



Universidade do Estado do Rio de Janeiro
Centro Biomédico
Faculdade de Ciências Médicas

Lana Sayuri Makita Muniz

**Genética e epidemiologia da degeneração macular
relacionada à idade: avaliação da variante rs1143627(-31G> A) do
gene *IL1 β* e análise do perfil epidemiológico em amostras da
população brasileira de hospitais terciários**

Rio de Janeiro
2023

Lana Sayuri Makita Muniz

**Genética e epidemiologia da degeneração macular relacionada à idade:
avaliação da variante rs1143627(-31G> A) do gene *IL1β* e análise do perfil
epidemiológico em amostras da população brasileira de hospitais terciários**

Tese apresentada, como requisito parcial para
obtenção do título de Doutor, ao Programa de
Pós-Graduação em Ciências Médicas, da
Universidade do Estado do Rio de Janeiro.

Orientador: Prof. Dr. Flávio Mac Cord Medina

Rio de Janeiro

2023

CATALOGAÇÃO NA FONTE
UERJ/REDE SIRIUS/BIBLIOTECA CB-A

M966 Muniz, Lana Sayuri Makita

Genética e epidemiologia da degeneração macular relacionada à idade: avaliação da variante rs1143627(-31G> A) do gene IL1 β e análise do perfil epidemiológico em amostras da população brasileira de hospitais terciários / Lana Sayuri Makita Muniz. – 2023.

130 f.

Orientador: Prof. Dr. Flávio Mac Cord Medina

Tese (Doutorado) – Universidade do Estado do Rio de Janeiro, Faculdade de Ciências Médicas.

1. Degeneração macular – Genética. 2. Degeneração macular – Epidemiologia. 3. Medicina – Oftalmologia – Teses. I. Medina, Flávio Mac Cord. II. Universidade do Estado do Rio de Janeiro. III. Título.

CDU 617.736

Bibliotecário: Felipe Caldonazzo CRB7/7341

Autorizo, apenas para fins acadêmicos e científicos, a reprodução total ou parcial desta tese, desde que citada a fonte.

Assinatura

Data

Lana Sayuri Makita Muniz

**Genética e epidemiologia da degeneração macular relacionada à idade:
avaliação da variante rs1143627(-31G> A) do gene *IL1β* e análise do perfil
epidemiológico em amostras da população brasileira de hospitais terciários**

Tese apresentada, como requisito parcial para
obtenção do título de Doutor, ao Programa de
Pós-Graduação em Ciências Médicas, da
Universidade do Estado do Rio de Janeiro.

Aprovada em 29 de junho de 2023.

Banca Examinadora:

Prof. Dr. Flávio Mac Cord Medina (Orientador)
Universidade do Estado do Rio de Janeiro – UERJ

Prof. Dr. Rogério Lopes Rufino Alves
Universidade do Estado do Rio de Janeiro – UERJ

Prof. Dr. Luiz Fernando Santos Regis Pacheco Pereira
Universidade do Estado do Rio de Janeiro – UERJ

Prof. Dr. José Paulo Cabral de Vasconcellos
Universidade Estadual de Campinas

Prof. Dr. Raul Nunes Galvarro Vianna
Universidade Federal Fluminense

Rio de Janeiro

2023

AGRADECIMENTOS

Agradeço ao meu marido Bernardo Muniz, pois sem seu apoio não haveria um início, um meio e um final. Obrigada por sempre acreditar em mim, pela ajuda e incentivos em todos os momentos.

Agradeço ao meu orientador Dr. Flávio Mac Cord quem tenho a oportunidade de conhecer há 10 anos na UERJ e que de professor da graduação se tornou um oftalmologista exemplo para a vida e um amigo que me permitiu muitas oportunidades dentro da área científica e acadêmica, como esta que finalizo agora. Obrigada!

Agradeço a oportunidade, acolhimento e parceria da Dra. Mônica Melo, responsável pelo Centro de Biologia Molecular e Engenharia Genética (CBMEG) da Universidade Estadual de Campinas, em São Paulo, pela condução e orientação dessa pesquisa genética, pois sem sua colaboração nada seria possível. Obrigada!

Agradeço à equipe do CBMEG que acolheu a carioca de braços abertos e me ensinou com paciência um pouco do “trabalho de bancada”. Obrigada principalmente à Flávia Bajano, Daniela Stancato e Gabriela Siqueira pela ajuda e orientações!

Tenho a boa sorte de ter em meu caminho pessoas muito queridas da Oftalmologia do Hospital Universitário Pedro Ernesto (HUPE) e que sem elas meu caminho seria muito mais árduo:

Agradeço especialmente aos queridos residentes e amigos de coração que me ajudaram incrivelmente na condução dessa pesquisa. Esse trabalho também é de vocês! Sou eternamente grata a toda ajuda e apoio! Obrigada Virgínia Cavalcanti, Thaís Sobreira, Manoella Cunha, Lucas Pugliesi e todos os demais residentes que sempre estiveram ao meu lado nesse trabalho me auxiliando de todas as maneiras possíveis!

Da mesma maneira, agradeço, do fundo do coração, aos técnicos de enfermagem Rose, Lúcia, Ana e Luiz (*In memoriam*). Vocês foram fundamentais na execução dessa pesquisa! Muito obrigada pela ajuda!

Obrigada à querida Kelly Dias, é difícil colocar em palavras o agradecimento por toda a sua colaboração. Muito obrigada, você é muito especial!

Agradeço a todos os professores do HUPE pelo aprendizado e apoio em todos esses anos.

Agradeço a todos os pacientes e participantes desse projeto, pois sem eles nada seria possível. É deles e para eles. Sou grata aos pacientes do HUPE pela colaboração e interesse em todas as etapas do estudo. Torcemos juntos para mais avanços no conhecimento da DMRI.

E por fim, agradeço à minha família, minha mãe Glória, meu irmão Mário e minha sogra Mônica por toda a ajuda e carinho nesse processo. Obrigada!

O presente trabalho foi realizado com apoio do Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq).

RESUMO

MUNIZ, Lana Sayuri Makita. **Genética e epidemiologia da degeneração macular relacionada à idade**: avaliação da variante rs1143627(-31G> A) do gene IL1 β e análise do perfil epidemiológico em amostras da população brasileira de hospitais terciários. 2023. 130 f. Tese (Doutorado em Ciências Médicas) – Faculdade de Ciências Médicas, Universidade do Estado do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2023.

A degeneração macular relacionada à idade (DMRI) é a principal causa de cegueira em indivíduos acima de 50 anos nos países desenvolvidos. A doença é representada por uma maculopatia de causa multifatorial que envolve fatores genéticos, ambientais e constitucionais ainda não totalmente esclarecidos, associada a um perfil inflamatório crônico de baixo grau caracterizado pela presença de células imunológicas e citocinas na retina e no humor vítreo. Atualmente, a associação de variantes genéticas com o aumento do risco e progressão da doença abre caminho para o entendimento da fisiopatogenia da DMRI e para a possibilidade de terapias individualizadas. O presente estudo apresentou dois objetivos. O primeiro foi avaliar a associação entre a DMRI e a presença da variante genética rs1143627 (G>A) no gene da interleucina 1 β , através de um estudo caso-controle, a partir da coleta sanguínea de 397 pacientes com DMRI e 402 indivíduos sem a doença, residentes nos estados de São Paulo, Rio de Janeiro e Ceará. A genotipagem foi realizada pelo método de reação em cadeia da polimerase em tempo real (RT-PCR) através de ensaios de discriminação alélica com sondas TaqMan®. Não foi observada diferença significativa na comparação entre os três genótipos ($p = 0,21$), porém na presença de uma ou duas cópias do alelo variante A (GA + AA) houve uma tendência ao aumento do risco para a progressão da doença (OR = 1,47, IC 95% 0,96 – 2,27, $p = 0,07$), assim como evidenciou-se a maior frequência do alelo variante no grupo com DMRI neovascular (OR = 1,23, IC 95% 0,96 – 1,56, $p = 0,08$). Além disso, o grupo do gênero feminino apresentou significativamente maior frequência do alelo variante (OR = 1,46, IC 95% 1,12 – 1,91, $p = 0,004$). O segundo objetivo do estudo foi analisar o perfil epidemiológico e a avaliação de progressão da doença em 60 pacientes com DMRI em um hospital universitário na cidade do Rio de Janeiro, a partir da realização de questionário em forma de entrevista e exames oftalmológicos. Observou-se que o aumento da idade e o tabagismo foram os fatores com associação estatisticamente significativa para a progressão da DMRI.

Palavras-chave: DMRI. Degeneração macular relacionada à idade. Interleucina – 1 β . rs1143627. Genética. Polimorfismo de nucleotídeo único. Variante. Citocinas.

ABSTRACT

MUNIZ, Lana Sayuri Makita. *Genetics and epidemiology of age-related macular degeneration: evaluation of the rs1143627(-31G> A) variant of the IL1 β gene and analysis of the epidemiological profile in samples from the Brazilian population of tertiary hospitals*. 2023. 130 f. Tese (Doutorado em Ciências Médicas) – Faculdade de Ciências Médicas, Universidade do Estado do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2023.

Age-related macular degeneration (AMD) is the leading cause of blindness in individuals over the age of 50 in developed countries. The disease is represented by a maculopathy of multifactorial cause that involves genetic, environmental, and constitutional factors not yet fully understood, associated with a chronic low-grade inflammatory profile characterized by the presence of immune cells and cytokines in the retina and vitreous humor. Currently, the association of genetic variants with increased risk and progression of the disease paves the way for the understanding of the pathophysiology of AMD and for the possibility of individualized therapies. The present study had two objectives. The first was to evaluate the association between AMD and the presence of the genetic variant rs1143627 (G>A) in the interleukin 1 β gene, through a case-control study, from the blood collection of 397 patients with AMD and 402 individuals without AMD disease, residing in the states of São Paulo, Rio de Janeiro and Ceará. Genotyping was performed using the real-time polymerase chain reaction (RT-PCR) method and direct sequencing to confirm the data found. The frequency of the variant allele (A) was approximately 61% in the studied sample, similar to that described in European populations. No significant difference was observed when comparing the three genotypes ($p = 0.21$), but in the presence of one or two copies of the variant A allele (GA + AA) there was a tendency towards an increased risk for disease progression (OR = 1.47, 95% CI 0.96 – 2.27, $p = 0.07$), as well as a higher frequency of the variant allele in the group with neovascular AMD (OR = 1.23, 95% CI 0.96 – 1.56, $p = 0.08$). Furthermore, the female group had a significantly higher frequency of the variant allele (OR = 1.46, 95% CI 1.12 – 1.91, $p = 0.004$). The second objective of the study was to analyze the epidemiological profile and the assessment of disease progression in 60 patients with AMD at a university hospital in the city of Rio de Janeiro, based on interviews and ophthalmological examinations. It was observed that increasing age and smoking, risk factors well established in the literature for the disease, were also the most significant for the evolution of AMD in the studied group.

Keywords: AMD. Age-related macular degeneration. Interleukin - 1 β . rs1143627.

Genetics. Single nucleotide polymorphism. Variant. Cytokines.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1 – Pirâmide etária da população brasileira em 2010 e sua projeção para 2050	18
Figura 2 – Material drusenoide entre o EPR e a membrana de Bruch em foto de microscopia de iluminação estruturada	23
Figura 3 – DMRI seca e diferentes apresentações fenotípicas	26
Figura 4 – DMRI neovascular em avaliação de imagem multimodal	26
Figura 5 – Ativadores do inflamassoma NLRP3	36
Figura 6 – Modelo de ativação do inflamassoma NLRP3	37
Figura 7 – Diferença entre homozigose e heterozigose.....	47
Figura 8 – Resultados da genotipagem da variante rs1143627 através de sondas TaqMan®	49
Gráfico 1 – Proporção dos genótipos da variante rs1143627 entre os grupos caso e controle.....	55

LISTA DE QUADROS

Quadro 1 – O Sistema CARMS (<i>Clinical Age-Related Maculopathy Staging System Clinical</i>)	28
Quadro 2 – Genes associados à DMRI envolvidos na via inflamatória ...	40
Quadro 3 – Revisão da literatura para a variante rs1143627 do gene <i>IL-1β</i> e o risco para o desenvolvimento de doenças	73

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Características demográficas dos pacientes com DMRI e grupo controle	54
Tabela 2 – Distribuição, <i>odds ratio</i> e frequência genotípica e alélica da variante rs1143627 do gene <i>IL-1β</i>	56
Tabela 3 – Distribuição da frequência do alelo variante A entre os gêneros nos grupos Caso e Controle	56
Tabela 4 – Distribuição genotípica, <i>odds ratio</i> e frequência alélica da variante rs1143627 entre os controles e os subtipos de DMRI	58
Tabela 5 – Avaliação do risco de progressão da DMRI na presença da variante rs1143627	59
Tabela 6 – Proporção da distribuição da variante rs1143627 em relação ao estágio da DMRI	60
Tabela 7 – Proporção da distribuição da variante rs1143627 em relação ao tipo de DMRI	61
Tabela 8 – Avaliação dos dados demográficos e o risco para DMRI avançada	67
Tabela 9 – Avaliação dos dados demográficos e o risco para DMRI neovascular	68

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

A	Base nitrogenada Adenina
A β	Proteína β -amiloide
A2E	N-retinil-N-retinilideno etanolamina
AG	Atrofia geográfica
APOE	Apolipoproteína E
AREDS	<i>Age-Related Eye Disease Study</i>
ARMS 2	<i>Age-related maculopathy susceptibility 2</i>
ASC	<i>Apoptosis speck-like protein</i>
ATP	Trifosfato de adenosina
C	Base nitrogenada Citosina
C2	Componente C2 do sistema complemento
C3	Componente C3 do sistema complemento
C4	Componente C4 do sistema complemento
C5	Componente C5 do sistema complemento
CAPS	Síndromes periódicas associadas à criosporina
CARMS	<i>Clinical Age-Related Maculopathy Staging</i>
CBMEG	Centro de Biologia Molecular e Engenharia Genética
CETP	Proteína de transferência de colesterol esterificado
CFB	Fator B do sistema complemento
CFH	Fator H do sistema complemento
CFHR1	Proteína 1 relacionada ao fator H do complemento
CFHR3	Proteína 3 relacionada ao fator H do complemento
DAMPs	Padrões moleculares associados a danos
DEP	Descolamento do epitélio pigmentado da retina
DMRI	Degeneração Macular Relacionada à Idade
DNA	Ácido desoxirribonucleico
EPR	Epitélio Pigmentado da Retina
EROs	Espécies reativas de oxigênio
G	Base nitrogenada Guanina

GWAS	<i>Genome Wide Association Studies</i> (Estudo de Associação Genômica Ampla)
HDL-C	<i>High Density Lipoprotein cholesterol</i>
HLA	Antígeno leucocitário humano
HTRA –1	HtrA serina peptidase 1
HUPE	Hospital Universitário Pedro Ernesto
IBGE	Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística
IC	Intervalo de confiança
IL–1	Interleucina 1
IL–17 A	Interleucina 17A
IL–18	Interleucina 18
IL–1Ra	Receptor antagonista da interleucina–1
IL–1RI	Receptor de interleucina –1 tipo I
IL–1 α	Interleucina 1 alfa
IL–1 β	Interleucina 1 beta
IL–36	Interleucina 36
IL–4	Interleucina 4
IL–6	Interleucina 6
IL–8	Interleucina 8
IMC	Índice de massa corporal
kDa	Quilodalton
LDL-C	<i>Low density lipoprotein cholesterol</i>
LIPC	Lipase C, tipo hepática
LPL	Lipoproteína lipase
MAF	<i>Minor allele frequency</i> (alelo de menor frequência)
MCP– 1	Proteína quimiotática de monócitos – 1
MNVC	Membrana neovascular de coroide
mtDNA	Ácido desoxirribonucleico mitocondrial
NF- κ B	Fator nuclear kappa B
NLR	<i>Nod-like receptor</i>
NLRP3	<i>NLR family pyrin domain containing 3</i>
OCT	Tomografia de coerência óptica
OMS	Organização Mundial de Saúde

OR	<i>Odds ratio</i>
PAMPs	Padrões moleculares associados a patógenos
PCR	Reação em cadeia da polimerase
PRR	<i>Pattern Recognition Receptor</i> (Receptor de Reconhecimento de Padrões)
RNA	Ácido ribonucleico
SNP	<i>Single nucleotide polymorphism</i> (polimorfismo de nucleotídeo único)
SUS	Sistema Único de Saúde
Th1	Células T auxiliares 1
Th2	Células T auxiliares 2
TIMP-3	Inibidor de metaloproteinase-3
TLR	Receptores do tipo Toll
TNF- α	Fator de necrose tumoral alfa
UERJ	Universidade do Estado do Rio de Janeiro
UNICAMP	Universidade Estadual de Campinas
UV	Ultravioleta
VEGF	Fator de crescimento endotelial
VEGFR- 2	Receptor para o fator de crescimento endotelial vascular 2
VPC	Vasculopatia polipoidal da coróide

LISTA DE SÍMBOLOS

%	Porcentagem
<	Menor que
≤	Menor ou igual que
>	Maior que
≥	Maior ou igual que
μm	Micrômetro
®	Marca registrada
ml	Mililitro
μl	Microlitro
β	Beta
<i>p</i>	<i>p</i> -valor
T>C	Variante genética caracterizada pela troca de base nitrogenada timina por citosina
G>A	Variante genética caracterizada pela troca de base nitrogenada guanina por adenina
C>T	Variante genética caracterizada pela troca de base nitrogenada citosina por timina
χ^2	Qui-quadrado

SUMÁRIO

	INTRODUÇÃO	16
1	REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	17
1.1	A Degeneração Macular Relacionada à Idade	17
1.1.1	<u>Epidemiologia</u>	17
1.1.2	<u>Fisiopatologia</u>	19
1.1.3	<u>Apresentação fenotípica e classificação da DMRI</u>	24
1.2	Os Fatores de risco e a DMRI	29
1.2.1	<u>Fatores de risco genéticos</u>	32
1.3	A ativação inflamatória na DMRI	34
2	OBJETIVOS	42
3	METODOLOGIA	43
3.1	Tipos de estudo	43
3.1.1	<u>Avaliação da variante rs1143627 no gene <i>IL-1β</i></u>	43
3.1.2	<u>Avaliação do perfil epidemiológico de pacientes com DMRI</u>	43
3.2	Critérios de inclusão	44
3.2.1	<u>Critérios de inclusão – Grupo caso</u>	44
3.2.2	<u>Critérios de inclusão – Grupo controle</u>	44
3.3	Critérios de exclusão – Grupos Caso e Controle	44
3.4	Aspectos éticos	45
3.5	Procedimentos	46
3.5.1	<u>Genotipagem da variante rs1143627</u>	46
3.5.2	<u>Avaliação do perfil epidemiológico dos pacientes com DMRI</u>	50
3.5.2.1	Questionário	51
3.6	Análise estatística	53
3.6.1	<u>Da variante rs1143627 do gene <i>IL-1β</i></u>	53
3.6.2	<u>Do perfil epidemiológico</u>	53
4	RESULTADOS	54
4.1	A análise da variante rs1143627 da <i>IL-1β</i>	54
4.2	A análise do perfil epidemiológico	60
5	DISCUSSÃO	69

5.1	A interleucina 1β e a DMRI	69
5.2	Os fatores de risco e a DMRI	75
6	LIMITAÇÕES E CONTRIBUIÇÕES DO ESTUDO	90
	CONCLUSÕES	91
	REFERÊNCIAS	92
	ANEXO A – Questionário (UERJ)	110
	ANEXO B – Parecer do Comitê de Ética em Pesquisa	115
	APÊNDICE A – Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE)	120
	APÊNDICE B – Artigo científico publicado com os resultados da análise genética	123
	APÊNDICE C – Outras produções realizadas durante a pós-graduação	130

INTRODUÇÃO

A degeneração macular relacionada à idade (DMRI) é uma doença ocular retiniana degenerativa relacionada à perda visual e ao comprometimento da qualidade de vida de pessoas idosas. Sua fisiopatogenia é complexa e envolve fatores genéticos, ambientais e constitucionais, associados ao aumento do estresse oxidativo e de marcadores inflamatórios na retina e no humor vítreo.

A pesquisa genética na DMRI é promissora, pois possibilita, além da compreensão da fisiopatologia da doença, a descoberta de uma possível terapêutica individualizada. Alterações e variantes genéticas são descritas em proteínas da via do complemento e são fortemente associadas com a DMRI, como ocorre com o CFH, Fator H do sistema complemento (1,2).

A retina de pacientes com DMRI apresenta um status inflamatório crônico de baixo grau com a presença de citocinas, proteínas de sinalização e ativação do sistema imune (3). A interleucina 1- β (IL-1 β), objeto do presente estudo, é uma citocina regulatória chave para a ativação do sistema imune inato (4). A sua proteína conversora, o inflamassoma NLRP3, é regulada positivamente em resposta à componentes drusenoides e ao dano oxidativo nas células do epitélio pigmentado da retina (EPR) levando à expressão de IL-1 β na retina (5,6).

Assim, os objetivos desse trabalho foram avaliar a relação de uma variante genética presente no gene *IL-1 β* como fator de risco para a DMRI e realizar uma análise do perfil epidemiológico dos pacientes com a doença atendidos em um hospital universitário.

Não há pesquisas semelhantes na população brasileira, sendo o presente estudo importante por revelar a prevalência da variante rs1143627 em uma amostra dessa população. A análise do perfil epidemiológico é uma ferramenta importante capaz de auxiliar no entendimento dos fatores de risco de uma doença, que podem variar de acordo com as condições ambientais de diferentes regiões demográficas e culturais. Os impactos socioeconômicos e biopsicossociais causados pela DMRI mostram a importância do entendimento completo de sua fisiopatogenia e a prevenção da perda visual irreversível na população idosa.

1 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

1.1 A Degeneração Macular Relacionada à Idade

A DMRI é uma doença ocular degenerativa que acomete a mácula, área da retina responsável pela visão central, percepção de cores e detalhamento visual, em indivíduos acima de 50 anos de idade (7). Caracteriza-se por ser uma das principais causas de cegueira legal nos países desenvolvidos, principalmente em pessoas acima de 60 anos de idade, sendo responsável por aproximadamente 8,7% dos casos de cegueira no mundo (8). Em estágios avançados, a DMRI leva a uma perda da visão central causada pelo dano irreversível dos fotorreceptores e das células do EPR. Em sua fisiopatologia, apresenta fatores multifatoriais complexos com aspectos genéticos, biológicos e ambientais capazes de influenciar o desenvolvimento e a progressão das alterações degenerativas na mácula. Sua fisiopatogenia não é totalmente compreendida e seu tratamento ainda é limitado (9).

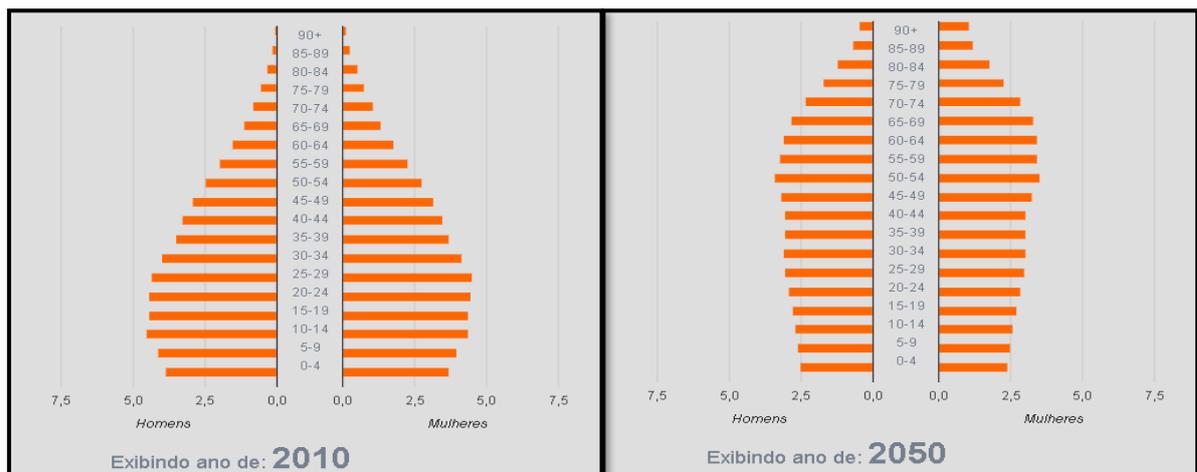
1.1.1 Epidemiologia

A DMRI é a principal responsável pela cegueira legal em indivíduos idosos nos países desenvolvidos (8,10) e é a terceira causa de cegueira no mundo, a seguir da catarata e do glaucoma (11). Segundo dados da Organização Mundial de Saúde (OMS), acima de 82% de pessoas com cegueira no mundo têm 50 anos de idade ou mais, faixa etária que representa 19% da população mundial (10).

Devido ao aumento da expectativa de vida, é esperado que a quantidade de indivíduos no planeta alcance 8,6 bilhões até 2030, sendo a maior parte desse crescimento prevista para os países em desenvolvimento. Assim, em relação à DMRI, a estimativa é de que 288 milhões de indivíduos sejam acometidos com a doença no ano de 2040 (1,2).

Em relação ao Brasil, nota-se uma transformação do perfil estrutural etário de sua população. No começo da década de 1960, iniciou-se lentamente o declínio dos níveis de fecundidade no país, acentuando-se na década seguinte. Esse fato fez com que as taxas de crescimento subsequentes caíssem progressivamente (12). Na Figura 1, observa-se que o perfil da pirâmide etária da população brasileira vem apresentando, gradativamente, redução de sua base e alargamento de seu ápice, em decorrência do envelhecimento da população. A projeção do Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE) da pirâmide etária brasileira para o ano de 2050 revela uma mudança significativa do perfil etário da população em 40 anos (13) e, dessa maneira, será possível observar o aumento da incidência e prevalência das doenças degenerativas no Brasil como a DMRI.

Figura 1 – Pirâmide etária da população brasileira em 2010 e sua projeção para 2050



Fonte: Página virtual do IBGE – Projeção da população (13).

Dessa forma, a projeção para a população idosa (acima de 60 anos), no ano de 2030, é de 43,2 milhões de indivíduos e vai superar pela primeira vez o número de crianças e adolescentes de 0 a 14 anos (42,3 milhões), sendo um dos países com as maiores taxas de crescimento da população idosa do mundo. Antes de 2050, os idosos no Brasil já serão um grupo maior do que a parcela da população com idade entre 40 e 59 anos (10).

Poucos estudos epidemiológicos sobre a DMRI foram realizados no Brasil. Destacam-se estudos que avaliaram a prevalência de idosos com a doença em diferentes cidades brasileiras (14–16), bem como pesquisas que analisaram a qualidade de vida ou os fatores ambientais relacionados à DMRI (17,18). Em Minas Gerais, o perfil das características da neovascularização associada à doença também foi descrita (19).

Previsões apontam que em 2030 haverá aproximadamente 887.776 pessoas com DMRI no Brasil e, atualmente, estima-se que a patologia seja responsável por 4% de todas as causas de cegueira no país (10).

A degeneração macular é uma doença retiniana potencialmente capaz de causar sequelas visuais irreversíveis caso o tratamento precoce não seja realizado. Por isso, o acesso da população idosa ao atendimento oftalmológico de forma rápida e eficaz é de extrema importância, o que torna a DMRI um importante desafio socioeconômico para o sistema de saúde brasileiro (20,21).

Ademais, a baixa visual no indivíduo idoso impacta diretamente em suas atividades diárias e provoca a perda de sua autonomia e independência, com redução de sua qualidade de vida. Logo, a ansiedade e a depressão são condições frequentes nos pacientes com DMRI no Brasil (17,22). Um estudo longitudinal realizado pela Universidade de São Paulo em pacientes com baixa visual observou que as doenças retinianas, dentre elas a DMRI mesmo em estágios iniciais, provocaram mais depressão e ansiedade do que o glaucoma, outra causa de perda visual irreversível (23). Dessa forma, a identificação e o tratamento precoces da DMRI são fundamentais tanto por fatores socioeconômicos quanto biopsicossociais.

1.1.2 Fisiopatologia

A DMRI é uma complexa doença multifatorial, progressiva, relacionada com fatores genéticos, ambientais e constitucionais ainda não totalmente esclarecidos. O estresse oxidativo e a inflamação crônica são pontos importantes a ser considerados na fisiopatologia da doença (24).

As principais estruturas envolvidas na degeneração macular são o epitélio pigmentado da retina, a membrana de Bruch e a coroide, com o acometimento

secundário dos fotorreceptores. O EPR é composto por uma única camada de células e apresenta um papel significativo na patogênese da DMRI (25,26). Essas células são responsáveis, entre outras funções, pela fagocitose dos segmentos externos dos fotorreceptores em um processo denominado heterofagia, realizado para a “reciclagem” da molécula 11-cis-retinal do ciclo visual. Naturalmente, com o aumento da idade, a heterofagia é reduzida significativamente e a lipofuscina, um lipídio gerado pela peroxidação dos fotorreceptores nesse processo, é acumulado nos lisossomos do EPR (28). Esse acúmulo intracelular de lipofuscina ocorre fisiologicamente com a senescência, sendo um processo característico de células pós-mitóticas, ou seja, sem capacidade regenerativa, como o EPR, células nervosas e miocárdicas. Seu acúmulo em excesso, entretanto, está descrito nas doenças de Alzheimer e Parkinson, assim como na DMRI, e é prejudicial visto que a lipofuscina uma molécula oxidativa (28).

O EPR é particularmente susceptível ao dano oxidativo, já que suas células, extremamente ativas metabolicamente, são expostas, durante toda a vida do indivíduo, a fatores oxidativos importantes, como espécies reativas de oxigênio (EROS), que são produtos da fototransdução, e a moléculas fotossensíveis oxidativas como a lipofuscina. Entretanto, com o envelhecimento do organismo, surgem, em adição, deficiências acumuladas no sistema de reparo do DNA (ácido desoxirribonucleico) e redução da defesa antioxidante, que, em conjunto, aumentam o estresse oxidativo retiniano (29).

A autofagia é outra atividade celular relevante na DMRI. Ela é caracterizada pela renovação e reutilização de material celular desaproveitado, como proteínas agregadas e organelas celulares disfuncionais, através dos lisossomos. Na DMRI, o processo de autofagia encontra-se reduzido. Fisiologicamente, a autofagia deve aumentar com a senescência, já que a sua principal função é reduzir o dano causado pelo estresse oxidativo e envelhecimento celular. Portanto, é uma atividade que promove a sobrevivência da célula por mais tempo, a partir da circulação de nutrientes provenientes do reaproveitamento de seus próprios componentes moleculares (6,30,31). Porém, na degeneração macular, observa-se que o acúmulo excessivo de lipofuscina no EPR prejudica a autofagia por bloquear a função das enzimas lisossomais, ocasionando, dessa maneira, o aumento das espécies reativas de oxigênio, da oxidação de proteínas e da formação adicional de lipofuscina, gerando um ciclo de dano celular que se retroalimenta. O acúmulo do cátion lipofílico N-retinil-

N-retinilideno etanolamina (A2E), principal resíduo fluoróforo da lipofuscina não degradável, por exemplo, demonstrou interferir com a função celular do EPR através da inibição da bomba de prótons lisossomal (32,33). Dessa forma, a redução da autofagia na DMRI é mais um fator relacionado ao incremento do dano oxidativo celular no EPR e a inflamação tecidual retiniana (30).

Portanto, um dos pilares da fisiopatologia da DMRI envolve o aumento do dano oxidativo da retina. O incremento excessivo do estresse oxidativo causa uma resposta inflamatória anormal na matriz extracelular entre a membrana de Bruch e coróide e altera a difusão de nutrientes para a retina, com estímulo à neovascularização da coróide e/ou atrofia do EPR, dos fotorreceptores e da coriocapilar. O conjunto de alterações que ocorre na DMRI é consequência de múltiplos fatores genéticos e ambientais associados, capazes de modular a resposta retiniana e a apresentação fenotípica da doença (34).

Ademais, sabe-se que existe na degeneração macular uma resposta inflamatória de baixo grau. Por isso, também é possível que haja a desregulação de mecanismos parainflamatórios, ou seja, respostas intermediárias, entre os estados basal e intenso, que provocam uma reação inflamatória de baixa intensidade, reflexa ao estresse tecidual retiniano. Essa desregulação da função parainflamatória também estaria envolvida, como citado, com causas genéticas, envelhecimento e a exposição a fatores desencadeantes (35).

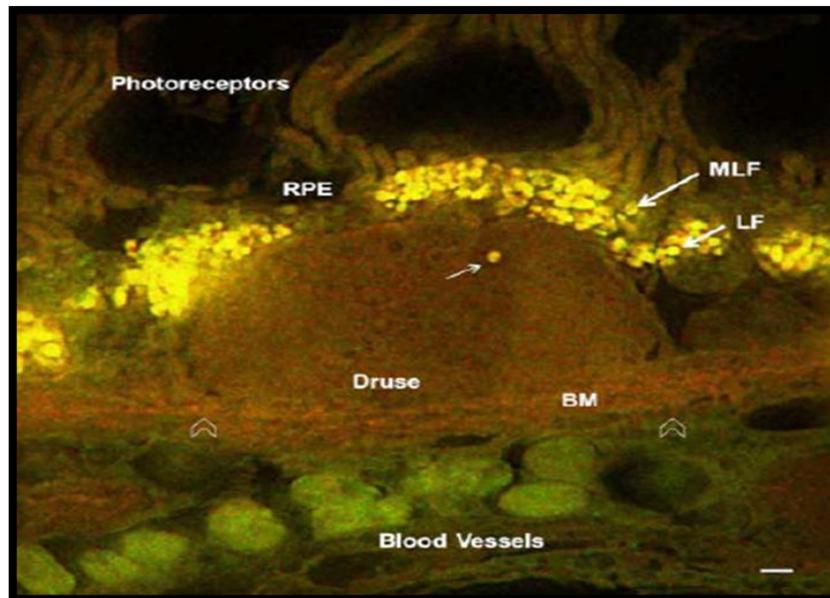
A característica fenotípica da degeneração macular relacionada à idade é a presença de drusas, material amorfo extracelular, de cor branco-amarelada, que são depositadas entre o EPR e a membrana de Bruch. As células do EPR são a origem dos numerosos componentes encontrados nas drusas que incluem: lipídios, lipoproteínas, grânulos de melanina e lipofuscina, proteína β -amilóide, apolipoproteína E, clusterina, albumina sérica, cristalina, inibidor tecidual de metaloproteinase 3 (TIMP-3) e outros produtos gerados pela oxidação. Além disso, podem estar presentes fatores relacionados à inflamação como componentes do complemento, imunoglobulinas, moléculas HLA (antígeno leucocitário humano), proteínas de fase aguda como vitronectina, fibrinogênio, antiqumotripsina- α 1 e pentraxinas. Os componentes drusenoides são potencialmente prejudiciais, pois são capazes de ativar as vias inflamatórias, tanto pelas vias tradicionais quanto por sistemas de sinalização através do NF- κ B (fator nuclear kappa B) e inflamassomas. Células do sistema imune

como macrófagos, células gigantes multinucleadas, fibroblastos, mastócitos e células dendríticas também são evidenciadas nas drusas, o que indica a inflamação como um componente presente nas fases iniciais da DMRI (11,26,34,36).

Ainda não é bem compreendida a exata relação de causa-efeito entre as drusas com o dano oxidativo, a desregulação celular e o componente inflamatório. É de conhecimento que os processos que contribuem para a formação desses depósitos subretinianos são:

- a) A ineficiência do metabolismo do EPR e a incapacidade de degradação de substratos, com acúmulo de debris extracelulares (drusas), somadas às alterações fisiológicas do aumento da idade e causas genéticas;
- b) O acúmulo de radicais livres, o aumento do dano oxidativo e a disfunção do EPR e da coriocapilar, que podem ser causados por fatores externos como tabagismo;
- c) A inflamação crônica local, devido à alteração do sistema complemento (que pode apresentar irregularidade de sua função por mutações genéticas) e de células da micróglia no sítio de acúmulo desses depósitos. Além disso, as drusas contêm lipídios, que são facilmente oxidados e contribuem para o incremento do estresse oxidativo e da liberação de citocinas, aumentando o caráter inflamatório da lesão. A inflamação crônica potencializa as anormalidades na membrana de Bruch e na matriz extracelular, aumentando cada vez mais o acúmulo de drusas (34,37).

Figura 2 – Material drusenoide entre o EPR e a membrana de Bruch em foto de microscopia de iluminação estruturada.



Legenda: (Photoreceptors) Fotorreceptores. (RPE) Epitélio pigmentado da retina). (MLF) Melanolipofuscina. (LF) Lipofuscina. (Druse) drusa. (BM) Membrana de Bruch. (Blood vessels) Veias sanguíneas – coriocapilar.

Fonte: Rossberger S, 2013 (38).

Outro fator interessante na fisiopatologia da DMRI é o microambiente de hipóxia gerado pelo acúmulo de drusas entre o EPR e a membrana de Bruch que, de forma adicional, incrementa a progressiva disfunção das células do EPR. Ocorre, assim, um processo cíclico de hipóxia e formação de novos depósitos drusenoides, com redução da passagem de nutrientes da coriocapilar para o EPR. Esse processo é parte do estímulo para a formação de neovascularização de coroide, fase avançada da DMRI (37).

O aumento da idade também parece estar associado ao espessamento das camadas colágenas da membrana de Bruch com presença de calcificação, degeneração de elastina e acúmulo de lipídios e proteínas na membrana, que levam à redução do suporte metabólico para os fotorreceptores. Assim, a formação de uma barreira hidrofóbica na membrana de Bruch parece dificultar a passagem de fluidos e nutrientes entre a coroide e a retina externa, ampliando o dano celular e o acúmulo das drusas (39,40).

Por fim, a disfunção mitocondrial, alteração celular importante e também bastante descrita na fisiopatologia da DMRI, está associada à produção excessiva de espécies reativas de oxigênio na célula do EPR (41). O DNA mitocondrial (mtDNA) é mais susceptível ao dano oxidativo do que o DNA intranuclear, pois não é protegido por histonas ou outras proteínas, possui menos regiões de íntros e mais regiões transcricionais, o que o torna mais vulnerável ao dano em regiões codificadoras, além de possuir um menor sistema de reparo, em relação ao DNA nuclear. A presença de mutações genéticas no mtDNA está associada aos distúrbios na cadeia respiratória celular e à perda do controle da produção de EROs (29,30,41).

De maneira geral, algumas condições se destacam na fisiopatologia complexa da DMRI (37):

- Alterações celulares e genéticas;
- Estresse oxidativo excessivo;
- Desregulação dos mecanismos antioxidantes;
- Inflamação;
- Múltiplos fatores ambientais desencadeantes;
- Possível alteração no metabolismo lipídico.

Dessa forma, a degeneração macular relacionada à idade revela-se como uma doença de patologia complexa e multifatorial, em que o processo degenerativo é estimulado por fatores ambientais e constitucionais, como a exposição e a susceptibilidade aos fatores oxidantes, as deficiências fisiológicas do envelhecimento e a presença de alterações genéticas potencialmente capazes de criar um ambiente inflamatório crônico retiniano associado ao aumento do estresse celular.

Nesse processo fisiopatogênico, evidencia-se a disfunção e a atrofia das células do EPR, com presença de marcadores inflamatórios, morte de fotorreceptores e estímulos neovasculares na coroide.

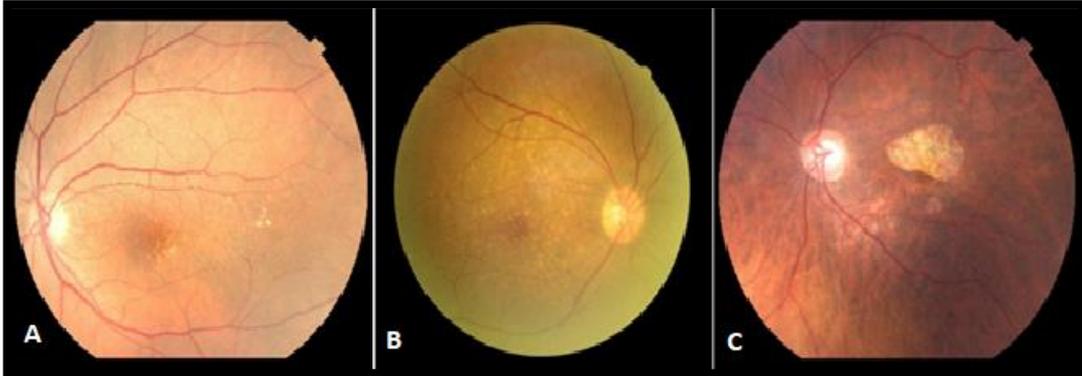
1.1.3 Apresentação fenotípica e classificação da DMRI

As drusas são a principal manifestação do processo natural do envelhecimento retiniano e os principais marcadores fenotípicos da DMRI, a depender da sua quantidade, tamanho, formato, distribuição e aspectos morfológicos. Os depósitos drusenoides podem ser divididos pelo tamanho de seu diâmetro como pequenas ($\leq 63 \mu\text{m}$), médias ($>63 \mu\text{m}$ e $\leq 125 \mu\text{m}$) e grandes ($>125 \mu\text{m}$) e morfológicamente se apresentar como drusas isoladas, drusas calcificadas, pseudodrusas reticulares e drusas cuticulares (42).

A DMRI do tipo seca representa 90% dos casos de DMRI (40). Em suas fases iniciais, é caracterizada por drusas e alterações pigmentares na retina. A hiper e a hipopigmentação são ocasionadas por modificações nas células do EPR e são marcadores de progressão para as formas avançadas da doença, que ocorrem em aproximadamente 20 a 30% dos casos (40,43). A progressão da DMRI seca é representada pela forma atrófica da doença, com morte das células do EPR e dos fotorreceptores em uma lesão retiniana denominada atrofia geográfica (AG), responsável por cerca de um terço dos casos de DMRI avançada (40,42,43) (Figura 3).

Uma segunda forma de apresentação fenotípica da DMRI em seu estágio avançado é a DMRI neovascular, também denominada como úmida ou exsudativa, que ocorre nos dois terços restantes dos casos de DMRI tardia, ou seja, em aproximadamente 10 a 20% do total de casos de DMRI (43). É caracterizada pela presença de membrana neovascular de coroide (MNVC), alteração vascular que pode provocar o extravasamento de líquido e/ou sangue para o espaço subretiniano e, posteriormente, evoluir para a cicatriz disciforme, uma lesão cicatricial fibrótica macular permanente (Figura 4). A forma neovascular é responsável por 90% da perda visual severa causada pela degeneração macular (9,40) e embora sejam fenotipicamente distintas, a atrofia geográfica e a membrana neovascular podem estar sobrepostas em um mesmo olho (32). O risco anual para o surgimento de neovascularização de coroide no olho contralateral após o desenvolvimento de DMRI exsudativa em um olho é de 15% (10).

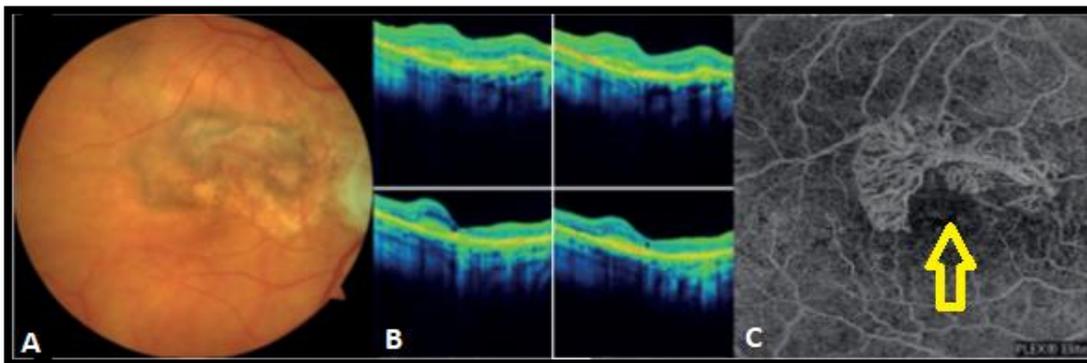
Figura 3 – DMRI seca e diferentes apresentações fenotípicas.



Legenda: (A) drusas maculares em pequena quantidade. (B) drusas difusas na região macular. (C) Atrofia geográfica na mácula.

Fonte: Banco pessoal da autora.

Figura 4 – DMRI neovascular em avaliação de imagem multimodal.



Legenda: (A) DMRI exsudativa com presença de membrana neovascular de coróide observada em retinografia colorida. (B) Tomografia de coerência óptica (OCT) spectral-domain. (C) Angiografia por tomografia de coerência óptica, evidenciada pela seta amarelada.

Fonte: Mitchell P, 2018 (44).

O aspecto fenotípico das drusas é um sinal importante para a avaliação do risco de progressão da DMRI (42). As drusas calcificadas indicam a regressão drusenoide que, eventualmente, pode levar à atrofia do EPR e à evolução da doença para a atrofia geográfica. Pacientes com drusas calcificadas têm uma probabilidade de 26% de evolução para AG em 5 anos (42).

Já as pseudodrusas reticulares estão localizadas entre o EPR e a camada de fotorreceptores e estão associadas com um índice de progressão da DMRI em 2 anos de 15,3% para a forma atrófica e 31% para a neovascular, independentemente do

estágio da doença. Além disso, as pseudodrusas isoladas são associadas à DMRI neovascular enquanto as pseudodrusas confluentes, à DMRI atrófica (42).

Por fim, as drusas cuticulares estão localizadas entre o EPR e a membrana de Bruch, apresentam o aspecto fenotípico de “dente de serra” e formato esferoide ou triangular no OCT. Estudos genéticos mostram que as drusas cuticulares estão associadas a variantes do gene *CFH* e os índices de progressão encontrados na presença dessas drusas foram de 25,0% a 28,4% para a forma atrófica e 8,7% a 12,5% para a neovascular em 5 anos (42).

O diagnóstico da DMRI é clínico, porém alguns exames complementares como o OCT, angiografia fluoresceínica e autofluorescência auxiliam no diagnóstico, classificação e monitorização de progressão, além de serem úteis no acompanhamento da resposta terapêutica na DMRI neovascular.

As classificações utilizadas para a DMRI, em sua maioria, baseiam-se na quantidade e tamanho das drusas, alterações pigmentares retinianas, áreas de atrofia de fotorreceptores e do EPR e na presença de neovascularização de coroide, seja por sua visibilização direta ou por sinais indiretos, como a hemorragia ou líquido subretiniano. Algumas classificações utilizadas para a DMRI são a *Wisconsin Age-Related Maculopathy Grading System* (45) e a *International Classification System* (46), além da proposta pelo estudo AREDS (*Age-Related Eye Disease Study*, em inglês) (47). Os pacientes do presente estudo foram classificados de acordo com sistema CARMS (*Clinical Age-Related Maculopathy Staging System*, em inglês) (48), sugerido como um sistema simples e reprodutível de classificação da DMRI, apresentado no Quadro 1.

O sistema CARMS consiste em uma escala com cinco graduações baseadas na avaliação clínica fundoscópica em lâmpada de fenda e em fotografias de fundo de olho para analisar uma área retiniana demarcada por um círculo de aproximadamente 6.000 µm de diâmetro (cerca de quatro vezes o diâmetro do disco óptico) centrado na fóvea. De acordo com o sistema CARMS, o grau 1 representa os pacientes sem DMRI, enquanto o grau 2 associa-se à DMRI inicial e requer mais de 10 drusas pequenas, ou até 15 drusas de tamanho intermediário ou anormalidades pigmentares associadas à DMRI. O grau 3 requer a presença de, no mínimo, 15 drusas intermediárias ou uma drusa grande, associadas ou não ao descolamento drusenoide do EPR. A presença de atrofia geográfica envolvendo a região central da mácula ou atrofia geográfica não

central, com pelo menos 350 μm de extensão, define o grau 4 da doença. O grau 5 é caracterizado pela presença de DMRI do tipo exsudativo, incluindo descolamento do epitélio pigmentado não drusenoide, descolamento de retina hemorrágico ou seroso, cicatriz retiniana consistente com tratamento prévio de DMRI, MNVC com hemorragia subretiniana e cicatriz disciforme. O CARMS é um sistema de classificação validado, tanto para a prática clínica quanto para uso em protocolos de pesquisa clínica (48).

Ao contrário da classificação do estudo AREDS, o sistema CARMS separa, em diferentes estágios, as duas formas avançadas da doença, a atrofia geográfica e a neovascularização da coroide, em graus 4 e 5, respectivamente. Além disso, classifica qualquer atrofia geográfica como estágio 4, independentemente de envolver ou não o centro macular.

Quadro 1 – O sistema CARMS (*Clinical Age-Related Maculopathy Staging System Clinical*).

Grau de maculopatia	Achados clínicos
1	Sem drusas ou < 10 drusas pequenas, sem anormalidades pigmentares
2	Aproximadamente ≥ 10 drusas pequenas ou < 15 drusas intermediárias, ou anormalidades pigmentares associadas à DMRI a. Drusas b. Alterações no EPR (hipo ou hiperpigmentação) c. Ambos, drusas e alterações no EPR
3	Aproximadamente ≥ 15 drusas intermediárias ou alguma drusa grande a. Sem DEP drusenoide b. DEP drusenoide
4	Atrofia geográfica com envolvimento do centro da mácula, ou atrofia geográfica não central a pelo menos 350 μm de tamanho
5	DMRI exsudativa, incluindo DEP não drusenoide, seroso ou hemorrágico. MNVC com hemorragia ou fibrose sub-EPR ou subretiniana, ou cicatriz relacionada com tratamento de DMRI. a. DEP seroso, sem MNVC b. MNVC ou cicatriz disciforme

Legenda: Drusa pequena: < 63 μm de diâmetro localizada dentro de 2 diâmetros de disco (DD) da fóvea; drusa intermediária: ≥ 63 μm , porém < 125 μm , localizada dentro de 2 DD da fóvea; drusa grande: ≥ 125 μm de diâmetro localizada dentro de 2 DD da fóvea; Descolamento do epitélio pigmentado da retina (DEP) drusenoide: drusas moles confluentes $\geq 500\mu\text{m}$ de tamanho.

Fonte: Seddon, 2006. (48)

1.2 Os fatores de risco e a DMRI

As variáveis ambientais e/ou constitucionais, modificáveis ou não, são potenciais desencadeadores para o desenvolvimento de doenças em pacientes geneticamente predispostos. Na DMRI, os principais fatores de risco relacionados diretamente com a incidência e a progressão da doença são, até o momento, a idade avançada, o tabagismo, a história familiar positiva e a facectomia (40).

O envelhecimento é o principal fator de risco não modificável, já que a DMRI é infrequente em pessoas abaixo de 50 anos (40) e a sua prevalência aumenta consistentemente conforme o incremento da idade em todos os grupos étnicos nas diferentes regiões geográficas (8).

Já o tabagismo é o principal fator de risco modificável e influencia tanto a incidência quanto a progressão da doença, seja para a forma neovascular ou para a forma atrófica (40,42,43). O risco em pacientes tabagistas é duas a quatro vezes maior em relação a pacientes não tabagistas da mesma idade. O ato de fumar promove o aumento do dano oxidativo, interfere na angiogênese e na circulação coroidiana, além de ativar fatores pró-inflamatórios retinianos (49).

Outro fator de risco consideravelmente associado é a história familiar positiva. Os fatores hereditários (genéticos) parecem explicar de 46% a 71% da variação na severidade geral da doença, enquanto exposições ambientais seriam responsáveis por 19% a 37% (50).

A cirurgia de catarata é uma condição diretamente relacionada com a progressão da DMRI, particularmente para o tipo neovascular, já que durante e após o processo cirúrgico ocorre o aumento de reações inflamatórias oculares. Há, ainda, a hipótese do aumento da exposição retiniana aos raios ultravioletas com incremento do dano oxidativo após a retirada do cristalino (42,43).

Em relação à etnia, estudos multiétnicos revelam diferentes prevalências de DMRI, porém a maioria mostra o aumento das formas avançadas em pacientes de etnia branca em relação a pacientes de etnia preta, o que também pode ser influenciado por questões genéticas, culturais e alimentares (51). A incidência maior de DMRI em indivíduos brancos é justificada pela redução de melanina nas células do

EPR e corioide, uma proteína que atua protegendo o organismo da radiação ultravioleta e evita a formação excessiva de radicais livres, inclusive na retina (51).

Não há uma relação bem estabelecida, até o momento, de um gênero específico como fator de risco para a degeneração macular (40,52), apesar do sexo feminino ser mais citado. As causas poderiam ser explicadas pela maior expectativa de vida das mulheres e pela presença do hormônio estrogênio, que possui propriedades antioxidantes (42).

Além disso, a ingestão de vitaminas antioxidantes é conhecidamente relacionada a um efeito protetor retiniano, já que é capaz de prevenir e retardar a progressão da DMRI (47). A suplementação de vitaminas antioxidantes em altas doses de zinco, ácido ascórbico, cobre, vitamina E, luteína e zeaxantina, como apresentado pelo estudo AREDS 2, é associada à redução em aproximadamente 10% da progressão da DMRI (44).

As diversas alterações encontradas no metabolismo lipídico também têm sido intensamente estudadas. Ressalta-se que as drusas, principais marcadores fenotípicos da doença, são compostas por pelo menos 40% de lipídios (53–55). Pode-se observar associação da DMRI com o aumento de HDL-colesterol (HDL-C) sérico e com a redução de triglicerídeos, colesterol total e LDL séricos (56). Destaca-se que a molécula de HDL-C é relacionada ao transporte reverso de colesterol, processo associado à regressão plaquetária e ao aumento da função endotelial, com funções antioxidantes, anti-inflamatórias e antiplaquetárias, que reduzem o risco de aterosclerose. Entretanto, parece haver uma associação positiva da DMRI com o incremento dos níveis de HDL-C. Esse efeito adverso pode ser justificado por uma disfunção da molécula de HDL-C causada a partir da exposição aumentada a espécies reativas de oxigênio na região macular que a convertem em uma molécula pró-inflamatória e pró-oxidante (56). Além disso, interessante notar que frações da molécula de HDL-C estimulam e carregam componentes do sistema complemento como o CFH, proteína associada ao aumento do risco para a DMRI (42,53). A relação do metabolismo lipídico com a degeneração macular é promissora e necessita de mais estudos.

Já a obesidade, condição sistêmica associada ao aumento da morbimortalidade pelo aumento do status pró-inflamatório no organismo é, no momento, um fator de risco de fraca a moderada associação com a DMRI (40,57–

59). Similarmente, sabe-se que a realização de atividade física regular é associada com a diminuição da obesidade e com os níveis inflamatórios sistêmicos, além de aumentar a atividade de enzimas antioxidantes. Porém, a quantificação do tempo e da intensidade do tipo de atividade física a ser realizada para classificar a variável como fator de proteção para a DMRI é de difícil determinação e a influência da atividade física na progressão da DMRI ainda é incerta (42).

Outro fator importante relacionado ao dano oxidativo é a exposição retiniana aos raios ultravioletas (UV) provenientes da luz solar. Como exemplo, pode-se observar aumento da incidência de DMRI em olhos afácicos, justificado pela ausência da proteção natural do cristalino aos raios UV (60). Além disso, acredita-se que íris de cores mais claras aumentam a exposição da retina aos raios solares (42,43). Entretanto, assim como ocorre com a estimativa da atividade física, a quantidade total de luz solar recebida por cada indivíduo é de difícil determinação e questões individuais podem interferir nessa avaliação como, por exemplo, a memória e a percepção individual do tempo de exposição durante a vida. O uso de objetos de proteção, como chapéus e óculos escuros, além da exposição solar por trabalhos ocupacionais realizados em ambientes externos, também podem influenciar de alguma forma a quantidade total de luz solar recebida (42).

A hipertensão arterial sistêmica (HAS) parece contribuir com a fisiopatogenia da DMRI, principalmente com a forma neovascular e é considerada um fator de risco de moderada associação. Já o diabetes mellitus (DM) possui, até então, fraca associação como fator de risco, porém, ressalta-se que muitos pacientes são excluídos dos estudos por serem portadores de retinopatia diabética, condição que poderia prejudicar a avaliação da relação do DM com a degeneração macular (40,42,43,59,60).

A hipótese da rigidez escleral como fator de risco considera a fisiopatogenia isquêmica do complexo coroide-EPR no desenvolvimento de DMRI. Essa hipótese sugere que, com o envelhecimento, ocorre aumento da rigidez escleral e, conseqüentemente, incremento da resistência ao retorno venoso coroidal com redução da perfusão sanguínea do EPR. Essa não seria uma hipótese exclusiva para a patogenia da doença, mas coexistente aos demais processos fisiopatogênicos relacionados à DMRI (61,62), sendo necessário mais estudos para sustentar essa teoria.

Outros fatores de risco aventados com a DMRI são a ingestão de álcool, que ainda apresenta uma associação incerta; a hipermetropia com a redução do comprimento axial, relacionados principalmente à forma inicial da doença (51,63,64); e os baixos níveis educacionais, o que poderia ser justificado por piores condições socioeconômicas com limitação do acesso ao oftalmologista, além da menor compreensão de assuntos médicos e menor importância individual no cuidado com a saúde (51,65,66).

Ademais, o aumento da exposição dos olhos à luz azul proveniente de telas de computadores e celulares, atualmente, é um motivo recente de preocupação para o surgimento de maculopatias. Esse tipo de exposição promoveria disfunção mitocondrial e redução da viabilidade celular, causando o aumento da produção de radicais livres e do dano oxidativo na retina. Porém ainda são necessárias mais evidências para a luz azul das telas ser considerada um fator de risco para retinopatias (67).

Por fim, alguns elementos séricos são também pesquisados como possíveis biomarcadores de risco para a DMRI. Como exemplo, cita-se o aumento sérico de citocinas, de proteínas do sistema complemento, anticorpos, proteína C reativa, apolipoproteínas, VEGF, homocisteína, metaloproteinases, dentre outros (54,55).

1.2.1 Fatores de risco genéticos

Dois genomas humanos, se comparados lado a lado, serão 99,9% idênticos. Entretanto, no DNA humano com 3,2 bilhões de pares de base, cada pessoa abriga cerca de 3,2 milhões de diferenças em seu genoma diploide (68). A maioria das diferenças é devida à substituição entre bases nitrogenadas (adenina, citosina, timina e guanina) em um nucleotídeo, alteração denominada “Polimorfismo de Nucleotídeo Único” (ou SNP – *single nucleotide polymorphism*, em inglês), ou ainda “variante”, uma denominação mais recente. O SNP se apresenta como exemplificado a seguir:

DNA do indivíduo 1: ...ATT**C**GAA...

DNA do indivíduo 2: ...ATT**T**GAA...

Para a troca da base nitrogenada ser considerada uma variante, é necessário que ela esteja presente em, pelo menos, 1% da população estudada (69). Embora a maioria das variantes genéticas não tenha consequências biológicas, uma pequena parcela dessas substituições apresenta significado funcional e são capazes de contribuir para a diversidade encontrada entre os seres humanos (68). Isso ocorre porque os SNPs, na maior parte das vezes, estão localizados em espaços intergênicos, sem função determinada; entretanto, se estiverem presentes em regiões codificadoras ou com função regulatória no DNA, alteram a cadeia de aminoácidos e a sua respectiva proteína sintetizada (70). Assim, a posição e a frequência da variante são importantes, principalmente na susceptibilidade do indivíduo a doenças ou mesmo em relação à eficácia e reação a drogas (71).

Dessa maneira, quando a presença de alelos variantes está associada ao risco de uma doença, sugere-se fortemente que esse gene está implicado na fisiologia dessa condição. Logo, surge a possibilidade de farmacoterapias individualizadas para determinada alteração gênica, de forma a bloquear ou mimetizar a ação do gene (72). Além disso, ressalta-se que algumas variantes podem ter efeito apenas quando associadas a outros alelos de risco (24).

O GWAS (*Genome Wide Association Studies*, em inglês) ou Estudo de Associação Genômica Ampla é uma ferramenta usada para detectar associações entre variações presentes no DNA humano e uma determinada característica de interesse (fenótipo). Ele atua através da coleta de informações a partir de estudos genéticos realizados, com inserção dos resultados obtidos pelos pesquisadores em um banco de dados de associações. Assim, é possível inferir se há uma possível relação causal entre a frequência de variantes encontradas e indivíduos com determinada característica fenotípica de interesse (73,74).

As alterações genéticas descritas na DMRI também estão no GWAS. Diversas variantes estão sendo associadas à doença, com modificações descritas nos genes expressos nas células do EPR, da membrana de Bruch e da matriz extracelular, além de alterações em genes relacionados a proteínas do sistema imune (como o sistema complemento), do metabolismo lipídico, dentre outros (24).

As principais variantes associadas com a DMRI até o momento são o SNP rs1061170 (Y402H) presente no gene *CFH*, fator H da via do sistema complemento e o rs10490924, presente no gene *ARMS2*. Essas variantes aumentam o risco para o

desenvolvimento de DMRI, principalmente quando associadas (75,76). Além disso, a presença de neovascularização e a resistência a tratamentos antiangiogênicos, na presença dessas variantes, também é observada (54,77). Destaca-se que, segundo o GWAS, aproximadamente 50% da hereditariedade na DMRI pode estar associada à variante Y402H do gene *CFH* (78).

Outras variantes relatadas na DMRI estão presentes nos genes *C3*, *C4* e *C5*, *CFHR1/CFHR3*, *C2/CFB*, proteínas do sistema complemento, *VEGF* e *VEGFR-2*, relacionadas ao processo neovascular (34,54,74) e *ABCA1*, *APOE*, *CETP* e *LIPC*, ligados ao metabolismo lipídico (53,55,56). Ressalta-se que a variante presente no gene *HTRA-1*, cuja proteína atua na degradação de proteoglicanos da matriz extracelular, aumentou em 2,5 vezes o risco para DMRI na população brasileira (76).

Os denominados haplogrupos mitocondriais são combinações de variantes presentes no DNA mitocondrial (41). A mitocôndria é uma organela intracelular que possui seu próprio DNA, de herança exclusivamente materna. Desse modo, as diversas populações apresentam seu próprio DNA mitocondrial. Por exemplo, a população africana, a americana e a europeia possuem seus próprios DNAs mitocondriais e, respectivamente, suas próprias variantes ou haplogrupos. Assim, os indivíduos dessas comunidades apresentam, em suas mitocôndrias, propriedades bioenergéticas e respostas ao estresse oxidativo de maneira distinta entre eles. Como a mitocôndria é uma organela que costuma apresentar anormalidades estruturais em seu DNA em razão dos níveis elevados de produtos oxidativos, seus genes são amplamente pesquisados na DMRI (79,80).

1.3 A ativação inflamatória na DMRI

A degeneração macular é uma condição ocular caracterizada pela presença de um perfil inflamatório crônico de baixo grau (35). A inflamação, de maneira geral, é a primeira resposta aos agentes infecciosos, como bactérias, vírus e fungos, assim como aos componentes estéreis externos irritantes ao organismo. O processo inflamatório tem como objetivo proteger e manter a homeostase do tecido acometido, removendo a injúria causada pelo agente agressor (81). Na retina, as células inflamatórias são

compostas pela micróglia, de forma semelhante aos macrófagos teciduais e à micróglia do sistema nervoso central. Localizam-se próximas dos vasos sanguíneos, nas camadas internas da retina neural, e representam o sistema imune inato na retina (78). As células do EPR são as responsáveis pela regulação da resposta imune celular no tecido retiniano e a sua disfunção, como ocorre na DMRI, é possivelmente o principal motivador da estimulação da resposta inflamatória local (82).

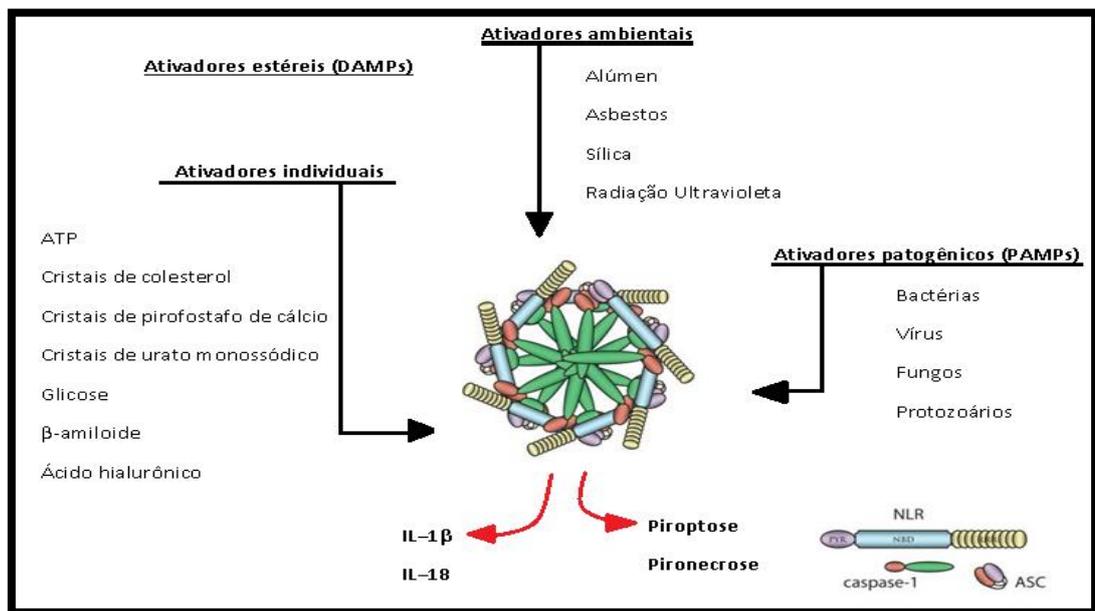
Há dois tipos principais de macrófagos no organismo: os M1 (classicamente ativados) e M2 (alternativamente ativados). Os macrófagos M1 são pró-inflamatórios, microbicidas e antitumorais. Os macrófagos M2 são anti-inflamatórios, pró-tumorais, imunoregulatórios e pró-angiogênicos. Em olhos com DMRI, é descrito um fenômeno de polarização celular, com uma marcante diferença da população de macrófagos presente em olhos saudáveis e nos olhos com a doença (27).

Os macrófagos M1 estimulam a resposta Th1 (células T auxiliares 1) com secreção de citocinas pró-inflamatórias como IL-1 β , IL-6, and TNF- α . Em contraste, macrófagos M2 relacionam-se à ação de células Th2 (células T auxiliares 2), responsáveis pelo reparo tecidual, com estímulo à fibrose e à neovascularização. Entretanto, devido à sua plasticidade, os macrófagos podem alterar o seu fenótipo a partir de mudanças em seu microambiente, como aumento de radicais livres ou por predisposições genéticas do indivíduo (83). Olhos de pacientes com atrofia geográfica, por exemplo, apresentam níveis elevados de macrófagos M1 em relação a olhos com DMRI exsudativa. Dessa maneira, o perfil da polarização dos macrófagos retinianos pode ter papel importante na patogênese da DMRI, sendo capaz de influenciar a progressão fenotípica doença (83).

Nas células do sistema imune inato, principalmente nos fagócitos mononucleares (que são as células da micróglia, os monócitos e os macrófagos), o reconhecimento de patógenos e toxinas é realizado através do Receptor de Reconhecimento de Padrões (PRR ou *Pattern Recognition Receptor*, em inglês). Os PRRs são responsáveis pela ativação celular, regulação do processo de apoptose, reparo do DNA, autofagia e angiogênese. Fazem parte dos PRRs os complexos multiproteicos conhecidos como inflamassomas, responsáveis, entre outras funções, pela ativação das citocinas pró-inflamatórias (27,81). Os inflamassomas são complexos multiproteicos intracelulares que atuam como plataformas moleculares e são constituídos por três proteínas: uma proteína central NLR (*nod-like receptor*, em

inglês), uma proteína adaptadora ASC (*apoptosis speck-like protein*, em inglês) e enzimas da família cisteína-aspartato proteases (caspases). A diferenciação na proteína central NLR dos inflamassomas é o que distingue seus diferentes tipos. Eles atuam em resposta a uma variedade de estímulos como os radicais livres, os denominados padrões moleculares associados a patógenos (PAMPs) e os padrões moleculares associados a danos (DAMPs), como mostrado na Figura 5 (84).

Figura 5 – Ativadores do inflamassoma NLRP3.



Legenda: Estímulos externos e internos capazes de ativar o inflamassoma e, conseqüentemente, o sistema imune inato.

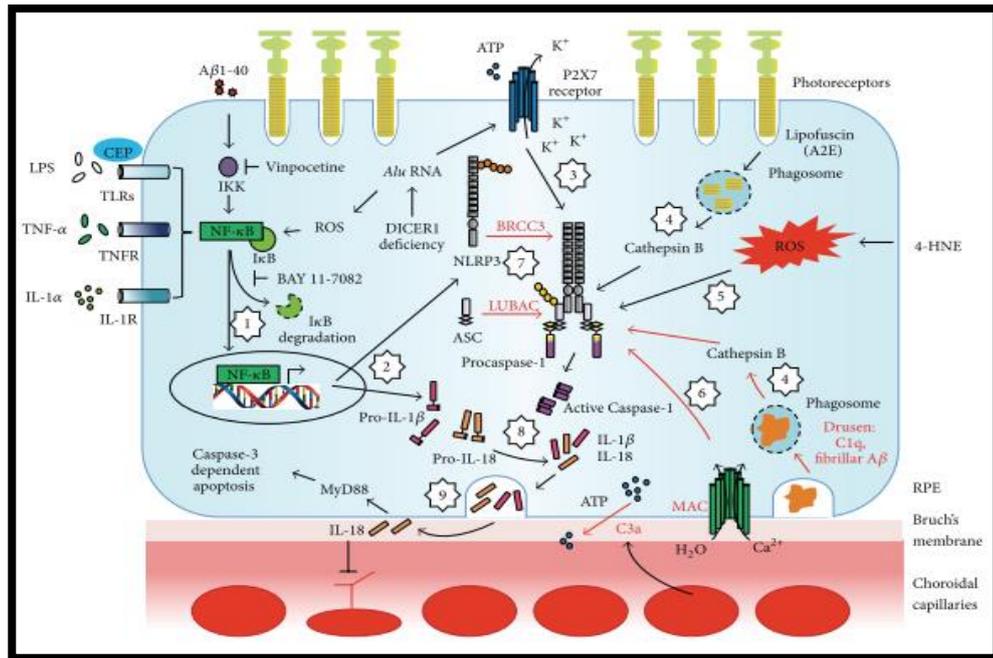
Fonte: Adaptado de Paiva-Oliveira, 2012 (85) e Davis, 2011 (86).

O NLRP3 é um dos inflamassomas mais estudados, sendo também conhecido como criopirina, NALP3 ou CIAS1 (84). A ativação de sua proteína NLR leva ao recrutamento da ASC para conversão da pró-caspase-1 em caspase-1, a qual realiza a clivagem e a ativação proteolítica das citocinas pró-IL-1 β e pró-IL-18 em suas formas ativas, IL-1 β e IL-18 (6,85).

A ativação do inflamassoma NLRP3 pode ocorrer de várias maneiras, incluindo a participação de receptores TLR (receptores do tipo Toll) ou de receptores de sinalização purinérgicos, esses últimos ativados por ATP (trifosfato de adenosina) extracelular em situações de morte celular (4). Geralmente, o estímulo ocorre através

do fator nuclear kappa B (NF- κ B), que causa a regulação positiva de NLRP3 e IL-1 β tanto nos macrófagos e células dendríticas, quanto nas células do EPR (11,87), conforme observado na Figura 6.

Figura 6 – Modelo de ativação do inflamassoma NLRP3.



Legenda: A reação número 8 mostra a ação da Caspase-1 na ativação do inflamassoma NLRP3 e secreção de IL-1 β e IL-18 pelas células do EPR.

Fonte: Gao J, 2015. (11)

Dessa forma, o inflamassoma NLRP3, que também está presente nas células do epitélio pigmentado da retina, foi associado pela primeira vez com a DMRI em 2012, através de quatro estudos independentes (6). A ativação do NLRP3 com aumento de IL-1 β foi observada a partir da exposição das células do EPR ao estresse oxidativo, a componentes drusenoides, como o A2E, principal fluoróforo da lipofuscin, à proteína β -amiloide (A β), além de proteínas do sistema complemento (5,11,88,89). O aumento dos níveis de RNA mensageiro de NLRP3, pró-IL-1 β e pró-IL-18 também foi observado em amostras retinianas contendo células do EPR e fotorreceptores de pacientes com DMRI (5).

A ativação do NLRP3 é considerada um sensor do estresse celular no EPR, já que ela ocorre em resposta ao aumento das espécies reativas de oxigênio, à disfunção mitocondrial, à ruptura lisossomal e aos processos relacionados à disfunção celular, como autofagia e apoptose (90,91). A sua ativação pode, inclusive, causar a própria morte celular pelo estímulo à apoptose, piroptose e necrose, fenômenos motivados principalmente pela IL-1 β (87,92).

Assim, os inflamassomas são descritos na fisiopatogenia de doenças inflamatórias, autoimunes e cânceres, sendo o NLRP3 referido em patologias como a doença de Alzheimer e aterosclerose (81). Além da DMRI, outras doenças oculares como glaucoma, retinopatia diabética, olho seco e infecções oculares também apresentam a ativação de inflamassomas (84).

As citocinas são proteínas solúveis, de baixo peso molecular, produzidas geralmente em resposta a um estímulo antigênico no organismo e atuam como mensageiras químicas para a atuação e regulação do sistema imune inato e adaptativo (93). São denominadas monocinas quando sintetizadas por fagócitos mononucleares e linfocinas quando produzidas por linfócitos. Historicamente, algumas citocinas foram denominadas interleucinas (IL) por serem produzidas por leucócitos e, apesar de estudos posteriores mostrarem que as interleucinas podem atuar e ser produzidas por outras células, a nomenclatura foi mantida por questões de padronização. Já as quimiocinas são as citocinas capazes de realizar a quimiotaxia de leucócitos e outras células inflamatórias (93).

Sobre a família de citocinas, a família IL-1 é a mais relacionada com a resposta do sistema imune inato, sendo constituída por citocinas pró e anti-inflamatórias essenciais na mediação da fase aguda da inflamação e na indução de respostas locais e sistêmicas (94). É composta por onze membros associados à cascata da inflamação e à resistência não-específica a infecções, assim como ao desenvolvimento da resposta imune a antígenos externos (92).

A família IL-1 é subdividida em três grupos: a subfamília IL-1, IL-18 e IL-36. A subfamília IL-1 é composta pela IL-1 α , IL-1 β (forma predominante) e seu antagonista natural, o IL-1 Ra (receptor antagonista da IL-1) (4). O gene *IL-1 β* possui 7 éxons e codifica a proteína precursora pró-IL-1 β com 35 kDa e 269 aminoácidos que, após clivagem pelo inflamassoma NLRP3, se torna IL-1 β ativa, com 17 kDa. Tanto a IL-1 α quanto a IL-1 β exercem sua atividade por ligação e sinalização através do seu

receptor de IL-1 tipo I (IL-1RI), que é expresso por quase todos os tipos de células. A IL-1 β é o membro da família IL-1 mais estudado em função de seu papel central nas doenças inflamatórias autoimunes (4,92,95).

A IL-1 é fortemente expressa por monócitos, macrófagos teciduais e células dendríticas, mas também é produzida por linfócitos B, células *natural killers* e células epiteliais (87). Já a IL-1 β é um dos primeiros mediadores inflamatórios a serem liberados pelo sistema imune inato, atuando inclusive na liberação de outras citocinas e moléculas mediadoras da cascata inflamatória. Além disso, realiza a expressão de moléculas de adesão e integrinas dos leucócitos e de células endoteliais para permitir a infiltração celular do sistema imune nos tecidos, causando o aumento da inflamação local e a obtenção do reparo tecidual (3). Os macrófagos e as células dendríticas não estão normalmente presentes na retina, mas sim no tecido coroidiano. Nas patologias em que há a quebra da barreira hematorretiniana, essas células são recrutadas da coroide ou da circulação sistêmica para a retina (78).

A ativação e secreção de IL-1 β é descrita em ambas as formas de DMRI, seca e neovascular. Tanto em amostras retinianas de pacientes que apresentavam DMRI, quanto em estudos *in vitro*, observa-se o incremento da expressão de IL-1 β pelas células do EPR, assim como o aumento dos níveis dessa citocina no humor aquoso e no humor vítreo (4). Ressalta-se que os estudos com células do EPR *in vitro* utilizam células ARPE-19, cultivadas por 3 a 4 meses até apresentarem morfologia e expressão de RNA (ácido ribonucleico) mensageiro para genes do ciclo visual, criando dessa forma um sistema modelo para estudo das células do epitélio pigmentado da retina (4,96).

Outras condições oculares como edema macular diabético, descolamento de retina, oclusão vascular, glaucoma, retinite pigmentosa, retinopatia diabética proliferativa e retinopatia da prematuridade também evidenciam aumento de IL-1 β (4). Além disso, produtos celulares derivados do declínio do processo de autofagia, como ocorre na DMRI, são acumulados nas células do EPR e relacionam-se à presença de macrófagos e secreção de IL-1 β por essas células (31). A IL-18 é uma citocina também ativada pelo inflamassoma NLRP3 e é descrita, assim como a IL-1 β , nos processos de neovascularização retinianos (4).

Destaca-se que algumas doenças autoinflamatórias sistêmicas, como as Síndromes Periódicas Associadas à Criopirina (CAPS, em inglês), originadas pela

exacerbação da produção de IL-1 β por defeito genético do inflamassoma NLRP3, apresentam também acometimento ocular, como conjuntivite (97).

Por fim, as variantes presentes nos genes das interleucinas são associadas também ao aumento do risco da DMRI, como a IL-8 +781 T>C, IL-4 -590, IL-17A rs2275913 G>A e IL-17 A rs3748067 C>T, dentre outras (98-101). As pesquisas que envolvem as variantes genéticas das citocinas na DMRI buscam colaborar com o entendimento do complexo perfil inflamatório presente na doença. Abaixo, no Quadro 2, estão descritos alguns genes associados com a DMRI, segundo GWAS, especificamente relacionados à via inflamatória.

Quadro 2 – Genes associados à DMRI envolvidos na via inflamatória.

Gene	Locus	Função
<i>IL-1</i>	2q14	Citocina
<i>IL-6</i>	7p15.3	Citocina
<i>IL-8</i>	4q12-q13	Quimiocina
<i>CCL3</i>	17q11.2-q12	Quimiocina
<i>CCL4</i>	17q11.2-q12	Quimiocina
<i>CCR3</i>	3p21.3	Receptor de quimiocina
<i>CFH</i>	1q31	Fator H do Complemento
<i>C2</i>	6p21.33	Componente 2 do Complemento
<i>CFB</i>	6p21.33	Fator B do Complemento
<i>C3</i>	19p13.3-p13.2	Componente 3 do Complemento
<i>C9</i>	5p13.1	Componente 9 do Complemento
<i>CF1</i>	4q25	Fator 1 do Complemento
<i>ARMS2</i>	10q26.16	Possível ativação de moléculas pró-inflamatórias
<i>NLRP3</i>	1q44	Inflamassoma

Fonte: Cascella, 2014 (81).

Uma variante genética encontrada no gene *IL-1 β* é a rs1143627 (ou também denominada -31G>A), caracterizada pela troca da base nitrogenada guanina (G) por uma base adenina (A) e presente na posição 2q14. A variante situa-se região promotora -31 do gene, sendo, portanto, potencialmente capaz de afetar a transcrição, expressividade e efeito funcional da molécula de interleucina sintetizada. Esse, portanto, é um estudo do gene candidato *IL-1 β* e a sua variante rs1143627

como possível fator de risco, a partir do perfil inflamatório presente na fisiopatogenia da DMRI.

Há poucos relatos de pesquisas com as variantes do gene da interleucina 1β e a doença. A variante rs1143627, a mesma do presente estudo, foi estudada por Shecvhenko et al na população russa (102), enquanto outra variante dessa citocina, a $IL-1\beta$ -511 (rs16944), foi estudada em Taiwan (99). Dessa maneira, o presente estudo analisa a frequência da variante genética rs1143627 do gene $IL-1\beta$ na população brasileira, com amostras sanguíneas coletadas de pacientes de três diferentes Estados, e espera contribuir para a compreensão da ação dessa variante gênica, assim do papel das citocinas na fisiopatologia da DMRI.

2 OBJETIVOS

– Avaliar a frequência da variante rs1143627 do gene *IL-1 β* e sua associação com o risco de desenvolvimento da degeneração macular relacionada à idade em uma amostra da população brasileira;

– Analisar o perfil epidemiológico e os fatores de risco presentes em pacientes com DMRI atendidos no ambulatório do setor de Retina de um Hospital Universitário do município do Rio de Janeiro.

3 METODOLOGIA

3.1 Tipos de estudo

3.1.1 Avaliação da variante rs1143627 no gene *IL-1 β*

Um estudo caso-controle foi realizado com 397 pacientes com DMRI e 402 indivíduos sem DMRI para a pesquisa da variante rs1143627 do gene *IL-1 β* , através de amostragem por conveniência.

A análise foi realizada com amostras de sangue periférico obtidas a partir do Departamento de Oftalmologia da Faculdade de Ciências Médicas (Hospital das Clínicas) da Universidade Estadual de Campinas (UNICAMP), em Campinas, São Paulo, e do Hospital Universitário Pedro Ernesto (HUPE) da Universidade do Rio de Janeiro (UERJ), na cidade do Rio de Janeiro. O material biológico foi armazenado no Centro de Biologia Molecular e Engenharia Genética (CBMEG) da UNICAMP.

A casuística foi alcançada da seguinte maneira:

- 334 amostras para o grupo caso obtidas pelo Departamento de Oftalmologia do Hospital das Clínicas da UNICAMP (amostras do Estado de São Paulo e Ceará);
- 63 amostras para o grupo caso coletadas no HUPE/UERJ;
- 402 amostras para o grupo controle obtidas pelo HC/UNICAMP.

3.1.2 Avaliação do perfil epidemiológico de pacientes com DMRI

Um segundo estudo, transversal, foi realizado com 60 pacientes portadores de DMRI, acompanhados no ambulatório de Retina do setor de Oftalmologia do HUPE (amostragem por conveniência). Esses pacientes forneceram a amostra sanguínea para a análise genética da variante rs1143627 e, concomitantemente, foram

submetidos a exames oftalmológicos e a um questionário em forma de entrevista (anexo A) para a identificação de seu perfil epidemiológico e principais fatores de risco relacionados à doença.

3.2 Critérios de inclusão

3.2.1 Critérios de inclusão – Grupo caso

- Indivíduos com 50 anos ou mais;
- Portadores de DMRI tanto na fase seca ou úmida;
- Ser capaz de aderir a todos os procedimentos do estudo;
- Fornecer o consentimento livre e esclarecido por escrito;
- Apresentar DMRI de acordo com o sistema CARMS.

3.2.2 Critérios de inclusão – Grupo controle

- Indivíduos com idade acima de 50 anos;
- Ausência de qualquer evidência de DMRI, como drusas ou alterações do epitélio pigmentado da retina.

3.3 Critérios de exclusão – Grupos Caso e Controle

- Presença de anormalidades oftalmológicas que impeçam a avaliação retiniana adequada, incluindo opacidade de meios significativa e dilatação pupilar insuficiente com inviabilidade da visibilização para fundoscopia e aquisição das imagens;
- Presença de patologias oculares como glaucoma avançado, glaucoma de ângulo estreito, oclusão vascular retiniana, membrana epirretiniana, alta miopia (equivalente

esférico maior do que -6 dioptrias), vasculopatia polipoidal de coroide, estrias angioides, doença coriorretiniana infecciosa e/ou inflamatória, trauma, doenças coriorretinianas hereditárias, inflamação intraocular ou infecção periocular, descolamento de retina prévio e outras condições com probabilidade de afetar significativamente a acuidade visual e o exame fundoscópico durante o período do estudo;

– Pacientes com história familiar de cegueira foram excluídos do grupo controle.

3.4 Aspectos éticos

Este estudo foi submetido à apreciação da Comissão de Ética do Hospital Universitário Pedro Ernesto e aprovado, sob o Protocolo de Pesquisa 2.531.431 (Anexo B). Os pacientes selecionados para o estudo receberam explicação completa, pormenorizada e em linguagem acessível sobre a natureza da pesquisa, seus objetivos, métodos e benefícios previstos, podendo ou não aceitar participar da mesma, sem constrangimento ou modificação em sua assistência médica. Não houve necessidade de mudança da rotina ou ônus para os pacientes.

Todos os pacientes receberam explicações sobre a pesquisa, bem como quanto a coleta e armazenamento do material biológico, firmando sua participação voluntária por meio de assinatura do Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (Apêndice A). Nas coletas de sangue, foi retirada quantidade de 5 ml não prejudicial à saúde do paciente. O material biológico coletado foi enviado e armazenado no CBMEG/UNICAMP e utilizado exclusivamente para a finalidade prevista nesta pesquisa. A identidade de todos os pacientes foi mantida em sigilo. Foram respeitados os princípios enunciados no Código de Ética Médica e na Declaração de Helsinque. Todos os sujeitos da pesquisa puderam retirar seu consentimento, em qualquer fase do estudo, sem penalização alguma e sem prejuízo ao seu atendimento médico.

3.5 Procedimentos

3.5.1 Genotipagem da variante rs1143627

A análise da variante genética rs1143627 do gene *IL-1 β* foi realizada no Laboratório de Genética Humana do CBMEG da UNICAMP. O DNA genômico foi extraído de amostras de sangue periférico pelo método de fenol-clorofórmio. A genotipagem das 799 amostras foi realizada por PCR (reação em cadeia da polimerase) em tempo real através de ensaios de discriminação alélica com sondas TaqMan® (Applied Biosystems, Foster City, CA), ID:C__1839944_10. Essa técnica utiliza sondas com fluoróforos específicos (VIC ou FAM) que discriminam os alelos por meio do monitoramento óptico da fluorescência emitida durante a reação de PCR através da ligação da sonda específica à fita recém-sintetizada de DNA.

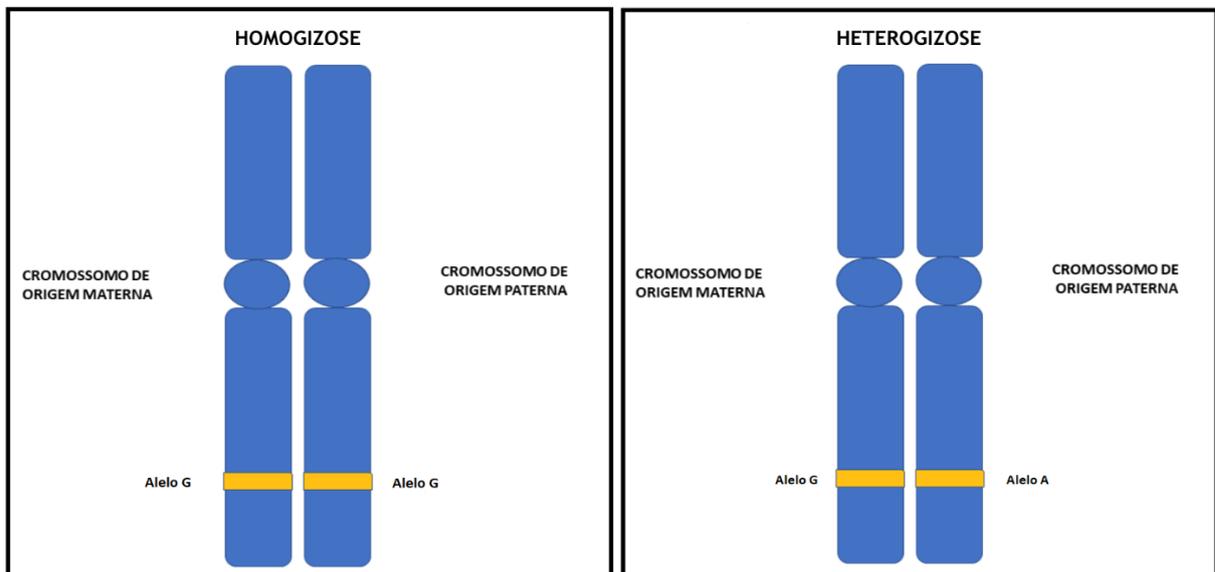
O volume final de reação consistiu em 5,0 μ l, sendo 2,5 μ l do reagente TaqMan Genotyping Master Mix 2X (Life Technologies, Carlsbad, CA, EUA) (que contém todos os reagentes necessários para a PCR, tais como dNTP's, MgCl₂, tampão e AmpliTaq gold), 1,0 μ l de amostra de DNA (contendo 50 ng/ μ L) e 1,5 μ l do mix das sondas (5X). As reações foram preparadas em placas de 96 poços seladas com adesivo óptico.

As reações de PCR foram conduzidas no equipamento ABI 7500 Real-Time PCR System® (Applied Biosystems, Foster City, CA). O protocolo de amplificação ocorreu da seguinte forma: ativação da polimerase a 95°C por 10 min, seguida de 40 ciclos de desnaturação a 95°C por 15 segundos e anelamento e extensão a 60°C por 1 minuto. As reações foram interpretadas no programa StepOne® V2.3 software (Applied Biosystems, Foster City, CA) através de gráficos de fluorescência versus o número de ciclos. Uma vez que o sequenciamento direto é o padrão-ouro para a genotipagem, após o ensaio com sondas TaqMan®, 10% das amostras foram submetidas ao sequenciamento direto para confirmação. Foi realizado o método de Sanger com o BigDye Terminator Cycle Sequencing Kit v3.1VR (Applied Biosystems Inc., Foster City, CA) e a eletroforese realizada no equipamento ABI Prism 3130 DNA Analyzer (Applied Biosystems, Foster City, CA). Os *primers* utilizados para o PCR e/ou sequenciamento foram sense 5'-TAG GAG AGC TGG AGC AGA GG -3' e antisense

5'- TTG CTA CTC CTT GCC CTT CC -3'. As sequências provenientes do sequenciador foram analisadas com o programa FinchTV 1.5.0 (Geospiza, Seattle, WA).

Como a variante rs1143627 é caracterizada pela troca da base nitrogenada guanina (G) por uma base adenina (A), a presença do alelo A significa que ocorreu a variação no gene. Logo, quando a variante não ocorre, encontramos o alelo G, a base nitrogenada original do DNA que é denominada como “selvagem”. Os seres humanos são seres diploides e apresentam dois cromossomos de cada par em seu cariótipo, um de origem materna e outro de origem paterna. Dessa forma, se o indivíduo apresentar o alelo G (selvagem) nos seus dois cromossomos, dizemos que ele é homocigoto GG, assim como será homocigoto AA se houver a presença apenas do alelo variante. Por fim, se ele apresentar apenas um alelo variante A ele será heterocigoto GA, como observado na Figura 7.

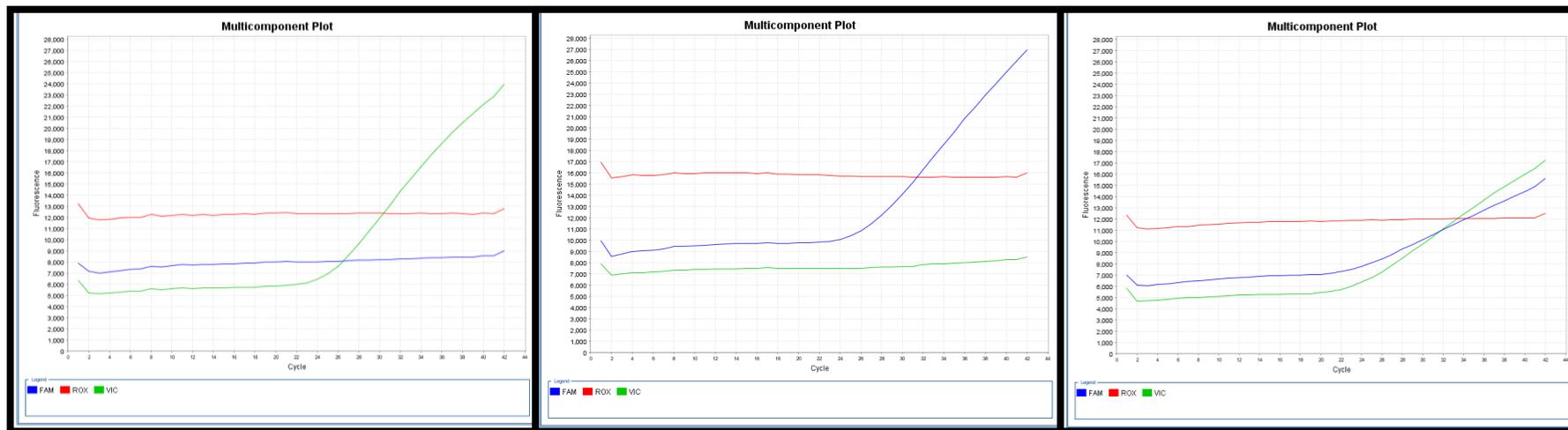
Figura 7 – Diferença entre homocigose e heterocigose.



Dessa maneira, a Figura 8 apresenta a genotipagem por sondas TaqMan® em três pacientes diferentes. Nesse método, são utilizadas duas sondas (ou *primers*) com a sequência do fragmento alvo de DNA (como descrito anteriormente) onde encontra-se a alteração genética que se deseja estudar. Cada uma das duas sonda é específica

para a presença de um alelo, ou para o selvagem G ou para o alelo variante A. A sonda marcada com o fluoróforo VIC se ligará à sequência de DNA que contém o alelo selvagem G e sua fluorescência é representada pela linha verde no gráfico. Já a sonda que contém o fluoróforo FAM se liga na fita de DNA que apresenta o alelo variante A e é representada pela linha azul. Dessa forma, se o indivíduo for homocigótico GG ocorrerá a fluorescência apenas da sonda VIC (verde), como o primeiro quadro da esquerda; se o indivíduo for homocigótico AA, apenas a fluorescência do fluoróforo FAM (azul) será observada, como no quadro ao centro, e, por fim, se o indivíduo for heterocigoto GA o aumento das duas fluorescências será detectada no gráfico, como no quadro à direita.

Figura 8 – Resultados da genotipagem da variante rs1143627 através de sondas TaqMan®.



Legenda: Resultado da genotipagem de três indivíduos com genótipos distintos. O primeiro, à esquerda, apresenta genótipo homozigoto GG com amplificação detectada somente para o fluoróforo VIC (linha verde); ao centro, o indivíduo é homozigoto AA e possui amplificação somente do fluoróforo FAM (linha azul); e à direita, o genótipo encontrado é de uma pessoa heterozigota GA com amplificação detectada para ambos os fluoróforos, VIC e FAM (linhas verde e azul com elevação simultaneamente no gráfico).

3.5.2 Avaliação do perfil epidemiológico dos pacientes com DMRI

Nesse estudo, 60 pacientes portadores de DMRI do departamento de Oftalmologia do Hospital Universitário Pedro Ernesto foram examinados e entrevistados.

A DMRI foi classificada de acordo com o sistema CARMS, a partir da observação fundoscópica e retinográfica. Os estágios 2 e 3 do CARMS foram classificados como “DMRI inicial” e os estágios 4 e 5 como “DMRI avançada”. Pacientes com atrofia geográfica em um olho e neovascularização no outro foram classificados como portadores de DMRI neovascular (estágio 5).

O olho com a classificação CARMS mais avançada de cada paciente foi considerada para análise estatística. Nas situações em que o CARMS foi semelhante em ambos os olhos, considerou-se como o pior olho aquele que apresentava a pior acuidade visual; e quando a visão era a mesma em ambos os olhos, adotou-se por convenção a seleção do olho direito.

Os cálculos de análise da progressão da doença para as variáveis “facectomia prévia”, “paquimetria ocular” e “erros refrativos” foram realizados considerando os dois olhos.

Na classificação quanto ao tipo de DMRI, o estudo dividiu o grupo nos portadores de DMRI seca e DMRI neovascular.

A acuidade visual foi convertida para a escala logMAR (103) e os erros refrativos foram considerados no estudo quando maiores ou iguais a 1 Dioptria. Para a definição de baixa visual, foi considerada como deficiência visual moderada a acuidade visual pior que 20/60, porém igual ou melhor a 20/200, com a melhor correção visual disponível. A deficiência visual grave foi definida como acuidade visual pior que 20/200, porém melhor que 20/400, ou campo visual menor que 20°. Já a cegueira foi definida como acuidade visual pior que 20/400 ou campo visual menor que 10° (10,104).

Os pacientes foram submetidos ao exame oftalmológico com avaliação da acuidade visual com e sem correção óptica e, após a dilatação pupilar com colírios de tropicamida a 1% e fenilefrina a 10%, foram realizados os seguintes exames oftalmológicos: biomicroscopia, tonometria e fundoscopia na lâmpada de fenda com

lente positiva de 90 Dioptrias, retinografia e autofluorescência (Topcon TRC-50DX Retinal Camera®, Topcon Corporation, Tokyo, Japão), paquimetria óptica (Tomey EM-3000®, Tomey Corporation, Aichi, Japão) e tomografia de coerência óptica (Spectralis® Spectral Domain OCT, Heidelberg Engineering, Heidelberg, Germany).

3.5.2.1 Questionário

Após a execução dos exames oftalmológicos, os pacientes responderam a uma entrevista realizada com um questionário estruturado, de tradução não validada, utilizado nas pesquisas em DMRI pela especialista Dra. Johanna M. Seddon (66,105) e reproduzido pelo CBMEG/UNICAMP (anexo A).

Os dados que serão apresentados nesse trabalho foram categorizados e divididos da seguinte forma:

- a) Gênero: Masculino e feminino;
- b) Etnia (autodeclarada): Dividida para análises em três categorias (“branca”, “parda” e “preta”) ou em duas categorias (“branca” e “parda/preta”).
- c) Carga tabágica: Calculada em maços-ano, ou seja, o número de cigarros fumados por dia dividido por 20 e o resultado multiplicado pelos anos de tabagismo;
- d) Tabagismo: não/sim (dividido para análises em três categorias (“Não-tabagista”, “Tabagista ativo” e “Ex-tabagista”) ou em duas categorias (“Não-tabagista” e “Tabagista”));

A classificação de “Tabagista ativo” envolve aqueles que tenham fumado pelo menos 1 cigarro por dia por 6 meses ou mais, enquanto a classificação de “Ex-tabagista” caracteriza aqueles que tenham parado de fumar há mais de 6 meses. Na divisão binária, a classificação “Tabagista” envolve os tabagistas ativos e os ex-tabagistas.

e) Índice de massa corporal (IMC): A divisão pelo IMC foi baseada de acordo com as Diretrizes Brasileiras de Obesidade e a OMS (106) que classificam em “Eutrofia” o IMC entre 18,5 – 24,9 kg/m², “Sobrepeso” o IMC entre 25,0 – 29,9 kg/m², “Obesidade grau I” o IMC entre 30 – 34,9 kg/m² e “Obesidade grau II” o IMC entre 38

– 39,9 kg/m². Para algumas análises, o grupo foi dividido nas três categorias “Eutróficos”, “Sobrepeso” e “Obesidade”, esse último grupo envolvendo todos os IMCs ≥ 30 kg/m²) ou nas duas categorias “Eutrofia” e “Sobrepeso + obesidade”, sendo classificados neste último grupo quando IMC ≥ 25 kg/m²;

f) Exposição solar: não/sim (definida como a exposição intensa ao sol, em média por 20 anos da vida);

g) Alimentação: não/sim (definida pela ingestão de verduras e frutas pelo menos três dias da semana);

h) Hipertensão arterial sistêmica: não/sim (definida pela pressão sanguínea sistólica ≥ 140 mmHg, diastólica ≥ 90 mmHg ou uso de medicações anti-hipertensivas);

i) Diabetes mellitus – não/ sim (definido pelo uso de medicamentos orais ou insulinoterapia);

j) Cor da íris: Classificada como clara (azul/verde) ou escura (castanho claro ou castanho escuro) a partir da observação em lâmpada de fenda;

k) Facectomia prévia: não/sim;

l) Atividade física: não/ sim (prática de exercício físico, pelo menos duas vezes na semana);

m) Uso de vitaminas antioxidantes: não/sim (definido pelo uso de vitaminas antioxidantes por três anos, no mínimo);

n) Níveis séricos, em jejum, de colesterol total, HDL colesterol, LDL colesterol e triglicerídeos;

o) Nível de escolaridade: Classificado em três categorias – “Ensino fundamental” (incompleto ou completo), “Ensino médio” (incompleto ou completo), “Ensino superior” (incompleto ou completo);

p) Tratamento prévio e quantidade realizada: não/sim (laserterapia, antiangiogênico, triancinolona, outros).

As variáveis foram ajustadas pela idade, sexo e tabagismo (divididos em tabagistas, mesmo que já tivessem interrompido o hábito de fumar, e não tabagistas).

3.6 Análise estatística

Os dados foram analisados usando a plataforma de computação estatística R (Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria) através da interface integrada de desenvolvimento RStudio e do pacote R Commander (107–109).

3.6.1 Da variante rs1143627 do gene *IL-1 β*

Para a comparação das frequências alélicas e genóticas entre os grupos caso e controle foi utilizado o teste exato de Fisher para determinação do *odds ratio* (OR), intervalo de confiança (IC) e *p*-valor (*p*). A regressão logística foi realizada para o ajuste dos dados entre idade e gênero.

O teste de equilíbrio de Hardy-Weinberg foi utilizado para a análise da distribuição dos genótipos no grupos caso e controle (110).

Um valor de *p* menor ou igual a 0,05 foi considerado estatisticamente significativo.

3.6.2 Do perfil epidemiológico

Os testes *t* de Student e Mann-Whitney foram utilizados para a análise da diferença entre grupos independentes com variáveis numéricas contínuas, com distribuição normal e sem distribuição normal, respectivamente. O teste de normalidade utilizado foi Shapiro-Wilk. A média, mediana, desvio-padrão e intervalo quartil também foram calculados nesses grupos.

O modelo de regressão logística foi empregado na análise e ajuste dos dados categóricos, enquanto o modelo de regressão linear, para a avaliação da acuidade visual em logMAR.

Consideramos o intervalo de confiança de 95% em todas as análises.

Todas as variáveis foram ajustadas pela idade e tabagismo e, como referido anteriormente, considerou-se o pior olho de cada paciente para a análise, com exceção da avaliação da cirurgia prévia de facectomia, em que os 120 olhos foram considerados.

4 RESULTADOS

4.1 A análise da variante rs1143627 da IL-1 β

A variante foi pesquisada em 397 pacientes com DMRI e 402 indivíduos sem a doença. A média de idade encontrada no grupo caso foi $73,53 \pm 9,00$ anos e no grupo controle, $67,23 \pm 9,53$ anos (p -valor = $2,2 \times 10^{-6}$), o que corrobora o incremento da idade como o principal fator de risco não-modificável da DMRI.

A maioria dos indivíduos no grupo caso apresentou DMRI em estágios avançados, principalmente na forma exsudativa (Tabela 1). Além disso, a doença foi mais prevalente entre as mulheres, que apresentaram risco 28% maior de desenvolver DMRI em relação aos homens (OR= 1,28, $p = 0,09$).

Tabela 1 – Características demográficas dos pacientes com DMRI e grupo controle.

Grupo de estudo (n)	Idade (média \pm DP) (anos)	Faixa etária (anos)	Feminino n (%)	Masculino n (%)	NA
Grupo controle (402)	67,24 \pm 9,53	50 – 89	204 (51,1)	195 (48,9)	3
Grupo caso DMRI (397)	73,53 \pm 9,00 *	50 – 103	225 (57,3)	168 (42,7)	4
DMRI não-avançada (121)	71,21 \pm 9,40	50 – 103	81 (68,1)	38 (31,9)	2
DMRI avançada (276)	74,58 \pm 8,63	53 – 93	144 (52,6)	130 (47,4)	2
DMRI seca (167)	72,67 \pm 9,55	50 – 103	97 (59,1)	67 (40,9)	3
DMRI exsudativa (230)	74,14 \pm 8,56	53 – 93	128 (55,9)	101 (44,1)	1

Legenda: (n) Número de participantes. (DP) Desvio-padrão. (NA) Não avaliado.

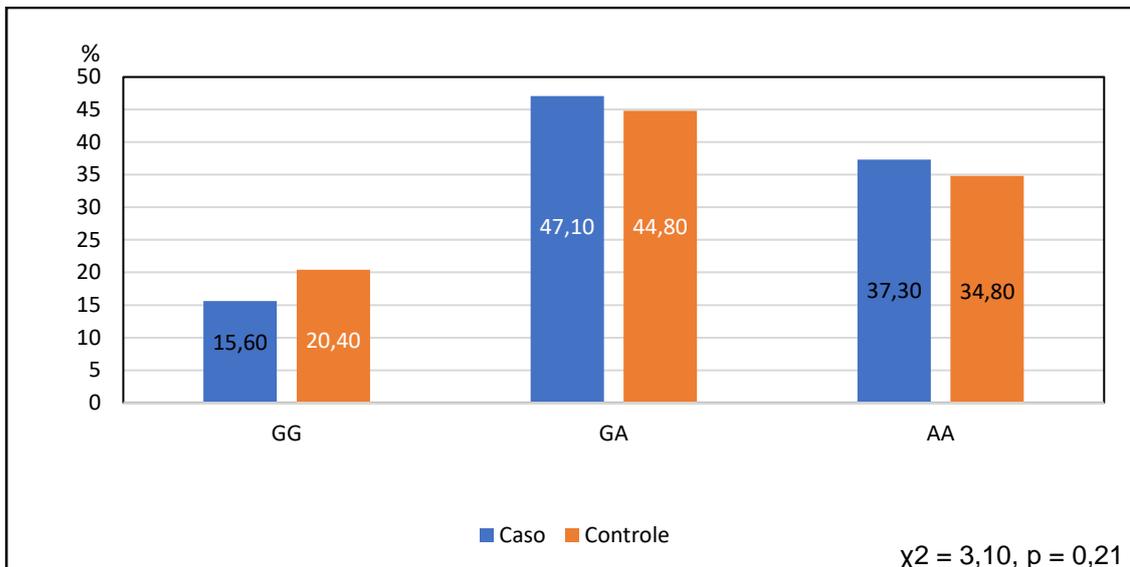
* Média de idade apresenta p -valor = $2,2 \times 10^{-6}$ na comparação entre os grupos caso e controle (Teste de Mann-Whitney).

No Gráfico 1 encontra-se a distribuição dos genótipos entre os grupos do estudo. Dentre os pacientes com DMRI, observa-se que 335 indivíduos (84,40%)

apresentaram pelo menos uma cópia do alelo variante A, pois 187 pacientes (47,10%) eram heterozigotos GA e 148 pacientes (37,30%) eram homozigotos AA. Houve 62 pacientes (15,60%) homozigotos GG no grupo caso.

Já no grupo controle, 320 indivíduos (79,6%) apresentaram ao menos uma cópia do alelo variante, com 180 pessoas (44,8%) heterozigotas GA e 140 (34,8%) homozigotas AA, sendo 82 pessoas (20,4%) homozigotas GG. Pode-se observar no gráfico que não houve diferença entre os três genótipos e os grupos do estudo (p -valor= 0,21). A distribuição dos genótipos da variante rs1143627 foi consistente com o equilíbrio de Hardy-Weinberg em ambos os grupos.

Gráfico 1 – Proporção dos genótipos da variante rs1143627 entre os grupos caso e controle.



Legenda: A comparação dos três genótipos entre os grupos caso e controle apresenta $p = 0,21$ (Teste qui-quadrado de Pearson).

Na Tabela 2, observa-se que a frequência do alelo A, isoladamente, foi de 60,8% no grupo caso e 57,2% no grupo controle (OR= 1,16, $p = 0,15$). Em relação aos genótipos, o risco para DMRI foi de 1,37 ($p = 0,12$) para os pacientes com heterozigose GA e 1,40 ($p = 0,13$) para aqueles com homozigose AA, em relação ao grupo homozigótico GG. Além disso, houve uma tendência para o aumento do risco de DMRI em 38% na presença de uma ou duas cópias do alelo variante, ou seja, para os genótipos GA+AA (OR = 1,38, $p = 0,08$).

Tabela 2 – Distribuição, *odds ratio* e frequência genotípica e alélica da variante rs1143627 do gene *IL-1 β* .

Genótipo	Casos (%)	Controles (%)	OR (IC 95%)	p – valor
GG	62 (15,6)	82 (20,4)	Referência	1
GA	187 (47,1)	180 (44,8)	1,37 (0,91 – 2,07)	0,12
AA	148 (37,3)	140 (34,8)	1,40 (0,92 – 2,14)	0,13
Total	397 (100)	402 (100)		
GA + AA	335 (84,4)	320 (79,6)	1,38 (0,95 – 2,03)	0,08
Frequência alélica				
G	311 (39,2)	344 (42,8)	Referência	1
A	483 (60,8)	460 (57,2)	1,16 (0,95 – 1,42)	0,15
Total	794 (100)	804 (100)		

Legenda: (OR) *Odds ratio*. (IC) Intervalo de confiança.

A estratificação por gênero revelou ainda que a frequência do alelo variante A foi maior entre as mulheres com DMRI, associando-se significativamente ao aumento do risco para a doença nesse gênero (OR= 1,46, $p = 0,004$), como observado na Tabela 3.

Tabela 3 – Distribuição da frequência do alelo variante A entre os gêneros nos grupos Caso e Controle.

Gênero	Casos (%)	Controles (%)	OR (IC 95%)	p – valor
Feminino	277 (55,6 %)	201 (46,1%)	1,46 (1,12 – 1,91)	0,004
Masculino	221 (44,4%)	235 (53,9%)		
Total	498 (100%)	436 (100%)		

Legenda: (OR) *Odds ratio*. (IC) Intervalo de confiança.

Após a realização do ajuste dos resultados genotípicos por idade e sexo, observou-se que os genótipos AA e GA apresentaram, ambos, OR de 1,37 para o

desfecho de apresentar DMRI, sem, entretanto, haver significância estatística ($p = 0,18$ e $0,16$, respectivamente). O sexo feminino apresentou OR de $1,49$ e p -valor de $0,01$, ou seja, a chance do gênero feminino ter DMRI foi 49% maior do que no gênero masculino. Em relação à idade, para cada incremento da idade em 1 ano, a chance do indivíduo ter DMRI aumentou em 7% (p -valor $< 0,01$) no grupo estudado.

O grupo caso apresentou 167 (42%) pacientes com DMRI seca, com 46 (27,5%) portadores de atrofia geográfica. Já a DMRI neovascular esteve presente em 230 (58%) pacientes. Evidenciou-se uma tendência de aumento da chance em 23% para a DMRI neovascular do alelo A em relação ao alelo G (OR = $1,23$, $p = 0,08$) (Tabela 4).

Após a análise com a amostra estratificada em DMRI inicial ou avançada, foi observada uma tendência ao aumento da chance para as formas avançadas da doença nos pacientes com os genótipos GA e AA (OR = $1,47$, $p = 0,07$) (Tabela 5). Esses resultados sugerem, portanto, que a presença do alelo variante pode influenciar a susceptibilidade à progressão da doença, principalmente para a forma neovascular.

Tabela 4 – Distribuição genotípica, *odds ratio* e frequência alélica da variante rs1143627 entre os controles e os subtipos de DMRI.

	Controles		DMRI seca		DMRI exsudativa			Atrofia geográfica		
	n (%)	n (%)	OR (95% IC)	<i>p</i>	n (%)	OR (95% IC)	<i>p</i>	n (%)	OR (95% IC)	<i>p</i>
Genótipo										
GG	82 (20,4)	29 (17,4)	Referência	1	33 (14,3)	Referência	1	8 (17,4)	Referência	1
GA	180 (44,8)	79 (47,3)	1,24 (0,74 – 2,13)	0,45	108 (47)	1,49 (0,91 – 2,47)	0,11	26 (56,5)	1,47 (0,61–3,94)	0,43
AA	140 (34,8)	59 (35,3)	1,19 (0,69 – 2,09)	0,60	89 (38,7)	1,57 (0,95 – 2,65)	0,07	12 (26,1)	0,88 (0,31– 2,59)	0,81
Total	402 (100)	167 (100)			230 (100)			46 (100)		
GA+AA	320 (79,6)	138 (82,6)	1,22 (0,75 – 2,02)	0,48	197 (85,7)	1,25 (0,70 – 2,24)	0,48	38 (82,6)	1,21 (0,53– 3,14)	0,70
Frequência alélica										
G	344 (42,8)	137 (41)	Referência	1	174 (37,8)	Referência	1	42(45,6)	Referência	1
A	460 (57,2)	197 (59)	1,07 (0,82 – 1,40)	0,60	286 (62,2)	1,23 (0,96 – 1,56)	0,08	50 (54,4)	0,89 (0,56–1,41)	0,65
Total	804 (100)	334 (100)			460 (100)			92 (100)		

Legenda: (n) Número de participantes. (OR) *Odds ratio*. (IC) Intervalo de confiança. (*p*) *p*-valor.

Tabela 5 – Avaliação do risco de progressão da DMRI na presença da variante rs1143627.

	Controles		DMRI inicial		DMRI avançada (atrofia geográfica + membrana neovascular)		
	n (%)	n (%)	OR (IC)	p	n (%)	OR (IC)	p
Genótipo							
GG	82 (20,4)	21 (17,4)	Referência	1	41 (14,9)	Referência	1
GA	180 (44,8)	53 (43,8)	1,15 (0,63 – 2,14)	0,67	134(48,5)	1,48 (0,94 – 2,37)	0,08
AA	140 (34,8)	47 (38,8)	1,31 (0,71 – 2,47)	0,38	101(36,6)	1,44 (0,89 – 2,34)	0,14
Total	402 (100)	121 (100)			276 (100)		
GA + AA	320 (79,6)	100 (82,6)	1,22 (0,70 – 2,18)	0,51	235 (85,2)	1,47 (0,96 – 2,27)	0,07
Frequência alélica							
G	344 (42,8)	95 (39,3)	Referência	1	216 (39,1)	Referência	1
A	460 (57,2)	147 (60,7)	1,16 (0,85 – 1,57)	0,33	336 (60,9)	1,16 (0,93 – 1,46)	0,19
Total	804 (100)	242 (100)			552 (100)		

Legenda: (n) Número de participantes. (OR) Odds ratio. (IC) Intervalo de confiança. (p) p-valor.

4.2 A análise do perfil epidemiológico

A pesquisa epidemiológica foi composta por 60 participantes com DMRI, 48 mulheres e 12 homens, com idade média de $73,0 \pm 9,6$ anos. O sexo feminino apresentou média de idade menor que a do sexo masculino ($72,1 \pm 9,6$ e $76,5 \pm 9,2$, respectivamente, $p = 0,05$). Entre as 48 mulheres do estudo, 29 apresentavam a forma avançada da DMRI em pelo menos um olho e entre os 12 homens, 11 manifestavam essa condição.

Em relação à idade, a prevalência de DMRI avançada nos pacientes acima de 70 anos foi de 78,79%. Ressalta-se que, entre os indivíduos com idade entre 50 e 59 anos, nenhum apresentou a forma avançada da doença. Já no grupo de pacientes acima de 80 anos, 84,21% apresentaram DMRI avançada.

Quanto ao tipo de DMRI, 26 pacientes eram portadores de DMRI seca (43,33%) e 34 pacientes, DMRI exsudativa (56,67%) em pelo menos um olho. A forma avançada da doença foi observada em 40 pacientes (66,66%). Três pacientes apresentavam DMRI neovascular em um olho e atrofia geográfica no olho contralateral.

Na avaliação da distribuição da variante rs1143627 entre os participantes, não foi observada diferença estatisticamente significativa, tanto entre os pacientes com DMRI inicial em relação àqueles com DMRI avançada, assim como dentre os que apresentavam DMRI exsudativa em relação àqueles com DMRI seca (Tabelas 6 e 7).

Tabela 6 – Proporção da distribuição da variante rs1143627 em relação ao estágio da DMRI.

Genótipo	DMRI inicial (%)	DMRI avançada (%)
AA	4 (20)	15 (37,5)
GA	11 (55)	16 (40,0)
GG	5 (25)	9 (22,5)
Total	20 (100)	40 (100)

Tabela 7 – Proporção da distribuição da variante rs1143627 em relação ao tipo de DMRI.

Genótipo	DMRI seca (%)	DMRI exsudativa (%)
AA	5 (19,2)	14 (41,2)
GA	14 (53,8)	13 (38,2)
GG	7 (26,9)	7 (20,6)
Total	26 (100)	34 (100)

Considerando os dois olhos, a prevalência de DMRI seca foi de 63,33% e DMRI exsudativa, 36,67%. Ademais, 51,67% dos olhos apresentaram as fases iniciais da doença e 48,33%, as fases avançadas. A forma atrófica esteve presente em 24,1% dos olhos com DMRI avançada e a forma neovascular em 75,9%. Dentre os olhos com DMRI exsudativa, a cicatriz disciforme esteve presente em 63,6% e a neovascularização de coroide em 36,4%, sendo 62,5% composta por membrana neovascular do tipo 1 e 37,5% por membrana neovascular do tipo 2.

Em relação à distribuição dos erros refrativos (considerados acima de 1D), dos 76 olhos fáticos analisados da amostra 59,21% eram hipermetropes, sendo 44,44% associados ao astigmatismo. No que se refere à miopia, 17,10% dos olhos fáticos eram míopes, com 76,92% associados ao astigmatismo. O astigmatismo isoladamente esteve presente em 23,68% dos olhos. No total, 10 olhos (8,85%) possuíam menos de 1 Dioptria refracional, sendo 4 deles pseudofáticos. Não foram registrados os erros refrativos de 7 olhos (5,83%), devido à baixa visual severa que dificultou a avaliação.

Dos 120 olhos estudados, 30% apresentaram acuidade visual compatível com cegueira e 2,5 %, com perda da acuidade visual grave. A cegueira binocular esteve presente em 10% dos pacientes e a cegueira monocular em 40% deles. A neovascularização de coroide foi responsável por 80,5% dos casos de cegueira pela DMRI.

Em relação ao tabagismo, 9 pacientes (15%) eram tabagistas ativos, 16 (26,7%) eram ex-tabagistas e 35 (58,3%) eram não-tabagistas.

A amostra foi composta por 34 pacientes de etnia branca (56,67%), 19 pacientes de etnia parda (31,67%) e 7 pacientes de etnia preta (11,67%).

A média de IMC do grupo foi $27,24 \text{ kg/m}^2 \pm 4,23 \text{ kg/m}^2$, valor classificado como sobrepeso, segundo a OMS (106). A média de IMC para o sexo feminino foi $27,18 \text{ kg/m}^2$ e para o sexo masculino $27,45 \text{ kg/m}^2$. Além disso, 31,67% dos pacientes eram eutróficos, 46,67% estavam com sobrepeso e 21,67% eram obesos.

A hipertensão arterial estava presente em 70% dos participantes, acometendo 83,3% dos homens e 66,7% das mulheres, enquanto a frequência de diabetes foi de 22%, atingindo 16,7 % dos homens e 22,9% das mulheres.

Na amostra, 28 indivíduos apresentaram ascendência estrangeira (até a terceira geração) e dentre esses, seis possuíam ascendência indígena. Três pacientes eram de nacionalidade portuguesa e um paciente era italiano. Apenas um paciente apontou história familiar positiva, relatando que sua mãe era portadora de DMRI.

Três mulheres e um homem tinham história prévia de câncer de pele, com três deles manifestando DMRI avançada (um com DMRI neovascular e dois com atrofia geográfica) e um, DMRI inicial (estágio CARMS 2C). Quatro pacientes eram etilistas prévios e todos apresentavam DMRI avançada, três com DMRI neovascular e um com atrofia geográfica.

Apenas 33% dos participantes realizavam atividade física pelo menos duas vezes na semana. A média paquimétrica encontrada, considerando os dois olhos de cada paciente, foi de $521 \pm 46 \mu\text{m}$. A média paquimétrica nos olhos fáticos foi $520 \pm 49 \mu\text{m}$ e nos pseudofáticos, $523 \pm 38 \mu\text{m}$.

Até o momento da entrevista, o tratamento com anti-VEGF intravítreo foi realizado, pelo menos uma vez, por 14 pacientes portadores de DMRI exsudativa (41,18%) e, desses, 11 (78,57%) já apresentavam cicatriz disciforme ou grande desorganização das camadas retinianas externas e internas, com baixa acuidade visual permanente. Apenas dois pacientes ainda tinham indicação de tratamento no momento da avaliação, com possível benefício de novas aplicações de tratamento com anti-VEGF.

Na análise da progressão da DMRI (Tabela 8), ou seja, na comparação entre os pacientes com as fases inicial e avançada, a idade e o tabagismo foram os fatores de risco mais associados. Não houve diferença entre os sexos.

A média de idade no grupo com DMRI avançada foi de, aproximadamente, 75 anos e no grupo com DMRI inicial foi 68 anos ($p= 0,01$). A chance para a forma avançada da doença foi 16% maior para cada aumento da idade em anos ($p = 0,001$).

Em relação ao tabagismo, a chance para DMRI avançada foi 13 vezes maior nos pacientes tabagistas (em atividade e ex-tabagistas) em relação aos não-tabagistas ($p = 0,002$). Além disso, a média da carga tabágica nos pacientes com DMRI inicial foi, aproximadamente, 5 maços-ano e naqueles com DMRI avançada, 12 maços-ano ($p= 0,03$).

Após a divisão pelo status do hábito do tabagismo, os pacientes tabagistas em atividade tiveram 9 vezes mais chance para a DMRI avançada ($p = 0,03$) enquanto ex-tabagistas apresentaram 18 vezes mais chance ($p = 0,004$) (Tabela 8). A média da carga tabágica nos pacientes tabagistas em atividade e com DMRI avançada foi de 31 maços-ano, já nos ex-tabagistas foi de 18 maços-ano.

Quando realizada a análise pelo fenótipo da DMRI, a média da carga tabágica nos pacientes com atrofia geográfica foi de 2 maços-ano, naqueles com DMRI neovascular foi de 14 maços-ano e nos com DMRI inicial foi de 8 maços-ano, com diferença significativa entre as médias ($p = 0,02$). A média de tempo de interrupção do tabagismo no grupo foi de 30 anos e dos 16 pacientes ex-tabagistas da amostra, 11 (68,7%) apresentaram DMRI exsudativa em pelo menos um olho.

Apesar da amostra ter sido composta pela maioria de indivíduos de etnia branca, não houve associação estatística em relação à progressão da doença (OR = 2,02, $p = 0,31$). Outros fatores que também se apresentaram como de risco para a progressão da DMRI foram a não realização de atividade física (OR = 1,14) e a baixa escolaridade (OR = 3,23 para aqueles com ensino médio e OR = 4,87 para aqueles com ensino fundamental), porém sem alcançar significância estatística. A maioria dos participantes possuía um baixo nível educacional, com 51,67% apresentando o ensino fundamental completo, 35% o ensino médio e 13,33% o ensino superior completo.

Em relação ao IMC, o grupo com a doença na fase inicial apresentou média de IMC maior do que média daqueles com a doença avançada ($28,05 \pm 4,58 \text{ kg/m}^2$ e $26,36 \pm 3,65 \text{ kg/m}^2$, respectivamente). Após ajuste dos dados, não foi observada diferença entre os dois grupos (eutróficos e aqueles com IMC acima da eutrofia) e após a subdivisão entre três grupos (eutróficos, sobrepeso e obesidade).

Também não houve diferença na comparação entre a DMRI avançada e a facectomia prévia ($p = 0,31$). A proporção de olhos acometidos foi de 46,9% dentre os 32 olhos pseudofácicos e 48,9% dentre os 88 olhos fácicos.

Dentre os pacientes que referiram a ingestão de verduras e frutas pelo menos três vezes na semana, 68,6% apresentavam DMRI avançada.

As médias paquimétricas entre os olhos com doença inicial e avançada foram $523,9 \pm 42,6 \mu\text{m}$ e $518,7 \pm 49,7 \mu\text{m}$, respectivamente ($p = 0,59$).

As médias séricas para o HDL colesterol, LDL colesterol, colesterol total e triglicerídeos foram respectivamente 58,77 mg/dl, 129,27 mg/dl, 212,67 mg/dl e 131,87 mg/dl para as formas iniciais e 54,71 mg/dl, 116,12 mg/dl, 197,03 mg/dl, 127,55 mg/dl para as formas tardias, não sendo observadas diferenças significativas entre os resultados encontrados entre os dois grupos.

Em relação ao tipo de DMRI (seca ou neovascular), a idade e o tabagismo também foram as variáveis mais associadas com o aumento da chance para o desenvolvimento da neovascularização (Tabela 9).

A média de idade foi maior no grupo com DMRI neovascular (76 anos) em relação ao grupo com DMRI seca (69 anos), com $p = 0,01$. Após o ajuste pela idade e tabagismo, a chance de DMRI exsudativa foi 14% maior para cada aumento da idade em anos ($p = 0,002$).

Não houve diferença entre os gêneros para a forma seca ou neovascular da DMRI ($p = 0,11$).

Os pacientes tabagistas (em atividade e ex-tabagistas) apresentaram chance 7 vezes maior para a DMRI exsudativa em relação aos pacientes não-tabagistas ($p = 0,006$). Além disso, a média da carga tabágica entre o grupo com DMRI seca foi menor que a do grupo com DMRI exsudativa (4,36 maços-ano e 13,4 maços-ano, respectivamente, $p = 0,02$). Os pacientes tabagistas em atividade apresentaram chance 11 vezes maior de evoluir com DMRI neovascular em relação aos pacientes não tabagistas ($p = 0,02$), enquanto os pacientes ex-tabagistas apresentaram chance 5 vezes maior da forma exsudativa da doença ($p = 0,03$).

Não foi observada diferença entre as etnias, apesar da etnia branca se revelar como fator de risco (OR = 1,09), assim como a não realização de atividade física e a baixa escolaridade.

Os valores médios de IMC para DMRI seca e DMRI exsudativa foram $27,85 \pm 4,75$ kg/m² e $26,77 \pm 3,82$ kg/m², respectivamente ($p = 0,347$).

A prevalência da DMRI neovascular foi de 34,40% entre os olhos pseudofácicos e 37,50% entre os olhos fáxicos, sem diferença significativa após ajuste dos dados.

Dos pacientes que realizavam uma alimentação adequada com verduras e frutas pelo menos três vezes na semana, 40% apresentavam DMRI seca e 60%, DMRI exsudativa.

A média paquimétrica foi $523 \pm 40,1$ μ m nos olhos com DMRI seca e $518,6 \pm 55,2$ μ m nos olhos com DMRI neovascular ($p = 0,92$).

As médias séricas para o HDL colesterol, LDL colesterol, colesterol total e triglicerídeos foram respectivamente 53,73 mg/dl, 120,67 mg/dl, 119,16 mg/dl e 133,93 mg/dl para a DMRI seca e 59,28 mg/dl, 205,45 mg/dl, 197,03 mg/dl, 120,90 mg/dl para a DMRI exsudativa, não sendo observadas diferenças entre os resultados encontrados.

Em relação à acuidade visual, considerando o pior olho de cada paciente, foi possível observar a piora da média da acuidade visual em 0,18 logMAR para cada aumento da idade em anos ($p = 0,001$).

A presença de tabagismo (ativo ou pregresso) foi associado à piora da média da acuidade visual em 3,72 logMAR ($p = 0,002$) em relação aos não tabagistas. Após subdivisão dos pacientes em tabagistas ativos ou ex-tabagistas, a piora da média da acuidade visual foi maior nos pacientes ex-tabagistas (3,71 logMAR, $p = 0,002$), em relação aos pacientes tabagistas atuais (3,30 logMAR, $p = 0,07$).

Considerando os dois olhos de cada paciente, a piora média da acuidade visual foi de 0,20 logMAR para cada aumento da idade em anos ($p = 0,001$). A presença de tabagismo (ativo ou pregresso) foi relacionado à piora média da acuidade visual (4,03 logMAR, $p = 0,006$) e, contrariamente de quando considerada a acuidade visual do pior olho, a piora da acuidade visual foi maior nos pacientes tabagistas (3,51 logMAR, $p = 0,03$), em relação à acuidade visual de pacientes ex-tabagistas (2,46 logMAR, $p = 0,02$).

Não houve diferença entre os gêneros e etnias em relação à piora da acuidade visual.

Em relação ao IMC, a maioria dos participantes estava acima dos valores normais, sendo 31,67% dos pacientes eutróficos, 46,67% com sobrepeso e 21,67%

com obesidade. Não houve diferença entre o IMC na comparação entre os tipos de DMRI. Quando considerado o pior olho, pacientes com IMC com sobrepeso e obesidade apresentaram média da acuidade visual melhor (1,78 logMAR) em relação aos pacientes eutróficos ($p = 0,04$). Quando analisados os dois olhos, a melhora observada foi de 1,98 logMAR, com $p = 0,05$. Vale ressaltar que a maioria dos participantes estava com IMC acima da eutrofia. Na amostra, 19 pacientes eram eutróficos, com 14 deles (73,68%) manifestando DMRI avançada em pelo menos um olho, enquanto dos 41 pacientes com sobrepeso e obesidade, 26 (63,41%) apresentavam a fase avançada da doença. Assim, na avaliação da média de acuidade visual, o grupo com eutrofia apresentou piores resultados.

Foram excluídos do estudo 25 pacientes por apresentarem, em pelo menos um dos olhos, condições que poderiam interferir na acuidade visual e exame oftalmológico. Dentre eles, sete pacientes se apresentaram com membrana epirretiniana macular, sete com glaucoma, dois com acidente vascular encefálico prévio e acometimento do nervo óptico, dois com retinopatia diabética, quatro com catarata avançada, dois com oclusão venosa retiniana, um com distrofia de Fuchs, um com trauma ocular prévio, um com descolamento de retina, dois com vasculopatia polipoidal de coroide e um paciente apresentava uveíte após facectomia.

Tabela 8 – Avaliação dos dados demográficos e o risco para DMRI avançada.

Variável		DMRI inicial (n)	DMRI avançada (n)	Odds ratio	p-valor
		N total = 20	N total = 40		
Gênero	Masculino	1	11	Referência	
	Feminino	19	29	0,52	0,58
Tabagismo	Não tabagista	16	19	Referência	
	Tabagista ativo	2	7	9,45	0,03
	Ex-tabagista	2	14	17,98	0,004
Etnia	Parda/preta	12	14	Referência	
	Branca	8	26	2,02	0,31
IMC	Eutrofia	5	14	Referência	
	Sobrepeso + obesidade	15	26	0,62	0,53
Exposição solar	Não	13	22	Referência	
	Sim	7	18	0,88	0,86
Ingesta de frutas e verduras	Sim	11	24	Referência	
	Não	9	16	0,58	0,43
Hipertensão arterial	Não	9	9	Referência	
	Sim	11	31	0,79	0,76
Diabetes Mellitus	Não	15	32	Referência	
	Sim	5	8	0,74	0,71
Cor da íris	Escura	18	37	Referência	
	Clara	2	3	0,91	0,93
Facectomia prévia*	Não (n = 88)	45	43	Referência	
	Sim (n = 32)	17	15	0,42	0,31
Atividade física	Sim	8	12	Referência	
	Não	12	28	1,14	0,85
Uso de vitaminas antioxidantes	Sim	3	7	Referência	
	Não	17	33	0,94	0,94
Escolaridade	Ensino superior	5	3	Referência	
	Ensino médio	8	23	3,23	0,26
	Ensino fundamental	7	14	4,87	0,11

Legenda: Dados ajustados por idade e tabagismo.

* Considerando os dois olhos.

Tabela 9 – Avaliação dos dados demográficos e o risco para DMRI neovascular.

Variável		DMRI seca (n)	DMRI neovascular (n)	Odds Ratio	p-valor
		N total = 26	N total = 34		
Gênero	Masculino	5	7	Referência	
	Feminino	21	27	3,62	0,11
Tabagismo	Não tabagista	19	16	Referência	
	Tabagista ativo	2	7	10,75	0,02
	Ex-tabagista	5	11	5,45	0,03
Etnia	Parda/preta	13	13	Referência	
	Branca	13	21	1,09	0,89
IMC	Eutrofia	7	12	Referência	
	Sobrepeso + obesidade	19	22	0,69	0,57
Exposição solar	Não	16	19	Referência	
	Sim	10	15	0,81	0,73
Ingesta de frutas e verduras	Sim	14	21	Referência	
	Não	12	13	0,54	0,33
Hipertensão arterial	Não	9	9	Referência	
	Sim	17	25	0,41	0,24
Diabetes Mellitus	Não	20	27	Referência	
	Sim	6	7	0,94	0,92
Cor da íris	Escura	23	32	Referência	
	Clara	3	2	0,56	0,57
Facectomia prévia*	Não (n = 88)	55	33	Referência	
	Sim (n = 32)	21	11	0,40	0,23
Atividade física	Sim	10	10	Referência	
	Não	16	24	1,05	0,90
Uso de vitaminas antioxidantes	Sim	4	6	Referência	
	Não	22	28	0,90	0,47
Escolaridade	Ensino superior	6	2	Referência	
	Ensino médio	9	12	3,44	0,22
	Ensino fundamental	11	20	4,77	0,11

Legenda: Dados ajustados por idade e tabagismo.

* Considerando os dois olhos.

5 DISCUSSÃO

5.1 A Interleucina 1 β e a DMRI

Na pesquisa foi possível observar que a presença da variante rs1143627 do gene *IL-1 β* apresentou uma tendência ao risco de progressão da DMRI, principalmente para a forma neovascular. A frequência encontrada da variante na amostra, composta por 799 indivíduos representativos da população brasileira, foi de 60,83%, valor próximo ao da frequência média encontrada na população europeia, de 65% (111). O povo brasileiro é caracteristicamente heterogêneo e miscigenado, principalmente por suas três raízes históricas coloniais: europeia, africana e ameríndia. Estudos genéticos mostraram uma proporção de ancestralidade europeia de aproximadamente 70% nas regiões do sudeste e sul do Brasil, 50% de ancestralidade africana no nordeste brasileiro, seguido de 6 a 8% de ancestralidade ameríndia em diferentes regiões do país (112,113), o que poderia justificar a frequência da variante na amostra estudada ser mais próxima da média europeia de 65% do que da média africana de 37% (111). A variante rs1143627, portanto, deve ser pesquisada em diversos grupos populacionais nas diferentes regiões brasileiras, a fim de se obter uma avaliação mais abrangente de sua prevalência em uma população que, caracteristicamente, apresenta ascendências diversas e alta miscigenação.

A partir da prevalência da variante encontrada no grupo brasileiro estudado, foi possível calcular que o tamanho amostral, para uma detecção de diferença com poder de 80% ao nível de significância de 0,05, teria que ser composto por 3.000 indivíduos em cada grupo (caso e controle). Assim, pode-se inferir que o efeito desse SNP é baixo na população estudada, o que explica a necessidade de um tamanho amostral maior para a identificação de uma diferença significativa entre os dois grupos. No entanto, alguns resultados encontrados no presente trabalho estiveram próximos de alcançar o nível de significância estatística (p -valor $\leq 0,05$), o que sugere que pesquisas com um número maior de participantes podem alcançar resultados significativos e, assim, ajudar a entender se a presença da variante é capaz de influenciar a doença nessa população.

Além disso, ressalta-se a importância da análise conjunta das variantes genéticas quando presentes simultaneamente em um mesmo indivíduo, de forma a caracterizar o seu perfil genético. Doenças com fisiopatologias complexas, como a DMRI, podem ser diretamente influenciadas pela interação conjunta de diferentes variantes gênicas.

Destaca-se que o número de estudos com a variante rs1143627 e a DMRI é escasso na literatura. A variante rs1143627 foi pesquisada por Shevchenko et al na população russa (102), enquanto outra variante, a IL-1 β -511 (rs16944) foi estudada em Taiwan (99). Shevchenko et al (2016) estudaram sete variantes de citocinas localizadas em regiões promotoras gênicas. O estudo envolveu 102 participantes com DMRI e 100 participantes no grupo controle, não encontrando, entretanto, resultados significativos para a variante rs1143627 do gene *IL-1 β* (102). Já Tsai et al (2008) investigaram quatorze variantes de interleucinas em pacientes com DMRI, porém a variante pesquisada para o gene *IL- β* foi a -511 T/C (rs16944) e não foram encontrados resultados significativos em sua amostra (99).

A IL-1 β é uma citocina responsável pela ativação e regulação do sistema imune inato com papel mediador central nas doenças inflamatórias, infecciosas e autoimunes (6,94). Apesar da variante rs1143627 não ter apresentado significância estatística entre os grupos caso e controle no presente estudo, o aumento dos níveis de IL-1 β é descrito nos processos inflamatórios retinianos causados pela degeneração macular (4).

A pesquisa do perfil das citocinas inflamatórias como biomarcadores da DMRI é realizada a partir da quantificação de suas concentrações *in vitro*, a nível sérico e em fluidos oculares, como o humor aquoso e o humor vítreo (55,114,115). Aumentos significativos na concentração plasmática das citocinas IL-1 β e IL-18 são encontrados, inclusive, em pacientes homocigóticos para a variante Y402H do CFH, sendo possível que ocorra a ativação sistêmica ou contínua de inflamassomas, nos pacientes portadores, a partir da disfunção da regulação inflamatória (26).

Processos patológicos celulares relacionados com o aumento das espécies reativas de oxigênio são descritos com envolvimento da IL-1 β . Natoli et al (2017) relataram o aumento da expressão gênica e da secreção de IL-1 β pelas células do EPR e células de Müller em resposta ao dano fotooxidativo e, após inibição dessa citocina, houve redução dos níveis de outras citocinas pró-inflamatórias, diminuição

no acúmulo de macrófagos retinianos e de morte celular (116). Outro estudo revelou que a salicina, um anti-inflamatório natural, reduziu a ação da IL-1 β e causou a atenuação da injúria mitocondrial nas células do endotélio retiniano, com diminuição da produção de espécies reativas de oxigênio e de citocinas como TNF- α , IL-6 e MCP-1 (proteína quimiotática de monócitos-1) (117). Dessa forma, por ser uma citocina moduladora da ação do sistema imune e responsável pela síntese de outras citocinas, a IL-1 β apresenta-se como uma resposta primária frente às injúrias celulares, como o aumento do estresse oxidativo, e a sua regulação negativa pode ser capaz de atenuar a progressão de ativação da cascata inflamatória na retina.

A participação do sistema imune inato, principalmente de macrófagos, é bem observada e discutida na DMRI. Além do acúmulo retiniano de produtos derivados do declínio do processo de autofagia ser associado ao aumento da secreção de IL-1 β e ao acúmulo de macrófagos em células ARPE-19 (31), fagócitos mononucleares subretinianos foram associados com a secreção aumentada de IL-1 β e a degeneração de segmentos de cones retinianos, a partir de amostras retinianas humanas de olhos doadores (118). Além disso, a polarização dos macrófagos M1 e M2 parece contribuir ou ser um preditor para progressão e diferenciação das fases avançadas da doença (78,83).

Em amostras vítreas, o aumento de IL-1 β e pró-IL-1 β é descrito em pacientes com DMRI neovascular e vasculopatia polipoidal da coroide (VPC), mesmo sem o aumento concomitante de seu nível sérico, o que sugere um papel dessa citocina no mecanismo inflamatório local retiniano (82). Entretanto, Subhi et al (2019) identificaram biomarcadores séricos inflamatórios em pacientes com DMRI neovascular e VPC e encontraram concentrações maiores de IL-1 β nos pacientes com DMRI e levemente acima nos pacientes com VPC (119). Para análise desses possíveis biomarcadores, 16 citocinas inflamatórias foram também estudadas por Nassar et al (2015) e os níveis séricos de IL-1 β encontrados foram maiores nos pacientes com DMRI neovascular, assim como de outras interleucinas, em relação ao grupo controle (3).

Além disso, a IL-1 β é, inclusive, associada com o processo de angiogênese em outros órgãos do organismo, como os rins, e em tumores, como os de pulmão, através do estímulo para a produção de VEGF (6). Na retina, macrófagos, IL-1 β e TNF- α foram observados em membranas neovasculares de coroide, sendo

relacionados, em parte, ao processo de neovascularização (120). Lavelette et al (2011) também relatam que a inibição da IL-1 β reduziu significativamente o desenvolvimento da neovascularização induzida na retina de camundongos com laser (121). O entendimento da atuação dos diferentes tipos de macrófagos e da produção das citocinas pró-inflamatórias na DMRI pode ser um caminho para a elucidação da formação e progressão das membranas neovasculares de coroide, assim como do processo de fibrose na cicatriz disciforme.

Apesar dos achados, o mecanismo exato da ação da IL-1 β na retina é incerto e os resultados ainda são controversos na literatura (4). Ressalta-se a importância da IL-1 β como uma proteína mediadora e reguladora da síntese de outras citocinas, algumas também relacionadas com a DMRI. A IL-6, IL-8 e MCP-1 são citocinas capazes de serem produzidas pelo EPR a partir da indução de IL-1 β (122). A IL-6 atua na diferenciação dos linfócitos B e no controle da proliferação e ativação das células T e é associada ao processo de angiogênese e degeneração do EPR na DMRI avançada (78). Nahavandipour et al (2020), em revisão sistemática dos níveis séricos de IL-6 em pacientes com DMRI, revelaram aumento dessa citocina nos pacientes com a doença, principalmente nas formas avançadas (123). A IL-8 é uma quimiocina recrutadora de neutrófilos, primeiras células recrutadas no sítio de inflamação, usualmente produzida por macrófagos e células epiteliais, e relacionada ao processo de angiogênese (100,122); enquanto a MCP-1 é uma quimiocina recrutadora e ativadora de monócitos e basófilos, produzida por células endoteliais da microvasculatura retiniana associada à DMRI exsudativa, membrana neovascular subfoveal e edema macular (122,124). Dessa maneira, a IL-1 β pode estar envolvida indiretamente nas lesões causadas pela DMRI, através da produção de outras citocinas, como as associadas ao processo angiogênico, por exemplo. Por isso, a pesquisa da desregulação de IL-1 β , tanto por defeitos genéticos, quanto pela disfunção de sua molécula ativadora, o inflamassoma NLRP3, é útil para o entendimento da avaliação e síntese dessas outras citocinas descritas na degeneração macular.

Na Oftalmologia, a variante rs1143627 foi relacionada ao aumento do risco de ceratocone na população coreana (OR= 1,43, $p = 0,025$), chinesa (OR= 2,84, $p < 0,0001$), egípcia (OR= 3,31, $p < 0,001$) e japonesa (OR= 1,38, $p = 0,04$) (125–128).

A variante também foi associada ao glaucoma de ângulo aberto em um estudo brasileiro, com aumento do risco de aproximadamente 1,5 vezes ($p = 0,002$) (129).

Além da Oftalmologia, a variante rs1143627 tem sido associada a diversas doenças, com causas inflamatórias, autoimunes e tumorais (Quadro 3). O aumento dos níveis de IL-1 β na presença da variante rs1143627 é associada ao aumento do risco da doença dispéptica crônica, assim como do câncer colorretal e doença inflamatória intestinal. No Quadro 3, encontra-se uma breve revisão da literatura com as publicações mais relevantes encontradas a partir do termo de busca “rs1143627” no banco de dados Pubmed. Alguns trabalhos estudam a relação da presença do SNP como fator de risco para uma doença, enquanto outros pesquisam a associação da presença da variante e os níveis séricos da IL-1 β no organismo.

Quadro 3 – Revisão da literatura da variante rs1143627 do gene *IL-1 β* e o risco para o desenvolvimento de doenças.

Autor	Doença pesquisada	País	Resultado
Santos, 2020 (130)	Cardiomiopatia por doença de Chagas	Brasil	Redução do risco
Priya, 2020 (131)	Atrite reumatoide	Índia	Aumento do risco
Liu, 2020 (132)	Doença inflamatória intestinal	Metanálise*	Aumento do risco
Zhu, 2020 (133)	Doença de Graves	Metanálise*	Sem associação
Rech, 2020 (134)	Doença dispéptica e lesões gástricas pré-cancerígenas	Brasil	Aumento do risco de gastrite crônica
Lyubomirskaya, 2020 (135)	Rotura prematura de membranas em pré-termos	Ucrânia	Sem associação
Wadé, 2020 (136)	Linfoma não-Hodking e associação com mononucleose infecciosa	Multicêntrico (10 países)	Redução do risco
Bialek, 2020 (137)	Depressão	Polônia	Menor risco, em conjunto com outros SNPs
Fu, 2019 (138)	Doença de Kawasaki	China	Aumento do risco em crianças <1ano
Nabil, 2019 (127)	Ceratocone	Egito	Aumento do risco
Goraçy, 2019 (139)	AVE isquêmico	Polônia	Aumento do risco
Wang, 2019 (140)	Câncer cervical	China	Aumento do risco
Tabatabaei-Panah, 2019 (141)	Penfigoide bolhoso	Irã	Sem associação
Majumder, 2019 (142)	Periodontite crônica	Índia	Aumento do risco

Yu, 2019 (143)	Osteonecrose induzida por corticosteroides	China	Sem associação
Ahmadi, 2019 (144)	DPOC	Revisão sistemática*	Sem associação
Cubillos-Ângulo, 2019 (145)	Tuberculose	Brasil	Sem associação
Oliveira, 2018 (129)	Glaucoma de ângulo aberto	Brasil	Aumento do risco
Sultana, 2018 (146)	Câncer gástrico	Índia + metanálise (asiática)	Aumento do risco na presença de <i>H. pylori</i>
Yu, 2018 (147)	Convulsão febril	Revisão sistemática	Sem associação
Pawlikowska, 2018 (148)	Telangiectasia hemorrágica hereditária	EUA, Canadá Países Baixos	Sem associação
Tak, 2018 (149)	Carcinoma hepatocelular	Coréia do Sul	Redução do risco
Hudson, 2018 (150)	Esquizofrenia	Revisão sistemática	Aumento do risco
Pérez-Ramírez, 2017 (151)	Câncer de pulmão não pequenas células	Espanha	Sem associação
Chen, 2017 (152)	Capsulite adesiva do ombro	China	Aumento do risco
Zhang, 2017 (153)	Doença de Alzheimer	China	Sem associação
Rahmani, 2017 (154)	Perda gestacional recorrente	Irã	Sem associação
Li, 2017 (155)	Doença inflamatória intestinal e câncer colorretal	China	Aumento do risco
Sun, 2017 (156)	Gastrite crônica	China	Aumento do risco
Kapelski, 2016 (157)	Esquizofrenia	Polônia	Sem associação
Langmia, 2016 (158)	Parto prematuro espontâneo	Malásia	Sem associação
Nascimento, 2016 (159)	Adipocinas em adolescentes com obesidade	Portugal	Redução do risco
Franciscatto, 2016 (160)	Malformação arteriovenosa cerebral	Brasil	Sem associação
Yencilek, 2015 (161)	Câncer de próstata	Turquia	Genótipo AG com risco menor de câncer de próstata
Wang, 2015 (126)	Ceratocone	China	Aumento do risco
Tian, 2015 (162)	Doença de Alzheimer	China	Sem associação
Dzhugashvili, 2014 (163)	Resposta do tratamento de câncer retal com quimiorradioterapia	Espanha	Sem associação
Wang, 2014 (164)	Pré-eclâmpsia	China	Aumento do risco
Xu, 2014 (165)	Câncer de próstata	Revisão Sistemática	Aumento do risco

Legenda: (DCA) Doença coronariana aguda. (AVE) Acidente vascular encefálico. (DPOC) Doença pulmonar obstrutiva crônica. (EUA) Estados Unidos da América.

* Metanálise e revisão sistemática = Diversos estudos utilizados a partir de diferentes populações.

Por fim, destaca-se que variantes presentes nos genes de outras interleucinas são associadas à DMRI em diversos estudos, como a IL-8 +781 T>C que aumentou em duas vezes o risco para a DMRI exsudativa na população taiwanesa (99) e em 1,4 vezes em indivíduos italianos (100). Já a variante IL-4 -590 apresentou aumento do risco para incidência de DMRI em aproximadamente três vezes nos taiwaneses (101) e as variantes da IL-17A rs2275913 G>A e rs3748067 C>T em aproximadamente duas vezes na população chinesa (98). Assim, a descoberta das variações genéticas presentes em genes associados ao sistema inflamatório nos oferece uma possível ideia do caminho ao entendimento da patogênese da DMRI. Os resultados encontrados nesse trabalho sugerem que os estudos com a variante rs1143627, entre as outras variantes do gene *IL-1β*, continuem sendo realizados em associação com a degeneração macular relacionada à idade.

Do mesmo modo que as variantes dos genes *CFH* e *AMRS2* estabeleceram-se como importantes fatores de risco para a DMRI, as variantes nos genes das citocinas inflamatórias são um caminho para a investigação de novos biomarcadores. Atualmente, o pegcetacoplan, molécula inibidora do C3, componente central do sistema complemento, é um promissor medicamento para o tratamento da atrofia geográfica (166) e corrobora o fato de que a compreensão do perfil inflamatório é um caminho promissor na terapêutica e manejo da DMRI.

5.2 Os fatores de risco e a DMRI

A análise do perfil epidemiológico é uma ferramenta capaz de auxiliar no entendimento dos fatores de risco para uma doença que variam de acordo com as condições ambientais e culturais de diferentes regiões demográficas. Assim, uma pesquisa epidemiológica foi realizada com 60 pacientes portadores de DMRI em um hospital universitário na cidade do Rio de Janeiro. Nesse estudo, foi possível observar a influência e a importância da exposição ao tabagismo e do aumento da idade na progressão da degeneração macular.

Na análise do fenótipo da doença, a prevalência encontrada de olhos com DMRI seca foi 63,33% e com DMRI exsudativa, 36,67%. Como discutido

anteriormente, a prevalência da forma seca é de aproximadamente 90% dos casos de DMRI (40) e a frequência maior encontrada da forma exsudativa pode ser justificada pelo hospital ser um centro de referência para o tratamento intravítreo com anti-VEGF.

A forma atrófica esteve presente em 24,1% dos olhos com DMRI avançada e a forma úmida em 75,9%, frequência levemente maior do que a estimada de 2/3 de acometimento neovascular nas formas avançadas da doença (43). Além disso, a cicatriz disciforme foi observada em 63,64% nos olhos com DMRI exsudativa do estudo. Em um outro hospital universitário, em São Paulo, a prevalência de DMRI exsudativa encontrada nos olhos estudados foi a metade da presente em nosso trabalho, porém os aspectos cicatriciais da neovascularização apresentaram frequência semelhante, o que demonstra a incapacidade do diagnóstico e tratamentos precoces para prevenção da perda visual irreversível no sistema público de saúde no Brasil, mesmo em grandes capitais (167).

Um levantamento realizado no ambulatório de Oftalmologia da Universidade Federal do Paraná estudou 68 pacientes com DMRI e a média de idade encontrada foi a mesma, 73 anos. A prevalência de pacientes com DMRI exsudativa no Paraná foi de 50%, enquanto a frequência encontrada no grupo do Rio de Janeiro foi de 56,67%. Não foram observadas diferenças entre etnia, tabagismo e IMC, em relação à forma exsudativa e não-exsudativa da doença, sendo, entretanto, o tabagismo um elemento discordante entre os dois estudos (168).

Em avaliações epidemiológicas realizadas na cidade de Pernambuco, 23 a 30% olhos apresentaram DMRI e foi observada a associação com o gênero feminino, pseudofacia e aumento do IMC, fatores que não foram relacionados no presente estudo. Da mesma maneira, não foi encontrada relação com a etnia, HAS, DM, alcoolismo, exposição solar e cor da íris, assim como na amostra do Rio de Janeiro. Ambos os trabalhos apresentaram prevalência aumentada de hipermetropia em pacientes com DMRI. O tabagismo não foi associado nos pacientes pernambucanos, enquanto apresentou forte correlação na presente amostra (14).

Em Londrina, Paraná, uma avaliação de 483 imigrantes japoneses e descendentes revelou a prevalência de DMRI de 15,1%, sendo a doença mais frequente conforme o aumento da idade. A prevalência da DMRI não foi relacionada com facectomia prévia, tabagismo, aumento do IMC, história de HAS e DM (16).

Do mesmo modo que a análise realizada no Rio de Janeiro, a idade foi o fator de risco mais associado à DMRI nos outros grupos brasileiros. Já o tabagismo, que foi altamente significativo no presente estudo, não apresentou associação nas outras avaliações brasileiras, o que pode ser justificado pelo tamanho amostral, ajuste dos dados ou por questões culturais de cada região.

A seguir, realiza-se uma breve discussão dos resultados encontrados dos principais fatores epidemiológicos que foram pesquisados.

a) **Idade**

O aumento da idade é o principal e mais importante fator de risco não modificável para a DMRI (9,43), como observado no presente estudo, em que a prevalência encontrada da forma avançada da doença nos pacientes acima de 70 anos foi de 78,79%, enquanto que nenhum paciente com idade entre 50 e 59 anos apresentou essa condição. O envelhecimento apresenta alterações funcionais e estruturais que contribuem para a predisposição ao desenvolvimento da degeneração macular, atuando como efeito aditivo, na presença de outros fatores de risco, com o decorrer do tempo (42).

Nos EUA, aproximadamente 30% das pessoas acima de 70 anos ou mais apresentam algum sinal de maculopatia e desses, 6 a 8% são portadores do estágio avançado da DMRI (34). Já na Europa, é relatada a prevalência de DMRI inicial de 3,5% em pessoas entre 55 a 59 anos e de 17,6% em indivíduos acima de 85 anos, sendo indiscutível o aumento do risco da doença com o envelhecimento (169).

No grupo amostral estudado, a prevalência encontrada da forma avançada da doença em mais da metade dos pacientes acima de 70 anos revela a gravidade da degeneração macular na população brasileira. Por outro lado, por ser um hospital de atenção terciária do Sistema Único de Saúde (SUS), a proporção de indivíduos com a forma grave da doença pode ser maior do que da média em geral devido à procura pelo tratamento com antiangiogênicos e acompanhamento com exames especializados.

b) **Etnia**

A prevalência da DMRI e sua forma de apresentação variam significativamente de acordo com a região e grupos étnicos ao redor do mundo, sendo a forma avançada da doença mais prevalente em indivíduos brancos (42). A maioria do grupo foi composta por indivíduos de etnia branca, seguida de pardos e posteriormente negros (e dentre esses, apenas dois eram portadores da forma avançada). Assim, a etnia branca mostrou-se mais susceptível à DMRI, assim como para suas formas avançadas, como descrito em outros estudos (42,170). Apesar de menos comum, as formas avançadas também estão presentes em indivíduos de etnia preta, devendo ser considerado o risco naqueles que apresentam as fases iniciais da doença (42,170).

Pereira e cols., em uma amostra composta por pacientes com DMRI neovascular na cidade de Belo Horizonte, encontraram uma prevalência de 84,1% de pacientes de etnia branca, em comparação com 61,8% de pacientes dessa etnia no Rio de Janeiro (19).

Ressalta-se que, de acordo com a Pesquisa Nacional por Amostra de Domicílios Contínua (2020), a cidade do Rio de Janeiro é composta por 53,7% de brancos, 34% de pardos e 11,9% de negros (171), enquanto que a frequência encontrada dos pacientes com DMRI do presente estudo foi de 56,7% de brancos, 31,7% de pardos e 11,7% de negros. Assim, a amostra foi representativa da distribuição étnica dos habitantes da cidade do Rio de Janeiro e, de acordo com a epidemiologia da doença, seria esperada uma quantidade maior de indivíduos de etnia branca com DMRI, questão que poderia ser mais bem evidenciada, possivelmente, com o aumento do tamanho amostral.

c) **Gênero**

A DMRI não é uma doença que tem a predição por um gênero, apesar do sexo feminino ser mais frequente em alguns estudos. Interessante notar que mulheres

usuárias de terapia de reposição hormonal parecem apresentar redução do risco, enquanto que a menopausa, em idades precoces, é associada ao aumento do risco, o que pode indicar a influência das questões hormonais no desenvolvimento da doença (42,43,169).

Apesar da maioria da amostra estudada de 60 pacientes ter sido composta por mulheres (80%), observou-se uma frequência maior da forma avançada (75%) em pacientes do sexo masculino. Não houve, entretanto, diferença entre a forma seca e a forma exsudativa entre os sexos.

Porém, vale ressaltar, que no grupo de aproximadamente 800 pacientes que realizou a análise genética, as mulheres foram mais acometidas pela DMRI do que os homens ($p=0,09$) e apresentaram associação com o alelo variante A ($p=0,004$). Assim, o gênero feminino parece apresentar relação com a doença, porém ainda são necessários mais estudos por ser um fator conflitante na literatura (42).

Em 2013, a Pesquisa Nacional de Saúde realizada pelo IBGE (172) mostrou que, no Brasil, as mulheres procuram mais os serviços de saúde do que os homens. Assim, a alta prevalência de doença avançada no sexo masculino pode ser justificada pela procura ao atendimento médico tardiamente, após o avançar da DMRI, a partir da presença de redução da acuidade visual de forma significativa, por exemplo. Esses dados também podem explicar a alta prevalência de mulheres na amostra, que procuram com mais regularidade os serviços de saúde.

d) Tabagismo

O tabagismo é reconhecidamente o principal fator de risco modificável associado à DMRI (42,43). Foi possível observar que a chance para DMRI neovascular foi onze vezes maior nos tabagistas ativos em relação aos indivíduos não-tabagistas, enquanto que, entre aqueles expostos ao tabagismo (ou seja, os tabagistas atuais somados aos ex-tabagistas), a chance foi sete vezes maior, corroborando os achados associados ao tabagismo em outros estudos (40,42,43,51). Além disso, a média da carga tabágica entre o grupo com DMRI avançada foi maior

que a do grupo com DMRI inicial, o que reforça a associação do tabagismo com a progressão da doença.

A redução do risco para a DMRI exsudativa nos pacientes ex-tabagistas pode ser justificada diante da média de interrupção do hábito de fumar, que no grupo foi de 30 anos. Segundo a literatura, o risco para o desenvolvimento de DMRI é reduzido com a cessação do tabagismo e após 20 anos, a probabilidade do indivíduo apresentar DMRI seria comparável à de indivíduos que nunca fumaram (49). Em relação à progressão da doença, mesmo após a interrupção do tabagismo, parece ainda haver um leve aumento do risco quando comparado àqueles que nunca fumaram, embora essa associação nem sempre é encontrada (42).

A Pesquisa Nacional de Saúde em 2013 do IBGE revelou que 21,9 milhões (14,7%) de brasileiros maiores de 18 anos eram usuários de produtos derivados do tabaco, sendo mais relevante o cigarro industrializado (173). Considerando o período de 1989 a 2010, a queda do percentual de fumantes no Brasil foi de 46%, como consequência das Políticas de Controle do Tabagismo implementadas, estimando-se que um total de cerca de 420.000 mortes foram evitadas neste período (174).

Salienta-se que, por ser um estudo transversal, a avaliação de risco para a doença perde força em comparação aos estudos longitudinais. Contudo, o perfil epidemiológico do grupo estudado reforça a associação do tabagismo com a DMRI, tanto para as formas avançadas da doença como para a forma neovascular isoladamente, confirmando o tabagismo como um importante fator de risco modificável. Assim, o reforço das políticas de interrupção do tabagismo no Brasil continua sendo fundamental para prevenção de doenças como a degeneração macular.

e) **Hereditariedade**

A história familiar aparece como um fator de risco relevantemente associado à DMRI, tanto na incidência quanto na progressão da doença (43,175). Entretanto, apesar da importância da suscetibilidade genética na DMRI, a natureza múltipla dos fatores implicados na doença podem justificar a escassez relativa de formas familiares

observadas (24). Os estudos observam, além do aumento do risco entre irmãos de indivíduos com DMRI, uma maior concordância para a doença em gêmeos monozigóticos em relação a gêmeos dizigóticos (176–179).

Na amostra estudada, apenas uma paciente era conhecedora da mãe ser portadora de DMRI, fato que pode ser explicado também pelo baixo conhecimento ou dificuldade de acesso aos exames oftalmológicos de rotina pela população.

f) Facectomia prévia

A cirurgia de catarata é uma condição frequentemente associada com o desenvolvimento de DMRI avançada (neovascular ou atrófica), sendo descrito o risco quase seis vezes maior em olhos pseudofácicos em relação a olhos fáticos (43,180). No entanto, o efeito da facectomia em olhos com a doença ainda é um assunto com resultados conflitantes na literatura (42). A compreensão do perfil da resposta dos olhos com DMRI à facectomia é extremamente necessária e indispensável, já que a maioria dos idosos será portador de catarata em algum momento da vida e o objetivo cirúrgico é alcançar a melhor acuidade visual possível, inclusive para os portadores de degeneração macular.

A maioria dos olhos do estudo eram fáticos (73,33%) e a prevalência da forma avançada foi semelhante entre os olhos fáticos e pseudofácicos, assim como das formas seca e neovascular. Se a maioria dos olhos do estudo fossem pseudofácicos, talvez uma maior associação com as fases avançadas da doença pudesse ser encontrada. O tempo de cirurgia e o acompanhamento a longo prazo são elementos importantes nessa avaliação.

g) Alimentação e uso de vitaminas antioxidantes

A luteína e zeaxantina são encontradas em níveis aproximadamente 50% maiores em olhos normais do que em olhos portadores de DMRI (181). Esses carotenoides

concentram-se nos axônios dos fotorreceptores e interneurônios da camada plexiforme interna da mácula e atuam na absorção dos comprimentos de onda associados ao dano fotoquímico da retina sensorial, além de removerem os radicais livres gerados pela atividade metabólica (181). Uma dieta pobre em carotenoides ou rica em gordura saturada, gordura trans ou ácidos graxos ômega 6 é associada à progressão da DMRI (40,182), enquanto a dieta mediterrânea, composta de baixa ingestão de gorduras e alto consumo de grãos, frutas, legumes e vegetais, é relacionada à redução do risco de progressão da doença (42,182,183). Estudos mostram que para ser observada uma melhora da função visual e da pigmentação macular após suplementação dietética seriam necessários pelo menos 2 anos de acompanhamento (60).

Estudos relevantes, como o AREDS, mostram que a ingestão de vitaminas antioxidantes é capaz de retardar a progressão da DMRI (47). No presente trabalho, aproximadamente 60% dos participantes disseram realizar uma dieta com verduras e frutas, pelo menos três vezes na semana. A OMS recomenda a ingestão diária de, pelo menos, 400 gramas de frutas e hortaliças o que equivale, aproximadamente, ao consumo diário de cinco porções desses alimentos. Um levantamento do Ministério da Saúde em 2019 mostrou que aproximadamente 26% da população acima de 55 anos consomem cinco ou mais porções diárias de frutas e hortaliças nas capitais brasileiras (184), metade da prevalência encontrada na amostra estudada.

As formas avançadas estiveram presentes em 69% dos pacientes que referiram ingerir verduras e frutas pelo menos três vezes na semana e em 64% dos que não apresentavam uma dieta adequada. Apesar de não ter apresentado correlação com a doença, a avaliação da dieta alimentar como fator de risco para a DMRI apresenta obstáculos como o viés de memória e a variabilidade do dia a dia de cada indivíduo, que devem ser considerados.

Apenas 18,33% dos participantes da pesquisa faziam uso de vitaminas antioxidantes há mais de dois anos, sendo 44% eram portadores de DMRI na fase avançada. Observa-se que a maioria dos pacientes do estudo não possuíam condições financeiras para manter o tratamento contínuo com as vitaminas antioxidantes disponíveis no mercado. Além disso, a ingestão de suplementação antioxidante visa, principalmente, a evitar ou a retardar a progressão da doença,

porém quase metade dos pacientes que fazia uso de vitaminas antioxidantes já apresentava DMRI avançada em pelo menos um dos olhos.

h) **Índice de Massa Corporal (IMC)**

A obesidade é uma condição sistêmica associada ao aumento do status pró-inflamatório no organismo e é, até o momento, um fator de moderada associação com a DMRI (40). No estudo, a maioria foi composta por pacientes com sobrepeso e obesidade. Entretanto, a forma avançada da doença foi mais frequente entre os pacientes eutróficos, mesmo após ajuste pela idade, sexo e tabagismo. Ou seja, a prevalência de DMRI inicial foi maior entre os pacientes com IMC aumentado.

Na literatura, indivíduos obesos apresentam maior risco para o desenvolvimento da DMRI (42,51,185) e possuem níveis elevados de fatores pró-inflamatórios, como componentes do sistema complemento e citocinas como MCP-1 e TNF- α . Além disso, uma hipótese interessante é que o tecido adiposo é um local de armazenamento de carotenoides e conforme o peso corporal aumenta, menos desses carotenoides estariam disponíveis na mácula (42,58).

Em 2019, no Brasil, o percentual de indivíduos com sobrepeso (IMC \geq 25kg/m²) entre 55 a 64 anos era de 63,1% e acima de 65 anos, 59,8% (184), o que foi evidenciado também na amostra estudada, com prevalência de sobrepeso e obesidade de 68,34%. Esse é um reflexo da tendência de aumento da obesidade na população brasileira e, como evidenciado no estudo, também na população idosa (184).

Dos pacientes que realizavam a ingestão de frutas e verduras três vezes na semana, 80% já apresentaram sobrepeso ou obesidade. Entre os pacientes que não possuíam uma dieta adequada, 52% tinham sobrepeso ou eram obesos. Assim, os pacientes eutróficos, mais associados à DMRI avançada na pesquisa, podem apresentar uma ingestão alimentar com carência de vitaminas, a qual atuaria como um fator aditivo para o desenvolvimento da degeneração macular.

i) **Exposição solar e cor da íris**

Apesar da exposição à luz solar e a cor clara da íris serem sugestivos fatores de risco ao aumento do dano oxidativo na retina, são ainda elementos inconsistentes na literatura para o risco de desenvolvimento de DMRI (43,59). O *The Blue Montains Eye Study* (1998) associou aumento do risco de DMRI, tanto inicial quanto tardia, para pessoas com íris azul expostas aos raios ultravioletas a partir de 3.654 participantes australianos (186). Entretanto, posteriormente, os resultados na literatura não foram suficientemente fortes para estabelecer essa característica como fator de risco para o desenvolvimento de DMRI (187) e a cor clara da íris ainda se apresenta como um fraco e inconsistente fator preditor de progressão para as formas avançadas (43). Mesmo assim, a proteção de óculos de sol deve ser aconselhada para reduzir o dano retiniano que pode ser causado pela exposição intensa à luz solar a longo prazo.

A exposição solar de mais de oito horas diárias foi associada à DMRI inicial (aproximadamente seis vezes mais risco) e DMRI tardia (com risco três vezes maior) por Schick et al (2016). Estudos mostraram a relação da exposição solar desde a juventude com o aumento da incidência de DMRI inicial, enquanto a exposição solar em indivíduos idosos apresentou pouca ou nenhuma influência. Além disso, trabalhos ocupacionais ao ar livre durante a juventude apresentaram o aumento do risco para o desenvolvimento de DMRI avançada (188).

Apesar da exposição à luz solar ser sugestiva de aumentar o risco para a DMRI, é ainda um fator inconclusivo na literatura, além de ser difícil sua mensuração (59). Mesmo assim, a exposição solar excessiva é fator de risco outras patologias, como catarata e câncer de pele, sendo a proteção solar fundamental para a proteção do organismo durante a vida (164).

A maioria dos pacientes da pesquisa referiu não apresentar exposição solar excessiva durante a vida e apenas cinco participantes possuíam íris de cor clara, característica que não é prevalente na população do Rio de Janeiro. Não houve associação desses fatores com a progressão da doença no estudo, porém, como discutido anteriormente, a exposição à luz solar é um elemento de difícil mensuração e um trabalho, a longo prazo, com populações de uma mesma localização, com hábitos de vida ou exposição ocupacional semelhantes, utilizando uma forma

padronizada de quantificação do nível de exposição solar em íris claras, seria uma maneira mais eficiente para essas análises de difícil metodologia.

j) Atividade física

A atividade física não é um fator de proteção bem estabelecido para a DMRI, porém deve ser estimulada para a boa saúde do organismo e da retina (42). Em estudo de coorte com aproximadamente 21 mil participantes, observou-se a redução do risco de DMRI na forma intermediária em mulheres, mas não em homens (189). Outro estudo longitudinal acompanhou aproximadamente 4 mil indivíduos durante 15 anos e a presença de atividade física mais de 3 vezes por semana reduziu o risco para DMRI neovascular em relação àqueles que não praticavam nenhum exercício (190), assim como foi observado no presente estudo, em que pacientes sedentários apresentaram mais chance de progressão da doença.

Um terço dos participantes realizavam atividade física pelo menos duas vezes na semana, proporção que está de acordo com a média nacional de 31,5% de pessoas entre 55 e 64 anos e acima da média de 24,4% de indivíduos acima de 65 anos que realizam atividade física de moderada intensidade por pelo menos 150 minutos por semana, de acordo com o Ministério da Saúde (184).

k) Hipertensão arterial sistêmica (HAS)

A HAS é uma condição de moderada associação, sendo relacionada principalmente à forma neovascular da DMRI (43). Apesar disso, estudos mostram que o uso de medicações anti-hipertensivas não apresenta benefícios na redução do desenvolvimento da doença (42).

Em 2019, o Ministério da Saúde evidenciou uma prevalência de hipertensão arterial sistêmica em 45,2% das pessoas de 55 e 64 anos e 59,3% daqueles com 65

anos ou mais, acometendo 55,5% dos homens e 61,6% das mulheres nesse último grupo (184).

No presente estudo, 70% dos participantes eram hipertensos, média acima da encontrada na população brasileira, atingindo 83,3% dos homens e 66,7% das mulheres. Como o número de homens no grupo foi pequeno (12 participantes), provavelmente com o aumento de participantes masculinos, a proporção de pacientes hipertensos esperada será mais próxima da média populacional.

Apresentaram DMRI neovascular aproximadamente 60% dos pacientes hipertensos e 50% dos pacientes não hipertensos, não havendo diferença significativa após ajuste dos dados. A hipertensão arterial parece atuar como um fator contribuidor na fisiopatologia da doença e não como um fator de risco de forte associação (40).

l) Diabetes Mellitus (DM)

O diabetes possui fraca associação com a degeneração macular nos estudos realizados (40). Postula-se, entretanto, que o controle glicêmico adequado poderia auxiliar na prevenção de DMRI por melhorar a homeostase retiniana e reduzir a resposta inflamatória local (42,60).

No grupo estudado, 22% dos pacientes eram diabéticos e a doença esteve presente em 16,7% dos homens e 22,9% das mulheres. Dados brasileiros de 2019 indicam que 17,3% dos indivíduos com 55 a 64 anos eram diabéticos (18,9% dos homens e 16,1% das mulheres) e 23% das pessoas com 65 anos ou mais (24,6% dos homens e 22% das mulheres) apresentavam essa condição (184). Logo, a prevalência de pacientes com DMRI diabéticos foi próxima da média populacional. Da mesma forma que os valores encontrados para a HAS, o aumento do tamanho amostral para o sexo masculino provavelmente aproximaria a prevalência de diabetes encontrada nesse grupo da média populacional brasileira.

Não houve associação do diabetes com as formas avançadas da doença na amostra. Entretanto, pacientes com retinopatia diabética foram excluídos do trabalho, o que limita a avaliação da associação da doença com a DMRI, assim como costuma ocorrer em outras pesquisas.

m) Perfil lipídico

A disfunção no sistema metabólico de lipídios é relacionada à fisiopatologia da DMRI devido ao acúmulo de lipoproteínas nas drusas. Apesar de ser, cada vez mais, observada a associação da desregulação lipídica com a DMRI (37,53), algumas informações ainda são controversas, como a relação entre os níveis séricos de colesterol ou triglicerídeos com a doença (42,53,55). Da mesma forma, é interessante notar que o aumento dos níveis de HDL, subtipo de colesterol considerado protetor ao sistema cardiovascular pela redução da aterosclerose, apresenta-se geralmente como fator de risco para a DMRI, principalmente para a forma de atrofia geográfica (42,53,55,191).

Isso é justificado a partir da disfunção na molécula de HDL que teria sua função alterada no microambiente oxidativo retiniano. O HDL elevado é convertido em partículas pró-oxidantes e pró-inflamatórias disfuncionais que prejudicam o efluxo de colesterol e promovem a oxidação do LDL no EPR. Dessa forma, as funções protetoras do HDL seriam sobrecarregadas pela inflamação fazendo com que outros fatores, como a oxidação mediada por mieloperoxidase e as atividades antioxidantes e antiinflamatórias do HDL, se tornam ineficazes. Consequentemente, produtos de oxidação, como lipídios de peroxidação, gradualmente se acumulam na retina e na membrana de Bruch, onde essas moléculas iniciam o estímulo inflamatório e levariam ao acúmulo dos depósitos drusenoides, o estágio inicial da DMRI (56).

Por conseguinte, a pesquisa de variantes genéticas na DMRI associadas ao metabolismo lipídico e a molécula de HDL é extensa. Variantes como a rs493258 e rs10468017 no gene *LIPC*, rs3764261 no gene *CETP*, rs1883025 no gene *ABCA1* e a rs12678919 no gene *LPL* são descritas. As alterações do metabolismo lipídico devem ser investigadas profundamente, pois parecem apresentar um papel importante na fisiopatogenia multifatorial da DMRI.

n) Outros fatores

Na literatura, alguns outros fatores oculares são pesquisados nos pacientes com DMRI. A hipermetropia foi a ametropia mais frequente no estudo, presente em 59,2% dos olhos fálicos, em concordância com outros estudos epidemiológicos (51,63,64). Estima-se que o erro refracional esteja presente em 34% da população brasileira, segundo o Conselho Brasileiro de Oftalmologia, realizado em 2019 (10), e portanto, a prevalência dessa ametropia entre os pacientes com DMRI foi maior do que a média populacional esperada, sugerindo uma possível relação da doença em olhos com comprimento axial reduzido.

Kymuonis et al (2007) mensuraram a espessura corneana central e o comprimento axial em 130 olhos com DMRI neovascular e 98 olhos sem a doença, ajustados por sexo e idade. As mensurações foram realizadas entre a mesma faixa de horário para evitar a variação diurna da espessura corneana e antes de qualquer procedimento invasivo como a tonometria de Goldmann, não encontrando resultados significativos (192). No presente estudo, as médias paquimétricas entre os olhos com DMRI na forma seca e na forma neovascular foram semelhantes, assim como entre olhos fálicos e pseudofálicos. A hipótese relaciona à doença com um possível aumento da rigidez escleral que dificultaria a perfusão coriorretiniana. Apesar de não ser uma hipótese recorrente na literatura, qualquer condição que seja capaz de alterar a permeabilidade do complexo coroide-EPR com risco para a perfusão inadequada da retina deve ser aventado.

Em relação aos fatores sociais, mais da metade dos participantes do estudo apresentava o ensino fundamental completo e menos de 15%, o ensino superior completo. Algumas pesquisas populacionais longitudinais mostram que os níveis educacionais são inversamente relacionados com o desenvolvimento de DMRI, como foi observado no presente estudo em que a chance de progressão da doença foi 3 vezes maior nos pacientes com ensino médio completo e 5 vezes maior para aqueles que possuem apenas o ensino fundamental. Presumivelmente, os níveis educacionais estão diretamente associados a condições socioeconômicas como dificuldade no acesso à saúde com atraso no diagnóstico e tratamento precoces, além da realização de possíveis hábitos prejudiciais à saúde. Em estudos de coorte menores, entretanto, a associação com a escolaridade nem sempre é encontrada (42).

Por fim, ressalta-se que 41,18 % dos pacientes com DMRI exsudativa havia recebido tratamento com anti-VEGF até o momento da entrevista e desses, 78,57%

já apresentavam cicatriz retiniana irreversível. Além disso, 50% dos pacientes apresentavam cegueira, em pelo menos um olho, causada principalmente pela neovascularização de coroide. Esses dados, em associação ao número limitado de pacientes que conseguiram, por fim, realizar o tratamento intravítreo de forma efetiva no SUS, assim como a alta prevalência de participantes com cicatriz disciforme, revelam a deficiência no tratamento da DMRI e na prevenção da perda visual no sistema público de saúde brasileiro.

Em conclusão, na avaliação sociodemográfica dos pacientes com DMRI que participaram do estudo, foi possível observar que a média de idade encontrada, tabagismo, etnia, gênero, realização de atividade física e escolaridade estiveram em concordância com os principais resultados da literatura.

6 LIMITAÇÕES E CONTRIBUIÇÕES DO ESTUDO

A população brasileira é extremamente miscigenada, logo, estudos genéticos amplos no país, idealmente, devem considerar a hereditariedade de cada estado e abranger de forma adequada o grupo amostral pesquisado.

No presente estudo, avaliou-se a frequência da variante em uma amostra da população brasileira com DMRI e foi possível observar uma tendência à forma neovascular nos pacientes portadores da variante genética. A pesquisa possui relevância ao apresentar, pela primeira vez, a prevalência da variante rs1143627 em um grupo amostral brasileiro, além de ser um dos poucos trabalhos na literatura mundial a realizar a associação dessa variante com a DMRI.

O estudo revelou também que o efeito da variante gênica rs1143627 foi baixo no grupo estudado.

Os estudos transversais são normalmente utilizados para levantamento de dados e análise da prevalência de agravos, não sendo usado para a definição de fatores de risco, como ocorre nos estudos de coorte e caso-controle. Entretanto, a pesquisa revelou a importância da idade e do tabagismo como importantes contribuintes presentes no desenvolvimento e progressão da doença em um grupo de 60 pacientes, o que reforça o efeito significativo desses fatores na DMRI.

Algumas condições como exposição solar, atividade física e dieta alimentar são comumente influenciadas por questões individuais e vieses, como o de memória. Assim, é necessária uma forma de padronização da mensuração da quantidade de exposição envolvida, para que essas condições possam ser determinadas como preditores de risco ou de proteção nas pesquisas epidemiológicas realizadas.

CONCLUSÕES

O caminho da compreensão da fisiopatogenia da DMRI a partir das alterações genéticas explicita a complexidade envolvida na multifatorialidade dessa doença, que possui o envolvimento de mecanismos inflamatórios como um dos pilares de sua etiologia.

As futuras perspectivas das pesquisas na degeneração macular relacionada à idade visam compreender a complexa fisiopatologia em sua totalidade, a busca de tratamentos e a descoberta de variantes genéticas capazes de modular o fenótipo e o curso da doença, a partir de sua interação com fatores de risco ambientais. O entendimento dessas condições pode possibilitar uma terapêutica individualizada, a partir de medicamentos que beneficiarão pacientes com DMRI de acordo o seu perfil genético e o ambiente no qual o indivíduo se encontra.

Assim, espera-se que, no futuro, os índices de baixa visual causados pela doença sejam menores do que aqueles que observamos atualmente, o que ocorrerá através do diagnóstico precoce, de um acompanhamento adequado e por um tratamento acessível a todos.

REFERÊNCIAS

1. Klein R, Myers CE, Meuer SM, Gangnon RE, Sivakumaran TA, Iyengar SK, et al. Risk Alleles in CFH and ARMS2 and the Long Term Natural History of Age-Related Macular Degeneration. The Beaver Dam Eye Study. *JAMA Ophthalmol.* 2013;19(3):389–99.
2. Park YG, Park YS, Kim IB. Complement system and potential therapeutics in age-related macular degeneration. *Int J Mol Sci.* 2021;22(13).
3. Nassar K, Grisanti SS, Elfar E, Lüke J, Lüke M, Grisanti SS. Serum cytokines as biomarkers for age-related macular degeneration. *Graefe's Arch Clin Exp Ophthalmol.* 2015;253(5):699–704.
4. Wooff Y, Man SM, Aggio-Bruce R, Natoli R, Fernando N. IL-1 Family Members Mediate Cell Death, Inflammation and Angiogenesis in Retinal Degenerative Diseases. *Front Immunol.* 2019;10(July):1–21.
5. Wang Y, Hanus JW, Abu-Asab MS, Shen D, Ogilvy A, Ou J, et al. NLRP3 upregulation in retinal pigment epithelium in age-related macular degeneration. *Int J Mol Sci.* 2016;17(1):1–15.
6. Celkova L, Doyle S, Campbell M. NLRP3 Inflammasome and Pathobiology in AMD. *J Clin Med.* 2015;4(1):172–92.
7. Provis JM, Penfold PL, Cornish EE, Sandercoe TM, Madigan MC. Anatomy and development of the macula: Specialisation and the vulnerability to macular degeneration. *Clin Exp Optom.* 2005;88(5):269–81.
8. Wong WL, Su X, Li X, Cheung CMG, Klein R, Cheng CY, et al. Global prevalence of age-related macular degeneration and disease burden projection for 2020 and 2040: A systematic review and meta-analysis. *Lancet Glob Heal.* 2014;2(2):e106–16.
9. American Academy of Ophthalmology - Retina/Vitreous Panel. Age-Related Macular Degeneration. *Prefer Pract Pattern Guidel.* 2015;12–6.
10. Ottaiano JA, Ávila MP, Umbelino C, Taleb A. As condições de saúde ocular no Brasil 2019. 1a Edição. Conselho Brasileiro de Oftalmologia; 2019.
11. Gao J, Tom Liu R, Cao S, Z. Cui J, Wang A, To E, et al. NLRP3 Inflammasome: Activation and Regulation in Age-Related Macular Degeneration. *Mediators Inflamm.* 2015;

12. Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE). Sinopse do censo demográfico 2010. 2011. 261 p.
13. Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE). Projeção da população [Internet]. Available from: https://www.ibge.gov.br/apps/populacao/projecao/index.html?utm_source=portal&utm_medium=popclock
14. Ferreira Santos LP, Diniz JR, De Souza Leão AC, De Sena MF. Degeneração macular relacionada à idade: Prevalência e fatores de risco em dois centros oftalmológicos de referência em Pernambuco. *Arq Bras Oftalmol*. 2005;68(2):229–33.
15. Romani FA. Prevalência de transtornos oculares na população de idosos residentes na cidade de Veranópolis, RS, Brasil. *Arq Bras Oftalmol*. 2005;68(5):649–55.
16. Oguido APMT, Casella AMB, Matsuo T, Ramos Filho EH de F, Berbel R, Silva RMA. Prevalência da degeneração macular relacionada à idade em japoneses e descendentes em Londrina (PR) - Brasil. *Arq Bras Oftalmol*. 2008;71(3):375–80.
17. Roque AB, da Silva Borges GF, Abe RY, de Souza OF, Machado MC, Ferreira T, et al. The effects of age-related macular degeneration on quality of life in a Brazilian population. *Int J Retin Vitre* [Internet]. 2021;7(1):1–10. Available from: <https://doi.org/10.1186/s40942-021-00290-z>
18. Rim PHH, de Vasconcellos JPC, de Melo MB, Medina FMC, Sacconi DPD, Lana TP, et al. Correlation between genetic and environmental risk factors for age-related macular degeneration in Brazilian patients. *PLoS One*. 2022;17(6 June):1–11.
19. Pereira FB, Veloso CE, Kokame GT, Nehemy MB. Characteristics of Neovascular Age-Related Macular Degeneration in Brazilian Patients. *Ophthalmologica*. 2015;234(4):233–42.
20. Touma-Falci L, Moreira-Neto CA, Taleb AC, Prieto MB, Packer T, Oliveira JCB, et al. Age-related macular degeneration and resource utilization in the Brazilian public healthcare system: a real-world retrospective study. *BMC Ophthalmol* [Internet]. 2021;21(1):1–11. Available from: <https://doi.org/10.1186/s12886-021-02181-1>

21. Elias FTS, Da Silva EN, Belfort R, Silva MT, Atallah ÁN. Treatment options for age-related macular degeneration: A budget impact analysis from the perspective of the Brazilian public health system. *PLoS One*. 2015;10(10):1–10.
22. Casten R, Rovner B. Depression in age-related macular degeneration. *J Vis Impair Blind*. 2008;102(10):591–9.
23. Vidal KS, Suemoto CK, Moreno AB, Viana MC, Lotufo PA, Benseñor IM, et al. Association Between Posterior Segment Eye Diseases, Common Mental Disorders, and Depression: Cross-Sectional and Longitudinal Analyses of Brazilian Longitudinal Study of Adult Health Cohort. *Psychosomatics* [Internet]. 2021;62(1):70–8. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.psych.2020.03.001>
24. Desmettre TJ. Epigenetics in Age-related Macular Degeneration (AMD). *J Fr Ophthalmol*. 2018;41(9):e407–15.
25. Bird A. Role of retinal pigment epithelium in age-related macular disease: a systematic review. *Br J Ophthalmol*. 2020;1–6.
26. Kauppinen A, Paterno JJ, Blasiak J, Salminen A, Kaarniranta K. Inflammation and its role in age-related macular degeneration. *Cell Mol Life Sci*. 2016;73(9):1765–86.
27. Taskintuna I, Abdalla Elsayed MEA, Schatz P. Update on clinical trials in dry Age-related macular degeneration. *Middle East Afr J Ophthalmol*. 2016;23(1):13–26.
28. Moreno-García A, Kun A, Calero O, Medina M, Calero M. An overview of the role of lipofuscin in age-related neurodegeneration. Vol. 12, *Frontiers in Neuroscience*. Frontiers Media S.A.; 2018.
29. Blasiak J, Petrovski G, Veréb Z, Facskó A, Kaarniranta K. Oxidative stress, hypoxia, and autophagy in the neovascular processes of age-related macular degeneration. *Biomed Res Int*. 2014;
30. Mitter SK, Song C, Qi X, Mao H, Rao H, Akin D, et al. Dysregulated autophagy in the RPE is associated with increased susceptibility to oxidative stress and AMD. *Autophagy*. 2014;10(11):1989–2005.
31. Korhonen E, Piippo N, Hytti M, Hyttinen JMT, Kaarniranta K, Kauppinen A. SQSTM1/p62 regulates the production of IL-8 and MCP-1 in IL-1 β -stimulated human retinal pigment epithelial cells. *Cytokine*. 2019;116:70–7.

32. Li H, Chintalapudi SR, Jablonski MM. Current drug and molecular therapies for the treatment of atrophic age-related macular degeneration: phase I to phase III clinical development. *Expert Opin Investig Drugs*. 2017;26(10):1103–14.
33. Saadat KASM, Murakami Y, Tan X, Nomura Y, Yasukawa T, Okada E, et al. Inhibition of autophagy induces retinal pigment epithelial cell damage by the lipofuscin fluorophore A2E. *FEBS Open Bio*. 2014;4:1007–14.
34. Montezuma SR, Sobrin L, Seddon JM. Review of genetics in age related macular degeneration. *Semin Ophthalmol*. 2007;22(4):229–40.
35. Knickelbein JE, Chan CC, Sen HN, Ferris FL, Nussenblatt RB. Inflammatory mechanisms of age-related macular degeneration. *Int Ophthalmol Clin*. 2015;55(3):63–78.
36. Sastre-Ibáñez M, Barreiro-González A, Gallego-Pinazo R, Dolz-Marco R, García-Armendariz B. Atrofia geográfica: etiopatogenia y terapias actuales. *Arch Soc Esp Oftalmol*. 2018;93(1):22–34.
37. Abokyi S, To C-H, Lam TT, Tse DY. Central Role of Oxidative Stress in Age-Related Macular Degeneration: Evidence from a Review of the Molecular Mechanisms and Animal Models. *Oxid Med Cell Longev*. 2020;1–19.
38. Rossberger S, Ach T, Best G, Cremer C, Heintzmann R, Dithmar S. High-resolution imaging of autofluorescent particles within drusen using structured illumination microscopy. *Br J Ophthalmol*. 2013;97(4):518–23.
39. Pauleikhoff D, Harper CA, Marshall J, Bird AC. Aging Changes in Bruch's Membrane: A Histochemical and Morphologic Study. *Ophthalmology*. 1990;97(2):171–8.
40. Al-Zamil WM, Yassin SA. Recent developments in age-related macular degeneration: a review. *Clin Interv Aging*. 2017;12:1313–30.
41. Kaarniranta K, Pawlowska E, Szczepanska J, Jablkowska A, Blasiak J. Role of mitochondrial dna damage in ros-mediated pathogenesis of age-related macular degeneration (Amd). *Int J Mol Sci*. 2019;20(10).
42. Heesterbeek TJ, Lorés-Motta L, Hoyng CB, Lechanteur YTE, den Hollander AI. Risk factors for progression of age-related macular degeneration. *Ophthalmic Physiol Opt*. 2020;40(2):140–70.
43. Chakravarthy U, Wong TY, Fletcher A, Piau E, Evans C, Zlateva G, et al. Clinical risk factors for age-related macular degeneration: A systematic review

- and meta-analysis. *BMC Ophthalmol.* 2010;10(1):31.
44. Mitchell P, Liew G, Gopinath B, Wong TY. Age-related macular degeneration. *Lancet.* 2018;392(10153):1147–59.
 45. Klein R, Davis MD, Magli YL, Segal P, Klein BEK, Hubbard L. The Wisconsin Age-related Maculopathy Grading System. *Ophthalmology.* 1991;98(7):1128–34.
 46. Bird a. C, Bressler NM, Bressler SB, Chisholm IH, Coscas G, Davis MD, et al. An international classification and grading system for age-related maculopathy and age-related macular degeneration. *Surv Ophthalmol.* 1995;39(5):367–74.
 47. AREDS Research Group. A randomized, placebo-controlled, clinical trial of high-dose supplementation with vitamins C and E, beta carotene, and zinc for age-related macular degeneration and vision loss: AREDS report no. 8. *Arch Ophthalmol (Chicago, Ill 1960).* 2001;119(10):1417–36.
 48. Seddon JM, Sharma S, Adelman RA. Evaluation of the clinical age-related maculopathy staging system. *Ophthalmology.* 2006;113(2):260–6.
 49. García-Layana A, Cabrera-López F, García-Arumí J, Arias-Barquet L, Ruiz-Moreno JM. Early and intermediate age-related macular degeneration: Update and clinical review. *Clin Interv Aging.* 2017;12:1579–87.
 50. Seddon JM. The US Twin Study of Age-Related Macular Degeneration. *Arch Ophthalmol.* 2005;123(3):321.
 51. Berrow EJ, Bartlett HE, Eperjesi F, Gibson JM. Risk Factors for Age-related Macular Degeneration. *Eur Ophthalmic Rev.* 2011;05(02):143.
 52. McCarty CA, Mukesh BN, Cara L Fu G, Mitchell P, Wang JJ, Taylor HR. Risk Factors for Age-Related Maculopathy. 2015;119.
 53. van Leeuwen EM, Emri E, Merle BMJ, Colijn JM, Kersten E, Cougnard-Gregoire A, et al. A new perspective on lipid research in age-related macular degeneration. *Prog Retin Eye Res.* 2018;67(April):56–86.
 54. Lambert NG, ElShelmani H, Singh MK, Mansergh FC, Wride MA, Padilla M, et al. Risk factors and biomarkers of age-related macular degeneration. *Prog Retin Eye Res.* 2016;54:64–102.
 55. Kersten E, Paun CC, Schellevis RL, Hoyng CB, Delcourt C, Lengyel I, et al. Systemic and ocular fluid compounds as potential biomarkers in age-related macular degeneration. *Surv Ophthalmol.* 2018;63(1):9–39.

56. Wang Y, Wang M, Zhang X, Zhang Q, Nie J, Zhang M, et al. The association between the lipids levels in blood and risk of age-related macular degeneration. *Nutrients*. 2016;8(10):1–15.
57. Adams MKM, Simpson JA, Aung KZ, Makeyeva GA, Giles GG, English DR, et al. Abdominal obesity and age-related macular degeneration. *Am J Epidemiol*. 2011;173(11):1246–55.
58. Jaisankar D, Swaminathan G, Roy R, Kulothungan V, Sharma T, Raman R. Association of obesity and age-related macular degeneration in Indian population. *Indian J Ophthalmol*. 2018;66:976–83.
59. Age-Related Eye Disease Study Research Group. Risk factors associated with age-related macular degeneration: A case-control study in the Age-Related Eye Disease Study: Age-Related Eye Disease Study report number 3. *Ophthalmology*. 2000;107(12):2224–32.
60. Singh N, Srinivasan S, Muralidharan V, Roy R, Jayprakash V, Raman R. Prevention of age-related macular degeneration. *Asia-Pacific J Ophthalmol*. 2017;6(6):520–6.
61. Pulido J. Scleral rigidity and macular degeneration: Pathophysiologic or epiphenomenon? *Am J Ophthalmol*. 2006;141(4):731–2.
62. Friedman E, Ivry M, Ebert E, Glynn R, Gragoudas E, Seddon J. Increased Scleral Rigidity and Age-related Macular Degeneration. *Ophthalmology*. 1989;96(1):104–8.
63. Lavanya R, Kawasaki R, Tay W, Cheung GC., Mitchell P, Saw S. Hyperopic refractive error and shorter axial length are associated with age-related macular degeneration: the Singapore Malay eye study.
64. Wang J, Mitchell P, Smith W. Refractive error and age-related maculopathy: the Blue Mountains eye study. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 1998;39(11):2167–71.
65. Seddon JM, Ferris FL. Risk factors for the incidence of advanced age-related macular degeneration in the Age-Related Eye Disease Study (AREDS): AREDS report no. 19. *Ophthalmology*. 2005;112(4):533–9.
66. Seddon JM, Silver RE, Kwong M, Rosner B. Risk prediction for progression of macular degeneration: 10 common and rare genetic variants, demographic, environmental, and macular covariates. *Investig Ophthalmol Vis Sci*.

- 2015;56(4):2192–202.
67. Suárez-Barrio C, Del Olmo-Aguado S, García-Pérez E, de la Fuente M, Muruzabal F, Anitua E, et al. Antioxidant role of PRGF on RPE cells after blue light insult as a therapy for neurodegenerative diseases. *Int J Mol Sci*. 2020;21(3).
 68. Kwok PY, Chen X. Detection of single nucleotide polymorphisms. *Curr Issues Mol Biol*. 2003;5(2):43–60.
 69. Karki R, Pandya D, Elston RC, Ferlini C. Defining “mutation” and “polymorphism” in the era of personal genomics. *BMC Med Genomics*. 2015;8(1):1–7.
 70. Rodrigues Caetano A. Conceitos básicos , aplicações no manejo e no melhoramento animal e perspectivas para o futuro. *Rev Bras Zootec Marcadores SNP*. 2009;38:64–71.
 71. Iida A, Saito S, Sekine A, Takahashi A, Kamatani N, Nakamura Y. Japanese single nucleotide polymorphism database for 267 possible drug-related genes. *Cancer Sci*. 2006;97(1):16–24.
 72. Fritsche. A large genome-wide association study of age-related macular degeneration highlights contributions of rare and common variants. *Nat Genet*. 2016;48(2):134–143.
 73. What are genome wide association studies (GWAS)? | EMBL-EBI Train online [Internet]. [cited 2020 Feb 25]. Available from: <https://www.ebi.ac.uk/training/online/course/gwas-catalog-exploring-snp-trait-associations-2019/what-gwas-catalog/what-are-genome-wide>
 74. Sergejeva O, Botov R, Liutkevičiene R, Kriaučiuniene L. Genetic factors associated with the development of age-related macular degeneration. *Med*. 2016;52(2):79–88.
 75. Hirata FE, Vasconcellos JPC de, Medina FM, Rim PHH, Fulco EAM, Melo MB de. Association of LOC387715/ARMS2 (rs10490924) Gene Polymorphism with Age-Related Macular Degeneration in the Brazilian Population. *Ophthalmic Genet*. 2015;36(3):224–8.
 76. Lana TP, da Silva Costa SM, Ananina G, Hirata FE, Rim PHH, Medina FMC, et al. Association of HTRA1 rs11200638 with age-related macular degeneration (AMD) in Brazilian patients. *Ophthalmic Genet*. 2018;39(1):46–50.

77. Medina FMC, Motta AAL Da, Takahashi WY, Carricondo PC, Motta MMDS, Melo MB, et al. Association of the CFH Y402H Polymorphism with the 1-Year Response of Exudative AMD to Intravitreal Anti-VEGF Treatment in the Brazilian Population. *Ophthalmic Res.* 2017;
78. Ambati J, John P. Atkinson, Gelfand BD. Immunobiology of age-related macular degeneration. *Nat Rev Immunol.* 2013;13(6):438–451.
79. Kenney MC, Hertzog D, Chak G, Atilano SR, Khatibi N, Soe K, et al. Mitochondrial DNA haplogroups confer differences in risk for age-related macular degeneration: A case control study. *BMC Med Genet.* 2013;14(1):1.
80. Mueller EE, Schaier E, Brunner SM, Eder W, Mayr JA, Egger SF, et al. Mitochondrial haplogroups and control region polymorphisms in age-related macular degeneration: A case-control study. *PLoS One.* 2012;7(2):3–8.
81. Cascella R, Ragazzo M, Strafella C, Missiroli F, Borgiani P, Angelucci F, et al. Age-Related Macular Degeneration: Insights into Inflammatory Genes. *J Ophthalmol.* 2014;
82. Zhao M, Bai Y, Xie W, Shi X, Li F, Yang F, et al. Interleukin-1 β level is increased in vitreous of patients with neovascular age-related macular degeneration (nAMD) and polypoidal choroidal vasculopathy (PCV). *PLoS One.* 2015;10(5):1–10.
83. Cao X, Shen D, Patel MM, Tuo J, Johnson TM, Olsen TW, et al. Macrophage polarization in the maculae of age-related macular degeneration: A pilot study. *Pathol Int.* 2011;61(9):528–35.
84. Yerramothu P, Vijay AK, Willcox MDP. Inflammasomes, the eye and anti-inflammasome therapy. *Eye.* 2018;32(3):491–505.
85. Paiva-Oliveira EL, Silva AC, Silva RM, Sevenini LA, Melo HA, Lagrota-Candido JM, et al. Inflamassoma e sua repercussão clínica: revisão da literatura. *Rev Ciências Médicas e Biológicas.* 2012;11(1):96.
86. Davis BK, Wen H, Ting JP-Y. The Inflammasome NLRs in Immunity, Inflammation, and Associated Diseases. *Annu Rev Immunol.* 2011;29:707–35.
87. Contassot E, Beer HD, French LE. Interleukin-1, inflammasomes, autoinflammation and the skin. *Swiss Med Wkly.* 2012;142(MAY):1–10.
88. Anderson OA, Finkelstein A, Shima DT. A2E Induces IL-1 β Production in Retinal Pigment Epithelial Cells via the NLRP3 Inflammasome. *PLoS One.*

- 2013;8(6).
89. Liu RT, Gao J, Cao S, Sandhu N, Cui JZ, Chou CL, et al. Inflammatory mediators induced by amyloid-beta in the retina and RPE In Vivo: Implications for inflammasome activation in age-related macular degeneration. *Investig Ophthalmol Vis Sci.* 2013;54(3):2225–37.
 90. Piippo N, Korhonen E, Hytti M, Kinnunen K, Kaarniranta K, Kauppinen A. Oxidative Stress is the Principal Contributor to Inflammasome Activation in Retinal Pigment Epithelium Cells with Defunct Proteasomes and Autophagy. *Cell Physiol Biochem.* 2018;49(1):359–67.
 91. He Y, Hara H, Núñez G. Mechanism and Regulation of NLRP3 Inflammasome Activation. *Trends Biochem Sci.* 2016;41(12):1012–21.
 92. Dinarello CA. Overview of the IL-1 family in innate inflammation and acquired immunity. *Immunol Rev.* 2018;281(1):8–27.
 93. Pereira AB, Rezende NA de, Teixeira Junior AL, Teixeira MM, Simões e Silva AC. Citocinas e quimiocinas no transplante renal. *J Bras Nefrol.* 2009;31(4):286–96.
 94. Dinarello CA. Immunological and inflammatory functions of the interleukin-1 family. *Annu Rev Immunol.* 2009;27:519–50.
 95. IL1B interleukin 1 beta [Homo sapiens (human)] - Gene - NCBI [Internet]. [cited 2020 Apr 1]. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/gene/3553>
 96. Kutty RK, Samuel W, Boyce K, Cherukuri A, Duncan T, Jaworski C, et al. Proinflammatory cytokines decrease the expression of genes critical for RPE function. *Mol Vis.* 2016;22(June):1156–68.
 97. Terreri MTRA, Bernardo WM, Len CA, Silva CAA da, Magalhães CMR de, Sacchetti SB, et al. Diretrizes de conduta e tratamento de síndromes febris periódicas associadas à criopirina (criopirinopatias – CAPS). *Rev Bras Reumatol.* 2016;56(1):44–51.
 98. Zhang S, Liu Y, Lu S, Cai X. Genetic Variants of Interleukin 17A Are Functionally Associated with Increased Risk of Age-Related Macular Degeneration. *Inflammation.* 2015;38(2):658–63.
 99. Tsai YY, Lin JM, Wan L, Lin HJ, Tsai Y, Lee CC, et al. Interleukin gene polymorphisms in age-related macular degeneration. *Investig Ophthalmol Vis Sci.* 2008;49(2):693–8.

100. Ricci F, Staurenghi G, Lepre T, Missiroli F, Zampatti S, Cascella R, et al. Haplotypes in IL-8 Gene Are Associated to Age-Related Macular Degeneration: A Case-Control Study. *PLoS One*. 2013;8(6):4–8.
101. Sheu S-J, Ger L-P, Kuo N-W, Liu N-C, Wu T-T, Lin M-C. Association of IL-4 gene polymorphism and age-related macular degeneration in Taiwanese adults. *Taiwan J Ophthalmol*. 2012;2(2):51–5.
102. Shevchenko A V., Prokof'ev VF, Konenkov VI, Chernykh V V., Eremina A V., Dudnikova L V., et al. Cytokine gene polymorphisms in patients with age-related macular degeneration. *Vestn Oftalmol*. 2016;132(2):8–13.
103. Holladay JT. Visual acuity measurements. *J Cataract Refract Surg*. 2004;30.
104. World Health Organization. World report on vision. Vol. 214, World health Organization. 2019. 1–160 p.
105. Seddon JM, Reynolds R, Maller J, Fagerness JA, Daly MJ, Rosner B. Prediction model for prevalence and incidence of advanced age-related macular degeneration based on genetic, demographic, and environmental variables. *Investig Ophthalmol Vis Sci*. 2009;50(5):2044–53.
106. Associação Brasileira para o estudo da obesidade e da síndrome metabólica (ABESO). Diretrizes brasileiras de obesidade 2016. VI Diretrizes Bras Obesidade. 2016;7–186.
107. R Core Team (2020). R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. Available from: <https://www.r-project.org/>
108. Fox J. The R Commander: A Basic Statistics Graphical User Interface to R. *J Stat Softw*. 2005;14(9):1–42.
109. RStudio Team (2020). RStudio: Integrated Development for R. RStudio, PBC, Boston, MA [Internet]. Available from: <http://www.rstudio.com/>
110. Chen J, Chatterjee N. Exploiting Hardy-Weinberg equilibrium for efficient screening of single SNP associations from case-control studies. *Hum Hered*. 2007;63(3–4):196–204.
111. Ensembl. rs1143627 (SNP) - Population genetics - Homo_sapiens - Ensembl genome browser [Internet]. [cited 2020 Sep 15]. Available from: http://www.ensembl.org/Homo_sapiens/Variation/Population?db=core;r=2:112836310-

- 112837310;v=rs1143627;vdb=variation;vf=54536598#population_freq_EUR
112. Kehdy FSG, Gouveia MH, Machado M, Magalhães WCS, Horimoto AR, Horta BL, et al. Origin and dynamics of admixture in Brazilians and its effect on the pattern of deleterious mutations. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2015;112(28):8696–701.
 113. Giolo SR, Soler JMP, Greenway SC, Almeida MAA, De Andrade M, Seidman JG, et al. Brazilian urban population genetic structure reveals a high degree of admixture. *Eur J Hum Genet*. 2012;20(1):111–6.
 114. Ross R, Verma V, Rosenberg K, Chan C, Tuo J. Genetic markers and biomarkers for age-related macular degeneration. 2007. p. 443–57.
 115. Mimura T, Funatsu H, Noma H, Shimura M, Kamei Y, Yoshida M, et al. Aqueous humor levels of cytokines in patients with age-related macular degeneration. *Ophthalmologica*. 2019;241(2):81–9.
 116. Natoli R, Fernando N, Madigan M, Chu-Tan JA, Valter K, Provis J, et al. Microglia-derived IL-1 β promotes chemokine expression by Müller cells and RPE in focal retinal degeneration. *Mol Neurodegener*. 2017;12(1):1–11.
 117. Song Y, Tian X, Wang X, Feng H. Vascular protection of salicin on IL-1 β -induced endothelial inflammatory response and damages in retinal endothelial cells. *Artif Cells, Nanomedicine Biotechnol*. 2019;47(1):1995–2002.
 118. Eandi CM, Messance HC, Augustin S, Dominguez E, Lavalette S, Forster V, et al. Subretinal mononuclear phagocytes induce cone segment loss via IL-1 β . *Elife*. 2016;5(JULY):1–16.
 119. Subhi Y, Krogh Nielsen M, Molbech CR, Oishi A, Singh A, Nissen MH, et al. Plasma markers of chronic low-grade inflammation in polypoidal choroidal vasculopathy and neovascular age-related macular degeneration. *Acta Ophthalmol*. 2019;97(1):99–106.
 120. Oh H, Takagi H, Takagi C, Suzuma K, Otani A, Ishida K, et al. The potential angiogenic role of macrophages in the formation of choroidal neovascular membranes. *Investig Ophthalmol Vis Sci*. 1999;40(9):1891–8.
 121. Lavalette S, Raoul W, Houssier M, Camelo S, Levy O, Calippe B, et al. Interleukin-1 β inhibition prevents choroidal neovascularization and does not exacerbate photoreceptor degeneration. *Am J Pathol*. 2011;178(5):2416–23.
 122. Chen X, Han R, Hao P, Wang L, Liu M, Jin M, et al. Nepetin inhibits IL-1 β

- induced inflammation via NF- κ B and MAPKs signaling pathways in ARPE-19 cells. *Biomed Pharmacother.* 2018;101:87–93.
123. Nahavandipour A, Krogh Nielsen M, Sørensen TL, Subhi Y. Systemic levels of interleukin-6 in patients with age-related macular degeneration: a systematic review and meta-analysis. *Acta Ophthalmol.* 2020;98(5):434–44.
 124. Du Z, Wu X, Song M, Li P, Wang L. Oxidative damage induces MCP-1 secretion and macrophage aggregation in age-related macular degeneration (AMD). *Graefe's Arch Clin Exp Ophthalmol.* 2016;254(12):2469–76.
 125. Kim SH, Mok JW, Kim HS, Joo CK. Association of -31T>C and -511 C>T polymorphisms in the interleukin 1 beta (IL1B) promoter in Korean keratoconus patients. *Mol Vis.* 2008;14(November):2109–16.
 126. Wang Y, Wei W, Zhang C, Zhang XH, Liu M, Zhu X, et al. Association of Interleukin-1 Gene Single Nucleotide Polymorphisms with Keratoconus in Chinese Han Population. *Curr Eye Res.* 2015;41(5):630–5.
 127. Nabil KM, Elhady GM, Morsy H. The association between interleukin 1 beta promoter polymorphisms and keratoconus incidence and severity in an Egyptian population. *Clin Ophthalmol.* 2019;13:2217–23.
 128. Mikami T, Meguro A, Teshigawara T, Takeuchi M, Uemoto R, Kawagoe T, et al. Interleukin 1 beta promoter polymorphism is associated with keratoconus in a Japanese population. *Mol Vis.* 2013;19(April):845–51.
 129. Oliveira MB, de Vasconcellos JPC, Ananina G, Costa VP, de Melo MB. Association between IL1A and IL1B polymorphisms and primary open angle glaucoma in a Brazilian population. *Exp Biol Med.* 2018;243(13):1083–91.
 130. Gomes dos Santos A, Watanabe EH, Ferreira DT, Oliveira J, Nakanishi ÉS, Oliveira CS, et al. A Specific IL6 Polymorphic Genotype Modulates the Risk of *Trypanosoma cruzi* Parasitemia While IL18, IL17A, and IL1B Variant Profiles and HIV Infection Protect Against Cardiomyopathy in Chagas Disease. *Front Immunol.* 2020;11:1–15.
 131. Krishna Priya EK, Srinivas L, Rajesh S, Sasikala K, Banerjee M. Pro-inflammatory cytokine response pre-dominates immuno-genetic pathway in development of rheumatoid arthritis. *Mol Biol Rep.* 2020;
 132. Liu W, Wang C, Tang L, Yang H. Associations between Gene Polymorphisms in Pro-inflammatory Cytokines and the Risk of Inflammatory Bowel Disease: A

- Meta-analysis. *Immunol Invest*. 2020;
133. Zhu P, Wu X, Zhou J, Wu K, Lu Y. Gene polymorphisms of pro-inflammatory cytokines may affect the risk of Graves' disease: a meta-analysis. *J Endocrinol Invest*. 2020;
 134. Rech TF, Mazzoleni LE, Mazzoleni F, Francesconi CF de M, Sander GB, Michita RT, et al. Analysis of the Influence of Interleukin-1 β Gene Polymorphism on Gastric Inflammatory Response and Precancerous Lesions Development in Patients with Functional Dyspepsia. *Immunol Invest*. 2020;1–12.
 135. Lyubomirskaya ES, Kamyshnyi AM, Krut YY, Smilianov VA, Fedoniuk LY, Romanyuk LB, et al. SNPs and transcriptional activity of genes of innate and adaptive immunity at the maternal-fetal interface in woman with preterm labour, associated with preterm premature rupture of membranes. *Wiad Lek*. 2020;73(1):25–30.
 136. Wadé NB, Chang CM, Conti D, Millstein J, Skibola C, Nieters A, et al. Infectious mononucleosis, immune genotypes, and non-Hodgkin lymphoma (NHL): an InterLymph Consortium study. *Cancer Causes Control*. 2020;31(5):451–62.
 137. Bialek K, Czarny P, Watala C, Synowiec E, Wigner P, Bijak M, et al. Preliminary Study of the Impact of Single-Nucleotide Polymorphisms of IL-1 α , IL-1 β and TNF- α Genes on the Occurrence, Severity and Treatment Effectiveness of the Major Depressive Disorder. *Cell Mol Neurobiol*. 2020;40(6):1049–56.
 138. Fu LY, Qiu X, Deng QL, Huang P, Pi L, Xu Y, et al. The IL-1B Gene Polymorphisms rs16944 and rs1143627 Contribute to an Increased Risk of Coronary Artery Lesions in Southern Chinese Children with Kawasaki Disease. *J Immunol Res*. 2019;2019:1–7.
 139. Gorący I, Kaczmarczyk M, Ciechanowicz A, Lewandowska K, Jakubiszyn P, Bodnar O, et al. Polymorphism of interleukin 1b may modulate the risk of ischemic stroke in polish patients. *Med*. 2019;55(9).
 140. Wang L, Zhao W, Hong J, Niu F, Li J, Zhang S, et al. Association between IL1B gene and cervical cancer susceptibility in Chinese Uygur Population: A Case–Control study. *Mol Genet Genomic Med*. 2019;7(8):1–11.

141. Tabatabaei-Panah PS, Moravvej H, Sadaf Z, Babaei H, Geranmayeh M, Hajmanouchehri S, et al. Proinflammatory cytokine gene polymorphisms in bullous pemphigoid. *Front Immunol.* 2019;10(MAR):1–10.
142. Majumder P, Panda SK, Ghosh S, Dey SK. Interleukin gene polymorphisms in chronic periodontitis: A case-control study in the Indian population. *Arch Oral Biol.* 2019;101:156–64.
143. Yu Y, Zhang Y, Wu J, Sun Y, Xiong Z, Niu F, et al. Genetic polymorphisms in IL1B predict susceptibility to steroid-induced osteonecrosis of the femoral head in Chinese Han population. *Osteoporos Int.* 2019;
144. Ahmadi A, Ghaedi H, Salimian J, Azimzadeh Jamalkandi S, Ghanei M. Association between chronic obstructive pulmonary disease and interleukins gene variants: A systematic review and meta-analysis. *Cytokine.* 2019;117(January):65–71.
145. Cubillos-Angulo JM, Arriaga MB, Silva EC, Müller BLA, Ramalho DMP, Fukutani KF, et al. Polymorphisms in TLR4 and TNFA and risk of mycobacterium tuberculosis infection and development of active disease in contacts of tuberculosis cases in Brazil: A prospective cohort study. *Clin Infect Dis.* 2019;69(6):1027–35.
146. Sultana Z, Bankura B, Pattanayak AK, Sengupta D, Sengupta M, Saha ML, et al. Association of Interleukin-1 beta and tumor necrosis factor-alpha genetic polymorphisms with gastric cancer in India. *Environ Mol Mutagen.* 2018;59(7):653–67.
147. Yu X, Zhang N, Liu S, Xi Z, Zhang Y. Polymorphisms in the interleukin-1 β (IL-1B) and interleukin-1 α (IL-1A) genes on risk of febrile seizures: a meta-analysis. *Neurol Sci.* 2018;39(9):1529–36.
148. Pawlikowska L, Nelson J, Guo DE, McCulloch CE, Lawton MT, Kim H, et al. Association of common candidate variants with vascular malformations and intracranial hemorrhage in hereditary hemorrhagic telangiectasia. *Mol Genet Genomic Med.* 2018;6(3):350–6.
149. Tak KH. Association Between Polymorphisms of Interleukin 1 Family Genes and Hepatocellular Carcinoma. 2018;3488–95.
150. Hudson ZD, Miller BJ. Meta-analysis of cytokine and chemokine genes in schizophrenia. *Clin Schizophr Relat Psychoses.* 2018;12(3):121–9.

151. Pérez-Ramírez C, Cañadas-Garre M, Alnatsha A, Molina MÁ, Robles AI, Villar E, et al. Interleukins as new prognostic genetic biomarkers in non-small cell lung cancer. *Surg Oncol*. 2017;26(3):278–85.
152. Chen W, Meng J, Qian H, Deng Z, Chen S, Xu H, et al. A study of IL-1 β , MMP-3, TGF- β 1, and GDF5 polymorphisms and their association with primary frozen shoulder in a Chinese Han population. *Biomed Res Int*. 2017;
153. Zhang Q, Yao Z, Xu L, Cheng X, Cui T. Association of IL-1 α , IL-1 β , IL-18 and IL-33 genetic variants with the risk of Alzheimer disease in a Chinese population. *Int J Clin Exp Pathol*. 2017;10(2):2127–34.
154. Ali Rahmani S, Paknejad Z, Mohammadkhanlou M, Daneshparvar M. Association of of IL-1 receptor antagonist (IL-1RN) and interleukin-1 β genes (IL-1 β) polymorphisms with recurrent pregnancy loss in Iranian Azeri women. *Horm Mol Biol Clin Investig*. 2017;33(3):1–6.
155. Li H, Jin Z, Li X, Wu L, Jin J. Associations between single-nucleotide polymorphisms and inflammatory bowel disease-associated colorectal cancers in inflammatory bowel disease patients: a meta-analysis. *Clin Transl Oncol*. 2017;19(8):1018–27.
156. Sun X, Cai H, Li Z, Li S, Yin W, Dong G, et al. Association between IL-1 β polymorphisms and gastritis risk. *Med (United States)*. 2017;96(5):1–8.
157. Kapelski P, Skibinska M, Maciukiewicz M, Pawlak J, Dmitrzak-Weglarczyk M, Szczepankiewicz A, et al. An Association Between Functional Polymorphisms of the Interleukin 1 Gene Complex and Schizophrenia Using Transmission Disequilibrium Test. *Arch Immunol Ther Exp (Warsz)*. 2016;64:161–8.
158. Langmia IM, Apalasy YD, Omar SZ, Mohamed Z. Impact of IL1B gene polymorphisms and interleukin 1B levels on susceptibility to spontaneous preterm birth. *Pharmacogenet Genomics*. 2016;26(11):505–9.
159. Nascimento H, Vieira E, Coimbra S, Catarino C, Costa E, Bronze-Da-Rocha E, et al. Adipokine gene single-nucleotide polymorphisms in Portuguese obese adolescents: Associations with plasma concentrations of adiponectin, resistin, IL-6, IL-1 β , and TNF- α . *Child Obes*. 2016;12(4):300–13.
160. Franciscatto AC, Ludwig FS, Matte US, Mota S, Stefani MA. Replication Study of Polymorphisms Associated With Brain Arteriovenous Malformation in a Population From South of Brazil. *Cureus*. 2016;8(2):1–10.

161. Yencilek F, Yildirim A, Yilmaz SG, Altinkilic EM, Dalan AB, Bastug Y, et al. Investigation of interleukin-1 β Polymorphisms in prostate cancer. *Anticancer Res.* 2015;35(11):6057–61.
162. Tian M, Deng YY, Hou DR, Li W, Feng XL, Yu ZL. Association of IL-1, IL-18, and IL-33 gene polymorphisms with late-onset Alzheimer's disease in a Hunan Han Chinese population. *Brain Res.* 2015;1596:136–45.
163. Dzhugashvili M, Luengo-Gil G, García T, González-Conejero R, Conesa-Zamora P, Escolar PP, et al. Role of genetic polymorphisms in NFKB-mediated inflammatory pathways in response to primary chemoradiation therapy for rectal cancer. *Int J Radiat Oncol Biol Phys.* 2014;90(3):595–602.
164. Wang X, Jiang F, Liang Y, Xu L, Li H, Liu Y, et al. Interleukin-1 β -31C/T and -511T/C polymorphisms were associated with preeclampsia in chinese Han population. *PLoS One.* 2014;9(9):7–11.
165. Xu H, Ding Q, Jiang HW. Genetic polymorphism of interleukin-1A (IL-1A), IL-1B, and IL-1 receptor antagonist (IL-1RN) and prostate cancer risk. *Asian Pacific J Cancer Prev.* 2014;15(20):8741–7.
166. David. Heier J et al. LDSGFMDGMB. Complement C3 Inhibitor Pegcetacoplan for Geographic Atrophy Secondary to Age-Related Macular Degeneration. *Ophthalmology* [Internet]. 2020 Feb;127(2):186–95. Available from: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0161642018331324>
167. Serra D, Angelucci R, Sugano D, Sampaio PR, Rehder JR. Análise epidemiológica dos pacientes acometidos por Degeneração Macular Relacionada à Idade, atendidos no Setor de Retina da Faculdade de Medicina do ABC. *Arq Bras Ciências da Saúde.* 2008;33(1):20–3.
168. Pradella FM, Nisihara RM, Sato MT, Grandinetti AA, Novello SB, Pires M, et al. Epidemiological profile of age-related macular degeneration patients in Federal University of Parana, Brazil. *Rev Bras Oftalmol.* 2016;75(5):352–5.
169. Colijn JM, Buitendijk GHS, Prokofyeva E, Alves D, Cachulo ML, Khawaja AP, et al. Prevalence of Age-Related Macular Degeneration in Europe: The Past and the Future. *Ophthalmology.* 2017;124(12):1753–63.
170. Klein R, Klein BEK, Knudtson MD, Wong TY, Cotch MF, Liu K, et al. Prevalence of age-related macular degeneration in 4 racial/ethnic groups in the multi-ethnic study of atherosclerosis. *Ophthalmology.* 2006;113(3):373–80.

171. Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE). Tabela 6403: População, por cor ou raça [Internet]. Available from: <https://sidra.ibge.gov.br/tabela/6403>
172. Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE). Pesquisa Nacional de Saúde 2013: Acesso e utilização dos serviços de saúde, acidentes e violências. Vol. 39. 2015.
173. Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE). Pesquisa Nacional de Saúde 2013: Indicadores de Saúde e Mercado de trabalho. 2016.
174. Levy D, de Almeida LM, Szklo A. The Brazil SimSmoke Policy Simulation Model: The Effect of Strong Tobacco Control Policies on Smoking Prevalence and Smoking-Attributable Deaths in a Middle Income Nation. *PLoS Med*. 2012;9(11).
175. Maller J, George S, Purcell S, Fagerness J, Altshuler D, Daly MJ, et al. Common variation in three genes, including a noncoding variant in CFH, strongly influences risk of age-related macular degeneration. *Nat Genet*. 2006;38(9):1055–9.
176. Grizzard WS, Arnett D, Haag SL. Twin study of age-related macular degeneration. *Ophthalmic Epidemiol*. 2003;10(5):315–22.
177. Michael L. Klein; William M. Mauldin; Vasiliki D.Stoumbos. Heredity and Age-Related Macular Degeneration Observations in Monozygotic Twins. *Arch Ophthalmol*. 1994;112:932–7.
178. Meyers SM, Greene T, Gutman FA. A twin study of age-related macular degeneration. *Am J Ophthalmol*. 1995;120(6):757–66.
179. Gottfredsdottir MS, Sverrisson T, Musch DC, Stefánsson E. Age related macular degeneration in monozygotic twins and their spouses in Iceland. *Acta Ophthalmol Scand*. 1999;77(4):422–5.
180. Wang JJ, Klein R, Smith W, Klein BEK, Tomany S, Mitchell P. Cataract surgery and the 5-year incidence of late-stage age-related maculopathy: Pooled findings from the Beaver Dam and Blue Mountains Eye Studies. *Ophthalmology*. 2003;110(10):1960–7.
181. Serracarbassa PD. Vitaminas e antioxidantes na degeneração macular relacionada à idade. *Arq Bras Oftalmol*. 2006;69(3):443–5.
182. Mares JA, Voland RP, Sondel SA, Millen AE, LaRowe T, Moeller SM, et al. Healthy lifestyles related to subsequent prevalence of age-related macular

- degeneration. *Arch Ophthalmol*. 2011;129(4):470–80.
183. Kang KT, Kim YC. Dietary Patterns and Age-Related Macular Degeneration in Korea: The Korea National Health and Nutrition Examination Survey 2010–2011. *Sci Rep*. 2019;9(1):1–10.
184. Ministério da Saúde, Secretaria de Vigilância em Saúde. *Vigitel Brasil 2019: Vigilância de fatores de risco e proteção para doenças crônicas por inquérito telefônico* [Internet]. 2020. 139 p. Available from: <https://www.saude.gov.br/images/pdf/2020/Abril/27/vigitel-brasil-2019-vigilancia-fatores-risco.pdf>
185. Seddon JM, Cote J, Davis N, Rosner B, Ho AC. Progression of age-related macular degeneration. *Evidence-Based Eye Care*. 2003;4(4):202–3.
186. Mitchell P, Smith W, Wang JJ. Iris color, skin sun sensitivity, and age-related maculopathy: The Blue Mountains Eye Study. *Ophthalmology*. 1998;105(8):1359–63.
187. Khan JC, Shahid H, Thurlby DA, Bradley M, Clayton DG, Moore AT, et al. Age related macular degeneration and sun exposure, iris colour, and skin sensitivity to sunlight. *Br J Ophthalmol*. 2006;90(1):29–32.
188. Schick T, Ersoy L, Lechanteur YTE, Saksens NTM, Hoyng CB, den Hollander AI, et al. History of Sunlight Exposure Is a Risk Factor for Age-Related Macular Degeneration. *Retina*. 2016;36(4):787–90.
189. McGuinness MB, Karahalios A, Simpson JA, Guymer RH, Robman LD, Hodge AM, et al. Past physical activity and age-related macular degeneration: The Melbourne Collaborative Cohort Study. *Br J Ophthalmol*. 2016;100(10):1353–8.
190. Knudtson MD, Klein R, Klein BEK. Physical activity and the 15-year cumulative incidence of age-related macular degeneration: The Beaver Dam Eye Study. *Br J Ophthalmol*. 2006;90(12):1461–3.
191. Klein R, Cruickshanks KJ, Nash SD, Krantz EM, Nieto FJ, Huang GH, et al. The prevalence of age-related macular degeneration and associated risk factors. *Arch Ophthalmol*. 2010;128(6):750–8.
192. Kymionis GD, Panagiotoglou TD, Yoo SH, Tsiklis NS, Christodoulakis E, Hajithanasis GC, et al. Central corneal thickness in patients with neovascular age-related macular degeneration. *Cornea*. 2007;26(2):182–4.

ANEXO A – Questionário (UERJ)**QUESTIONÁRIO: FATORES DE RISCO AMBIENTAIS EM DMRI****DADOS GERAIS**

NOME: _____

PRONTUARIO: _____

DN: ____/____/____

PROCEDENCIA: CIDADE/UF: _____

TEL: _____ CEL _____ RECAD0 _____

END: _____

BAIRRO _____ CEP _____ CID/UF _____

SEÇÃO A:**INFORMAÇÕES DEMOGRÁFICAS**1. IDADE: 1 50-59 2 60-69 3 70-79 4 >802. SEXO: 1 F 2 M

3. Antes de vir para o Brasil, de que país eram seus pais/avós/bisavós?

1 Maternos _____ NÃO SEI2 Paternos _____ NÃO SEI

4. De qual raça/etnia se considera?

1 Branco 2 Asiática 3 Mulato/Pardo 4 Ameríndio 5 Negra6 Outro: _____

5. PESO: _____ Kg ALTURA: _____ m

IMC (índice de massa corpórea): 1 <22 2 22-30 3 > ou= 30

Qual foi seu maior peso até hoje (não incluindo gravidezes)? _____ Kg

Quantos anos você tinha nessa época?

6. PROFISSÃO atual: _____

Trabalhos anteriores: _____

7. EDUCAÇÃO (o último nível escolar que cursou):

1 Abaixo da 8ª série2 8ª série completa3 1-3 anos de colegial4 finalizou o colegial

- 5 1-3 anos de universidade
 6 finalizou a universidade
 7 Educação além da universidade

SEÇÃO B: HISTÓRIA DE TABAGISMO

8. Alguma vez fumou pelo menos um cigarro por dia por seis meses ou mais?

- 0 NÃO
 1 SIM _____ cigarros/dia
 2 ex-fumante há _____ ano (s)
 3 fumante passivo (no trabalho/parceiro fumante)

9. Que tipo de cigarro? _____

10. SE SIM: Com que idade começou a fumar cigarros? _____ ANOS

11. SE SIM: Fuma cigarros hoje?

- 0 NÃO 1 SIM

12. Contando com os momentos em que parou de fumar, quantos anos fumou no total?
 _____ ANOS

SOMENTE PARA FUMANTES ATUAIS:

13. Quantos cigarros fuma por dia agora? _____ CIGARROS

14. Aproximadamente quantos cigarros fumou por dia durante a maior parte do tempo desde que começou a fumar? _____ CIGARROS

EX-FUMANTES:

15. Com que idade parou de fumar? _____ ANOS

16. Aproximadamente quantos cigarros fumou por dia durante a maior parte do tempo desde que você começou a fumar? _____ CIGARROS

SEÇÃO C: ETILISMO, HÁBITOS ALIMENTARES, EXPOSIÇÃO SOLAR, SEDENTARISMO

17. ETILISMO:

- 0 NÃO
 1 SIM (> 3 doses diárias)
 2 ex-etilista há _____ ano(s)

18. ALIMENTAÇÃO (ingestão de verduras/frutas pelo menos 3d/semana):

- 0 NÃO 1 SIM

19. ATIVIDADE FÍSICA (academia/caminhada/hidroginástica):

0 NÃO 1 SIM 2x/semana 2 SIM 3x ou mais/semana

20. EXPOSIÇÃO SOLAR (em média de 20 anos na vida adulta): 0 NÃO 1 SIM

21. RESIDE EM: 1 área urbana (cidade) 2 área rural (campo)

SEÇÃO D: AVALIAÇÃO OFTALMOLÓGICA

22. QUEIXA (S):

0 NÃO (sem queixas oculares)

1 BAV súbita OD

2 BAV súbita OE

3 BAV progressiva OD

4 BAV progressiva OE

5 escotoma (s) central (is) OD

6 escotoma (s) central (is) OE

7 escotoma (s) paracentral (is) OD

8 escotoma (s) paracentral (is) OE

9 metamorfopsia OD

10 metamorfopsia OE

11 outro (s) _____

23. AF: 0 NÃO 1 SIM 2 pai 3 mãe 4 irmãos 5 avô/avó paterno (s)

6 avô/avó materno (s) 7 outro(s) _____

24. COR DA ÍRIS: 1 clara 2 média 3 escura

25. VÍCIO REFRACTIONAL (>1D): 0 NÃO 1 miopia 2 hipermetropia 3 astigmatismo

26. DOENÇAS SISTÊMICAS:

0 NÃO

1 HAS (sist. \geq 160mmHg/diast. \geq 95 mmHg)

2 diabetes (insulina)

3 diabetes (hipoglicemiantes)

4 diabetes (dieta)

5 angina

6 AVC

7 câncer de pele

8 artrite reumatoide

9 artrose

10 tireoidopatias

11 outra(s) _____

27. CATARATA: 0 NÃO 1 OD 2 OE 3 OD operado 4 OE operado

28. PAQUIMETRIA: OD _____ OE _____

29. PIO: OD _____ mmHg OE _____ mmHg

30. OUTRAS DOENÇAS OCULARES:

0 NÃO 1 uveíte OD 2 uveíte OE 3 DR OD 4 DR OE 5 glaucoma OD
6 glaucoma OE 7 pterígio OD 8 pterígio OE
9 outra(s) _____

31. COLESTEROL TOTAL ALTO: 0 NÃO 1 SIM _____
HDL _____ LDL _____

32. TRIGLICÉRIDES ALTO: 0 NÃO 1 SIM _____

33. MEDICAÇÃO EM USO:

0 NÃO 1 diurético 2 betabloqueador 3 bloqueador de cálcio 4 aspirina
5 digoxina 6 antiarrítmico 7 hipoglicemiante oral 8 insulina 9 antiácido
10 antiinflamatório 11 hormônio de tireóide 12 estrógeno
13 progesterona 14 outro(s) _____

34. USO DE VITAMINAS/MINERAIS (há mais de 3 anos):

0 NÃO 1 centrum/ocuvite/vitergan/vitalux 2 ômega 3 outros polivitamínicos
4 zinco 5 luteína/zeaxantina 6 outro(s) suplemento(s) _____

35. AV C/C (tabela ETDRS 4m/ Snellen) :

1 PL OD _____ 2 PL OE _____
3 PP OD _____ 4 PP OE: _____

36. USA AUXÍLIO ÓPTICO: 0 NÃO 1 SIM qual: _____

37. ACESSO A REABILITAÇÃO: 0 NÃO 1 SIM qual (is): _____

38. TIPO DE DMRI: segundo CARMS (Age-Related Maculopathy Grading System) grade
1=ausência de DMRI, grade 2=small drusen and/or pigment irregularities, grade
3=intermediate AMD, grade 4=central or noncentral geographic atrophy, grade
5=neovascular disease

OD 1 2 3 4 5 6 outro (s) _____

39. TIPO DE DMRI

OE 1 2 3 4 5 6 outro (s) _____

40. ANGIO/RETINOGRRAFIA: OD

1 DRUSAS MOLES (>125µm) 2 DRUSAS DURAS (>125µm) 3 ATROFIA EPR
4 MNVC 5 FIBROSE SUBRETINIANA 6 CICATRIZ FOTOCOAG. 7 DEP
8 HEMORRAGIA (s) 9 PROLIF. PIGMENTAR 10 outro (s) _____

41. ANGIO/RETINOGRRAFIA: OE

- 1 DRUSAS MOLES (>125µm) 2 DRUSAS DURAS (>125µm) 3 ATROFIA EPR
 4 MNVC 5 FIBROSE SUBRETINIANA 6 CICATRIZ FOTOCOAG. 7 DEP
 8 HEMORRAGIA (s) 9 PROLIF. PIGMENTAR 10 outro (s) _____

42. OCT: OD espessura macular: _____ MNVS tipo: _____
 OE espessura macular: _____ MNVS tipo: _____

43. TRATAMENTO REALIZADO: OD

- 0 NÃO
 1 LASER
 2 PDT
 3 ANTI-ANGIOGÊNICO LUCENTIS () AVASTIN () EYLEA () _____ APLICAÇÕES
 4 TRIANC + ANTIANGIOG LUCENTIS () AVASTIN() EYLEA () _____ APLICAÇÕES
 5 outro(s) _____

44. TRATAMENTO REALIZADO: OE

- 0 NÃO
 1 LASER
 2 PDT
 3 ANTI-ANGIOGÊNICO LUCENTIS () AVASTIN () EYLEA () _____ APLICAÇÕES
 4 TRIANC + ANTIANGIOG LUCENTIS () AVASTIN() EYLEA () _____ APLICAÇÕES
 5 outro(s) _____

ANEXO B – Parecer do Comitê de Ética em Pesquisa



PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

DADOS DO PROJETO DE PESQUISA

Título da Pesquisa: Análise da variação genética mitocondrial em portadores de DMRI em um Hospital Universitário no Rio de Janeiro/Brasil

Pesquisador: LANA SAYURI MAKITA

Área Temática: Genética Humana:

(Trata-se de pesquisa envolvendo Genética Humana que não necessita de análise ética por parte da CONEP;);

Versão: 1

CAAE: 81983717.7.1001.5259

Instituição Proponente: Universidade do Estado do Rio de Janeiro - UERJ

Patrocinador Principal: Financiamento Próprio

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 2.531.431

Apresentação do Projeto:

A degeneração macular relacionada à idade (DMRI) é uma doença ocular degenerativa que afeta a região central da retina, denominada mácula, responsável pela visão de cores e detalhes. A DMRI é a principal causa de cegueira legal em pacientes com mais de 50 anos de idade nos países desenvolvidos, apresentando-se como doença complexa e multifacetada, com fatores predisponentes genéticos e ambientais variados. As pesquisas dos mecanismos genéticos relacionados à degeneração macular relacionada à idade avançam profundamente à procura de seu entendimento e sua possível cura, ainda não descoberta. A disfunção mitocondrial apresenta um papel importante no desenvolvimento e progressão da DMRI e algumas de suas principais variações genéticas foram identificadas e vem sendo associadas à diferentes regiões (América do Norte, Europa, Ásia, África). Os trabalhos epidemiológicos relacionados à DMRI no Brasil são escassos na literatura. Esse projeto tem por intuito estudar o perfil genético da variação mitocondrial e os riscos da DMRI em uma amostra da população brasileira, em um centro de referência oftalmológico no

Endereço: Avenida 28 de Setembro 77 - Térreo

Bairro: Vila Isabel

CEP: 20.551-030

UF: RJ

Município: RIO DE JANEIRO

Telefone: (21)2868-8253

E-mail: cep.hupe.interno@gmail.com



Continuação do Parecer: 2.531.431

Estado do Rio de Janeiro – Hospital Universitário Pedro Ernesto. Pacientes portadores de DMRI, após consentimento esclarecido, participarão de entrevista com questionário e realizarão coleta de amostra sanguínea para análise genética laboratorial. Objetiva-se traçar o perfil da genética mitocondrial dos pacientes com DMRI na população estudada, assim como suas possíveis variações gênicas.

Objetivo da Pesquisa:

Objetivo Primário:

IDENTIFICAÇÃO DAS VARIANTES GENÉTICAS MITOCONDRIAIS (POLIMORFISMOS- SNPS) NOS PACIENTES COM DEGENERAÇÃO MACULAR RELACIONADA A IDADE.

Objetivo Secundário:

- IDENTIFICAÇÃO E AVALIAÇÃO DA FREQUÊNCIA DOS PRINCIPAIS HAPLOGRUPOS MITOCONDRIAIS : (A, B, C, D, X) – ORIGINADOS DA AMÉRICA DO NORTE (H, I, J, K, T, U, V, W E X) – ORIGINADOS DA EUROPA (L1 A L3) – ORIGINADOS DA ÁFRICA
- IDENTIFICAR E CORRELACIONAR OS PRINCIPAIS FATORES DE RISCO PARA DMRI NO GRUPO EM ESTUDO.

Avaliação dos Riscos e Benefícios:

Riscos:

Será realizada uma punção venosa periférica em região cubital de membro superior uma única vez por profissional da enfermagem experiente onde será retirada uma quantidade de sangue venoso de 5 ml, sem prejuízo à saúde.

Benefícios:

Não há benefícios específicos aos pacientes submetidos à pesquisa. Os mesmos poderão aceitar ou recusar participar da mesma, sem constrangimento, perda de seguimento ou modificação em sua assistência médica.

Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:

- Os pacientes serão selecionados conforme acompanhamento e admissão setor de Oftalmologia do HUPE durante o período do estudo;
- Após explicação do projeto e assinatura do termo livre e esclarecido, os pacientes selecionados serão submetidos à exames de biomicroscopia e

Endereço: Avenida 28 de Setembro 77 - Térreo

Bairro: Vila Isabel

CEP: 20.551-030

UF: RJ

Município: RIO DE JANEIRO

Telefone: (21)2868-8253

E-mail: cep.hupe.interno@gmail.com



Continuação do Parecer: 2.531.431

fundoscopia realizadas na lâmpada de fenda

- Os pacientes serão submetidos à retinografia, ao exame de OCT (Tomografia de Coerência Óptica) de alta resolução com o aparelho Spectralis®

(Heidelberg Engineering, Heidelberg, Germany), paquimetria e à auto-fluorescência.

- Será aplicado o questionário "Fatores de risco ambientais e genéticos em DMRI" a todos os pacientes da pesquisa. A entrevista será realizada

pela pesquisadora principal em uma sala reservada.

- Ao final da entrevista serão coletados 5 mL de sangue periférico venoso de todos os indivíduos incluídos no estudo, em frasco estéril com EDTA

10% como anticoagulante, para posterior extração de DNA por enfermeiro experiente do serviço de Oftalmologia;

- As amostras sanguíneas serão analisadas pelo Laboratório do Centro de Biologia Molecular e Engenharia Genética (CBMEG) – UNICAMP/SP.

- Os resultados serão submetido à análise estatística para conclusão da pesquisa.

Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:

Foram avaliadas as informações contidas na Plataforma Brasil e as mesmas se encontram dentro das normas vigentes e sem riscos eminentes aos participantes envolvidos de pesquisa.

Recomendações:

De acordo com a Resolução 446/12 do Conselho Nacional de Saúde/CNS, o termo de consentimento livre e esclarecido (TCLE), que deverá seguir os seguintes itens:

- Os campos de assinatura devem seguir o seguinte padrão:

_____	_____	____/____/____
Nome do Participante	Assinatura do Participante	Data
_____	_____	____/____/____
Nome do Pesquisador	Assinatura do Pesquisador	Data

alterar:

Contado do Comitê de Ética em Pesquisa - Caso seja necessário você pode entrar em contato com o Comitê de Ética em Pesquisa do HUPE para esclarecimentos ou informações quanto a validade da pesquisa: Av. 28 de setembro, 77 térreo Vila Isabel – CEP 20551-030 - Tel: 21-2868.8253 – Email: cep-hupe@uerj.br.

Endereço: Avenida 28 de Setembro 77 - Térreo		
Bairro: Vila Isabel		CEP: 20.551-030
UF: RJ	Município: RIO DE JANEIRO	
Telefone: (21)2868-8253		E-mail: cep.hupe.interno@gmail.com



Continuação do Parecer: 2.531.431

Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:

O projeto pode ser realizado da forma como está apresentado. Diante do exposto e à luz da Resolução CNS nº466/2012, o projeto pode ser enquadrado na categoria – APROVADO.

Considerações Finais a critério do CEP:

Tendo em vista a legislação vigente, o CEP recomenda ao Pesquisador: Comunicar toda e qualquer alteração do projeto e no termo de consentimento livre e esclarecido, para análise das mudanças; Informar imediatamente qualquer evento adverso ocorrido durante o desenvolvimento da pesquisa; O Comitê de Ética solicita a V. Sª., que encaminhe relatórios parciais de andamento a cada 06 (seis) Meses da pesquisa e ao término, encaminhe a esta comissão um sumário dos resultados do projeto; Os dados individuais de todas as etapas da pesquisa devem ser mantidos em local seguro por 5 anos para possível auditoria dos órgãos competentes.

Este parecer foi elaborado baseado nos documentos abaixo relacionados:

Tipo Documento	Arquivo	Postagem	Autor	Situação
Informações Básicas do Projeto	PB_INFORMAÇÕES_BÁSICAS_DO_PROJETO_948657.pdf	15/11/2017 10:21:47		Aceito
Projeto Detalhado / Brochura Investigador	projeto_mestrado.doc	15/11/2017 10:20:46	LANA SAYURI MAKITA	Aceito
Folha de Rosto	folhaDeRosto.pdf	07/11/2017 22:31:32	LANA SAYURI MAKITA	Aceito
Outros	questionario.docx	07/11/2017 22:17:39	LANA SAYURI MAKITA	Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	TERMO_DE_CONSENTIMENTO_LIVRE_ESCLARECIDO.docx	07/11/2017 22:15:18	LANA SAYURI MAKITA	Aceito

Situação do Parecer:

Aprovado

Necessita Apreciação da CONEP:

Não

Endereço: Avenida 28 de Setembro 77 - Térreo

Bairro: Vila Isabel

CEP: 20.551-030

UF: RJ

Município: RIO DE JANEIRO

Telefone: (21)2668-8253

E-mail: cep.hupe.interno@gmail.com



Continuação do Parecer: 2.531.431

RIO DE JANEIRO, 07 de Março de 2018

Assinado por:
WILLE OIGMAN
(Coordenador)

Endereço: Avenida 28 de Setembro 77 - Térreo
Bairro: Vila Isabel CEP: 20.551-030
UF: RJ Município: RIO DE JANEIRO
Telefone: (21)2668-8253 E-mail: cep.hupe.interno@gmail.com

APÊNDICE A – Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE)

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

Você está sendo convidado(a) a participar, como voluntário(a), do estudo intitulado “*Estudo do perfil genético e fenotípico de pacientes com degeneração macular relacionada à idade em Hospital Universitário no Sudeste do Brasil*” conduzido pela dra. Lana Sayuri Makita.

OBJETIVO DA PESQUISA:

Esse é um estudo que envolve pacientes com degeneração macular relacionada à idade. O objetivo geral é identificar genes que participam da caracterização do perfil genético da degeneração macular relacionada à idade e os principais fatores fenotípicos (características) associados à essa doença em nossa amostra selecionada de pacientes. Esses estudos poderão levantar dados que possibilitarão um conhecimento mais aprofundado sobre a degeneração macular relacionada à idade, doença que representa uma das principais causas de cegueira no mundo. Tanto as amostras de DNA, como a informação médica que forem obtidas para este estudo, poderão ser compartilhadas com outros pesquisadores, podendo assim ser utilizadas eventualmente para outros fins de pesquisa desta moléstia. O sigilo será mantido em todos os estudos colaborativos através da utilização de um código para a identificação dos indivíduos participantes.

PROCEDIMENTO:

Você foi selecionado (a) por apresentar degeneração macular relacionada à idade, ter mais de 50 anos de idade e não possuir outra doença oftalmológica que possa interferir nos resultados finais. Sua participação não é obrigatória. A qualquer momento, você poderá desistir de participar e retirar seu consentimento. Sua recusa, desistência ou retirada de consentimento não acarretará prejuízo.

Sua participação nessa pesquisa consistirá em responder uma entrevista com perguntas a respeito dos seus antecedentes médicos e familiares. Essa entrevista será realizada na sala 3 do setor de Oftalmologia do Hospital Universitário Pedro Ernesto e será feita pela pesquisadora principal, dra. Lana Makita, tendo em média 40 minutos de duração, podendo o acompanhante familiar estar presente. Durante a entrevista, não será realizada gravação de áudio ou imagem.

Você será submetido também a um exame oftalmológico para confirmar seu estado clínico. O exame oftalmológico tem o objetivo de observar se há alterações no olho que lembrem aquelas que vemos na degeneração macular relacionada à idade. Estes procedimentos são normalmente realizados em qualquer exame oftalmológico, são seguros e não apresentam riscos à sua vista. Finalmente, uma amostra de sangue será colhida (5 a 10 ml, o equivalente a duas colheres de sopa). Hospitalização não será necessária. O DNA, extraído a partir do sangue de cada paciente, será preservado conforme o Regimento do Laboratório de Genética Molecular Humana do CBMEG (UNICAMP) se o paciente assim o consentir. A entrevista, o exame oftalmológico e a coleta de sangue serão realizados no mesmo dia.

RISCO E DESCONFORTO:

Uma coleta de 5 a 10 ml de sangue será efetuada. Os riscos associados a esse procedimento são mínimos, podendo ocorrer dor e manchas roxas (equimoses) no local da coleta de sangue. O desconforto será mínimo, pois se trata de uma coleta de sangue geralmente da veia do braço que será realizado por profissional treinado e devidamente habilitado para realizar esse procedimento.

VANTAGENS:

Não haverá nenhuma vantagem direta com a participação neste estudo e o diagnóstico e o seu tratamento provavelmente não serão modificados. Os resultados dos testes moleculares que por ventura forem obtidos estarão disponíveis através do acompanhamento no ambulatório de origem. A participação neste estudo não é remunerada e nem implicará gastos para os participantes.

SIGILO:

As informações médicas, assim como os resultados dos testes genéticos decorrentes desse projeto de pesquisa, farão parte do prontuário médico do propósito e serão submetidos aos regulamentos do Hospital Universitário Pedro Ernesto, referentes ao sigilo da informação médica.

Os dados obtidos por meio desta pesquisa serão confidenciais e não serão divulgados em nível individual, visando assegurar o sigilo de sua participação. O pesquisador responsável se comprometeu a tornar públicos nos meios acadêmicos e científicos os resultados obtidos de forma consolidada sem qualquer identificação de indivíduos participantes.

FORNECIMENTO DE INFORMAÇÃO ADICIONAL:

Caso você concorde em participar desta pesquisa, assine ao final deste documento, que possui duas vias, sendo uma delas sua, e a outra, do pesquisador responsável / coordenador da pesquisa. Seguem os telefones e o endereço institucional do pesquisador responsável e do Comitê de Ética em Pesquisa – CEP, onde você poderá tirar suas dúvidas sobre o projeto e sua participação nele, agora ou a qualquer momento.

Contatos do pesquisador responsável: DRA. LANA SAYURI MAKITA, Fellow em Retina, tel: (21) 2868-8304 ou (21) 2868-8302, Hospital Universitário Pedro Ernesto, Boulevard 28 de Setembro, 77 - Vila Isabel, Rio de Janeiro - RJ, 20551-030- Setor de Oftalmologia – 4º andar. E-mail: lanasayuri@uerj.br

Contado do Comitê de Ética em Pesquisa - Caso seja necessário você pode entrar em contato com o Comitê de Ética em Pesquisa do HUPE para esclarecimentos ou informações quanto a validade da pesquisa: Av. 28 de setembro, 77 térreo Vila Isabel – CEP 20551-030 - Tel: 21-2868.8253 – Email: cephupe@uerj.br.

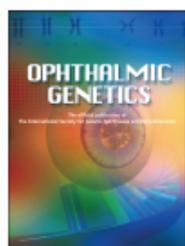
DESCONTINUAÇÃO DA PARTICIPAÇÃO:

Sua participação é voluntária e você pode se recusar a participar ou retirar seu consentimento e interromper a sua participação no estudo a qualquer momento (incluindo a retirada da amostra de sangue) sem comprometer os cuidados médicos que recebe atualmente ou receberá no futuro no Hospital Universitário Pedro Ernesto. Você reconhece também que a Dra. Lana Sayuri Makita pode interromper a sua participação nesse estudo a qualquer momento que julgar apropriado. Você é informado que pode autorizar que esse material genético seja guardado no Banco de Material Biológico do Laboratório de Genética Molecular Humana CBMEG/UNICAMP. Caso este material venha a ser útil para outros estudos aprovados pelo Comitê de Ética, você está ciente que será informado para que autorize ou não o uso da(s) amostra(s).

- Inclui o armazenamento do material para pesquisas genéticas futuras.
- Determina que o material deva ser descartado após o término da pesquisa.

Declaro que entendi os objetivos, riscos e benefícios de minha participação na pesquisa, e que concordo em participar.

_____	_____	____/____/____
Nome do Participante	Assinatura do Participante	Data
_____	_____	____/____/____
Nome do Pesquisador	Assinatura do Pesquisador	Data

APÊNDICE B – Artigo científico publicado com resultados da análise genética.**Ophthalmic Genetics**ISSN: (Print) (Online) Journal homepage: <https://www.tandfonline.com/loi/iopg20>

Interleukin-1 β -31 (rs1143627) genetic variant and the risk of age-related macular degeneration in the Brazilian population

Lana Sayuri Makita, Bernardo Carvalho Muniz, Alícia Buffoni Roque da Silva, Flávia Fialho Bajano, Fábio Endo Hirata, Marcelo do Amaral, Priscila Hae Hyun Rim, Gabriela Queila de Carvalho-Siqueira, José Paulo Cabral de Vasconcellos, Mônica Barbosa de Melo & Flávio Mac Cord Medina

To cite this article: Lana Sayuri Makita, Bernardo Carvalho Muniz, Alícia Buffoni Roque da Silva, Flávia Fialho Bajano, Fábio Endo Hirata, Marcelo do Amaral, Priscila Hae Hyun Rim, Gabriela Queila de Carvalho-Siqueira, José Paulo Cabral de Vasconcellos, Mônica Barbosa de Melo & Flávio Mac Cord Medina (2021): Interleukin-1 β -31 (rs1143627) genetic variant and the risk of age-related macular degeneration in the Brazilian population, *Ophthalmic Genetics*, DOI: [10.1080/13816810.2021.1929337](https://doi.org/10.1080/13816810.2021.1929337)

To link to this article: <https://doi.org/10.1080/13816810.2021.1929337>



Published online: 16 Jun 2021.

Submit your article to this journal [↗](#)View related articles [↗](#)View Crossmark data [↗](#)

Full Terms & Conditions of access and use can be found at
<https://www.tandfonline.com/action/journalInformation?journalCode=iopg20>

RESEARCH REPORTS



Interleukin-1 β -31 (rs1143627) genetic variant and the risk of age-related macular degeneration in the Brazilian population

Lana Sayuri Makita ^a, Bernardo Carvalho Muniz ^b, Alcía Buffoni Roque da Silva ^c, Flávia Fialho Bajano ^d, Fábio Endo Hirata^c, Marcelo do Amaral ^e, Priscila Hae Hyun Rim ^f, Gabriela Queila de Carvalho-Siqueira ^d, José Paulo Cabral de Vasconcellos ^f, Mônica Barbosa de Melo ^d, and Flávio Mac Cord Medina ^a

^aDepartment of Ophthalmology, Faculty of Medical Sciences, University of State of Rio de Janeiro (UERJ), Rio de Janeiro, Brazil; ^bDepartment of Radiology, Santa Teresa Hospital, Petrópolis, Brazil; ^cDepartment of Ophthalmology, Faculty of Medical Sciences, University of Campinas (UNICAMP), Campinas, Brazil; ^dLaboratory of Human Genetics, Center for Molecular Biology and Genetic Engineering, University of Campinas (UNICAMP), Campinas, Brazil; ^eInstitute of Mathematics and Statistics, University of State of Rio de Janeiro (UERJ), Rio De Janeiro, Brazil

ABSTRACT

Background: Age-related macular degeneration (AMD) is a multifactorial disease and one of the main causes of blindness in people over 50 years old. The etiology and pathophysiology of AMD are not well understood. The aim of this study was to investigate whether the rs1143627 variant allele of IL1B, which encodes Interleukin (IL)-1 β , a key cytokine, mediates immune and inflammatory responses.

Methods: A case-control study was conducted with 397 AMD patients and 402 controls in Brazil. IL1B genotyping was carried out with TaqMan[®] genotyping assay. Differences in IL1B allele frequencies and genotypes were evaluated between patients and controls and between wet and dry subgroups of AMD. Relationships between allele presence/genotype and disease risk are reported as odds ratios (ORs) with 95% confidence intervals (CIs).

Results: Genotype proportions for the rs1143627 variant allele of IL1B were similar between AMD patients and controls ($p = .21$), with 84.38% of AMD patients and 79.60% of the controls carrying the variant allele. We observed a trend toward the variant allele being associated with AMD risk (OR = 1.38, 95% CI 0.95–2.03, $p = .08$), as well as a trend toward the variant allele being associated with increased risk for wet AMD in particular (OR = 1.23, 95% CI 0.96–1.56, $p = .08$).

Conclusions: The rs1143627 variant was not associated with AMD risk in this Brazilian population sample. Larger studies are warranted to determine whether the trends observed in this study reflect a relationship between this variant and risk of AMD, especially wet AMD.

ARTICLE HISTORY

Received September 12, 2020
Revised March 8, 2021
Accepted May 8, 2021

KEYWORDS

Age-related macular degeneration (AMD); cytokine; IL-1 β ; rs1143627; single-nucleotide polymorphism (SNP)

Introduction

Age-related macular degeneration (AMD) is a degenerative eye disease that affects the macular region, which is the area of the retina responsible for central vision. AMD is characterized by a progressive loss of photoreceptors and retinal pigment epithelium (RPE) in the macular region, leading to central visual loss that is irreversible in advanced-stage AMD. It affects people older than 50 years of age and mainly people over 60 years old (1).

The world population is projected to reach 8.6 billion people by 2030, with most of the projected population growth occurring in developing countries. Brazil, which is still considered to be a developing country, is undergoing a population structure change wherein a defining feature of the change is population aging. By the year 2031, the elderly population in Brazil is expected to exceed the number of juveniles, including young children and adolescents, for the first time. Consequently, Brazil should be prepared for the coming increases in patients with degenerative diseases. Although there have been limited few population studies in Brazil, it has been estimated that

approximately 4% of blindness cases in Brazil are associated with macular degeneration (2).

In the early stages of AMD, drusen and pigmentary changes can be observed in the retina in the absence of clinically detectable visual impairment. In the advanced AMD stages, the disease may progress to either dry or wet form. In dry AMD, there is atrophy of RPE cells and photoreceptors that can lead to geographic atrophy in the fovea and thus permanent loss of central vision acuity (3). In wet AMD, central visual loss occurs due to the growth of abnormal choroidal blood vessels that are prone to breakage and subretinal exudation, causing the retina to become detached and develop permanent fibrotic disciform scarring of the macula (3).

AMD is a complex multifactorial disease, the development and progression of which are influenced by genetic, physiological, and environmental factors. Although the pathogenesis of AMD is not yet fully understood, several risk factors for AMD have been identified including demographic and lifestyle factors, such as advanced age and smoking, as well as genetic and hereditary factors, including single-nucleotide polymorphisms

CONTACT Lana Sayuri Makita  lanasayuri@gmail.com  Department of Ophthalmology, Faculty of Medical Sciences, University of State of Rio de Janeiro (UERJ), Rua General Osório, 89, Apto 1203, Petrópolis, Rio de Janeiro CEP: 25620-160, Brazil

This study was performed in Pedro Ernesto University Hospital of University of State of Rio de Janeiro and in the Center for Molecular Biology and Genetic Engineering, at University of Campinas, São Paulo, in Brazil.

© 2021 Taylor & Francis Group, LLC

(SNPs) and ethnicity (4,5). Notably, with respect to physiological processes, AMD development and progression have been associated with oxidative stress and inflammatory status (6). Inflammatory processes are modulated by cytokines, the signaling proteins that mediate immune system responses. With respect to AMD risk, the cytokine interleukin (IL)-18 has been associated with the formation of choroidal neovascular membranes (7,8). Two other studies suggested that carriers of the IL-4 -590 C > T SNP (rs2243250) and carriers of the IL-17A -197 G > A and *1249 C > T SNPs (rs2275913 and rs3748067, respectively) are at increased risk of AMD (9,10).

IL-18 and IL-1 β are activated by the NLRP-3 inflammasome, which has been associated with the development of dry and wet AMD (6). IL-1 β , a potent pro-inflammatory regulatory cytokine produced by innate immune system cells (11), is one of the initial cytokines produced after retinal RPE activation (12). Additionally, RPE cellular expression of IL-1 β has been reported to be influenced by the presence of increased oxidative damage and drusenoid components, such as β -amyloid (13) and the lipofuscin constituent fluorophore A2E (14). However, the involvement of IL-1 β in AMD is not well established.

The IL-1 β -31 G > A SNP (rs1143627) is in the promoter region of IL1B, the gene encoding IL-1 β , and therefore may affect IL1B transcription, thereby influencing the quantity and quality of IL-1 β -regulated cytokines produced and, potentially, modulating susceptibility to pathologies. Carriers of the rs1143627 variant allele of IL1B have been reported to be at increased risk of keratoconus, primary open-angle glaucoma, as well as dyspeptic diseases (15–17). The aim of this study was to evaluate the association of the IL-1 β -31 G > A SNP (rs1143627) with the prevalence and progression of AMD in a Brazilian population sample.

Materials and methods

A total of 397 consecutive patients diagnosed with AMD in the Ophthalmology Department at the Clinical Hospital, University of Campinas, São Paulo, and in the Ophthalmology Department at Pedro Ernesto University Hospital, University of State of Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, Brazil, were considered candidates for the study. In addition, 402 individuals older than 50 years of age without the disease were enrolled in this study comprising the control group. These individuals consisted of non-family companions of patients examined in the retina clinic, as well as patients examined in the respective ophthalmology departments with initial and/or intermediate cataracts.

Patients included in the case group were aged over 50 years old and classified according to the Clinical Age-Related Maculopathy System (CARMS) (18). Considering the status of the worse eye, the control group corresponded to CARMS 1 and the case group, to CARMS from 2 to 5. Furthermore, this group was stratified into dry (CARMS 2 to 4) and wet (CARMS 5) forms of AMD and into non-advanced (CARMS 2 and 3) and advanced (CARMS 4 and 5) disease.

The exclusion criteria for both case and control groups were as follows: any other ophthalmologic diseases that could be related to the development of macular neovascularization

(polypoidal choroidal vasculopathy, high myopia, inflammatory or hereditary chorioretinal disease, angioid streaks, trauma, or infection) or presence of macular hemorrhage from any other cause; patients who did not agree to participate in the research study by signing the informed consent form; refusal of adequate ophthalmological examination; or inability to complete visual acuity assessment.

Additionally, control subjects were excluded if they had any signs of AMD, such as drusen or RPE changes, determined by funduscopy examination. AMD patients underwent complete ophthalmic examination, including visual acuity testing, refraction, biomicroscopy, and funduscopy, specular microscopy (Tomey EM-3000*, Tomey Corporation, Aichi, Japan), optical coherence tomography (Spectralis* Spectral-Domain OCT, Heidelberg Engineering, Heidelberg, Germany), retinography, and auto-fluorescence evaluation (Topcon TRC-50DX Retinal Camera*, Topcon Corporation, Tokyo, Japan).

Ethics statement

All patients signed a voluntary informed consent form for collection, storage, and sequencing of DNA samples. The study protocol complied with the principles of the Declaration of Helsinki and was approved by the Research Ethics Committee of Pedro Ernesto University Hospital (protocol 2.531.431).

DNA extraction and genotyping

Genomic DNA was extracted from peripheral blood by the conventional phenol–chloroform procedure. Genotyping of all 799 samples was performed with TaqMan* assays (Applied Biosystems, Foster City, CA). Reactions were performed in an ABI 7500 Real-Time PCR System* (Applied Biosystems, Foster City, CA). PCRs were conducted with TaqMan* allelic discrimination assay (assay ID: C_1839944_10), according to the manufacturer's protocol. The amplification protocol was as follows: polymerase activation at 95°C for 10 min followed by 40 cycles of denaturation at 95°C for 15 s and annealing and extension at 60°C for 1 min. The reactions were interpreted in StepOne* V2.3 software (Applied Biosystems, Foster City, CA).

After TaqMan* assay genotyping, 10% of the samples were subjected to direct sequencing for confirmation. Direct sequencing was performed by Sanger method with BigDye Terminator Cycle Sequencing Kit v3.1VR (Applied Biosystems Inc., Foster City, CA) and submitted to electrophoresis in the ABI Prism 3130 DNA Analyzer (Applied Biosystems, Foster City, CA). PCR and/or sequencing primers were sense 5'-TAG GAG AGC TGG AGC AGA GG -3' and antisense 5'-TTG CTA CTC CTT GCC CTT CC -3'. The sequencing data obtained were analyzed in FinchTV (Geospiza, Seattle, WA).

Statistical analysis

Statistical analysis was performed using the R software (Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria). Fisher's exact test was used to compare genotypes and allele frequencies between cases and controls, as well as to estimate the odds ratios (ORs) and confidence interval (CI). A *p* value of <0.05 was considered statistically significant. The Hardy–

Weinberg equilibrium test was used for the analysis of genotype distribution within each group.

Results

The mean age was higher in the AMD group than in the control group (73.53 and 67.23, respectively; $p = 2.2 \times 10^{-16}$). The demographic characteristics of AMD patients and controls are summarized in Table 1. We observed a trend toward increased risk for AMD among female gender (OR = 1.28, $p = .09$).

Among 397 patients diagnosed with AMD, 335 (84.38%) had at least one copy of the variant A allele. With respect to genotype, 62 patients (15.62%) were GG homozygotes, 187 patients (47.10%) were GA heterozygotes, and 148 patients (37.28%) were AA homozygotes. In the control group, 320 subjects (79.60%) had the variant A allele. With respect to genotype, 82 controls (20.40%) were GG homozygotes, 180 (44.78%) were GA heterozygotes, and 140 (34.82%) were AA homozygotes. The allelic and genotypic frequencies between cases and controls are summarized in Table 2. Compared to the GG homozygous reference group, the OR for AMD was 1.37 (95% CI 0.91–2.07, $p = .12$) for GA heterozygotes and 1.40 (95% CI 0.92–2.14, $p = .13$) for AA homozygotes. Compared to GG genotype homozygotes, we observed a trend toward increased risk for AMD among individuals with either one or two copies of the variant allele (GA + AA genotypes) (OR = 1.38, 95% CI 0.95–2.03, $p = .08$). The genotype frequencies of IL1-B genotypes were consistent with Hardy–Weinberg equilibrium in both case and control groups ($p = .88$ and $p = .10$, respectively).

Stratifying the patient sample by AMD type (dry or wet) (Table 3), we found that 230 AMD patients (57.93%) had wet type AMD with choroidal neovascularization or disciform scarring in the eye with the more advanced disease, while 167 (42.07%) had dry-type AMD with the presence of drusen and RPE changes. Among the 167 patients with dry-type AMD, 46 patients had geographic atrophy. Compared to the GG homozygous reference group, the OR for dry AMD (early and advanced disease) was 0.83 (95% CI 0.45–1.55, $p = .55$) for GA heterozygotes and 0.75 (0.40–1.43, $p = .36$) for AA homozygotes. The OR for dry AMD among patients with the variant allele (GA + AA genotypes), relative to the GG homozygous reference group, was 0.80 (95% CI 0.44–1.43, $p = .48$).

Compared to the GG homozygous reference group, the OR for wet AMD was 1.20 (95% CI 0.64–2.22, $p = .55$) for GA heterozygotes and 1.32 (95% CI 0.69–2.51, $p = .36$) for AA

homozygotes, while the OR for wet AMD among subjects with one or two copies of the variant allele (GA + AA genotypes) was 1.25 (95% CI 0.70–2.24, $p = .48$). We observed a trend toward increased risk for wet AMD among variant A allele carriers (OR = 1.23, 95% CI 0.96–1.56, $p = .08$).

A comparative analysis of the risk for no advanced versus advanced AMD, with the control group as a reference group (Table 4), showed a trend for increased risk for advanced AMD disease among variant allele carriers (GA + AA genotypes) (OR = 1.47, 95% CI 0.96–2.27, $p = .07$), suggesting that the presence of the A allele may influence susceptibility to advanced forms of the disease, mainly for neovascular progression. After stratifying AMD patients by AMD disease progression (no advanced or advanced), we observed statistically similar allelic and genotype distributions for the rs1143627 SNP across no advanced-stage and advanced-stage AMD groups, indicating that, overall, the IL-1 β -31 variant was not a predictor of AMD progression risk (Table 5).

Discussion

The present results suggest that in the presence of the rs1143627 variant, there is a tendency (i.e., nonsignificant trend) toward an increased prevalence of AMD though this difference did not reach statistical significance. After a sub-analysis in which dry AMD and wet AMD diagnostic subgroups were compared with controls, we also observed a tendency for the rs1143627 variant to be a risk allele for wet AMD. We also observed a tendency for a higher frequency of genotypes containing the A allele (GA + AA) among patients with advanced disease compared to controls. These multiple near-significant trends in our results suggest that a larger study may reveal a statistically significant influence of the rs1143627 variant for AMD disease progression.

Brazilian population is highly mixed and heterogeneous, and it is the result of several immigration events accompanied by the miscegenation of three main ancestral roots: Europeans, Africans, and Amerindians. Indeed, for this SNP, we observed the minor allele frequency (MAF) of 60.83% in cases, which is similar to that observed in European population, but different from the frequency observed in the African population: 36.8% (19).

Furthermore, the non-association between rs1143627 and AMD may have been due either to the small sample size or to the small difference in the MAF between cases and controls. The effect conferred by this SNP is low in Brazilian population, which explains the need for such a big sample to detect an

Table 1. Demographic characteristics of AMD patients and controls.

Study Group (n)	Age		Age range (years)	Female n (%)	Male n (%)	NA
	(mean \pm SD) (years)					
Control group (402)	67.24 \pm 9.53		50–89	204 (51.1)	195 (48.9)	3
AMD case group (397)	73.53 \pm 9.00 *		50–103	225 (57.3) [†]	168 (42.7)	4
Non-advanced AMD (121)	71.21 \pm 9.40		50–103	81 (68.1)	38 (31.9)	2
Advanced AMD (276)	74.58 \pm 8.63		53–93	144 (52.6)	130 (47.4)	2
Dry AMD (167)	72.67 \pm 9.55		50–103	97 (59.1)	67 (40.9)	3
Wet AMD (230)	74.14 \pm 8.56		53–93	128 (55.9)	101 (44.1)	1

n: number of subjects; SD: standard deviation; NA: not available.

^{*}Indicates a p -value = 2.2×10^{-16} when cases were compared to controls (Mann–Whitney test).

[†]Indicates a p -value = 0.09 when gender distribution was compared between cases and controls (Fisher's exact test).

Table 2. Genotype distribution, odds ratio, and allele frequency of rs1143627 between cases and controls.

	AMD n (%)	CONTROLS n (%)	OR (95% CI)	p
Genotype				
GG	62 (15.62)	82 (20.40)	Reference	1
GA	187 (47.10)	180 (44.78)	1.37 (0.91–2.07)	0.12
AA	148 (37.28)	140 (34.82)	1.40 (0.92–2.14)	0.13
Total	397 (100.0)	402 (100.0)		
GA+AA	335 (84.38)	320 (79.60)	1.38 (0.95–2.03)	0.08
Allele				
G	311 (39.17)	344 (42.79)	Reference	1
A	483 (60.83)	460 (57.21)	1.16 (0.95–1.42)	0.15
Total	794 (100.0)	804 (100.0)		

n: number of subjects; OR: odds ratio; CI: confidence interval; p: p-value.

The genotype frequencies of IL1- β genotypes were consistent with Hardy–Weinberg equilibrium in both case and control groups ($p=0.88$ and $p=0.10$, respectively).

Table 3. Genotype distribution, odds ratio, and allele frequency of rs1143627 after stratification by type of AMD between cases and controls.

Genotype	Controls		Dry AMD		Wet AMD			Geographic atrophy		
	n (%)	n (%)	OR (95% CI)	p	n (%)	OR (95% CI)	p	n (%)	OR (95% CI)	p
GG	82 (20.40)	29 (17.36)	Reference	1	33 (14.35)	Reference	1	8 (17.40)	Reference	1
GA	180 (44.78)	79 (47.31)	0.83 (0.45–1.55)	0.55	108 (46.96)	1.20 (0.64–2.22)	0.55	26 (56.52)	1.47 (0.61–3.94)	0.43
AA	140 (34.82)	59 (35.33)	0.75 (0.40–1.43)	0.36	89 (38.69)	1.32 (0.69–2.51)	0.36	12 (26.08)	0.88 (0.31–2.59)	0.81
Total	402 (100.0)	167 (100.0)			230 (100.0)			46 (100.0)		
GA+AA	320 (79.60)	138 (82.64)	0.80 (0.44–1.43)	0.48	197 (85.65)	1.25 (0.70–2.24)	0.48	38 (82.6)	1.21 (0.53–3.14)	0.70
Allelic frequency										
G	344 (42.79)	137 (41.02)	Reference	1	174 (37.83)	Reference	1	42 (45.65)	Reference	1
A	460 (57.21)	197 (58.98)	1.07 (0.82–1.40)	0.60	286 (62.17)	1.23 (0.96–1.56)	0.08	50 (54.35)	0.89 (0.56–1.41)	0.65
Total	804 (100.0)	334 (100.0)			460 (100.0)			92 (100.0)		

n: number of subjects; OR: odds ratio; CI: confidence interval; p: p-value.

The genotype frequencies of IL1- β genotypes were consistent with Hardy–Weinberg equilibrium in both dry AMD and wet AMD groups ($p=0.86$ and $p=0.93$, respectively).

Table 4. Genotype distribution, odds ratio, and allele frequency of rs1143627 after stratification by stage of AMD between cases and controls.

Genotype	Control	No advanced AMD			Advanced AMD		
	n (%)	n (%)	OR (95% CI)	p	n (%)	OR (95% CI)	p
GG	82 (20.40)	21 (17.36)	Reference	1	41 (14.86)	Reference	1
GA	180 (44.78)	53 (43.80)	1.15 (0.63–2.14)	0.67	134 (48.55)	1.48 (0.94–2.37)	0.08
AA	140 (34.82)	47 (38.84)	1.31 (0.71–2.47)	0.38	101 (36.59)	1.44 (0.89–2.34)	0.14
Total	402 (100.0)	121 (100.0)			276 (100.0)		
GA+AA	320 (79.60)	100 (82.64)	1.22 (0.70–2.18)	0.51	235 (85.14)	1.47 (0.96–2.27)	0.07
Allele frequency							
G	344 (42.79)	95 (39.26)	Reference	1	216 (39.13)	Reference	1
A	460 (57.21)	147 (60.74)	1.16 (0.85–1.57)	0.33	336 (60.87)	1.16 (0.93–1.46)	0.19
Total	804 (100.0)	242 (100.0)			552 (100.0)		

n: number of subjects; OR: odds ratio; CI: confidence interval; p: p-value.

Table 5. Genotype distribution, odds ratio, and allele frequency of rs1143627 in AMD progression.

Genotype	No advanced AMD	Geographic atrophy		Neovascular AMD			Advanced AMD (geographic atrophy + neovascular AMD)			
	n (%)	n (%)	OR (95% CI)	p	n (%)	OR (95% CI)	p	n (%)	OR (95% CI)	p
GG	21 (17.36)	8 (17.40)	Reference	1	33 (14.35)	Reference	1	41 (14.85)	Reference	1
GA	53 (43.80)	26 (56.52)	1.28 (0.47–3.82)	0.65	108 (46.96)	1.29 (0.65–2.56)	0.51	134 (48.55)	1.29 (0.66–2.48)	0.42
AA	47 (38.84)	12 (26.08)	0.67 (0.21–2.20)	0.59	89 (38.69)	1.20 (0.59–2.42)	0.62	101 (36.59)	1.10 (0.55–2.15)	0.87
Total	121 (100.0)	46 (100.0)			230 (100.0)			276 (100.0)		
GA+AA	100 (82.64)	38 (82.60)	0.99 (0.38–2.83)	1	197 (85.65)	1.25 (0.70–2.24)	0.48	235 (85.14)	1.20 (0.64–2.21)	0.55
Allele frequency										
G	95 (39.26)	42 (45.65)	Reference	1	174 (37.83)	Reference	1	216 (39.13)	Reference	1
A	147 (60.74)	50 (54.35)	0.77 (0.46–1.29)	0.32	286 (62.17)	1.06 (0.76–1.48)	0.74	336 (60.87)	1.00 (0.72–1.38)	1
Total	242 (100.0)	92 (100.0)			460 (100.0)			552 (100.0)		

n: number of subjects; OR: odds ratio; CI: confidence interval; p: p-value.

association. According to our estimation, to achieve the power of 80% under the significance level of 0.05, approximately 3000 individuals would have to be tested for rs1143627.

Because AMD causes a chronic low-grade inflammation response, ILs are attractive potential clinical targets for AMD therapy (20). The cytokine IL-1 β is a key mediator of inflammatory responses and is essential for host responses and resistance to pathogens, but it can also exacerbate acute tissue injury in chronic disease states (11). The IL1B gene contains seven exons which encode the 35-kDa pro-IL-1 β precursor protein (269 amino acids), which is cleaved by NLRP-3 into the active 17-kDa IL-1 β protein (8).

In a study of SNPs located within the promoter regions of several IL genes, Shevchenko et al. also did not find a significant differentiation in the presence of the rs1143627 variant between 102 AMD patients and 100 non-AMD participants in Russia (21). However, the rs1143627 variant has been related to a significantly increased risk for keratoconus in Egyptian (OR = 3.31, $p < .001$), Korean (OR = 1.43, $p = .025$), Chinese (OR = 2.84, $p < .0001$), and Japanese populations (OR = 1.38, $p = .04$) (15,22–24). The rs1143627 variant was associated with increased risk for open-angle glaucoma in a Brazilian study (OR = 1.56; $p = .002$) (16). The rs1143627 variant has also been associated with chronic dyspeptic disease, colorectal cancer, and inflammatory bowel disease (25).

Although AMD has been associated with elevated cytokine levels, an exact mechanism by which IL-1 β leads to induction of retinal damage has not been delineated. Elevated IL-1 β levels are common to multiple retinal diseases, including AMD as well as diabetic retinopathy, retinitis pigmentosa, and retinal detachment (8). Interestingly, intravitreal injection of exogenous drusenoid components can lead to increased IL-1 β expression in the vitreous humor (13). Lavalette et al.'s data suggested that cytokine IL-1 β may be involved in the choroidal neovascularization process in advanced-stage AMD (26). Although most studies have analyzed systemic IL levels, there are limited data reported for aqueous and vitreous humor IL levels (27). Zhao et al. found higher IL-1 β levels in the vitreous humor of AMD patients than in control group (28). Natoli et al. documented upregulated IL-1 β protein expression following photooxidative damage in the context of retinal degeneration caused by retinal microglia and macrophages accompanied by elevated chemokine expression by Müller cells and RPE cells (29). Kutty et al. showed that IL-1 β reduced the expression of genes related to the visual cycle in RPE cells in vitro (20).

IL-1 β is a proinflammatory cytokine that induces prostaglandin synthesis, influx, and activation of neutrophils, T-cell activation and cytokine production, and B-cell activation and antibody production. Genetic analyses of cytokines can provide important clues to a better understanding of disease pathogenesis and thus can be used to guide the exploration of potential therapeutic options.

In conclusion, this study showed that the IL-1 β -31 G > A SNP (rs1443627) was not significantly associated with risk of AMD in the present Brazilian population sample. However, several non-significant trends suggestive of a potential influence of the SNP on AMD progression indicate that a larger study with more statistical

power would be warranted to evaluate the impact of this variant on AMD, especially as a potential risk factor for wet AMD.

Declaration of interest

The authors report no conflicts of interest. The authors alone are responsible for the content and writing of this article.

Funding

This research was partially supported by Brazilian Research Council (CNPQ - National Council for Scientific and Technological Development).

ORCID

Lana Sayuri Makita  <http://orcid.org/0000-0002-5002-8314>
 Bernardo Carvalho Muniz  <http://orcid.org/0000-0003-1483-2759>
 Alicia Buffoni Roque da Silva  <http://orcid.org/0000-0002-0876-0675>
 Flávia Fialho Bajano  <http://orcid.org/0000-0002-1189-9774>
 Marcelo do Amaral  <http://orcid.org/0000-0001-7224-1362>
 Priscila Hae Hyun Rim  <http://orcid.org/0000-0002-6046-6377>
 Gabriela Queila de Carvalho-Siqueira  <http://orcid.org/0000-0002-2976-9759>
 José Paulo Cabral de Vasconcellos  <http://orcid.org/0000-0001-8220-6675>
 Mônica Barbosa de Melo  <http://orcid.org/0000-0002-1801-5441>
 Flávio Mac Cord Medina  <http://orcid.org/0000-0003-2656-2960>

References

1. Wong WL, Su X, Li X, Cheung CMG, Klein R, Cheng CY, Wong TY. Global prevalence of age-related macular degeneration and disease burden projection for 2020 and 2040: a systematic review and meta-analysis. *Lancet Glob Heal*. 2014;2(2):e106–16. doi:10.1016/S2214-109X(13)70145-1.
2. Ottaiano JAA, de Ávila MP, ÁMP, Umbelino CC, Taleb AC. As condições de saúde ocular no Brasil 2019 [Internet]. CBO; 2019. http://www.cbo.com.br/novo/publicacoes/condicoes_saude_ocular_brasil2019.pdf
3. Age-Related Eye Disease Study Research Group. Risk factors associated with age-related macular degeneration: a case-control study in the age-related eye disease study: age-related eye disease study report number 3. *Ophthalmology*. 2000;107(12):2224–32. doi:10.1016/S0161-6420(00)00409-7.
4. Medina FMC, Motta AALD, Takahashi WY, Carricondo PC, Motta MMDS, Melo MB, Vasconcellos JPC. Association of the CFH Y402H polymorphism with the 1-year response of exudative AMD to intravitreal anti-VEGF treatment in the Brazilian population. *Ophthalmic Res*. 2019;61(3):168–73. doi:10.1159/000475995.
5. Al-Zamil M, Yassin SA. Recent developments in age-related macular degeneration: a review. *Clin Interv Aging*. 2017;12:1313–1330. doi:10.2147/CIA.S143508.
6. Celkova L, Doyle S, Campbell M. NLRP3 inflammasome and pathobiology in AMD. *J Clin Med*. 2015;4(1):172–92. doi:10.3390/jcm4010172.
7. Doyle SL, Ozaki E, Brennan K, Humphries MM, Mulfaul K, Keaney J, Kenna PF, Maminishkis A, Kiang A-S, Saunders SP, et al. IL-18 attenuates experimental choroidal neovascularization as a potential therapy for wet age-related macular degeneration. *Sci Transl Med*. 2014;6(230):230ra44. doi:10.1126/scitranslmed.3007616.

8. Wooff Y, Man SM, Aggio-Bruce R, Natoli R, Fernando N. IL-1 Family members mediate cell death, inflammation and angiogenesis in retinal degenerative diseases. *Front Immunol.* 2019;10 (July):1618. doi:10.3389/fimmu.2019.01618.
9. Sheu S-J, Ger L-P, Kuo N-W, Liu N-C, Wu -T-T, Lin M-C. Association of IL-4 gene polymorphism and age-related macular degeneration in Taiwanese adults. *Taiwan J Ophthalmol.* 2012;2(2):51-55. doi:10.1016/j.tjo.2012.02.002.
10. Zhang S, Liu Y, Lu S, Cai X. Genetic variants of interleukin 17A are functionally associated with increased risk of age-related macular degeneration. *Inflammation.* 2015;38(2):658-63. doi:10.1007/s10753-014-9973-3.
11. Lopez-Castejon G, Brough D. Understanding the mechanism of IL-1 β secretion. *Cytokine Growth Factor Rev.* 2011;22(4):189-95. doi:10.1016/j.cytogfr.2011.10.001.
12. Zhang S, Yu N, Zhang R, Zhang S, Wu J. Interleukin-17A induces IL-1 β secretion from RPE cells via the NLRP3 inflammasome. *Investig Ophthalmol Vis Sci.* 2016;57(2):312-19. doi:10.1167/iops.15-17578.
13. Liu RT, Gao J, Cao S, Sandhu N, Cui JZ, Chou CL, Fang E, Matsubara JA. Inflammatory mediators induced by amyloid-beta in the retina and RPE in vivo: implications for inflammasome activation in age-related macular degeneration. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 2014;54(3):2225-37. doi:10.1167/iops.12-10849.
14. Anderson OA, Finkelstein A, Shima DT. A2E induces IL-1 β production in retinal pigment epithelial cells via the NLRP3 inflammasome. *PLoS One.* 2013;8(6):e67263. doi:10.1371/journal.pone.0067263.
15. Nabil KM, Elhady GM, Morsy H. The association between interleukin 1 beta promoter polymorphisms and keratoconus incidence and severity in an Egyptian population. *Clin Ophthalmol.* 2019;13:2217-23. doi:10.2147/OPTH.S220723.
16. Oliveira MB, De Vasconcellos JPC, Ananias G, Costa VP, De Melo MB. Association between IL1A and IL1B polymorphisms and primary open angle glaucoma in a Brazilian population. *Exp Biol Med.* 2018;243(13):1083-91. doi:10.1177/1535370218809709.
17. Rech TF, Mazzoleni LE, Mazzoleni F, Francesconi CFM, Sander GB, Michita RT, Nabinger DD, de Bona LR, Milbradt TC, Ott EA, et al. Analysis of the influence of interleukin-1 β gene polymorphism on gastric inflammatory response and precancerous lesions development in patients with functional dyspepsia. *Immunol Invest.* 2020;49(5):585-96. doi:10.1080/08820139.2019.1710532.
18. Seddon JM, Sharma S, Adelman RA. Evaluation of the clinical age-related maculopathy staging system. *Ophthalmology.* 2006;113(2):260-66. doi:10.1016/j.ophtha.2005.11.001.
19. Ensembl rs1143627 (SNP) - Population genetics - Homo sapiens - Ensembl genome browser [Internet]. <http://www.ensembl.org>
20. Kutty RK, Samuel W, Boyce K, Cherukuri A, Duncan T, Jaworski C, Nagineni CN, Redmond TM. Proinflammatory cytokines decrease the expression of genes critical for RPE function. *Mol Vis.* 2016;22:1156-68.
21. Shevchenko AV, Prokofev VF, Konenkov VI, Chemykh VV, Eremina AV, Dudnikova LV, Kashkina NY, Trunov AN. Cytokine gene polymorphisms in patients with age-related macular degeneration. *Vestn Oftalmol.* 2016;132(2):8-13. doi:10.17116/oftalma201613228-13.
22. Kim SH, Mok JW, Kim HS, Joo CK. Association of -31T>C and -511 C>T polymorphisms in the interleukin 1 beta (IL1B) promoter in Korean keratoconus patients. *Mol Vis.* 2008;14 (November):2109-16.
23. Wang Y, Wei W, Zhang C, Zhang XH, Liu M, Zhu X, Xu K. Association of interleukin-1 gene single nucleotide polymorphisms with keratoconus in Chinese Han population. *Curr Eye Res.* 2015;41(5):630-35. doi:10.3109/02713683.2015.1045083.
24. Mikami T, Meguro A, Teshigawara T, Takeuchi M, Uemoto R, Kawagoe T, Nomura E, Asukata Y, Ishioka M, Iwasaki M, et al. Interleukin 1 beta promoter polymorphism is associated with keratoconus in a Japanese population. *Mol Vis.* 2013;19:845-51.
25. Li H, Jin Z, Li X, Wu L, Jin J. Associations between single-nucleotide polymorphisms and inflammatory bowel disease-associated colorectal cancers in inflammatory bowel disease patients: a meta-analysis. *Clin Transl Oncol.* 2017;19 (8):1018-27. doi:10.1007/s12094-017-1634-1.
26. Lavalette S, Raoul W, Houssier M, Camelo S, Levy O, Calippe B, Jonet L, Behar-Cohen F, Chemtob S, Guillonnet X, et al. Interleukin-1 β inhibition prevents choroidal neovascularization and does not exacerbate photoreceptor degeneration. *Am J Pathol.* 2011;178(5):2416-23. doi:10.1016/j.ajpath.2011.01.013.
27. Kersten E, Paun CC, Schellevis RL, Hoyng CB, Delcourt C, Lengyel I, Peto T, Ueffing M, Klaver CCW, Dammeier S, et al. Systemic and ocular fluid compounds as potential biomarkers in age-related macular degeneration. *Surv Ophthalmol.* 2018;63 (1):9-39. doi:10.1016/j.survophthal.2017.05.003.
28. Zhao M, Bai Y, Xie W, Shi X, Li F, Yang F, Sun Y, Huang L, Li X. Interleukin-1 β level is increased in vitreous of patients with neovascular age-related macular degeneration (nAMD) and polypoidal choroidal vasculopathy (PCV). *PLoS One.* 2015;10(5):e0125150. doi:10.1371/journal.pone.0125150.
29. Natoli R, Fernando N, Madigan M, Chu-Tan JA, Valter K, Provis J, Rutar M. Microglia-derived IL-1 β promotes chemokine expression by Müller cells and RPE in focal retinal degeneration. *Mol Neurodegener.* 2017;12(1):31. doi:10.1186/s13024-017-0175-y.

APÊNDICE C – Outras produções realizadas durante a pós-graduação.

- 1- Niemeyer B, Muniz B, Makita LS, Marchiori E. Neurosyphilis with Bilateral Optic Perineuritis in an Immunocompetent Patient. *Eur Neurol.* 2018;79(3-4):185-186. doi: 10.1159/000488065. Epub 2018 Mar 22. PMID: 29566376.
- 2- Muniz BC, Niemeyer B, Makita LS. Central nervous system tuberculosis mimicking tentorium meningioma: a rare case. *Rev Soc Bras Med Trop.* 2018 Mar-Apr;51(2):253. doi: 10.1590/0037-8682-0185-2017. PMID: 29768567.
- 3- Muniz BC, Makita LS, Ribeiro BNF, Marchiori E. The Heidenhain variant of Creutzfeldt-Jakob disease. *Radiol Bras.* 2019 May-Jun;52(3):199-200. doi: 10.1590/0100-3984.2017.0166. PMID: 31210697; PMCID: PMC6561368.
- 4- Makita LS, Muniz BC, Medina FMC. Ophthalmologic alterations in cutis marmorata telangiectatica congenita: a series of cases. *Arq Bras Oftalmol.* 2020 Jun;83(3):239-241. doi: 10.5935/0004-2749.20200064. Epub 2020 May 29. PMID: 32490982.
- 5- Muniz BC, Niemeyer B, Makita LS, Marchiori E. Sturge-Weber Syndrome with Bilateral Cerebral and Facial Involvement. *Neurol India.* 2022 Sep-Oct;70(5):2296-2297. doi: 10.4103/0028-3886.359273. PMID: 36352685.
- 6- Franco AMM, Makita LS, Perrut VC, Balbi GGM, Barros AM, Medina FMC, Signorelli F. Ocular involvement in primary antiphospholipid syndrome: results of an extensive ophthalmological evaluation performed in the APS-Rio cohort. *Lupus.* 2023 Feb;32(2):180-188. doi: 10.1177/09612033221143294. Epub 2022 Nov 29. PMID: 36444940.
- 7- Medina FM, Makita, LS. Síndrome ocular isquêmica (Retina E-book Sociedade Brasileira de Retina e Vítreo) In: *Retina e-book SBRV.1 ed.* São Paulo: Dois Editorial e Comunicação Ltda., 2020, p. 406-424.
- 8- Makita LS, Medina FM. Fatores genéticos da degeneração macular relacionada à idade In: *Série Oftalmologia Brasileira - Genética.5 ed.* Rio de Janeiro: Cultura Médica, 2019, p. 415-422.