



DOENÇA REUMÁTICA CARDÍACA: COMO UMA INFECÇÃO DE GARGANTA PODE DESENCADear LESÃO NO CORAÇÃO.

Luiza Guilherme, Pesquisadora do Instituto do Coração, Hospital das Clínicas da Universidade São Paulo.
Jorge Kalil, Professor Associado do Departamento de Cirurgia, Disciplina de Cirurgia Experimental, Diretor do Laboratório de Imunologia de Transplantes do Instituto do Coração, Hospital das Clínicas da Universidade São Paulo.

Trabalho premiado com o "Prêmio Unibanco de Medicina de 1997".

INTRODUÇÃO

Trabalhos pioneiros, das décadas de 30 e 40, postulavam a existência de associação entre infecção de orofaringe, por estreptococo beta hemolítico, e o desencadeamento da doença reumática aguda^{1,2}. Os estudos realizados por Rebecca Lancefield permitiram a classificação do estreptococo hemolítico como grupo A e a definição de sua composição celular, levantando questões a respeito das suas funções biológicas e das relações com seu hospedeiro, o homem³. A existência de processo auto-imune, na doença reumática, foi postulada após a observação de que as lesões no coração estavam associadas à presença de anticorpos circulantes que reconheciam tecido cardíaco. Kaplan, através de vários estudos em coelhos imunizados com extratos da parede celular do estreptococo, mostrou que os antissoros reagiam, como esperado, com o estreptococo, mas também com tecido cardíaco. Confirmou, igualmente, a presença de anticorpos reativos contra o coração no soro de pacientes submetidos à plástica de valva, sugerindo que as lesões no tecido cardíaco poderiam ocorrer por mimetismo biológico⁴.

Na patogenia da DR, estão envolvidas as estruturas da célula bacteriana, tais como a cápsula, parede celular e produtos liberados pelo estreptococo.

A cápsula é formada por hialuronato, não imunogênico por estar universalmente distribuído no tecido conjuntivo animal, porém com papel antifagocitário.

A parede celular é composta pelas camadas externa, média e interna, sendo que a externa contém as proteínas M, T, R e o ácido lipoteicóico, que parece ser responsável pela ligação da bactéria à fibronectina presente na célula epitelial oral do hospedeiro, iniciando, assim, a colonização bacteriana. As camadas média e interna são formadas por açúcares e conferem rigidez à parede, mantendo a morfologia bacteriana.

As proteínas M, T, R são antigênicas, porém o fator de virulência mais importante do estreptococo do grupo

A é a proteína M, que se projeta à superfície da bactéria, em forma fibrilar dupla, impede a fagocitose e é altamente antigênica. Anticorpos contra esta proteína têm ação neutralizante e opsonizante. A proteína M apresenta hipervariabilidade nos 11 primeiros resíduos de aminoácidos da porção N-terminal (composta de aproximadamente 200 resíduos), que definem os 80 sorotipos reconhecidos atualmente⁵. Alguns desses sorotipos, M1, M5, M6 e M19, são mais frequentemente relacionados com os episódios da DRA, sendo denominados de "reumatogênicos"⁶⁻¹⁵. A metade C-terminal é constante. Esta proteína apresenta-se, estruturalmente, em módulos de sete aminoácidos, em forma de alfa hélice, o que lhe confere o caráter fibrilar. A Figura 1 mostra, esquematicamente, a estrutura do estreptococo.

Os produtos extracelulares elaborados pelos estreptococos são: estreptolisina O, deoxiribonuclease B, hialuronidase, Dnases A, C e D, estreptolisina S, proteinase, nicotinamida adenina deaminase, estreptoquinase e algumas substâncias denominadas de exotoxinas pirogênicas. A dosagem de anticorpos anti-estreptolisina O (ASLO) e de outros anticorpos permite a avaliação de infecções recentes em pacientes com DR ou GNDA (glomerulonefrite difusa aguda).

A similaridade da proteína M com proteínas fibrilares do tecido humano (miosina, tropomiosina, proteínas valvares e outras) é devida à semelhanças, tanto na sequência de aminoácidos, como na conformação espacial. Entende-se que essa homologia possa desencadear resposta imune celular e humoral cruzada, quebrando a tolerância a proteínas próprias do organismo, particularmente do tecido cardíaco, levando ao desencadeamento da doença.

Poucos trabalhos na literatura tiveram por objeto a resposta celular, apesar da patogênese da doença envolver, fundamentalmente, a imunidade mediada por células. O aumento da intensidade aos produtos estreptocócicos, nos testes de hipersensibilidade cutânea tardia,

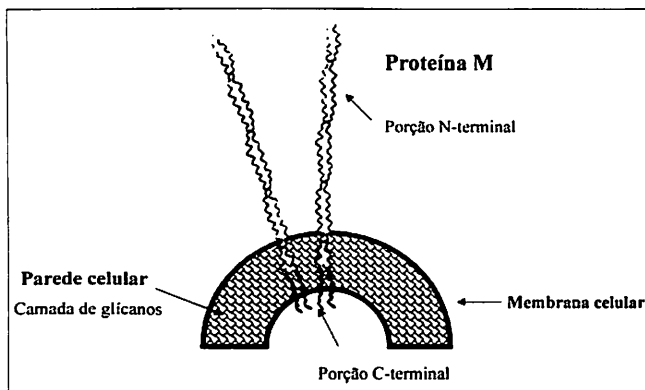


Figura 1. Representação esquemática do estreptococo.

relacionado com a idade dos indivíduos estudados, foi uma das primeiras evidências clínicas da participação de mecanismos celulares na FR. Estes dados coincidem com o aumento progressivo da incidência da doença com a idade, até a adolescência, e são sugestivos da participação ativa de células mononucleares, no local da lesão. O infiltrado inflamatório presente no tecido cardíaco é constituído, principalmente, por linfócitos T, na sua maioria CD4+, provavelmente responsáveis pelo processo da auto-agressão¹⁶. A transferência de células mononucleares de camundongos singênicos, imunizados com extratos de estreptococos do grupo A, induziu lesões no tecido cardíaco de camundongos e permitiu demonstrar o papel dos macrófagos na seleção e apresentação dos determinantes antigênicos do estreptococo ao linfócito T¹⁷.

O desencadeamento da doença reumática aguda ocorre em aproximadamente 3-4% das crianças (3 a 16 anos) acometidas por infecção de garganta pelo estreptococo beta hemolítico do grupo A. Destas, até 30% desenvolvem a forma grave da doença, a cardite reumática. Apesar das medidas profiláticas, a doença reumática ainda é considerada problema de saúde em vários países, e o Brasil ocupa o 12º lugar em incidência¹⁸. Em nosso país, a DRC é considerada uma das doenças de maiores custos para o Sistema Previdenciário, pois tolhe o trabalho a indivíduos muito jovens e ocasiona múltiplas internações hospitalares e cirurgias (10.000 correções valvares anuais ou 30% das cirurgias cardíacas realizadas no país)¹⁹. Além disso, esse percentual eleva-se a 90%, quando se analisa apenas as cirurgias cardíacas infantis.

Nosso grupo vem, há mais de 7 anos, estudando a suscetibilidade genética e a resposta imune celular, nos pacientes com doença reumática cardíaca, na tentativa de elucidar os indivíduos de risco, os mecanismos imunopatogênicos que levam às lesões no coração, bem como dissecar os segmentos patogênicos e protetores da proteína M, com vistas ao desenvolvimento de substâncias imunomoduladoras, e outras imunoprotetoras, objetivando a vacinação. Apresentaremos, a seguir, o resumo dos trabalhos desenvolvidos por nosso grupo.

1. SUSCETIBILIDADE GENÉTICA

O fato de apenas uma parte da população acometida pela infecção bacteriana desenvolver a doença, mostra que além da infecção, outros fatores devam estar

envolvidos, como os ambientais, sócio-econômicos e, fundamentalmente, genéticos. Dentre estes fatores, destacam-se as moléculas HLA, de classe II (HLA-DR e DQ), por serem as responsáveis pela apresentação do antígeno ao linfócito T, e influenciarem, assim, o processo de reconhecimento. As moléculas HLA-DR são altamente polimórficas e alguns alelos estão associados com a suscetibilidade à doença, em diferentes populações. Em uma amostra da população brasileira, constituída por mulatos escuros e claros, observamos a associação da manifestação da doença com as moléculas HLA DR7 e DR 53^{20,21}. Estudo multicêntrico, realizado durante o 12º Workshop Internacional de Histocompatibilidade, não evidenciou antígenos HLA, classe II, comuns às populações de doentes analisadas provenientes de 7 países; entretanto, alguns antígenos anteriormente descritos nas diferentes populações, mantiveram-se mais frequentes²².

2. RESPOSTA CELULAR

A resposta imune celular específica à proteína M, do estreptococo, e proteínas do tecido cardíaco de indivíduos acometidos, foi estudada em sangue periférico, através de ensaio de proliferação dos linfócitos T de 86 crianças.

Os pacientes apresentavam acompanhamento clínico de, pelo menos, 5 anos em nossa Instituição. Foram subdivididos em 3 grupos, de acordo com a evolução da doença: DRC grave (37 pacientes), DRC moderada (16 pacientes) e DRC leve (33 pacientes). A mediana da idade foi de 13,5 anos para os pacientes graves, 11,5 anos para moderados e 13,0 anos para DRC leve. Coréia de Sydenham foi observada em 2 pacientes com DRC grave, 2 com DRC moderada e 18 com DRC leve. Os resultados foram comparados entre si e também com o grupo controle, constituído por 35 indivíduos adultos (mediana da idade de 31,0 anos), sem história prévia de doença reumática.

Não houve diferença, estatisticamente significativa, entre os três grupos de doença; no entanto, quando comparados com indivíduos normais, alguns peptídeos da proteína M mostraram-se preferencialmente reconhecidos por pacientes. A região da proteína M, porção N-terminal mais reconhecida pelos pacientes com DRC grave (46% contra 8,6% dos indivíduos normais), foi a compreendida entre os resíduos de aminoácidos de 81-96. Os pacientes com DRC moderada reconheceram várias regiões da proteína M, não tendo sido evidenciado reconhecimento preferencial. Para os pacientes com DRC leve, a região preferencial de reconhecimento foi a de resíduos de aminoácidos de 11-25 (34,6% dos pacientes contra 8,6% dos indivíduos normais). Estes resultados sugerem que, periféricamente, ocorre o reconhecimento de diversos segmentos da proteína M do estreptococo, observado também nos indivíduos normais. Com a evolução da doença, é possível discriminar o(s) segmento(s), cujo reconhecimento está associado a fases mais avançadas da lesão cardíaca. Por outro lado, estudos preliminares da porção C-terminal discriminam um peptídeo (resíduos de aminoácidos de 301-320), reconhecido preferencialmente por indivíduos normais (42,0%), e muito pouco reconhecido por pacientes com DRC grave (4,0%). Considere-

NH2 10 20 30 40 50 60 70 80 90 100 110 120 130 140 150 160 170 180 190 200 (N-terminal)

Epitopos Imunodominantes		Pacientes		Controle	
posição	resíduos de aminoácidos				
11-25	QRAKEALDKYELENH	DRC leve	34,6%	8,6%	P=0,04
81-96	DKLKQQRDTLSTQKET	DRC grave	46,0%	8,6%	P=0,009

210 230 240 250 260 270 280 290 300 310 320 330 340 350 360 370 380 390 400 COOH (C-terminal)

301-320 **ASREAKKQVERALEEANSKL** DRC grave 4,0% 42,0% P=0,001

Figura 2. Localização e reatividade dos epitopos imunodominantes da proteína M.

rando que adultos normais apresentam resposta de memória a antígenos estreptocócicos por infecções anteriores, este achado parece associar o reconhecimento do epitopo 301-320 à proteção, quanto ao desenvolvimento de DAC. A Figura 2 apresenta as regiões da proteína M mais reconhecidas pelos pacientes (N-Terminal) e pelos indivíduos normais (C-terminal).

No grupo com DAC grave, 61,1% dos pacientes responsivos ao peptídeo, com resíduos de aminoácidos 81-96, são portadores da molécula HLA-DR53. É evidente que o fato de possuir a molécula HLA-DR53 favorece o reconhecimento deste peptídeo; no entanto, alguns indivíduos portadores de outras moléculas HLA-DR são capazes de desencadear resposta contra esta sequência de aminoácidos, e também é verdadeiro que nem todos os indivíduos HLA-DR53 reconhecem este peptídeo. Experimentos realizados para verificar a capacidade de ligação dos diversos peptídeos às moléculas HLA-DR7 e DR53 mostraram que o peptídeo 81-96 apresenta maior capacidade para ligar-se à molécula HLA-DR53. Este resultado está de acordo com a hipótese de que a molécula DR53 favorece a apresentação deste peptídeo ao linfócito T.

O reconhecimento de frações de proteínas cardíacas no sangue periférico foi diferenciado nos pacientes com cardite moderada e grave, sendo que 60% desses pacientes reconheceram algum tipo de proteína cardíaca, enquanto apenas 15% (P=0,01) dos pacientes com DAC leve, e 20% (P=0,02) dos indivíduos normais, reconheceram tecido cardíaco. Dentre as proteínas mais reconhecidas, destacamos para o tecido valvar, proteínas com pesos moleculares na faixa de 65-90 kD e, para o miocárdio, em torno ou superior a 150 kD. Nos pacientes com DAC leve, praticamente não houve reconhecimento do tecido cardíaco.

Como a doença é localizada no coração, resolvemos estudar os linfócitos T infiltrantes. Assim, a partir de fragmentos de tecido cardíaco (valvas mitral e/ou aórtica e miocárdio), obtidos durante processo cirúrgico para correção valvar, foi possível cultivar os linfócitos T infiltrantes, de 7 crianças, idade média de 11 anos, com lesões importantes de valva mitral, e lesões moderadas e/ou im-

portantes, em valva aórtica. Quatro destes pacientes apresentavam atividade recente da doença. Apenas linfócitos T, já ativados, proliferaram *in vitro*, pois não adicionamos antígenos exógenos, afora o próprio tecido cardíaco foi acrescentada a interleucina-2 (IL-2), que favorece o crescimento de células previamente sensibilizadas. Portanto, não alteramos a resposta imune já existente *in vivo*. A partir destas linhagens permanentes, derivamos clones de linfócitos T. Através do ensaio de proliferação, avaliamos a capacidade funcional destes linfócitos em reconhecer a proteína M e proteínas do tecido cardíaco, frente aos mesmos antígenos utilizados para os testes do sangue periférico. Clones obtidos de 4 dos 7 pacientes com linhagens de linfócitos T infiltrantes, permitiram demonstrar a presença de linfócitos T, capazes de reconhecerem, simultaneamente, segmentos da proteína M5 e proteínas do coração, evidenciando, pela primeira vez, reação cruzada em nível celular, no local da lesão em humanos^{23,24,25}. Demonstramos, também, a presença de clones capazes de reconhecerem apenas peptídeos da proteína M5, bem como, só proteínas do tecido cardíaco. A região correspondente aos aminoácidos de 81-96 foi reconhecida por 10 clones, derivados de 4 pacientes e 7 linhagens, obtidas a partir de fragmentos cirúrgicos de 7 crianças com DAC grave. Esse mesmo segmento foi o mais reconhecido por linfócitos de sangue periférico, de pacientes com DAC grave, conforme mostrado na Figura 2. Das frações do tecido, as mais reconhecidas foram as de miocárdio com pesos moleculares > 150 kD e 24-30 kD, e da valva aórtica, 90-150kD, 43-65kD e 30-43kD.

Tanto no tecido, como nas linhagens e nos clones obtidos houve predomínio de linfócitos T CD4+, confirmando a presença destas células no infiltrado e mostrando, pela primeira vez, o papel dos linfócitos intralésionais no fenômeno do mimetismo molecular em humanos.

3. CONCLUSÕES E PERSPECTIVAS

Nossos achados celulares, tanto periféricos como intralésionais, são concordantes com os critérios já estabelecidos para o desencadeamento de auto-imunidade²⁶ e contribuem significativamente para a compreensão do

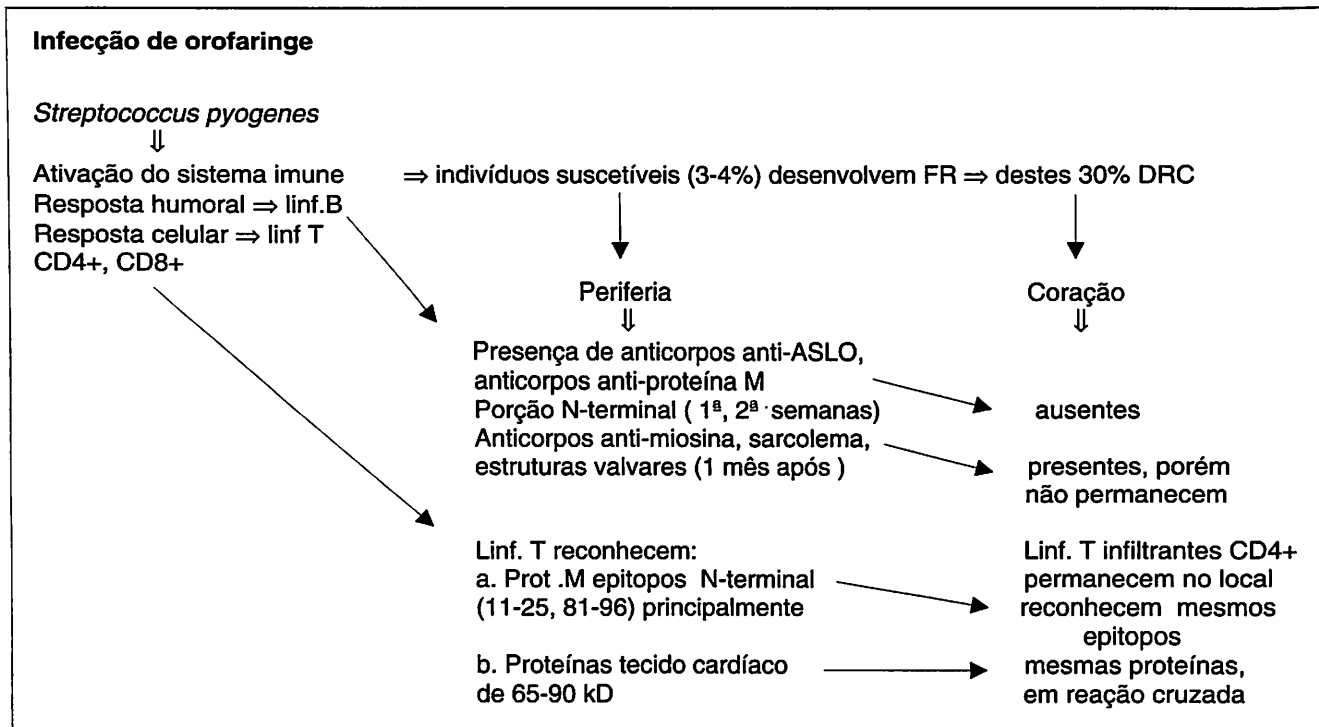


Figura 3. Processo de aquisição da doença reumática a partir de infecção de orofaringe.

papel do linfócito T na patogênese da DRC. Deste modo, poderíamos imaginar que, ao desencadear a resposta de defesa contra o estreptococo beta hemolítico, os indivíduos suscetíveis desencadeariam resposta preferencial a determinantes antigênicos dominantes da proteína M e, talvez, de outras estruturas do estreptococo, na periferia. Os linfócitos T CD4+, uma vez sensibilizados, seriam capazes de reconhecer, posteriormente, o próprio estreptococo (células de memória), ou estruturas semelhantes, seja na periferia, ou no órgão alvo. Na doença reumática, as lesões no coração aparecem no período de 4 ou mais semanas, após a infecção de orofaringe e na ausência da bactéria no local da lesão. Este fato é fortemente indicativo de processo lesivo, ocasionado pelo reconhecimento de proteínas teciduais, miocárdio, no primeiro momento, seguido de lesão nas valvas mitral e aórtica, por reação cruzada.

Se a reação humoral, descrita há várias décadas, e ainda em estudos, tiver significado patogênico, será apenas na fase aguda, quando se observam anticorpos fixados nas fibras miocárdicas e membrana de sarcolema. Estes anticorpos reconhecem, de forma cruzada, principalmente miosina e determinados epitopos da porção N-terminal do estreptococo^{8,9,11}. Ainda na fase aguda (miocardite e/ou valvulite), ocorre aparecimento dos nódulos de Aschoff, que são aglomerado de células mono e polimorfonucleares, responsáveis pelo processo inflamatório local. A maioria destas células apresenta os antígenos HLA DR, em sua superfície, e atua como apresentadora de antígenos aos linfócitos T. Assim, os linfócitos T previamente sensibilizados na periferia contra o estreptococo, após a recirculação, nos pacientes portadores de doença reumática, localizam-se preferen-

cialmente no tecido cardíaco. Em contato com as células apresentadoras de antígenos, vão desencadear resposta imune local cruzada, com produção de citocinas, levando à destruição tecidual e posterior necrose. Outro fator favorável a este modelo é o fato de o processo lesivo valvar ser contínuo e progressivo, como observado em grande parte dos pacientes, que apresentam lesões importantes 10-20 anos após o primeiro surto reumático, na ausência do estreptococo.

Em conformidade com nossos achados, e o modelo acima descrito, podemos sugerir como o epitopo mais envolvido no processo de reação cruzada, o segmento 81-96 da porção N-terminal do estreptococo, reconhecido na periferia apresenta similaridade de estrutura e/ou conformacional com uma proteína do tecido cardíaco, de peso molecular na faixa de 65-90 kD, que foi a mais reconhecida pelos pacientes com DRC grave e moderada. A Figura 3 resume este processo.

A busca de segmentos da proteína M imunogênicos e não patogênicos é fundamental para a confecção de vacina contra o estreptococo. Bessen e Fischetti utilizaram, em modelo murino, a vacinação oral com epitopos repetidos da porção C-terminal^{27,28,29}, acoplados à CTB (subunidade da toxina da cólera) e obtiveram a proteção contra o estreptococo do grupo A em camundongos. Esse trabalho abre a perspectiva de vacinação em humanos. Dentro desta óptica, nossos resultados podem contribuir na seleção dos epitopos imunogênicos e não patogênicos, sendo patogênicos aqueles que são reconhecidos, tanto por linfócitos periféricos, como intralesionais, de portadores de doença reumática crônica grave, e que, portanto, estariam melhor discriminando os epitopos desencadeadores de lesão. Outra perspectiva importante é a

indução de tolerância oral, utilizada em modelos animais, e que, recentemente, vem sendo aplicada no tratamento de doenças auto-imunes humanas com bons resultados³⁰. Deste modo, na DR, uma vez identificados os epítopos desencadeadores da lesão, existe a possibilidade de administrá-los aos pacientes oralmente, com a finalidade de induzir tolerância imune, por mecanismos diversos, impedindo que a resposta auto-imune possa ser desencadeada no momento do reconhecimento do estreptococo pelo linfócito T.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Collis, W.R.F.: Acute rheumatism and hemolytic streptococci. *Lancet* 1931: 1: 1341-1345.
- Coburn R.F.: The factor of infection in rheumatic state. *Baltimore, Md. Williams and Wilkins*: 1931.
- Lancefield R.C.: Specific relationships of cell composition to biologic activity of hemolytic streptococci. *Harvey Lectures* 1941: 36: 251-265.
- Ayoub, E.M. & Kaplan, E.: Host-parasite interaction in the pathogenesis of rheumatic fever. *J. Rheumatol. (Suppl. 30)*: 1991: 18: 6-13.
- Fischetti, V.: Streptococcal M protein. *Sci. Am.*: 1991 264(6): 32-39.
- Hraus, W., Dale, J.B. & Beachey, E.H.: Identification of an epitope of type 1 streptococcal M protein that is shared with a 43kDa protein of human myocardium and renal glomeruli. *J. of Immunol.* 1990: 145:4089-4093.
- Hraus, W.; Ohshima, K.; Snyder, D.S. & Beachey, E.H.: Autoimmune sequence of streptococcal M protein shared with the intermediate filament protein, vimentin. *J.exp.med.* 1989: 169:481-492.
- Cunningham, M.W., McCormack, J.M., Fenderson, P.G., Beachey, E.H. & Dale, J.B.: Human and murine antibodies cross-reactive with streptococcal M protein and myosin recognize the sequence GLN-LYS-56A-LYS-GLN in M protein. *J. Immunol.* 1989: 143:2677-2683.
- Dale, J. B. & Beachey, E. H.: Sequence of myosin-crossreactive epitopes of streptococcal M protein. *J. Exp. Med.* 1986:164: 1785-1790.
- Baird, R.W., Bronze, M.S., Hraus, W., Hill, H.R., Veasey, L.G., & Dale, J. B.: Epitopes of group A streptococcal M protein shared with antigens of articular cartilage and synovium. *J. Immunol.* 1991: 146: 3132-3137.
- Sargent, S.J., Beachey, E.H., Corbett, C.E. & Dale, J.B.: Sequence of protective epitopes of streptococcal M proteins shared with cardiac sarcolemmal membranes. *J. Immunol.* 1987:139: 1285-1290.
- Jones, K. F.; Khan, S. A.; Erickson, B. W.; Hollingshead, S. K.; Scott, J. A. & Fischetti, V.A.: Immunohistochemical localization and amino acid sequences of crossreactive epitopes within the group A streptococcal M6 protein. *J. Exp.Med.* 1986:164:1226-1238.
- Goroncy-Bermes, P.; Dale, J.B.; Beachey, E.H. & Oplerkuch, W.: Monoclonal antibody to human renal glomeruli cross-reacts with streptococcal M protein. *Infect. Immun.* 1987: 55(10):2416-2419.
- Hraus, W.; Seyer, J.M. & Beachey, E.H.: Vimentin-cross-reactive epitope of type 12 Streptococcal M protein. *Infect. Immun.* 1989: 57(8):2457-2461.
- Bronze, M.; Beachey, E. H. & Dale, J. B.: Protective and heart-crossreactive epitopes located within the NH₂ terminus of type 19 streptococcal M protein. *J. Exp.Med.* 1988: 167:1849-1859.
- Raizada, V.; Williams, R.C. Jr.; Chopra, P.; Gopinath, N.; Prakash, K.; Sharma, K.B.; Cherian, K. M.; Panday, S.; Arora, R.; Nigam, M.; Zabriskie, J.B.; Husby, G.: Tissue distribution of lymphocytes in rheumatic heart valves as defined by monoclonal anti-T cells antibodies. *Am. J. Med.* 1983: 74: 225-237.
- Dos Reis, G.A., Gaspar, M.I.C., & Barcinski, M.A.: Immune recognition in the streptococcal carditis of mice: the role of macrophages in the generation of heart - reactive lymphocytes. *J. Immunol.* 1982: 128:1514-1521.
- Baird, T.: Rheumatic heart disease. *Curr. Op. Cardiol.* 1996: 11: 126-130.
- Snitcowsky, R. Rheumatic fever prevention in industrializing countries: problems and approaches. *Pediatrics.* 1996: 97 (6) (supl) 996-998.
- Guilherme, L., Weidebach, W., Kiss, M.H., Snitcowsky, R. & Kallil, J.: Association of human leukocyte class II antigens with rheumatic fever or rheumatic heart disease in a Brazilian population. *Circulation.* 1991: 83: 1995-1998.
- Guilherme, L.; Goldberg, A.C.; Chiarella, J.; Guilherme, L.; Snitcowsky, R.; Pileggi, F. & Kallil, J.: HLA class II antigens in Rheumatic fever: analysis of the DR locus by RFLP and Oligotyping. *Hum. Immunol.* 1994:40: 253-258.
- Goldberg, A.C. Kallil, J.; Kotb, M.; et al.: HLA and rheumatic fever: 12 th International Histocompatibility Workshop study. In HLA: Genetic diversity of HLA: Functional and Medical Implication. Ed. By Dominique Charron, ed. EDK, 1997, p. 413-418.
- Guilherme, L.; Cunha-Neto, E.; Coelho, V.; Snitcowsky, R.; Pomerantzeff, P.M. A.; Assis, R.V.; Pedra, F.; Neumann, J.; Goldberg, A.; Patarroyo, M.E.; Pileggi, F.; Kallil, J.: Human -infiltrating T cell clones from rheumatic heart disease patients recognize both streptococcal and cardiac proteins. *Circulation* 1995: 92: 415-420.
- Zabriskie, J.B.: T cells and t cells clones in rheumatic fever valvulitis. Getting to the heart of the matter. *Circulation* 1995: 92: 281-282.
- Davies, M.J.: Rheumatic fever: pathogenesis revealed. *Heart* 1996: 75: 194.
- Rose, N. R. and Bona, C.: Defining criteria for autoimmune diseases (Witebsky's postulates revisited). *Immunol. Today.* 1993: 14: 426-430.
- Bessen, D. and Fischetti, V.A.: Passive acquired mucosal immunity to group A streptococci by secretory immunoglobulin A. *J. Exp. Med.* 1988, 167: 1945- 1949.
- Bessen, D. and Fischetti, V.A.: Influence of intranasal immunization with synthetic peptides corresponding to conserved epitopes of M protein on mucosal colonization by group A streptococci. *Infect. Immun.* 1988: 56:2666-2669.
- Bessen, D. and Fischetti: Synthetic peptide vaccine against mucosal colonization by group A streptococci. I. protection against a heterologous M serotype with shared C repeated region epitopes. 1990. *J. Immunol.* 145 (4): 1251-1255.
- Weiner, H. L.: Oral tolerance: immune mechanisms and treatment of autoimmune diseases. *Immunol. Today.* 1997:18(7): 335-343.

NORMAS PARA RECEBIMENTO DE COLABORAÇÕES

A Revista "@rquivos de Otorrinolaringologia" aceita colaborações de colegas otorrinolaringologistas e fonoaudiólogos. As colaborações podem ser em forma de artigos originais, apresentação de casos, condutas, técnicas cirúrgicas, assuntos de interesse atual, etc.

As normas para envio são:

- 1) Duas cópias datilografadas em espaço duplo, papel sulfite branco com margens laterais, ou preferencialmente em 1 cópia datilográfada e disquete com arquivo do programa WORD.
- 2) Na primeira página deve conter:
 - a) o título da colaboração em português e inglês,
 - b) o nome dos autores com títulos pessoais
 - c) nome e endereço do autor principal
 - d) local (instituição) onde o trabalho foi realizado
 - e) outros dados (fonte de suporte, apresentação em congresso etc)
- 3) Da terceira página em diante, o texto com as referências bibliográficas.
- 4) Para as referências bibliográficas, deverá ser usada a sistemática abaixo:

Periódicos

Sobrenome do Autor, iniciais - Título do Artigo. Nome do Periódico, volume: página inicial - página final, ano.

Teses:

Sobrenome do Autor, iniciais - Título da Tese, Cidade, ano, página. (Tese de Mestrado ou Doutorado - Nome da Faculdade).

Livros:

Sobrenome do Autor, iniciais - Nome do Livro, Cidade, Editora, ano. Página inicial - página final.

Capítulos de Livro:

Sobrenome do Autor do Capítulo, iniciais - Nome do Capítulo. In: Sobrenome do Autor do Livro, iniciais - Nome do Livro, Cidade Editora, ano. Página inicial - página final. (observar a pontuação).

- 5) Ilustrações - Fotos em papel brilhante, preto e branco, de 9x12 cm. Legendas datilografadas separadamente. Duas cópias de cada foto. Serão aceitos desenhos. Ilustrações coloridas poderão ser publicadas a critério editorial.

Enviar as colaborações para:
Fundação Otorrinolaringologia
Rua Pedroso Alvarenga, 1255 cj. 27
São Paulo - SP - 04531-012.