de imunossupressores como

tratamento inicial^{32,99-101}. No Serviço de Uveítes da Clínica Oftalmológica, HCFMUSP, a maioria dos pacientes na fase aguda é tratada com corticosteróide pela via oral em dose 1-1,5mg/kg/dia. Autores do Japão sugeriram a superioridade do tratamento inicial com pulsoterapia^{3,19}. Fora do Japão as maiorias das análises relataram tratamento inicial por via oral^{2,9,46}.

2.7 Prognóstico

A doença de VKH tem prognóstico geralmente bom. Beniz et al.⁴⁶ demonstraram que 60% dos pacientes alcançaram acuidade visual de 20/40 ou melhor. Similarmente, Rubsamen e Gass² relataram uma série de 26 pacientes com doença de VKH, na qual 66% dos pacientes inicialmente tratados com corticosteroide em dose imunossupressora tinham acuidade visual de 20/30, ou melhor. Hayasaka et al.¹⁰³ reportaram que a maioria dos pacientes necessitou de uma dose inicial de prednisona de 100mg, tendo sugerido que pacientes com acometimento mais pronunciado de segmento anterior sejam abordados mais agressivamente. Nesta série, os autores introduziram 200mg/dia de prednisolona endovenosa por 5 dias como tratamento inicial. Previamente foi relatada incidência de 43% de recorrências no primeiro mês e 52% no sexto mês de doença, associadas à retirada rápida da medicação². No Japão foram descritas proporções variáveis de pacientes que evoluem para cronicidade, variando entre 17,5-40% dos casos²⁰. Em estudos fora do Japão, esta proporção oscila entre 30-

75% dos casos⁶⁵. Esta variação importante na proporção de pacientes evoluindo com surtos reentrantes de iridociclite pode ser atribuída a uma combinação de diferenças nos esquemas terapêuticos e fatores genéticos. Chee et al.¹⁰⁴ constataram em análises sobre os fatores prognósticos em doença de VKH que tratamento inicial precoce e com alta dose de corticosteroides correlacionam com melhor prognóstico. Neste estudo também foram apontados acuidade visual inicial melhor e idade menor como fatores de bom prognóstico.

As características da evolução dos pacientes do Serviço de Uveítes HCFMUSP se encontram sumarizadas na Figura 7. Os pacientes que receberam o tratamento inicial no HCFMUSP iniciaram o corticosteroide 15 dias após o início dos sintomas. A mediana dos períodos necessários para retirada do corticosteroide foi estimada em 16 meses⁴. Cabe ressaltar que muitos pacientes necessitam de corticosteroide por períodos prolongados (até 100 meses), i.e., a distribuição é assimétrica. Conforme a metodologia preconizada atualmente (Padronização da Nomenclatura em Uveítes para Apresentação de Dados Clínicos, do Inglês, *Standardization of Uveitis Nomenclature for Reporting Clinical Data*)¹⁰⁵, ao se analisar os diferentes desfechos em termos de taxas por evento/ano, pode-se constatar que, cerca de três quartos (80%) dos pacientes evoluíram com acuidade visual maior que 20/30 no HCFMUSP no período de 1975 a 2007⁴. As complicações de maior incidência (catarata e sinéquias) são reversíveis, o que pode ser visto no ganho de acuidade em fases tardias das curvas de Kaplan-Meier. Portanto foi possível reabilitar uma parcela importante dos pacientes⁴.

Figura 7. Curvas de Kaplan-Meier representando pacientes com doença de Vogt-Koyanagi-Harada que iniciaram o acompanhamento de maneira precoce (<30 dias) (acima) e tardia (abaixo) do Serviço de Uveítes, HCFMUSP. Pacientes a atingirem acuidades visuais de 0,1, 0,4 e 0,8 logMAR (respectivamente 20/25, 20/40 e 20/200 em escala de Snellen). Embora em velocidade mais lenta, pacientes com início do acompanhamento tardio alcançam acuidades visuais semelhantes ao longo do acompanhamento. Adaptado de da Silva⁴

2.8 O conceito de estágio tardio *versus* fase crônica da doença de Vogt-Koyanagi-Harada

Entre 30-75% dos pacientes evoluem para fase crônica da doença de VKH⁶⁵. Não obstante, foi previamente observado que mesmo pacientes considerados em remissão apresentam alterações pigmentares difusas progressivas¹⁴. A detecção de despigmentação progressiva de segmento posterior sugere envolvimento da coróide/retina na ausência de iridociclite manifesta, ou seja, progressão da doença. Por outro lado há possibilidade de pacientes evoluírem para fase crônica precocemente, por exemplo, após um a três meses de doença². Assim sendo, para melhor análise das alterações clínicas, fundoscópicas e funcionais, definiu-se estágio tardio como mais de seis meses após o início dos sintomas, incluindo pacientes tanto na fase crônica como na fase convalescente da doença. Esta definição cronológica permite avaliar as interrelações entre atividade de segmento anterior e achados da AICV de maneira mais abrangente⁹⁶.

2.9 Avaliação morfológica e funcional da retina de pacientes no estágio tardio da doença de Vogt-Koyanagi-Harada

2.9.1 Avaliação fundoscópica

Retinografias documentam o aspecto do fundo de olho de maneira estática ao capturar imagens coloridas da retina, nervo óptico, vasos e outros constituintes do segmento posterior. Utilizando retinografias padronizadas, incluindo fotografias digitalizadas do pólo posterior, centralizadas na mácula, centralizadas no disco óptico e abrangendo a média periferia (fotografias nas quatro posições cardinais do olhar e nas quatro posições intermediárias) pode-se reconstruir a imagem da retina utilizando o recurso mosaico do sistema de captura de imagens (Figura 8).

Figura 8 - Aspecto fundoscópico de despigmentação difusa e dos achados focais característicos do estágio tardio da doença de Vogt-Koyanagi-Harada. Despigmentação difusa leve (acima-esquerda), moderada (acima-direita) e grave (meio-esquerda). Lesões numulares (meio-direita), acúmulos de pigmento (abaixo-esquerda) e fibrose subretiniana (abaixo-direita). Adaptado de da Silva⁹⁶

2.9.1.1 Avaliação angiográfica

A angiografia fluoresceínica e com indocianina verde convencionais consistem na realização de fotografias do fundo de olho de modo sequencial após a injeção de contraste na circulação venosa do paciente. A angiografia fluoresceínica detalha o fluxo da circulação da retina (e.g.: velocidade, a presença de obstruções, entre outros), o estado da circulação da retina, (e.g.: vazamentos, neovasos, isquemia, entre outros) assim como detalha eventuais defeitos do epitélio pigmentado de retina (defeitos em janela, vazamentos, entre outros). A molécula de fluoresceína sódica tem 354 daltons, permanecendo 80% ligada à albumina (proteína de baixo peso molecular) e 20% livre. A fração livre é aquela que efetivamente é visualizada durante o exame. A molécula de fluoresceína absorve luz na faixa do azul (490 nm) e emite luz na faixa do amarelo (530 nm). Em virtude disto, a luz emitida não atravessa o epitélio pigmentado da retina fazendo com que os vasos da coróide sejam bloqueados em olhos normais.

A molécula de indocianina verde (ICV) tem peso de 775 daltons e circula quase completamente (98%) ligada a lipoproteínas plasmáticas de alto peso molecular. A indocianina verde é excitada (805 nm) e fluoresce (835 nm) com radiação na faixa do infravermelho. No entanto, a diferença crucial entre a AF e AICV reside no fato de a ICV permanecer quase completamente ligada a proteínas de alto peso molecular. A fluoresceína vaza rapidamente e de modo abundante de vasos da retina com pequenas alterações da barreira hemato-retiniana ao passo que a ICV somente vaza em casos de extensa quebra desta barreira. Já na coróide, a ICV vaza

de modo lento e contínuo para coróide, mesmo em estado fisiológico. A radiação emitida facilmente atravessa o epitélio pigmentado da retina uma vez que a radiação emitida se encontra fora do espectro da luz visível. Na fase de recirculação, a ICV fica retida na coróide, sendo lentamente removida da coróide nas fases muito tardias da AICV (30-40 minutos após a injeção inicial). Esta impregnação costuma gerar isofluorescência tardia de aspecto homogêneo na coróide em indivíduos normais. A presença de inflamação na coróide gera alterações nas fases precoce, intermediária e tardia da AICV, que se manifestam como lesões hipo- e/ou hiperfluorescentes. Assim, os principais achados da AICV para investigação de doenças inflamatórias da coróide são obtidas da análise de imagens intermediárias e, sobretudo tardias, ao contrário da análise minuciosa das imagens precoces realizada para investigação de membranas neovasculares subretinianas^{15,18}.

2.9.1.2 Protocolo para captura e análise de imagens angiográficas em pacientes com uveítes

As imagens angiográficas, principalmente aquelas obtidas com a AICV, têm peculiaridades que devem ser observadas quando se analisa exames obtidos em pacientes com doenças inflamatórias oculares. Foi sugerido um protocolo específico para análise das imagens em pacientes com doença de VKH por Herbort et al.¹⁰⁶, Bouchenaki et al.¹⁵ e Tugal-Tutkun et al.¹⁰⁷. Segundo estes protocolos é importante a realização simultânea de AICV e AF, a captura de imagens da médio periferia da retina, assim como a aquisição e análise pormenorizada das imagens tardias

obtidas com a AICV. Este protocolo foi adaptado para a investigação dos pacientes incluídos neste estudo (Figura 9).

Nos pacientes no estágio tardio da doença de VKH, os achados mais importantes indicativos de atividade de doença são: vazamento a partir dos grandes vasos de coróide (borramento dos grandes vasos da coróide, do Inglês, *leaking/fuzzy vessels*), vazamento a partir da coriocapilar (hiperfluorescência difusa tardia, do Inglês, *late diffuse hyperfluorescence*) e pontos de não-perfusão precoce (pontos escuros, do Inglês, *dark dots*). Cabe ressaltar que podem ocorrer pontos escuros devido à fibrose da coróide, porém estes pontos ou áreas de não-perfusão permanecem hipofluorescentes até o término do exame além de coincidirem com áreas de atrofia da coróide e/ou fibrose subretiniana à fundoscopia^{15,18}.

Figura 9 - Mosaico de angiografia com indocianina verde obtido segundo o protocolo para pacientes com uveítes^{15,106,107}

2.9.2 Análise estrutural

Imagens tomográficas, ou seja, cortes transversais da retina podem ser obtidas utilizando aparelhos de tomografia de coerência óptica (OCT). Devido ao fácil acesso óptico às estruturas intraoculares, este exame pode complementar as informações propedêuticas obtidas com a fundoscopia, retinografia, angiografias com fluoresceína e indocianina verde, com a vantagem de prescindir de contrastes endovenosos¹⁰⁸.

As imagens de OCT utilizam o princípio físico da interferometria óptica, também conhecido como o interferômetro de Michelson. A essência dos aparelhos de OCT consiste em dividir raios de energia eletromagnética e enviá-los em diferentes direções. No caso do OCT de segmento posterior, uma parte se direciona rumo ao pólo posterior enquanto outra é direcionada a um espelho de referência. Estes raios são refletidos, captados e recombinados podendo construir imagens a partir dos diferentes graus em que ocorre interferência com a radiação inicialmente emitida³⁶.

2.9.2.1 Tomografia de coerência óptica de terceira geração

Os aparelhos de OCT de terceira geração representaram um grande avanço na propedêutica de pólo posterior ao permitir o diagnóstico mais preciso

e seguimento de doenças da retina, entre elas edema de mácula, membranas neovasculares subretinianas e alterações da interface vítreoretiniana^{35,109}.

O OCT de terceira geração utiliza um detector que capta múltiplos ecos unidimensionais (do Inglês, *A-scans*) e gera imagens bidimensionais (do Inglês, *B-scans*). O espelho de referência é móvel para compensar o efeito da distância variável dos pontos de reflexão, criando múltiplos resultados de interferência em um curto intervalo de tempo (do Inglês, *time-domain*). A fonte emissora varre a retina de forma linear gerando imagens bidimensionais da microestrutura da retina a partir da combinação dos ecos unidimensionais. Processamento digital é aplicado aos ecos unidimensionais para compensar movimentos oculares e filtros são aplicados às imagens pós-processadas para aumentar a razão sinal/ruído (do Inglês, *signal-to-noise ratio*), i.e., artefatos. As características técnicas dos aparelhos de terceira geração permitem a captação de 512 ecos unidimensionais em 1,3 segundos. Estes são gerados a partir da reflexão de emissões de 750 μW , de 840 nm de comprimento e com largura de onda entre 20 e 30 nm. Estas características limitam a acurácia das medidas obtidas com OCTs de terceira geração. A razão sinal/ruído é proporcional à quantidade de ecos unidimensionais obtidos por unidade de tempo. Uma vez que 512 ecos unidimensionais são obtidos por segundo há mais artefatos e a capacidade de detectar diferentes reflectâncias ou distinguir entre diferentes camadas da retina é limitada. A resolução axial da imagem é proporcional a largura de banda emitida, no caso dos OCTs de terceira geração 8 μm . Já a resolução transversal do OCT de terceira geração é de

20 μm . O aparelho determina os limites interno e externo da retina devido a diferenças na reflectância. Os limites interno (o ponto de retardo zero, do Inglês, *point of zero delay*), i.e., a interface vítreo-retiniana que corresponde à membrana limitante interna, e externo, i.e., linha hiperrefletiva que corresponde ao epitélio pigmentado da retina, podem ser erroneamente identificados em situações de desorganização estrutural vultosa. Movimentos oculares fazem com que imagens de regiões não adjacentes da retina sejam misturadas durante o pós-processamento dos ecos. Além disso, em virtude de o aparelho rastrear a retina de maneira linear, os mapas de espessura macular e outras modalidades de imagem tridimensionais são feitas por interpolação, no caso dos mapas de espessura macular, o mapa de espessura é construído a partir de apenas seis linhas.

Em resumo, as imagens obtidas com OCTs de terceira geração apresentam limitações: em discernir entre as diferentes camadas da retina, em obter imagens de pacientes com dificuldade de fixação e na interpretação de exames em olhos com alterações sutis da retina externa.

2.9.2.2 Tomografia de coerência óptica espectral ou de quarta geração

O aparecimento de aparelhos de OCT espectral ou de quarta geração a partir de 2004 permitiu aperfeiçoamento na avaliação das doenças da retina. Os principais avanços em relação aos precursores ocorreram em termos de maior rapidez na aquisição, maior definição, melhor

resolução e melhor reprodutibilidade das imagens devido ao acoplamento com o oftalmoscópio de varredura a laser (cSLO).

O OCT espectral utiliza espelho de referência estático e o detector é um espectrômetro que utiliza variação na largura de onda como método para multiplicação dos estímulos em determinado intervalo de tempo. O método matemático conhecido como transformada de Fourier (técnica de cálculo diferencial/integral, que decompõe determinada função sinusoidal em múltiplas outras funções, ampliando a quantidade de parâmetros obtidos por ponto estimulado), é utilizado para obtenção da profundidade de cada ponto, aumentando a velocidade de aquisição de imagens para 40.000 ecos unidimensionais por segundo. O acoplamento ao cSLO permite a aplicação da tecnologia de rastreamento ocular (do Inglês, *eye-tracking technology*). Aplicando esta tecnologia, o olho é rastreado a cada instante. Isto permite a localização exata de estruturas em exames sequenciais, comparação exata das estruturas visualizadas nas diferentes modalidades de imagem (AF, AICV, OCT, aneritra, autofluorescência e reflectância na faixa infra-vermelha), evita borramento da imagem e permite que os ecos sejam medidos de pontos realmente adjacentes, evitando a sobreposição de pontos distantes durante o pós-processamento. As características técnicas geram imagens com resoluções axial e transversal de respectivamente 3,5 μm e 14 μm , ou seja, com maior detalhamento que os aparelhos de terceira geração. O diodo superluminescente emite radiação infra-vermelha com largura de banda de 150 nm, centralizadas em 890 nm de comprimento de onda. Porém, embora o espelho referência seja estático, a largura de banda

é variável, e isto é aproveitado em intervalos milimesimais de segundo, gerando infinitésimos ecos por segundo. Junto com a maior velocidade de aquisição de imagens, a razão sinal/ruído e definição das diferentes camadas da retina se tornam maiores.

Em virtude de apresentar definição axial maior, permite visualizar a retina externa, inclusive o epitélio pigmentado da retina e camada de fotorreceptores, além de isoladamente analisar diferentes camadas da retina (Figura 10)³⁶. Na fase crônica da doença de VKH, estudos com OCT espectral apresentam alterações do epitélio pigmentado da retina e retina externa que coincidem com os achados histopatológicos, ou seja, aglomeração de células do epitélio pigmentado da retina (EPR) e dano ao segmento externo dos fotorreceptores subjacentes (Figura 9)⁴⁰.

Figura 10 - Imagens tomográficas da mácula obtidas com a tomografia de coerência óptica de terceira geração (esquerda) e com a tomografia de coerência óptica espectral (direita). Junção dos segmentos interno e externo dos fotorreceptores visível no OCT espectral (flecha)

2.9.3 Avaliação funcional da retina

Exames eletrofisiológicos oculares procuram medir de maneira objetiva a função dos diferentes componentes da retina. Os diferentes exames investigam mais pormenorizadamente o funcionamento de determinada estrutura, e.g., o eletrorretinograma de padrão reverso investiga a camada de células ganglionares, o eletrooculograma investiga o epitélio pigmentado da retina, entre outros.

2.9.3.1 Eletorretinograma de campo total

O ERGct representa o registro da resposta da retina aos estímulos luminosos emitidos em cúpula de estimulação (cúpula de Ganzfeld). As diferentes respostas do exame são geradas a partir da apresentação sequencial de estímulos com luminâncias diferentes. Os fotorreceptores (cones e bastonetes) são as estruturas da retina com a principal contribuição nestas respostas. Portanto, o ERGct contempla a função global da retina dando ênfase à função dos fotorreceptores e retina externa. A implicação destas características são a alta especificidade (i.e., alterações apenas ocorrem em casos de dano extenso aos fotorreceptores) e baixa sensibilidade (i.e., mesmo pacientes com lesões maculares extensas podem ter resultados normais ao exame) do ERGct. Além disso, o ERGct é um dos exames eletrofisiológicos mais acessíveis e um dos poucos com a capacidade de medir a função de bastonetes.

2.9.3.1.1 Componentes do eletrorretinograma de campo total

Embora as descrições iniciais de atividade elétrica ocular datem de 1850, as aplicações clínicas do ERGct começaram a surgir na literatura a partir de 1940. A metodologia e técnica do exame permanecem muito constantes desde seus primórdios. O exame foi padronizado pela primeira vez em 1989 pela Sociedade Internacional de Eletrofisiologia Clínica da Visão (do Inglês, *International Society for Clinical Electrophysiology of Vision* ou *ISCEV*). Os padrões para realização do exame são revisados a cada três anos e se encontram à disposição do público (<http://www.iscev.org>).

O ERGct tem duas fases distintas, fases escotópica e fotópica. A fase escotópica requer a adaptação ao escuro por 20 minutos e destina-se à investigação da função de bastonetes. A fase fotópica em contrapartida visa investigar a função de cones, e para tal, o paciente deve ser adaptado ao claro por 10 minutos. Cinco respostas são gravadas ao longo das duas fases, cada qual gerando ondas próprias. A fase escotópica gera três respostas (1. escotópica 2. escotópica máxima e 3. potencial oscilatório) e a fase fotópica gera duas (4. fotópica e 5. flicker de 30 Hertz (Hz)). As respostas são analisadas em termos de amplitude (medida em μV) e latência (medida em ms) (Figura 11).

Figura 11 - Fases e respostas do eletrorretinograma de campo total e principais estruturas da retina envolvidas em cada etapa

As respostas podem ser entendidas em termos das estruturas da retina com contribuição predominante em sua geração. A fase escotópica gera a onda *b*, positiva, a qual reflete a função de bastonetes. A resposta escotópica máxima gera a onda *a*, negativa, e a onda *b*, positiva. Ambas refletem a resposta combinada de cones e bastonetes, sendo que enquanto a onda *a* depende predominantemente dos fotorreceptores (retina externa) a onda *b* depende da atividade de células bipolares e células amácrinas (retina interna). Os potenciais oscilatórios refletem a função de células bipolares e amácrinas (retina interna). A estimulação fotópica gera ondas *a* e *b*, a primeira relacionada à atividade de cones e a última às células bipolares.

Por último, o flicker de 30 Hz reflete a função da via *on-off* pós-receptoral gerada pelas células bipolares e amácrinas¹¹⁰.

2.9.3.2 Eletroretinograma multifocal

O ERGmf visa fornecer informação topográfica da função fotópica macular retiniana pelo registro e medida de sinais obtidos de múltiplas áreas da retina central. Os estímulos, constituídos por 61 hexágonos, são apresentados sequencialmente abrangendo 30° da retina centrados no ponto de fixação (pólo posterior). Estes hexágonos são escalonados de modo a contemplarem áreas equiparáveis dos 30° centrais. Uma vez que a densidade de cones é maior centralmente, as amplitudes das respostas decrescem centrifugamente. O registro tridimensional reflete a maior concentração de cones nas porções centrais da mácula (Figura 12).

2.9.3.2.1 Componentes do eletroretinograma multifocal

O ERGmf é registrado em situação fotópica. Para cada hexágono é gerada uma resposta, que se constitui de duas ondas sucessivas: N1 (negativa) e P1 (positiva). Assim como no ERGct, as respostas são analisadas em termos de amplitude e latência. As ondas N1 e P1 correspondem (embora não sejam equivalentes) às ondas *a* e *b* da resposta fotópica do ERGct, ou seja, refletem a função de cones e células bipolares respectivamente em termos de amplitude e latência¹¹¹.

Figura 12 - Componentes do eletrorretinograma multifocal. Mediana das ondas N1 e P1 dos 61 hexágonos estimulados, utilizada para análise das respostas maculares nesta tese. Abaixo, traçados das ondas N1 e P1 para cada hexágono (aqui artificialmente segmentados em 103 hexágonos) e gráficos em três dimensões representando as respostas topográficas. Exame normal à esquerda e de paciente com disfunção macular grave à direita

3 OBJETIVOS

3.1 Objetivo geral

Este estudo tem por objetivo caracterizar morfolologicamente e funcionalmente as alterações observadas no fundo de olho de pacientes com a doença de VKH no estágio tardio, definido como 6 meses ou mais após o início da doença.

3.2 Objetivos específicos

- 1 Desenvolver um sistema de classificação analítica das alterações fundoscópicas que permita a estratificação de pacientes a partir da análise global dos achados fundoscópicos e validar este sistema ao averiguar se esta estratégia reflete medidas objetivas de disfunção retiniana com o eletrorretinograma de campo total,
- 2 Caracterizar e analisar as alterações angiográficas detectadas com a angiografia fluoresceínica, com a indocianina verde e comparar os achados angiográficos com alterações fundoscópicas e parâmetros clínicos,

- 3 Caracterizar as alterações maculares funcionais documentadas com o eletrorretinograma multifocal e as alterações estruturais detectadas com a tomografia de coerência óptica espectral,
- 4 Comparar as alterações funcionais e estruturais maculares com a acuidade visual assim como estimar a concordância das estratégias funcional e estrutural de avaliação macular.

4 MÉTODOS

4.1 Tipo de estudo

Este estudo foi realizado de maneira observacional, transversal e prospectiva. Os pacientes foram examinados no período entre março de 2007 e dezembro de 2010.

O projeto de pesquisa desta tese foi aprovado pelo comitê de ética institucional (Comissão de Ética para Análise de Projetos de Pesquisa do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo, CAPPesq, aprovação nº 0768/07) (Anexo A).

4.2 População e amostra

Foram incluídos 36 pacientes (68 olhos) com diagnóstico de doença de VKH, segundo os Critérios Diagnósticos Revisados do Comitê Internacional de Nomenclatura, em acompanhamento no Setor de Uveítes, Clínica Oftalmológica, HCFMUSP por pelo menos 6 meses. Os pacientes foram submetidos aos exames de retinografia, angiografia fluoresceínica, angiografia com indocianina verde, eletrorretinograma de campo total, eletrorretinograma multifocal e tomografia de coerência óptica espectral,

após concordarem em participar no estudo e assinarem termo de consentimento livre e esclarecido (Anexo B).

A atividade clínica de segmento anterior foi classificada de acordo com as normas do Grupo de Trabalho para Padronização da Nomenclatura em Uveítes¹⁰⁵. Os pacientes foram subdivididos em inativos (com doença em remissão ou inativa) ou ativos (melhora ou piora no grau de atividade). Nesta análise também foi considerado o tratamento inicial. O tratamento foi considerado precoce e em alta dose nos pacientes recebendo tratamento antes de completar 30 dias do início dos sintomas e em doses de corticosteroide $\geq 1\text{mg/kg/dia}$, com retirada gradativa em no mínimo 6 meses. As outras modalidades de tratamento foram consideradas de início tardio (>30 dias do início dos sintomas), em baixa dose ($<1\text{mg/kg/dia}$ de corticosteróide) e/ou com retirada abrupta (<6 meses após o início do tratamento). Os pacientes foram analisados quanto ao tipo de tratamento recebido, i.e. colírios, corticosteróides e/ou imunossupressores no momento do exame de AICV.

4.2.1 Critérios de exclusão

Foram excluídos pacientes com opacidades de meios que impedissem a avaliação do segmento posterior. Para análise funcional (ERGct e ERGmf), foram também excluídos os pacientes com midríase inadequada (<7 mm, de acordo com os critérios estabelecidos pela Sociedade Internacional de Eletrofisiologia Clínica da Visão - ISCEV), meios opacos (catarata ou

opacidades vítreas tênues), erros de refração superiores a 5 dioptrias de miopia ou 5 dioptrias de hipermetropia e glaucoma (definido como dano característico ao nervo óptico ou defeitos característicos de campo visual acompanhados de defeitos de camada de fibras nervosas compatíveis).

Além destes critérios definidos no início do estudo, alguns pacientes foram excluídos em virtude de: não comparecimento no dia do exame, exame realizado inadequado para análise, alergia ao contraste, troca do equipamento Topcon para Spectralis HRA+OCT, afacia, dificuldade na punção venosa e defasagem de tempo para inclusão no estudo.

4.3 Procedimentos e técnicas

4.3.1 Retinografia colorida

4.3.1.1 Técnica de exame

As alterações fundoscópicas macroscópicas foram documentadas com retinografias padronizadas incluindo fotografias digitalizadas do pólo posterior, centralizadas na mácula, centralizadas no disco óptico e abrangendo a média periferia ao fotografar o fundo nas 4 posições cardinais do olhar e nas 4 posições intermediárias. As retinografias (RGs) foram feitas com retinógrafo acoplado ao sistema de digitalização de fotografias com iluminação, intensidade de flash e luminosidade de fundo padronizadas (Retinógrafo, TRC 50-X, TOPCON Inc, Tóquio, Japão; sistema de digitalização Imagenet, 50X, Imagenet Systems, TOPCON Inc, Tóquio, Japão).

4.3.1.2 Padronização dos achados retinográficos

As retinografias foram avaliadas da maneira mascarada por dois examinadores independentes (Drs. Carlos Eduardo Hirata e Joyce Hisae Yamamoto) quanto à presença de achados previamente definidos conforme a Figura 8 (pág. 35).

A presença e a intensidade da despigmentação difusa do fundo de olho (*sunset-glow fundus*) em combinação com outros três parâmetros foram

utilizados para classificação fundoscópica dos pacientes: 1. presença de acúmulo de pigmento em $\geq$ três quadrantes, 2. presença de lesões numulares em $\geq$ três quadrantes, e 3. presença de fibrose subretiniana (peripapilar ou em outros locais) (Tabela 4). Também foi estimada a prevalência da razão de área de atrofia peripapilar por área discal maior que dois. Os pacientes foram subdivididos em três grupos de acordo com os achados fundoscópicos: leve, moderado e grave. Pacientes com fundo de olho leve foram definidos como aqueles com despigmentação leve ou moderada sem outros achados fundoscópicos focais. Pacientes com fundo de olho moderado tinham despigmentação difusa moderada ou grave com um achado focal. Pacientes com alterações graves tinham despigmentação moderada ou grave acompanhada de dois ou mais achados focais.

Tabela 4 - Classificação analítica dos achados fundoscópicos

Graduação global			
Leve	Moderado	Grave	
Descrição dos achados			
Achados difusos			
Despigmentação difusa	Leve ou moderada	Moderada ou grave	Moderada ou grave
Achados focais			
Lesões numulares em ≥ 3 quadrantes	Nenhum	Um	Ao menos dois
Acúmulos pigmentares ≥ 3 quadrantes			
Fibrose subretiniana			

4.3.1.3 Análise estatística

A concordância entre os observadores referentes a cada um dos achados individuais (i.e., despigmentação difusa de fundo, acúmulo de pigmentos $\geq$ três quadrantes e lesões numulares $\geq$ três quadrantes e fibrose subretiniana) foi estimada com o teste *kappa*.

4.3.2 Angiografia fluoresceínica

4.3.2.1 Técnica de exame

As RG, AF e AICV foram analisadas conjuntamente. A angiografia fluoresceínica foi realizada utilizando o mesmo retinógrafo e sistema de captura digital de imagens utilizado para as retinografias (Retinógrafo, TRC 50-X, TOPCON Inc, Tóquio, Japão; sistema de digitalização Imagenet, 50X, Imagenet Systems, TOPCON Inc, Tóquio, Japão).

Foram injetados 5 ml endovenosos do corante fluoresceína sódica a 20% (Ophthalmos, São Paulo, SP, Brasil) diluídos em 7,5 ml de água destilada na veia cubital. Após 8 segundos de circulação braço-olho, foram capturadas as imagens nos diferentes tempos de circulação do corante pelos vasos da coróide e retina, ou seja, fases coroidal (8-12 segundos), arterial (12-20 segundos), arteriovenosa (20-25 segundos), venosa (30-40 segundos), intermediária (3-5 minutos) e a fase tardia (até 5-10 minutos). O sistema Imagenet de captura de imagens foi utilizado para armazenamento

das imagens de imediato. Após selecionar as imagens de melhor qualidade, o exame foi gravado.

4.3.2.2 Padronização dos achados fluoresceinográficos

A análise das AFs contemplaram os seguintes aspectos: a presença de hiperfluorescência por defeito em janela, por impregnação e por vazamento, assim como hipofluorescência por bloqueio e não-perfusão.

4.3.2.3 Análise dos achados fluoresceinográficos

Os achados do exame de AF foram analisados de maneira mascarada por um especialista em retina (Dr. Rogério Alves Costa). Os achados fluoresceinográficos foram avaliados de maneira descritiva segundo critérios pré-determinados, de maneira dicotômica (presença *versus* ausência). Não foram aplicados testes estatísticos uma vez que sua distribuição foi homogênea.

4.3.3 Angiografia com indocianina verde

4.3.3.1 Técnica de exame

As AICVs foram realizadas após a injeção endovenosa de 25 mg de indocianina verde diluídos em 7,5 ml de água destilada. A observação da fase precoce se concentrou no pólo posterior e se restringiu até os primeiros dois a três minutos, realizando retinografias de ambos os olhos, iniciando pelo olho com alterações fundoscópicas mais proeminentes. A intensidade

do flash oscilou em torno de 200, dependendo do grau de despigmentação do fundo de olho. Logo após, foram realizadas retinografias da periferia seguindo a mesma ordem aplicada às retinografias coloridas, totalizando 11 fotos nesta fase. Na fase intermediária dos exames de AICV foram realizadas as AFs. Finalmente, as AICVs terminaram com retinografias tardias aos 40 ± 10 minutos, seguindo a seqüência da fase intermediária utilizando flash máximo de 300.

4.3.3.2 Padronização dos achados da angiografia com indocianina verde

Os achados das AICVs foram simplificados, contemplando pontos hipofluorescentes que se tornassem iso- ou hiperfluorescentes ao longo do exame (pontos escuros, do Inglês, *dark dots*), borramento dos grandes vasos da coróide (do Inglês, *leaking/fuzzy vessels*) e vazamento a partir da coriocapilar (hiperfluorescência difusa tardia, do Inglês, *late diffuse hyperfluorescence*) (Figura 13). Na presença de dois ou mais achados, o exame foi considerado positivo (indicativo de atividade subclínica da doença com envolvimento da coróide).

Os achados individuais assim como o resultado global dos exames (positivo/negativo) foram correlacionados com atividade clínica da doença, gravidade estimada pela análise fundoscópica e parâmetros clínicos.

Figura 13 - Angiografia com indocianina verde nas fases precoce, intermediária e tardia (da esquerda para direita), mostrando respectivamente borrimento dos grandes vasos, pontos hipofluorescentes e hiperfluorescência difusa tardia (flechas)

4.3.3.3 Análise dos achados da angiografia com indocianina verde

Os achados do exame de ICGA foram analisados de maneira mascarada por um especialista em retina (Dr. Rogério Alves Costa). A distribuição dos diferentes sinais e positividade ao exame de AICV foi analisada com o teste de razão de chances entre os três diferentes grupos de gravidade fundoscópica da doença (do Inglês, *likelihood ratio test*). A correlação entre a atividade de doença em segmento anterior e resultado da AICV foi estimada com o teste exato de Fisher. Análise de regressão logística foi aplicada para análise das correlações transversais da positividade da AICV com os fatores atividade clínica de segmento anterior, uso de corticosteróides e gravidade fundoscópica da doença. A análise dos dados foi realizada utilizando o programa SPSS, versão 15.0 (SPSS Science, Chicago, Illinois, Estados Unidos da América). O nível de significância foi pré-estabelecido em $p < 0,05$.

4.3.4 Tomografia de coerência óptica

4.3.4.1 Técnica de exame

As tomografias de coerência óptica espectral (OCT espectral) foram feitas com o Spectralis HRA+OCT system (Heidelberg Engineering, Heidelberg, Alemanha). Todos os exames foram realizados pelo mesmo tecnólogo oftálmico (Ricardo Fernandes). As varreduras (do Inglês, *scans*) foram feitas ao longo dos planos vertical e horizontal centrados na fóvea (1536 a-scans, ângulo de 30°, comprimento de 9 mm). Os *scans* foram obtidos utilizando o sistema automatizado de filtragem (do Inglês, *automated averaging system, ART 14*), de modo a amplificar o sinal e reduzir os ruídos dentro do sistema.

4.3.4.2 Padronização dos achados da tomografia de coerência óptica espectral

A avaliação dos achados obtidos com o OCT espectral se restringiu à avaliação da integridade da IS/OS. Foram analisados os *scans* vertical e horizontal perpendiculares centrados na fóvea por 3 leitores (Rogério Alves Costa, Joyce Hisae Yamamoto e Felipe Gaspar). Os *scans* lineares foram avaliados utilizando o sistema Heidelberg Eye Explorer Software, versão 1.6.2.0. (Heidelberg Engineering, Heidelberg, Alemanha). As imagens foram avaliadas no modo branco-em-preto (do Inglês, *white-on-black*).

4.3.4.3 Análise dos achados obtidos com a tomografia de coerência óptica espectral

O estado da IS/OS foi considerado preservado (IS/OS+) se sua detecção fosse possível ao longo de pelo menos $\frac{3}{4}$ (75%) dos dois *scans* maculares combinados. A junção foi considerada danificada (IS/OS-) se fosse indetectável ao longo de mais de $\frac{1}{4}$ (25%) da extensão dos *scans* maculares (Figura 14).

Figura 14 - Retinografia, imagem de autoreflectância com luz infravermelha e tomografia de coerência óptica espectral de pacientes com junção dos segmentos interno e externo dos fotorreceptores íntegra (acima, seta branca) e danificada (abaixo)

4.3.5 Eletrorretinograma de campo total

4.3.5.1 Técnica de exame

O ERGct foi realizado com o aparelho RETIport e cúpula de estimulação de Ganzfeld (RETIport system- Roland Consult,

Eletrophysiological Diagnostic Systems, Brandenburgo, Alemanha). Estes exames foram realizados binocularmente, com dilatação pupilar máxima e com eletrodos corneanos do tipo ERG-jet (Universe SA, La Chaux-de-Fons, Suíça) e com eletrodos de pele posicionados de acordo com as diretrizes da Sociedade Internacional de Eletrofisiologia Visual (do Inglês, *International Society for Clinical Electrophysiology of Vision* ou *ISCEV*)¹¹⁰. Os pacientes foram adaptados ao escuro por 20 minutos antes da gravação dos potenciais escotópicos e por 10 minutos ao claro antes da gravação dos potenciais fotópicos e flicker de 30 Hz. Os potenciais foram gravados na seguinte ordem: escotópico, escotópico máximo, potencial oscilatório, fotópico e flicker de 30 Hz. Para cada fase foi registrada uma resposta. Os resultados de 37 indivíduos (61 olhos) ajustados para idade e gênero obtidos sob as mesmas condições foram utilizados como controles.

4.3.5.2 Padronização dos achados do eletrorretinograma de campo total

As amplitudes dos potenciais escotópicos, potenciais fotópicos e a soma dos potenciais oscilatórios dos exames fora da faixa da normalidade foram submetidas conjuntamente à análise por aglomeração (do Inglês, *cluster*). Os olhos foram subdivididos matematicamente em três grupos, em ordem crescente de desvio da normalidade. As latências tinham resultados muito próximos nos três diferentes grupos e sua inclusão

tornaria os grupos menos distintos mediante a aplicação da técnica de *cluster*, uma vez que as amplitudes tendem a aumentar e as latências a diminuir proporcionalmente à gravidade.

4.3.5.3 Análise dos achados do eletrorretinograma de campo total

Os resultados obtidos com o ERGct foram submetidos à estratégia de agrupamento em *clusters*. Os pacientes foram subdivididos em três subgrupos de acordo com as amplitudes combinadas das ondas de todas as fases do exame. Os três grupos de gravidade eletrorretinográfica foram comparados com os grupos estratificados pela estratégia fundoscópica utilizando o teste de múltiplas comparações de Bonferroni. A concordância entre as estratégias de estratificação fundoscópica (RGs) e funcional (ERGct com *cluster*) foi estimada com o teste *Kappa* com intervalo de confiança de 95%. A comparação dos resultados das amplitudes e latências dos grupos estratificados com a estratégia eletroretinográfica (ERGct) e pela estratégia fundoscópica (RGs) foi feita com o teste de análise de variância (ANOVA).

4.3.6 Eletrorretinograma multifocal

4.3.6.1 Técnica de exame

O ERGmf foi realizado utilizando eletrodos ERG-jet (Universe SA, La Chaux-de-Fons, Suíça) e o sistema RETI-scan (Roland Consult, Electrophysiological Diagnostic Systems- Brandenburgo, Alemanha) de

acordo com as diretrizes da ISCEV. Em resumo, os pacientes foram submetidos aos estímulos multifocais (com passagem de banda entre 10 e 300 Hz) após 10 minutos de adaptação à luz, apresentados na sequência-m modificada. Durante os 8 minutos de gravação das respostas, os 61 hexágonos de estimulação foram calibrados para emitir luminância média de 103 cd/m^2 e contraste superior a 90%. As respostas foram analisadas com rejeição aos artefatos. Os resultados de 37 indivíduos ajustados para idade e gênero (61 olhos) obtidos sob as mesmas condições foram utilizados como controles.

4.3.6.2 Padronização dos achados do eletrorretinograma multifocal

A mediana das amplitudes dos 61 hexágonos centrados na fóvea das ondas N1 e P1 foram utilizados para análise do ERGmf. Os pacientes foram estratificados utilizando a técnica *cluster* em grupos leve e grave (divisão em dois grupos utilizando unicamente a magnitude das ondas N1 e P1). As latências destas ondas foram excluídas uma vez que dimensionalmente a inclusão resultaria em grupos menos distintos, pois ao contrário do que ocorrem com as amplitudes, as latências tendem a aumentar em pacientes mais graves.

4.3.6.3 Análise dos achados do eletrorretinograma multifocal

Os valores obtidos para os 61 hexágonos individuais dos pacientes subdivididos em grupos leve e grave foram tabulados em escala x/y contrastando com os valores normativos para análise visual. Análise utilizada para comparação entre controles e doentes.

4.3.7 Medida da acuidade visual

Para fins de análise estatística, a acuidade visual, inicialmente aferida na escala decimal (i.e, de Snellen), foi convertida para a escala logMAR (do Inglês, *logarithm of the Minimal Angle of Resolution*).

4.3.8 Análise da correlação morfo-funcional macular: concordância entre estratificação eletrofisiológica e morfológica da mácula em pacientes no estágio tardio da doença de Vogt-Koyanagi-Harada e suas correlações com a acuidade visual

O grau de concordância entre as medidas do OCT espectral e ERGmf foi estimada utilizando o teste *kappa*. A acuidade visual mediana em escala logMAR entre os grupos estratificados pelas estratégias morfológica (OCT espectral) e os *clusters* estratificados com a estratégia funcional (ERGmf) foram estimadas e comparadas aplicando o teste de Mann-Whitney.

5 RESULTADOS

5.1 Pacientes incluídos por etapa da investigação

Foram incluídos 36 pacientes (68 olhos) com diagnóstico de doença de VKH segundo os Critérios Diagnósticos Revisados do Comitê Internacional de Nomenclatura, em acompanhamento no Setor de Uveítes, Clínica Oftalmológica, HCFMUSP, por pelo menos seis meses. As características clínicas destes pacientes se encontram na Tabela 5.

Tabela 5 - Características clínicas dos pacientes no estágio tardio da doença de Vogt-Koyanagi-Harada, Setor de Uveítes, HCFMUSP entre 2007 e 2010

Descrição	
N (olhos)	36 (68)
Idade, anos, mediana (mín-máx)	39 (19-67)
Gênero masculino, n	8
Classificação de acordo com os Critérios Diagnósticos Revisados ^a	
Completo, n (pacientes)	6
Incompleto, n	20
Provável, n	10
Duração da doença, meses, mediana (mín-máx)	61 (9-348)
Atividade de doença ^b	
Inativa, n (olhos) ^c	25
Ativa, n	43
Medicação sistêmica, n (pacientes)	17
Corticosteróide, n	12
Imunossupressor, n	8

^a Revised Diagnostic Criteria of the International Nomenclature Committee⁵¹

^b Standardization of Uveitis Nomenclature¹⁰⁵

^c Doença inativa por ≥ 3 meses após suspensão de todas modalidades de tratamento para doença ocular

Este estudo foi realizado durante o período de março de 2007 a outubro de 2010 e nem todos os pacientes foram incluídos em todas as etapas do mesmo pelos seguintes motivos: não comparecimento; exame inadequado; alergia ao contraste; troca de equipamento; dificuldade na punção venosa, defasagem de tempo para inclusão e catarata. Desta forma a Tabela 6 resume o número de pacientes incluídos em cada etapa do estudo. Dados individuais de cada paciente estão representados no Anexo C.

Tabela 6 - Número de pacientes submetidos aos exames complementares, estágio tardio da doença de Vogt-Koyanagi-Harada, Setor de Uveítes, HCFMUSP entre 2007 e 2010

	Pacientes, n (olhos)
Gravidade segundo critérios fundoscópicos e eletrorretinográficos (ERGct)	25 (47)
Retinografia, AFG e ICGA	28 (51)
Alterações funcionais (ERGmf) e estruturais (SOCT) dos fotorreceptores	23 (42)

5.2 Classificação de gravidade de doença de Vogt-Koyanagi-Harada no estágio tardio segundo critérios fundoscópicos

Vinte e cinco pacientes (47 olhos) preencheram os critérios para análise fundoscópica e eletrorretinográfica. As retinografias obtidas segundo metodologia padronizada foram analisadas por dois examinadores independentes (Drs. Carlos Eduardo Hirata e Joyce Hisae Yamamoto). As prevalências dos achados selecionados foram de 38% (18/47) para despigmentação difusa grave, de 77 % (36/47) para razão da área de atrofia peripapilar sobre área discal maior que dois, de 19% (9/47) para lesões numulares em ao menos três quadrantes, de 38% (18/47) para acúmulos de pigmento em ao menos três quadrantes e de 32% (15/47) para fibrose subretiniana. Houve concordância substancial entre os observadores ($kappa=0,78$; intervalo de confiança 95%(IC 95%) 0,63-0,93). Os achados individuais foram analisados quanto à concordância (Tabela 7). Fibrose subretiniana foi o único achado isolado com concordância inter-observadores maior que a análise fundoscópica global ($kappa=0,8$; IC 95% 0,59-1,01). Nesta mesma análise, despigmentação difusa foi o achado com avaliação mais discrepante entre observadores ($kappa=0,33$; IC 95% 0,14-0,52).

Tabela 7 - Concordância inter-observadores dos achados fundoscópicos em pacientes no estágio tardio da doença de Vogt-Koyanagi-Harada. Valores obtidos com o teste *kappa* e seus respectivos intervalos de confiança 95%, Setor de Uveítes, HCFMUSP entre 2007 e 2010

Achados fundoscópicos	<i>Kappa</i>	IC (95%)
Alteração pigmentar difusa (<i>sunset-glow fundus</i>)	0,33	0,14-0,52
Relação área de atrofia peripapilar/disco óptico > 2	0,59	0,35-0,83
Lesões numulares ≥ 3 quadrantes	0,54	0,24-0,84
Acúmulos de pigmento ≥ 3 quadrantes	0,61	0,39-0,84
Fibrose subretiniana	0,80	0,59-1,01
Estratificação fundoscópica	0,78	0,63-0,93

5.3 O eletrorretinograma de campo total e seus *clusters*

Vinte e cinco pacientes (47 olhos) foram submetidos à estratificação eletrorretinográfica. O grupo controle consistiu de pessoas sem doença ocular, pareadas para sexo e idade (61 olhos). Os resultados das amplitudes das ondas *a* e/ou *b* na fases escotópica, escotópica máxima e fotópica assim como a soma dos potenciais oscilatórios (OP1, OP2 e OP3) e flicker 30 Hz foram diferentes entre pacientes e controles ($p < 0,05$). Os resultados da estratificação dos pacientes de acordo com o ERGct em três grupos está descrita na Tabela 8. As amplitudes das ondas *a* e/ou *b* na fases escotópica, escotópica máxima, e fotópica assim como a soma da amplitude dos componentes dos potenciais oscilatórios e flicker 30 Hz foram diferentes entre os três grupos ($p < 0,05$).

Tabela 8 - Parâmetros do eletrorretinograma de campo total (ERGct) nos 3 grupos de pacientes com doença de Vogt-Koyanagi-Harada estratificados com a estratégia *cluster*, e nos controles, Setor de Uveítes, HCFMUSP entre 2007 e 2010

ERGct	Controles	Pacientes		
		ERGct leve	ERGct moderado	ERGct grave
N, olhos	61	11	18	18
Escotópica				
Onda <i>b</i>				
latência (ms) ^a	77,0 (70,0-86,0)	78,6 (70,0-93,0)	82,8 (70,0-93,0)	82,8 (70,0-92,0)
amplitude (μV) ^b	211,0 (114,0-366,0)	203,3 (161,0-225,0)	117,5 (63,3-181,0)	43,5 (0-61,2)
Escotópica máxima				
Onda <i>a</i>				
latência (ms) ^c	22,0 (18,0-23,0)	20,8 (17,0-23,0)	22,1 (17,0-26,0)	20,8 (17,0-25,0)
amplitude (μV) ^b	267,0 (211,0-440,0)	267,8 (214,0-318,0)	152,1 (57,6-233,0)	50,5 (1,61-107,0)
Onda <i>b</i>				
latência (ms) ^c	44,0 (36,0-50,0)	43,5 (36,0-48,0)	48,3 (39,0-55,0)	50,6 (45,0-59,0)
amplitude (μV) ^d	510,0 (348,0-789,0)	530,5 (420,0-634,0)	386,9 (264,0-459,0)	164,4 (58,1-249,0)
Potencial oscilatório(μV)^b	120,9 (92,3-227,9)	130,9 (97,7-208,0)	69,8 (25,1-117,5)	30,4 (5,6-60,9)
Fotópica				
Onda <i>a</i>				
Latência (ms) ^d	15,0 (14,0-17,0)	15,5 (15,0-16,0)	16,8 (15,0-19,0)	16,9 (16,0-19,0)
amplitude (μV) ^d	49,8 (33,6-89,5)	49,7 (37,3-60,1)	30,1 (1,37-49,1)	17,1 (2,45-30,2)
Onda <i>b</i>				
latência (ms) ^b	31,0 (27,0-34,0)	30,1 (28,0-31,0)	32,4 (28,0-38,0)	34,9 (30,0-41,0)
amplitude (μV) ^b	227,0 (106,0-367,0)	251,0 (183,0-340,0)	145,3 (74,6-237,0)	85,6 (32,1-163,0)

Parâmetros do ERGct representados como mediana (mínimo-máximo). Teste das comparações múltiplas de Bonferroni ^a $p < 0,05$ entre todos os grupos exceto grupos grave e moderado; ^b $p < 0,05$ entre todos os grupos exceto controles e pacientes com doença leve; ^c $p > 0,05$ entre todos os grupos; ^d $p < 0,05$ entre todos os grupos, exceto controles e pacientes com doença leve assim como entre pacientes com doença moderada e grave. Os controles não foram contemplados na estratégia eletrorretinográfica de estratificação

5.4 Correlação entre gravidade fundoscópica e eletrorretinograma de campo total

Os vinte e cinco pacientes (47 olhos) submetidos às análises fundoscópica (item 5.2) e eletrorretinográfica (item 5.3) foram submetidos à aferição da concordância entre as duas estratégias de estratificação. A concordância entre os métodos previamente descritos foi substancial ($kappa=0,68$; IC 95% 0,52-1,07) (Tabela 9).

Estes dados estão resumidos no trabalho *Fundus-based and electroretinographic strategies for stratification of late-stage Vogt-Koyanagi-Harada disease patients*⁹⁶ (Anexo D).

Tabela 9 - Concordância entre as estratégias fundoscópica e eletrorretinográfica de estratificação dos pacientes no estágio tardio da doença de Vogt-Koyanagi-Harada, Setor de Uveítes, HCFMUSP entre 2007 e 2010

Fundoscopia ERG ct	Leve	Moderado	Grave	Total
ERG leve	9	2	0	
ERG moderado	4	14	0	
ERG grave	0	4	14	
				47

$kappa=0,68$

5.5 Retinografia, angiografia fluoresceínica e angiografia com indocianina verde

Vinte e oito pacientes (51 olhos) foram analisados transversalmente quanto aos achados fundoscópicos e angiofluoresceinográficos (Tabela 10). Quanto aos achados fundoscópicos, 13 de 51 foram classificados como leve, 19 de 51 como moderado e 19 de 51 como grave. A análise das AFs não detectou achados que sugerissem atividade, tais como pontos difusos de hiperfluorescência por vazamento com acúmulo tardio e hiperfluorescência de disco por vazamento e/ou impregnação. A presença de hiperfluorescência por defeito em janela e hipofluorescência por bloqueio foi detectada em todos pacientes, variando de acordo com a intensidade das alterações fundoscópicas. Todos os pacientes com fibrose subretiniana demonstraram hiperfluorescência por impregnação. O retardo no enchimento da coróide foi detectado em todos os pacientes.

ICGA positiva (dois ou mais achados individuais), indicativa de atividade subclínica na coróide, foi detectada em 37 dos 51 olhos. Quanto aos achados individuais, borramento dos grandes vasos da coróide foi detectado em 41 de 51 olhos, hiperfluorescência tardia difusa em 40 de 51 olhos e pontos hipofluorescentes em 10 de 51 olhos (Tabelas 11 e 12).

Tabela 10 - Características dos pacientes no estágio tardio da doença de Vogt-Koyanagi-Harada submetidos à angiografia com indocianina verde, Setor de Uveítes, HCFMUSP entre 2007 e 2010

Descrição		
Número de pacientes (olhos)	28	(51)
Idade, mediana (mín-máx) (anos)	36	(19-67)
Gênero, masculino	4	
Etnia		
Branco, n	13	
Mulato	10	
Negro	3	
Asiático	2	
Categoria de doença (RDC) ^a		
Completa, n	7	
Incompleta	14	
Provável	7	
Duração da doença, mediana (mín - máx) (meses)	91,5	(9-348)
Atividade clínica (SUN) ^b		
Inativa, n, olhos (%) ^c	30	
Ativa, n, olhos (%)	21	
Tratamento sistêmico, n (pacientes)		
Prednisona apenas	9	
Imunossupressores apenas	4	
Prednisona e imunossupressores	13	
Dose de prednisona, mediana (mín-máx) (mg/dia)	7,5	(5-40)
Sem prednisona	15	
Meses sem prednisona, mediana (mín-máx) (meses)	9,5	(3-96)

^a Revised Diagnostic Criteria of the International Nomenclature Committee⁵¹

^b Standardization of Uveitis Nomenclature¹⁰⁵

^c Doença inativa por ≥ 3 meses após suspensão de todas modalidades de tratamento para doença ocular

Tabela 11 - Correlação entre estratificação fundoscópica e achados na angiografia com indocianina verde de pacientes no estágio tardio da doença de Vogt-Koyanagi-Harada, Setor de Uveítes, HCFMUSP entre 2007 e 2010

Descrição		Gravidade fundoscópica ^a			<i>p</i>
		Leve	Moderada	Grave	
Resultado da AICV					
Total (olhos), n	51	13	19	19	
Positivo	37	12	14	11	0,077 ^b
Negativo	14	1	5	8	
Borramento dos grandes vasos da coróide					
Positivo	41	12	16	13	0,206 ^b
Negativo	10	1	3	6	
Hiperfluorescência tardia difusa					
Positivo	40	12	15	13	0,237 ^b
Negativo	11	1	4	6	
Pontos hipofluorescentes					
Positivo	10	5	2	3	0,150 ^b
Negativo	41	8	17	16	

^a Gravidade fundoscópica estimada com a estratégia fundoscópica de estratificação⁹⁶

^b Resultados do teste da razão de chances

Tabela 12 - Correlação entre achados angiográficos, atividade clínica e gravidade fundoscópica de pacientes no estágio tardio da doença de Vogt-Koyanagi-Harada, Setor de Uveítes, HCFMUSP entre 2007 e 2010

AICV com resultado			<i>p</i>
Positivo			
N (olhos)	51	37	
Atividade clínica			
Positiva	21	16	0,626 ^a
Negativa	30	21	
Gravidade fundoscópica ^b			
Leve	13	12	0,077 ^c
Moderada	19	14	
Grave	19	11	
Gravidade fundoscópica e atividade clínica			
Leve			
Ativa	6	6	>0,999 ^a
Inativa	7	6	
Moderada			
Ativa	7	6	0,603 ^a
Inativa	12	8	
Grave			
Ativa	8	4	0,658 ^a
Inativa	11	7	

^a Resultados do teste exato de Fisher

^b Gravidade estimada com a estratégia fundoscópica

^c Resultados do teste de razão de verossimilhança

Estes resultados estão resumidos no trabalho *Subclinical choroidal inflammation detected on indocyanine green angiography in patients with Vogt-Koyanagi-Harada and long-standing disease* (Anexo E).

5.6 Alterações funcionais dos fotorreceptores e correlação com acuidade visual

Vinte e três pacientes (42 olhos) foram submetidos ao eletrorretinograma multifocal (ERGmf) e OCT espectral.

As amplitudes e latências das ondas N1 e P1 dos pacientes diferiram dos controles (Tabela 13). A aplicação da estratégia de *cluster* utilizando as amplitudes das ondas N1 e P1 agrupou pacientes em grupos leve (17/42) e grave (25/42). Os resultados obtidos para cada hexágono dos pacientes subdivididos em grupos leve e grave foram tabulados junto com os percentis 5 e 95 dos dados normativos para análise visual (Figura 15, gráficos A-H). As amplitudes e latências medianas dos 61 hexágonos entre pacientes dos grupos leve e grave diferiu significativamente (Tabela 14) ($p < 0,05$). A acuidade visual foi diferente entre grupos leve e grave de pacientes estratificados de acordo com os resultados do ERGmf (AV leve = 0,0 [20/20] e AV grave = 0,1 [20/25]; $p < 0,05$).

Tabela 13 - Resultados do eletrorretinograma multifocal de controles e de pacientes no estágio tardio da doença de Vogt-Koyanagi-Harada, Setor de Uveítes, HCFMUSP, 2007-2010

Parâmetros do ERGmf		Controles (n=37 olhos)	Pacientes (n=42 olhos)	p^a
Mediana				
N1	Amplitude (nV)	541,0	365,1	<0,01
	Latência (ms)	16,7	18,9	<0,01
P1	Amplitude (nV)	1635,0	989,5	<0,01
	Latência (ms)	30,8	33,3	<0,01
Anéis				
Anel 1				
N1	Amplitude (nV)	691,0	396,5	<0,01
	Latência (ms)	16,8	19,6	<0,01
P1	Amplitude (nV)	1977,0	1103,5	<0,01
	Latência (ms)	34,2	35,3	<0,01
Anel 2				
N1	Amplitude (nV)	564,0	344,5	<0,01
	Latência (ms)	16,7	18,6	<0,01
P1	Amplitude (nV)	1671,0	1077	<0,01
	Latência (ms)	31,5	34,3	<0,01
Anel 3				
N1	Amplitude (nV)	521,0	334,25	<0,01
	Latência (ms)	15,7	17,6	<0,01
P1	Amplitude (nV)	1564,0	1054	<0,01
	Latência (ms)	30,5	33,3	<0,01
Anel 4				
N1	Amplitude (nV)	524,0	366,5	<0,01
	Latência (ms)	15,7	18,6	<0,01
P1	Amplitude (nV)	1585,0	1029,5	<0,01
	Latência (ms)	30,7	33,3	<0,01
Anel 5				
N1	Amplitude (nV)	554,0	362,0	<0,01
	Latência (ms)	16,7	18,6	<0,01
P1	Amplitude (nV)	1685,0	969,1	<0,01
	Latência (ms)	30,8	34,3	<0,01

Mediana representa a medida combinada dos 61 hexágonos do ERGmf. Anéis 1a 5 representam as regiões ao redor da fóvea

^aTeste t de Student

Figura 15 - Valores individuais dos 61 hexágonos (triângulos) de pacientes com doença de Vogt-Koyanagi-Harada e valores normativos (linhas; percentis 5 e 95) do eletrorretinograma multifocal. Latência da onda N1 dos grupos leve (A) e grave (B), Setor de Uveítes, HCFMUSP, 2007-2010

Figura 15 (cont.) - Valores individuais dos 61 hexágonos (triângulos) de pacientes com doença de Vogt-Koyanagi-Harada e valores normativos (linhas; percentis 5 e 95) do eletrorretinograma multifocal. Latência da onda P1 dos grupos leve (C) e grave (D). Setor de Uveítes, HCFMUSP, 2007-2010

Figura 15 (cont.) - Valores individuais dos 61 hexágonos (triângulos) de pacientes com doença de Vogt-Koyanagi-Harada e valores normativos (linhas; percentis 5 e 95) do eletrorretinograma multifocal. Amplitude da onda N1 dos grupos leve (E) e grave (F), Setor de Uveítes, HCFMUSP, 2007-2010

Figura 15 (cont.) - Valores individuais dos 61 hexágonos (triângulos) de pacientes com doença de Vogt-Koyanagi-Harada e valores normativos (linhas; percentis 5 e 95) do eletrorretinograma multifocal. Amplitude da onda N1 dos grupos leve (G) e grave (H), Setor de Uveítes, HCFMUSP, 2007-2010

Tabela 14 - Resultados do eletrorretinograma multifocal estratificados em grupos leve e grave pela estratégia *cluster*. Resultados referentes à mediana dos 61 hexágonos do ERGmf combinados, Setor de Uveítes, HCFMUSP, 2007-2010

Parâmetros do ERGmf	Controles (n=37 olhos)	Pacientes		p
		Leves (n=17 olhos)	Graves (n=25 olhos)	
N1				
Amplitude (nV) (mediana,mín-máx)	541,0 (393,0-791,0)	429,7 (369,7-908,9)	237,3 (83,4-397,2)	<0,05 ^a
Latência (ms) (mediana,mín-máx)	16,7 (13,7-19,6)	16,6 (16,6-19,6)	20,6 (17,6-23,7)	<0,05 ^a
P1				
Amplitude (nV) (mediana,mín-máx)	1635,0 (304,0-1700,0)	1647,0 (1275,0 – 2726,0)	606,5 (8,0-1179,0)	<0,05 ^a
Latência (ms) (mediana,mín-máx)	30,4 (29,4-34,3)	31,4 (29,4-34,3)	35,3 (33,3-38,2)	<0,05 ^a

^a Teste t de Student referente aos pacientes leves e graves

5.7 Alterações estruturais dos fotorreceptores em pacientes no estágio tardio da doença de Vogt-Konayagi-Harada

Quarenta e dois olhos de 23 pacientes no estágio tardio da doença de VKH foram submetidos aos exames de OCT espectral e medida da AV. A IS/OS macular foi considerada íntegra (>75% detectável ao longo dos *scans* vertical e horizontal, perpendiculares, centradas na fóvea) em 59,5% (25/42) e alterada (≤75% detectável) em 40,5% (17/42). A acuidade visual foi diferente entre os grupos IS/OS+ e IS/OS- (AV IS/OS+ = 0,0 [20/20] e AV IS/OS- = 0,48 [60/200]; $p < 0,05$).

5.8 Concordância entre as estratégias eletrorretinográfica e estrutural de avaliação da integridade dos fotorreceptores maculares em olhos de pacientes no estágio tardio da doença de Vogt-Koyanagi-Harada

O grau de concordância entre estratégias estrutural (OCT espectral) e funcional (ERGmf) de estratificação foi baixo ($K=0,17$) (Tabela 15). Os dados referentes aos achados de OCT espectral e ERGmf estão resumidos no trabalho *Structural and functional macular evaluation in patients with late-stage Vogt-Koyanagi-Harada disease*, em preparo para publicação (Anexo F).

Tabela 15 - Concordância entre as estratégias estrutural (tomografia de coerência óptica espectral) e funcional (eletrorretinograma multifocal) de avaliação dos fotorreceptores maculares de pacientes no estágio tardio da doença de Vogt-Koyanagi-Harada, Setor de Uveítes, HCFMUSP, 2007-2010

<div><div></div><div>Junção IS/OS</div></div> <div>Grupos do ERGmf</div>	IS/OS +	IS/OS -	Total
Leve	12	5	
Grave	13	12	
			42
			(K=0,17)

IS/OS: Junção dos segmentos interno e externo dos fotorreceptores. Igual ou acima de 75% visível, IS/OS+ ou preservado; IS/OS- ou danificado. Grupos do ERGmf: Grupos de gravidade obtidos com a estratégia *cluster* aplicada aos resultados do ERGmf

6 DISCUSSÃO

O melhor entendimento da correlação entre aspectos morfológicos e função da retina contribui para avaliação crítica da evolução da doença de VKH. As estratégias analisadas nesta tese exerceram papéis diferentes e complementares na estratificação e avaliação transversal dos pacientes no estágio tardio da doença de VKH. As mesmas podem ser úteis para o seguimento destes pacientes de modo prospectivo.

O sistema de análise fundoscópica proposto neste trabalho pode ter utilidade para fins assistenciais e investigativos. Do ponto de vista assistencial, a estratificação fundoscópica permitiu classificar sistematicamente pacientes em grupos de gravidade. Deste modo foi obtida de maneira rápida uma estimativa do grau de desestruturação do polo posterior. Este sistema pode facilitar a troca de informações entre Oftalmologistas. Do ponto de vista investigativo, podem ser comparados resultados de diferentes centros e modalidades de tratamento. Os achados focais foram caracterizados de forma simples permitindo boa reprodutibilidade entre observadores. Fibrose subretiniana demonstrou reprodutibilidade superior à análise global. No entanto, este achado ocorreu apenas em pacientes considerados graves. Achados focais isoladamente tais como atrofia peridiscal foram previamente considerados como marcadores de gravidade²². No entanto, aplicando a estratégia proposta foi possível uma análise fundoscópica sistemática estratificando os pacientes em leve, moderado e grave. Em contrapartida aos

achados focais, a despigmentação difusa foi o achado que alcançou a menor concordância inter-observadores. Isto ocorreu porque a despigmentação difusa estava sujeita à subjetividade assim como sofreu influência de fatores intrínsecos do indivíduo, como ametropia e grau de pigmentação.

Os pacientes deste estudo também foram estratificados em três grupos de gravidade de acordo com os resultados do ERGct utilizando a estratégia *cluster*. Esta estratégia de estratificação demonstrou concordância substancial com a estratégia fundoscópica proposta anteriormente. Este achado validou a estratégia fundoscópica como maneira rápida e eficaz de estimar o grau de disfunção retiniana.

Previamente, Jacobson et al.²⁷ descreveram um paciente com extinção inicial do ERGct, com recuperação parcial e progressiva da amplitude das respostas após regressão do descolamento de retina. Este paciente permaneceu com amplitude da onda *b* escotópica abaixo da normalidade, com recuperação das outras ondas. O mesmo apresentava apenas alterações pigmentares difusas na fundoscopia. Neste caso as ondas da fase fotópica ficaram paradoxalmente acima do normal, sugerindo que o dano à retina na doença de VKH afeta bastonetes em maior proporção do que afeta cones. Nagaya²⁸ analisou nove casos na fase aguda com DERs utilizando o ERGct e constatou extinção inicial das respostas, seguida de recuperação das ondas em todas as fases do exame. Descreveu também que a recuperação das respostas variou de acordo com a gravidade da doença. Comparando estes dados anteriores com a atual casuística e estratégia de estratificação, o paciente descrito por Jacobson et al.²⁷ apresentou doença leve de acordo com os achados fundoscópicos e eletroretinográficos. Embora estes dados tenham

sido reproduzidos por Teixeira et al.²⁹, estas duas publicações são relatos de casos, sem peso de evidência científica. No presente estudo, assim como no estudo de Nagaya²⁸, as ondas foram analisadas de modo conjunto, não sendo constatada resposta exacerbada na fase fotópica nos pacientes leves. Por outro lado, nesta tese foi averiguada depressão comparativamente mais intensa de bastonetes (onda a escotópica máxima), confirmando a ocorrência de dano mais intenso aos bastonetes no estágio tardio da doença de VKH. Este achado tem substrato na natureza difusa da doença, lesando mais intensamente os fotorreceptores presentes em maior quantidade na retina. Sonoda et al.²³, Peyresblanques et al.¹¹² e Oréface et al.¹¹³ correlacionaram extensa atrofia de epitélio pigmentado da retina e baixa acuidade visual com redução da amplitude das respostas do ERGct. Deve ser ressaltado que o ERGct pode ser normal mesmo na vigência de extenso dano macular e acuidade visual muito baixa, uma vez que o ERGct estima a função da retina como um todo. Estes trabalhos também contaram com número comparativamente reduzido de pacientes. Adicionalmente, pacientes no estágio tardio da doença de VKH tem prognóstico visual bom^{2,4,8}. Portanto, o ERGct foi empregado nesta tese no sentido de documentar o grau de acometimento da retina como um todo e comparar sua concordância com a estratégia fundoscópica de estratificação.

Em síntese, nesta primeira etapa do estudo foi demonstrado que a estratificação fundoscópica foi prática, rápida e se correlacionou diretamente com medida objetiva de gravidade (ERGct). No entanto, este método pode ter aplicabilidade restrita de modo longitudinal uma vez que é semi-quantitativo e portanto pouco sensível. Em contrapartida, o ERGct pode ser

útil não somente para estratificação, como também tem o potencial de ser utilizado prospectivamente na monitorização dos pacientes no estágio tardio da doença de VKH.

A utilidade da AICV em detectar atividade subclínica de coróide e guiar o tratamento dos pacientes com doença de VKH foi demonstrada em estudos anteriores. Porém, estas séries de casos apresentam limitações, dentre elas, número pequeno de casos, ausência de mascaramento e modalidade de tratamento diferente da praticada em nosso meio. Os exames de AICV incluídos neste estudo foram analisados de maneira mascarada e independentemente da presença de atividade de segmento anterior nos períodos antes, durante e depois do exame. A inclusão dos pacientes sem atividade de segmento anterior e com diferentes graus de acometimento fundoscópico permitiu analisar transversalmente as inter-relações entre atividade sub-clínica, atividade clínica e gravidade das alterações fundoscópicas. A AICV detectou atividade subclínica de coróide em parcela significativa dos pacientes no estágio tardio da doença de VKH. Adicionalmente, mesmo pacientes com atividade de segmento anterior e em vigência de tratamento sistêmico apresentaram sinais de atividade subclínica. Este achado é compreensível uma vez que os mesmos não foram monitorizados com AICV propiciando a ocorrência de tratamento parcial da doença. As alterações fundoscópicas mostraram a tendência de influenciar a detecção e interpretação dos achados da AICV em pacientes no estágio tardio da doença de VKH. Olhos com alterações leves apresentaram sinais de atividade subclínica com maior frequência.

Em estudo prospectivo e intervencionista realizado por Bacsal et al.¹⁷ foram incluídos pacientes com recidivas de segmento anterior. A AICV destes

pacientes demonstrou sinais de atividade na coróide os quais regrediram após tratamento agressivo com corticosteroides e/ou imunossupressores. No entanto, não foi mencionado se as avaliações angiográfica e clínica foram realizadas de maneira mascarada. Cabe lembrar que a interpretação angiográfica pode ser influenciada pelo conhecimento da evolução clínica. Os autores avaliaram os mesmos sinais de atividade angiográfica contemplados nesta tese. No entanto, sua análise não estabeleceu *a priori* um limiar para se considerar o resultado da AICV positivo. Na presente investigação foi realizado mascaramento em relação à atividade clínica assim como em relação à definição estabelecida para se considerar os exames ativos (presença de dois dos três sinais sugestivos de acometimento subclínico de coróide). Nestas circunstâncias, três quartos dos pacientes analisados apresentaram AICV com atividade subclínica. Destes, aproximadamente metade apresentaram resultados discrepantes entre atividade de segmento anterior e atividade subclínica (AICV). Estas situações paradoxais podem ser interpretadas como resultados angiográficos positivos (atividade subclínica isolada) e resultados angiográficos falso-negativos respectivamente.

Em estudos prévios, Kawaguchi et al.¹⁹ e Herbort et al.¹⁸ sugeriram o seguimento longitudinal de pacientes na fase convalescente da doença com AICVs. Estes autores detectaram recidiva dos sinais angiográficos de acometimento inflamatório da coróide durante a retirada do corticosteróide. No estudo de Herbort et al.¹⁸ quatro pacientes foram seguidos por nove meses com AICV de maneira seriada. Após tratamento precoce com alta dose de corticosteroides, os sinais clínicos e subclínicos da doença regrediram em

dois e quatro meses respectivamente. Nesta série de casos, três pacientes apresentaram recorrência de atividade subclínica de doença na AICV mediante a retirada lenta do tratamento inicial. Estes pacientes foram submetidos a tratamento intensivo (corticosteróide em dose imunossupressora e introdução de imunossupressores sistêmicos) com regressão completa dos achados angiográficos sugestivos de atividade subclínica. Nesta mesma série, um dos pacientes (1/3) sofreu necrose bilateral da cabeça do fêmur no período de nove meses de acompanhamento. Estes achados revelaram inicialmente proporção de pacientes com atividade subclínica similar à desta tese. No entanto, neste mesmo estudo, não ficou explícito se as análises foram realizadas de maneira mascarada. Em estudo de Kawaguchi et al.¹⁹, foram incluídos quatro pacientes tratados em Lausanne, Suíça e cinco pacientes tratados em Tóquio, Japão e monitorizados com exames seriados de AICV. Os exames foram realizados antes do início do tratamento e quatro meses após. Os pacientes de Lausanne receberam tratamento precoce com alta dose (pulsoterapia com metilprednisolona 500 – 1000 mg/dia por três dias seguidos de prednisona 1,0-1,5 mg/kg/dia com desmame ao longo de quatro meses). Todos estes pacientes receberam tratamento imunossupressor dentro do primeiro mês de evolução uma vez que apresentaram os critérios de gravidade propostos pelos autores (papilite e descolamento exsudativo de retina). Os pacientes de Tóquio receberam tratamento precoce com dose intermediária de corticosteróides (pulsoterapia com metilprednisolona 500-1000mg/dia por três dias seguidos de prednisona 0,6-0,8 mg/kg/dia com desmame ao longo de quatro meses). Após quatro meses de tratamento, os

autores detectaram pontos hipofluorescentes na AICV em todos os pacientes tratados em Tóquio e sua resolução em todos os pacientes tratados em Lausanne. Além disso, três dos cinco dos pacientes tratados em Tóquio desenvolveram despigmentação difusa de fundo-de-olho ao passo que nenhum paciente de Lausanne desenvolveu este achado. Os dois grupos não diferiram em termos de acuidade visual final ou incidência de efeitos colaterais graves. A partir destas observações os autores sugeriram que o tratamento com doses intermediárias e guiado pela clínica não demonstrou capacidade de erradicar a lesão de base (atividade subclínica). Neste estudo, os autores alcunharam o termo doença parcialmente tratada para descrever pacientes em tratamento, sem atividade clínica e ainda recebendo tratamento sistêmico (do Inglês, *partially treated disease*). Foi demonstrado que a incidência de despigmentação difusa de fundo-de-olho teve baixa reprodutibilidade. Além disso a análise teve como resultado principal a melhora angiográfica, não considerando outros aspectos importantes como impacto do tratamento sobre a qualidade de vida. É importante considerar que o tratamento inicialmente utilizado (pulsoterapia e imunossupressão categórica e precoce) difere do tratamento utilizado em outros países. No Serviço de Uveítes da Clínica Oftalmológica, HCFMUSP, assim como na maioria dos países ocidentais, o tratamento inicial de eleição em pacientes com doença de VKH consiste de alta dose de corticosteróides por via oral (1,0-1,5 mg/kg/dia) seguido de desmame ao longo de seis a nove meses sem monitorização sistemática com AICV. A maioria dos pacientes com atividade subclínica isolada no presente estudo recebeu

tratamento precoce em dose alta e estava recebendo tratamento sistêmico com corticosteróides e/ou imunossupressores no momento da avaliação (19/21; 90%). Assim sendo, tratamentos mais agressivos como os propostos por Kawaguchi et al.¹⁹ e Herbort et al.¹⁸ poderiam diminuir a proporção de pacientes com atividade subclínica de doença em nosso meio. Porém, o benefício a longo prazo do tratamento sistêmico agressivo em pacientes com doença subclínica isoladamente (doença parcialmente tratada) não está definitivamente estabelecido. Considerando que 42% (21/51) dos olhos dos pacientes incluídos neste estudo apresentaram atividade subclínica isolada, os potenciais efeitos colaterais devem ser considerados. Estudos prospectivos são necessários para avaliar o impacto destas intervenções de forma objetiva assim como estimar o impacto das mesmas sobre a qualidade de vida dos pacientes.

Por outro lado, resultados falso-negativos foram detectados em cinco olhos, todos com alterações de fundo-de-olho graves ou moderadas. Assim sendo, embora o exame de AICV não esteja sujeito à hipofluorescência por bloqueio como a angiografia fluoresceínica, a presença de fibrose subretiniana, acúmulos de pigmento e atrofia difusa e/ou focal intensa de coriocapilar presentes nestes casos dificultam a interpretação. Já casos com alterações fundoscópicas leves apresentam coróide e coriocapilar relativamente preservadas e que, portanto, geram sinais angiográficos evidentes de atividade subclínica na AICV.

As variáveis clínicas assim como os critérios para ajuste do tratamento dos três diferentes grupos de gravidade não diferiram. O fato de o tratamento

recebido pelos pacientes dos diferentes grupos terem sido similares sugere que os critérios utilizados para retirada e monitorização do tratamento foram insuficientes para erradicar o processo patológico de base. Assim, a doença se manifestou em amplo espectro e apresentou atividade subclínica na maioria dos pacientes. Este fato pode ocorrer devido à variabilidade inerente da doença e ser imutável mediante intervenção. Por outro lado, há a possibilidade que critérios mais abrangentes de seguimento (contemplando a AICV entre outros) possibilitem ajuste do tratamento aproximando os pacientes dos grupos moderado e grave daqueles no grupo leve.

Desta forma, concluindo esta etapa do presente estudo, uma parcela significativa dos pacientes no estágio tardio da doença de VKH apresentaram sinais angiográficos de atividade subclínica de doença independentemente de apresentarem células em segmento anterior. A gravidade fundoscópica influenciou a interpretação da AICV, pois olhos com alterações fundoscópicas leves apresentaram maior prevalência de atividade subclínica. No entanto, uma vez que não há limiar objetivo e testado prospectivamente para intervenção, a avaliação angiográfica deve ser interpretada dentro do contexto clínico individual de cada paciente. Estudos prospectivos são necessários para investigar o impacto a longo prazo da presença de doença parcialmente tratada.

A IS/OS macular avaliada com o OCT espectral conforme proposto demonstrou-se marcador de integridade dos fotorreceptores e se encontrou danificada em proporção significativa dos olhos analisados. A grande diferença em termos de acuidade visual é reflexo do dano macular extenso presente em pacientes graves. O OCT espectral foi aplicado como método

não-invasivo e de não-contato para estimar o acometimento da retina externa.

Previamente foi demonstrado que pacientes com doença de VKH podem apresentar alterações de epitélio pigmentado da retina e junção dos segmentos externo e interno dos fotorreceptores. Vasconcellos-Santos et al.⁴⁰ analisaram qualitativamente os achados do OCT espectral e NIR-FAF de fundo de olho em sete pacientes (14 olhos) no estágio tardio da doença de VKH. Neste estudo, foram detectados acúmulos de pigmento em 61,5% dos olhos, lesões numulares em 85% e todos apresentavam despigmentação difusa. Acúmulos de pigmento apresentavam hiperplasia do EPR no OCT e hiperautofluorescência na NIR-FAF. Estes achados sugerem dano funcional do EPR com alteração dos fotorreceptores representada por alteração da IS/OS. No entanto, as alterações nas imagens tomográficas são mais sutis que as detectadas na NIR-FAF. Lesões numulares correspondiam à destruição focal do EPR e da IS/OS sobrejacente nas imagens de OCT espectral e hipoautofluorescência na FAF. O achado fundoscópico mais prevalente (despigmentação difusa), no entanto, não apresentou alterações em ambos os exames. No entanto, mesmo nestes casos pode haver alteração funcional dos fotorreceptores que requerem maior refinamento metodológico para detectar as alterações estruturais correspondentes. Recente estudo por Ishihara et al.³⁹ descreveu uma alternativa para quantificação destas alterações que podem acometer a retina externa. Estes autores utilizaram a medida da espessura dos segmentos externo e interno dos fotorreceptores somados (IS+OS) para avaliação da integridade foveal. Foi averiguado que pacientes que

apresentaram DER com conformação cística (com separação entre IS e OS) apresentaram redução mais importante da espessura IS+OS do que pacientes que apresentaram DERs verdadeiros (com separação entre o OS e o EPR). Além disso, nos pacientes com descolamentos císticos, foram detectadas membranas sobre o EPR e nas regiões sob os DERs, tendo estas espessura mediana de 62,5 μm na fase aguda. Estas membranas, inicialmente lineares, se tornaram granulares após o tratamento com altas doses de corticosteróides. Os autores sugerem que os segmentos externos dos fotorreceptores combinados com fibrina constituíam a membrana hiperrefletiva inicial. A dissolução da fibrina, reabsorção parcial dos segmentos externos e hiperplasia focal do EPR geraram as formações granulares que tinham surgido na fase convalescente. A recuperação mais rápida e mais importante nos casos de DER verdadeiros foi atribuída ao menor dano causado aos fotorreceptores, pois nestes casos os segmentos externos não haviam sido amputados, evitando assim a sucessão de eventos que ocorreram em pacientes com DERs císticos. No entanto, todos os pacientes incluídos apresentavam acuidade visual acima de 0,0 em escala logMAR ao fim do seguimento (20/20 em escala de Snellen). Assim, os fotorreceptores foram danificados nestes pacientes sem, no entanto ter refletido sobre a acuidade visual. Este dano foi detectado com o OCT espectral, fato este impossível com o OCT de terceira geração conforme demonstrado por Okamoto et al.¹¹⁴ previamente. Pode-se presumir que a medida proposta por Ishihara et al. se correlacionaria com dano funcional, uma vez que conforme demonstrado por Vasconcellos-Santos et al.⁴⁰, acúmulos focais de EPR estão associados a hiperautofluorescência na NIR-FAF. Assim,

em casos com alterações mais sutis de EPR e de retina externa se faz necessário análise mais pormenorizada. No entanto, a técnica proposta por Ishihara et al.³⁹ tem limitações. Embora a recuperação da IS/OS seja parcial, esta diferença se torna sutil com um tempo maior de seguimento. Além disso, a medida da IS+OS ao longo de tomografias seriadas da mácula implicou em medidas sujeitas à subjetividade e variação inter-observadores, ambas não contempladas neste estudo. Além disso, pacientes com lesões focais impossibilitam estas medidas uma vez que a medida da IS+OS está prejudicada. A metodologia proposta nesta tese foi comparada com as medidas de acuidade visual e foi detectada grande diferença entre os grupos. Este achado reflete a maior gravidade dos pacientes. A estratégia proposta se baseia na presença de lesões focais que destroem a IS/OS. Por outro lado, a técnica proposta nesta tese apresentou concordância absoluta entre três observadores (Felipe Gaspar, Joyce Yamamoto e Rogério Costa). Da análise conjunta dos trabalhos de Ishihara et al.³⁹ e do trabalho atual, foi possível inferir que algoritmos mais sofisticados devam analisar a retina externa de maneira segmentar, contemplando a espessura da retina externa assim como lesões focais.

Em resumo, o método de análise das imagens do OCT espectral proposto nesta etapa da tese pode ser útil na avaliação macular dos pacientes no estágio tardio da doença de VKH por ser rápido, reprodutível e tecnicamente simples. Uma parcela substancial dos pacientes com doença de VKH apresenta dano aos fotorreceptores. Avanços na captura e processamento segmentar das imagens do OCT espectral podem propiciar

estimativas mais precisas do grau de comprometimento dos fotorreceptores em olhos sem lesões focais.

Estudos anteriores detectaram alterações funcionais em pacientes com doença de VKH e sem alterações fundoscópicas evidentes^{31,102,114}. Estes achados sugerem que métodos de avaliação funcional tem maior sensibilidade na detecção de dano aos fotorreceptores assim como implicam que o dano funcional antecede as alterações estruturais na doença de VKH. A análise funcional auxilia na compreensão das queixas visuais de pacientes com acuidade visual de 20/20, fundoscopia aparentemente inalterada e que, no entanto, apresentam queixas floridas. Nesta etapa da tese, foi proposto método para análise dos resultados do ERGmf. Estes dados confirmaram a possibilidade de haver pacientes com disfunção macular grave mesmo na vigência de acuidade visual preservada.

Okamoto et al.¹¹⁴ descreveram a correlação entre estrutura e função macular utilizando densitometria de cones foveais (DCF), eletroretinograma macular focal (ERG macular), teste de visão de cores (TVC) (análise funcional) e OCT de terceira geração (análise estrutural) em seis pacientes (seis olhos) na fase convalescente (12 meses após última recidiva) da doença de VKH com acuidade visual preservada (AV de 20/20 ou melhor na escala de Snellen). Nesta investigação, apenas a DCF estava alterada, enquanto os outros exames funcionais e OCT de terceira geração apresentaram resultados dentro da normalidade. Em exames seqüenciais, num seguimento de até 40 meses, a DCF teve recuperação parcial na metade dos casos enquanto permaneceu grandemente reduzida no restante dos

pacientes. Os autores sugeriram que a função dos cones foi uma das funções maculares comprometida na fase convalescente da doença de VKH. A análise dos resultados do ERGmf desta tese revelou dano em proporção importante dos casos além de apresentar diferença em termos de acuidade visual entre os grupos leve e grave. Este achado se deve a maior gravidade dos pacientes envolvidos nesta tese. Em estudo recente, Yang et al.¹⁰² descreveram a recuperação progressiva das amplitudes e latências do ERGmf em pacientes durante a fase convalescente da doença de VKH sem predileção topográfica. Nesta análise, as latências retornaram a níveis normais, ao passo que as amplitudes permaneceram abaixo da normalidade. Dos 22 olhos analisados, apenas um apresentou acuidade <20/25 e outro <20/50. Ao incluir pacientes com gravidade comparativamente menor, os autores não puderam estratificar os pacientes de acordo com a gravidade da doença. Em estudo conduzido por Chee et al.²², foi descrito decréscimo nas amplitudes junto com aumento nas latências do ERGmf. Estes autores correlacionaram a presença de latência aumentada com relação AAPP/AD >2, um marcador de gravidade da doença segundo os autores. Nos pacientes graves desta tese foi constatado aumento na latência das ondas do ERGmf também. Juntando os dados de Yang et al.¹⁰², Chee et al.²² e os atuais, foi observado que pacientes leves podem apresentar ERGmf normal, que pacientes na fase convalescente recuperam as latências primeiro e depois as amplitudes, que pacientes muito graves podem apresentar alterações em ambos os parâmetros do ERGmf e que pacientes com alterações focais apresentam disfunção mais intensa. Pode-se explicar o acometimento da

retina externa pela presença de atividade subclínica de coróide^{17,113}. Em casos graves e com lesões focais ocorreu também acometimento das camadas intermediárias da retina. Estudos prospectivos podem elucidar se a presença de atividade subclínica pode prejudicar a função da retina externa de maneira progressiva.

A compreensão das correlações entre as estratégias estrutural e funcional de avaliação dos fotorreceptores maculares em pacientes no estágio tardio da doença de VKH deve contemplar os casos de discrepância. Nesta etapa da tese, a estimativa da concordância entre as duas estratégias foi baixa. Os casos de disparidade sugerem maior sensibilidade da estratégia funcional (ERGmf) pois esta detectou alterações funcionais graves em pacientes sem alterações estruturais importantes. Esta constatação sugere que alterações funcionais podem preceder dano estrutural em pacientes no estágio tardio da doença de VKH assim como aponta para o fato que as queixas subjetivas dos pacientes têm substrato objetivamente mensurável. Foi constatado que a medida da acuidade visual, medida de função macular rotineiramente realizada por Oftalmologistas, subestima o grau de disfunção macular em pacientes no estágio tardio da doença de VKH.

Como esperado, muitos casos de discrepância foram detectados. Em estudo recente, Dale et al.¹¹⁵ demonstraram que o OCT espectral tem maior capacidade de detectar alterações retinianas focais ao passo que o ERGmf pode não as detectar em virtude de contribuição às respostas por parte da retina saudável circunjacente, dispersão luminosa assim como tamanho das

alterações focais inferiores a 4°. Na análise atual, 72% (13/18) dos casos discrepantes foram de olhos com alterações graves no ERGmf, OCT espectral íntegro e acuidade visual >20/25. Estes casos representam olhos com acuidade visual preservada e alterações estruturais de difícil quantificação, i.e., despigmentação difusa e IS/OS íntegra. Assim sendo, pacientes sem alterações focais foram aqueles que mais se beneficiaram da estratégia funcional de estratificação.

Concluindo, as estratégias fundoscópica/estrutural e funcional de avaliação da integridade macular propostas no estudo atual correlacionam-se com a acuidade visual dos pacientes com doença de VKH no estágio tardio. A concordância fraca entre as duas estratégias se deve à maior sensibilidade da estratégia funcional (ERGmf). A análise fundoscópica/estrutural com o OCT espectral possibilita rapidamente situar pacientes em termos de extensão do dano macular ao passo que o ERGmf se demonstrou ferramenta sensível na quantificação objetiva da extensão de dano aos fotorreceptores maculares.

7 CONCLUSÕES

- 1 O sistema de classificação analítica das alterações fundoscópicas proposto permitiu estratificação de pacientes em três grupos de gravidade de maneira reprodutível. Os grupos de gravidade fundoscópica correlacionaram-se de maneira substancial com medidas objetivas da função retiniana.
- 2 Setenta e dois por cento dos pacientes no estágio tardio da doença de VKH apresentou sinais angiográficos de atividade subclínica na AICV independente de parâmetros clínicos de atividade. A AF não detectou atividade subclínica nos mesmos pacientes. As alterações fundoscópicas classificadas de acordo com o sistema proposto influenciaram a interpretação da AICV. Pacientes com alterações fundoscópicas leves apresentaram maior prevalência de atividade subclínica na AICV.
- 3 A análise das amplitudes das ondas N1 e P1 do ERGmf assim como da integridade da IS/OS apresentou alterações em aproximadamente metade dos olhos estudados de pacientes com doença de VKH no estágio tardio.
- 4 As estratégias estrutural e funcional propostas para avaliação macular dos pacientes no estágio tardio da doença de VKH demonstraram

correlação com acuidade visual. Esta diferença foi mais pronunciada entre os grupos estratificados pela estratégia estrutural. As discrepâncias entre as duas estratégias ocorreram devido a maior sensibilidade e abrangência do ERGmf combinados com a limitação deste em detectar alterações focais pequenas. Pacientes com acuidade visual preservada e poucas ou nenhuma alteração focal apresentaram disfunção grave no ERGmf.

8 REFERÊNCIAS

1. Moorthy RS, Inomata H, Rao NA. Vogt-Koyanagi-Harada syndrome. *Surv Ophthalmol* 1995;6:361-94.
2. Rubsamen PE, Gass JD. Vogt-Koyanagi-Harada syndrome. Clinical course, therapy, and long-term visual outcome. *Arch Ophthalmol* 1991;109:682-7.
3. Sasamoto Y, Ohno S, Matsuda H. Studies on corticosteroid therapy in Vogt-Koyanagi-Harada disease. *Ophthalmologica* 1990;201:162-7.
4. da Silva FT, Damico FM, Marin ML, Goldberg AC, Hirata CE, Takiuti PH, Olivalves E, Yamamoto JH. Revised diagnostic criteria for Vogt-Koyanagi-Harada disease: considerations on the different disease categories. *Am J Ophthalmol* 2009;147:339-345 e5.
5. Sheu SJ, Kou HK, Chen JF. Prognostic factors for Vogt-Koyanagi-Harada disease. *J Chin Med Assoc* 2003;66:148-54.
6. Sheu SJ, Kou HK, Chen JF. Significant prognostic factors for Vogt-Koyanagi-Harada disease in the early stage. *Kaohsiung J Med Sci* 2004;20:97-105.
7. Al-Kharashi AS, Aldibhi H, Al-Fraykh H, Kangave D, Abu El-Asrar AM. Prognostic factors in Vogt-Koyanagi-Harada disease. *Int Ophthalmol* 2007;27:201-10.
8. Chee SP, Jap A, Bacsal K. Prognostic factors of Vogt-Koyanagi-Harada disease in Singapore. *Am J Ophthalmol* 2009;147:154-61 e1.

9. Bykhovskaya I, Thorne JE, Kempen JH, Dunn JP, Jabs DA. Vogt-Koyanagi-Harada disease: clinical outcomes. *Am J Ophthalmol* 2005;140:674-8.
10. Bordaberry MF. Vogt-Koyanagi-Harada disease: diagnosis and treatments update. *Curr Opin Ophthalmol* 2010;21(6):430-5.
11. Lai TY, Chan RP, Chan CK, Lam DS. Effects of the duration of initial oral corticosteroid treatment on the recurrence of inflammation in Vogt-Koyanagi-Harada disease. *Eye* 2009;23:543-8.
12. DiPreta EA, Smith KJ, Williams J, Skelton AH. Histopathologic findings in the alopecia associated with Vogt-Koyanagi-Harada disease. *J Cutan Med Surg* 2000;4:156-60.
13. Rao NA. Pathology of Vogt-Koyanagi-Harada disease. *Int Ophthalmol* 2007;27:81-5.
14. Suzuki S. Quantitative evaluation of "sunset glow" fundus in Vogt-Koyanagi-Harada disease. *Jpn J Ophthalmol* 1999;43:327-33.
15. Bouchenaki N, Herbort CP. The contribution of indocyanine green angiography to the appraisal and management of Vogt-Koyanagi-Harada disease. *Ophthalmology* 2001;108:54-64.
16. Fardeau C, Tran TH, Gharbi B, Cassoux N, Bodaghi B, LeHoang P. Retinal fluorescein and indocyanine green angiography and optical coherence tomography in successive stages of Vogt-Koyanagi-Harada disease. *Int Ophthalmol* 2007;27:163-72.

17. Bacsal K, Wen DS, Chee SP. Concomitant choroidal inflammation during anterior segment recurrence in Vogt-Koyanagi-Harada disease. *Am J Ophthalmol* 2008;145:480-86.
18. Herbort CP, Mantovani A, Bouchenaki N. Indocyanine green angiography in Vogt-Koyanagi-Harada disease: angiographic signs and utility in patient follow-up. *Int Ophthalmol* 2007;27:173-82.
19. Kawaguchi T, Horie S, Bouchenaki N, Ohno-Matsui K, Mochizuki M, Herbort CP. Suboptimal therapy controls clinically apparent disease but not subclinical progression of Vogt-Koyanagi-Harada disease. *Int Ophthalmol* 2009;30:41-50.
20. Keino H, Goto H, Usui M. Sunset glow fundus in Vogt-Koyanagi-Harada disease with or without chronic ocular inflammation. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol* 2002;240:878-82.
21. Keino H, Goto H, Mori H, Iwasaki T, Usui M. Association between severity of inflammation in CNS and development of sunset glow fundus in Vogt-Koyanagi-Harada disease. *Am J Ophthalmol* 2006;141:1140-2.
22. Chee SP, Luu CD, Cheng CL, Lim WK, Jap A. Visual function in Vogt-Koyanagi-Harada patients. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol* 2005;243:785-90.
23. Sonoda S, Nakao K, Ohba N. Extensive chorioretinal atrophy in Vogt-Koyanagi-Harada disease. *Jpn J Ophthalmol* 1999;43:113-9.
24. Avanza C. Maladie de Harada avec Denegrescence Tapeto-Retiniene Secondaire (Etude Clinique et Electrographique). *Bull Soc Fr Ophthal* 1960;73:213.

25. Kuo IC, Rechdouni A, Rao NA, Johnston RH, Margolis TP, Cunningham ET, Jr. Subretinal fibrosis in patients with Vogt-Koyanagi-Harada disease. *Ophthalmology* 2000;107:1721-8.
26. Lertsumitkul S, Whitcup SM, Nussenblatt RB, Chan CC. Subretinal fibrosis and choroidal neovascularization in Vogt-Koyanagi-Harada syndrome. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol* 1999;237:1039-45.
27. Jacobson JH. The Electoretinogram in Harada's Disease. *Am J Ophthalmol* 1967;64:123.
28. Nagaya T. The use of Electro-oculogram for Diagnosing and Following the Development of Harada's Disease *Am J Ophthalmol* 1972;74:99-109.
29. Teixeira R, Vitral N, Oréface JL. Evolução clínica-eletrofisiológica de um caso agudo da Síndrome de Vogt-Koyanagi-Harada. *Rev Bras Oftal* 1999;58:213-9.
30. Maruyama Y, Kishi S. Tomographic features of serous retinal detachment in Vogt-Koyanagi-Harada syndrome. *Ophthalmic Surg Lasers Imaging* 2004;35:239-42.
31. Lee JE, Park SW, Lee JK, Choi HY, Oum BS, Kim HW. Edema of the photoreceptor layer in Vogt-Koyanagi-Harada disease observed using high-resolution optical coherence tomography. *Korean J Ophthalmol* 2009;23:74-9.
32. Andrade RE, Muccioli C, Farah ME, Nussenblatt RB, Belfort Junior R. Intravitreal triamcinolone in the treatment of serous retinal detachment in Vogt-Koyanagi-Harada syndrome *Am J Ophthalmol* 2004;137:572-4.

33. Parc C, Guenoun JM, Dhote R, Brezin A. Optical coherence tomography in the acute and chronic phases of Vogt-Koyanagi-Harada disease. *Ocul Immunol Inflamm* 2005;13:225-7.
34. Rutzen AR, Ortega-Larrocea G, Frambach DA, Rao NA. Macular edema in chronic Vogt-Koyanagi-Harada syndrome. *Retina* 1995;15:475-9.
35. Costa RA, Skaf M, Melo LA, Jr., Calucci D, Cardillo JÁ, Castro JC, Huang D, Wojtkowski M. Retinal assessment using optical coherence tomography. *Prog Retin Eye Res* 2006;25:325-53.
36. Sakata LM, Deleon-Ortega J, Sakata V, Girkin CA. Optical coherence tomography of the retina and optic nerve - a review. *Clin Experiment Ophthalmol* 2009;37:90-9.
37. Drexler W. Ultrahigh-resolution optical coherence tomography. *J Biomed Opt* 2004;9:47-74.
38. Drexler W, Fujimoto JG. State-of-the-art retinal optical coherence tomography. *Prog Retin Eye Res* 2008;27:45-88.
39. Ishihara K, Hangai M, Kita M, Yoshimura N. Acute Vogt-Koyanagi-Harada disease in enhanced spectral-domain optical coherence tomography. *Ophthalmology* 2009;116:1799-807.
40. Vasconcelos-Santos DV, Sohn EH, Sadda S, Rao NA. Retinal pigment epithelial changes in chronic Vogt-Koyanagi-Harada disease: fundus autofluorescence and spectral domain-optical coherence tomography findings. *Retina* 2009;30:33-41.

-
41. Herbort CP, Mochizuki M. Vogt-Koyanagi-Harada disease: inquiry into the genesis of a disease name in the historical context of Switzerland and Japan. *Int Ophthalmol* 2007;27:67-79.
 42. Sugiura S. Vogt-Koyanagi-Harada disease. *Jpn J Ophthalmol* 1978;22:9-35.
 43. Snyder DA, Tessler H. Vogt-Koyanagi-Harada syndrome. *Am J Ophthalmol* 1980;90:69-75.
 44. Mondkar SV, Biswas J, Ganesh SK. Analysis of 87 cases with Vogt-Koyanagi-Harada disease. *Jpn J Ophthalmol* 2000;44:296-301.
 45. Kitaichi N, Horie Y, Ohno S. Prompt therapy reduces the duration of systemic corticosteroids in Vogt-Koyanagi-Harada disease. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol* 2008;246:1641-2.
 46. Beniz J, Forster DJ, Lean JS, Smith RE, Rao NA. Variations in clinical features of the Vogt-Koyanagi-Harada syndrome. *Retina* 1991;11:275-80.
 47. Kitamura M, Takami K, Kitaichi N, Namba K, Yamaguishi SI, Iwabuchi K, Onoé K, Ohno S. Comparative study of two sets of criteria for the diagnosis of Vogt-Koyanagi-Harada's disease. *Am J Ophthalmol* 2005;139(6):1080-5.
 48. Yamaki K, Hara K, Sakuragi S. Application of revised diagnostic criteria for Vogt-Koyanagi-Harada disease in Japanese patients. *Jpn J Ophthalmol* 2005;49:143-8.

49. Cardoso IH, Zajdenweber ME, Muccioli C, Fimamor LP, Belfort R, Jr. Applicability of the 2001 revised diagnostic criteria in Brazilian Vogt-Koyanagi-Harada disease patients. *Arq Bras Oftalmol* 2008;71:67-70.
50. Yamamoto JH, Damico FM, Hirata CE, Olivalves EO, Goveia EB. Epidemiological and clinical features of Brazilian patients with Vogt-Koyanagi-Harada syndrome. Amsterdam: Elsevier Science B.V., 2000:175-8.
51. Read RW, Holland GN, Rao NA, Tabbara KF, Ohno S, Arellanes-Garcia L, Pivetti-Pezzi P, Tessler HH, Usui M. Revised Diagnostic Criteria for Vogt-Koyanagi-Harada Disease: Report of an International Committee on Nomenclature. *Am J Ophthalmol* 2001;131:647-52.
52. Rao NA, Sukavatcharin S, Tsai JH. Vogt-Koyanagi-Harada disease diagnostic criteria. *Int Ophthalmol* 2007;27:195-9.
53. Rao NA, Gupta A, Dustin L, Chee SP, Okada AA, Khairallah M, Bodaghi B, Lehouang P, Accorinti M, Mochizuki M, Prabripataloong T, Read RW. Frequency of Distinguishing Clinical Features in Vogt-Koyanagi-Harada Disease. *Ophthalmology* 2010;117:591-9. 599 e1.
54. Goto H, Mochizuki M, Yamaki K, Kotake S, Usui M, Ohno S. Epidemiological survey of intraocular inflammation in Japan. *Jpn J Ophthalmol* 2007;51:41-4.
55. Ohno S. Immunological aspects of Behcet's and Vogt-Koyanagi-Harada's diseases. *Trans Ophthalmol Soc U K* 1981;101 (Pt 3):335-41.

-
56. Ohno S. Studies on exogenous and endogenous factors associated with various ocular diseases. *Nippon Ganka Gakkai Zasshi* 2005;109:885-915; discussion 916.
 57. Goldberg AC, Yamamoto JH, Chiarella JM, Marin ML, Sibinelli M, Neufeld R, Hirata CE, Olivalves E, Kalil J. HLA-DRB1*0405 is the predominant allele in Brazilian patients with Vogt-Koyanagi-Harada disease. *Hum Immunol* 1998;59(3):183-8.
 58. Shindo Y, Inoko H, Yamamoto T, Ohno S. HLA-DRB1 typing of Vogt-Koyanagi-Harada's disease by PCR-RFLP and the strong association with DRB1*0405 and DRB1*0410. *Br J Ophthalmol* 1994;78:223-6.
 59. Gomi CF, Makdissi FF, Yamamoto JH, Olivalves E. Estudo epidemiológico das uveítes. *Rev Med* 1997;76:101-8.
 60. Islam SM, Numaga J, Fujino Y, Hirata R, Matsuki K, Maeda H, Masuda K. HLA class II genes in Vogt-Koyanagi-Harada disease. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 1994;35:3890-6.
 61. Levinson RD, See RF, Rajalingam R, Reed EF, Park MS, Rao NA, Holland GN. HLA-DRB1 and -DQB1 alleles in mestizo patients with Vogt-Koyanagi-Harada's disease in Southern California. *Hum Immunol* 2004;65:1477-82.
 62. Iqniebi A, Gaafar A, Sheereen A, Al-Suliman A, Mohamed G, Al-Hussein K, Tabbara KF. HLA-DRB1 among patients with Vogt-Koyanagi-Harada disease in Saudi Arabia. *Mol Vis* 2009;15:1876-80.
 63. Arellanes-Garcia L, Bautista N, Mora P, Ortega-Larrocea G, Burguet A, Gorodezky C. HLA-DR is strongly associated with Vogt-Koyanagi-Harada disease in Mexican Mestizo patients. *Ocul Immunol Inflamm* 1998;6:93-100.

64. Scharf Y, Zonis S. Histocompatibility antigens (HLA) and uveitis. *Surv Ophthalmol* 1980;24:220-8.
65. Damico FM, da Silva FT, Gasparin F, Yamamoto JH. New insights into Vogt-Koyanagi-Harada disease. *Arq Bras Oftalmol* 2009;72:413-20.
66. Matsuzaki Y, Hashimoto S, Fujita T, Suzuki T, Sakurai T, Matsushima K, Kawakami Y. Systematic identification of human melanoma antigens using serial analysis of gene expression (SAGE). *J Immunother* 2005;28:10-9.
67. Sugita S, Takase H, Kawaguchi T, Taguchi C, Mochizuki M. Cross-reaction between tyrosinase peptides and cytomegalovirus antigen by T cells from patients with Vogt-Koyanagi-Harada disease. *Int Ophthalmol* 2007;27:87-95.
68. Sugita S, Sagawa K, Mochizuki M, Shichijo S, Itoh K. Melanocyte lysis by cytotoxic T lymphocytes recognizing the MART-1 melanoma antigen in HLA-A2 patients with Vogt-Koyanagi-Harada disease. *Int Immunol* 1996;8:799-803.
69. Sugita S. [Ocular infiltrating CD 4+ T cells from patients with Vogt-Koyanagi-Harada disease recognize human melanocyte antigens]. *Nippon Ganka Gakkai Zasshi* 2008;112:953-64.
70. Rao NA. Mechanisms of inflammatory response in sympathetic ophthalmia and VKH syndrome. *Eye* 1997;11 :213-6.
71. Norose K, Yano A. Melanoma specific Th1 cytotoxic T lymphocyte lines in Vogt-Koyanagi-Harada disease. *Br J Ophthalmol* 1996;80:1002-8.

-
72. Maezawa N, Yano A, Taniguchi M, Kojima S. The role of cytotoxic T lymphocytes in the pathogenesis of Vogt-Koyanagi-Harada disease. *Ophthalmologica* 1982;185:179-86.
 73. Okada T, Sakamoto T, Ishibashi T, Inomata H. Vitiligo in Vogt-Koyanagi-Harada disease: immunohistological analysis of inflammatory site. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol* 1996;234:359-63.
 74. Nakamura S, Nakazawa M, Yoshioka M, Nagano I, Nakamura H, Onodera J, Tamai M. Melanin-laden macrophages in cerebrospinal fluid in Vogt-Koyanagi-Harada syndrome. *Arch Ophthalmol* 1996;114:1184-8.
 75. Chan CC, Palestine AG, Nussenblatt RB, Roberge FG, Benezra D. Anti-retinal auto-antibodies in Vogt-Koyanagi-Harada syndrome, Behcet's disease, and sympathetic ophthalmia. *Ophthalmology* 1985;92:1025-8.
 76. Inomata H, Sakamoto T. Immunohistochemical studies of Vogt-Koyanagi-Harada disease with sunset sky fundus. *Curr Eye Res* 1990;9 Suppl:35-40.
 77. Kahn M, Pepose JS, Green WR, Miller J, Foos RY. Immunocytologic findings in a case of Vogt-Koyanagi-Harada syndrome. *Ophthalmology* 1993;100:1191-8.
 78. Donvito B, Monnet D, Tabary T, Delair E, Vittier M, Réveil B, Sivaradjam R, Edelson C, Philbert F, Brézin AP, Cohen, JH. Different HLA class IA region complotypes for HLA-A29.2 and -A29.1 antigens,

- identical in birdshot retinochoroidopathy patients or healthy individuals. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2005;46:3227-32.
79. Du L, Yang P, Hou S, Lin X, Zhou H, Huang X, Wang L, Kijlstra A. Association of the CTLA-4 gene with Vogt-Koyanagi-Harada syndrome. *Clin Immunol* 2008;127:43-8.
80. Jancelewicz Z. [The effect of external factors in the onset and advancement of ankylosing spondilitis]. *Reumatologia* 1966;4:85-90.
81. Levinson RD, Du Z, Luo L, Monnet D, Tabary T, Brezin AP, Zhao L, Gjertson DW, Holland GN, Reed EF, Cohen JH, Rajalingam R. Combination of KIR and HLA gene variants augments the risk of developing birdshot chorioretinopathy in HLA-A*29-positive individuals. *Genes Immun* 2008;9:249-58.
82. Levinson RD, Rajalingam R, Park MS, Reed EF, Gjertson DW, Kappel PJ, See RF, Roa NA, Holland GN. Human leukocyte antigen A29 subtypes associated with birdshot retinochoroidopathy. *Am J Ophthalmol* 2004;138:631-4.
83. Wee R, Papaliodis G. Genetics of birdshot chorioretinopathy. *Semin Ophthalmol* 2008;23:53-7.
84. Damico FM, Cunha-Neto E, Goldberg AC, Iwai LK, Marin ML, Hammer J, Kalil J, Yamamoto JH. T-cell recognition and cytokine profile induced by melanocyte epitopes in patients with HLA-DRB1*0405-positive and -negative Vogt-Koyanagi-Harada uveitis. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2005;46:2465-71.
85. Damico FM, Kiss S, Young LH. Vogt-Koyanagi-Harada disease. *Semin Ophthalmol* 2005;20:183-90.

86. Bassili SS, Peyman GA, Gebhardt BM, Daun M, Ganiban GJ, Rifai A. Detection of Epstein-Barr virus DNA by polymerase chain reaction in the vitreous from a patient with Vogt-Koyanagi-Harada syndrome. *Retina* 1996;16:160-1.
87. Tagawa Y, Sugiura S, Yakura H, Wakisaka A, Aizawa M. [The association between major histocompatibility antigens (HLA) and Vogt-Koyanagi-Harada syndrome (author's transl)]. *Nippon Ganka Gakkai Zasshi* 1976;80:486-90.
88. Davis JL, Mittal KK, Freidlin V, Mellow SR, Optican DC, Palestine AG, Nussenblatt RB. HLA associations and ancestry in Vogt-Koyanagi-Harada disease and sympathetic ophthalmia. *Ophthalmology* 1990;97:1137-42.
89. Mitsunaga S, Oguchi T, Tokunaga K, Akaza T, Tadokoro K, Juji T. High-resolution HLA-DQB1 typing by combination of group-specific amplification and restriction fragment length polymorphism. *Hum Immunol* 1995;42:307-14.
90. de Smet MD, Ramadan A. Circulating antibodies to inducible heat shock protein 70 in patients with uveitis. *Ocul Immunol Inflamm* 2001;9:85-92.
91. Yang P, Herzberg NH, Zhou H, Broersma L, de Smet M, Kijlstra A. Apoptosis of infiltrating cells in experimental autoimmune uveoretinitis. *Chin Med J (Engl)* 2000;113:643-6.
92. Mawatari Y, Hirata A, Fukushima M, Tanihara H. Choroidal dye filling velocity in patients with Vogt-Koyanagi-Harada disease. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol* 2006;244:1056-9.

93. Okada AA, Mizusawa T, Sakai J, Usui M. Videofunduscopy and videoangiography using the scanning laser ophthalmoscope in Vogt-Koyanagi-Harada syndrome. *Br J Ophthalmol* 1998;82:1175-81.
94. Gupta V, Gupta A, Gupta P, Sharma A. Spectral-Domain Cirrus Optical Coherence Tomography of Choroidal Striations Seen in the Acute Stage of Vogt-Koyanagi-Harada Disease. *Am J Ophthalmol* 2009; 147: 148-53 e2.
95. Koizumi H, Maruyama K, Kinoshita S. Blue light and near-infrared fundus autofluorescence in acute Vogt-Koyanagi-Harada disease. *Br J Ophthalmol* 2010; 94: 1499-505.
96. da Silva FT, Hirata CE, Olivalves E, Oyamada MK, Yamamoto JH. Fundus-based and electroretinographic strategies for stratification of late-stage Vogt-Koyanagi-Harada disease patients. *Am J Ophthalmol* 2009;148:939-45 e3.
97. Read RW, Rao NA, Cunningham ET. Vogt-Koyanagi-Harada disease. *Curr Opin Ophthalmol* 2000;11:437-42.
98. Yamamoto N, Naito K. Annular choroidal detachment in a patient with Vogt-Koyanagi-Harada disease. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol* 2004;242:355-8.
99. Khalifa Y, Loh AR, Acharya NR. Fluocinolone acetonide intravitreal implants in Vogt-Koyanagi-Harada disease. *Ocul Immunol Inflamm* 2009;17:431-3.
100. Khalifa YM, Bailony MR, Acharya NR. Treatment of pediatric Vogt-Koyanagi-Harada syndrome with infliximab. *Ocul Immunol Inflamm* 2010;18:218-22.

101. Kim SJ, Yu HG. The use of low-dose azathioprine in patients with Vogt-Koyanagi-Harada disease. *Ocul Immunol Inflamm* 2007;15:381-7.
102. Yang P, Fang W, Wang L, Wen F, Wu W, Kijlstra A. Study of macular function by multifocal electroretinography in patients with Vogt-Koyanagi-Harada syndrome. *Am J Ophthalmol* 2008;146:767-71.
103. Hayasaka S, Okabe H, Takahashi J. Systemic corticosteroid treatment in Vogt-Koyanagi-Harada disease. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol* 1982;218:9-13.
104. Chee SP, Jap A, Bacsal K. Spectrum of Vogt-Koyanagi-Harada disease in Singapore. *Int Ophthalmol* 2007;27:137-42.
105. Jabs DA, Nussenblatt RB, Rosenbaum JT. Standardization of uveitis nomenclature for reporting clinical data. *Am J Ophthalmol* 2005;140:509-16.
106. Herbort CP, LeHoang P, Gueux-Croiser Y. Schematic interpretation of indocyanine green angiography in posterior uveitis using a standard protocol. *Ophthalmology* 1998;105:432-40.
107. Tugal-Tutkun I, Herbort CP, Khairallah M. Scoring of dual fluorescein and ICG inflammatory angiographic signs for the grading of posterior segment inflammation (dual fluorescein and ICG angiographic scoring system for uveitis). *Int Ophthalmol* 2010;30:539-52.
108. Hee MR, Izatt JA, Swanson EA, Huang D, Schuman JS, Lin CP, Puliafito CA, Fujimoto JG. Optical coherence tomography of the human retina. *Arch Ophthalmol* 1995;113:325-32.

109. Costa RA, Calucci D, Skaf M, Cardillo JA, Castro JC, Melo LA Jr, Martins MC, Kaiser PK. Optical coherence tomography 3: Automatic delineation of the outer neural retinal boundary and its influence on retinal thickness measurements. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2004;45:2399-406.
110. Marmor MF, Fulton AB, Holder GE, Miyake Y, Brigell M, Bach M. ISCEV Standard for full-field clinical electroretinography (2008 update). *Doc Ophthalmol* 2009;118:69-77.
111. Marmor MF, Holder GE, Seeliger MW, Yamamoto S. Standard for clinical electroretinography(2004 update) *Doc Ophthalmol* 2004;108:107-14.
112. Peyresblanques J, Saint-Val C, Collin JP. A case Vogt-Koyanagi-Harada Syndrome. *Bull Soc Fr Ophthal* 1984;84:827-30.
113. Oréfice F. Doença de VKH: Revisão de 50 casos (1972-1988) - Relato de um caso "sui generis". *Rev Bras Oftal* 1989;48:216-25.
114. Okamoto Y, Miyake Y, Horio N, Takakuwa H, Yamamoto E, Terasaki H. Delayed regeneration of foveal cone photopigments in Vogt-Koyanagi-Harada disease at the convalescent stage. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2004;45:318-22.
115. Dale EA, Hood DC, Greenstein VC, Odel JG. A comparison of multifocal ERG and frequency domain OCT changes in patients with abnormalities of the retina. *Doc Ophthalmol* 2009;120:175-86.

APÊNDICES

Anexo A - Aprovação Cappelq HCFMUSP (Comissão de Ética para Análise de Projetos de Pesquisa do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo)

APROVAÇÃO

A Comissão de Ética para Análise de Projetos de Pesquisa - CAPPesq da Diretoria Clínica do Hospital das Clínicas e da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo, em sessão de 03/10/2007, **APROVOU** o Protocolo de Pesquisa nº **0768/07**, intitulado: **"FUNÇÃO VISUAL EM PACIENTES COM DOENÇA DE VOGT-KOYANAGI-HARADA-FASE CRÔNICA."** apresentado pelo Departamento de **OFTALMOLOGIA E OTORRINOLARINGOLOGIA**, inclusive o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido.

Cabe ao pesquisador elaborar e apresentar à CAPPesq, os relatórios parciais e final sobre a pesquisa (Resolução do Conselho Nacional de Saúde nº 196, de 10/10/1996, inciso IX.2, letra "c").

Pesquisador (a) Responsável: **JOYCE HISAE YAMAMOTO**

Pesquisador (a) Executante: **FELIPE THEODORO BEZERRA GASPAR CARVALHO DA SILVA**

CAPPesq, 05 de Outubro de 2007

Prof. Dr. Eduardo Massad
**Presidente da Comissão
de Ética para Análise de
Projetos de Pesquisa**

Anexo B - Termo de consentimento livre e esclarecido

HOSPITAL DAS CLÍNICAS DA
FACULDADE DE MEDICINA DA UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

(Instruções para preenchimento no verso)

I - DADOS DE IDENTIFICAÇÃO DO SUJEITO DA PESQUISA OU RESPONSÁVEL LEGAL

1. NOME DO PACIENTE :
DOCUMENTO DE IDENTIDADE Nº : SEXO : .M ☐ F ☐
DATA NASCIMENTO:/...../.....
ENDEREÇO : Nº APTO:
BAIRRO: CIDADE
CEP: TELEFONE: DDD (.....)
2. RESPONSÁVEL LEGAL
NATUREZA (grau de parentesco, tutor, curador etc.)
DOCUMENTO DE IDENTIDADE : SEXO: M ☐ F ☐
DATA NASCIMENTO:/...../.....
ENDEREÇO: Nº APTO:
BAIRRO: CIDADE:
CEP: TELEFONE: DDD (.....)

II - DADOS SOBRE A PESQUISA CIENTÍFICA

1. TÍTULO DO PROTOCOLO DE PESQUISA

Função visual em pacientes com doença de Vogt-Koyanagi-Harada – fase crônica

2. PESQUISADOR: Dra. Joyce Hisae Yamamoto
CARGO/FUNÇÃO: Médica Assistente/Pesquisadora
INSCRIÇÃO CONSELHO REGIONAL Nº: 51804
UNIDADE DO HCFMUSP: Clínica Oftalmológica

3. AVALIAÇÃO DO RISCO DA PESQUISA:

☐	SEM RISCO	☐	RISCO MÍNIMO	☒	RISCO	MÉDIO
	RISCO BAIXO	☐	RISCO MAIOR	☐		

(probabilidade de que o indivíduo sofra algum dano como consequência imediata ou tardia do estudo)

4. DURAÇÃO DA PESQUISA : 2 anos

III - REGISTRO DAS EXPLICAÇÕES DO PESQUISADOR AO PACIENTE OU SEU REPRESENTANTE LEGAL SOBRE A PESQUISA CONSIGNANDO:

1. Justificativa e os objetivos da pesquisa

Você está sendo convidado a participar de uma pesquisa clínica; envolvendo pessoas com a doença de Vogt-Koyanagi-Harada. Leia cuidadosamente este termo de consentimento livre e esclarecido e faça todas as perguntas que quiser antes de decidir se quer participar do estudo. Sua decisão de consentir em participar deste estudo é voluntária e você pode sair do estudo a qualquer momento. Se decidir não participar ou retirar-se do estudo, você não perderá os benefícios a que teria direito de outra forma. Você será informado sobre toda informação nova que possa surgir durante a pesquisa que possa alterar sua disposição em participar deste estudo. Seu médico pode descontinuar sua participação deste estudo, independentemente de seu consentimento, se ele/ela considerar que esta é a melhor conduta no seu caso em particular.

Informações sobre a sua doença e objetivos da pesquisa

A doença de Vogt-Koyanagi-Harada é uma doença que afeta estruturas que têm em comum pigmento da melanina. Assim a doença afeta pele, ouvidos, meninge e, principalmente, o olho. Esta doença, se diagnosticada precocemente e tratada de forma adequada, resulta em uma boa recuperação da visão. Porém, em alguns pacientes a inflamação não cede facilmente e ela permanece por períodos longos (meses) e em outros a inflamação desaparece totalmente, mas recidiva após algum tempo (meses a anos).

A doença de Vogt-Koyanagi-Harada não tem ainda uma causa definida, mas sabe-se que é consequência de uma "auto-agressão". Em outras palavras, o sistema imune do paciente, que tem função primária de defesa contra organismos estranhos e externos, ataca proteínas presentes no próprio organismo causando a doença. Em geral, ela ocorre em pessoas que apresentam uma tendência genética para esta "auto-agressão".

Neste estudo iremos fazer vários exames usados rotineiramente para avaliar a extensão desta doença. Iremos também fazer alguns exames de laboratório com o material obtido na amostra de seu sangue para analisar as possíveis causas desta doença e o porquê alguns pacientes apresentam a doença de forma mais severa.

2. Procedimentos que serão utilizados e propósitos, incluindo a identificação dos procedimentos que são experimentais

Os exames a serem realizados vão nos indicar como está a sua função visual.

Assim, primeiro iremos documentar as alterações encontradas no seu olho tirando fotografias de seu fundo de olho (retinografia). O mesmo aparelho usado para fotografar o seu fundo de olho será usado para detectar alterações dos vasos das várias camadas do olho. Para isso será injetado um corante na sua veia. Este corante circula pelo organismo e pelo olho, e facilita enxergar as alterações causadas pela doença no fundo do olho.(angiografia com fluoresceína e indocianina).

Ainda para documentar as alterações de seu fundo de olho, faremos uma tomografia da retina (tomografia de coerência óptica) e um ultra-som. São exames simples, mais simples dos que os realizados no seu corpo. A tomografia de coerência óptica usa uma luz invisível para produzir imagens muito detalhadas do fundo de olho. Não se injeta corante e não há contato com seu olho por parte do aparelho. O ultrassom do olho requer que haja contato de uma sonda embebida em gel, do tamanho de uma caneta, com suas pálpebras.

Para avaliar o quanto estas alterações estão prejudicando a sua visão, serão feitos também o exame de campo visual e o exame eletrofisiológico da retina (parecido com o exame eletroencefalograma da "cabeça"). Estes exames requerem muito a sua atenção e duram em volta de trinta minutos cada.

Nenhum destes testes são experimentais e são utilizados de rotina na avaliação de pacientes com problema no "fundo de olho".

As amostras de sangue que colheremos serão utilizadas para exames que não influenciam em seu tratamento. Estas amostras de sangue serão encaminhadas para determinar o "tipo de sangue", se predisposto a esta doença ou não.

3.Desconfortos e riscos esperados

Os riscos esperados neste estudo são mínimos. Todos os exames a serem realizados já fazem parte da prática oftalmológica internacional.

Alguns exames envolvem o toque de aparelhos no olho (ultrassonografia e eletroretinograma) e, apesar do olho ser previamente anestesiado, um leve desconforto pode ser esperado.

Os exames que utilizam contraste (angiografia fluoresceínica e com indocianina) podem gerar náuseas imediatamente após a injeção. Há também a remota possibilidade de alergia ao contraste – cerca de 1 em cada 10.000 exames-. Pode haver pigmentação escura de urina e do suor nos dias que se seguem ao exame, sem permanecer assim por mais que 2 ou 3 dias.

Quanto às punções para coletar seu sangue, pode haver um pequeno desconforto da punção para acesso venoso periférico e retirada de pequena quantidade de sangue periférico. Pode haver um pequeno hematoma local.

4. Benefícios que poderão ser obtidos

Não há compensação financeira aos participantes do estudo. Os exames a serem realizados permitem uma avaliação funcional mais precisa dos pacientes e sua doença. Os exames a serem realizados fazem parte da rotina do Oftalmologista, porém serão realizados de modo padronizado.

Esse estudo poderá ajudar na melhora do diagnóstico e tratamento da sua doença.

Os exames de laboratório (de sangue) provavelmente não trarão um benefício imediato para você mas serão úteis para outros futuros pacientes.

5. Procedimentos alternativos que possam ser vantajosos para o indivíduo

Não se aplica.

IV - ESCLARECIMENTOS DADOS PELO PESQUISADOR SOBRE GARANTIAS DO SUJEITO DA PESQUISA CONSIGNANDO:

1. Acesso, a qualquer tempo, às informações sobre procedimentos, riscos e benefícios relacionados à pesquisa, inclusive para dirimir eventuais dúvidas.

Você poderá ter acesso a qualquer informação e qualquer dúvida sobre seu caso e de todos os exames que estão sendo realizados, através de seu médico.

2. Liberdade de retirar seu consentimento a qualquer momento e de deixar de participar do estudo, sem que isto traga prejuízo à continuidade da assistência.

Sua participação neste estudo é totalmente voluntária. Você não perderá benefícios de tratamento de saúde que de outra forma teria se decidir não participar ou se desistir de participar do estudo a qualquer momento.

3. Salvaguarda da confidencialidade, sigilo e privacidade.

Qualquer informação coletada é estritamente confidencial. Seu nome nunca será revelado nos relatórios do estudo e sua identidade não será comunicada a terceiros, podendo ser fornecido apenas aos médicos envolvidos nesta pesquisa.

Os dados obtidos na pesquisa poderão ser utilizados para futuras publicações, respeitando-se a sua confidencialidade.

4. Disponibilidade de assistência no HCFMUSP, por eventuais danos à saúde, decorrentes da pesquisa.

Qualquer dano a sua saúde decorrente da pesquisa terá assistência neste Hospital sem custo algum. Considera-se um problema de saúde relacionado à pesquisa quando o mesmo tenha sido ocasionado pelos procedimentos exigidos pela pesquisa.

V. INFORMAÇÕES DE NOMES, ENDEREÇOS E TELEFONES DOS RESPONSÁVEIS PELO ACOMPANHAMENTO DA PESQUISA, PARA CONTATO EM CASO DE INTERCORRÊNCIAS CLÍNICAS E REAÇÕES ADVERSAS.

Dr. Felipe Theodoro Gaspar – Fone: 8197-6448

VI. OBSERVAÇÕES COMPLEMENTARES:

VII - CONSENTIMENTO PÓS-ESCLARECIDO

Declaro que, após convenientemente esclarecido pelo pesquisador e ter entendido o que me foi explicado, consinto em participar do presente Protocolo de Pesquisa

São Paulo, de de 200 .

assinatura do sujeito da pesquisa ou responsável legal

assinatura do pesquisador
(carimbo ou nome Legível)

Anexo C. Dados individuais dos pacientes com doença de Vogt-Koyanagi-Harada estágio tardio incluídos no presente estudo, Setor de Uveítes, HCFMUSP, 2007-2010

Identificação	Olho	Idade	Sexo	Categoria critério revisado	Tempo doença (meses)	Tratamento precoce e adequado	Imunossu- pressor	Corticóide sistêmico	Imunossu- pressor	Atividade clínica	Acuidade visual logMAR
1	OD OE	32	f	C	120	sim	sim	sim	CYA, AZA	ativo inativo	0 0,1
2	OD	35	m	C	38	não	sim	sim	CYA	ativo	0
3	OD OE	19	f	I	9	sim	não	sim		ativo ativo	0,18 0,18
4	OD OE	36	m	P	96	não	sim	sim	CYA, AZA	inativo ativo	0,7 0,7
5	OD OE	43	f	P	348	sim	sim	sim	AZA	inativo inativo	0 0,1
6	OD OE	43	f	I	57	sim	não	não		inativo inativo	0,3 0,3
7	OD OE	57	f	I	18	sim	não	não		inativo inativo	0,05 0,3
8	OD OE	26	m	I	9	sim	sim	sim	CYA, AZA	inativo inativo	0 0
9	OD OE	49	f	I	336	não	sim	sim	AZA	ativo ativo	1,5 1,5
10	OD OE	33	m	I	172	sim	não	não		inativo inativo	0 0
11	OD OE	63	m	C	216	não	sim	não	CFM	inativo inativo	0,18 0,7
12	OD OE	58	f	I	240	sim	sim	sim	CYA	inativo inativo	0,4 0
13	OD	28	f	P	48	não	sim	não	CYA	inativo	0
14	OD OE	50	m	P	96	não	não	não		ativo ativo	0 0,48
15	OD OE	30	f	C	9	sim	sim	sim	CYA	ativo ativo	0 0
16	OD OE	34	f	I	151	sim	sim	não	CYA	ativo ativo	0 0
17	OD OE	47	f	I	34	sim	não	não		inativo inativo	0 0
18	OD OE	34	f	I	31	não	não	sim		inativo ativo	0 1,5
19	OD OE	37	f	C	12	sim	não	não		inativo inativo	0 0

continua

Anexo C (cont.). Dados individuais dos pacientes com doença de Vogt-Koyanagi-Harada estágio tardio incluídos no presente estudo, Setor de Uveítes, HCFMUSP, 2007-2010

Identificação	Olho	Idade	Sexo	Categoria critério revisado	Tempo doença (meses)	Tratamento precoce e adequado	Imunossu- pressor	Corticóide sistêmico	Imunossu- pressor	Atividade clínica	Acuidade visual logMAR
20	OD OE	67	f	C	108	não	não	não		inativo inativo	0 0
21	OD OE	38	f	C	27	sim	sim	não	CFM/CYA	inativo inativo	0,05 0,05
22	OD OE	57	f	I	93	sim	não	não		inativo inativo	0 0
23	OD OE	33	f	I	36	sim	não	não		inativo inativo	1 0,1
24	OE	46	f	I	189	não	não	não		inativo	0,4
25	OD OE	23	f	P	102	sim	não	não		ativo ativo	0 0
26	OD OE	29	f	C	9	sim	não	sim		ativo ativo	0 0
27	OD	29	f	I	16	sim	sim	sim	CYA	inativo	0,4
28	OD OE	27	f	I	18	sim	não	sim		ativo ativo	0 1,5
29	OD OE	51	f	I	102	sim	sim	não	AZA	inativo inativo	0 0
30	OD OE	27	f	I	24	não	sim	não	AZA	inativo inativo	0 0
31	OD OE	46	f	C	44	sim	sim	não	CYA/AZA/MMF	ativo ativo	1 0,1
32	OD OE	51	f	P	96	sim	não	não		inativo inativo	0,1 1,5
33	OD OE	26	f	I	16	sim	não	não		inativo inativo	0,1 0,1
34	OD OE	27	m	C	42	não	sim	sim	CYA	ativo ativo	0,4 0,48
35	OD OE	23	f	I	65	não	sim	não	AZA	inativo inativo	0,7 0,7
36	OD OE	50	f	I	90	sim	sim	não	CYA	inativo inativo	0 0

MTC: meticorten, CYA: ciclosporina A, AZA: azatioprina, MMF: micofenolato de mofetila, CFM: ciclofosfamida

Anexo C (cont). Dados individuais dos pacientes com doença de Vogt-Koyanagi-Harada estágio tardio incluídos no presente estudo, Setor de Uveítes, HCFMUSP, 2007-2010

Identificação	Complicações				Retinografia	ERGct	AICV	OCT	ERGmf	Situação atual
	catarata	glaucoma	alteração macular	membrana	classificação analítica			espectral IS/OS		
1	X				leve	leve	ativo	íntegra	grave	ativo/CYA, AZA
	X			X	leve	leve	ativo			ativo/CYA, AZA
2	X				moderado	leve	inativo	íntegra	grave	inativo/CYA
					leve	leve	ativo	íntegra	leve	inativo
3					leve	moderado	ativo	íntegra	leve	inativo
4	X	X	X		grave	leve	ativo	danificada	grave	ativo/MTC, CYA, AZA
	X	X	X		grave	leve		danificada	grave	ativo/MTC, CYA, AZA
5					leve	moderado	ativo			inativo
					moderado	moderado	ativo			inativo
6					moderado	moderado	ativo			inativo
	X				moderado	leve	ativo			inativo
7	X				moderado	leve		danificada	grave	inativo
	X				moderado	leve		íntegra	grave	inativo
8		X			leve			danificada	grave	inativo/CYA
		X			leve			íntegra	leve	inativo/CYA
9	X				moderado		ativo			inativo/AZA
	X				moderado		inativo			inativo/AZA
10					leve	grave				inativo
					leve	moderado				inativo
11	X		X		leve	moderado				inativo
	X		X		leve	moderado				inativo
12	X				grave		inativo			inativo
	X				grave		inativo			inativo
13	X				moderado	grave				inativo
14	X				moderado	moderado	inativo	danificada	grave	inativo
	X		X		grave		inativo			inativo
15	X	X			grave		ativo	íntegra	grave	inativo/CYA
	X	X			grave		ativo	danificada	grave	inativo/CYA
16		X			moderado	moderado	inativo	íntegra	leve	inativo/CYA
		X			moderado	moderado	inativo	danificada	leve	inativo/CYA
17					leve			íntegra	grave	inativo
					leve			íntegra	grave	inativo
18	X	X			moderado	moderado	ativo			inativo
	X	X			moderado	moderado				inativo
19					moderado		inativo	íntegra	leve	inativo
					moderado		inativo	danificada	leve	inativo

continua

Anexo C (cont). Dados individuais dos pacientes com doença de Vogt-Koyanagi-Harada estágio tardio incluídos no presente estudo, Setor de Uveítes, HCFMUSP, 2007-2010

Identificação	Complicações				Retinografia classificação analítica	ERGct	AICV	OCT espectral IS/OS	ERGmf	Situação atual
	catarata	Glaucoma	alteração macular	membrana						
20					leve	moderado	ativo	Íntegra	grave	inativo
21	X	X			leve	moderado	ativo	Íntegra	grave	inativo
22	X	X			grave	grave	ativo			inativo
23					grave	moderado	ativo	Danificada	grave	inativo
24	X				grave	moderado	inativo	Danificada	grave	inativo
25	X				grave	moderado	ativo	Danificada	grave	inativo
26					grave	moderado	ativo	Danificada	grave	inativo
27					leve	Leve	ativo	Íntegra	leve	inativo
28					leve	Leve	ativo	Íntegra	leve	inativo
29					leve					inativo
30	X	X	X		grave	Grave	inativo	Íntegra	leve	CYA/inativo
31	X	X	X		grave	Grave	inativo	Íntegra	grave	inativo
32					grave	Grave	ativo	Íntegra	grave	inativo
33					grave	Grave	ativo	Íntegra	grave	inativo/AZA
34	X	X	X		moderado	Grave	inativo	Íntegra	grave	inativo/AZA
35	X	X	X		moderado	Grave	inativo	Íntegra	grave	inativo/AZA
36	X	X	X		moderado	Grave	ativo	Íntegra	grave	CYA/AZA/MMF
37					moderado	Grave	ativo	Íntegra	grave	inativo
38					moderado	Grave	ativo	Íntegra	grave	inativo
39					moderado	Grave	ativo	Íntegra	grave	inativo
40					moderado	Grave	ativo	Íntegra	grave	inativo
41					moderado	Grave	ativo	Íntegra	grave	inativo
42					moderado	Grave	ativo	Íntegra	grave	inativo
43					moderado	Grave	ativo	Íntegra	grave	inativo
44					moderado	Grave	ativo	Íntegra	grave	inativo
45					moderado	Grave	ativo	Íntegra	grave	inativo
46					moderado	Grave	ativo	Íntegra	grave	inativo
47					moderado	Grave	ativo	Íntegra	grave	inativo
48					moderado	Grave	ativo	Íntegra	grave	inativo
49					moderado	Grave	ativo	Íntegra	grave	inativo
50					moderado	Grave	ativo	Íntegra	grave	inativo
51					moderado	Grave	ativo	Íntegra	grave	inativo
52					moderado	Grave	ativo	Íntegra	grave	inativo
53					moderado	Grave	ativo	Íntegra	grave	inativo
54					moderado	Grave	ativo	Íntegra	grave	inativo
55					moderado	Grave	ativo	Íntegra	grave	inativo
56					moderado	Grave	ativo	Íntegra	grave	inativo
57					moderado	Grave	ativo	Íntegra	grave	inativo
58					moderado	Grave	ativo	Íntegra	grave	inativo
59					moderado	Grave	ativo	Íntegra	grave	inativo
60					moderado	Grave	ativo	Íntegra	grave	inativo
61					moderado	Grave	ativo	Íntegra	grave	inativo
62					moderado	Grave	ativo	Íntegra	grave	inativo
63					moderado	Grave	ativo	Íntegra	grave	inativo
64					moderado	Grave	ativo	Íntegra	grave	inativo
65					moderado	Grave	ativo	Íntegra	grave	inativo
66					moderado	Grave	ativo	Íntegra	grave	inativo
67					moderado	Grave	ativo	Íntegra	grave	inativo
68					moderado	Grave	ativo	Íntegra	grave	inativo
69					moderado	Grave	ativo	Íntegra	grave	inativo
70					moderado	Grave	ativo	Íntegra	grave	inativo
71					moderado	Grave	ativo	Íntegra	grave	inativo
72					moderado	Grave	ativo	Íntegra	grave	inativo
73					moderado	Grave	ativo	Íntegra	grave	inativo
74					moderado	Grave	ativo	Íntegra	grave	inativo
75					moderado	Grave	ativo	Íntegra	grave	inativo
76					moderado	Grave	ativo	Íntegra	grave	inativo
77					moderado	Grave	ativo	Íntegra	grave	inativo
78					moderado	Grave	ativo	Íntegra	grave	inativo
79					moderado	Grave	ativo	Íntegra	grave	inativo
80					moderado	Grave	ativo	Íntegra	grave	inativo
81					moderado	Grave	ativo	Íntegra	grave	inativo
82					moderado	Grave	ativo	Íntegra	grave	inativo
83					moderado	Grave	ativo	Íntegra	grave	inativo
84					moderado	Grave	ativo	Íntegra	grave	inativo
85					moderado	Grave	ativo	Íntegra	grave	inativo
86					moderado	Grave	ativo	Íntegra	grave	inativo
87					moderado	Grave	ativo	Íntegra	grave	inativo
88					moderado	Grave	ativo	Íntegra	grave	inativo
89					moderado	Grave	ativo	Íntegra	grave	inativo
90					moderado	Grave	ativo	Íntegra	grave	inativo
91					moderado	Grave	ativo	Íntegra	grave	inativo
92					moderado	Grave	ativo	Íntegra	grave	inativo
93					moderado	Grave	ativo	Íntegra	grave	inativo
94					moderado	Grave	ativo	Íntegra	grave	inativo
95					moderado	Grave	ativo	Íntegra	grave	inativo
96					moderado	Grave	ativo	Íntegra	grave	inativo
97					moderado	Grave	ativo	Íntegra	grave	inativo
98					moderado	Grave	ativo	Íntegra	grave	inativo
99					moderado	Grave	ativo	Íntegra	grave	inativo
100					moderado	Grave	ativo	Íntegra	grave	inativo

ERGct: eletrorretinograma de campo total, AICV: angiografia com indocianina verde, OCT espectral: tomografia de coerência óptica espectral, ERGmf: eletrorretinograma multifocal

Anexo D – Artigo publicado *Fundus-based and electroretinographic strategies for stratification of late-stage Vogt-Koyanagi-Harada disease patients*⁹⁶

Fundus-Based and Electroretinographic Strategies for Stratification of Late-Stage Vogt-Koyanagi-Harada Disease Patients

FELIPE THEODORO DA SILVA, CARLOS EDUARDO HIRATA, EDILBERTO OLIVARES, MARIA KIYOKO OYAMADA, AND JOYCE HISAE YAMAMOTO

• **PURPOSE:** To propose an analytic framework for ocular fundus alterations in late-stage Vogt-Koyanagi-Harada (VKH) disease, to describe the characteristics of overall retinal function as measured with full-field electroretinography (ERG), and to correlate the intensity of the fundus changes with full-field ERG alterations and to stratify patients accordingly.

• **DESIGN:** Cross-sectional case series.

• **METHODS:** Forty-seven eyes of 26 patients with late-stage VKH disease (> 6 months past disease onset) followed-up at the University of São Paulo School of Medicine underwent fundus photography within 2 months of a full-field ERG examination, both according to pre-defined protocols. Fundus pictures were evaluated by two observers regarding diffuse fundus depigmentation, nummular lesions, pigment clumps, and subretinal fibrosis, and an overall analysis classified the fundus changes as mild, moderate, or severe. Full-field ERG results were analyzed according to fundus-based stratification and also were stratified into 3 groups solely on the basis of decreasing amplitudes (ERG based or cluster stratification). The concordance between fundus-based and full-field ERG-based stratification strategies was estimated.

• **RESULTS:** Overall fundus grading showed substantial interobserver concordance ($\kappa = 0.78$). Comparison of full-field ERG parameters of the three fundus-based stratified groups showed diffusely diminished amplitudes with preservation of implicit times ($P < .05$). Fundus-based and full-field ERG-based stratification strategies also showed substantial concordance ($\kappa = 0.68$).

• **CONCLUSIONS:** The analytic framework for fundus findings proposed in this study seems reproducible and useful, because the severity categories do correlate with retinal function as measured by full-field ERG. This system may allow more precise exchange of information between practitioners as well as researchers with regard to identifying patients with greater retinal compromise rapidly as well as in comparison of outcomes of different

treatment regimens. (Am J Ophthalmol 2009;148:939–945. © 2009 by Elsevier Inc. All rights reserved.)

VOGT-KOYANAGI-HARADA (VKH) DISEASE IS A SYSTEMIC autoimmune disease that targets melanocyte-rich organs, such as the eye, inner ear, meninges, and skin. It is a common cause of uveitis in Japan, corresponding to 8% of uveitis;¹ in Brazil, it corresponds to 2% to 4% of uveitis and is the most common cause of noninfectious uveitis along with Behçet disease.² Clinically, the disease may be subdivided into 4 phases: prodromal, acute or uveitic, convalescent, and chronic.³ The prodromal phase precedes the acute phase by a few days and is characterized by flu-like symptoms. The acute phase may last up to several weeks and presents as an acute, bilateral panuveitis. Posterior pole signs may range from isolated, asymmetric, and fruste optic disc hyperemia, with vague visual symptoms, to bilateral and voluminous serous retinal detachment accompanied by intense visual impairment. The convalescent phase ensues after the uveitic phase and is marked by pigmentary changes. Chronic-phase VKH disease may be observed in 33% to 74% of cases, and relapses are more prominent in the anterior segment.³

Diffuse retinal depigmentation (also known as sunset-glow fundus) is the classic description of the fundus of VKH disease patients in both the convalescent or chronic phases.^{3,4} There are, however, focal alterations that also are characteristic of these phases, such as peripapillary atrophy (PPA) and its extension relative to disc area (PPA-to-DA ratio), nummular hypopigmented lesions in retinal midperiphery, pigment clumps, and subretinal fibrosis. These findings have been correlated in an isolated manner to retinal damage and dysfunction.^{5–7} Yet, an objective system for classifying late-stage VKH disease, in which each disease severity category is correlated with an objectively measured degree of retinal function, is lacking. This objective classification system may allow the comparison between outcomes of different treatment regimens as well as facilitating the exchange of information among researchers and practitioners. By means of correlating fundus findings in a unified manner with an objective measure of overall retinal function such as the full-field electroretinography (ffERG), one may stratify late-stage VKH disease patients and may develop such an analytic

AJO.com Supplemental Material available at AJO.com.
Accepted for publication Jun 23, 2009.

From the Department of Ophthalmology, Hospital das Clínicas, University of São Paulo School of Medicine, São Paulo, SP, Brazil.

Inquiries to Felipe Theodoro da Silva, Rua da Consolação, 3075/313, 01416-016 São Paulo, SP, Brazil; e-mail: felipe2000@yahoo.com

TABLE 1. Clinical Characteristics of Patients with Late-Stage Vogt-Koyanagi-Harada Disease from the Uveitis Service, Hospital das Clínicas, University of São Paulo School of Medicine, São Paulo, Brazil

Description	
No.	26
Mean age $\pm$ SD (years)	34 $\pm$ 11.7
Male gender, n (%)	5 (19.2)
Classification according to the revised diagnostic criteria, n (%)	
Complete	4 (15.4)
Incomplete	13 (50.0)
Probable	9 (34.6)
Median disease duration (range), mos	56 (17 to 348)
Disease activity, n (%)	
Inactive	9 (34.6)
Active	17 (65.4)
Systemic medication, n (%)	17 (65.4)
Corticosteroid	12 (46.1)
Immunosuppressant	8 (30.8)

Mos = months; SD = standard deviation.

framework for ocular fundus alterations. The present study aimed to propose an analytic framework for ocular fundus alterations in late-stage VKH disease, to describe the characteristics of overall retinal function as measured by the fFERG, and to correlate the intensity of the fundus changes with fFERG alterations and to stratify patients accordingly.

METHODS

THIS CROSS-SECTIONAL CASE-SERIES INCLUDED 47 EYES OF 26 patients in the late stage of VKH disease (defined as ≥ 6 months from disease onset) from the Uveitis Service, Hospital das Clínicas, University of São Paulo School of Medicine, São Paulo, Brazil. Patients diagnosed with VKH disease according to the Revised Diagnostic Criteria proposed by the International Nomenclature Committee⁸ were enrolled in a consecutive manner from March 2007 through October 2008. Exclusion criteria were inadequate mydriasis (< 7 mm, according to the criteria established by the International Society for Clinical Electrophysiology of Vision),⁹ media opacities (cataract or other), glaucoma (defined as characteristic optic nerve damage or typical visual field defects accompanied by compatible optic nerve damage), and refractive errors of more than 5 diopters. The characteristics of patients enrolled in this study are listed in Table 1. Clinical activity was classified according to the Standardization of Uveitis Nomenclature Working Group.¹⁰

Fundus photographs were obtained with the TRC 50-X retinal camera and Imaginet 50X Imaginet systems (Topcon, Inc, Tokyo, Japan) following a standardized protocol,

including pictures of the posterior pole centered in the optic nerve, centered in the macula, in the four extreme positions of gaze (up, down, left, and right) and in the four intermediate positions of gaze. The retinographies and their respective mosaics were analyzed according to a standardized protocol by two different observers (C.E.H. and J.H.Y.) in a blinded manner. According to this protocol, in addition to evaluating the presence and intensity of diffuse fundus depigmentation (sunset-glow fundus) using standard fundus photography methods, the following focal findings also were evaluated: 1) presence of at least one nummular lesion in three quadrants or more, 2) presence of pigment clumps in three quadrants or more, and 3) any subretinal fibrosis. Based on the combined analysis of fundus alterations observed, overall disease severity was staged as mild (mild or moderate diffuse fundus depigmentation and no other focal findings), moderate (moderate or severe diffuse fundus depigmentation accompanied by one focal finding), and severe (moderate or severe diffuse fundus depigmentation with at least two focal findings; Figure; Table 2). The PPA-to-DA ratio was measured, but was not included in the overall fundus analysis, using the Imaginet Systems by two blinded observers (F.T.S. and J.H.Y.) as described previously.⁵ Interobserver agreement was estimated for each fundus feature as well as for overall fundus grading. In case of discrepancy, a third observer (E.O.) acted as a referee and reached a consensus.

The fFERG recordings were performed in accordance with International Society for Clinical Electrophysiology of Vision guidelines,^{9,11} with the RETI-port system (Roland Consult; Electrophysiological Diagnostic Systems, Brandenburg, Germany), using ERG-jet electrodes (Universe SA, La Chaux-de-Fons, Switzerland). Scotopic ERG responses were recorded after a period of 20 minutes of dark adaptation, and photopic ERG responses were recorded after 10 minutes of light adaptation. The recording sequence was scotopic rod response, scotopic cone-rod combined response, scotopic oscillatory potentials, photopic cone response, and 30-Hz flicker cone response, with 8 sequential stimuli for each phase. The implicit time and amplitude of averaged waveform components were evaluated for each stimulus. The limits of normal values for each specific ERG response were established at 95% confidence limits. fFERG results were compared with a normative database composed of 61 controls. The degree of retinal dysfunction was estimated by scotopic and photopic potentials amplitude and oscillatory potentials index provided by the sum of the three major wavelets. Fundus-based groups were analyzed with regard to the mean of each fFERG parameter. Eyes also were stratified mathematically into three groups (mild, moderate, and severe ERG) based solely on numerical similarity between amplitudes, a so-called cluster stratification. Implicit times were not considered because they were nearly equal among the groups, and dimensionally, their inclusion into stratifica-

FIGURE. Standardized retinography results for grading diffuse and focal fundus findings used for the analytical framework for fundus changes in late-stage Vogt-Koyanagi-Harada patients. Diffuse fundus depigmentation: (Top left) mild, (Top right) moderate, and (Middle left) severe. Focal findings: (Middle right) nummular lesions, (Bottom left) pigment clumps, and (Bottom right) subretinal fibrosis.

tion made groups less distinct. Estimation of the concordance between fundus-based and cluster-based (electroretinographic) stratifications was carried out using the κ coefficient. Comparison between different fundus-based and

electroretinographically stratified groups was performed using the analysis of variance and Bonferroni multiple comparisons to identify which groups were different in paired analysis. Data analysis and statistical tests were

TABLE 2. Fundus Parameters Used to Propose an Analytic Framework for Fundus Changes in Late-Stage Vogt-Koyanagi-Harada Disease

Description	Overall Analysis		
	Mild	Moderate	Severe
Diffuse findings	Mild or moderate	Moderate or severe	Moderate or severe
Diffuse pigmentary changes			
Focal findings	None	One	At least 2
Nummular lesions in ≥ 3 quadrants			
Pigment clumps in ≥ 3 quadrants			
Subretinal fibrosis			

TABLE 3. Prevalence of Individual Fundus Findings in Each Fundus-Based Severity Group in Eyes of Patients with Late-Stage Vogt-Koyanagi-Harada Disease

Fundus Findings	Overall		Mild		Moderate		Severe	
	No. of Eyes	Prevalence (%)	No. of Eyes	Prevalence (%)	No. of Eyes	Prevalence (%)	No. of Eyes	Prevalence (%)
Severe diffuse pigmentary changes	18	38.3	0	0	3	37.5	15	93.8
Nummular lesions in ≥ 3 quadrants	9	19.1	0	0	3	37.5	6	37.5
Pigment clumps in ≥ 3 quadrants	18	38.3	0	0	2	25.0	16	100.0
Subretinal fibrosis	13	27.7	0	0	0	0	13	81.3
PPA-to-DA ratio > 2	36	76.6	12	52.2	8	100.0	16	100.0
Total no. of eyes	47		23		8		16	

PPA-to-DA = peripapillary atrophy and its extension relative to disc area.

carried out using SPSS software version 13.0 (SPSS Science, Chicago, Illinois, USA), SAS/STAT statistical software (SAS Institute Inc, Cary, North Carolina, USA), and STATA software version 9.0 (StataCorp LP, College Station, Texas, USA).

RESULTS

TWENTY-SIX LATE-STAGE VKH DISEASE PATIENTS (DEFINED as 6 months or more past disease onset) underwent fundus and fERG analysis. The patients' characteristics are described in Table 1. Most patients included in this study (65.4%; 17/26) demonstrated ongoing disease activity, and all these patients were under systemic treatment with corticosteroids or immunosuppressants (70.6% [12/17] and 47.1% [8/17], respectively).

The prevalence of fundus changes used as parameters in the analytic framework for severity grading was analyzed (Tables 2 and 3). Regarding diffuse pigmentary change (sunset-glow fundus), 27.6% (13/47) of eyes had mild fundus depigmentation, 34.1% (16/47) had moderate fundus depigmentation, and 38.3% (18/47) had severe fundus depigmentation. As to focal findings, a PPA-to-DA ratio of more than two in 76.6% (36/47) of eyes was the most common. The other focal changes had prevalences varying between approximately 20% and 40% (Table 3). Overall

fundus grading consisted of the combined analysis of diffuse and focal fundus changes, as described in Table 2. In the overall fundus analysis, 48.9% (23/47), 17.0% (8/47), and 34.1% (16/47) of eyes were classified as having mild, moderate, and severe disease, respectively (Table 3).

Concerning the distribution of focal changes among fundus-based severity groups, subretinal fibrosis was found only and had an 81.3% (13/16) prevalence in the severe disease group. Pigment clumps in three quadrants or more were 4 times more frequent in severe disease patients and were absent in mild disease patients (100% [16/16] vs 25% [2/8]). Nummular lesions were present in an equal proportion of patients in either moderate or severe disease groups, not helping to differentiate between these groups (37.5% in the moderate [3/8] and severe [6/16] groups). A PPA-to-DA ratio of more than two was found in all three groups, not contributing to differentiate the moderate and severe disease groups because all patients in either group had this finding (Table 3).

Overall fundus-based severity grading as described had substantial interobserver concordance ($\kappa = 0.78$), more than any individual change in isolation (subretinal fibrosis, $\kappa = 0.62$; nummular lesions, $\kappa = 0.61$; PPA-to-DA ratio > 2 , $\kappa = 0.53$; diffuse fundus depigmentation, $\kappa = 0.33$).

Full-field electroretinography results in eyes of late-stage VKH disease patients showed overall decreased amplitudes while preserving implicit times. Analysis of fERG results

TABLE 4. Full-Field Electroretinography Parameters of Eyes of Late-Stage Vogt-Koyanagi-Harada Disease Patients

Full-Field ERG Parameters	Control	Overall Fundus Analysis		
		Mild	Moderate	Severe
No. of eyes	61	23	8	16
Scotopic <i>b</i> wave				
Implicit time (ms) ^a	77.0 (70.0 to 86.0)	80.0 (70.0 to 93.0)	82.0 (80.0 to 93.0)	82.0 (0.0 to 92.0)
Amplitude (mV) ^b	211.0 (114.0 to 366.0)	161.0 (82.0 to 225.0)	66.7 (19.6 to 181.0)	48.2 (0 to 128.0)
Maximum scotopic				
<i>a</i> wave				
Implicit time (ms) ^c	22.0 (18.0 to 23.0)	22.0 (17.0 to 26.0)	24.0 (21.0 to 25.0)	18.0 (17.0 to 25.0)
Amplitude (mV) ^b	300.0 (211.0 to 440.0)	214.0 (76.9 to 318.0)	100.5 (57.6 to 172.0)	42.2 (1.6 to 233.0)
<i>b</i> wave				
Implicit time (ms) ^d	44.0 (36.0 to 50.0)	46.0 (36.0 to 55.0)	48.0 (47.0 to 55.0)	48.0 (45.0 to 59.0)
Amplitude (mV) ^e	510.0 (348.0 to 789.0)	438.0 (304.0 to 634.0)	309.5 (161.0 to 457.0)	167.0 (58.1 to 393.0)
Oscillatory potential (mV) ^b	120.9 (92.3 to 227.9)	104.1 (25.1 to 208.0)	56.6 (18.5 to 67.1)	32.8 (5.6 to 89.5)
Photopic				
<i>a</i> wave				
Implicit time (ms) ^f	15.0 (14.0 to 17.0)	16.0 (15.0 to 19.0)	17.0 (16.0 to 18.0)	16.0 (16.0 to 19.0)
Amplitude (mV) ^g	49.8 (33.6 to 89.5)	40.5 (1.4 to 60.1)	26.2 (19.7 to 46.7)	16.7 (2.4 to 36.8)
<i>b</i> wave				
Implicit time (ms) ^h	31.0 (27.0 to 34.0)	31.0 (28.0 to 38.0)	34.0 (32.0 to 36.0)	34.0 (30.0 to 41.0)
Amplitude (mV) ^g	227.0 (106.0 to 367.0)	211.0 (87.1 to 340.0)	133.5 (74.6 to 212.0)	68.7 (32.1 to 230.0)

ERG = electroretinography.

Eyes were analyzed according to fundus-based classification. Full-field ERG parameters represented as median (minimum to maximum), Bonferroni multiple comparison.

^a*P* > .05.

^b*P* < .05 among all groups, except between moderate and severe groups.

^c*P* < .05 only between moderate and severe groups.

^d*P* < .05 only between control and moderate groups and control and severe groups.

^e*P* < .05 between all groups.

^f*P* < .05 only between control group and each fundus-based groups.

^g*P* < .05 between control and each fundus-based groups and mild to severe groups.

^h*P* < .05 only between control and moderate groups, control and severe groups, mild, and moderate groups and mild and severe groups.

TABLE 5. Concordance between Fundus-Based and Electroretinographic (Cluster) Stratification of Eyes of Late-Stage Vogt-Koyanagi-Harada Disease Patients

ERG-Based	Fundus-Based			Total
	Mild	Moderate	Severe	
Mild ERG	9 (19.1%)	2 (4.3%)	0 (0%)	11 (23.4%)
Moderate ERG	4 (8.5%)	14 (29.8%)	0 (0%)	18 (38.3%)
Severe ERG	0 (0%)	4 (8.5%)	14 (29.8%)	18 (38.3%)
Total	13 (27.7%)	20 (42.6%)	14 (29.8%)	47 (100.0%)

ERG = electroretinography.

$\kappa = 0.68$.

in each of the fundus-based groups (mild, moderate, and severe) rendered significant different amplitudes in all phases of the fERG (*P* < .05, analysis of variance). Bonferroni multiple comparisons were carried out to conduct paired analysis among individual groups (Table 4).

Patients with more severe fundus-based disease presented greater retinal dysfunction, showing congruity between fundus appearance and the extent of retinal damage.

Full-field ERG results were stratified mathematically into three different groups (cluster) based solely on the numerical similarity of the amplitudes of each phase (see Supplemental Table available at [AJO.com](http://ajoo.com)). The agreement between fundus-based and electroretinographic strategies for stratification of eyes of late-stage VKH disease patients was substantial ($\kappa = 0.68$; Table 5).

DISCUSSION

AN ANALYTIC FRAMEWORK FOR FUNDUS CHANGES IN late-stage VKH disease is proposed herein. Gender, mean age, and disease category according to the Revised Diagnostic Criteria⁸ distributions were similar to those previously reported regarding patients under our care.¹² In this system, fundus findings are considered comprehensively

and are united to classify eyes into severity categories that are correlated with an objectively measured degree of retinal function. Because findings may vary greatly in late-stage VKH disease patients, observance of the alterations described in this system facilitates fundus examination. The severity categories proposed may be used to compare outcomes of different treatment regimens. They also offer valuable information to practitioners who seek to identify patients with greater retinal compromise more rapidly.

Suzuki previously developed an objective means of quantifying diffuse fundus depigmentation.⁴ This strategy requires the use of specific software, and the correlation between the intensity of depigmentation and retinal function was not measured. Diffuse fundus depigmentation may have inherent variation in an ethnically heterogeneous population, as is the Brazilian population. In fact, the quantification of diffuse fundus depigmentation had the smallest interobserver agreement ($\kappa = 0.33$) in the present study. Although sunset-glow fundus is the classic description of fundus appearance in VKH disease, it may not be reproducible enough to classify patients into severity categories. In contrast, focal features had greater interobserver agreement, which is the rationale for attributing focal findings greater importance in differentiating disease severity categories. Also of note, the overall classification had greater concordance between observers than any finding in isolation, pointing out an advantage of the system proposed. Interobserver agreement in this study refers to two observers (C.E.H. and J.H.Y.), which may be a limitation. However, the fundus changes selected are conspicuous and diminish the potential for discrepancy.

As expected, ERG analysis demonstrated diffusely diminished amplitudes in both scotopic and photopic phases while sparing the respective implicit times, a classic means of differentiating retinal damage from retinal degeneration. Although the choroid is involved primarily in VKH disease, the process has impact on the retina and its function. The present study demonstrates that the analytic framework for fundus findings proposed is practical in estimating severity because it parallels

retinal function. This finding is supported by the substantial agreement between electroretinographic and fundus-based strategies of stratification. However, systematic analysis of the fundus may be not sensible enough to detect disease progression. Prospectively, the objective measure of retinal function with the ERG could be more useful in the follow-up of patients receiving different treatment regimens.¹³

Focal fundus findings in eyes of patients with late-stage VKH disease have been correlated previously with retinal dysfunction using different approaches.⁵⁻⁷ The positive correlation between macular dysfunction and the extension of peripapillary atrophy has been demonstrated previously in a cross-sectional study by Chee and associates using multifocal ERG.⁵ In the current study, a PPA-to-DA ratio of more than two does seem to correlate with disease severity, because it was less prevalent in eyes with mild fundus findings than those with either moderate or severe fundus findings. However, it did not help to distinguish moderate from severe disease, because all patients in either category had this feature. A PPA-to-DA ratio of more than two was not included in the overall analysis of the fundus, because other features with easier detection and higher reproducibility were included. In addition, for a precise measurement of PPA-to-DA ratio, a device such as the Imaginet system is required. Concerning other focal features, in accordance with Sonoda and associates, in the present study, greater retinal dysfunction was detected in patients with extensive areas of nummular lesions and retinal atrophy.⁷ Subretinal fibrosis was shown by Kuo and associates to occur in a sizable proportion of patients with VKH disease and may contribute to permanent loss of vision, which is similar to our findings.⁶

The analytic framework for fundus findings in late-stage VKH disease proposed in this study seems reproducible and useful, because the severity categories do correlate with retinal function. This system may allow more precise exchange of information between practitioners as well as researchers. Prospective studies are needed to test the fERG's usefulness in follow-up of late-stage VKH disease progression.

THIS STUDY WAS SUPPORTED BY SCHOLARSHIP 07/57154-9 (DR DA SILVA) AND RESEARCH GRANT 07/57155-5 FROM Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP), São Paulo, SP, Brazil. The authors indicate no financial conflict of interest. Involved in design of study (F.T.d.S., C.E.H., E.O., M.K.O., J.H.Y.); Conduct of study (F.T.d.S., M.K.O., J.H.Y.); collection, management, analysis, and interpretation of data (F.T.d.S., C.E.H., E.O., M.K.O., J.H.Y.); and preparation, review, or approval of the manuscript (F.T.d.S., C.E.H., E.O., M.K.O., J.H.Y.). The study followed the tenets of the Declaration of Helsinki and was approved by the Institutional Ethics Committee (Comissão de Ética para Análise de Projetos de Pesquisa do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo, approval no. 0768/07).

The authors thank Dr Rogério Ruscitto do Prado, Statistics, Department of Preventive Medicine, University of São Paulo School of Medicine, São Paulo, Brazil, for his assistance with statistical analysis.

REFERENCES

1. Kitamei H, Kitaichi N, Namba K, et al. Clinical features of intraocular inflammation in Hokkaido, Japan. *Acta Ophthalmol* 2009;87:424-428.
2. Belfort Junior R, Nishi M, Hayashi S, Abreu MT, Petrilli AM, Plut RC. Vogt-Koyanagi-Harada's disease in Brazil. *Jpn J Ophthalmol* 1988;32:344-347.
3. Moorthy RS, Inomata H, Rao NA. Vogt-Koyanagi-Harada syndrome. *Surv Ophthalmol* 1995;6:361-394.

4. Suzuki S. Quantitative evaluation of "sunset glow" fundus in Vogt-Koyanagi-Harada disease. *Jpn J Ophthalmol* 1999;43: 327–333.
5. Chee SP, Luu CD, Cheng CL, Lim WK, Jap A. Visual function in Vogt-Koyanagi-Harada patients. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol* 2005;243:785–790.
6. Kuo IC, Rechdouni A, Rao NA, Johnston RH, Margolis TP, Cunningham ET Jr. Subretinal fibrosis in patients with Vogt-Koyanagi-Harada disease. *Ophthalmology* 2000;107: 1721–1728.
7. Sonoda S, Nakao K, Ohba N. Extensive chorioretinal atrophy in Vogt-Koyanagi-Harada disease. *Jpn J Ophthalmol* 1999;43:113–119.
8. Read RW, Holland GN, Rao NA, et al. Revised diagnostic criteria for Vogt-Koyanagi-Harada disease: report of an international committee on nomenclature. *Am J Ophthalmol* 2001;131:647–652.
9. Brigell M, Bach M, Barber C, Kawasaki K, Kooijman A. Guidelines for calibration of stimulus and recording parameters used in clinical electrophysiology of vision. Calibration Standard Committee of the International Society for Clinical Electrophysiology of Vision (ISCEV). *Doc Ophthalmol* 1998;95:1–14.
10. Jabs DA, Nussenblatt RB, Rosenbaum JT. Standardization of uveitis nomenclature for reporting clinical data. *Am J Ophthalmol* 2005;140:509–516.
11. Marmor MF, Holder GE, Seeliger MW, Yamamoto S. Standard for clinical electroretinography (2004 update). *Doc Ophthalmol* 2004;108:107–114.
12. da Silva FT, Damico FM, Marin ML, et al. Revised diagnostic criteria for Vogt-Koyanagi-Harada disease: considerations on the different disease categories. *Am J Ophthalmol* 2009; 147:339–345.
13. Yang P, Fang W, Wen F, Wu W, Kijlstra A. Study of macular function by multifocal electroretinography in patients with Vogt-Koyanagi-Harada syndrome. *Am J Ophthalmol* 2008; 146:767–771.

SUPPLEMENTAL TABLE. Full-Field Electroretinography Parameters of Patients Stratified According to Full-Field Electroretinography Parameters (Cluster-based)

Full-Field ERG Parameters	Control	Fundus Changes		
		Mild	Moderate	Severe
No. of eyes	61	11	18	18
Scotopic				
<i>b</i> wave				
Implicit time (ms) ^a	77.0 (70.0 to 86.0)	78.6 (70.0 to 93.0)	82.8 (70.0 to 93.0)	82.8 (70.0 to 92.0)
Amplitude (mV) ^b	211.0 (114.0 to 366.0)	203.3 (161.0 to 225.0)	117.5 (63.3 to 181.0)	43.5 (0 to 61.2)
Maximum scotopic				
<i>a</i> wave				
Implicit time (ms) ^c	22.0 (18.0 to 23.0)	20.8 (17.0 to 23.0)	22.1 (17.0 to 26.0)	20.8 (17.0 to 25.0)
Amplitude (mV) ^b	267.0 (211.0 to 440.0)	267.8 (214.0 to 318.0)	152.1 (57.6 to 233.0)	50.5 (1.61 to 107.0)
<i>b</i> wave				
Implicit time (ms) ^d	44.0 (36.0 to 50.0)	43.5 (36.0 to 48.0)	48.3 (39.0 to 55.0)	50.6 (45.0 to 59.0)
Amplitude (mV) ^b	510.0 (348.0 to 789.0)	530.5 (420.0 to 634.0)	386.9 (264.0 to 459.0)	164.4 (58.1 to 249.0)
Oscillatory potential (mV) ^b	120.9 (92.3 to 227.9)	130.9 (97.7 to 208.0)	69.8 (25.1 to 117.5)	30.4 (5.6 to 60.9)
Photopic				
<i>a</i> wave				
Implicit time (ms) ^d	15.0 (14.0 to 17.0)	15.5 (15.0 to 16.0)	16.8 (15.0 to 19.0)	16.9 (16.0 to 19.0)
Amplitude (mV) ^d	49.8 (33.6 to 89.5)	49.7 (37.3 to 60.1)	30.1 (1.37 to 49.1)	17.1 (2.45 to 30.2)
<i>b</i> wave				
Implicit time (ms) ^b	31.0 (27.0 to 34.0)	30.1 (28.0 to 31.0)	32.4 (28.0 to 38.0)	34.9 (30.0 to 41.0)
Amplitude (mV) ^b	227.0 (106.0 to 367.0)	251.0 (183.0 to 340.0)	145.3 (74.6 to 237.0)	85.6 (32.1 to 163.0)

ERG = electroretinography.

Full-field ERG parameters represented as median (minimum to maximum). Controls were not contemplated in electroretinographic (cluster) stratification.

Bonferroni multiple comparisons as follows:

^a*P* < .05 among all groups except controls and moderate and control and severe disease groups.

^b*P* < .05 among all groups except control and mild disease groups.

^c*P* > .05 among all groups.

^d*P* < .05 among all groups, except control and mild and moderate and severe groups.

Anexo E – Artigo submetido para publicação *Subclinical choroidal inflammation detected on indocyanine green angiography in patients with Vogt-Koyanagi-Harada and long-standing disease*

da Silva et al. | Subclinical Choroidal Activity on ICGA In VKH Disease

1

**SUBCLINICAL CHOROIDAL INFLAMMATION DETECTED ON
INDOCYANINE GREEN ANGIOGRAPHY IN PATIENTS WITH
VOGT-KOYANAGI-HARADA AND LONG-STANDING DISEASE**

5

Felipe T. da Silva,^{1a} Carlos E. Hirata,^{1a} Edilberto Olivalves,^{1a} Rony C. Preti,^{1b}
Sergio L. Pimentel,^{1b} Andre V. Gomes,^{1b} Walter Y. Takahashi,^{1b} Rogerio A.
Costa,² Joyce H. Yamamoto.^{1a}

10 From the: ¹Uveitis^a and Retina^b Sections, Department of Ophthalmology, Hospital
das Clínicas, Universidade de São Paulo, São Paulo, SP, Brazil, and ²Division of
Macula: Imaging & Treatment, Centro Brasileiro de Ciências Visuais, Belo
Horizonte, MG, Brazil.

15

Corresponding Author:

20 Felipe Theodoro Bezerra Gaspar Carvalho da Silva
Rua da Consolação, 3075 / Apto. 313
01416-016 São Paulo, SP Brazil
Telephone/fax: +55 (11) 3628-2778
E-mail: felipeg2000@yahoo.com

25

The authors have no interest in products or companies mentioned in the article.

ABSTRACT

Purpose: To investigate subclinical choroidal activity in patients with long-standing Vogt-Koyanagi-Harada (VKH) disease.

Methods: Observational study including twenty-eight patients (51 eyes) with long-standing (≥ 6 months from disease onset) VKH disease who were transversally evaluated at a single center in Brazil. All patients underwent ophthalmologic clinical examination, fundus photography as well as fluorescein and indocyanine green angiography (ICGA). Disease severity was analyzed according to an analytic framework for fundus findings, and clinical activity was based on the Standardization in Uveitis Nomenclature Working Group. The main outcome measures were the presence of subclinical choroidal activity on ICGA and its correlation with disease severity, clinical activity, and use of systemic therapy including prednisone. Patients included had their treatment tailored according to clinical examination and without ICGA monitorization.

Results: Angiographic (ICGA) signs suggestive of disease-related choroidal activity were observed in 72.5% of the eyes. Analysis based on disease severity revealed that 92.3% of eyes with mild disease and 57.9% of eyes with severe disease demonstrated subclinical choroidal activity on ICGA ($p=0.049$). Of all eyes presenting activity on clinical examination (cells in the anterior chamber), ICGA findings indicative of subclinical choroidal activity were found in 76.2%; in the remaining eyes, which had either severe or moderate disease, no subclinical choroidal activity was observed on ICGA. Subclinical choroidal activity on ICGA was observed in 81.2% of eyes of patients on systemic therapy with prednisone and in 68.6% of eyes without systemic therapy.

Conclusions: Disease-related subclinical choroidal activity detected on ICGA was observed in the majority of patients with long-standing VKH disease whose treatment was tapered based only on clinical examination. Patients with mild fundoscopic changes displayed more evident ICGA signs of choroidal activity while these findings may be concealed in the presence of severe fundus

alterations. Our results suggest ICGA may be a valuable tool to assist the treatment process of patients with long-standing VKH disease.

Key words: Angiography; Choroid; Diagnosis; Inflammation; Treatment; Uveitis.

INTRODUCTION Vogt-Koyanagi-Harada (VKH) disease is autoimmune diffuse uveitis that primarily affects melanocytes in the choroid[1]. Subclinical activity in the choroid has been suggested in some patients with VKH disease after the acute phase by the occurrence of slowly progressive fundus depigmentation, especially in those patients with prolonged inflammation in the anterior segment [2]. Indocyanine green angiography (ICGA) has been shown sensitive in detecting choroidal activity in patients with partially treated disease [3] as well as in cases of relapses apparently restricted to the anterior segment [4].

Recent studies have suggested that early and aggressive treatment with initial pulse therapy followed by high-dose corticosteroid and/or immunosuppressant may abolish subclinical choroidal disease activity detected on ICGA[5, 6]. There is also a trend to treat anterior chamber relapses categorically with oral medication which has been shown to also eradicate subclinical choroidal activity[4]. Until recently, ICGA was not routinely performed in VKH disease to monitorize disease activity. However, the growing body of evidence pointing to the benefit of this ancillary examination has led to its widespread usage coupled with more aggressive treatment regimens [4-7].

More lenient treatment regimens have been previously applied to VKH disease patients with generally worse outcomes in terms of extent of fundoscopic derangement and proportion of patients going into chronicity[8, 9]. This subset of patients may aid in the understanding of how fundoscopic severity, clinical activity and subclinical disease activity correlate. In the current report, the ICGA findings from patients with long-standing VKH disease were studied to verify the occurrence of subclinical choroidal activity as well as their possible correlation with fundus-based disease severity, with disease activity detected on clinical evaluation, and with systemic therapy.

METHODS

The study protocol followed the statements of the Declaration of Helsinki and was approved by local Institutional Review Board (#10121/2008). All patients with

VKH disease according to the Revised Diagnostic Criteria proposed by the International Committee on Nomenclature [10] who were prospectively evaluated from March 2007 through October 2008 at a single center in Brazil (Uveitis Service, Hospital das Clínicas, Universidade de São Paulo, São Paulo, SP, Brazil) were offered study participation, if long-standing VKH disease was verified. The characterization of long-standing disease was based on the presence of a minimum time interval of 6 months from the onset of VKH, independently of the current clinical [phase] status of the disease. Patients with known allergy to fluorescein and/or indocyanine green dyes and media opacities that could prevent adequate fundus imaging were excluded. A written informed consent was obtained for all patients prior to their inclusion in the study.

Fundus photography (color and red-free) as well as fluorescein and ICG angiography were performed using conventional fundus camera system (TRC-50IX/IMAGENet; Topcon Inc., Tokyo, Japan). Angiographic studies followed a standardized protocol previously described for the investigation of inflammatory eye diseases [11] and the eye with more pronounced fundus changes was selected for documentation of the initial transit phase of the dyes. To exclude pseudofluorescence and/or autofluorescence, evidence of pre-injection fluorescence was sought with the highest flash intensity used for ICGA. Thereafter, 7.5ml of an aqueous solution containing 25mg of ICG (ICV, Indocianina Verde; Ophthalmos, São Paulo, Brazil) was administered as a single intravenous bolus into a cubital vein, followed by injection of a 10ml saline flush. During the early phase (up to approximately 2 to 3 minutes) as well as the intermediate phase (15 to 25 minutes) several frames of the posterior pole and a minimum of eight frames of the whole periphery over 360° were taken. At the end of the intermediate phase of the ICGA study, fluorescein angiography (FA) was performed. FA was performed using 5ml of 10% fluorescein solution (Fluoresceína; Ophthalmos, São Paulo, Brazil). Early fluorescein angiographic frames of the posterior pole were taken up to 2 minutes. Between 4 and 7 minutes, a 360° panoramic imaging of the periphery was performed (minimum of

eight frames), followed by late fluorescein posterior pole frames at 10 minutes. Late ICGA frames were performed at 35 ± 5 minutes after initial ICG dye injection in the same fashion as during the intermediate phase.

The ICGA frames were evaluated by a retina specialist (RAC) who was unaware of the clinical standing of the patients. The following ICGA findings were categorically analyzed: 1) diffusely leaking choroidal vessels in the intermediate phase (“fuzzy vessels”), 2) diffuse choroidal hyperfluorescence in the late phase, and 3) hypofluorescent dark dots in the intermediate phase with later isofluorescence [6, 7]. The presence of at least 2 of these ICGA findings characterized disease-related choroidal activity.

Disease severity was graded using a standardized analytic framework for ocular fundus alterations (**Table 1**) [12]. Disease activity on clinical evaluation was determined in accordance to the Standardization of Uveitis Nomenclature (SUN) Working Group [13], and patients were considered to have either clinically inactive (inactive disease or in disease remission) or clinically active (improved activity or worsening activity) VKH disease. Patients with clinically active disease by the time of baseline evaluation were treated with topical corticosteroid, associated or not with oral prednisone and/or immunosuppressant. Patients included had their treatment tailored according to clinical examination and without ICGA monitorization. Treatment during the acute phase was defined either as high-dose therapy (oral prednisone administered at 1 mg/kg daily or more followed by high-dose oral prednisone tapered according to disease activity over at least six months) or as low-dose therapy (oral prednisone administered at less than 1 mg/kg daily).

Distribution of ICGA features among the three different severity groups based on the standardized analytic framework for ocular fundus alterations was evaluated using the likelihood ratio test. Posterior segment subclinical disease activity (based on the detection of choroidal activity on ICGA) was associated with disease activity on clinical examination (SUN) at the time of the ICGA using Fisher exact test. Logistic regression models were used to analyze the relationship

between ICGA results and fundus-based severity, clinical activity, as well as the use of prednisone. Data analysis and statistical tests were done using SPSS 15.0 (SPSS Science, Chicago, Illinois, USA) statistical software. The significance level was set at 0.05 for all tests.

5

RESULTS

Twenty-eight patients with VKH and long-standing disease (51 eyes) were included in the study (in 5 patients, only one eye was included due to media opacities). Angiographic results were correlated with fundus-based disease severity, clinical activity, and systemic therapy. The baseline characteristics are presented in **Table 2**.

Angiographic features characterizing choroidal activity on ICGA were observed in 72.5% (37 out of 51 eyes). The distribution of individual ICGA features observed was: 1) fuzzy vessels in 80.4% (41 out of 51 eyes), 2) late diffuse hyperfluorescence in 78.4% (40 out of 51 eyes), and 3) dark dots in the intermediate phase with later isofluorescence in 19.6% (10 out of 51 eyes). On FA, all eyes had hypofluorescence due to blockage coupled with hyperfluorescence due to window defects. Late hyperfluorescence due to subretinal fibrosis staining was observed in 37.2% (19 out of 51 eyes). Findings suggestive of (choroidal and/or retinal) disease activity were not observed on FA.

According to the fundus severity grading, 25.5% (13 out of 51 eyes), 37.2% (19 out of 51 eyes) and 37.2% (19 out of 51 eyes) were classified as mild, moderate and severe, respectively (**Figure 1**). Disease-related choroidal activity on ICGA was observed in 92.3%, 73.7% and 57.9% in mild, moderate and severe fundus-based disease, respectively (**Table 3**). Although the proportion of choroidal activity on ICGA did not differ among fundus-based disease severity groups, the proportion between eyes with mild and severe fundus-based disease was statistically significant ($p=0.049$). Of note, out of the 5 eyes with no ICGA evidence of choroidal activity but active disease on clinical examination, no eye

had mild fundus-based disease and 80% (4 out of 5 eyes) had severe fundus-based disease.

Cells in the anterior chamber were the only signal indicative of disease activity on clinical examination; signals indicative of posterior segment inflammation such as choroidal infiltrates, exudative retinal detachment, vitreous haze and/or cells, or macular edema, were not detected on clinical examination. Forty-one percent (21 out of 51 eyes) had cells in the anterior chamber of which 90.5% (19 out of 21 eyes) were under systemic treatment (prednisone and/or cyclosporine/azathioprine) and 76.2% (16 out of 21 eyes) had choroidal disease activity detected on ICGA (**Table 3**). In the remaining 30 eyes, although no cells were observed in the anterior chamber, choroidal disease activity on ICGA was detected in 70.0% (21 out of 30 eyes); 13.0% (4 out of 30 eyes) were also under systemic treatment (**Table 3**). The distribution of clinically active disease (cells in the anterior chamber) according to fundus grading was 46.1% (6 out of 13 eyes), 36.8% (7 out of 19 eyes) and 42.1% (8 out of 11 eyes) in mild, moderate and severe fundus grading groups, respectively.

Regarding the possible influence of systemic corticosteroid therapy, angiographic (ICGA) evidence of choroidal activity was detected in 81.2% (13 out of 16 eyes) of those under systemic therapy with prednisone and in 68.6% (24 out of 35 eyes) of those not taking any systemic prednisone ($p=0.503$).

Logistic regression models used to analyze the relationship between ICGA results and affecting factors showed that fundus-based severity was the factor with the most significant trend towards influencing the ICGA results, although not statistically significant ($p=0.0503$).

DISCUSSION

The current study demonstrated that ICGA findings suggestive of disease-related choroidal inflammation (activity) occurred in a considerable proportion of patients with VKH and long-standing disease whose treatment was tapered according to clinical evaluation alone. This study also suggested that the severity of fundus

changes, graded according to an analytic framework for fundus findings, influenced the observed ICGA findings. Angiographic (ICGA) findings suggestive of choroidal inflammation were more often identified in those eyes with mild fundus-based changes than in those with severe disease. Whether this observation was accurate or ICGA findings were incorrectly interpreted due to severely deranged fundi in these eyes remains to be determined. This study demonstrated that choroidal inflammation was highly prevalent among patients under systemic treatment, thus suggesting that ICGA may be helpful to precisely adjust immunosuppressive therapy. Finally, ICGA findings indicative of some disease-related choroidal involvement were also observed in almost 70% of the patients who were not on systemic corticosteroid therapy, thus supporting the premise that ICGA findings were indeed suggestive of some subclinical choroidal activity and not related to a possible effect of the systemic drug on choroidal/choriocapillaris permeability[14, 15].

Initially described by Bouchenaki et al. [7], subtle ICGA findings in patients with long-standing VKH disease were subsequently shown to represent otherwise unnoticeable posterior segment activity [4-6]. These findings were described in the context of VKH disease during anterior segment relapses in the chronic phase and in patients tapering treatment in the convalescent phase of the disease. In both instances, intensification of immunosuppressive treatment resolved both, clinically apparent as well as the underlying disease process. Kawaguchi et al.[5] coined the term partially treated disease to describe patients in the convalescent phase whose treatment was intense enough to abolish anterior segment activity while leaving signs of choroidal involvement on ICGA and who experienced progressive fundus depigmentation (sunset-glow fundus). In the current study, three quarters of the patients with long-standing VKH disease presented ICGA findings suggestive of disease-related choroidal activity regardless of the presence of activity on clinical examination. In fact, 41.2% of the cases demonstrated isolated subclinical choroidal activity (i.e., ICGA findings suggestive of disease-related choroidal activity). The majority of these eyes (95.2%; 20 out of

21 eyes) had received early high-dose treatment regimens by the time of diagnosis but was not receiving any systemic treatment at the time of study evaluation. However, patients enrolled in this study were not systematically monitored with ICGA during the systemic treatment course, and clinical appraisal was the main parameter used to taper treatment. This finding, along with previous reports of better outcomes in more intensely treated patients provides additional evidence to support the relevance of ICGA in the adjustment of therapy at this stage of VKH disease[5, 13, 16].

With regard to individual findings, fuzzy vessels and late diffuse hyperfluorescence were the most frequently observed signals indicating alteration in choroidal vessels' permeability and choriocapillaris involvement[6]. Dark dots were considered only if they became isofluorescent (or mildly hyperfluorescent) in late-phase frames and were also the least observed sign of choroidal involvement. These findings are in line with histopathological studies in patients with chronic phase VKH disease in which a diffuse, non-granulomatous choroiditis accompanied by choriocapillaris involvement was described[1]

Disease severity, which was based on a standardized analytic framework for ocular fundus alterations [12], apparently influenced the results on ICGA in patients with VKH and long-standing disease. Choroidal activity on ICGA was more prevalent among patients with mild disease than in those with severe disease, even if the proportion of eyes with clinically active disease (i.e., cells in the anterior chamber) was similar between the different groups. It is possible that eyes with severe disease and isolated anterior chamber cells may indeed have subclinical disease-related choroidal activity that remains undetected due to a combination of factors, such as the limited ability to identify ICGA signs of choroidal activity in a severely altered fundus and the destruction of a considerable proportion of choroidal melanocytes [7]. Naturally, the identification of the ICGA findings indicative of disease-related choroidal activity in patients with mild fundus changes seems an easier task.

In conclusion, a significant proportion of patients with VKH and long-standing disease whose treatment was tapered based only on clinical examination demonstrated ICGA findings suggestive of subclinical ongoing disease (choroidal activity). Therefore, the current study provides additional evidence to support the use of ICGA for the detection of subclinical activity in patients with long-standing VKH disease, which may assist the management and treatment process of this entity, particularly in eyes with mild VKH disease.

REFERENCES

1. Rao NA (2007) Pathology of Vogt-Koyanagi-Harada disease. *Int Ophthalmol* 27: 81-85
2. Suzuki S (1999) Quantitative evaluation of "sunset glow" fundus in Vogt-Koyanagi-Harada disease. *Jpn J Ophthalmol* 43: 327-333
3. Kawaguchi T, Horie S, Bouchenaki N, Ohno-Matsui K, Mochizuki M, Herbort CP Suboptimal therapy controls clinically apparent disease but not subclinical progression of Vogt-Koyanagi-Harada disease. *Int Ophthalmol* 30: 41-50
4. Bacsal K, Wen DS, Chee SP (2008) Concomitant choroidal inflammation during anterior segment recurrence in Vogt-Koyanagi-Harada disease. *Am J Ophthalmol* 145: 480-486
5. Kawaguchi T, Horie S, Bouchenaki N, Ohno-Matsui K, Mochizuki M, Herbort CP (2009) Suboptimal therapy controls clinically apparent disease but not subclinical progression of Vogt-Koyanagi-Harada disease. *Int Ophthalmol*
6. Herbort CP, Mantovani A, Bouchenaki N (2007) Indocyanine green angiography in Vogt-Koyanagi-Harada disease: angiographic signs and utility in patient follow-up. *Int Ophthalmol* 27: 173-182
7. Bouchenaki N, Herbort CP (2001) The contribution of indocyanine green angiography to the appraisal and management of Vogt-Koyanagi-Harada disease. *Ophthalmology* 108: 54-64
8. Kuo IC, Rechdouni A, Rao NA, Johnston RH, Margolis TP, Cunningham ET, Jr. (2000) Subretinal fibrosis in patients with Vogt-Koyanagi-Harada disease. *Ophthalmology* 107: 1721-1728
9. Chee SP, Luu CD, Cheng CL, Lim WK, Jap A (2005) Visual function in Vogt-Koyanagi-Harada patients. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol* 243: 785-790
10. Read RW, Holland GN, Rao NA, Tabbara KF, Ohno S, Arellanes-Garcia L, Pivetti-Pezzi P, Tessler H, Usui M (2001) Revised Diagnostic Criteria for

- Vogt-Koyanagi-Harada Disease: Report of an International Committee on Nomenclature *Am J Ophthalmol* 131: 647-652
11. Herbort CP, LeHoang P, Gueux-Croiser Y (1998) Schematic interpretation of indocyanine green angiography in posterior uveitis using a standard protocol. *Ophthalmology* 105(3): 432-440
 12. da Silva FT, Hirata CE, Olivalves E, Oyamada MK, Yamamoto JH (2009) Fundus-based and electroretinographic strategies for stratification of late-stage Vogt-Koyanagi-Harada disease patients. *Am J Ophthalmol* Epub ahead of print
 13. Jabs DA, Nussenblatt RB, Rosenbaum JT (2005) Standardization of uveitis nomenclature for reporting clinical data
Am J Ophthalmol 140: 509-516
 14. Shimura M, Tatehana Y, Yasuda K, Saito S, Sasaki T, Tamai M (2003) Choroiditis in systemic lupus erythematosus: systemic steroid therapy and focal laser treatment. *Jpn J Ophthalmol* 47: 312-315
 15. Kishi S, Yoshida O, Matsuoka R, Kojima Y (2001) Serous retinal detachment in patients under systemic corticosteroid treatment. *Jpn J Ophthalmol* 45: 640-647
 16. Bykhovskaya I, Thorne JE, Kempen JH, Dunn JP, Jabs DA (2005) Vogt-Koyanagi-Harada disease: clinical outcomes. *Am J Ophthalmol* 140: 674-678

FIGURE LEGENDS

Figure 1. Retinographies (top) and indocyanine green angiography (bottom) frames from representative mild (left top and bottom) and severe (right top and bottom) fundus-based eyes of late stage Vogt-Koyanagi-Harada disease patients. Positive indocyanine green results in either mild and severe eyes.

ACKNOWLEDGEMENTS

The present study was presented in part at the 2009 Annual Meeting of the Association for Research in Vision and Ophthalmology (ARVO), May 3-7th, 2009, Fort Lauderdale, Florida, USA. Funding for this study was provided in part by Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP), grant number 07 57155-5 and scholarship number 07/57154-9.

The authors thank Professor Suel Abujamra, for kindly allowing the indocyanine green angiography evaluations to be carried out at his private practice, and Rogério Ruscitto do Prado, Statistics Division, Department of Preventive Medicine, Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo, São Paulo, SP, Brazil, for his assistance with statistical analysis.

Table 1. Fundus parameters used in the analytic framework* for fundus changes in long-standing Vogt-Koyanagi-Harada disease.

Description	Overall analysis	Mild	Moderate	Severe
Diffuse findings				
Diffuse pigmentary changes		Mild or moderate	Moderate or severe	Moderate or severe
Focal findings				
Nummular lesions in ≥ 3 quadrants		None	One	At least two
Pigment clumps in ≥ 3 quadrants				
Subretinal fibrosis				

* Modified from (da Silva et al. 2009).

Table 2. Demographic and clinical characteristics of long-standing Vogt-Koyanagi-Harada disease patients submitted to indocyanine green angiography examination.

Description		
Number of patients (eyes)	28	(51)
Age, mean $\pm$ SD (yrs)	39.9 $\pm$ 13	
Sex, male (%)	4	(14.3)
Race		
White, n (%)	12	(42.8)
Mestizo	10	(35.7)
Black	4	(14.3)
Asian/oriental	2	(7.1)
Revised Diagnostic Criteria category ^a		
Complete, n (%)	7	(25.0)
Incomplete	14	(50.0)
Probable	7	(25.0)
Disease duration, median (range) (mo)	91.5	(9-348)
Clinical activity (SUN) ^b		
Remission ^c , n (%)	11	(39.3)
Inactive ^d	5	(17.8)
Improved activity	5	(17.8)
Active	6	(21.4)
Worsening activity	1	(3.6)
Systemic medication, n (%)	13	(46.4)
Prednisone only	6	(21.4)
Immunosuppressants only	4	(14.3)
Prednisone and immunosuppressant	3	(10.7)
Prednisone dosage, median (range) (mg/day)	7.5	(5-40)
No prednisone	19	(67.8)
Months w/o prednisone, median (range) (mo)	9.5	(3-96)

^a (Read et al. 2001); ^b (Jabs et al. 2005); ^c Inactive disease for $\geq$ 3 months after discontinuing all treatments for eye disease (Jabs et al. 2005); ^d Grade 0 cells.

Table 3. Correlation between indocyanine green angiography findings, clinical activity, disease-severity fundus grading and systemic treatment in long-standing Vogt-Koyanagi-Harada disease patients.

	Total (eyes), n	Choroidal disease activity on ICGA, n (%)	<i>p</i>
N	51	37 (72.5)	
Clinical activity (cells in anterior chamber)			
Yes	21	16 (76.2)	0.626 ^a
No	30	21 (70.0)	
Fundus grading ^b			
Mild	13	12 (92.3)	0.049 ^c
Moderate	19	14 (73.7)	
Severe	19	11 (57.9)	
Systemic treatment			
At disease onset ^d			
High-dose prednisone	37	30 (81.1)	
Low-dose prednisone	3	1 (33.3)	
Treatment at the time of ICGA			
Prednisone/immunosuppressant	23	18 (78.3)	
No	28	19 (67.8)	

^a Results of Fisher's exact test; ^b clinical graduation based on the analytic framework ; ^c results of likelihood ratio test between mild and severe fundus grading; ^d included patients with evaluation within one month of disease onset

Anexo F – Artigo em preparo para publicação *Structural and functional macular evaluation in patients with late-stage Vogt-Koyanagi-Harada disease*

*Manuscript

[Click here to download Manuscript: ERGmfSOCTturbo\[1\].doc](#)

[Click here to view linked References](#)

STRUCTURAL AND FUNCTIONAL MACULAR EVALUATION IN PATIENTS WITH LATE-STAGE VOGT-KOYANAGI-HARADA DISEASE

Felipe T. da Silva, MD,^{1a} Maria K. Oyamada, MD, PhD,^{1b} Carlos E. Hirata, MD, PhD,^{1a} Edilberto Olivalves, MD, PhD,^{1a} Walter Y. Takahashi, MD, PhD,^{1c} Rogério A. Costa, MD, PhD,² and Joyce H. Yamamoto, MD, PhD.^{1a}

From the: ¹Uveitis^a, Ocular Electrophysiology^b and Retina and Vitreous Section^c, Department of Ophthalmology, Hospital das Clínicas, Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo, São Paulo, SP, Brazil; and ²Programa de Pós-Graduação, Ciências Aplicadas à Cirurgia e Oftalmologia, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, MG, Brazil.

Corresponding Author:

Felipe Theodoro Bezerra Gaspar Carvalho da Silva

Rua da Consolação 3075 apto 313

São Paulo, SP 01416-016 Brazil

E-mail: felipeq2000@yahoo.com

Telephone: +55 (11) 3628-2778

Fax: +55 (49) 3222-3471

Purpose: To compare structural and functional strategies of macular evaluation in patients with late-stage Vogt-Koyanagi-Harada (VKH) disease.

Methods: Cross-sectional study including 52 eyes of 29 patients in the late-stage of VKH disease. Patients underwent standardized ophthalmic evaluation, *Fourier*-domain optical coherence tomography (Fd-OCT) and multifocal electroretinogram (mf-ERG). The integrity of the junction of the inner and outer segments of the photoreceptors (IS/OS) on Fd-OCT and the cluster analysis of combined N1 and P1 waves' amplitudes on mf-ERG were evaluated. Best-corrected visual acuity (BCVA) was measured in groups set apart based on Fd-OCT and mf-ERG findings. The concordance between structural (Fd-OCT) and functional (mf-ERG) strategies of macular assessment was estimated.

Results: The IS/OS was preserved (>75% of the scan) in 59% of eyes and damaged in 41%. The median BCVA was 20/20 (LogMAR 0.0) and 20/100 (0.7) in eyes with respectively preserved and damaged IS/OS ($p<0.05$). The mf-ERG readings were considered mild in 42.3% of eyes and severe in 57.7%. The median BCVA was 20/20 (0.0) and 20/32 (0.2) in eyes with respectively mild and severe mf-ERG findings ($p<0.05$). The concordance between Fd-OCT and mf-ERG findings was moderate ($K=0.47$).

Conclusion: The IS/OS junction was damaged in a significant proportion of patients, which were found to have significantly decreased visual acuity. Cluster analysis of mf-ERG led to sensitive stratification detecting severe dysfunction in patients with preserved IS/OS and 20/20 BCVA. Moderate concordance between the two strategies of macular evaluation occurs due to the greater sensitivity and broader scope of the mf-ERG examination.

Vogt-Koyanagi-Harada (VKH) disease is a systemic autoimmune disease that targets melanocyte-rich organs, such as the eye, middle ear, meninges and skin. VKH disease is an important cause of non-infectious uveitis with varying prevalence in different regions [1-7]. Clinically, the disease is subdivided into 4 phases: prodromal, acute or uveitic, convalescent and chronic.

Visual outcome in VKH disease is generally favorable. Previous studies have shown that overall, approximately two thirds of patients have 20/30 visual acuity or better after treatment [8]. It has also been shown that more than 40% of patients with extensive chorioretinal atrophy and diminished full-field electroretinogram (ff-ERG) responses retain visual acuities better than 20/40 [9]. The ff-ERG detected either moderate or severe retinal dysfunction in two-thirds of patients in a previous analysis [10]. It has also been demonstrated that altered amplitudes in the multifocal electroretinogram (mf-ERG) examination over the entire macular area may be detected even in patients with 20/20 visual acuity and subtle areas of peripapillary atrophy [11]. Thus, visual acuity may yield a misleading notion of macular status in these patients.

The novel optical coherence tomography (OCT) technology based on *Fourier*-domain detection is a useful diagnostic tool that offers the possibility of structural evaluation of macular photoreceptors by providing high-quality cross sectional images of the retina [12-14]. Fd-OCT analysis has revealed partial recovery of foveal photoreceptors' outer segments in the convalescent phase of VKH disease[15]. Nonetheless, reproducible and practical strategies of macular assessment may detect alterations which account for the subjective complaints of patients with VKH disease with preserved visual acuity and otherwise subtle macular depigmentation (sunset-glow fundus).

In the current study we propose methods to stratify late-stage (defined as > 6 months from symptom's onset) VKH disease patients according to structural (Fd-OCT) and functional (mf-ERG) methods of macular assessment, compare the best-corrected visual acuity (BCVA) in the different groups thus stratified and estimate the concordance between the two strategies.

Methods

This was a cross-sectional study including 52 eyes of 29 patients in the late-stage of VKH disease (> 6 months from disease onset). All patients were enrolled in a consecutive manner from September 2007 through September 2009 at the Uveitis Section of the Department of Ophthalmology, Hospital das Clínicas, Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo. The study was approved by the local Institutional Review Board and informed consent was obtained for all patients prior to enrollment.

All patients in this study met the revised criteria for VKH disease as proposed by the International Nomenclature Committee [16]. Additional inclusion criteria were: adequate mydriasis (≥ 7 mm), transparent media, refractive error < 5 diopters of spherical equivalent and absence of glaucoma (defined as characteristic optic nerve damage or typical visual field defects accompanied by compatible optic nerve damage)[17].

All patients underwent a complete ophthalmological evaluation including measurement of the best-corrected visual acuity (BCVA) using a standardized refraction protocol and Snellen charts, applanation tonometry, slit-lamp biomicroscopy and dilated fundus examination with indirect binocular ophthalmoscopy. For the purpose of statistical analysis, the Snellen BCVA was converted to logarithm of minimal angle of resolution (LogMAR) values.

For the Fd-OCT evaluation a commercially available device was used (Spectralis® HRA+OCT; Heidelberg Engineering Inc., Heidelberg, Germany). The built-in scan acquisition function termed “section” was utilized to acquire two high-resolution B-scans covering a linear 30° fundus area in both the horizontal and vertical orientations and centered on the macular umbo. The Fd-OCT data were utilized to characterize the outer retinal structure of the macula, herein represented by the overall appearance of the hyper-reflective layer corresponding to the junction of the inner and outer segments of the photoreceptors (IS/OS) [15]. To evaluate the status of IS/OS hyper-reflective

layer, white-on-black images were used while contrast and brightness were adjusted for each image. The IS/OS was considered preserved if clearly detected along $\frac{3}{4}$ (75%) of the scan for both vertical and horizontal B-scans obtained on Fd-OCT. If detected in less than $\frac{3}{4}$ (75%) of the scan the IS/OS was considered damaged (**Figure 1**).

The mf-ERG recordings were performed using ERG-jet electrodes (Universe SA, La Chaux-de-Fons, Switzerland) and the RETI-port system (Roland Consult, Electrophysiological Diagnostic Systems- Brandenburg, Germany) according to the International Society for Clinical Electrophysiology of Vision guidelines[18]. In brief, patients were adapted to light for 10 minutes before the recording of their responses to the ERG stimuli (with cutoffs set at 10 and 300Hz). During the 8 minutes of recording, the 61 scaled hexagon display had a mean luminance of 103 cd/m² and a contrast of $\geq 90\%$. The results of 37 individuals matched for gender and age (37 eyes) obtained under the same conditions served as controls. The amplitudes of N1 and P1 waves' values from the macular area was used for mf-ERG analysis, stratifying patients into mild and severe groups utilizing cluster analysis. These groups were constituted based solely on the dimensional similarity of the amplitudes. Latencies were not considered as dimensionally their inclusion into stratification interfered with cluster analysis (contrary to amplitudes, latencies tend to increase with greater severity).

Mann-Whitney test was used to compare BCVA between patients with preserved and damaged IS/OS on Fd-OCT data analysis and between mild and severe groups as stratified on mf-ERG. The concordance between mf-ERG and Fd-OCT assessments was measured using the *Kappa* test. The level of significance was set at $p < 0.05$.

Results

Fifty-two eyes of 29 patients with late-stage VKH disease were included. Patients' characteristics are described in **Table 1**. All patients underwent clinical

evaluation, 22 patients (37 eyes) underwent Fd-OCT imaging, and 29 patients (52 eyes) underwent mf-ERG examination.

The macular-IS/OS was preserved in 59% (22 out of 37) of the eyes (**Figure 1**). The median logMAR BCVA (Snellen equivalent) was 0.0 (20/20) in eyes with preserved IS/OS and 0.7 (20/100) in eyes with damaged IS/OS ($p<0.05$).

Patients displayed overall increased latencies (N1; 19.2 ms vs. 16.7 ms and P1; 33.7 ms vs. 30.8 ms, $p<0.05$) and decreased amplitudes (N1; 365.0 nV/deg² vs. 541.0 nV/deg² and P1; 1090.0 nV/deg² vs. 1635.0 nV/deg², $p<0.05$) when compared with controls. Cluster analysis stratified patients' eyes into mild (42.3%, 22 out of 52) and severe (57.7%, 30 out of 52) groups according to median N1 and P1 waves' amplitudes (**Table 2**). Eyes with severe dysfunction displayed decreased amplitudes and increased latencies over the entire macular area while patients with mild disease presented results within normal range (**Table 2**). The median LogMAR BCVA (Snellen equivalent) was 0.0 (20/20) and 0.2 (20/30) in eyes with respectively mild and severe dysfunction ($p<0.05$).

The concordance between structural (Fd-OCT) and functional (mf-ERG) macular assessments was moderate ($K=0.47$). The mf-ERG detected macular abnormalities in patients with BCVA better than 20/25 combined with preserved IS/OS in 8 patients (**Table 3** and **Figure 1**).

Discussion

The current study evaluated structural (Fd-OCT) and functional (mf-ERG) strategies of macular assessment in patients with late-stage VKH disease. The IS/OS junction is damaged in a significant proportion of patients, which were found to have decreased visual acuity. Cluster analysis of mf-ERG led to sensitive stratification as severe dysfunction was detected in patients with preserved IS/OS and 20/20 BCVA. Moderate concordance between the two strategies of macular evaluation occurs due to the greater sensitivity and broader scope of the mf-ERG examination.

Visual acuity measurement is the most common measure of macular status performed by Ophthalmologists. However, ancillary examinations have been shown to detect subtle macular dysfunction in patients with late stage VKH disease. Okamoto et al. [19] demonstrated delayed regeneration of photopigments utilizing foveal cone densitometry in patients with otherwise normal third generation OCT, macular focal ERG, color vision test and 20/20 visual acuity. In contrast with third generation technology, Fd-OCT can reveal photoreceptors' microstructure. Ishihara et al.[15] utilized the Fd-OCT in the convalescent phase of VKH disease to analyze the thickness of foveal photoreceptors' outer segments (OS). Recovery of the OS thickness was detected, from 55% that of normal immediately after reattachment to 91% after a 3-month's follow-up. These patients all had visual acuity of 20/20 or better, thus having mild disease. The strategy proposed herein evaluated photoreceptors' integrity encompassing larger areas of the posterior pole. The groups stratified according to this method were significantly different in terms of BCVA, which points to the validity of this strategy in analyzing patients with greater variance in terms of disease severity. Furthermore, the patients with mild disease and longer follow-up periods have normal mf-ERG parameters and thus presumably normal OS thickness, thus leading to possibly imprecise measurements. The structural analysis currently proposed may thus offer a comprehensive and rapid estimate of macular status.

In a recent analysis, Yang et al.[20] reported that mf-ERG amplitudes remain diminished while latencies regress to normal range in the convalescent phase of the disease. However, the authors did not stratify patients according to disease severity as patients had comparatively mild disease (of 22 eyes, only one had <20/25 and another had <20/50 BCVA). A study by Chee et al.[11] detected increased latencies over the entire macula in patients with peripapillary atrophy to disc area ratio greater than 2, a surrogate marker of disease severity. Increased latencies coupled with diminished amplitudes on mf-ERG were detected in patients with severe mf-ERG results in the current study as well. Increased latencies in N1 and P1 waves suggests lesion to intermediate layers of

the retina in more severe cases. As such, diminished amplitudes could be the initial derangement caused by VKH disease, which may then be followed by increased latencies in patients with more extensive macular insult. Previous descriptions of more prevalent, intense and rapid diffuse fundus depigmentation (*sunset-glow* fundus) in patients with chronic disease [21, 22] has been suggested to stem from smoldering yet ongoing choroidal involvement. Subclinical choroidal activity, which may be evidenced with indocyanine green angiography [23], could lead to lesion of intermediate retinal structures (such as bipolar cells) and thus be held accountable for this finding. Another possibility is that lesion to intermediate layers of the retina is the result of the initial insult. Prospective studies may elucidate this question.

The degree of concordance between the structural and functional strategies of macular assessment was, as expected, moderate. The OCT has been previously shown to have greater ability to detect focal retinal changes [24] while the mf-ERG may not detect these changes due to stray light, influence of responses from healthy areas of the retina and size of focal changes $< 4^\circ$ [25]. The mf-ERG detected macular abnormalities in 8 patients (21.6%) with $> 20/25$ BCVA combined with preserved IS/OS, i.e., little or no focal findings accompanied by macular dysfunction of otherwise difficult quantification (*sunset-glow* fundus). Diffuse fundus depigmentation was shown to be subject to ethnic influence as well as it was the least reproducible fundus finding in late-stage VKH patients in a previous study [10]. Meanwhile, 2 patients (5.4%) had mild mf-ERG and damaged IS/OS, i.e., having focal changes otherwise detectable. Thus, eyes without focal changes may benefit the most from mf-ERG assessment, as there is a tendency that these patients will display minimal focal changes. As such, the moderate concordance between mf-ERG and Fd-OCT stems from the greater sensitivity and scope of the former in assessing macular status. These data suggest that functional compromise may precede structural changes in VKH disease.

From a practical standpoint, both modalities may be used to assess macular status. While Fd-OCT images are quickly acquired and easily

interpreted, the mf-ERG seems to be a more comprehensive and sensitive means of macular assessment. The mf-ERG detected severe macular dysfunction in eyes of late-stage VKH disease patients with normal visual acuity and OCT findings.

Figure 1. *Fourier-domain optical coherence tomography images (right), near-infrared reflectance images (middle) and retinographies (left) of eyes of patients in late-stage Vogt-Koyanagi-Harada disease belonging to “mild” (top) and “severe” (bottom) groups according to multifocal electroretinogram results and with respectively preserved (top) and damaged (bottom) inner and outer segment junction of retinal photoreceptors (IS/OS). Both patients had 0.0 logMAR visual acuity (20/20).*

ACKNOWLEDGEMENTS

This study was supported by scholarship 07/57154-9 and research grant 07/57155-5 from Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP), São Paulo, SP, Brazil. The authors have no financial conflict of interest. Participating investigators (FTS, MKO, CEH, EO, WYT, RAC, JHY); clinical investigators (FTS, MKO, JHY); collection, management, analysis and interpretation of data (FTS, MKO, CEH, EO, WYT, RAC, JHY); and critical review of the study proposal (FTS, MKO, CEH, EO, WYT, RAC, JHY). The study followed the tenets of the Declaration of Helsinki and was approved by the Institutional Review Board (Comissão de Ética para Análise de Projetos de Pesquisa do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo, approval nº 0768/07). The authors thank Dr. André Maia, for kindly allowing the *Fourier*-domain optical coherence tomography evaluation to be performed at his private practice, and Dr. Rogério Ruscitto do Prado, Statistics Division, Department of Preventive Medicine, Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo, São Paulo, SP, Brazil, for his assistance with statistical analysis.

FUNDING

Fapesp grant # 07 57155-5 / Fapesp scholarship # 07/57154-9

REFERENCES

1. Read RW, Rao NA, Cunningham ET (2000) Vogt-Koyanagi-Harada disease. *Curr Opin Ophthalmol* 11: 437-442
2. Chee SP, Jap A, Bacsal K (2009) Prognostic factors of Vogt-Koyanagi-Harada disease in Singapore. *Am J Ophthalmol* 147: 154-161 e151
3. Gomi CF, Makdissi FF, Yamamoto JH, Olivalves E (1997) Estudo epidemiológico das uveítes. *Rev Med* 76: 101-108
4. Chee SP, Jap A, Bacsal K (2007) Spectrum of Vogt-Koyanagi-Harada disease in Singapore. *Int Ophthalmol* 27: 137-142
5. Kitamei H, Kitaichi N, Namba K, Kotake S, Goda C, Kitamura M, Miyazaki A, Ohno S (2009) Clinical features of intraocular inflammation in Hokkaido, Japan. *Acta Ophthalmol* 87: 424-428
6. Moorthy RS, Inomata H, Rao NA (1995) Vogt-Koyanagi-Harada syndrome. *Surv Ophthalmol* 6: 361-394
7. Goldberg AC, Yamamoto JH, Chiarella JM, Marin ML, Sabinelli M, Neufeld R, Hirata CE, Olivalves E, Kalil J (1998) HLA-DRB1*0405 is the predominant allele in Brazilian patients with Vogt-Koyanagi-Harada disease. *Hum Immunol* 59: 183-188
8. Rubsamen PE, Gass JD (1991) Vogt-Koyanagi-Harada syndrome. Clinical course, therapy, and long-term visual outcome. *Arch Ophthalmol* 109: 682-687
9. Sonoda S, Nakao K, Ohba N (1999) Extensive chorioretinal atrophy in Vogt-Koyanagi-Harada disease. *Jpn J Ophthalmol* 43: 113-119
10. da Silva FT, Hirata CE, Olivalves E, Oyamada MK, Yamamoto JH (2009) Fundus-based and electroretinographic strategies for stratification of late-stage Vogt-Koyanagi-Harada disease patients. *Am J Ophthalmol* 148: 939-945 e933
11. Chee SP, Luu CD, Cheng CL, Lim WK, Jap A (2005) Visual function in Vogt-Koyanagi-Harada patients. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol* 243: 785-790

12. Costa RA, Skaf M, Melo LA, Jr., Calucci D, Cardillo JA, Castro JC, Huang D, Wojtkowski M (2006) Retinal assessment using optical coherence tomography. *Prog Retin Eye Res* 25: 325-353
13. Ko TH, Fujimoto JG, Schuman JS, Paunescu LA, Kowalevich AM, Hartl I, Drexler W, Wollstein G, Ishikawa H, Duker JS (2005) Comparison of ultrahigh- and standard-resolution optical coherence tomography for imaging macular pathology. *Ophthalmology* 112: 1922 e1921-1915
14. Ko T, Adler D, Fujimoto J, Mamedov D, Prokhorov V, Shidlovski V, Yakubovich S (2004) Ultrahigh resolution optical coherence tomography imaging with a broadband superluminescent diode light source. *Opt Express* 12: 2112-2119
15. Ishihara K, Hangai M, Kita M, Yoshimura N (2009) Acute Vogt-Koyanagi-Harada disease in enhanced spectral-domain optical coherence tomography. *Ophthalmology* 116: 1799-1807
16. Read RW, Holland GN, Rao NA, Tabbara KF, Ohno S, Arellanes-Garcia L, Pivetti-Pezzi P, Tessler H, Usui M (2001) Revised Diagnostic Criteria for Vogt-Koyanagi-Harada Disease: Report of an International Committee on Nomenclature *Am J Ophthalmol* 131: 647-652
17. Jabs DA, Nussenblatt RB, Rosenbaum JT (2005) Standardization of uveitis nomenclature for reporting clinical data *Am J Ophthalmol* 140: 509-516
18. Hood DC, Bach M, Brigell M, Keating D, Kondo M, Lyons JS, Palmowski-Wolfe AM (2008) ISCEV guidelines for clinical multifocal electroretinography (2007 edition). *Doc Ophthalmol* 116: 1-11
19. Okamoto Y, Miyake Y, Horio N, Takakuwa H, Yamamoto E, Terasaki H (2004) Delayed regeneration of foveal cone photopigments in Vogt-Koyanagi-Harada disease at the convalescent stage. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 45: 318-322
20. Yang P, Fang W, Wang L, Wen F, Wu W, Kijlstra A (2008) Study of macular function by multifocal electroretinography in patients with Vogt-Koyanagi-Harada syndrome. *Am J Ophthalmol* 146: 767-771

21. Keino H, Goto H, Usui M (2002) Sunset glow fundus in Vogt-Koyanagi-Harada disease with or without chronic ocular inflammation. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol* 240: 878-882
22. Suzuki S (1999) Quantitative evaluation of "sunset glow" fundus in Vogt-Koyanagi-Harada disease. *Jpn J Ophthalmol* 43: 327-333
23. Kawaguchi T, Horie S, Bouchenaki N, Ohno-Matsui K, Mochizuki M, Herborn CP (2009) Suboptimal therapy controls clinically apparent disease but not subclinical progression of Vogt-Koyanagi-Harada disease. *Int Ophthalmol*
24. Vasconcelos-Santos DV, Sohn EH, Sadda S, Rao NA (2009) Retinal pigment epithelial changes in chronic Vogt-Koyanagi-Harada disease: fundus autofluorescence and spectral domain-optical coherence tomography findings. *Retina* 30: 33-41
25. Dale EA, Hood DC, Greenstein VC, Odel JG (2009) A comparison of multifocal ERG and frequency domain OCT changes in patients with abnormalities of the retina. *Doc Ophthalmol* 120: 175-186

Figure

[Click here to download high resolution image](#)

Table 1. Demographic characteristics of late-stage Vogt-Koyanagi-Harada disease patients submitted to macular *Fourier*-domain optical coherence tomography (Fd-OCT) and multifocal electroretinogram (mf-ERG).

Description		
Number of patients (eyes)	29	(52)
Age, mean $\pm$ SD (yrs)	41.1 $\pm$ 13	
Sex, male (%)	4	(14)
Race		
White, n (%)	11	(38)
Mestizo	11	(38)
Black	5	(17)
Asian/oriental	2	(7)
Revised Diagnostic Criteria category		
Complete, n (%)	7	(24)
Incomplete	15	(52)
Probable	7	(24)
Disease duration, median (range) (mo)	93.5	(9-348)
Clinical activity (SUN)		
Remission ^a , n (%)	11	(38)
Inactive ^b	6	(21)
Improved activity	5	(17)
Active	6	(21)
Worsening activity	1	(3)
Systemic medication, n (%)	14	(48)
Prednisone only	7	(24)
Immunosuppressants only	2	(7)
Prednisone and immunosuppressants	5	(18)
Prednisone dosage, median (range) (mg/day)	7.5	(5-40)

^a Inactive disease for $\geq$ 3 months after discontinuing all treatment for eye disease. ^b Grade 0 cells.

Table 2. Amplitudes and latencies of N1 and P1 waves detected with the multifocal electroretinogram in eyes of patients with late-stage Vogt Koyanag-Harada disease subdivided according to cluster analysis into mild and severe groups.

Mf-ERG parameters		Controls (n=37)	Groups		<i>p</i>
			Mild (n=20)	Severe (n=32)	
N1	Amplitude (nV/deg ²) (median,min-max)	541.0	499.0	243.0	<0.05 ^a
		(393.0-791.0)	(370.0-864.0)	(83.0-688.0)	>0.05 ^b
	Latency (ms) (median,min-max)	16.7	16.7	20.1	<0.05 ^a
		(13.7-19.6)	(16.6-19.6)	(16.7-34.3)	>0.05 ^b
P1	Amplitude (nV/deg ²) (median,min-max)	1635.0	1729.0	687.0	<0.05 ^a
		(304.0-1700.0)	(1275.0 - 3090.0)	(8.0-1213.0)	>0.05 ^b
	Latency (ms) (median,min-max)	30.7	31.4	35.1	<0.05 ^a
		(29.4-34.3)	(29.4-34.3)	(30.38-38.22)	>0.05 ^b

Student's t test ^a between mild and severe patients; ^b between controls and mild patients.

Table 3: Concordance between structural (Fd-OCT) and functional (mf-ERG) strategies of assessment of macular photoreceptors’ integrity in eyes of patients with late-stage Vogt-Koyanagi-Harada disease.

Mf-ERG groups	Macular IS/OS junction status	Preserved IS/OS	Damaged IS/OS	Total
	Mild	14	2	16
	Severe	8	13	21
	Total	22	15	37

(K=0.47)

IS/OS: Inner and outer segment photoreceptor junction. More than 75% visible, Preserved IS/OS; less than 75% visible, Damaged IS/OS.
Mf-ERG groups: Severity groups obtained with cluster analysis applied to mf-ERG’s results.