

Luiz Guilherme Marchesi Mello

**Avaliação morfológica e funcional da retina de pacientes com
doença de Parkinson usando a tomografia de coerência óptica
e o eletrorretinograma**

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

Programa de Oftalmologia

Orientador: Prof. Dr. Mário Luiz Ribeiro
Monteiro

(Versão corrigida. Resolução CoPGr 6018/11, de 1 de novembro de 2011. A
versão original está disponível na Biblioteca da FMUSP)

São Paulo

2023

Luiz Guilherme Marchesi Mello

**Avaliação morfológica e funcional da retina de pacientes com
doença de Parkinson usando a tomografia de coerência óptica
e o eletrorretinograma**

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

Programa de Oftalmologia

Orientador: Prof. Dr. Mário Luiz Ribeiro
Monteiro

(Versão corrigida. Resolução CoPGr 6018/11, de 1 de novembro de 2011. A
versão original está disponível na Biblioteca da FMUSP)

São Paulo

2023

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)

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

©reprodução autorizada pelo autor

Mello, Luiz Guilherme Marchesi
Avaliação morfológica e funcional da retina de
pacientes com doença de Parkinson usando a
tomografia de coerência óptica e o
eletrorretinograma / Luiz Guilherme Marchesi Mello.
-- São Paulo, 2023.
Tese (doutorado)--Faculdade de Medicina da
Universidade de São Paulo.
Programa de Oftalmologia.
Orientador: Mário Luiz Ribeiro Monteiro.

Descritores: 1.Doença de Parkinson 2.Tomografia
de coerência óptica 3.Eletrofisiologia 4.Retina
5.Coroide 6.Vasos retinianos 7.Células ganglionares
da retina

USP/FM/DBD-176/23

Responsável: Erinalva da Conceição Batista, CRB-8 6755

DEDICATÓRIA

Aos meus avós, com carinho, muita admiração e gratidão por tudo que me proporcionaram.

Aos meus pais, Nelson e Neuza, e irmão, Pedro Paulo, por serem importantes pilares na minha vida. Sem vocês, nada disso seria possível.

À minha esposa, Nathalia, por todo amor e companheirismo. Obrigado por ser uma grande incentivadora dos meus sonhos.

AGRADECIMENTOS

Ao Prof. Dr. Mário Luiz Ribeiro Monteiro, que muito me ensinou com exímia maestria a arte da Oftalmologia, em especial da Neuroftalmologia. Sua contribuição para o crescimento intelectual, científico e pessoal o fará ser eternamente lembrado como um grande professor, orientador e amigo.

À Dra. Maria Kiyoko Oyamada, pelos grandes ensinamentos na área da Neuroftalmologia e Eletrofisiologia Ocular. Agradeço por toda atenção e orientações durante os atendimentos ambulatoriais, reuniões científicas e realização dos exames eletrofisiológicos e pelas orientações além do meio acadêmico.

À Dra. Joyce Hisae Yamamoto Takiuti e ao Dr Carlos Eduardo Hirata por propiciarem o meu ingresso no setor de Uveítes do HCFMUSP. Seus ensinamentos no cuidado com o paciente e incentivo ao aprimoramento contínuo foram inestimáveis. Os valiosos conselhos e a amizade serão sempre lembrados.

Aos colegas do Serviço de Oftalmologia do Hospital Universitário Cassiano Antonio Moraes, da Universidade Federal do Espírito Santo, pelo apoio no início da minha jornada na Oftalmologia. Em especial aos Profs. Drs. Diusete Maria Pavan Batista, Abraão Garcia Mendes e Fábio Petersen Saraiva.

Aos colegas residentes, estagiários, Oftalmologistas assistentes e professores da Divisão de Clínica Oftalmológica do HCFMUSP, em especial os Neuroftalmologistas Dr. Arthur Andrade do Nascimento Rocha e Dra. Thais de Souza Andrade, pela ajuda e companheirismo durante essa jornada. Os momentos que vivemos serão eternamente lembrados e a amizade que construímos transcenderá fronteiras.

Aos neurologistas Dr. Raphael de Paula Doyle Maia, Dr. Egberto Reis Barbosa e Dra. Isabela Bruzzi Bezerra Paraguay pelo apoio e colaboração com este trabalho.

Aos funcionários da Divisão de Clínica Oftalmológica, pelo auxílio nos cuidados com os pacientes e na pesquisa, em especial à Regina Ferreira de Almeida pela dedicação ao programa de pós-graduação em Oftalmologia e pela amizade.

À Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo, pela oportunidade de realização do curso de doutorado.

Ao LIM/33 – Laboratório de Oftalmologia, à Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) e ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), pelo apoio financeiro para a realização e promoção desta pesquisa.

Aos participantes desta pesquisa, que confiaram na equipe deste projeto e se voluntariaram para contribuir com a ciência.

ΕΠΙΓΡΑΦΕ

“Por mais incríveis que as tecnologias atuais possam ser, tudo começou com observações detalhadas de pacientes por um médico extraordinário e seus alunos” (MONTEIRO, 2020, p. S41, tradução nossa)¹

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

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

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

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

SUMÁRIO

Lista de figuras

Lista de tabelas

Lista de abreviaturas

Lista de símbolos

Lista de siglas

Resumo

Abstract

1	INTRODUÇÃO.....	1
2	OBJETIVOS.....	8
2.1.	Objetivo geral	9
2.2.	Objetivos específicos	9
3	REVISÃO DA LITERATURA.....	10
3.1.	Epidemiologia da doença de Parkinson	11
3.2.	Fisiopatologia, manifestações clínicas e diagnóstico	12
3.3.	A via visual anterior na doença de Parkinson	18
3.3.1.	A acuidade visual e a sensibilidade visual ao contraste na doença de Parkinson.....	22
3.3.2.	Eletrofisiologia visual na doença de Parkinson.....	23
3.3.3.	A tomografia de coerência óptica na doença de Parkinson.....	25
3.4.	Tratamento anti-parkinsoniano.....	28
4	MÉTODOS.....	30
4.1.	Desenho do estudo	31
4.2.	Amostra.....	31
4.3.	Exame neurológico.....	34
4.4.	Exame oftalmológico.....	34
4.4.1.	Avaliação da sensibilidade visual ao contraste.....	35
4.4.2.	Tomografia de coerência óptica.....	36

4.4.3. Eletrorretinograma de campo total na fase fotópica com análise dos potenciais oscilatórios e da resposta fotópica negativa	53
5 ANÁLISE DOS DADOS E ESTATÍSTICA.....	57
5.1. Estudo 1	58
5.2. Estudo 2.....	58
6 RESULTADOS	60
6.1. Estudo 1	61
6.2. Estudo 2.....	64
7 DISCUSSÃO.....	72
8 CONCLUSÕES.....	82
9 ANEXOS.....	84
10 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	92
Apêndices	

LISTAS



LISTA DE FIGURAS

Quadro 1 – Critérios clínicos diagnósticos da <i>United Kingdom Parkinson's Disease Society Brain Bank</i>	14
Quadro 2 – Sintomas não motores associados à doença de Parkinson	16
Figura 1 – Exemplo da tabela de Pelli-Robson utilizada para avaliação da sensibilidade visual ao contraste	36
Figura 2 – Exemplo de relatório do protocolo Macular Cube 512x128 de ambos os olhos de um participante do estudo 1, obtido com o equipamento Cirrus HD-OCT (Carl Zeiss Meditec, Inc., Dublin, CA)	38
Figura 3 – Exemplo de relatório do protocolo Optic Disc Cube 200x200 de ambos os olhos de um participante do estudo 1, obtido com o equipamento Cirrus HD-OCT (Carl Zeiss Meditec, Inc., Dublin, CA)	39
Figura 4 – Tomografia de coerência óptica de domínio espectral de um participante do estudo 1 segmentada utilizando o Orion™. A lista de camadas à esquerda identifica as linhas coloridas mostradas na varredura (“Fast Scan”), delimitando as camadas retiniais e a coroide (A). Análises do cubo macular com a imagem “en face” mostrando os valores da espessura total da retina em nove setores de acordo com o mapa do ETDRS (B). Imagem colorida representando o mapa de espessura total da retina (C)	40
Figura 5 – Exemplo das análises da tomografia de coerência óptica do nervo óptico de um participante do estudo 2. Nas figuras superiores, a avaliação da menor largura da borda da abertura da membrana de Bruch até a membrana limitante interna (MRW). Nas figuras inferiores, a avaliação da camada de fibras nervosas da retina peripapilar (pRNFL). À esquerda, a imagem “en face” com a divisão setorial – inferior (I), nasal (N), superior (S) e temporal (T). No centro, a demarcação da membrana limitante interna (ILM, linha vermelha), MRW (seta azul na imagem superior) e margem profunda da pRNFL (linha azul na imagem inferior). À direita, o gráfico de classificação da espessura média para setores individuais e média global	42
Figura 6 – Exemplo de delimitação manual da coroide peripapilar (linha verde à direita) de um participante do estudo 2 e setorização automática utilizando o	

Fiji (linhas tracejadas amarelas) para medida automatizada da espessura média da coroide global e em cada setor – inferior (I), nasal (N), superior (S) e temporal (T)	44
Figura 7 – Desenho esquemático da representação dos plexos e complexos vasculares retinianos – plexo capilar profundo (DCP), complexo vascular profundo (DVC), plexo capilar intermediário (ICP), plexo vascular da camada de fibras nervosas (NFLVP), complexo vascular superficial (SVC) e plexo vascular superficial (SVP) – e suas correspondências anatômicas com as camadas retinianas – camada de fibras nervosas da retina (RNFL), camada de células ganglionares (GCL), camada plexiforme interna (IPL), camada nuclear interna (INL), camada plexiforme externa (OPL), camada nuclear externa (ONL), camada de fotorreceptores (PRL) e epitélio pigmentar da retina (RPE)	45
Figura 8 – Exemplo de etapas do processamento da imagem de OCTA do nervo óptico do olho direito de um participante do estudo 2. A imagem capturada é exportada do equipamento (A) e apenas a área da OCTA é recortada para análise (B). Em seguida, é aplicada uma macro no Fiji para análise da densidade vascular global (D) e em quatro setores (E) – temporal (90°), superior (80°), nasal (110°) e inferior (80°)	46
Figura 9 – Exemplo de uma análise da espessura total da retina na região macular do olho direito de um participante do estudo 2, realizada automaticamente pelo programa HEYEX para análise automatizada de imagens nativo do equipamento Spectralis OCT-2 a partir das imagens adquiridas com a divisão dos setores (foveal, anel interno e anel externo; respectivamente 1, 2 e 3) de acordo com o mapa do ETDRS	48
Figura 10 – Exemplo da imagem da OCT com EDI utilizada para análise da espessura e características vasculares da coroide do olho direito de um participante do estudo 2. O corte seccional da coroide (figura à direita) corresponde à região representada pela seta verde na imagem da esquerda. As linhas tracejadas em amarelo, à direita, correspondem às divisões do mapa do ETDRS (em amarelo à esquerda), dividindo em setores, temporal externo (TO), temporal interno (TI), subfoveal (SF), nasal interno (NI) e nasal externo (NO)	49

Figura 11 – Exemplo do processamento da OCTA macular do olho direito de um participante do estudo 2. A imagem é exportada do equipamento (A) e a área da OCTA é recortada para análise (B). É aplicada uma macro no Fiji que modifica a imagem em pixels pretos e brancos (C) para análise da densidade vascular, delimita (D) e isola (E) a zona avascular foveal.....	52
Figura 12 – Representação esquemática da resposta captada do eletrorretinograma adaptado à luz do olho direito de um participante do estudo 2 do grupo controle (CT) e do grupo com a doença de Parkinson (PD), incluindo os potenciais oscilatórios (PO), resposta fotópica (ERG), flicker e a resposta fotópica negativa (PhNR) medida a partir do pico da onda b e da linha de base até o menor valor da resposta (respectivamente, PhNR_PT e PhNR_BT)	56
Figura 13 – Curvas de características operacionais (ROC) das variáveis estatisticamente significantes em diferenciar os grupos: sensibilidade visual ao contraste (CVS), índice oscilatório (IO), plexo capilar profundo macular (mOCTA - DCP), complexo vascular profundo macular (mOCTA - DVC), média dos potenciais oscilatórios de 1 a 4 (Média PO), resposta fotópica negativa medida do pico da onda b até o menor valor da resposta (PhNR_PT), primeiro potencial oscilatório (PO1) e terceiro potencial oscilatório (PO3).	69
Figura 14 – Representações gráficas das distribuições da correlação da sensibilidade visual ao contraste (CVS) monocular com os dados clínicos do grupo com a doença de Parkinson (PD)	70
Figura 15 – Representações gráficas das distribuições da correlação da sensibilidade visual ao contraste (CVS) binocular com os dados clínicos do grupo com a doença de Parkinson (PD)	71

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Dados clínico-demográficos dos grupos CT (controle) e PD (doença de Parkinson).....	62
Tabela 2 – Média (DP) das medidas da espessura (μm) das camadas retinianas com diferença estatisticamente significativa entre os grupos PD e CT	63
Tabela 3 – Dados clínico-demográficos dos grupos CT (controle) e PD (doença de Parkinson).....	65
Tabela 4 – Dados clínicos dos 21 participantes do grupo com a doença de Parkinson (PD)	65
Tabela 5 – Avaliação da sensibilidade visual ao contraste (CVS) dos grupos controle (CT) e com a doença de Parkinson (PD)	66
Tabela 6 – Medidas da angiografia por tomografia de coerência óptica (OCTA) da região macular dos grupos controle (CT) e com a doença de Parkinson (PD)	67
Tabela 7 – Medidas do eletrorretinograma de campo total fotópico (ERGct fotópico), potenciais oscilatórios (PO) e da resposta fotópica negativa (PhNR) dos grupos controle (CT) e com a doença de Parkinson (PD).....	68

LISTA DE ABREVIATURAS

ART	rastreamento automático em tempo real, do inglês “Automatic Real-time Tracking”
AUC	área abaixo da curva característica de operação do receptor, do inglês “area under the receiver operating characteristic curve”
AV	melhor acuidade visual
BM	membrana de Bruch, do inglês “Bruch's membrane”
BMO	abertura da membrana de Bruch, do inglês “Bruch's membrane opening”
CT	grupo controle
CVS	sensibilidade visual ao contraste
DAC	células amácrinas dopaminérgicas
DALY	anos de vida perdidos ajustados por incapacidade, do inglês “Disability Adjusted Life Years”
DP	desvio padrão
EDI	profundidade de imagem aprimorada, do inglês “enhanced deep imaging”
EOG	eletro-oculograma
ERG	eletrorretinograma
ERGct	eletrorretinograma de campo total
ERGmf	eletrorretinograma multifocal
FAZ	zona avascular foveal, do inglês “foveal avascular zone”
GCL	camada de células ganglionares
GCL+	soma da camada de células ganglionares da retina com a camada plexiforme interna
GCL++	complexo de células ganglionares da retina (soma da camada de fibras nervosas da retina, camada de células ganglionares e camada plexiforme interna)
GEE	equações de estimação generalizadas, do inglês “generalized estimating equations”
ICP	plexo capilar intermediário, do inglês “intermediate capillary plexus”

ILM	membrana limitante interna, do inglês “inner limiting membrane”
INL	camada nuclear interna, do inglês “inner nuclear layer”
IO	índice oscilatório (somatória da amplitude dos potenciais oscilatórios de 1 a 4)
IPL	camada plexiforme interna, do inglês “inner plexiform layer”
IRL	camadas da retina interna, do inglês “inner retinal layers”
mCoriocapilar	coriocapilar da região macular
mCoroide	coroide na região macular
mDCP	plexo capilar profundo macular, do inglês “macular deep capillary plexus”
MDS-UPDRS-III	status motor (item III) da Escala de Avaliação Unificada da Doença de Parkinson revisada pela Sociedade de Distúrbios do Movimento, do inglês “Movement Disorder Society-sponsored revision of the Unified Parkinson's Disease Rating Scale”
mDVC	complexo vascular profundo macular, do inglês “macular deep vascular complex”
mNFLVP	plexo vascular da camada de fibras nervosas da retina macular, do inglês “macular nerve fiber layer vascular plexus”
mRNFL	camada de fibras nervosas da retina macular, do inglês “macular retinal nerve fiber layer”
MRW	menor largura da borda da abertura da membrana de Bruch até a membrana limitante interna, do inglês “minimum rim width”
mSVC	complexo vascular superficial macular, do inglês “macular superficial vascular complex”
mSVP	plexo vascular superficial macular, do inglês “macular superficial vascular plexus”
NFLVP	plexo vascular da camada de fibras nervosas da retina, do inglês “nerve fiber layer vascular plexus”
OCT	tomografia de coerência óptica, do inglês “optical coherence tomography”
OCTA	angiografia por tomografia de coerência óptica, do inglês “optical coherence tomography angiography”

ONL	camada nuclear externa, do inglês “outer nuclear layer”
OPL	camada plexiforme externa, do inglês “outer plexiform layer”
ORC	complexo da retina externa, do inglês “outer retinal complex”
ORL	camadas da retina externa, do inglês “outer retinal layers”
PD	doença de Parkinson
PERG	eletrorretinograma de padrão reverso
PhNR	resposta fotópica negativa, do inglês “photopic negative response”
PhNR_BT	resposta fotópica negativa medida da linha de base até o menor valor da resposta
PhNR_BT/onda b	razão entre a amplitude da resposta fotópica negativa medida da linha de base até o menor valor da resposta e a amplitude da onda b
PhNR_PT	resposta fotópica negativa medida do pico da onda b até o menor valor da resposta
PhNR_PT/onda b	razão entre a amplitude da resposta fotópica negativa medida do pico da onda b até o menor valor da resposta e a amplitude da onda b
pNFLVP	plexo vascular da camada de fibras nervosas da retina peripapilar, do inglês “peripapillary nerve fiber layer vascular plexus”
PO	potencial(is) oscilatório(s)
PRL	camada de fotorreceptores, do inglês “photoreceptor layer”
pRNFL	camada de fibras nervosas da retina peripapilar, do inglês “peripapillary retinal nerve fiber layer”
pSVC	complexo vascular superficial peripapilar, do inglês “peripapillary superficial vascular complex”
pSVP	plexo vascular superficial peripapilar, do inglês “peripapillary superficial vascular plexus”
RGC	células ganglionares da retina, do inglês “retinal ganglion cells”
RNFL	camada de fibras nervosas da retina, do inglês “retinal nerve fiber layer”

ROC	características operacionais, do inglês “receiver operator characteristic”
RPE	epitélio pigmentar da retina, do inglês “retinal pigment epithelium”
TCLE	termo de consentimento livre e esclarecido
VEP	potencial visual evocado, do inglês “visual evoked potentials”

LISTA DE SÍMBOLOS

%	porcento
<	menor que
=	igual a
>	maior que
$\sqrt{\quad}$	raiz quadrada
\leq	menor ou igual a
\geq	maior ou igual a
μm	micrometro
μV	microvolt
bits	dígito binário
cd	candela
Hz	hertz
KOhm	quiloohm
log	logaritmo
m^2	metro quadrado
mg	miligrama
mL	mililitro
mm^3	milímetro cúbico
mm Hg	milímetro de mercúrio
ms	milissegundo
nm	nanômetro
°	grau
s	segundo
π	número Pi

LISTA DE SIGLAS

ETDRS	<i>Early Treatment Diabetic Retinopathy Study</i>
HCFMUSP	Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo
HUCAM-UFES	Hospital Universitário Cassiano Antonio Moraes da Universidade Federal do Espírito Santo
ISCEV	<i>International Society for Clinical Electrophysiology of Vision</i>
UKPDSBB	<i>United Kingdom Parkinson's Disease Society Brain Bank</i>

RESUMO



Mello LGM. Avaliação morfológica e funcional da retina de pacientes com doença de Parkinson usando a tomografia de coerência óptica e o eletrorretinograma. [Tese]. São Paulo: Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo; 2023.

INTRODUÇÃO: A doença de Parkinson é a segunda doença neurodegenerativa mais prevalente no mundo, sendo conhecida pelas suas clássicas manifestações clínicas motoras. Contudo, sinais e sintomas não-motores podem estar presentes antes mesmo do diagnóstico da doença, em especial os oftalmológicos. Sabe-se que há acúmulo de agregados de alfa-sinucleína fosforilada, níveis reduzidos de dopamina e alterações celulares na retina de indivíduos portadores da doença de Parkinson. Dessa maneira, o entendimento das alterações oftalmológicas nesta doença poderia contribuir para um diagnóstico mais precoce, melhor manejo clínico e desenvolvimento de novas terapias. Dessa forma, o presente estudo pretende avaliar as características morfológicas e funcionais da retina, coroide e vasculatura retiniana de indivíduos com a doença de Parkinson por meio da tomografia de coerência óptica (OCT), OCT com profundidade de imagem aprimorada (OCT-EDI), angiografia por OCT (OCTA), sensibilidade visual ao contraste (CVS) e eletrorretinograma de campo total (ERGct) fotópico com avaliação da resposta fotópica negativa (PhNR), comparando-os com controles normais. **MÉTODOS:** Dois estudos compõem esta tese. No primeiro, 38 olhos de 19 participantes com a doença de Parkinson (grupo PD) e 40 olhos de 20 controles saudáveis (grupo CT) foram submetidos à OCT. Foram medidas as espessuras da camada de fibras nervosas da retina peripapilar (pRNFL), da retina macular com segmentação das camadas e da coroide da região macular. Além disso, foi realizada uma subanálise do grupo PD de acordo com o uso ou não de pramipexol. No segundo estudo, 41 olhos de 21 participantes com a doença de Parkinson (grupo PD) e 38 olhos de 19 indivíduos saudáveis (grupo CT) foram submetidos aos exames de: OCT, OCT-EDI, OCTA, CVS e ERGct fotópico com avaliação da PhNR. Foram medidos os valores da CVS monocular e binocular, as espessuras da pRNFL, das camadas da região macular e da coroide peripapilar e macular, a densidade vascular macular e peripapilar e a amplitude e o tempo implícito dos potenciais oscilatórios (PO), resposta fotópica, *flicker* 30 Hz e PhNR. **RESULTADOS:** No primeiro

estudo, observamos no grupo PD valores significativamente menores ($p \leq 0,01$) que o grupo CT nas medidas da espessura foveal total ($251,15 \pm 21,74$ vs $273,06 \pm 15,70$), da camada de fibras nervosas da retina macular (mRNFL; $34,46 \pm 4,84$ vs $37,56 \pm 3,61$), da camada de células ganglionares somada com a camada plexiforme interna (GCL+; $33,84 \pm 6,54$ vs $42,25 \pm 6,80$), do complexo de células ganglionares (GCL++; $37,57 \pm 7,42$ vs $44,59 \pm 8,00$) e da retina interna ($64,79 \pm 14,17$ vs $76,37 \pm 12,43$) e externa ($171,96 \pm 12,62$ vs $181,44 \pm 9,75$). Os indivíduos que fizeram uso de pramipexol apresentavam maior espessura da mRNFL, GCL++, retina interna e externa do que os que não fizeram uso. No segundo estudo, não foi observada diferença estatisticamente significativa das medidas à OCT entre os grupos PD e CT, ao passo que o grupo PD apresentou valores significativamente menores ($p < 0,05$) que o grupo CT da densidade vascular no plexo e complexo macular profundo à OCTA (respectivamente, $18,3 \pm 4,3$ vs $20,9 \pm 4,2$ e $18,1 \pm 4,6$ vs $22,7 \pm 6,2$), da CVS monocular ($1,68 \pm 0,12$ vs $1,82 \pm 0,1$) e binocular ($1,81 \pm 0,1$ vs $1,92 \pm 0,08$) e da amplitude dos PO (média dos PO de $26,4 \pm 8,4$ vs $32,0 \pm 7,0$), da onda b do ERGct fotópico ($152,3 \pm 45,4$ vs $187,1 \pm 32,7$) e da PhNR ($135,0 \pm 35,0$ vs $156,3 \pm 34,1$).

CONCLUSÕES: A doença de Parkinson pode cursar com alterações estruturais à OCT e OCTA. A segmentação da retina à OCT revela uma predileção pelo afinamento de setores mais internos da retina interna, em especial da mRNFL e GCL+. O pramipexol parece influenciar a análise morfológica retiniana, podendo reduzir a neurodegeneração. Além disso, há redução da densidade vascular retiniana à OCTA, especialmente no plexo capilar profundo e no complexo vascular profundo, podendo estas alterações estarem presentes mesmo quando as medidas da OCT não diferem estatisticamente de olhos saudáveis. Contudo, é importante ressaltar que as alterações oftalmológicas funcionais (CVS, ERGct fotópico e PhNR) podem ser detectadas em indivíduos com a doença de Parkinson mesmo quando não se observam alterações estruturais à OCT, auxiliando na diferenciação de indivíduos com e sem a doença. Nossos achados reforçam a hipótese do envolvimento das células bipolares, amácrinas e ganglionares na fisiopatologia das alterações retinianas na doença de Parkinson, com uma provável disfunção celular precedendo as alterações morfológicas vistas à OCT.

Descritores: Doença de Parkinson; Tomografia de coerência óptica; Eletrofisiologia; Retina; Coroide; Vasos retinianos; Células ganglionares da retina.

ABSTRACT

Mello LGM. Morphological and functional evaluation of the retina of patients with Parkinson's disease using optical coherence tomography and electroretinogram. [Thesis]. São Paulo: "Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo"; 2023.

INTRODUCTION: Parkinson's disease, the second most common neurodegenerative disorder worldwide, is known for its classical clinical motor manifestations. However, several non-motor signs and symptoms may also be present even before the motor manifestations, especially the ophthalmological ones. It is known that there is an accumulation of phosphorylated alpha-synuclein aggregates, low dopamine levels, and cellular alterations in the retina of individuals with Parkinson's disease. Therefore, understanding the ophthalmological abnormalities in Parkinson's disease can contribute to an earlier diagnosis, better clinical management, or even the development of new therapies. Thus, the present study intends to evaluate the morphological and functional characteristics of the retina, choroid, and retinal vasculature of individuals with Parkinson's disease through optical coherence tomography (OCT), OCT with enhanced depth imaging (OCT-EDI), OCT angiography (OCTA), visual contrast sensitivity (CVS), and photopic full-field electroretinogram (ERGct) with the assessment of the negative photopic response (PhNR), comparing them with individuals without Parkinson's disease.

METHODS: Two studies were developed in this thesis. In the first one, 38 eyes from 19 participants with Parkinson's disease (group PD) and 40 eyes from 20 healthy controls (group CT) underwent OCT. The thicknesses of the peripapillary retinal nerve fiber layer (pRNFL), segmented macular retinal layers, and the choroid at the macular region were measured. A sub-analysis of the Parkinson's disease group was performed according to the use of pramipexole. In the second study, 41 eyes from 21 participants with Parkinson's disease (group PD) and 38 eyes from 19 healthy controls (group CT) underwent examinations: assessment of OCT, OCT-EDI, OCTA, CVS, and photopic ERGct with the assessment of PhNR. Values of monocular and binocular CVS, the thickness of pRNFL, macular retinal layers and macular and peripapillary choroid, peripapillary and macular vascular density, and the amplitude and peak time of the oscillatory potentials (PO), photopic ERGct, flicker, and PhNR were measured. **RESULTS:** In the first

study, we found in the PD group a statistically significantly ($p \leq 0.01$) thinner fovea (251.15 ± 21.74 vs 273.06 ± 15.70), macular retinal nerve fiber layer (mRNFL; 34.46 ± 4.84 vs 37.56 ± 3.61), ganglion cell layer with the inner plexiform layer (GCL+; 33.84 ± 6.54 vs 42.25 ± 6.80), ganglion cell complex (GCL++; 37.57 ± 7.42 vs 44.59 ± 8.00), and inner (64.79 ± 14.17 vs 76.37 ± 12.43) and outer retina (171.96 ± 12.62 vs 181.44 ± 9.75) compared to CT group. Individuals who used pramipexole had a greater thickness of mRNFL, GCL++, and inner and outer retina than those without it. In the second study, there was no statistically significant difference in OCT measurements between PD and CT groups, while the PD group presented significantly lower values ($p < 0.05$) of vascular density of the deep macular complex and plexus at OCTA (respectively, 18.3 ± 4.3 vs 20.9 ± 4.2 e 18.1 ± 4.6 vs 22.7 ± 6.2), monocular and binocular CVS (respectively, 1.68 ± 0.12 vs 1.82 ± 0.1 and 1.81 ± 0.1 vs 1.92 ± 0.08), and amplitude of PO (mean PO of 26.4 ± 8.4 vs 32.0 ± 7.0), photopic ERGct b-wave (152.3 ± 45.4 vs 187.1 ± 32.7), and PhNR (135.0 ± 35.0 vs 156.3 ± 34.1), compared to CT group.

CONCLUSIONS: Parkinson's disease may promote structural changes of the retina seen in OCT and OCTA. Retinal segmentation on OCT reveals a predilection for thinning of the innermost sectors of the inner retina, especially the mRNFL and GCL+. Pramipexole seems to influence the retinal morphological analysis and may reduce neurodegeneration. The disease can also lead to a decrease in retinal vascular density on OCTA, especially in the deep capillary plexus and vascular complex, which can be detected even when OCT measurements do not differ statistically from healthy eyes. However, it is important to emphasize that ophthalmological dysfunction in the disease (CVS, photopic ERGct, and PhNR) are found even before the detection of structural alterations by OCT, helping to differentiate individuals with and without Parkinson's disease. Our findings reinforce the hypothesis of an involvement of bipolar, amacrine, and retinal ganglion cells in the pathophysiology of retinal alterations in Parkinson's disease, with a cellular dysfunction preceding the morphological findings seen on OCT.

Descriptors: Parkinson's disease; Optical coherence tomography; Electrophysiology; Retina; Choroid; Retinal vessels; Retinal ganglion cells.

1 INTRODUÇÃO

A doença de Parkinson (PD) é a segunda doença neurodegenerativa mais comum no mundo.² Ela pode aumentar em até cinco vezes o risco de morte, está associada a uma menor qualidade de vida (particularmente nos aspectos relacionados às atividades físicas e sociais) e demanda altos custos para a saúde pública e privada.^{3, 4} Um estudo realizado em 2010 nos Estados Unidos da América estimou que os gastos econômicos com a PD excederam 14,4 bilhões de dólares, quase o dobro do que seria esperado para uma população sem a doença.⁵ Por sua vez, o uso de terapias para reduzir a progressão da doença e controlar os sintomas poderia reduzir substancialmente estes gastos e melhorar a qualidade de vida dos pacientes.^{6, 7}

Apesar de ter sido intensamente estudada nos mais de dois séculos de seu reconhecimento, a fisiopatologia da PD ainda não é completamente compreendida.⁸ Sabe-se que há degeneração neuronal, em especial na *pars compacta* da substância *nigra* da via nigroestriatal dopaminérgica, com a presença de corpos e neuritos de Lewy.⁹ Estes consistem em inclusões de alfa-sinucleína em sua forma fosforilada, agregados de organelas intracelulares e membranas lipídicas nos corpos e processos celulares dos neurônios.^{8, 10} Dessa forma, ocorre uma desregulação das vias de controle do movimento nos núcleos da base e interferência no planejamento motor cortical, promovendo as características manifestações motoras da PD.¹¹ Por meio da avaliação da distribuição de alfa-sinucleína no sistema nervoso central de pacientes com a PD, sua deposição ocorreria em estágios mais precoces em outras áreas do corpo, como no bulbo olfatório e no núcleo motor dorsal dos nervos glossofaríngeo e vago.¹²

A evidência de depósitos de alfa-sinucleína em outros órgãos além do sistema nervoso central, como em glândulas salivares e no trato gastrointestinal, confirmou o envolvimento multissistêmico da PD ainda em estágios precoces da doença.^{9, 13, 14} Acredita-se que a alfa-sinucleína possa ser transmitida a células neuronais próximas via endocitose.¹⁵⁻¹⁷ Porém, até o momento, não está estabelecido se esses depósitos partem de órgãos periféricos em direção ao sistema nervoso central (via retrógrada) ou ocorrem por via anterógrada.⁹

Atualmente, sabe-se que as manifestações clínicas motoras clássicas, compreendidas por bradicinesia, tremor de repouso, rigidez e instabilidade

postural, são sinais e sintomas tardios da PD. Contudo, diversos sintomas não-motores decorrentes do envolvimento multissistêmico da doença, como a anosmia, os distúrbios do sono, a dor, a disfunção autonômica e as alterações cognitivas, psiquiátricas e visuais, são extremamente prevalentes mesmo antes do diagnóstico.¹⁸ Com relação às alterações oculares, estudos demonstraram que as retinas de indivíduos com a PD acumulam agregados de alfa-sinucleína, apresentam níveis reduzidos de dopamina e podem apresentar redução de algumas camadas celulares.¹⁹⁻²² Dessa forma, o olho pode ser uma estrutura importante para auxiliar no diagnóstico e manejo de pacientes com a PD, além de poder auxiliar na compreensão de sua fisiopatologia.

Assim como no sistema nervoso central, a presença de alfa-sinucleína já foi detectada nas camadas internas e externas da retina de pacientes com a PD.²³ A forma fosforilada, por sua vez, foi observada somente em camadas internas, como na camada de células ganglionares (GCL) e na camada nuclear interna (INL).²³⁻²⁶ Os neurônios presentes no sistema nervoso central mais propensos a desenvolver os corpos de inclusão relacionados à PD apresentam axônios desproporcionalmente longos em relação aos seus corpos celulares, finos e não são mielinizados ou são parcialmente mielinizados.²⁷ Comparativamente ao sistema nervoso central, as principais células retinianas envolvidas nos sintomas oculares da PD parecem ser as células ganglionares da retina (RGC) e as células amácrinas, localizadas na camada interna da retina.²⁰ Elas possuem importante papel na modulação e condução do estímulo nervoso gerado pela luz a partir das camadas retinianas mais externas (fotorreceptores) para a camada de fibras nervosas da retina em direção ao nervo óptico e ao sistema nervoso central.^{20, 28} Contudo, tanto a retina interna quanto da retina externa apresentam receptores dopaminérgicos e diversas células são influenciadas pela concentração de dopamina para o adequado funcionamento retiniano.^{29, 30} Alguns estudos em animais e em seres humanos demonstraram que o uso da levodopa poderia aumentar a concentração dopaminérgica na retina,¹⁹ restaurar algumas funções visuais a níveis próximos de pacientes controles³¹⁻³³ e até mesmo exercer papel neuroprotetor.³⁴ Dessa forma, não somente a degeneração neuronal associada à alfa-sinucleína fosforilada, mas também a alteração dos níveis de dopamina e dos receptores

dopaminérgicos envolvendo as camadas externa e interna da retina podem ter importante papel nas alterações oftalmológicas da PD.

A acuidade visual (AV) é uma medida frequentemente utilizada na prática clínica para avaliação da função visual.³⁵ Porém, em muitos pacientes com a PD a AV pode estar normal apesar da existência de outras alterações oftalmológicas. A redução da sensibilidade visual ao contraste (CVS), por sua vez, pode ser observada em diversos estágios da doença. Ela está relacionada ao desempenho em várias situações diárias como, na velocidade de leitura e no reconhecimento de faces.²⁰ Assim, a avaliação conjunta da AV com a CVS parece ser uma forma mais aprimorada do que a avaliação isolada da AV para caracterização da percepção visual do paciente com a PD.

A tomografia de coerência óptica (OCT) é um método de imagem não invasivo, baseado em interferometria óptica, que permite realizar uma avaliação anatômica da retina, coróide e disco óptico. O princípio da OCT é análogo ao da ultrassonografia, porém, ao invés do som, utiliza-se de luz com comprimento de onda próximo à faixa do infravermelho para obter um perfil de refletividade das estruturas examinadas. A combinação de imagens transversais (B-scan) permite ainda a avaliação do “en face” (C-scan) e tridimensional dos tecidos oculares. Dessa forma, com o avanço da tecnologia utilizada na OCT e consequente melhora da resolução das imagens que ocorreu nos últimos anos, é possível diferenciar as camadas retinianas e estudar anatomicamente a coróide e o disco óptico por meio da segmentação das imagens de alta resolução.³⁶

Uma meta-análise recente que avaliou os achados da OCT em pacientes com a PD demonstrou redução da espessura da camada de fibras nervosas da retina (RNFL) peripapilar (pRNFL) e da soma da GCL com a camada plexiforme interna (IPL) da região macular (GCL+) em olhos com a PD.²² Não houve diferença estatisticamente significativa na análise das outras camadas da retina – INL, camada plexiforme externa (OPL), camada nuclear externa (ONL) e epitélio pigmentar da retina (RPE). Contudo, poucos estudos analisaram outras camadas da retina além da pRNFL, GCL e IPL, sendo importante ressaltar que, dentre os estudos meta-analisados, somente dois relataram os achados da ONL e estes dados não foram meta-analisados por discriminarem a espessura de diferentes regiões,^{37, 38} um relatou os achados de forma unificada de todas as

camadas externas da retina (da INL até RPE)³⁹ e um relatou os achados do RPE.³⁸ Atualmente a OCT é capaz de avaliar o tecido que passa pelo disco óptico através da medida da menor largura da borda da abertura da membrana de Bruch até a membrana limitante interna (MRW) e não somente a pRNFL.⁴⁰ A importância da avaliação da MRW se dá pela possibilidade de que algumas doenças poderiam afetar não somente a pRNFL, mas envolver as demais estruturas que passam através do disco óptico.⁴¹ Porém, a MRW ainda não foi estudada em pacientes com a PD. Dessa forma, mais estudos são necessários utilizando aparelhos de OCT com melhor resolução de imagem e programas para segmentação da retina para elucidar mais precisamente as possíveis alterações das camadas retinianas dos pacientes com a PD. Além disso, é importante considerar que algumas alterações funcionais retinianas na PD podem ocorrer mesmo quando não se identificam alterações estruturais à OCT.^{42, 43}

Nos últimos anos, foram desenvolvidas novas tecnologias que permitiram também o estudo dos plexos vasculares retinianos de forma não invasiva, como a angiografia por tomografia coerência óptica (OCTA), e uma melhor resolução da imagem quanto à caracterização de tecidos mais profundos como a coroide, como a OCT com profundidade de imagem aprimorada (OCT-EDI). A OCTA realiza uma série de imagens transversais precisamente em um mesmo local e compara diferenças na intensidade ou amplitude do sinal luminoso captado, construindo um mapa diretamente correlacionado com elementos móveis intraoculares. Uma vez que movimentos realizados pelo paciente são eliminados ou reduzidos pelo equipamento e considerando a presença de fluxo sanguíneo nos vasos intraoculares, a imagem gerada pela OCTA reflete diretamente locais onde há movimento eritrocitário: os vasos sanguíneos da retina.⁴⁴ Até o presente momento, poucos estudos utilizaram a OCTA para investigar as alterações vasculares da retina em olhos com a PD, tendo a maioria deles demonstrado uma redução da densidade vascular na região macular.⁴⁵⁻⁵⁰ Quanto à avaliação da coroide com a OCT-EDI, dois estudos evidenciaram um aumento da espessura na região peripapilar,^{51, 52} mas os achados na região macular parecem inconclusivos: quatro estudos demonstraram redução da espessura,⁵³⁻⁵⁶ diferentemente de outros três estudos que não mostraram alterações.^{49, 52, 57}

A avaliação funcional objetiva da via óptica, como a realizada por meio de estudos eletrofisiológicos, pode trazer informações importantes para a prática clínica. Pacientes com a PD podem apresentar aumento da latência da onda P100 do potencial visual evocado (VEP), menor amplitude do eletrorretinograma de padrão reverso (PERG) e alteração dos potenciais oscilatórios (PO), das ondas a e b do eletrorretinograma de campo total (ERGct) e das ondas N1, P1 e N2 do eletrorretinograma multifocal (ERGMf).^{20, 38, 58} Foi demonstrado também que algumas dessas alterações ocorrem com o uso de inibidores da dopamina e são reversíveis após uso de levodopa.²⁰ Assim, verifica-se a participação direta da deficiência retiniana de dopamina nas alterações funcionais observadas à eletrofisiologia em pacientes com a PD.

A análise da resposta fotópica negativa (PhNR) do eletrorretinograma adaptado à luz tem ganhado importância nos últimos anos por permitir uma melhor avaliação das RGC.⁵⁹ Não há estudos publicados avaliando a PhNR em pacientes com a PD. Porém, em pacientes com atrofia do nervo óptico pós-traumática, glaucoma, retinopatias, neuropatias hereditárias, inflamatórias, compressivas e isquêmicas, a PhNR demonstrou estar seletiva ou predominantemente afetada.⁶⁰⁻⁶⁸

Diversas medicações podem ser utilizadas no manejo do paciente com a PD, como por exemplo, a levodopa, os agonistas dopaminérgicos, os inibidores da catecol o-metiltransferase, os inibidores da monoamina oxidase e a amantadina.¹⁸ Apesar das terapias disponíveis, apenas os efeitos da levodopa e dos agonistas dopaminérgicos sobre a espessura da camada de fibras da retina de pacientes com PD foram avaliados até o momento.^{34, 69} Nestes estudos observou-se que a levodopa parece retardar a perda dos neurônios da retina.^{34, 69} O efeito de outras medicações anti-parkinsonianas além da levodopa nos aspectos morfológicos e eletrofisiológicos retinianos associados à PD ainda carece de informação na literatura científica.

A PD possui elevada prevalência, com custos socioeconômicos significativos, e tendência a um aumento expressivo nos próximos anos.² Medidas para reduzir a progressão da doença devem ser realizadas a fim de diminuir os gastos públicos e melhorar a qualidade de vida dos pacientes.⁶ A PD cursa com piora da capacidade visual em decorrência das alterações da

motilidade ocular extrínseca e retinianas.^{20, 70} Dessa forma, o entendimento das alterações oftalmológicas morfológicas e funcionais relacionadas à PD pode auxiliar na elucidação da fisiopatologia da doença, no aprimoramento do diagnóstico e no manejo clínico dos pacientes.

2 OBJETIVOS

2.1. Objetivo geral

Avaliar as características morfológicas e funcionais da retina, coróide e vasculatura retiniana de indivíduos com a PD por meio da OCT, da OCT-EDI, da OCTA, da CVS e do ERGct fotópico com avaliação da PhNR, comparando-os com olhos de indivíduos sem a PD.

2.2. Objetivos específicos

- i. Comparar a espessura da retina macular e suas camadas de indivíduos com e sem a PD por meio da OCT;
- ii. Comparar a menor largura da borda da abertura da membrana de Bruch até a membrana limitante interna (MRW) e da pRNFL de indivíduos com e sem a PD por meio da OCT;
- iii. Comparar a espessura da coróide da região macular e peripapilar de indivíduos com e sem a PD por meio da OCT-EDI;
- iv. Comparar a densidade vascular macular, as características da zona avascular foveal (FAZ) e a densidade vascular peripapilar de indivíduos com e sem a PD por meio da OCTA;
- v. Comparar as características funcionais de olhos de indivíduos com e sem a PD por meio da CVS e do ERGct fotópico com avaliação da PhNR.

3 REVISÃO DA LITERATURA

3.1. Epidemiologia da doença de Parkinson

A PD é uma das doenças neurodegenerativas mais comuns em todo o mundo, sendo aquela com o maior aumento da prevalência nas últimas décadas. Isso se deve não somente pelo aumento da expectativa de vida e envelhecimento da população, mas também pela melhoria nos métodos diagnósticos e melhor entendimento da doença.³ Quando comparado com indivíduos saudáveis, pacientes com a PD têm até cinco vezes mais risco de morte.⁷¹ Somente no ano de 2016 a PD foi causa de mais de 200 mil óbitos no mundo, estando associada a mais de três milhões DALY (anos de vida perdidos ajustados por incapacidade, do inglês “Disability Adjusted Life Years”). O DALY é uma forma de quantificar os anos de vida saudável perdida, considerando incapacidade e morte prematura. Neste mesmo ano, no Brasil, mais de 128 mil indivíduos eram portadores da PD, com DALY estimado de 66 mil.³

Além do impacto negativo na saúde do paciente, a PD está associada a elevados custos diretos (gastos médico-hospitalares) e indiretos (como perda de produtividade e invalidez).⁷² Os dados referentes aos custos da PD no Brasil são escassos, tendo sido estimado um gasto anual de aproximadamente R\$18 mil por paciente entre os anos de 2015 e 2016 (cerca de R\$ 2,3 bilhões considerando toda a população portadora da doença). Porém, é importante ressaltar que esse valor pode ser ainda maior, uma vez que não foram considerados centros médicos particulares, locais com realização de procedimentos cirúrgicos para o tratamento da PD e custos com cuidadores, além da alta taxa de não adesão dos indivíduos convidados a participar do estudo.⁷³ Uma pesquisa mais aprofundada realizada nos Estados Unidos da América estimou que até 2037 haverá um custo anual de aproximadamente US\$44 mil por indivíduo com a PD, incluindo gastos médicos diretos e indiretos.⁷² Projetando esse custo para a população brasileira, o gasto total anual ultrapassaria US\$6,4 bilhões.

Desde que foi descrita em 1817 por James Parkinson como uma “paralisia agitante” (do inglês, “shaking palsy”),⁷⁴ muito se avançou no entendimento da PD. Ela geralmente se manifesta a partir da 5ª década de vida, sendo discretamente mais prevalente no sexo masculino,³ possuindo quatro sintomas

cardinais: tremor de repouso, rigidez, bradicinesia e instabilidade postural.^{75, 76} São considerados fatores de risco para as síndromes parkinsonianas: o consumo de leite e derivados,⁷⁷ o uso de anfetaminas/metanfetaminas^{78, 79} e a exposição a pesticidas.⁸⁰ Dentre fatores tidos como protetores, destacam-se a prática de atividade física,⁸¹ o tabagismo,⁸² o consumo de cafeína,^{82, 83} o consumo de alguns chás,^{84, 85} a reposição hormonal em mulheres pós-menopausadas,⁸⁶ o uso de bloqueadores de canais de cálcio⁸⁷ e a presença de altas concentrações séricas de ácido úrico.⁸⁸ Estudos demonstraram também uma maior associação da PD com melanoma,⁸⁹ traumatismo cranioencefálico⁹⁰ e infecção pela *Helicobacter pylori*,^{91, 92} podendo esta bactéria estar relacionada também à deterioração clínica do paciente⁹² e a uma menor resposta ao tratamento medicamentoso com levodopa.⁹³

3.2. Fisiopatologia, manifestações clínicas e diagnóstico

Apesar de grandes avanços acerca da etiologia e da fisiopatologia da PD, elas ainda não foram completamente elucidadas. A etiologia é incerta, mas acredita-se que a combinação de fatores ambientais, genéticos e alterações celulares associadas ao envelhecimento humano contribuam para o seu desenvolvimento.⁹⁴ O grande marco anatomopatológico da PD é a presença dos corpos e dos neuritos de Lewy associada à morte neuronal,⁹⁵ com típico envolvimento dos neurônios dopaminérgicos localizados na *pars compacta* da *substantia nigra* do mesencéfalo.¹² Esses achados parecem estar relacionados a uma disfunção neuronal causada por alterações mitocondriais, aumento do estresse oxidativo e modificações de proteínas, que parece preceder o aparecimento dos achados clínicos e histopatológicos típicos da doença.⁹⁶⁻⁹⁸

Os corpos e neuritos de Lewy consistem em inclusões neuronais com agregados de alfa-sinucleína fosforilada, membranas citoplasmáticas fragmentadas, vesículas e organelas celulares, incluindo mitocôndrias.¹⁰ A alfa-sinucleína, importante molécula na PD e em outras sinucleinopatias, é uma proteína abundante na região pré-sináptica de neurônios do sistema nervoso central, mas que pode ser encontrada também em diversos órgãos.⁹⁹ Ela parece participar de ou influenciar vários processos celulares, como se ligar e remodelar

membranas, atuar como chaperonas (moléculas essenciais para adequada formação de proteínas), alterar o tráfego de vesículas celulares, inibir a síntese de dopamina e potencialmente afetar a liberação de neurotransmissores.⁹⁹ Acredita-se que a alfa-sinucleína possa ser liberada para o meio extracelular junto de exossomos por um mecanismo dependente de cálcio, sofrer proteólise por enzimas extracelulares, ser novamente internalizada por neurônios e micróglia adjacentes e induzir a agregação de alfa-sinucleína em neurônios interconectados, em um mecanismo similar à disseminação priônica.⁹⁹ Contudo, nem todos neurônios sofrem as alterações morfológicas e funcionais relacionadas aos depósitos de alfa-sinucleína. O tipo mais comumente afetado é o neurônio de projeção com um longo e fino axônio amielínico ou parcialmente mielinizado, requerendo um dispendioso gasto energético e deixando-o mais exposto ao estresse oxidativo.²⁷

Baseado na localização dos corpos e neuritos de Lewy e nos depósitos de alfa-sinucleína, Braak et. al,¹² em 2003, sugeriram uma evolução da PD em fases ao longo da medula oblonga, mesencéfalo, prosencéfalo basal até o neocórtex, hipotetizando que o envolvimento do sistema nervoso central pudesse ter uma evolução ascendente a partir do núcleo motor dorsal do nervo vago.^{12, 100} Ainda que o estadiamento de Braak e a hipótese sugerida para a disseminação da PD ao longo do tempo e espaço sejam motivos de debate,¹⁰¹⁻¹⁰⁴ ambos têm sido aceitos na comunidade científica e permitem classificar adequadamente a grande maioria dos pacientes.^{105, 106} É importante ressaltar que os sintomas clássicos da PD estão relacionados à deficiência de dopamina secundária ao dano de neurônios dopaminérgicos da *substantia nigra* do mesencéfalo. Contudo, isso ocorre somente no terceiro estágio anatomopatológico da doença¹² e quando há acometimento de pelo menos 50% desses neurônios.¹⁰⁷ A fase dita “pré-sintomática” da PD equivaleria, portanto, aos estágios 1 e 2 de Braak.¹² Assim, o entendimento das manifestações clínicas não motoras da PD tem ganhado importância visto que elas podem preceder por até cerca de 20 anos o diagnóstico da doença, perduram ao longo da sua evolução e podem servir como importantes biomarcadores.^{12, 108-110}

No início da PD os sinais e sintomas clássicos podem ser frustrantes e até estarem ausentes, fazendo com que o diagnóstico precoce seja difícil.¹¹¹ É

importante também a diferenciação diagnóstica com outras síndromes parkinsonianas, que possuem algumas características clínicas em comum.¹¹² Um dos principais critérios diagnósticos da PD utilizados na prática clínica e em pesquisas é o da *United Kingdom Parkinson's Disease Society Brain Bank* (UKPDSBB) (Quadro 1).¹¹³ Ainda que a confirmação anatomopatológica seja considerada o padrão-ouro para o diagnóstico definitivo da PD,^{75, 114, 115} a aplicação de critérios clínicos por médicos especialistas permite a diferenciação das outras síndromes parkinsonianas com razoável acurácia.¹¹⁶⁻¹¹⁸

Quadro 1 – Critérios clínicos diagnósticos da *United Kingdom Parkinson's Disease Society Brain Bank*

Etapa 1. Diagnóstico da SÍNDROME PARKINSONIANA

BRADICINESIA (lentidão para iniciar o movimento voluntário com progressiva redução da velocidade e amplitude das ações repetitivas).

E pelo menos um dos itens abaixo:

- a. Rigidez muscular
- b. Tremor de repouso de 4-6 Hz
- c. Instabilidade postural não causada por disfunção primária visual, vestibular, cerebelar ou proprioceptiva.

Etapa 2. Critérios de exclusão para doença de Parkinson.

história de acidentes vasculares cerebrais repetidos com progressão gradativa dos achados clínicos relacionados à doença de Parkinson

história de traumatismo cranioencefálico repetitivo

história de encefalite

crises oculogíricas

tratamento com neurolépticos no início dos sintomas

mais de um parente afetado

remissão sustentada

características estritamente unilaterais após três anos do início da doença

paralisia supranuclear do olhar

sinais cerebelares

disfunção autonômica grave e precoce

demência grave e precoce com distúrbios de memória, linguagem e práxis

sinal de Babinski

Quadro 1 – Critérios clínicos diagnósticos da *United Kingdom Parkinson's Disease Society Brain Bank*

presença de tumor cerebral ou hidrocefalia comunicante na tomografia computadorizada de crânio
resposta negativa a grandes doses de levodopa (após exclusão de má absorção)
exposição ao MPTP (1-metil-4-fenil-1,2,3,6-tetrahidropiridina)

Etapa 3. Critérios prospectivos que corroboram para o diagnóstico da DOENÇA DE PARKINSON. Três ou mais são requeridos para o diagnóstico definitivo.

início unilateral
presença de tremor de repouso
doença progressiva
assimetria persistente afetando o lado com a melhor resposta à levodopa (70-100%) no início dos sintomas
coreia grave induzida por levodopa
resposta à levodopa por 5 anos ou mais
duração da doença por 10 anos ou mais

FONTE: Traduzido de Gibb WR e Lees AJ, 1988.¹¹³

Com a progressão da PD, além da bradicinesia, da rigidez e do tremor (essenciais para o diagnóstico clínico), os pacientes podem manifestar diversos sintomas motores, como discinesias, deformidades axiais, disfagia, instabilidade postural e alteração da marcha.¹¹⁹ Porém, os sintomas não motores têm ganhado importância nas últimas décadas tendo em vista o fato de alguns deles estarem presentes ainda na fase pré-sintomática¹²⁰ e o grande impacto que causam na qualidade de vida dos pacientes.¹²¹ A fisiopatologia das manifestações não motoras é variada, envolvendo células dopaminérgicas, células não dopaminérgicas e os depósitos de alfa-sinucleína com formação dos corpos e neuritos de Lewy, já identificados em outros órgãos e sistemas além do sistema nervoso central.^{120, 122-124} O Quadro 2 resume os principais sintomas não motores associados à PD.^{120, 122-128}

Quadro 2 – Sintomas não motores associados à doença de Parkinson*Distúrbios do sono*

Insônia
Parassonias da fase não-REM do sono
Respiração desordenada do sono
Síndrome das pernas inquietas, movimentos periódicos das pernas
Sonolência diurna excessiva, narcolepsia tipo “ataque de sono”
Transtorno de comportamento na fase REM do sono

Sintomas cardiovasculares

Hipotensão ortostática
Síncope

Sintomas cutâneos

Hiperidrose
Seborreia

Sintomas gastrointestinais

Constipação
Disfagia
Incontinência fecal
Náusea
Refluxo gastrointestinal
Sialorreia
Vômito

Sintomas genitourinários

Aumento da frequência urinária
Disfunção erétil
Noctúria
Retenção urinária
Urgência urinária

Sintomas neuropsiquiátricos

Agressividade
Alucinações, delírios, ilusões
Ansiedade

Quadro 2 – Sintomas não motores associados à doença de Parkinson

Apatia

Ataques de pânico

Delirium (pode ser induzido por drogas)

Depressão

Desinibição

Distúrbio cognitivo (demência, comprometimento cognitivo leve)

Psicose

Síndrome disexecutiva

Transtorno comportamental

Sintomas respiratórios

Dispneia

Estridor

Sintomas sensoriais

Alteração da acuidade visual

Alteração da sensibilidade visual ao contraste

Alteração da visão de cores

Dor

Hiposmia, anosmia funcional

Perturbação olfativa, ageusia

Outros

Alteração da motilidade ocular extrínseca, dificuldade de leitura, insuficiência de convergência

Fadiga

Perda de peso

Xeroftalmia

FONTE: Adaptado de Armstrong RA, 2015; Chaudhuri KR, Healy DG, Schapira AHV, 2006; Chaudhuri KR, Odin P, Antonini A, Martinez-Martin P, 2011; Guo L, Normando EM, Shah PA, De Groef L, Cordeiro MF, 2018; Jellinger KA, 2011; Racette BA, Gokden MS, Tychsen LS, Perlmutter JS, 1999; Schapira AHV, Chaudhuri KR, Jenner P, 2017; Seppi K, Ray Chaudhuri K, Coelho M, Fox SH, Katzenschlager R, Perez Lloret S, Weintraub D, Sampaio C, 2019.^{120, 122-128}

3.3. A via visual anterior na doença de Parkinson

As disfunções visuais nos pacientes com a PD são muito frequentes, com algumas delas incidindo em até quase 80% dos casos.¹²⁸ Dentre as manifestações oftalmológicas, destaca-se a alteração da visão de cores, da sensibilidade visual ao contraste, a redução da acuidade visual, as alucinações visuais, alterações da motilidade ocular extrínseca e a xeroftalmia. As alterações da visão de cores e da sensibilidade visual ao contraste ocorrem ainda nos estágios iniciais da doença^{129, 130} e, ao menos em parte, são dependentes da dopamina.^{31, 131} A redução da AV, por sua vez, parece independe da dopamina, sugerindo estar relacionada a lesões estruturais além das disfunções celulares retinianas.¹³² As alucinações visuais também podem estar presentes nos estágios precoces da PD,^{133, 134} mas acredita-se que sua fisiopatologia envolva alterações retinianas, do sistema nervoso central e o uso de medicações dopaminérgicas.^{135, 136} Diversas disfunções da motilidade ocular extrínseca, como insuficiência da convergência e alterações dos movimentos sacádicos e persecutórios, também podem estar presentes, algumas delas melhorando com a reposição de dopamina.^{126, 127, 137}

Por ser considerado uma janela para o sistema nervoso central, o olho possui grande relevância na avaliação dos pacientes com doenças neurodegenerativas, em especial a retina e o nervo óptico.¹³⁸ A retina é dividida histologicamente em 10 camadas: RPE, camada de fotorreceptores (PRL), membrana limitante externa, ONL, OPL, INL, IPL, GCL, RNFL e membrana limitante interna (ILM). Além das células epiteliais do RPE, seis neurônios (os fotorreceptores – cones e bastonetes – e as células horizontais, bipolares, amácrinas e ganglionares) e uma célula glial (célula de Müller) se distribuem ao longo da retina, exercendo diferentes funções complementares para o processamento do estímulo luminoso, desde a conversão da luz em sinal bioelétrico até o envio deste sinal para o sistema nervoso central por meio da RNFL que segue pelo nervo óptico.¹³⁹⁻¹⁴¹

A atividade e a performance retiniana são diretamente influenciadas pela luz e pelos diferentes níveis de iluminação.¹⁴² A dopamina é um importante neuromodulador retiniano, otimizando o processamento visual por parte de

diferentes células da retina externa e interna em condições fotópicas e escotópicas.¹⁴¹ Além das condições de iluminação do ambiente, o ritmo circadiano também pode influenciar a concentração de dopamina retiniana. Os níveis de dopamina parecem ser maiores no início da manhã e diminuem gradativamente ao longo do dia.¹⁴³ Portanto, em um ambiente iluminado a dopamina contribui para direcionar a sinalização retiniana para uma dominância dos cones e prevenir a saturação com o aumento da intensidade da luz, além de modular a manutenção do ritmo circadiano.¹⁴⁴

A deficiência de dopamina tem importante papel na fisiopatologia da PD.⁸ A perda de neurônios dopaminérgicos e a alteração da concentração de dopamina na retina parecem influenciar negativamente em grande parte nas manifestações oculares nestes pacientes.²⁰ Além disso, é importante considerar também que a dopamina pode atuar em variadas células retinianas por meio de diferentes receptores dopaminérgicos.²⁹ Há duas classes desses receptores baseado na ação sobre a enzima adenilato ciclase (responsáveis pelo aumento do nível intracelular de adenosina 3',5'-monofosfato cíclico – AMP cíclico): a classe D1 que estimula a enzima adenilato ciclase, composta pelos receptores D1 e D5; a classe D2, composta pelos receptores D2, D3 e D4, que inibe a enzima adenilato ciclase.¹⁴⁵

Grande parte do conhecimento sobre os receptores dopaminérgicos retinianos advém de estudos em animais.²⁹ O RPE expressa receptores da classe D1, por meio dos quais a dopamina atuaria reduzindo a fagocitose. Nos fotorreceptores, a dopamina parece atuar nos receptores da classe D2 reduzindo a liberação dos discos membranosos do segmento externo no processo de renovação celular. Além disso, atua nos bastonetes bloqueando sua hiperpolarização e favorecendo a via dos cones em resposta à luz.²⁹ As células horizontais são interneurônios com grandes campos receptivos que formam uma rede de sinapses (sincício) relacionada à via dos cones e à via dos bastonetes, influenciando a organização cromática e do contraste do sinal bioelétrico da retina por meio da inibição dos fotorreceptores ao redor do estímulo luminoso e influenciando as células bipolares.¹⁴⁶⁻¹⁴⁹ Nestas células, a dopamina parece agir via receptores da classe D1 desacoplando as ligações sinápticas das células horizontais com os fotorreceptores e células bipolares, promovendo redução do

campo receptivo que seria transmitido para as camadas mais internas da retina.²⁹ Com relação às células bipolares, existem dois tipos: as ditas OFF, que se hiperpolarizam (são inibidas) quando um estímulo luminoso incide nos fotorreceptores (cones e bastonetes) da região de seu campo receptivo; e as do tipo ON, que se despolarizam (são excitadas) com a luz e, assim, invertem a polaridade do sinal enviado pelo fotorreceptor, estimulando as células ganglionares do tipo ON.¹⁵⁰ Alguns subtipos de células bipolares da via dos cones, mas não as da via dos bastonetes, apresentam receptores dopaminérgicos da classe D1.¹⁵¹ Além disso, por meio desta classe de receptores a dopamina melhora a resposta de algumas células bipolares.¹⁴⁴ O tipo de resposta à luz (transitória, aquela imediata à mudança da luz e que transmite informações sobre o movimento e a percepção de bordas dos objetos, ou sustentada, que transmite informações associados a cores e formas) das células bipolares é responsável por determinar as respostas das células ganglionares.¹⁵² Nas células bipolares do tipo ON, os receptores D1 são expressos naquelas com respostas transitórias à luz, enquanto que nas células bipolares do tipo OFF, os mesmos tipos de receptores são expressos naquelas com respostas sustentadas, e não transitórias, à luz.¹⁵¹

As células amácrinas são compostas por um corpo celular (localizado na INL) e múltiplos dendritos, alguns longos parecidos com axônios, realizando sinapses principalmente na IPL, mas alcançando também a OPL.^{141, 153, 154} Dentre os vários tipos de células amácrinas, as ditas dopaminérgicas (DAC) são as principais produtoras de dopamina na retina, em especial o tipo A18.^{141, 153} As DAC recebem estímulos excitatórios das células bipolares associadas aos cones e de RGC intrinsecamente fotossensíveis, além de estímulos inibitórios gabaérgicos e glicerinérgicos provindos de outras células amácrinas (principalmente o tipo AII).^{141, 153} Além disso, a secreção de dopamina é inibida pela melatonina em condições escotópicas, ao passo que a dopamina inibe a secreção de melatonina em condições fotópicas em um mecanismo de controle da atividade retiniana no claro-escuro.^{155, 156} A autorregulação das DAC parece ocorrer via receptores da classe D1 e D2 a depender também da presença ou ausência de luz.^{29, 157} Por meio dos receptores da classe D1, a dopamina parece

inibir as células amácrinas glicinérgicas, como a AII, mas parece estimular a liberação de acetilcolina pelas células amácrinas colinérgicas.²⁹

A presença de receptores dopaminérgicos nas células ganglionares ainda é um dado incerto.²⁹ Contudo, sabe-se que suas atividades celulares parecem ser influenciadas por diferentes receptores dopaminérgicos em condições fotópicas (o aumento de dopamina ativa receptores da classe D1 aumentando a condutância das junções comunicantes intercelulares) e escotópicas (a baixa concentração de dopamina ativa principalmente receptores da classe D2, diminuindo a permeabilidade das junções comunicantes intercelulares).¹⁵⁸ O sinal bioelétrico enviado pelas células ganglionares é resultante não somente da transmissão vertical da intensidade da luz pelas as camadas da retina, mas principalmente pelo processamento horizontal da informação captada pelos seus campos receptivos com uma organização antagônica centro-periferia (sob condições fotópicas um fotorreceptor é excitado a partir de um pequeno estímulo central e afetado de forma oposta pela estimulação de uma zona anelar ao redor).²⁰ A dopamina atenua a organização centro-periferia dos campos receptivos das células ganglionares, favorecendo a via dos cones em relação a dos bastonetes em resposta à luz.^{29, 159}

As células de Müller são as principais células gliais da retina. Elas se estendem ao longo de toda sua espessura tendo papel fundamental na manutenção estrutural e funcional deste tecido, contribuindo inclusive no processo de sinalização neuronal e para a manutenção da homeostase iônica.¹⁶⁰ Algumas dessas células parecem responder à dopamina e aos agonistas dos receptores da classe D2 reduzindo a condutância de potássio e, conseqüentemente, da amplitude da onda b do eletrorretinograma.¹⁶¹ Porém, receptores da classe D1 também foram identificados nas células de Müller possivelmente atuando na atenuação da gliose dessas células.¹⁶²

No sistema nervoso central, os tipos celulares mais comumente afetados na PD são neurônios de projeção com um longo e fino axônio amielínico ou parcialmente mielinizado.²⁷ Comparativamente, os neurônios retinianos que poderiam apresentar características similares seriam as células ganglionares, com seus longos axônios parcialmente mielinizados, e as células amácrinas (especialmente as DAC, subtipo A18), com seus múltiplos dendritos, alguns

longos e parecidos com axônios, ambas com alta atividade metabólica e susceptibilidade ao estresse oxidativo. Na retina de pacientes com a PD, as DAC apresentam alterações morfológicas, com dendritos mais curtos, algumas regiões mais espessas (sinal de degeneração) e um plexo de sinapses menos contínuo com perda das mesmas, desarranjo das típicas formações em anel e importante redução das projeções em direção à retina externa.¹⁶³

Análises imuno-histoquímicas de tecidos oculares de pacientes com e sem a PD demonstraram a presença de alfa-sinucleína na retina (segmento externo dos fotorreceptores, GCL, IPL, INL) e nervo óptico.^{23, 24, 164, 165} Em pacientes com a PD, foi detectada também a presença de alfa-sinucleína fosforilada na retina interna especialmente na GCL, IPL e INL,^{23, 25, 26} além de estruturas similares aos corpos e neuritos de Lewy na IPL.^{23, 24} Dessa forma, a combinação da possível susceptibilidade estrutural de neurônios retinianos específicos, da sua alta atividade metabólica e mitocondrial, da presença de alfa-sinucleína fosforilada nos olhos de pacientes com a PD, da importância da dopamina para o adequado funcionamento das células da retina, dos sintomas visuais e considerando a possibilidade da aplicação de exames não invasivos para avaliação funcional e estrutural da retina e do nervo óptico, o olho pode ser considerado um importante alvo para avaliação multimodal dos pacientes com a PD.

3.3.1. A acuidade visual e a sensibilidade visual ao contraste na doença de Parkinson

A avaliação da AV em condições de alto contraste é um dos parâmetros funcionais básicos da avaliação oftalmológica. Alguns estudos demonstraram que ela pode estar alterada em alguns pacientes com a PD^{132, 166, 167} e foi até mesmo sugerida uma correlação com a presença de alucinações visuais.¹⁶⁸ Porém, outros estudos demonstraram uma redução da CVS mas não da AV na PD.^{169, 170} A redução da CVS é uma importante disfunção associada à deficiência dopaminérgica retiniana na PD,^{131, 171} que melhora ao menos parcialmente após a administração de levodopa.^{31, 32} As alterações da CVS nesta doença são ainda mais notáveis no que envolve a mudança das frequências espacial e temporal,

sugerindo um desbalanço na regulação da organização centro-periferia das vias retinianas.^{131, 172}

3.3.2. Eletrofisiologia visual na doença de Parkinson

Os exames eletrofisiológicos são alguns dos principais testes complementares oftalmológicos para avaliação funcional da via óptica. Destacam-se cinco testes com potencial importância na avaliação dos pacientes com a PD: i) o VEP, que permite uma avaliação clínica da função da via visual por meio da captação de sinais eletroencefalográficos no córtex occipital evocado por estimulação visual;¹⁷³ ii) o ERGct, que avalia a resposta de toda a retina (em massa) a um estímulo luminoso em condição escotópica e fotópica, e os PO, originados da retina interna (provavelmente da interação entre as células bipolares, amácrinas e células ganglionares);^{173, 174} iii) o PERG, que avalia a função da retina interna, em especial as RGC da região macular; iv) o ERGmf, que, ao contrário do ERGct, avalia a resposta de uma área retiniana focal (em geral, macular) ao estímulo luminoso; v) O eletro-oculograma (EOG), que avalia a função global do RPE.¹⁷³ Alguns estudos sugerem que as alterações oftalmológicas funcionais na PD podem superar e até mesmo preceder as alterações estruturais.^{42, 43, 175} Dessa forma, os exames eletrofisiológicos poderiam ajudar no entendimento das alterações oculares na PD e no manejo do paciente.

Na PD, há um aumento da latência da onda P100 no VEP, sendo ainda maior utilizando menores intensidades de contraste^{58, 176-178} e reversível com a administração de levodopa.¹⁷⁹ No ERGct, as amplitudes das ondas a e b nas fases escotópicas e fotópicas e dos PO apresentam-se reduzidas em diferentes intensidades do estímulo luminoso, sugerindo a participação dos fotorreceptores, células bipolares e das células de Müller na patogênese das alterações retinianas na PD.^{58, 175, 178} Após administração de levodopa, pacientes com a PD podem apresentar melhora das respostas do ERGct, reforçando a importância da participação da dopamina na resposta retiniana à luz.³³ Ainda que a aquisição do PERG em pacientes com a PD possa ser de certa forma prejudicada pelo tremor ocasionado pela doença, respostas com tempo implícito aumentado e

amplitude reduzida foram observadas nestes pacientes, principalmente com o uso de estímulos com menor contraste,^{58, 180} além de uma disfunção seletiva na frequência espacial média-alta com relativa preservação na baixa frequência.¹⁸¹ Essas alterações do PERG parecem estar relacionadas à deficiência dopaminérgica retiniana.¹⁸⁰⁻¹⁸²

Assim como o PERG, o resultado do ERGmf pode ser potencialmente afetado pelos tremores.¹⁸³ Ainda que poucos estudos tenham avaliado os achados do ERGmf na PD, as ondas N1 e, especialmente, P1 na região macular central (fóvea e parafovea) parecem ser predominantemente alteradas (amplitude reduzida e tempo implícito atrasado).^{170, 184, 185} Um estudo sugeriu que a combinação da avaliação funcional por meio do ERGmf com a avaliação estrutural parece melhorar a discriminação de pacientes com e sem a PD.¹⁸⁵ Alguns estudos também avaliaram o EOG em indivíduos com esta doença, apresentando redução do índice de Arden por um atraso para atingir o pico à luz e por uma redução da amplitude do pico à luz.^{178, 186}

Estímulos luminosos coloridos também já foram utilizados nos testes eletrofisiológicos em indivíduos com a PD. Foram demonstradas alterações no VEP e no PERG cromáticos, relacionadas à deficiência dopaminérgica retiniana na gênese da disfunção da visão de cores nestes pacientes, em especial da via de cones azuis.¹⁸⁷⁻¹⁹¹ Dessa forma, é importante considerar que não somente os níveis de contraste e de intensidade da luz influenciam a avaliação funcional eletrofisiológica de olhos com a PD, mas os estímulos luminosos cromáticos também possuem importância no entendimento das alterações oculares.

A PhNR é uma onda negativa que ocorre após a onda b e depois da onda d em resposta a um flash longo de luz vermelha em fundo azul, sendo relacionada à função das RGC.^{192, 193} Ainda que o PERG e a PhNR tenham origem na retina interna, especialmente das células ganglionares, a aquisição da PhNR é mais rápida, sofre menor influência de movimentos oculares e do paciente, além de permitir uma análise global da retina e não somente da região mais central da retina como no PERG.¹⁹⁴ Nos últimos anos, a avaliação da PhNR tem ganhado importância na Oftalmologia, em especial na avaliação de doenças que acometem a retina interna.^{59, 194} Contudo, ainda não há estudos publicados com avaliação da PhNR na PD.

3.3.3. A tomografia de coerência óptica na doença de Parkinson

A análise estrutural da retina nas doenças neurodegenerativas também ganhou notória atenção, especialmente após o desenvolvimento e aperfeiçoamento de exames de imagem não invasivos como a OCT e a OCTA, que permitiram melhor avaliar a morfologia do nervo óptico, da mácula, incluindo a espessura das camadas retinianas, da coroide e dos plexos vasculares retinianos.^{195, 196} Uma meta-análise publicada em 2014 com 13 estudos que avaliaram a pRNFL de pacientes com a PD utilizando diferentes aparelhos de OCT sugeriu que a espessura da pRNFL (média e no quadrante temporal) estaria reduzida em olhos com a PD em comparação com controles saudáveis, independentemente do equipamento de OCT utilizado.¹⁹⁷ Em 2019, outra meta-análise foi realizada com 36 estudos avaliando a pRNFL e as camadas da retina na região macular.²² Foi encontrado um afinamento significativo da pRNFL (média global e todos os setores exceto o nasal, o que diverge, em parte, da meta-análise de 2014) e da GCL+ (média global), porém nem todas as camadas externas foram avaliadas. Outras três meta-análises foram realizadas posteriormente,¹⁹⁸⁻²⁰⁰ também demonstrando redução da pRNFL, predominantemente no setor inferior,^{198, 199} e da GCL+, especialmente nos setores maculares mais internos,^{198, 199} sem diferença entre os grupos com e sem a PD com relação à espessura das camadas externas da retina analisadas.¹⁹⁸ Contudo, um estudo sugeriu haver diferença entre os resultados de diferentes aparelhos de OCT na avaliação dos pacientes com a PD, com o Cirrus HD-OCT (Carl Zeiss Meditec, Dublin, California, USA) demonstrando maior afinamento que o Spectralis OCT (Heidelberg Engineering, Heidelberg, Germany), podendo o uso de diferentes equipamentos justificar, ao menos em parte, as diferenças observadas entre os resultados dos estudos com OCT.¹⁹⁹

O aperfeiçoamento da OCT permitiu a obtenção de imagens mais rápidas, com melhor resolução da imagem de tecidos oculares mais profundos como a coroide e melhor caracterização dos plexos vasculares retinianos.²⁰¹⁻²⁰³ Equipamentos mais recentes de OCT passaram a permitir mais uma análise da região do disco óptico, além da tradicional medida pRNFL. Atualmente, é

possível avaliar a espessura total do tecido neural que passa através do nervo óptico por meio da quantificação da menor largura da borda da abertura da membrana de Bruch até a membrana limitante interna (MRW).⁴⁰ Essa avaliação é importante para caracterização de doenças que acometem primariamente a pRNFL, as que afetam outros elementos que passam através do disco óptico e doenças que afetam ambas estruturas.⁴¹ Contudo, a MRW ainda não foi avaliada em pacientes com a PD. A tecnologia da OCT-EDI permitiu com que a coroide fosse melhor estudada.²⁰³ A OCTA, por sua vez, surgiu como um método de imagem não invasivo para avaliar a vasculatura da retina e coroide. Essa tecnologia detecta a diferença entre imagens capturadas exatamente em um mesmo local, caracterizando os locais em que há movimento de partículas (em especial os vasos sanguíneos e a movimentação das hemácias) para formar um B-scan, e as combina para formar uma imagem “en face” do plexo vascular de interesse.²⁰⁴ Além de ser um método não invasivo, a OCTA parece caracterizar melhor a rede peripapilar radial e os capilares profundos do que o exame convencional de angiografia fluoresceínica.²⁰² Há preocupação com a presença de artefatos, especialmente os causados pelo movimento ocular, que poderiam prejudicar a interpretação dos resultados em pacientes com a PD.²⁰⁵⁻²⁰⁷ Contudo, a realização de exames por operadores experientes, a conferência da qualidade das imagens durante a realização do exame, a repetição da aquisição da imagem quando necessário e as novas e mais rápidas tecnologias para aquisição da imagem possibilitam o uso da OCTA nos pacientes com a PD sem prejuízo na interpretação dos dados.²⁰⁵⁻²⁰⁷

Nos últimos anos alguns poucos estudos avaliaram a coroide na PD e os resultados não foram todos concordantes. Foi descrita redução da espessura da coroide na região macular em quatro estudos,⁵³⁻⁵⁶ aumento da espessura em dois estudos^{52, 57} e um estudo não evidenciou diferença na espessura subfoveal entre olhos com e sem a PD, ainda que a área total da coroide tenha sido maior nos portadores da doença.⁴⁹ Com relação à espessura da coroide peripapilar, os dois únicos estudos que realizaram esta avaliação evidenciaram medidas significativamente maiores nos pacientes com a PD em relação ao grupo controle.^{51, 52} O primeiro estudo a avaliar os aspectos vasculares da coroide na PD sugeriu haver uma maior área luminal dos vasos da coroide na região

macular e um menor índice vascular da coroide (relação entre a área luminal dos vasos da coroide e a área total da coroide).⁴⁹ Um segundo estudo, por sua vez, observou redução significativa da área luminal dos vasos da coroide e da área intersticial da coroide.⁵⁵ Neste estudo, a avaliação longitudinal ao longo de três anos demonstrou uma redução estatisticamente significativa da espessura da mRNFL e da área intersticial da coroide, mas não da espessura do GCL+, da espessura da coroide e da área luminal dos vasos da coroide. Recentemente, um terceiro estudo avaliou a densidade vascular da coriocapilar, o volume vascular da coroide e o índice vascular volumétrico da coroide (relação entre o volume luminal dos vasos da coroide e o volume total da coroide) na PD.⁵⁶ Foi observada menor densidade vascular da coriocapilar dos participantes com a PD em toda a área submacular, enquanto o volume vascular da coroide e o índice vascular volumétrico da coroide estavam diminuídos somente em setores mais periféricos. Tendo em vista os diferentes achados relacionados à coroide na PD, mais estudos são necessários para avaliar e caracterizar possíveis alterações da coroide nestes pacientes.

A avaliação da vasculatura retiniana tem ganhado importância nas diversas doenças neurodegenerativas, incluindo na PD.²⁰⁸ O primeiro estudo a avaliar os capilares da retina na PD utilizou a angiografia fluoresceínica, um método de imagem invasivo, demonstrando uma menor FAZ em olhos de pacientes com a doença.²⁰⁹ De forma não invasiva, utilizando a OCT, dois estudos avaliaram a morfologia dos vasos retinianos: um estimou menor diâmetro das veias,²¹⁰ enquanto outro estudo não demonstrou alteração morfológica tanto das veias quanto das artérias retinianas em comparação com pacientes controles.²¹¹

Mais recentemente, alguns estudos utilizaram a OCTA para comparar pacientes com e sem a PD. Em nove deles foi relatado uma menor densidade vascular na região macular dos indivíduos doentes, em especial da região mais central no plexo superficial.^{45, 46, 48, 49, 212-216} Contudo, um estudo que utilizou a OCTA não observou diferença da densidade vascular macular entre os participantes com e sem PD,⁴⁷ enquanto um estudo encontrou uma maior densidade vascular naqueles com a doença.²¹⁷

Com relação à avaliação da FAZ do plexo superficial da retina, três estudos não observaram diferença estatística entre os pacientes com e sem a PD^{48, 49, 218} e outros dois estudos observaram um menor tamanho no grupo com a doença.^{215, 217} Um destes estudos também avaliou a FAZ do plexo profundo, evidenciando alterações similares à do plexo superficial, ou seja, menor FAZ no grupo com a PD.²¹⁷ Quatro estudos utilizaram a OCTA para a análise da região peripapilar, não demonstrando diferença da análise global entre olhos com e sem a PD.^{50, 212, 215, 216} Um estudo comparou a densidade vascular de indivíduos com a PD em diferentes estágios, encontrando menores valores em pequenos setores maculares e peripapilares naqueles com estágios mais avançados.²¹⁸ Recentemente, foi sugerido que na PD a OCTA apresenta-se alterada mais precocemente que a OCT e aquela possui maior habilidade diagnóstica.²¹³ Além de serem poucos estudos, essa grande variabilidade de achados da OCTA na PD pode ser justificada pela utilização de diferentes metodologias, equipamentos, segmentação e técnicas para captura, processamento e análise das imagens. Dessa forma, é importante a realização de mais estudos para avaliar o papel da OCTA na PD.

3.4. Tratamento anti-parkinsoniano

O tratamento da PD envolve essencialmente o controle dos sintomas, variando desde o uso de medicações, realização de cirurgias e reabilitação, mas ainda não há cura.²¹⁹ Os principais medicamentos anti-parkinsonianos visam manter os níveis normais de dopamina a fim de aliviar os sintomas motores, envolvendo especialmente o uso da levodopa (precursor da dopamina) com ou sem inibidores da inibidor da descarboxilase dos L-aminoácidos aromáticos (carbidopa ou benserazida). Dentre as outras classes de drogas, destacam-se os agonistas dopaminérgicos (não-ergolínicos, como o pramipexol, e ergolínicos, como a bromocriptina), os inibidores da catecol-O-metil transferase (por exemplo, o entacapone), os inibidores da monoamina oxidase (como a selegilina e a rasagilina) e outras drogas como a amantadina e os anticolinérgicos.^{219, 220} Nenhum tratamento demonstrou exercer neuroproteção nos ensaios clínicos com seres humanos, ainda que algumas das medicações, como o pramipexol e

os inibidores da monoamina oxidase, tenham demonstrado potencial efeito neuroprotetor em estudos em animais e *in vitro*.^{221, 222} Diversos mecanismos potencialmente neuroprotetores foram propostos para o pramipexol a partir de estudos pré-clínicos, como a redução do estresse oxidativo, da disfunção mitocondrial, da via ubiquitina-proteossoma responsável pela degradação de proteínas e da morte neuronal induzida por inflamação, além da promoção de fatores neurotróficos, de genes de neurônios dopaminérgicos e da neurogênese, dentre outros.²²³ Dessa forma, uma intervenção farmacológica poderia ter benefício neuroprotetor na retina de pacientes com a PD. Porém, mais estudos clínicos são necessários para avaliar estes efeitos em seres humanos. Nos últimos anos, diversos estudos têm direcionado a atenção para o diagnóstico e tratamento dos sintomas não motores relacionados à PD, porém algumas áreas ainda carecem de pesquisas, como a relacionada às disfunções oftalmológicas.¹²⁵

4 MÉTODOS

4.1. Desenho do estudo

Foram realizados dois estudos observacionais prospectivos de corte transversal. Ambos foram realizados sob os princípios da Declaração de Helsinki (1996) e do Código de Nuremberg (1947), respeitadas as Normas de Pesquisa Envolvendo Seres Humanos (Resolução 466/12) do Conselho Nacional de Saúde, com aprovação das comissões de ética para análise de projetos de pesquisa das respectivas instituições. O primeiro estudo (estudo 1) foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa do Hospital Universitário Cassiano Antonio Moraes da Universidade Federal do Espírito Santo (HUCAM-UFES) em 2017 (Anexo A). O segundo estudo (estudo 2) foi aprovado pela Comissão de Ética para Análise de Projetos de Pesquisa do Hospital das Clínicas e da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo (HCFMUSP) em 2019 (Anexo B).

4.2. Amostra

4.2.1. Participantes com a doença de Parkinson

Para a formação do grupo de participantes com a PD (grupo PD) do primeiro estudo, foram recrutados 19 voluntários, sendo incluídos no estudo 38 olhos. Os participantes foram provenientes do serviço ambulatorial de Neurologia do HUCAM-UFES. Para o segundo estudo, foram recrutados 21 voluntários com a PD, com inclusão de 41 olhos. Os participantes foram provenientes do serviço ambulatorial de Distúrbios do Movimento, do Departamento de Neurologia do HCFMUSP.

4.2.1.1. Critérios de inclusão

- i. Diagnóstico da PD estabelecido, baseado nos critérios da *United Kingdom Parkinson's Disease Society Brain Bank* (UKPDSBB).¹¹³

4.2.1.2. Critérios de exclusão

- i. Idade menor que 18 anos;
- ii. Diabetes mellitus;
- iii. Hipertensão arterial sistêmica com necessidade de uso de mais de duas medicações anti-hipertensivas;
- iv. Outras doenças neurológicas não relacionadas à PD;
- v. Doenças sistêmicas crônicas graves a critério do examinador;
- vi. Uso abusivo de álcool ou drogas ilícitas;
- vii. Cirurgia cerebral prévia;
- viii. Cirurgia ocular prévia que tenham evoluído com complicação;
- ix. Cirurgias intraoculares há menos de 6 meses;
- x. Presença de lente intraocular com filtro de luz;
- xi. Doenças oculares que sabidamente afetam a retina (retinopatias, neuropatias ópticas e uveítes);
- xii. Anormalidades do nervo óptico;
- xiii. Equivalente esférico refrativo > 6 dioptrias esféricas (miópico ou hipermetrópico) ou > 3 dioptrias cilíndricas;
- xiv. Pressão intraocular > 21 mm Hg;
- xv. Opacidade de meios ópticos que impeçam a realização de exames oftalmológicos de forma apropriada;
- xvi. AV pior que 0,18 logMAR (equivalente a 0,67 na escala decimal ou 20/30 na escala de Snellen);
- xvii. Participantes com características que preencham os critérios de inclusão, porém que se recusem a assinar o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE) – Apêndice A.

4.2.2. Participantes sem a doença de Parkinson

Para formação do grupo controle (grupo CT) no primeiro estudo, foram incluídos 40 olhos de 20 indivíduos recrutados entre funcionários e acompanhantes saudáveis de pacientes do HUCAM-UFES. No segundo estudo, foram incluídos 38 olhos de 19 indivíduos recrutados

entre funcionários e acompanhantes saudáveis de pacientes do HCFMUSP.

4.2.2.1. Critérios de inclusão

- i. Indivíduos sem sinais e sintomas sugestivos da doença de Parkinson ou diagnóstico estabelecido da doença de Parkinson.

4.2.2.2. Critérios de exclusão

- i. Idade menor que 18 anos;
- ii. Diabetes mellitus;
- iii. Hipertensão arterial sistêmica com necessidade de uso de mais de duas medicações anti-hipertensivas;
- iv. Outras doenças neurológicas;
- v. Doenças sistêmicas crônicas graves;
- vi. Uso abusivo de álcool ou drogas ilícitas;
- vii. Cirurgia cerebral prévia;
- viii. Cirurgia ocular prévia que tenham evoluído com complicação;
- ix. Cirurgias intraoculares há menos de 6 meses;
- x. Presença de lente intraocular com filtro de luz;
- xi. Doenças oculares que sabidamente afetam a retina (retinopatias, neuropatias ópticas e uveítes);
- xii. Anormalidades do nervo óptico;
- xiii. Equivalente esférico refrativo > 6 dioptrias esféricas (miópico ou hipermetrópico) ou > 3 dioptrias cilíndricas;
- xiv. Pressão intraocular > 21 mm Hg;
- xv. Opacidade de meios ópticos que impeçam a realização de exames oftalmológicos de forma apropriada;
- xvi. AV pior que 0,18 logMAR (equivalente a 0,67 na escala decimal ou 20/30 na escala de Snellen);
- xvii. Participantes com características que preencham os critérios de inclusão, porém que se recusem a assinar o TCLE (Apêndice B).

4.3. Exame neurológico

Em ambos os estudos, todos os participantes com a PD foram submetidos a exame neurológico por um neurologista especialista em distúrbios do movimento. A gravidade da doença foi medida pelo status motor (item III) da Escala de Avaliação Unificada da Doença de Parkinson revisada pela Sociedade de Distúrbios do Movimento (MDS-UPDRS-III)²²⁴ e o estágio da doença foi classificado pela Escala Hoehn e Yahr.²²⁵ No segundo estudo, foi avaliado(a) também:

- i. O MDS-UPDRS-III durante o período de efeito da última dose das medicações anti-parkinsonianas (denominado estado ON) e em um intervalo de pelo menos 12 horas após a última dose das medicações (denominado estado OFF);
- ii. A data do início de sintomas motores, baseado no relato do paciente e análise de prontuário;
- iii. A presença e a data do início de sintomas não motores antes do diagnóstico da PD, baseado no relato do paciente e análise de prontuário;
- iv. As medicações anti-parkinsonianas em uso e previamente utilizadas pelo paciente, baseado no relato do paciente e análise de prontuário;
- v. A prática e tempo de tabagismo (previamente ou no momento da avaliação do estudo).

4.4. Exame oftalmológico

Todos os participantes foram submetidos a exame oftalmológico completo, incluindo refratometria com avaliação da AV (medida em escala decimal com um gráfico de Snellen padrão a 6 metros), biomicroscopia com

lâmpada de fenda, tonometria de aplanção de Goldman e fundoscopia sob midríase medicamentosa com colírio de tropicamida 1%.

4.4.1. Avaliação da sensibilidade visual ao contraste

A avaliação da CVS foi realizada no estudo 2 por meio do uso da tabela de Pelli-Robson,²²⁶ antes da medida da pressão intraocular a fim de que o uso do colírio de fluoresceína ou mesmo a abrasão pelo tonômetro de Goldman não influenciasse o resultado do exame e antes da dilatação pupilar para realização de outros exames oftalmológicos. A tabela de Pelli-Robson consiste em uma tabela com 10 letras de Sloan²²⁷ organizadas em 16 grupos de três letras com diferentes níveis de contraste e distribuídos em oito linhas com duas colunas (Figura 1). Todas as letras são 20/630 e ocupam 1,0 ciclo por grau na distância do teste especificada pelo fabricante (1 metro). O primeiro trio de letras possui o maior contraste (zero log, 100%), reduzindo o contraste em cada trio de letras subsequentes por um fator de $1/\sqrt{2}$ (0,15 log) até o menor valor de 2,25 log (0,56%). Em ambiente controlado de luz (luminância de 85 cd/m², correspondente a iluminância de 280 lux), a tabela de Pelli-Robson é posicionada a uma distância de 1 metro ao nível dos olhos dos participantes, utilizando a melhor correção óptica com adição de +0,75 dioptrias esféricas quando necessário. O teste é aplicado em cada olho separadamente (com oclusão do olho contralateral) e, após, binocularmente. Os participantes são estimulados a ler a tabela até o grupo de letras com o menor contraste possível, até que ocorra uma leitura incorreta de duas ou três letras do trio com um mesmo contraste. O valor logarítmico considerado para fins de análise foi o referente ao grupo de letras com menor contraste cujo paciente acertou ao menos duas de três letras.

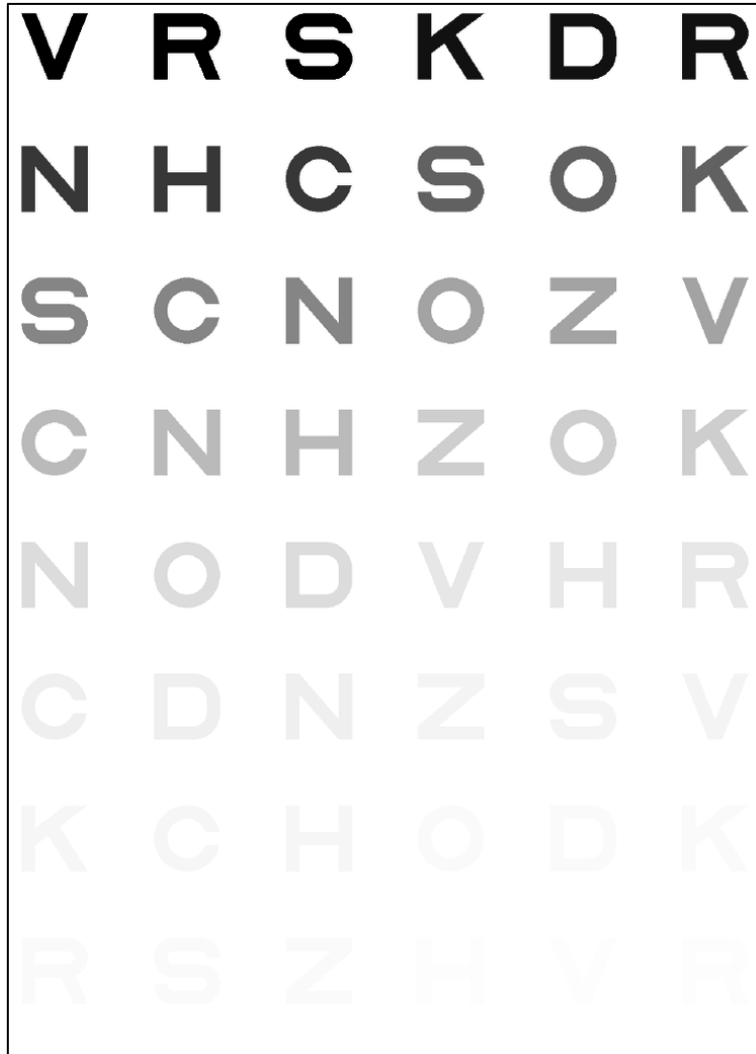


Figura 1 – Exemplo da tabela de Pelli-Robson utilizada para avaliação da sensibilidade visual ao contraste

4.4.2. Tomografia de coerência óptica

Todos os testes foram realizados por um único examinador na mesma sala de exame em um horário semelhante do dia para minimizar a influência potencial de flutuações na espessura dos tecidos avaliados. Todos os participantes foram dilatados com colírio de tropicamida 1% – após a realização dos exames oftalmológicos que poderiam ser alterados pela dilatação pupilar (como, por exemplo, a medida da pressão intraocular e a avaliação da AV e da CVS) – para realizar o exame de fundo de olho completo e para adquirir imagens de OCT com boa qualidade de imagem.

No estudo 1 as imagens da OCT foram adquiridas por meio do equipamento Cirrus HD-OCT 4000 (versão 5.0, Carl Zeiss Meditec, Inc., Dublin, CA), usando o protocolo Macular Cube 512 x 128 para análise macular e submacular da coroide (Figura 2) e o protocolo Optic Disc Cube 200 x 200 para análise da pRNFL em uma região circular de 3,4 mm centrada no nervo óptico (Figura 3). O protocolo Macular Cube 512 x 128 consiste na avaliação de uma área de 6 x 6 mm centrada na fóvea por meio de 128 varreduras horizontais (*B-scan*), cada uma contendo 512 pontos de varredura (*A-scan*). O protocolo Optic Disc Cube 200 x 200 consiste na avaliação de uma área de 6 x 6 mm centrada no nervo óptico por meio de 200 varreduras horizontais (*B-scan*), cada uma contendo 200 pontos de varredura (*A-scan*). Todas as varreduras foram revisadas e apenas aquelas com intensidade de sinal $\geq 6/10$ e preenchendo os critérios de controle de qualidade (OSCAR-IB)²²⁸ foram incluídas na análise. Posteriormente, os dados brutos foram exportados para um computador pessoal para segmentação automatizada das camadas da retina macular e da coroide com correção de movimento usando a aprendizagem profunda (do inglês “deep learning”) por meio do programa Orion™ (Voxelion LLC, Pleasanton, CA, EUA) (Figura 4). Todas as varreduras foram revisadas manualmente para garantir a segmentação adequada. Foram realizadas medições da espessura da retina macular total, da RNFL na região macular (mRNFL), da GCL+, da soma da mRNFL+GCL+IPL (GCL++), da INL, das camadas da retina interna (IRL), da OPL, da ONL, da PRL, das camadas da retina externa (ORL), e da coroide. Parâmetros segmentados e de espessura total foram expressos como valores médios de cada um dos nove setores maculares definidos pelo Early Treatment Diabetic Retinopathy Study (ETDRS), além da média dos valores do anel interno (diâmetro interno de 1 mm e diâmetro externo de 3 mm) e externo (diâmetro interno de 3 mm e diâmetro externo de 6 mm) do ETDRS.²²⁹ A espessura média da coroide nos nove setores do ETDRS foi calculada usando toda a área submacular de 6 x 6 mm centrada na fóvea.

Macula Thickness OU: Macular Cube 512x128 OD ● | ● OS

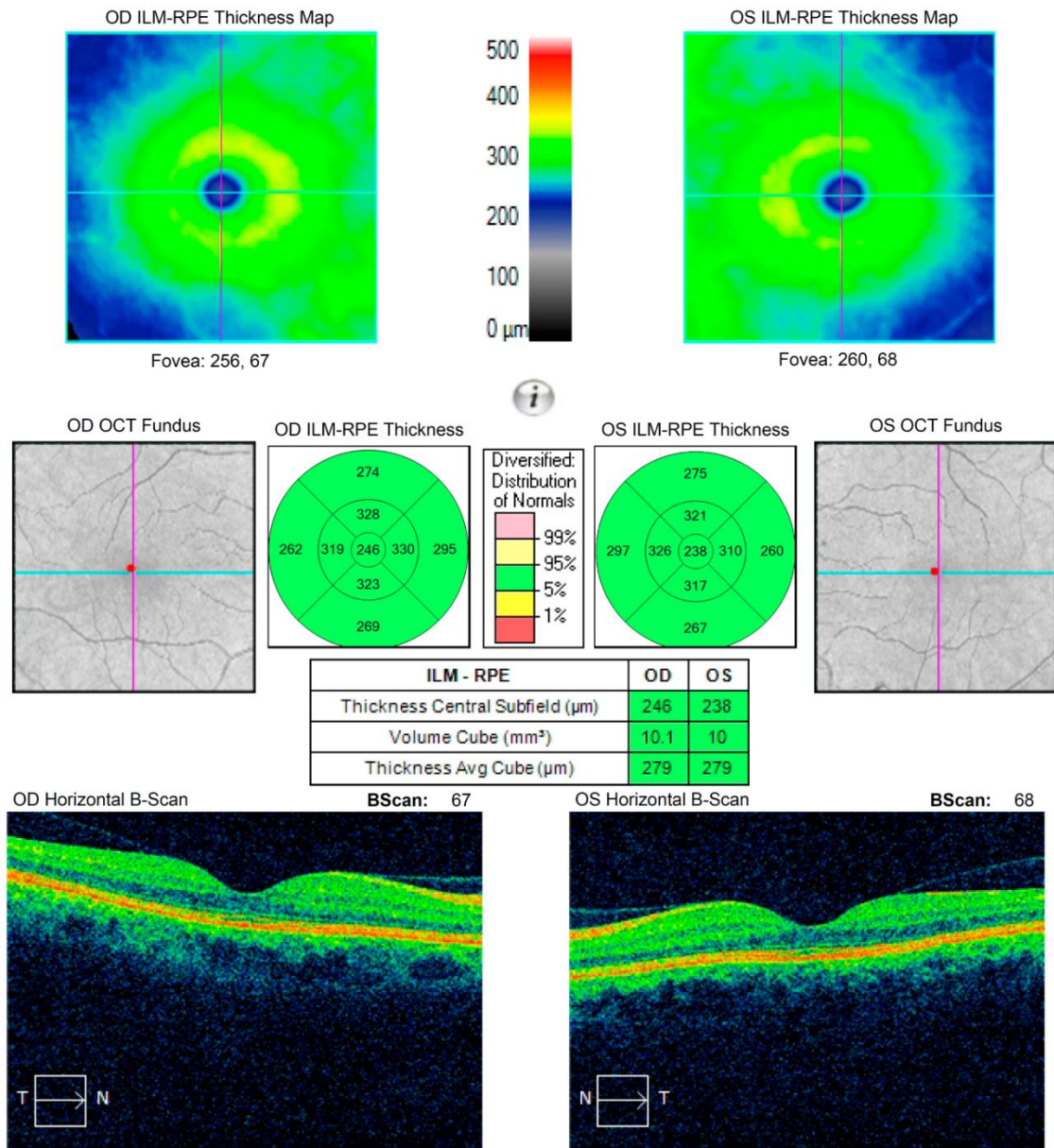


Figura 2 – Exemplo de relatório do protocolo Macular Cube 512x128 de ambos os olhos de um participante do estudo 1, obtido com o equipamento Cirrus HD-OCT (Carl Zeiss Meditec, Inc., Dublin, CA)

ONH and RNFL OU Analysis: Optic Disc Cube 200x200 OD ● ● OS

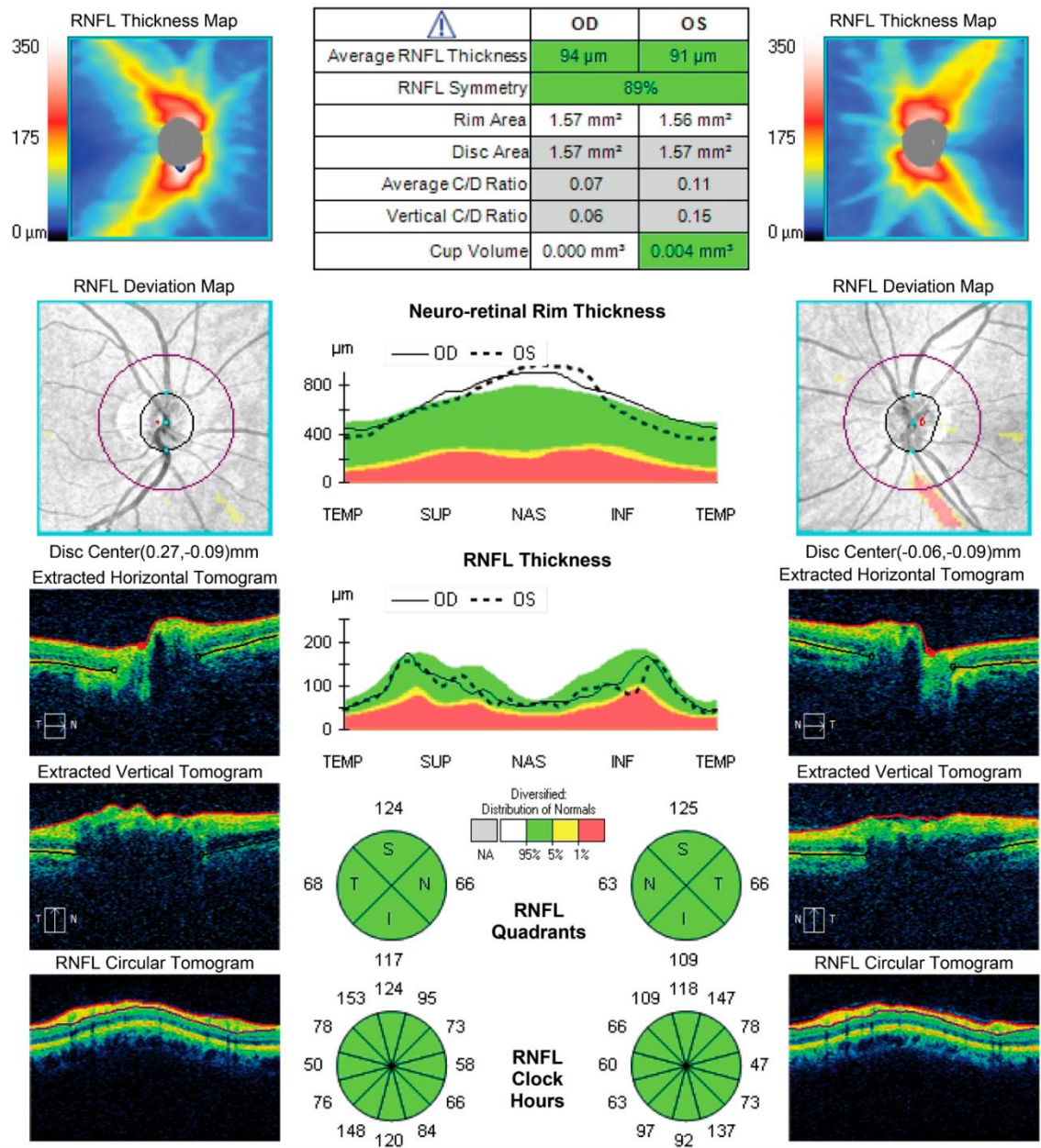


Figura 3 – Exemplo de relatório do protocolo Optic Disc Cube 200x200 de ambos os olhos de um participante do estudo 1, obtido com o equipamento Cirrus HD-OCT (Carl Zeiss Meditec, Inc., Dublin, CA)

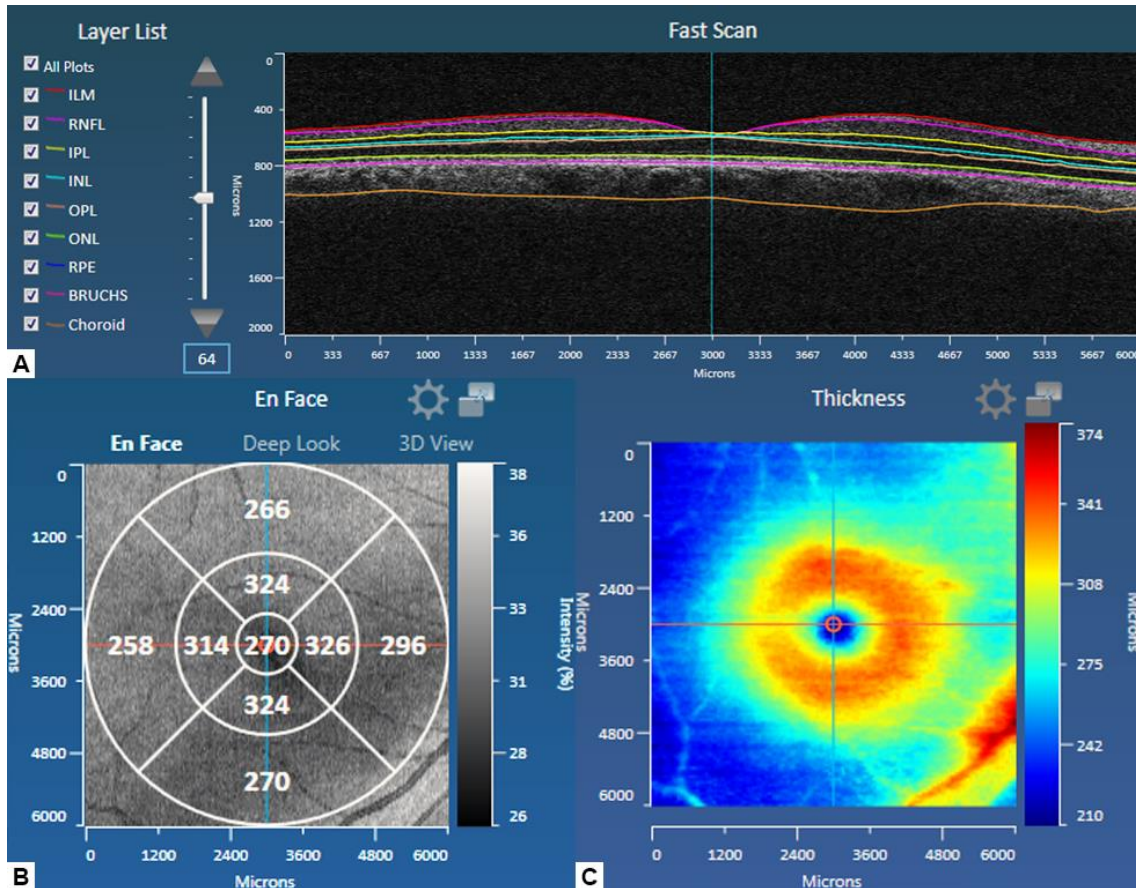


Figura 4 – Tomografia de coerência óptica de domínio espectral de um participante do estudo 1 segmentada utilizando o Orion™. A lista de camadas à esquerda identifica as linhas coloridas mostradas na varredura (“Fast Scan”), delimitando as camadas retiniais e a coroide (A). Análises do cubo macular com a imagem “en face” mostrando os valores da espessura total da retina em nove setores de acordo com o mapa do ETDRS (B). Imagem colorida representando o mapa de espessura total da retina (C)

O estudo 2 foi realizado após a coleta dos dados do estudo 1, quando pudemos ter disponível um equipamento mais moderno de OCT. Assim, o estudo 2 utilizou o equipamento Spectralis HRA + OCT-2 (versão 6.9.4.0, Heidelberg Engineering, Heidelberg, Alemanha) e o programa *Heidelberg Eye Explorer* (HEYEX, versão 1.10.2.0, Heidelberg Engineering, Heidelberg, Alemanha) nativo do Spectralis OCT-2 para avaliação estrutural da retina, coroide, disco óptico e plexos vasculares retinianos. O dispositivo Spectralis OCT-2 utiliza um diodo superluminescente de 880 nm para imagens de tomografia e uma taxa de varredura de 85.000 A-scan por segundo, com resolução axial de 7 μm ,

resolução lateral de 11,4 μm e largura de banda de 50 nm. A visualização do “en face” na OCTA é automaticamente derivada da combinação de angiogramas de múltiplos B-scan. Imagens com a relação sinal-ruído de aquisição menor que 25 dB ou com muitos artefatos (decorrente de movimento, projeção, vasos duplicados ou distorções) não foram utilizadas para análise e foram realizadas novas aquisições que atendessem aos parâmetros de qualidade. O programa HEYEX segmenta automaticamente as camadas retinianas e fornece as medidas da espessura e volume das mesmas, assim como a espessura da MRW. Comparativamente ao equipamento utilizado no estudo 1 (Cirrus HD-OCT 4000), o Spectralis HRA + OCT-2, utilizado no estudo 2, apresenta maior velocidade de aquisição das imagens e maior taxa de resolução, além de realizar automaticamente a segmentação das camadas retinianas e permitir a personalização dos parâmetros de aquisição das imagens.

Para obtenção de imagens de OCT e OCTA foram utilizados os seguintes recursos disponíveis no equipamento:

- i. O módulo “Glaucoma Premium Edition”;
- ii. O sistema de posicionamento anatômico (APS), baseado em imagens da OCT do fundo de olho e utilizando a fóvea e o centro da abertura da membrana de Bruch (BMO) como pontos de referência para alinhar o eixo da imagem no eixo BMO-fóvea, permitindo a avaliação das camadas retinianas maculares com correspondência anatômica com a OCT do nervo óptico;
- iii. O sistema de rastreamento ocular denominado “TruTrack” – para compensar pequenos movimentos oculares;
- iv. O sistema de sobreposição de imagens denominado ART (do inglês “Automatic Real-time Tracking”), para melhorar a qualidade final das imagens do exame;
- v. A função EDI, para melhorar a visualização das estruturas profundas do olho (como a coroide).

Além disso, foram utilizados os seguintes protocolos para aquisição e análise das imagens:

- i. **OCT do nervo óptico:** O padrão pré-determinado pelo programa denominado ONH-RC foi utilizado para avaliação da pRNFL e da menor largura da borda da BMO até a MLI (MRW). Esse protocolo consiste na aquisição de três imagens circulares (de 3,5, 4,1 e 4,7 mm de diâmetro) e 48 imagens radiais centradas a partir da BMO, com o modo de alta resolução (5,7 $\mu\text{m}/\text{pixel}$ lateralmente) e alinhando automaticamente o meridiano horizontal com o eixo BMO-fóvea. As imagens radiais permitem análise da MRW, quantificando a espessura de todo conteúdo tecidual que entra pela cabeça do nervo óptico (pRNFL, células gliais e moléculas estruturais) (Figura 5). A imagem da região peripapilar circular com 3,5 mm de diâmetro foi utilizada para avaliação da espessura pRNFL, tendo em vista a melhor identificação de alterações desta camada em olhos sem defeitos peripapilares no diâmetro de 3,5 mm em comparação a diâmetros maiores.^{230, 231} Foram avaliados a média global e os setores temporal (T, 90°), superior (S, 80°), nasal (N, 110°) e inferior (I, 80°) da MRW e da pRNFL.

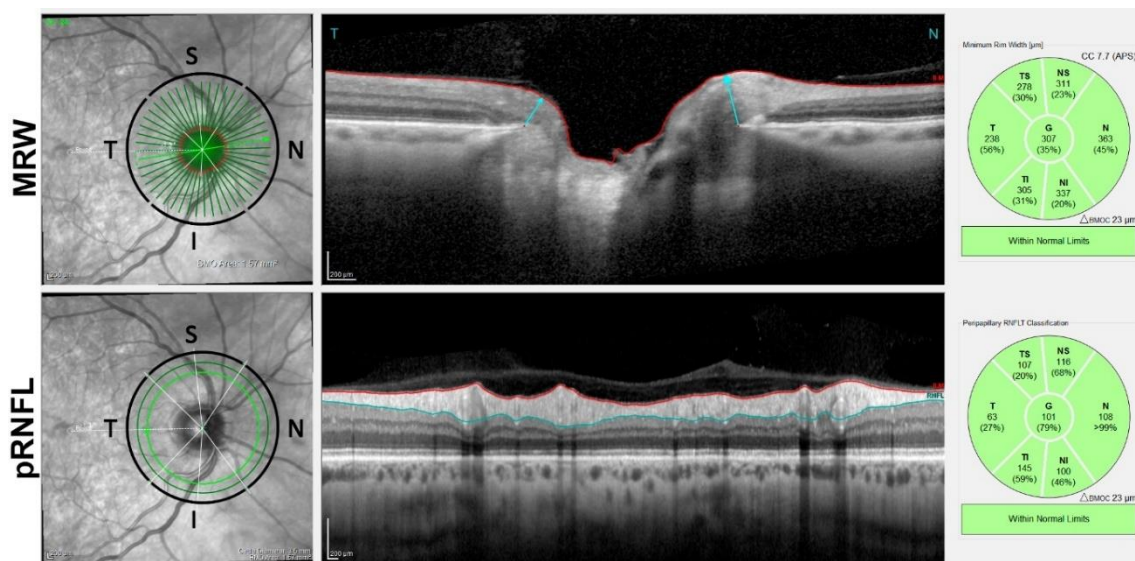


Figura 5 – Exemplo das análises da tomografia de coerência óptica do nervo óptico de um participante do estudo 2. Nas figuras

superiores, a avaliação da menor largura da borda da abertura da membrana de Bruch até a membrana limitante interna (MRW). Nas figuras inferiores, a avaliação da camada de fibras nervosas da retina peripapilar (pRNFL). À esquerda, a imagem “en face” com a divisão setorial – inferior (I), nasal (N), superior (S) e temporal (T). No centro, a demarcação da membrana limitante interna (ILM, linha vermelha), MRW (seta azul na imagem superior) e margem profunda da pRNFL (linha azul na imagem inferior). À direita, o gráfico de classificação da espessura média para setores individuais e média global

A imagem da região peripapilar circular com 3,5 mm de diâmetro também foi utilizada para avaliação da espessura da coroide peripapilar (pCoroide). Uma vez que o HEYEX não segmenta automaticamente a coroide, foi desenvolvida uma macro (conjuntos de instruções, comandos e funções utilizados na linguagem de programação que permitem a interação entre o ser humano e o computador para realização de determinada ação) para análise semi-automatizada da imagem utilizando o programa de análise de imagens biológicas Fiji (ImageJ 1.53c, NIH, <http://imagej.nih.gov/ij>).²³² Essencialmente, a macro desenvolvida para avaliar a espessura da pCoroide exige que o usuário delimite manualmente a coroide na imagem selecionada e, em seguida, o programa automaticamente mede a espessura média da coroide global (360°) e dos setores temporal (T, 90°), superior (S, 80°), nasal (N, 110°) e inferior (I, 80°), seguindo a mesma divisão da análise da pRNFL (Figura 6). O código completo da macro para análise da espessura da pCoroide na imagem circular com 3,5 mm de diâmetro está descrito no Apêndice C.

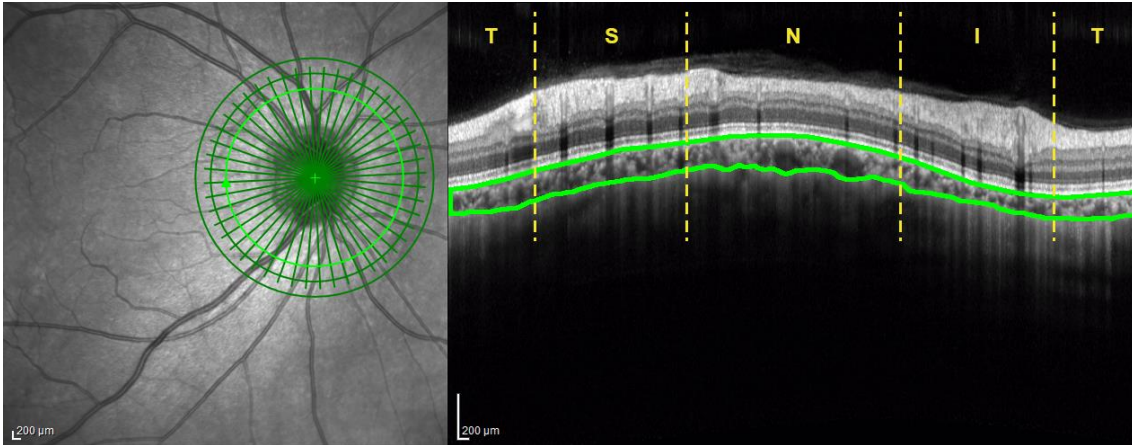
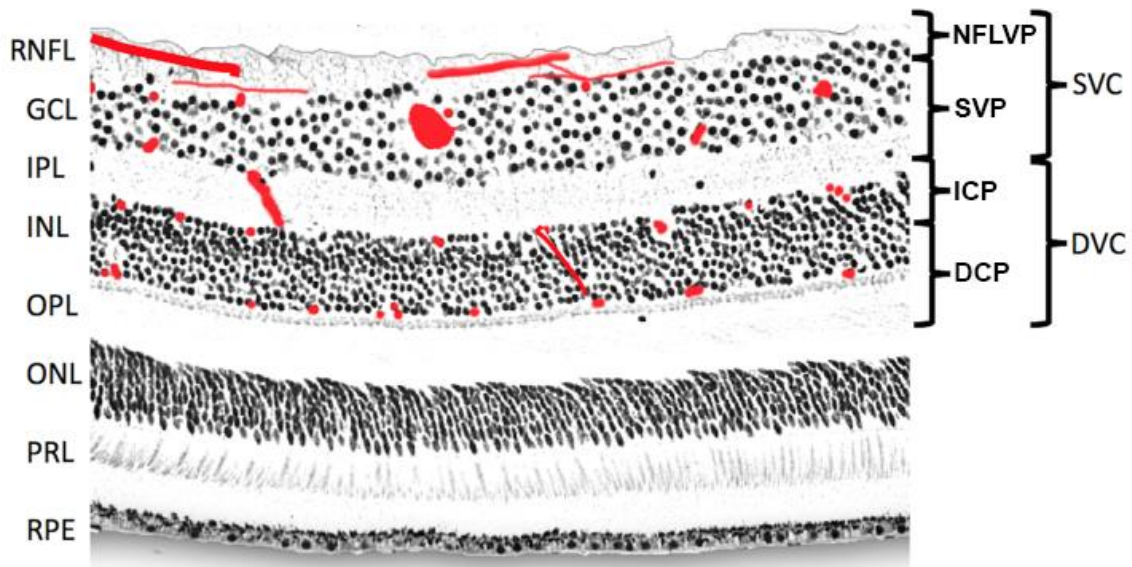


Figura 6 – Exemplo de delimitação manual da coroide peripapilar (linha verde à direita) de um participante do estudo 2 e setorização automática utilizando o Fiji (linhas tracejadas amarelas) para medida automatizada da espessura média da coroide global e em cada setor – inferior (I), nasal (N), superior (S) e temporal (T)

- ii. **OCTA do nervo óptico:** Foi utilizado o padrão de volume de varredura de $15^\circ \times 15^\circ$ (aproximadamente 4,5 x 4,5 mm) com o modo de alta velocidade (com resolução de 11,4 µm/pixel lateralmente) a fim de diminuir a presença de artefatos de movimento sem redução da qualidade da imagem a ponto de prejudicar a análise das mesmas. O plexo vascular da camada de fibras nervosas da retina (NFLVP) peripapilar (pNFLVP) foi determinado automaticamente pelo HEYEX por meio do “en face” da ILM até a transição entre a RNFL e a GCL. O plexo vascular superficial peripapilar (pSVP) foi determinado automaticamente pelo HEYEX por meio do “en face” da ILM até 17 µm acima da borda inferior da IPL. O complexo vascular superficial peripapilar (pSVC) engloba o pNFLVP e o pSVP (Figura 7).²³³ Para avaliação quantitativa do pNFLVP, pSVP e pSVC, as imagens foram exportadas em formato tiff e analisadas no programa Fiji após o desenvolvimento de uma macro específica para o olho direito e esquerdo (respectivamente, Apêndice D e E). Em resumo, as imagens foram primeiro convertidas de RGB para 8 bits e um algoritmo de limiarização pelo método Otsu²³⁴ foi utilizado para a

análise da densidade vascular, conforme previamente descrito.²³⁵ O método Otsu determina automaticamente e de forma individualizada para cada imagem um limite ideal que separe os elementos do C-scan em dois grupos (branco e preto), atribuindo a cor branca para os vasos da retina e preta para os elementos do fundo. Em seguida, foi delimitado um anel peripapilar de 1,7 mm de diâmetro interno e 3,4 mm de diâmetro externo a partir do centro do nervo óptico. A densidade vascular (%) no anel peripapilar foi calculada dividindo-se o valor da área ocupada pelos vasos (pixels brancos) pela área macular do setor de interesse: área total (360°) e setores temporal (90°), superior (80°), nasal (110°) e inferior (80°) (Figura 8). Foi avaliada também a qualidade média do sinal (escore Q) para cada imagem do nervo óptico a fim de comparação entre os grupos.



FONTE: Adaptado de Campbell JP, Zhang M, Hwang TS, Bailey ST, Wilson DJ, Jia Y, Huang D, 2017.²³³

Figura 7 – Desenho esquemático da representação dos plexos e complexos vasculares retinianos – plexo capilar profundo (DCP), complexo vascular profundo (DVC), plexo capilar intermediário (ICP), plexo vascular da camada de fibras nervosas (NFLVP), complexo vascular superficial (SVC) e plexo vascular superficial (SVP) – e suas correspondências anatômicas com as camadas retinianas – camada de fibras

nervosas da retina (RNFL), camada de células ganglionares (GCL), camada plexiforme interna (IPL), camada nuclear interna (INL), camada plexiforme externa (OPL), camada nuclear externa (ONL), camada de fotorreceptores (PRL) e epitélio pigmentar da retina (RPE)

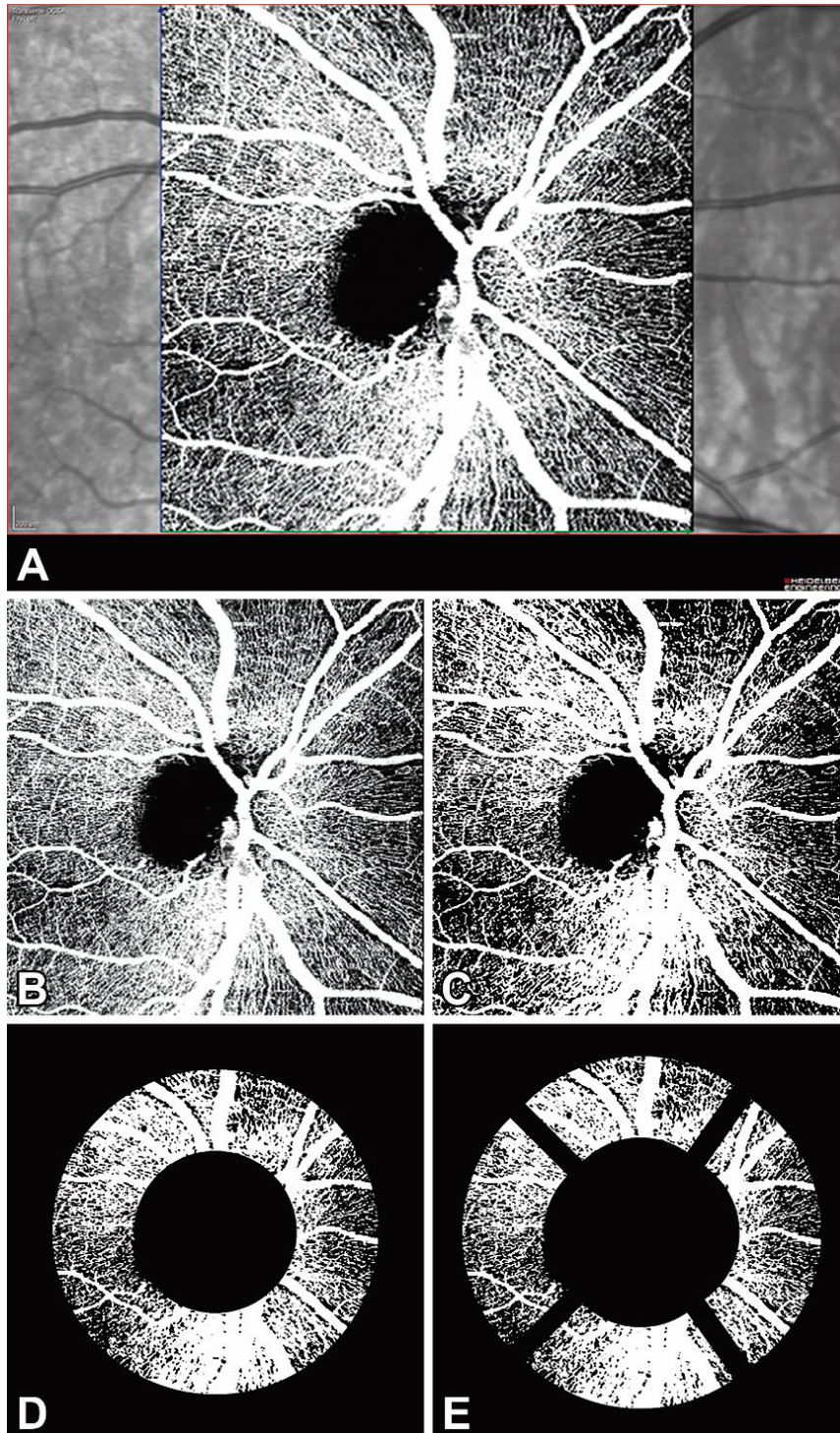


Figura 8 – Exemplo de etapas do processamento da imagem de OCTA do nervo óptico do olho direito de um participante do estudo 2.

A imagem capturada é exportada do equipamento (A) e apenas a área da OCTA é recortada para análise (B). Em seguida, é aplicada uma macro no Fiji para análise da densidade vascular global (D) e em quatro setores (E) – temporal (90°), superior (80°), nasal (110°) e inferior (80°)

- iii. **OCT da mácula:** O padrão pré-determinado pelo programa denominado *posterior pole horizontal* (PPoleH) foi utilizado para aquisição das imagens maculares. Ele consiste na obtenção de um mapa de 64 células (8 x 8) de uma área de escaneamento horizontal de 30° x 25° centrado na fóvea, com o modo de alta resolução e alinhando automaticamente o meridiano horizontal com o eixo BMO-fóvea. O algoritmo de análise de imagens do equipamento identifica e calcula a diferença entre a ILM e o RPE, produzindo a espessura da retina macular total média. Além disso, fornece a segmentação automática e a espessura média das seguintes camadas da retina: mRNFL, GCL, IPL, INL, OPL, ONL, IRL, ORL, RPE. A partir da segmentação realizada pelo equipamento, também foram gerados dados da GCL+, da GCL++ e da PRL. Foram obtidas as espessuras setoriais médias de três setores: fóvea (1 mm de diâmetro) e dois diferentes anéis centrados na fóvea (o menor com diâmetro interno de 1 mm e diâmetro externo de 3 mm; o maior com diâmetro interno de 3 mm e externo de 6 mm), baseado no mapa de divisão macular do ETDRS (Figura 9). A espessura central é referida à espessura média no círculo central de 1 mm de diâmetro (fóvea).

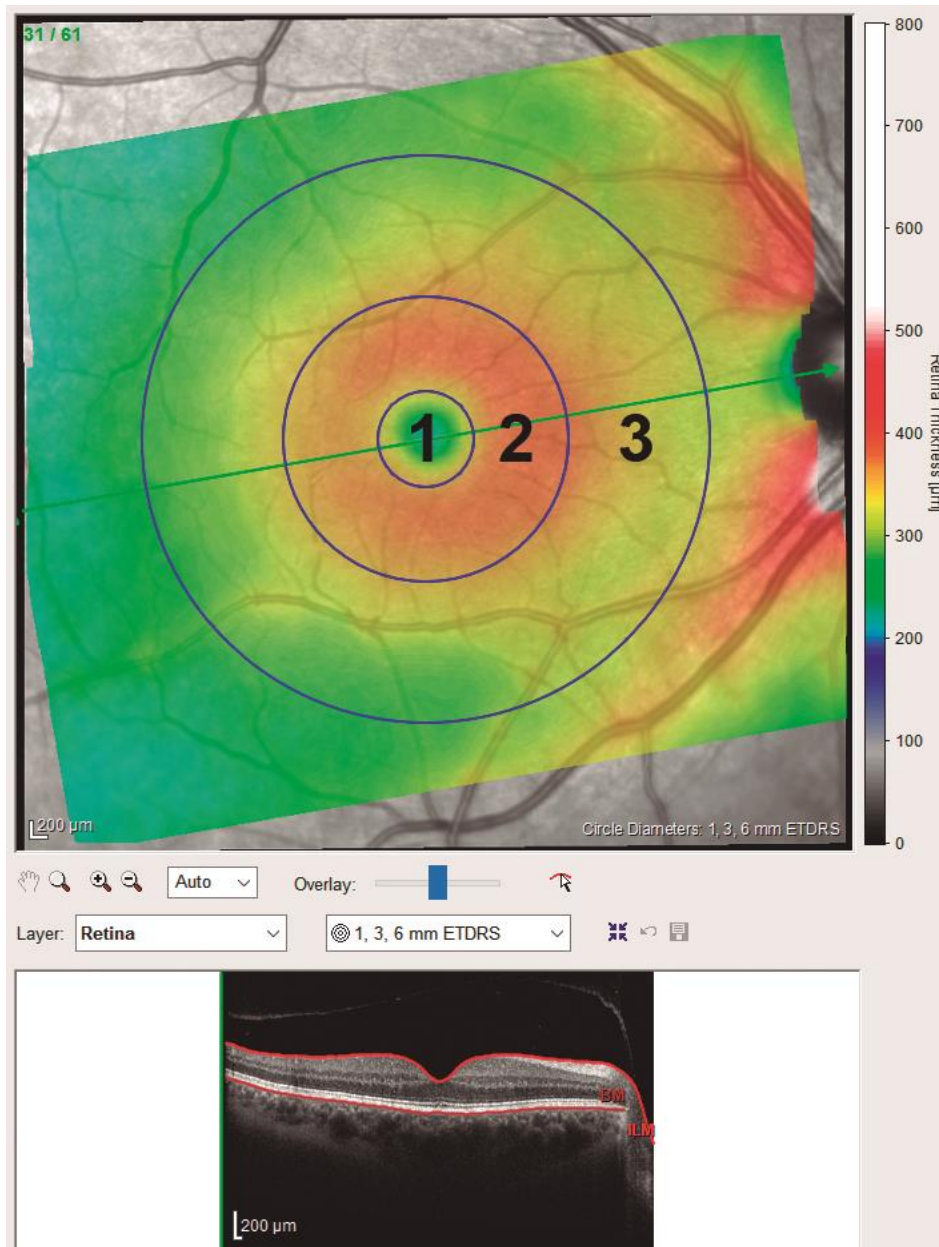


Figura 9 – Exemplo de uma análise da espessura total da retina na região macular do olho direito de um participante do estudo 2, realizada automaticamente pelo programa HEYEX para análise automatizada de imagens nativo do equipamento Spectralis OCT-2 a partir das imagens adquiridas com a divisão dos setores (foveal, anel interno e anel externo; respectivamente 1, 2 e 3) de acordo com o mapa do ETDRS

As imagens centradas no eixo BMO-fóvea adquiridas utilizando a OCT com EDI foram utilizadas para medida da espessura da coroide na região macular (mCoroide). Uma vez que o HEYEX não segmenta automaticamente a coroide, foi desenvolvida uma macro

para análise no programa Fiji com os mesmos princípios da macro utilizada para avaliação da espessura da coroide peripapilar, porém com avaliação da espessura global coroide nos 6 mm centrados na fóvea (mesmo diâmetro do mapa do ETDRS) e dos setores conforme mapa do ETDRS (média dos setores temporal e nasal externo correspondendo ao anel externo; média dos setores temporal e nasal interno correspondendo ao anel interno; média da espessura da coroide subfoveal correspondendo ao setor foveal do ETDRS) (Figura 10). O código completo da macro para análise da espessura da mCoroide está descrito no Apêndice F.

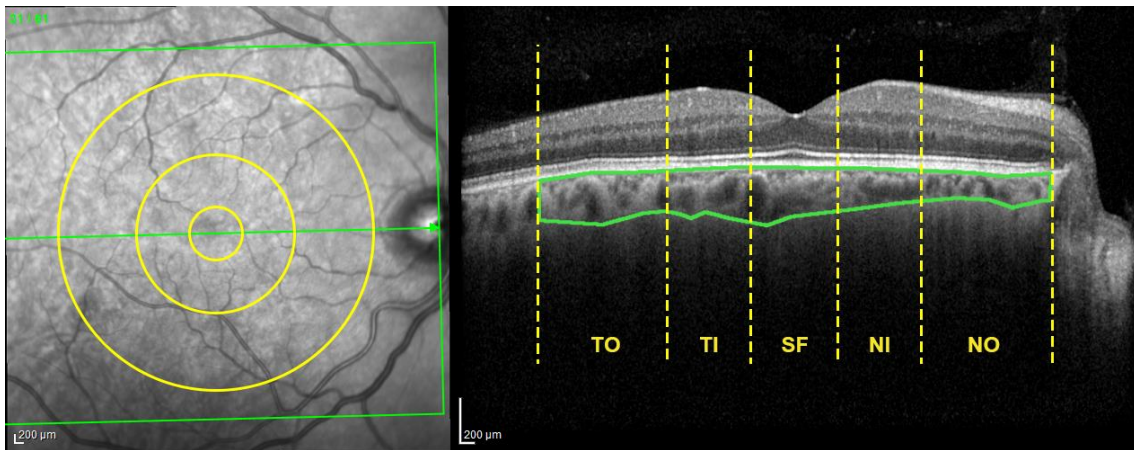


Figura 10 – Exemplo da imagem da OCT com EDI utilizada para análise da espessura e características vasculares da coroide do olho direito de um participante do estudo 2. O corte seccional da coroide (figura à direita) corresponde à região representada pela seta verde na imagem da esquerda. As linhas tracejadas em amarelo, à direita, correspondem às divisões do mapa do ETDRS (em amarelo à esquerda), dividindo em setores, temporal externo (TO), temporal interno (TI), subfoveal (SF), nasal interno (NI) e nasal externo (NO)

- iv. **OCTA da mácula:** A captura das imagens foi centrada na fóvea, utilizado o padrão de volume de varredura de $15^\circ \times 15^\circ$ (aproximadamente $4,5 \times 4,5$ mm), com o modo de alta velocidade a fim de diminuir a presença de artefatos de movimento sem redução da qualidade da imagem a ponto de prejudicar a análise das mesmas. Cerca de 50% das RGC estão presentes nos 16°

foveais centrais.^{236, 237} Além disso, a partir de 4 mm de excentricidade da fóvea, as células amácrinas passam a corresponder a mais de 25% do total de células.²³⁶ Dessa forma, o protocolo de varredura 15° x 15° consegue avaliar de maneira representativa, rápida e com qualidade, a vasculatura da região com maior prevalência das RGC. Os complexos vasculares superficial e profundo da região macular (respectivamente, mSVC e mDVC), da coriocapilar da região macular (mCoriocapilar) e da mCoroide foram determinados automaticamente pelo HEYEX, conforme segmentação descrita por Campbell et. al,²³³ em 2017 (Figura 7). O mSVC também foi automaticamente subdividido em NFLVP macular (mNFLVP) e plexo vascular superficial macular (mSVP), enquanto o mDVC foi subdividido em plexo capilar intermediário (mICP) e plexo capilar profundo (mDCP). A conferência com ajuste manual da segmentação das camadas foi utilizada para reduzir erros de segmentação e novas imagens foram adquiridas caso a imagem obtida possuísse artefatos a ponto de comprometer a análise da OCTA. Para avaliação quantitativa do mSVC, mNFLVP, mSVP, mDVC, mICP, mDCP, mCoriocapilar e mCoroide, as imagens foram exportadas em formato tiff (Figura 11A), recortado apenas a área contendo a imagem da OCTA (Figura 11B), que foi analisada no Fiji automaticamente com o uso de uma macro para processamento das imagens maculares (Apêndice G). Em resumo, as imagens foram primeiro convertidas de RGB para 8 bits e um algoritmo de limiarização pelo método Otsu²³⁴ foi utilizado para a análise da densidade vascular (%), separando os elementos da imagem em dois grupo (branco e preto), atribuindo a cor branca para os vasos da retina e preta para os elementos do fundo. Em seguida, a densidade geral de pixels foi calculada dividindo-se a área ocupada pelos vasos pela área total da imagem macular (Figura 11C). Para medida da área da FAZ superficial e profunda, foram criados macros específicos levando em consideração as imagens geradas do mSVC e mDVC

(Apêndice H e I). Em resumo, as imagens exportadas do HEYEX foram primeiro convertidas de RGB para 8 bits e a FAZ foi automaticamente determinada utilizando um módulo de extensão (do inglês, “plugin”) denominado “Level Sets” (disponível em https://imagej.net/Level_Sets) a partir do centro da fóvea (Figura 11D-E). O “Level Sets” é uma técnica moderna de segmentação de imagem baseada em equações diferenciais parciais, ou seja, na avaliação progressiva das diferenças entre pixels vizinhos, para encontrar o limite do objeto de interesse (neste caso, a FAZ), convergindo no limite do objeto onde as diferenças entre os pixels são maiores (limites entre a FAZ e os vasos ao redor dela) a partir de valores pré-determinados de limites de curvatura e diferença de pixels (nível de cinza). Ao final, são geradas medidas da área (mm²), perímetro (mm) e circularidade da FAZ baseado no contorno criado pelo “Level Sets”. A circularidade é calculada como um índice usando a fórmula onde circularidade = $4\pi(\text{área}/\text{perímetro}^2)$, indicando quão próxima a forma gerada está de um círculo, sendo mais irregular quanto mais perto do zero e um círculo perfeito tendo o valor de 1 (um). Foi avaliada também a qualidade média do sinal (escore Q) para cada imagem da mácula a fim de comparação entre os grupos.

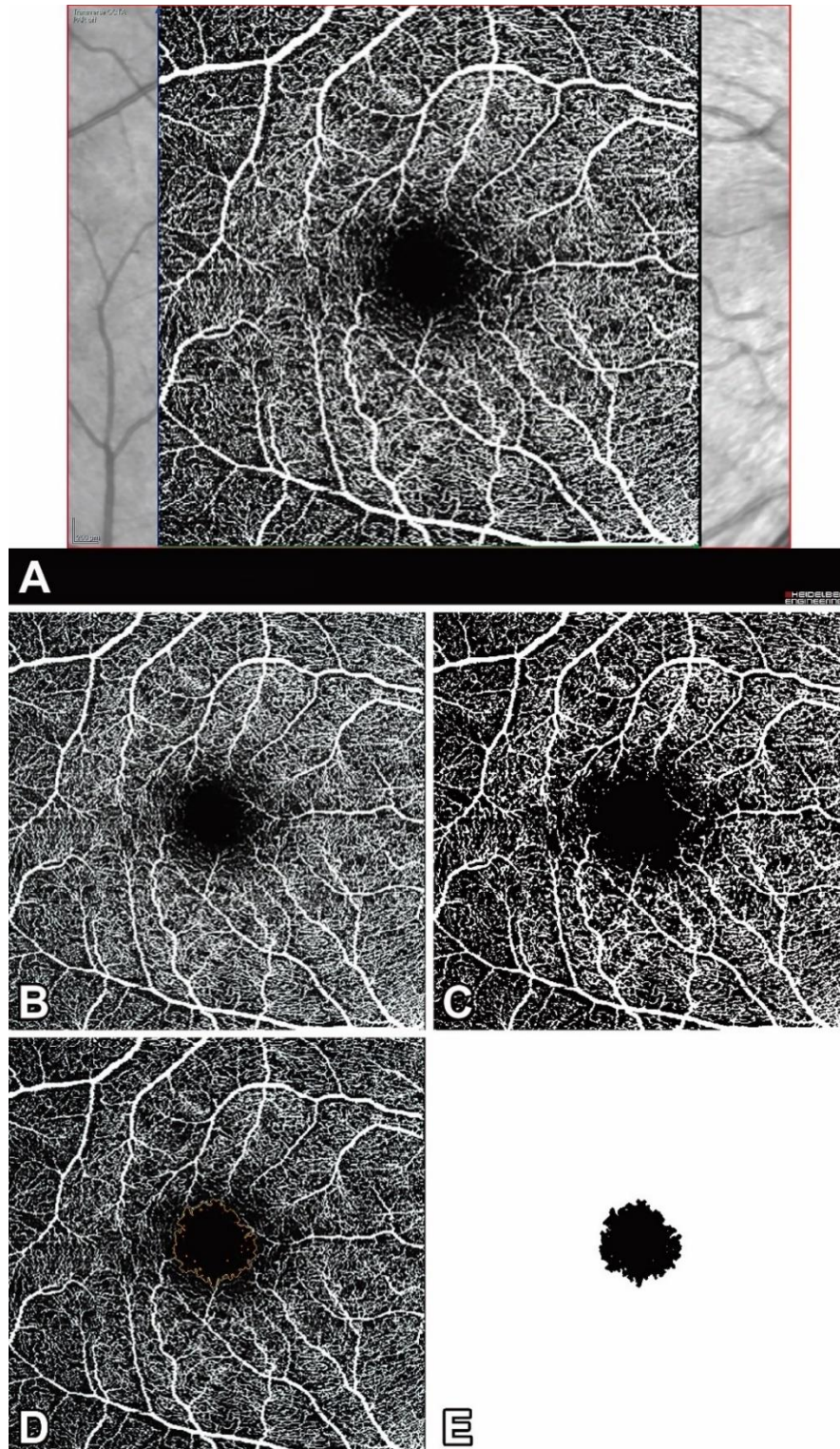


Figura 11 – Exemplo do processamento da OCTA macular do olho direito de um participante do estudo 2. A imagem é exportada do equipamento (A) e a área da OCTA é recortada para análise (B). É aplicada uma macro no Fiji que modifica a imagem em pixels pretos e brancos (C) para análise da densidade vascular, delimita (D) e isola (E) a zona avascular foveal

4.4.3. Eletrorretinograma de campo total na fase fotópica com análise dos potenciais oscilatórios e da resposta fotópica negativa

As avaliações do ERGct fotópico, dos PO fotópicos e da PhNR foram feitas com o sistema RETI-port (versão 6.17.1.3, Roland Consult, Wiesbaden, Alemanha) conforme protocolos previamente descritos em literatura, seguindo os padrões da Sociedade Internacional de Eletrofisiologia Clínica da Visão (ISCEV, do inglês “International Society for Clinical Electrophysiology of Vision”).^{192, 238, 239} Os três exames foram realizados sequencialmente em um mesmo dia, variando apenas a característica do estímulo luminoso conforme pré-determinado no programa do equipamento. Para aquisição da PhNR, conforme protocolo da ISCEV, foram utilizadas características cromáticas dos estímulos: fundo azul com estímulo luminoso vermelho.¹⁹² Para captação da diferença de potencial gerado pelos estímulos luminosos foram utilizados eletrodos de pele (ouro) e eletrodos em lentes de contato do tipo ERG-jet. As condições de iluminação e ruído da sala foram controladas e mantidas iguais para todos os exames. Em resumo, as técnicas e parâmetros utilizados para realização dos exames eletrofisiológicos foram (Figura 12):

- **Preparo dos participantes do estudo:**
 - i. **Dilatação pupilar:** dilatação máxima das pupilas com colírio de tropicamida 1% (≥ 8 mm).
 - ii. **Pré-adaptação à luz:** pré-adaptação de 10 minutos com o participante posicionado na cúpula de Ganzfeld, iluminada conforme parâmetros para a fase fotópica. Os participantes submetidos a exame ou procedimento ocular prévio com incidência de luz intraocular aguardaram 30 minutos em iluminação ambiente antes do posicionamento dos eletrodos e da pré-adaptação.
 - iii. **Posicionamento dos eletrodos:** após preparo da pele com gel abrasivo, eletrodos de pele (ouro) foram fixados com pasta condutora no rebordo orbitário externo em ambos os olhos (eletrodos referências) e no centro da fronte (terra). O posicionamento foi

considerado adequado quando obtida impedância $<2,0$ kOhm. Eletrodos ativos corneanos tipo ERG-jet (Fabrinal SA, La Chaux-de-Fonds, Suíça) foram adaptados com gel de metilcelulose a 2 %, após anestesia da superfície ocular com colírio anestésico (cloridrato de proximetacaína 5 mg/mL).

- iv. **Fixação:** o participante do estudo foi instruído a manter a direção do olhar para um ponto de fixação incorporado no centro da cúpula de Ganzfeld. Foram monitorados quanto à cooperação e ao posicionamento do eletrodo corneano durante a estimulação luminosa.

- **Condições de ajuste da luz de fundo e dos estímulos luminosos:**

- i. **Potenciais oscilatórios fotópicos:** captados com o fundo iluminado com um diodo emissor de luz branca e intensidade da luminância de 25 cd/m² e estímulo constituído por flashes brancos com intensidade de $3,0$ cd·s/m² na frequência de $0,67$ Hz. Utilizado filtro de linha de 100 - 300 Hz. Foi analisada a amplitude (μ V) das ondas N1, P1, N2, P2, N3, P3, N4 e P4, a amplitude dos potenciais oscilatórios PO1 (N1-P1), PO2 (N2-P2), PO3 (N3-P3) e PO4 (N4-P4) da média das respostas de oito varreduras, a média dos PO e o índice oscilatório (IO, correspondente à somatória da amplitude dos potenciais oscilatórios de 1 a 4).
- ii. **Resposta fotópica:** obtida nas mesmas condições dos potenciais oscilatórios, porém com flashes apresentados a uma frequência de $0,2$ Hz. Foi utilizado um filtro de linha de 1 - 300 Hz. Foram analisadas a amplitude (μ V) e o tempo implícito (ms) das ondas a e b da média das respostas de oito varreduras.
- iii. **Flicker de 30 Hz:** obtido nas mesmas condições dos potenciais oscilatórios e do ERGct fotópico, porém com flashes apresentados a uma frequência de 30 Hz. Foi utilizado um filtro de linha de 1 - 300 Hz. Foram analisados o tempo implícito (ms) e a amplitude (μ V) da média das respostas de oito varreduras.

- iv. **Resposta fotópica negativa (PhNR):** captada com fundo iluminado com diodo emissor de luz azul (470 nm) e intensidade da luminância de 10 cd/m^2 e estímulo com flashes vermelhos (625 nm) e intensidade de $3,0 \text{ cd}\cdot\text{s/m}^2$ na frequência de 1,099 Hz. Foi utilizado um filtro de linha de 1-300 Hz. Foram analisados o tempo implícito (ms) e a amplitude (μV) das ondas a, b e PhNR. A amplitude da PhNR foi considerada do pico da onda b até o menor valor da PhNR (PhNR_PT) e da linha de base até o menor valor da onda PhNR (PhNR_BT). Os valores foram extraídos da média das respostas de vinte varreduras. Também foram avaliadas as razões entre as amplitudes da PhNR_PT e PhNR_BT com a amplitude da onda b (respectivamente, PhNR_PT/onda b e PhNR_BT/onda b).

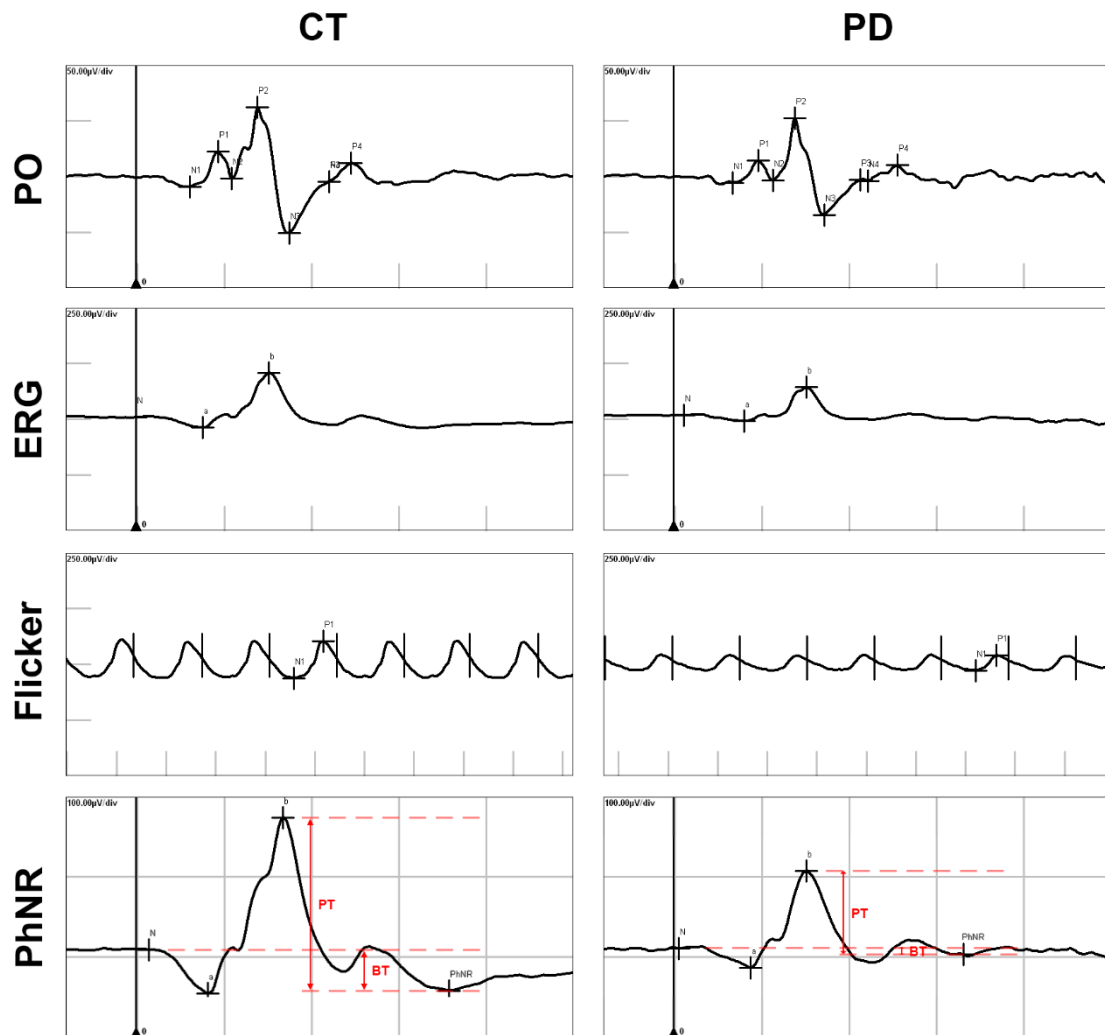


Figura 12 – Representação esquemática da resposta captada do eletroretinograma adaptado à luz do olho direito de um participante do estudo 2 do grupo controle (CT) e do grupo com a doença de Parkinson (PD), incluindo os potenciais oscilatórios (PO), resposta fotópica (ERG), flicker e a resposta fotópica negativa (PhNR) medida a partir do pico da onda b e da linha de base até o menor valor da resposta (respectivamente, PhNR_PT e PhNR_BT)

5 ANÁLISE DOS DADOS E ESTATÍSTICA

5.1. Estudo 1

Os olhos dos participantes da pesquisa foram separados em dois grupos: de indivíduos com a PD (grupo PD) e de controles saudáveis sem a PD (grupo CT). Uma subdivisão do grupo PD, de acordo com uso ou não do agonista dopaminérgico pramipexol, foi realizada a fim de comparar a espessura retiniana de indivíduos com e sem uso desta medicação. As análises estatísticas foram realizadas usando o programa IBM SPSS Statistics versão 25.0 (IBM Corp., Armonk, NY, EUA). A estatística descritiva incluiu média \pm desvio padrão (DP) para variáveis normalmente distribuídas. O teste de Kolmogorov-Smirnov foi usado para avaliar a suposição de normalidade. Tendo em vista o uso de ambos os olhos do mesmo paciente, os grupos foram comparados por meio de equações de estimação generalizadas (GEE), um método estatístico que compensa a correlação interocular no mesmo indivíduo.²⁴⁰⁻²⁴² Como múltiplas comparações foram realizadas, o nível de significância estatística foi estabelecido em $p \leq 0,01$.

5.2. Estudo 2

Os olhos dos participantes da pesquisa foram separados em dois grupos: de indivíduos com a PD (grupo PD) e de controles saudáveis sem a PD (grupo CT). As características qualitativas dos grupos foram descritas com uso de frequências absolutas e relativas e a associação entre os grupos foi verificada com teste do qui-quadrado ou teste exato de Fisher. As características quantitativas, por sua vez, foram descritas com medidas resumo (média e DP) e comparadas por meio do teste t de Student.²⁴³

As medidas obtidas por meio dos exames oftalmológicos foram descritas com medidas resumo e comparadas com uso de GEE para compensar o uso de ambos os olhos de um mesmo indivíduo.²⁴⁴ Os resultados foram seguidos de comparações múltiplas de Bonferroni para identificar entre quais grupos/situação ocorreram as diferenças.²⁴⁵ As variáveis que apresentaram diferenças entre os grupos foram utilizadas para tentar verificar se, conjuntamente, discriminam os

grupos, sendo ajustado o modelo logístico com uso de GEE.²⁴⁴ As curvas de características operacionais (ROC) foram calculadas para avaliar a capacidade das variáveis estatisticamente significantes em diferenciar os grupos. A comparação entre as áreas abaixo das curvas ROC (AUC) foram realizadas usando o método de DeLong et al.²⁴⁶ Para a análise da correlação entre as variáveis estatisticamente significantes e os dados clínicos dos participantes com a doença de Parkinson (tempo de diagnóstico, tempo de sintomas motores, MDS-UPDRS-III ON, MDS-UPDRS-III OFF e escala Hoehn e Yahr) foi utilizado o teste de correlação de Spearman. As análises foram realizadas com uso do programa de análise estatística IBM SPSS Statistics versão 25.0 (IBM Corp., Armonk, NY, EUA) e os testes foram realizados com nível de significância de 5%.

6 RESULTADOS

6.1. Estudo 1

Resultados do estudo 1 foram objetos de publicação em artigo científico (Apêndice J): MELLO, L. G. M.; BISSOLI, L. B.; SARAIVA, F. P.; MAIA, R. P. D. et al. Retinal Layers and Choroid Measurements in Parkinson's Disease With or Without Pramipexole Treatment. *Mov Disord*, 35, n. 12, p. 2357-2359, Dec 2020.

Trinta e oito olhos de 19 participantes com PD (grupo PD) e 40 olhos de 20 indivíduos sem a PD (grupo CT) foram incluídos no estudo. Os dados demográficos dos participantes estão descritos na Tabela 1. Cinquenta por cento dos participantes do grupo CT eram do sexo masculino e 61,11 % no grupo PD. Não houve diferença entre os grupos PD e CT em todas as variáveis demográficas analisadas e nenhum participante da pesquisa fazia uso de tabaco no período da pesquisa.

Tabela 1 – Dados clínico-demográficos dos grupos CT (controle) e PD (doença de Parkinson)

Variável	CT	PD			Valor p	
		Total	PD+P	PD-P	(CT vs PD)	(PD+P vs PD-P)
Participantes (olhos)	20 (40)	19 (38)	9 (18)	10 (20)	-	-
Idade (anos; média ± DP)	57,7 ± 5,5	60,3 ± 8,7	61,2 ± 4,0	59,5 ± 11,3	0,124 ¹	0,538 ¹
AV (média ± DP)	0,95 ± 0,1	0,92 ± 0,1	0,93 ± 0,1	0,90 ± 0,1	0,166 ²	0,339 ²
EE (média ± DP)	0,4 ± 1,4	0,5 ± 0,7	0,5 ± 0,6	0,6 ± 0,7	0,676 ²	0,736 ²
PIO (média ± DP)	12,7 ± 1,8	12,5 ± 2,0	12,5 ± 2,2	12,6 ± 1,9	0,741 ²	0,910 ²
Tempo da doença (anos; média ± DP)	-	8,8 ± 5,7	10,1 ± 5,3	7,6 ± 5,7	-	0,180 ¹
MDS-UPDRS-III ON (média ± DP)	-	31 ± 18	31 ± 19	30 ± 17	-	0,881 ¹
Escala Hoehn e Yahr (média ± DP)	-	2 ± 1	2 ± 1	2 ± 1	-	0,916 ¹
Levodopa, n / anos de uso (média ± DP)	-	19 (100%) / 7,3 ± 3,7	9 (100%) / 8,3 ± 3,7	10 (100%) / 6,40 ± 3,4	-	0,111 ¹
Pramipexol, n / anos de uso (média ± DP)	-	9 (47,4%) / 8,3 ± 5,5	9 (100%) / 8,3 ± 5,5	0	-	<0,001¹
Amantadina, n / anos de uso (média ± DP)	-	8 (42,1%) / 7,1 ± 4,0	4 (44,4%) / 2,9 ± 4,8	4 (40%) / 2,05 ± 4,2	-	0,913 ¹
Entacapone, n / anos de uso (média ± DP)	-	7 (36,8%) / 2,9 ± 3,5	4 (44,4%) / 0,5 ± 1,0	3 (30%) / 1,6 ± 3,4	-	0,159 ¹
Selegilina, n / anos de uso (média ± DP)	-	4 (21,1%) / 1,1 ± 1,2	3 (33,3%) / 0,4 ± 1,0	1 (10%) / 0,10 ± 0,3	-	0,267 ¹

NOTA: AV = melhor acuidade visual corrigida; DP = desvio padrão; EE = equivalente esférico; MDS-UPDRS-III ON = parte III da Escala de Avaliação Unificada da Doença de Parkinson revisada pela Sociedade de Distúrbios do Movimento sob efeito das medicações antiparkinsonianas; n = número de indivíduos; PD+P = participantes com a doença de Parkinson que fizeram uso de pramipexol; PD-P = participantes com a doença de Parkinson que não fizeram uso de pramipexol; PIO = pressão intraocular (mm Hg). Os valores de p estatisticamente significantes ($\leq 0,01$) são mostrados em negrito e sublinhados.

¹ Teste t de Student.

² Equações de estimação generalizadas (GEE).

As medidas que apresentaram diferença estatisticamente significantes entre os grupos PD e CT estão descritas na Tabela 2. Não foi observada diferença estatisticamente significativa entre os grupos PD e CT nas medidas da pRNFL, da coroide e da espessura total da mácula em outras regiões além da foveal (Apêndice K). O grupo de participantes com a PD que fizeram uso de Pramipexol apresentou espessura significativamente maior que aqueles que não fizeram uso em alguns setores da mRNFL, GCL++, IRL e ONL (Tabela 2). O resultado das análises realizadas de todas as camadas retinianas, incluindo a medida da espessura total, por setores e volume total, está descrito nos Apêndices L e M.

Tabela 2 – Média (DP) das medidas da espessura (μm) das camadas retinianas com diferença estatisticamente significativa entre os grupos PD e CT

Camada	Setor	Grupos		Valor p
		PD (n = 38)	CT (n = 40)	
Macula (espessura total)	Fóvea	251,15 (21,74)	273,06 (15,70)	<0,001
mRNFL	Inferior-interno	34,46 (4,84)	37,56 (3,61)	0,005
GCL+	Fóvea	33,84 (6,54)	42,25 (6,80)	<0,001
GCL++	Fóvea	37,57 (7,42)	44,59 (8,00)	0,002
	Inferior-interno	119,65 (11,84)	127,12 (7,58)	0,010
IRL	Fóvea	64,79 (14,17)	76,37 (12,43)	0,004
ORL	Fóvea	171,96 (12,62)	181,44 (9,75)	0,006
		PD-P (n = 20)	PD+P (n = 18)	
mRNFL	Inferior-interno	32,18 (4,99)	37,00 (3,12)	<0,001
GCL++	Anel interno	113,72 (7,34)	120,67 (5,48)	0,010
	Inferior-interno	113,88 (12,38)	126,07 (6,88)	0,002
IRL	Inferior-interno	158,30 (15,33)	173,53 (7,93)	0,002
ONL	Superior-externo	76,62 (4,59)	81,30 (3,73)	0,010

NOTA: CT = grupo controle; PD = grupo de participantes com a doença de Parkinson; PD+P = participantes com a doença de Parkinson que fizeram uso de pramipexol; PD-P = participantes com a doença de Parkinson que não fizeram uso de pramipexol; GCL+ = soma da camada de células ganglionares com a camada plexiforme interna; GCL++ = complexo de células ganglionares; IRL = camadas internas da retina; mRNFL = camada de fibras nervosas da retina em região macular; n = número de olhos; ORL = camada externa da retina; ONL: camada nuclear externa; DP = desvio padrão. Os valores de p estatisticamente significantes ($\leq 0,01$) são mostrados em negrito e sublinhados. A análise estatística foi realizada utilizando equações de estimação generalizadas (GEE).

6.2. Estudo 2

Resultados do estudo 2 foram objetos de publicação em artigo científico (Apêndice N): MELLO, L. G. M.; PARAGUAY, I. B. B.; DE SOUZA ANDRADE, T.; DO NASCIMENTO ROCHA, A. A. et al. Electroretinography reveals retinal dysfunction in Parkinson's disease despite normal high-resolution optical coherence tomography findings. *Parkinsonism Relat Disord*, 101, p.90-95, Aug 2022. Além disso, o desenvolvimento de uma técnica automatizada para análise das imagens geradas pela OCTA no estudo 2 também originou a publicação de outro artigo científico (Apêndice O): MELLO, L.G.M.; RODRIGUES NETO, T.D.S.; DA SILVA NETO, E.D.; PRETI, R.C.; MONTEIRO, M.L.R; ZACHARIAS, L.C. A standardized method to quantitatively analyze optical coherence tomography angiography images of the macular and peripapillary vessels. *Int J Retina Vitreous*. 8, p.75-83, Oct 2022.

Quarenta e um olhos de 21 participantes com a PD e 38 olhos de 19 participantes do grupo CT foram incluídos no estudo. Um olho de um indivíduo do grupo PD foi excluído do estudo por ter sido evidenciado retinosquise periférica na avaliação do fundo de olho (o olho contralateral não apresentou nenhuma alteração ao exame fundoscópico e foi mantido no estudo). Os dados demográficos comparativamente entre os grupos PD e CT estão descritos na Tabela 3. Não houve diferença estatisticamente significativa entre os grupos nas variáveis idade, gênero, comorbidades, tabagismo prévio, AV, equivalente esférico e pressão intraocular. Nenhum participante da pesquisa fazia uso de tabaco no período da pesquisa. Com relação às comorbidades, cinco participantes do grupo CT e nove participantes do grupo PD apresentavam hipertensão arterial sistêmica essencial (não secundária) com pressão arterial controlada com uso de até duas medicações anti-hipertensivas sem evidência de lesão de órgãos-alvo. Um participante de cada grupo apresentava hipotireoidismo primário controlado com o uso de levotiroxina.

Tabela 3 – Dados clínico-demográficos dos grupos CT (controle) e PD (doença de Parkinson)

Variável	Grupo		Valor p
	CT	PD	
Participantes (olhos)	19 (38 olhos)	21 (41 olhos)	-
Idade (anos; média ± DP)	52,5 ± 8,3	58,5 ± 11,1	0,062 ¹
Gênero, n (%)			
Masculino	8 (42,1)	14 (66,7)	0,119 ²
Feminino	11 (57,9)	7 (33,3)	
Comorbidades, n (%)			
Não	14 (73,7)	12 (57,1)	0,273 ²
Sim	5 (26,3)	9 (42,9)	
Ex-tabagismo, n (%)			
Não	17 (89,5)	17 (81)	0,664 ³
Sim	2 (10,5)	4 (19)	
AV (média ± DP)	1,0 ± 0	0,998 ± 0,016	0,329 ⁴
EE (média ± DP)	-0,138 ± 0,993	0,238 ± 1,084	0,195 ⁴
PIO (média ± DP)	13,5 ± 1,6	12,7 ± 1,4	0,109 ⁴

NOTA: AV = melhor acuidade visual corrigida; EE = equivalente esférico; PIO = pressão intraocular em mm Hg; DP = desvio padrão. Os valores de p estatisticamente significantes ($\leq 0,01$) são mostrados em negrito e sublinhados.

¹ Teste t de Student.

² Teste qui-quadrado.

³ Teste exato de Fisher.

⁴ Equações de estimação generalizadas (GEE).

As características clínicas do grupo PD, incluindo as medicações utilizadas pelos participantes, foram descritas na Tabela 4. Não foi observada tendência com relação ao pior lado da PD, presença ou não de sintoma motor no momento do diagnóstico e tipo de doença de Parkinson (tremorigênico e não tremorigênico). Em dois indivíduos não foi possível diferenciar clinicamente o tipo da doença. Os valores do MDS-UPDRS-III foram maiores no estado OFF da doença.

Tabela 4 – Dados clínicos dos 21 participantes do grupo com a doença de Parkinson (PD)

Variável	Valor
Pior lado, n (%)	
Direito	10 (47,6)
Esquerdo	11 (52,4)
Tempo de diagnóstico (anos; média ± DP)	9,1 ± 6,6
Tempo de sintomas motores (anos; média ± DP)	10,5 ± 6,6
Sintoma não motor, n (%)	
Não	10 (47,6)
Sim	11 (52,4)

Tabela 4 – Dados clínicos dos 21 participantes do grupo com a doença de Parkinson (PD)

Variável	Valor
Tipo da doença, n (%)	
Tremorigênico	10 (47,6)
Não tremorigênico	9 (42,9)
Indefinido	2 (9,5)
MDS-UPDRS-III ON (média ± DP)	32,60 ± 21,50
MDS-UPDRS-III OFF (média ± DP)	44,70 ± 21,60 ¹
Escala Hoehn e Yahr (média ± DP)	2,14 ± 0,96
Levodopa, n / anos de uso (média ± DP)	20 / 8,66 ± 5,43
Pramipexol, n / anos de uso (média ± DP)	17 / 5,54 ± 4,92
Amantadina, n / anos de uso (média ± DP)	8 / 6,63 ± 4,17
Entacapone, n / anos de uso (média ± DP)	10 / 3,17 ± 2,20
IMAO-B, n / anos de uso (média ± DP)	4 / 4,14 ± 7,25
Biperideno, n / anos de uso (média ± DP)	2 / 3,83 ± 4,48
Clozapina, n / anos de uso (média ± DP)	1 / 3,00
Clonazepam, n / anos de uso (média ± DP)	5 / 4,75 ± 5,75

NOTA: IMAO-B = inibidores da monoaminaoxidase-B (selegilina ou rasagilina); MDS-UPDRS-III = parte III da Escala de Avaliação Unificada da Doença de Parkinson revisada pela Sociedade de Distúrbios do Movimento; OFF = sem uso das medicações antiparkinsonianas; ON = sob efeito das medicações antiparkinsonianas; DP = desvio padrão.

¹ Valor de p estatisticamente significativo (<0,001) em comparação com o MDS-UPDRS-III ON, utilizando equações de estimação generalizadas (GEE).

Os grupos CT e PD foram comparados com relação à CVS, sendo observados valores significativamente menores no grupo PD na avaliação monocular e binocular (Tabela 5).

Tabela 5 – Avaliação da sensibilidade visual ao contraste (CVS) dos grupos controle (CT) e com a doença de Parkinson (PD)

CVS	Grupo		Valor p
	CT	PD	
Monocular (média ± DP)	1,82 ± 0,10	1,68 ± 0,12	<0,001
Binocular (média ± DP)	1,92 ± 0,08	1,81 ± 0,10	<0,001

NOTA: DP = desvio padrão. A análise estatística foi realizada utilizando equações de estimação generalizadas (GEE). Os valores de p estatisticamente significantes (≤ 0,05) são mostrados em negrito e sublinhados.

Os parâmetros de espessura da RNFL e da coroide da região peripapilar (Apêndice P) e da região macular (Apêndice Q) medidos pela OCT não revelaram diferença estatisticamente significativa entre os grupos PD e CT.

A avaliação da vasculatura da região peripapilar por meio da OCTA não demonstrou diferença estatisticamente significativa entre os grupos (Apêndice R). Porém, a análise da região macular revelou uma densidade vascular significativamente menor do mDVC e do mDCP nos indivíduos com a PD em comparação com o grupo CT (Tabela 6). Nenhum outro parâmetro da OCTA da região macular demonstrou diferença estatisticamente significativa.

Tabela 6 – Medidas da angiografia por tomografia de coerência óptica (OCTA) da região macular dos grupos controle (CT) e com a doença de Parkinson (PD)

Variável	Grupo		Valor p
	CT	PD	
Escore Q	37,39 ± 2,76	36,49 ± 2,03	0,091
mSVC (%)	23,6 ± 5,7	21,1 ± 5,6	0,107
mNFLVP (%)	9,95 ± 2,96	9,27 ± 2,93	0,398
mSVP (%)	29 ± 6,1	27,3 ± 6,1	0,295
mDVC (%)	22,7 ± 6,2	18,1 ± 4,6	0,005
mICP (%)	17,8 ± 3,6	16,5 ± 4,3	0,237
mDCP (%)	20,9 ± 4,2	18,3 ± 4,3	0,027
mCoriocardilar (%)	27,7 ± 4,0	27,6 ± 4,4	0,822
mCoroide (%)	28,4 ± 5,0	28,5 ± 4,7	0,973
FAZ superficial			
Área (mm ²)	0,66 ± 0,27	0,65 ± 0,27	0,976
Perímetro (mm)	4,78 ± 1,12	4,84 ± 1,26	0,741
Circunferência	0,36 ± 0,06	0,35 ± 0,09	0,692
FAZ profunda			
Área (mm ²)	0,37 ± 0,18	0,41 ± 0,26	0,501
Perímetro (mm)	3,16 ± 0,95	3,13 ± 1,14	0,964
Circunferência	0,46 ± 0,09	0,46 ± 0,15	0,949

NOTA: mCoriocardilar = coriocardilar da região macular; mCoroide = coroide da região macular; mDCP = plexo capilar profundo macular; mDVC = complexo vascular profundo macular; mICP = plexo capilar intermediário macular; mNFLVP = plexo vascular da camada de fibras nervosas macular; mSVC = complexo vascular superficial macular; mSVP = plexo vascular superficial macular; FAZ = zona avascular foveal. A análise estatística foi realizada utilizando equações de estimação generalizadas (GEE). Os valores de p estatisticamente significantes ($\leq 0,05$) são mostrados em negrito e sublinhados.

Com relação à avaliação funcional da retina por meio dos exames eletrofisiológicos, foram observados valores significativamente menores no grupo PD nas seguintes variáveis: amplitude dos PO 1 e 3, média dos PO, IO, amplitude da onda b do ERGct fotópico e amplitude da PhNR (Tabela 7).

Tabela 7 – Medidas do eletrorretinograma de campo total fotópico (ERGct fotópico), potenciais oscilatórios (PO) e da resposta fotópica negativa (PhNR) dos grupos controle (CT) e com a doença de Parkinson (PD)

Variável	Grupo		Valor p
	CT	PD	
Potenciais oscilatórios			
PO1 (µV)	27 ± 5,6	21,5 ± 7,4	<u>0,004</u>
PO2 (µV)	49,9 ± 14,2	43,3 ± 15,5	0,115
PO3 (µV)	37,3 ± 10,1	29,2 ± 12,7	<u>0,012</u>
PO4 (µV)	13,8 ± 5,7	11,5 ± 4,0	0,109
Média PO (µV)	32 ± 7,0	26,4 ± 8,4	<u>0,010</u>
IO (µV)	128,1 ± 28	105,5 ± 33,6	<u>0,010</u>
Resposta fotópica			
Onda a			
Tempo implícito (ms)	15,7 ± 0,5	16,1 ± 0,9	0,068
Amplitude (µV)	39,1 ± 7,4	36,5 ± 11,1	0,340
Onda b			
Tempo implícito (ms)	30,6 ± 1,0	31,4 ± 1,5	0,069
Amplitude (µV)	187,1 ± 32,7	152,3 ± 45,4	<u>0,002</u>
Razão onda b/onda a	4,89 ± 0,93	4,32 ± 1,16	0,062
Flicker			
Tempo implícito (ms)	27,2 ± 1,4	28,2 ± 2,1	0,068
Amplitude (µV)	53,7 ± 11,5	48,3 ± 11,9	0,099
PhNR			
Onda a (µV)	44,8 ± 9,1	41 ± 8,9	0,126
Onda b (µV)	158,4 ± 35,5	140,6 ± 36,3	0,089
PhNR			
Tempo implícito (ms)	69,5 ± 3,0	70,7 ± 4,1	0,323
PhNR_PT (µV)	156,3 ± 34,1	135,0 ± 35,0	<u>0,025</u>
PhNR_BT (µV)	42,7 ± 14,9	35,4 ± 16,5	0,079
Razão PhNR_PT/onda b (µV)	0,99 ± 0,09	0,96 ± 0,11	0,332
Razão PhNR_BT/onda b (µV)	0,28 ± 0,12	0,27 ± 0,14	0,596

NOTA: IO: índice oscilatório; Média PO: média dos potenciais oscilatórios 1, 2, 3 e 4; ms: milissegundo; PhNR_PT: resposta fotópica negativa medida do pico da onda b até o menor valor da resposta; PhNR_BT: resposta fotópica negativa medida da linha de base até o menor valor da resposta; PO1-4: primeiro ao quarto potencial oscilatório; µV: microvolts. A análise estatística foi realizada utilizando equações de estimação generalizadas (GEE). Os valores de p estatisticamente significantes ($\leq 0,05$) são mostrados em negrito e sublinhados.

Todas as variáveis estatisticamente significantes apresentaram AUC maior que 0,6 (Figura 13), não sendo observada diferença estatisticamente significativa entre elas (Apêndice S).

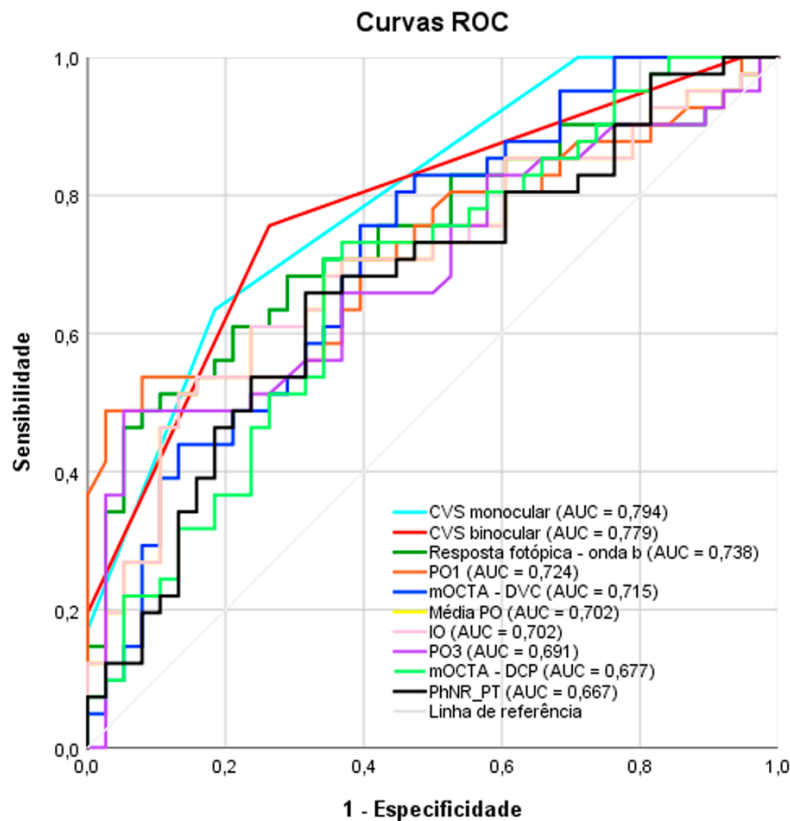


Figura 13 – Curvas de características operacionais (ROC) das variáveis estatisticamente significantes em diferenciar os grupos: sensibilidade visual ao contraste (CVS), índice oscilatório (IO), plexo capilar profundo macular (mOCTA - DCP), complexo vascular profundo macular (mOCTA - DVC), média dos potenciais oscilatórios de 1 a 4 (Média PO), resposta fotópica negativa medida do pico da onda b até o menor valor da resposta (PhNR_PT), primeiro potencial oscilatório (PO1) e terceiro potencial oscilatório (PO3).

Não foi observada correlação entre as variáveis estatisticamente e os dados clínicos (tempo de diagnóstico, tempo de sintomas motores, MDS-UPDRS-III ON, MDS-UPDRS-III OFF e escala Hoehn e Yahr) do grupo PD (Apêndice T), com exceção da CVS monocular (Figura 14) e da CVS binocular (Figura 15) que apresentaram correlação negativa. Os dois maiores valores absolutos de coeficiente de correlação de Spearman foram da correlação entre a CVS binocular e o tempo de diagnóstico ($\rho = -0,411$; valor $p = 0,008$) e da correlação entre a CVS binocular e o tempo de sintomas motores ($\rho = -0,422$; valor $p = 0,006$).

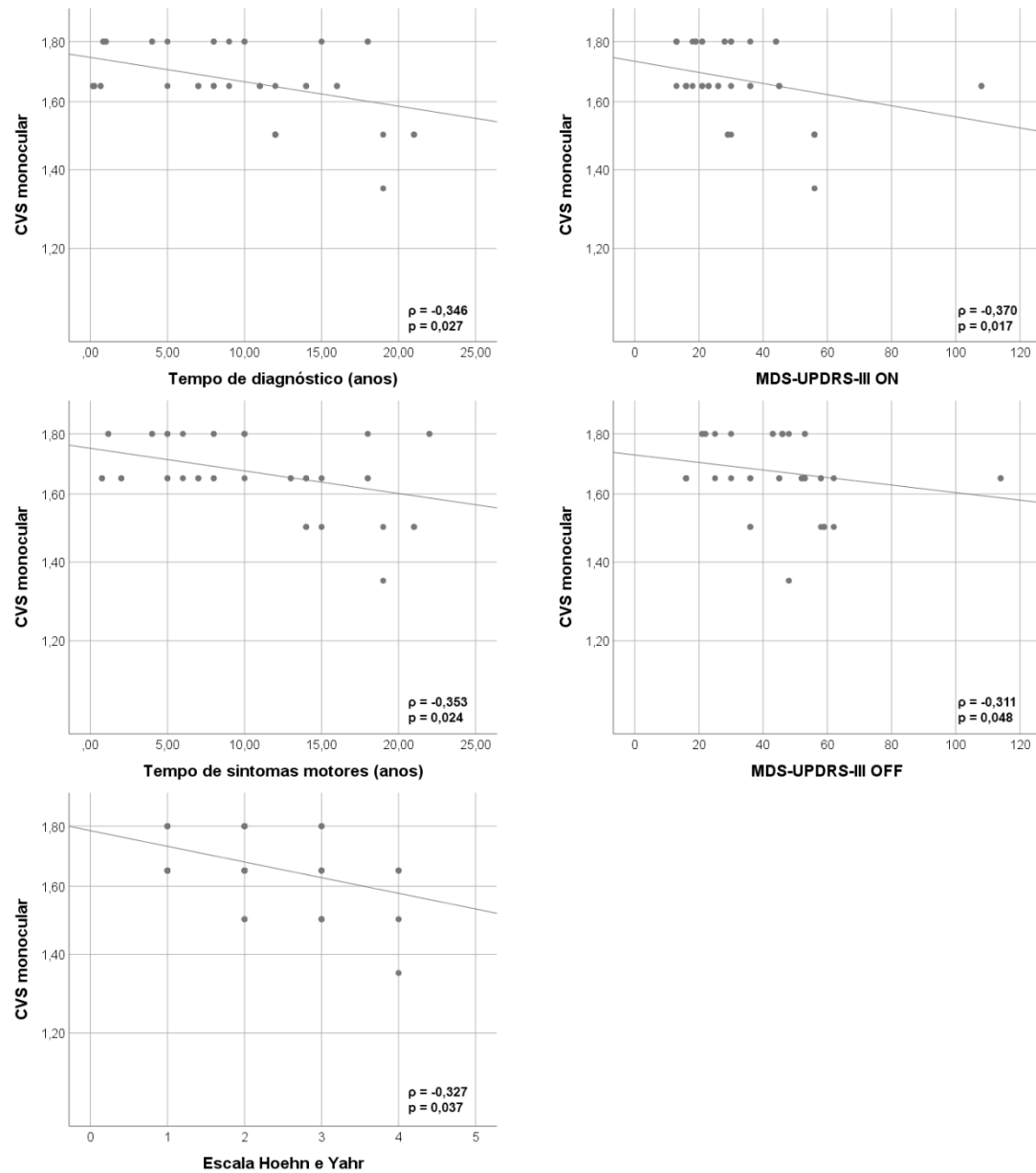


Figura 14 – Representações gráficas das distribuições da correlação da sensibilidade visual ao contraste (CVS) monocular com os dados clínicos do grupo com a doença de Parkinson (PD)

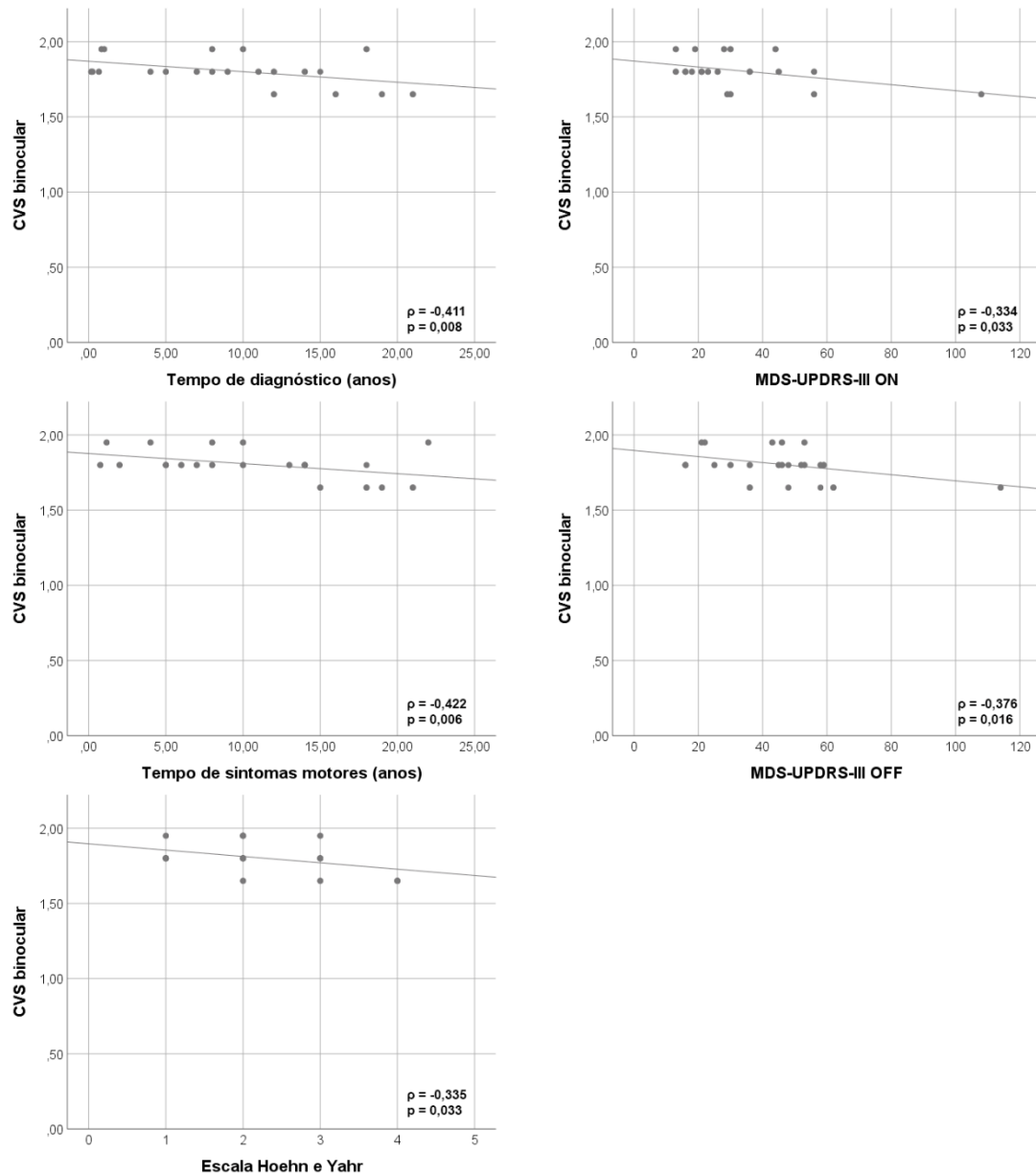


Figura 15 – Representações gráficas das distribuições da correlação da sensibilidade visual ao contraste (CVS) binocular com os dados clínicos do grupo com a doença de Parkinson (PD)

7 DISCUSSÃO

A presente tese, composta por dois estudos observacionais, teve como objetivo avaliar as características morfológicas e funcionais da retina, a coroide e a vasculatura retiniana de indivíduos com a PD por meio de uma avaliação multimodal com OCT, OCT-EDI, OCTA, CVS e ERGct fotópico com avaliação da PhNR. Em conjunto, os estudos deste trabalho sugerem que a PD pode cursar com alterações morfológicas retinianas. Porém, alterações funcionais parecem estar presentes até mesmo nos casos em que a avaliação estrutural não apresente diferença estatisticamente significativa quando comparada com indivíduos saudáveis.

Corroborando com a literatura,^{22, 247, 248} nosso primeiro estudo demonstrou que indivíduos com a PD podem apresentar alterações estruturais maculares, especialmente nas regiões e camadas mais internas. Além disso, a segmentação das camadas da retina vistas à OCT permitiu melhor entendimento das alterações retinianas do que a avaliação da espessura total. Parece haver uma predileção pelo afinamento da mRNFL e da GCL+, ainda que outras camadas mais externas também possam estar envolvidas. Alguns estudos detectaram a alfa-sinucleína fosforilada na GCL, IPL e INL,^{23, 25, 26} além da formação de estruturas similares aos corpos e neuritos de Lewy na IPL em pacientes com a PD.^{23, 24} O afinamento preferencial da mRNFL, GCL e IPL pode estar associado à presença da alfa-sinucleína fosforilada nas camadas internas da retina, que promoveria um dano estrutural aos neurônios próximos, ou mesmo secundário a uma disfunção celular decorrente da depleção dopaminérgica retiniana com posterior dano neuronal morfológico.

O segundo estudo realizado durante o desenvolvimento desta tese, por sua vez, permitiu evidenciar que os indivíduos com a PD podem apresentar alterações funcionais oftalmológicas significativas, mesmo nos casos em que a avaliação morfológica quantitativa das camadas retinianas por meio da OCT esteja dentro dos valores de normalidade quando comparado com indivíduos saudáveis. Assim, a avaliação oftalmológica funcional por meio da CVS e do ERGct parecem ser melhores para a detecção das alterações oftalmológicas associadas à PD quando comparados com a OCT. Diversos fatores poderiam explicar a diferença observada entre os nossos dois estudos no que envolve os resultados da avaliação morfológica da retina, como o fato de terem sido

utilizados diferentes equipamentos de OCT em cada estudo (Cirrus e Spectralis, com diferentes qualidades de resolução espacial, sendo o primeiro de uma geração anterior ao do segundo equipamento), o uso de diferentes técnicas de segmentação das camadas retinianas (com uso do programa Orion™ no primeiro estudo e do HEYEX do Spectralis no segundo), análise de diferentes áreas, setores e divisões da região macular, características distintas dos participantes com a PD (como o tempo e gravidade da doença, tempo do início dos sintomas até o início do tratamento e o uso de diferentes medicações anti-parkinsonianas), além da extração de alguns dados baseados em informações dos participantes e do prontuário médico (como, por exemplo, o tempo de diagnóstico, início dos sintomas e o uso de medicações). Ainda que os dados meta-analisados das pesquisas com OCT na PD indiquem um acometimento estrutural da retina na PD,^{22, 197-199} muitos dos estudos meta-analisados também não demonstraram diferença na espessura da retina e camadas retinianas à OCT, quando avaliados individualmente. Dessa forma, mais estudos são necessários para elucidar o processo fisiopatológico da disfunção e lesão estrutural retiniana na PD.

Ambos os estudos da presente tese não demonstraram alterações estatisticamente significantes da espessura da pRNFL de participantes com a PD quando comparados com controles. Nossos achados vão de encontro ao observado em estudos de meta-análise, os quais sugerem uma diminuição da pRNFL nos indivíduos com a PD.^{22, 197-199} Porém, os resultados dos estudos meta-analisados são em parte divergentes, por sugerirem um afinamento da pRNFL em setores diferentes. Além disso, uma análise de subgrupos baseada no modelo de equipamento de OCT utilizado em cada pesquisa sugeriu que o modelo do equipamento poderia influenciar a comparação dos resultados, com o Cirrus HD-OCT demonstrando maior afinamento que o Spectralis OCT.¹⁹⁹ Esses fatos e os resultados da presente tese não permitem excluir o possível envolvimento da pRNFL na fisiopatologia das alterações oftalmológica associadas à PD. Porém, sugerem que a avaliação dessa estrutura possa ter menor potencial para auxiliar na diferenciação de indivíduos com e sem a PD em relação a outras medidas da OCT e até mesmo em relação a outros exames oftalmológicos.

Da mesma forma que a pRNFL, nossos estudos também não evidenciaram diferença estatisticamente significativa quanto à espessura da coroide na região macular e peripapilar. Até o presente momento, poucos estudos avaliaram a coroide na PD. Foi descrita uma menor espessura na região macular em quatro estudos,⁵³⁻⁵⁶ maior espessura em dois estudos^{52, 57} e um outro estudo não evidenciou diferença na espessura subfoveal entre participantes com e sem a PD, ainda que a área total da coroide tenha sido maior em pacientes com a PD.⁴⁹ Quanto à espessura da coroide peripapilar, os dois únicos estudos que realizaram esta avaliação evidenciaram maior espessura em relação ao grupo controle.^{51, 52} Alguns fatores podem ter influenciado os resultados da espessura da coroide entre os estudos, como o uso de diferentes equipamentos, formas de processamento da imagem da OCT, avaliação de diferentes setores e regiões, a não consideração na metodologia e análise dos dados de fatores que sabidamente afetam a espessura da coroide (por exemplo, a variação diurna, pressão intraocular, gênero, doenças sistêmicas, comprimento axial/equivalente esférico, uso de medicações e tabagismo). Em conjunto, nossos estudos sugerem não haver alterações significativas da espessura da coroide na PD, ainda que sua vasculatura possa ser afetada como sugerido com Robbins et. al.⁴⁹

A presente tese evidenciou que a OCTA é capaz de revelar alterações morfológicas no mDVC e mDCP, que podem estar relacionadas à PD, mas não observou alteração nos plexos superficiais maculares e peripapilares. Conforme evidenciado na Figura 7, o mDVC está relacionado à IPL, INL e OPL. A IPL é composta essencialmente por sinapses entre as células amácrinas, ganglionares, bipolares e interplexiformes.²⁴⁹ Já na INL predominam os corpos celulares das células bipolares da via dos cones e também os corpos celulares das bipolares da via dos bastonetes, das células horizontais, das células amácrinas e das células de Müller.²⁵⁰ A OPL, por sua vez, é composta por sinapses entre os fotorreceptores, células bipolares, células horizontais, interplexiformes e até mesmo as DAC.^{163, 251} Extrapolando os achados da OCTA vistos na maculopatia média aguda paracentral, uma doença que cursa com afinamento da INL secundário à isquemia do mDVC, a redução da densidade vascular no mDVC e no mDCP em indivíduos com a PD poderia estar associada

a uma diminuição da demanda metabólica das células bipolares, amácrinas e horizontais por um dano funcional ou estrutural ou até mesmo secundário a uma regulação do fluxo retiniano.²⁵² Grande parte das células (neurônios e sinapses) presentes na IPL, INL e OPL está envolvida na fisiopatologia das alterações retinianas na PD.^{163, 253} Assim, a atrofia e as alterações funcionais desses neurônios (em especial as DAC), a redução metabólica e a alteração da concentração de neurotransmissores nestas camadas retinianas poderiam explicar a menor densidade vascular observada no mDVC e no mDCP por meio da OCTA.

Diversos fatores dificultam a comparação dos nossos achados da OCTA com outros estudos na literatura i) o uso de diferentes equipamentos e técnicas para aquisição e processamento das imagens de OCTA, havendo somente um estudo que, assim como o nosso, fez uso da OCT Spectralis (ainda que tenha adquirido uma imagem menor, de $10^0 \times 10^0$, e utilizado outros métodos para processamento das imagens);²¹⁷ ii) segmentações diferentes das camadas retinianas para extrair as imagens “en face” da OCTA; por exemplo, os equipamentos AngioVue XR Avanti (Optovue Inc, Fremont, California, United States) e AngioPlex™ OCTA (Cirrus; Zeiss, Dublin) consideram o mICP como parte do mSVC e não do mDVC, sendo, até certo ponto, discrepantes à descrição da segmentação dos plexos vasculares da retina feita por Campbell et. al;²³³ iii) não houve concordância entre os estudos quanto à metodologia de análise da FAZ, sendo adotado em alguns uma FAZ de tamanho fixo e em outros tamanho variável, às vezes não sendo considerada a influência do seu tamanho nos valores globais ou do anel interno das imagens da OCTA; iv) poucos estudos avaliaram o plexo e a FAZ profundos; iv) participantes com e sem a PD apresentando diferentes características, algumas até mesmo diferentes estatisticamente entre os grupos de um mesmo estudo ou sem dados detalhados de variáveis do exame oftalmológico.^{45, 47, 49, 217} Porém, há de se considerar também que o nosso estudo: i) não utilizou o método com a mais alta resolução da OCT Spectralis uma vez que o equipamento não capta imagens maiores que $10^0 \times 10^0$ neste modo e que testes pilotos prévios realizados por nós sugeriram que o uso do modo de alta resolução poderia aumentar o número de artefatos pelo aumento do tempo para aquisição da imagem (ainda assim, mantivemos

uma melhor resolução espacial que a utilizada em outros dispositivos); ii) a OCT Spectralis não realiza o processamento automático das imagens da OCTA para obtenção das variáveis analisadas (densidade vascular), o que foi solucionado por meio do uso de métodos automatizados de processamento de imagens com o programa Fiji; iii) a área macular avaliada foi de $15^{\circ} \times 15^{\circ}$ (cerca de 4,5 x 4,5 mm), o que corresponde à principal região das células ganglionares e permite a avaliação da região mais central ainda que não avalie toda a região do mapa do ETDRS e até mesmo uma área maior e mais representativa da retina; iv) não foi realizada a setorização da mácula nas imagens da OCTA.

Com relação à avaliação oftalmológica funcional na PD, é sabido que indivíduos acometidos apresentam redução da CVS e que o uso da levodopa pode melhorar a visão de contraste ao menos parcialmente.³¹ Indo ao encontro da literatura, nosso estudo evidenciou que os participantes com a PD apresentam redução da CVS a despeito da boa acuidade visual e do tratamento anti-parkinsoniano. A visão de contraste é importante para realização de atividades básicas da vida diária, sendo, por exemplo, considerado um importante fator preditor na condução de veículos motorizados por portadores da PD.²⁵⁴ Por ser um método rápido e de fácil aplicação, a avaliação da CVS com a tabela de Pelli-Robson pode ser uma importante ferramenta na prática clínica para avaliação básica e manejo dos pacientes com a PD.

O ERGct é um outro teste funcional que pode auxiliar no entendimento mais detalhado da participação a nível celular na disfunção retiniana associada à PD. Até onde sabemos, nosso estudo é o segundo a avaliar funcionalmente por meio do ERGct portadores da PD que não diferiram estatisticamente nas medidas estruturais da OCT. Contudo, é o primeiro a avaliar as camadas da retina de forma segmentada e setorizada, sendo tal análise importante na PD, uma vez que pode fornecer informações mais detalhadas do que uma avaliação básica da espessura total da retina.²⁵⁵ Além disso, é a primeira vez na literatura que a PhNR é avaliada em portadores da PD.

Um estudo realizado em 2015 utilizando o ERGct (escotópico e fotópico) e uma versão anterior da OCT (Stratus) avaliou 38 olhos de pacientes com a PD e 38 olhos de controles saudáveis.¹⁷⁵ Foi observado, assim como o nosso estudo, que a análise da espessura global macular e da pRNFL não diferiam

significativamente entre os grupos. Contudo, o ERGct revelou uma redução da amplitude da onda a escotópica, de PO escotópicos (PO2 e PO3), da onda b da resposta fotópica, do IO e um prolongamento do tempo implícito do PO1 ao PO4 escotópicos. Durante a execução da presente tese não foi avaliada a fase escotópica do ERGct. Porém, com relação à fase fotópica, onde predomina a atividade da via dos cones, observamos que há redução dos PO fotópicos (PO1, PO3, média dos PO e IO), da amplitude da onda b da resposta fotópica e da amplitude da PhNR_PT no grupo de participantes com a PD em comparação com os indivíduos do grupo controle. É importante ressaltar também que a avaliação eletrofisiológica desta tese se fez com os participantes em uso das medicações anti-parkinsonianas, uma vez que a interrupção do uso das mesmas não eliminaria potenciais efeitos do uso prolongado e este cenário (indivíduos com diagnóstico de PD e em uso de medicações anti-parkinsonianas) representa o mais comumente observado na clínica. Dessa forma, não podemos descartar a possibilidade de influência das medicações anti-parkinsonianas nos resultados da presente tese.

A compreensão da origem das ondas do eletrorretinograma é importante para correlacionar os nossos achados funcionais e estruturais da retina. Estudos em primatas sugerem que a primeira onda negativa do ERG, a onda a, represente a hiperpolarização dos fotorreceptores ao estímulo luminoso, especialmente dos cones no ERG fotópico e das células bipolares tipo OFF.²⁵⁶⁻²⁵⁸ A onda a é seguida de uma onda positiva, onda b, que inicia a partir da despolarização das células bipolares tipo ON e também é possivelmente influenciada pelas células bipolares tipo OFF, células horizontais e células de Müller.^{257, 258} O uso de dopamina parece aumentar a amplitude das ondas a e b do ERGct fotópico.³³ Assim, a redução da amplitude da onda b da resposta fotópica que observamos nos participantes com a PD poderia estar associada a uma disfunção das células bipolares e horizontais, que são influenciadas pelos níveis de dopamina na retina^{144, 259} e poderiam ser funcionalmente ou até mesmo morfológicamente afetadas na PD.

Na fase ascendente da onda b há uma série de oscilações rápidas (os PO), sendo necessário alguns ajustes nos parâmetros do exame eletrofisiológico para melhor evidenciá-los.¹⁷⁴ Acredita-se que os PO tenham origem na retina

interna, especialmente na IPL e INL, envolvendo principalmente a atividade das células bipolares e amácrinas, mas possivelmente também das células interplexiformes e até mesmo alguma contribuição das células ganglionares.^{174, 260, 261} Estudos também sugerem que a dopamina participe da formação dos PO, uma vez que drogas depletoras da dopamina promovem uma redução da amplitude dos PO e a reposição dopaminérgica é capaz de reverter este efeito.^{262, 263} Assim, a redução da amplitude dos PO (PO1, PO3, média dos PO e IO) observada nos participantes com a PD em nosso estudo sugere uma disfunção das células amácrinas, bipolares e possivelmente interplexiformes.

A PhNR, por sua vez, parece ter origem principal da atividade das células ganglionares, ainda que possa ser influenciada também por células gliais.^{63, 264} O presente estudo evidenciou uma redução estatisticamente significativa da PhNR_PT no grupo PD. Estudos em seres humanos sugerem que a confiabilidade de medição dos parâmetros é maior para a PhNR_PT do que PhNR_BT e até mesmo do que a medida da PhNR em um tempo fixo.^{265, 266} Além disso, há de se ressaltar também que observamos uma tendência da PhNR_BT e da onda b obtida na PhNR estarem reduzidas no grupo PD em comparação ao grupo controle, ainda que tal achado não tenha apresentado diferença estatisticamente significativa (valor $p = 0,079$ e $0,089$, respectivamente).

Apesar de não ter sido realizado na presente tese, o PERG é outro exame eletrofisiológico que permite avaliar a função das RGC.²⁶⁷ Estudos prévios observaram uma redução da amplitude do PERG em indivíduos com a PD possivelmente relacionada à deficiência dopaminérgica, mas há de se considerar que o PERG avalia principalmente as regiões mais centrais da retina, necessita de correção do erro refracional e pode ser afetado pelos tremores e movimentos involuntários da PD.^{58, 180, 181, 267} Nossos achados por meio da PhNR parecem corroborar com os de estudos eletrofisiológicos utilizando o PERG e com outras pesquisas que sugerem o envolvimento das RGC nas alterações oftalmológicas associadas à PD. Até onde sabemos, este é o primeiro estudo a avaliar as células ganglionares por meio da PhNR na PD. A avaliação por meio da PhNR_PT demonstrou ser melhor do que a PhNR_BT, a onda b obtida por meio da avaliação da PhNR e a razão PhNR/onda b para diferenciação entre indivíduos com e sem a PD. Tendo em vista os resultados da análise da PhNR

e dos outros testes eletrofisiológicos realizados nesta tese, acreditamos que a PD pode promover uma disfunção especialmente das células amácrinas e bipolares, com envolvimento também das células horizontais, RGC e de Müller.

Um estudo revelou que na PD ocorre atrofia das DAC, com diminuição da quantidade de sinapses realizadas e de dendritos na região das camadas IPL (incluindo as realizadas com as RGC), INL, OPL e ONL. Ainda que não tenha sido observado redução da quantidade de células amácrinas AII, as mesmas apresentavam alterações que sugeriam um possível déficit celular funcional.¹⁶³ Além da diminuição das sinapses entre as células amácrinas e as RGC, estas últimas também já foram vistas que se encontram quantitativamente reduzidas e qualitativamente alteradas na PD.^{163, 253} Em conjunto, os estudos com análise imuno-histoquímica da retina de pacientes com a PD,^{163, 253} o estudo de Nowacka et. al¹⁷⁵ e a presente tese corroboram para o fato de que parecem existir alterações oftalmológicas funcionais mais precoces do que as estruturais nos indivíduos com a PD, com provável predileção para o envolvimento das células localizadas em camadas mais internas da retina (GCL, IPL, INL e OPL), em especial as células amácrinas, bipolares e ganglionares.

O tratamento anti-parkinsoniano possui como principal objetivo a reposição dos níveis de dopamina nos tecidos.^{219, 220} É importante ressaltar que algumas medicações, como o pramipexol e os inibidores da monoamina oxidase, demonstraram potencial efeito neuroprotetor em estudos com animais e *in vitro*,^{221, 222} ainda que esses achados não tenham sido observados em seres humanos até o momento. Um estudo observou que a despeito de maior gravidade da PD, pacientes em uso de levodopa não apresentavam diferença estatisticamente significativa da espessura da pRNFL obtida por meio da OCT quando comparados com pacientes sem uso da levodopa e com menor gravidade da doença, sugerindo um efeito neuroprotetor do uso da levodopa.³⁴

Ainda que não tenha sido o objetivo principal dessa tese, observamos no primeiro estudo que os participantes com a PD que não faziam uso de pramipexol apresentaram menor espessura da mRNFL, GCL++, IRL e ONL do que aqueles que faziam uso desta medicação, sugerindo que o uso dessa medicação possa prevenir o afinamento retiniano. Até o momento da publicação do nosso artigo, nenhum outro estudo havia avaliado uma possível influência do

uso de medicações anti-parkinsonianas (em especial do pramipexol) nos achados estruturais da retina de pacientes com a PD, à exceção do uso da levodopa.^{34, 69} Além de ser um agonista do receptor dopaminérgico D2/3, o pramipexol possui potenciais ações neuroprotetoras, como a prevenção do dano oxidativo e apoptose.²²³

É importante a realização de mais estudos para reprodução dos achados da presente tese, em especial no que envolve a PhNR, por ter sido o primeiro estudo na literatura a avaliá-la em indivíduos com a PD, e para avaliação dos efeitos oftalmológicos das medicações utilizadas no tratamento da PD. Pesquisas com maior número de participantes, de seguimento longitudinal e preferencialmente com participantes que ainda não tenham feito uso de medicações anti-parkinsonianas (“virgens de tratamento”) podem aprofundar ainda mais o entendimento das alterações oftalmológicas estruturais e funcionais associadas à PD e avaliar os efeitos das medicações anti-parkinsonianas na retina, coróide e nervo óptico.

8 CONCLUSÕES

Os resultados desse estudo possibilitaram concluir que os indivíduos com a PD possuem uma tendência de apresentarem alterações estruturais vistas nos exames complementares oftalmológicos OCT e OCTA. A segmentação das camadas retinianas à OCT é melhor para caracterização dessas alterações do que a avaliação da espessura retiniana total. Há um afinamento de setores mais internos da retina interna, com a OCT sendo útil na identificação do envolvimento da mRNFL, GCL e IPL. Existe uma tendência do envolvimento também de outras camadas retinianas, ainda que a OCT nem sempre consiga detectar tais alterações. Contudo, as espessuras da pRNFL, da MRW e da coróide macular e peripapilar aparentam não serem primariamente afetadas pela doença. Além disso, os achados desta tese sugerem que a PD cursa com redução da densidade vascular retiniana vista à OCTA, especialmente no mDVC e mDCP, sendo este achado detectado mesmo nos casos com medidas da OCT dentro dos parâmetros da normalidade. Vale ressaltar que essa redução da densidade vascular observada em indivíduos com a PD não se reflete em alteração da área, perímetro e circularidade da FAZ quando comparado com o grupo de indivíduos sem a PD.

As alterações oftalmológicas funcionais na PD, por meio da CVS e do ERGct fotópico com análise da PhNR, estão presentes mesmo quando não são detectadas alterações estruturais com a OCT. Há redução da CVS e da amplitude dos PO, da onda b do ERGct fotópico e da PhNR_PT. Isso sugere que a avaliação funcional dos indivíduos com a PD por meio da CVS, do ERGct fotópico e da PhNR auxilia na diferenciação de indivíduos com e sem a PD. Em conjunto, os achados dos dois estudos realizados reforçam a hipótese do envolvimento das células bipolares, células amácrinas e células ganglionares na fisiopatologia das alterações retinianas na PD, com uma provável disfunção celular precedendo os achados estruturais vistos à OCT.

9 ANEXOS

Anexo A – Parecer consubstanciado do CEP do estudo 1

UFES - HOSPITAL
UNIVERSITÁRIO CASSIANO
ANTÔNIO DE MORAES DA



PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

DADOS DO PROJETO DE PESQUISA

Título da Pesquisa: Efeitos dos Inibidores da Monoamina Oxidase B na Retina de Pacientes com Doença de Parkinson

Pesquisador: Luiz Guilherme Marchesi Mello

Área Temática:

Versão: 3

CAAE: 65906717.3.0000.5071

Instituição Proponente: Hospital Universitário Cassiano Antônio de Moraes

Patrocinador Principal: Financiamento Próprio

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 2.083.765

Apresentação do Projeto:

A doença de Parkinson (DP) é a segunda enfermidade neurodegenerativa mais comum no mundo.1 Apesar de ter sido intensamente estudada nos

quase dois séculos de seu reconhecimento, sua fisiopatologia ainda não é completamente compreendida.2 Sabe-se que há degeneração de

neurônios produtores de dopamina com consequente desregulação das vias de controle e planejamento da motricidade.3

Além das manifestações clínicas motoras, compreendidas por bradicinesia, tremor de repouso, rigidez e instabilidade postural, diversos sintomas

nao-motores tem sido associados a DP, tais como anosmia, distúrbios do sono, dor, disfunção autonômica e alterações cognitivas e psiquiátricas.4

Estudos demonstram que indivíduos com DP apresentam níveis reduzidos de dopamina na retina5 e diminuição da espessura da camada de fibras

nervosas da retina,6 com progressiva disfunção visual.7 Assim, é importante investigar as medicações utilizadas no tratamento da DP que impactam

na progressão das lesões retinianas.

Dentre as drogas utilizadas no manejo do paciente com DP, destacam-se a levodopa, os agonistas

Endereço: Avenida Marechal Campos, 1355

Bairro: Santos Dumont

UF: ES

Município: VITORIA

CEP: 29.043-900

Telefone: (27)3335-7326

E-mail: cephucam@gmail.com

UFES - HOSPITAL
UNIVERSITÁRIO CASSIANO
ANTÔNIO DE MORAES DA



Continuação do Parecer: 2.083.765

dopaminérgicos, os inibidores da catecol ometiltransferase, os inibidores da monoamina oxidase B (ex. selegilina e rasagilina) e a amantadina.⁴ Contudo, pouco se sabe sobre os efeitos

dessas medicações na progressão das alterações retinianas. Além de inibirem o metabolismo e aumentarem a síntese de dopamina, os inibidores da monoamina oxidase B (MAO-B) são descritos como tendo importante função neuroprotetora.⁸ O presente estudo pretende avaliar as alterações retinianas associadas à DP, avaliar os efeitos do uso da selegilina e da rasagilina na retina de pacientes com esta doença e comparar os efeitos das duas drogas.

Será realizado um estudo observacional, com seguimento por 6 meses com avaliação Neurológica, Oftalmológica e realização de tomografia de coerência óptica de disco óptico e de mácula de pacientes com DP e do grupo controle. Os pacientes com DP serão divididos em grupos de acordo com a terapia medicamentosa em uso (sem tratamento, em uso de levodopa, em uso de levodopa associado à selegilina e em uso de levodopa associado à rasagilina). Espera-se observar uma redução progressiva na camada de fibras nervosas e da espessura macular dos pacientes com DP, com menor taxa de progressão nos pacientes em uso da levodopa e ainda menor nos pacientes em uso da terapia combinada de levodopa com os inibidores da monoamina oxidase B, sem diferença entre a selegilina e a rasagilina.

Objetivo da Pesquisa:

Os objetivos principais deste estudo são: investigar as características estruturais maculares e quantificar a espessura da camada de fibras nervosas da retina de pacientes com doença de Parkinson; avaliar os efeitos da selegilina e da rasagilina na progressão das lesões retinianas associadas à doença de Parkinson.

Avaliação dos Riscos e Benefícios:

Por se tratar de um estudo observacional prospectivo, com frequente avaliação médica neurológica e oftalmológica, considera-se mínimo os riscos aos quais os pacientes serão submetidos. São eles:

- Possibilidade de constrangimento por motivo de inibição e/ou timidez ao responder às perguntas de rotina dos examinadores médicos. No entanto, será esclarecido que todo o processo é voluntário, que será garantido o sigilo e mantido o anonimato, e que eles podem responder

Endereço: Avenida Marechal Campos, 1355
Bairro: Santos Dumont **CEP:** 29.043-900
UF: ES **Município:** VITORIA
Telefone: (27)3335-7326 **E-mail:** cephucam@gmail.com

UFES - HOSPITAL
UNIVERSITÁRIO CASSIANO
ANTÔNIO DE MORAES DA



Continuação do Parecer: 2.083.765

apenas às perguntas que quiserem ou se afastar da pesquisa sem prejuízos.

Benefícios

- Realização gratuita de exames e assistência médica, com acesso praticamente irrestrito aos serviços da Neurologia e Oftalmologia.
- Apesar de se tratar de um estudo observacional, por estarem sendo acompanhados por uma equipe médica, os voluntários poderão ter seus tratamentos modificados caso seja observada a necessidade de alguma intervenção médica.
- Em caso de ser observado que uma medicação possui efeito protetor à retina estatisticamente mais significante que outra, o paciente em uso de uma medicação com menor efeito protetor poderá receber uma nova proposta terapêutica, após conclusão do estudo.
- Em caso de comprovação do benefício para a saúde ocular das medicações utilizadas no tratamento da doença de Parkinson, futuros pacientes (com doença de Parkinson e, até certo ponto, com outras doenças com acometimento ocular) poderão se beneficiar com o uso de drogas que tenham um efeito benéfico à retina.

Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:

A pesquisa é relevante pelo fato de auxiliar das pesquisas sobre a capacidade visual em portadores de Doença de Parkinson e suas implicações e a melhor forma de lidar

Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:

Foram apresentados folha de rosto, termo de anuência da entidade coparticipante, orçamento e currículo, Novo projeto detalhado, TCLE todos segundo o previsto na Resolução 466/2012.

Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:

Não existe pendências.

Considerações Finais a critério do CEP:

Este parecer foi elaborado baseado nos documentos abaixo relacionados:

Tipo Documento	Arquivo	Postagem	Autor	Situação
Recurso do Parecer	recurso.pdf	28/04/2017		Aceito

Endereço: Avenida Marechal Campos, 1355
Bairro: Santos Dumont **CEP:** 29.043-900
UF: ES **Município:** VITORIA
Telefone: (27)3335-7326 **E-mail:** cepucam@gmail.com

UFES - HOSPITAL
UNIVERSITÁRIO CASSIANO
ANTÔNIO DE MORAES DA



Continuação do Parecer: 2.083.765

Recurso do Parecer	recurso.pdf	18:01:12		Aceito
Projeto Detalhado / Brochura Investigador	Projetomodificado.doc	28/04/2017 18:00:46	Luiz Guilherme Marchesi Mello	Aceito
Recurso Anexado pelo Pesquisador	Recurso.docx	28/04/2017 18:00:01	Luiz Guilherme Marchesi Mello	Aceito
Informações Básicas do Projeto	PB_INFORMAÇÕES_BÁSICAS_DO_P ROJETO_874319.pdf	10/04/2017 02:54:38		Aceito
Projeto Detalhado / Brochura Investigador	Projeto.doc	10/04/2017 02:52:32	Luiz Guilherme Marchesi Mello	Aceito
Folha de Rosto	1561.pdf	10/03/2017 14:26:47	Luiz Guilherme Marchesi Mello	Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	TCLE.docx	09/03/2017 22:22:07	Luiz Guilherme Marchesi Mello	Aceito

Situação do Parecer:

Aprovado

Necessita Apreciação da CONEP:

Não

VITORIA, 26 de Maio de 2017

Assinado por:
Claudio Piras
(Coordenador)

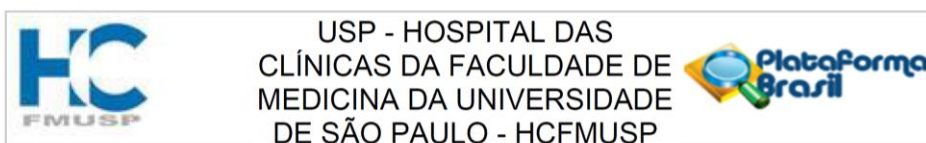
Endereço: Avenida Marechal Campos, 1355
Bairro: Santos Dumont
UF: ES **Município:** VITORIA

CEP: 29.043-900

Telefone: (27)3335-7326

E-mail: cephucam@gmail.com

Anexo B – Parecer consubstanciado do CEP do estudo 2



PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

DADOS DO PROJETO DE PESQUISA

Título da Pesquisa: Avaliação morfológica e funcional da retina de pacientes com doença de Parkinson usando a tomografia de coerência óptica e o eletrorretinograma

Pesquisador: MÁRIO LUIZ RIBEIRO MONTEIRO

Área Temática:

Versão: 1

CAAE: 18243119.9.0000.0068

Instituição Proponente: Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da USP

Patrocinador Principal: Financiamento Próprio

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 3.520.933

Apresentação do Projeto:

A apresentação do projeto é clara. A justificativa do estudo é bem delineada.

Objetivo da Pesquisa:

Objetivos adequados e em linha com as perguntas e métodos propostos.

Avaliação dos Riscos e Benefícios:

Estudo de avaliações neurológicas e oftalmológicas a serem realizadas por ambulatório especializado. Os riscos podem ser considerados mínimos, tal como assinalado pelos autores. Os benefícios imediatos incluem a realização da avaliação oftalmológica completa.

Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:

Pesquisa fundamentada em hipótese, com métodos adequados e sem ressalvas de cunho ético.

Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:

Adequados.

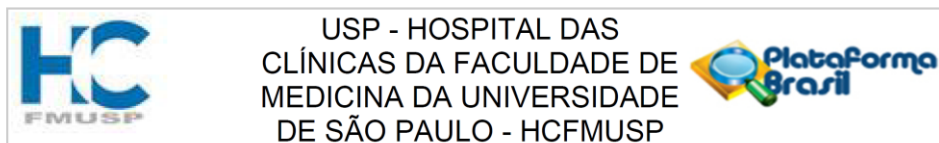
Recomendações:

Sem recomendações ou ressalvas.

Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:

Projeto atende aos preceitos éticos. Não há inadequações.

Endereço: Rua Ovídio Pires de Campos, 225 5º andar
Bairro: Cerqueira Cesar **CEP:** 05.403-010
UF: SP **Município:** SAO PAULO
Telefone: (11)2661-7585 **Fax:** (11)2661-7585 **E-mail:** cappesq.adm@hc.fm.usp.br



Continuação do Parecer: 3.520.933

Considerações Finais a critério do CEP:

Em conformidade com a Resolução CNS nº 466/12 – cabe ao pesquisador: a) desenvolver o projeto conforme delineado; b) elaborar e apresentar relatórios parciais e final; c) apresentar dados solicitados pelo CEP, a qualquer momento; d) manter em arquivo sob sua guarda, por 5 anos da pesquisa, contendo fichas individuais e todos os demais documentos recomendados pelo CEP; e) encaminhar os resultados para publicação, com os devidos créditos aos pesquisadores associados e ao pessoal técnico participante do projeto; f) justificar perante ao CEP interrupção do projeto ou a não publicação dos resultados.

Este parecer foi elaborado baseado nos documentos abaixo relacionados:

Tipo Documento	Arquivo	Postagem	Autor	Situação
Informações Básicas do Projeto	PB_INFORMAÇÕES_BÁSICAS_DO_PROJETO_1387207.pdf	31/07/2019 15:40:33		Aceito
Folha de Rosto	FR_MARIO_LUIZ_RIBEIRO_MONTEIRO.pdf	31/07/2019 15:40:13	MÁRIO LUIZ RIBEIRO	Aceito
Outros	Oficio_184_Aprovacao_Depto Oftalmologia.pdf	29/07/2019 10:18:29	MÁRIO LUIZ RIBEIRO	Aceito
Outros	ANUENCIA_NEUROLOGIA_HCFMUSP.pdf	19/07/2019 08:58:05	MÁRIO LUIZ RIBEIRO	Aceito
Orçamento	DECLARACAO_CUSTOS.pdf	19/07/2019 08:57:29	MÁRIO LUIZ RIBEIRO	Aceito
Cronograma	CRONOGRAMA.docx	19/07/2019 08:56:26	MÁRIO LUIZ RIBEIRO	Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	TCLE_Protocolo_Parkinson_OCTA_versao_21_06_2019.docx	19/07/2019 08:56:07	MÁRIO LUIZ RIBEIRO MONTEIRO	Aceito
Projeto Detalhado / Brochura Investigador	Protocolo_Parkinson_OCTA_versao_25_06_2019.docx	19/07/2019 08:55:48	MÁRIO LUIZ RIBEIRO MONTEIRO	Aceito

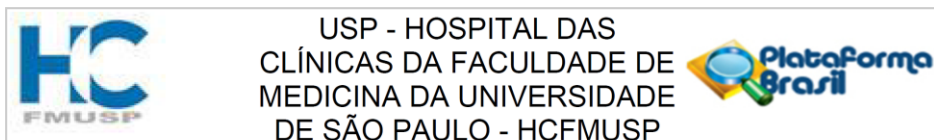
Situação do Parecer:

Aprovado

Necessita Apreciação da CONEP:

Não

Endereço: Rua Ovídio Pires de Campos, 225 5º andar
Bairro: Cerqueira Cesar **CEP:** 05.403-010
UF: SP **Município:** SAO PAULO
Telefone: (11)2661-7585 **Fax:** (11)2661-7585 **E-mail:** cappesq.adm@hc.fm.usp.br



Continuação do Parecer: 3.520.933

SAO PAULO, 21 de Agosto de 2019

Assinado por:
ALFREDO JOSE MANSUR
(Coordenador(a))

Endereço: Rua Ovídio Pires de Campos, 225 5º andar
Bairro: Cerqueira Cesar **CEP:** 05.403-010
UF: SP **Município:** SAO PAULO
Telefone: (11)2661-7585 **Fax:** (11)2661-7585 **E-mail:** cappesq.adm@hc.fm.usp.br

10 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Monteiro ML. The Retinal Nerve Fiber Layer: How William F. Hoyt Opened Our Eyes to It. *Journal of Neuro-ophthalmology*. 2020;40:S35-S42.
2. Pringsheim T, Jette N, Frolkis A, Steeves TD. The prevalence of Parkinson's disease: a systematic review and meta-analysis. *Mov Disord*. 2014;29(13):1583-90.
3. Collaborators GBDPsD. Global, regional, and national burden of Parkinson's disease, 1990-2016: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2016. *Lancet Neurol*. 2018;17(11):939-53.
4. Schrag A, Jahanshahi M, Quinn N. How does Parkinson's disease affect quality of life? A comparison with quality of life in the general population. *Mov Disord*. 2000;15(6):1112-8.
5. Kowal SL, Dall TM, Chakrabarti R, Storm MV, Jain A. The current and projected economic burden of Parkinson's disease in the United States. *Mov Disord*. 2013;28(3):311-8.
6. Johnson SJ, Diener MD, Kaltenboeck A, Birnbaum HG, Siderowf AD. An economic model of Parkinson's disease: implications for slowing progression in the United States. *Mov Disord*. 2013;28(3):319-26.
7. Scheife RT, Schumock GT, Burstein A, Gottwald MD, Luer MS. Impact of Parkinson's disease and its pharmacologic treatment on quality of life and economic outcomes. *Am J Health Syst Pharm*. 2000;57(10):953-62.
8. Lotharius J, Brundin P. Pathogenesis of Parkinson's disease: dopamine, vesicles and alpha-synuclein. *Nat Rev Neurosci*. 2002;3(12):932-42.
9. Goedert M, Spillantini MG, Del Tredici K, Braak H. 100 years of Lewy pathology. *Nat Rev Neurol*. 2013;9(1):13-24.
10. Shahmoradian SH, Lewis AJ, Genoud C, Hench J, Moors TE, Navarro PP, et al. Lewy pathology in Parkinson's disease consists of crowded organelles and lipid membranes. *Nat Neurosci*. 2019;22(7):1099-109.

11. Bartels AL, Leenders KL. Parkinson's disease: the syndrome, the pathogenesis and pathophysiology. *Cortex*. 2009;45(8):915-21.
12. Braak H, Del Tredici K, Rub U, de Vos RA, Jansen Steur EN, Braak E. Staging of brain pathology related to sporadic Parkinson's disease. *Neurobiol Aging*. 2003;24(2):197-211.
13. Braak H, de Vos RA, Bohl J, Del Tredici K. Gastric alpha-synuclein immunoreactive inclusions in Meissner's and Auerbach's plexuses in cases staged for Parkinson's disease-related brain pathology. *Neurosci Lett*. 2006;396(1):67-72.
14. Beach TG, Adler CH, Sue LI, Vedders L, Lue L, White III CL, et al. Multi-organ distribution of phosphorylated alpha-synuclein histopathology in subjects with Lewy body disorders. *Acta Neuropathol*. 2010;119(6):689-702.
15. Desplats P, Lee HJ, Bae EJ, Patrick C, Rockenstein E, Crews L, et al. Inclusion formation and neuronal cell death through neuron-to-neuron transmission of alpha-synuclein. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2009;106(31):13010-5.
16. Angot E, Steiner JA, Lema Tome CM, Ekstrom P, Mattsson B, Bjorklund A, et al. Alpha-synuclein cell-to-cell transfer and seeding in grafted dopaminergic neurons in vivo. *PLoS One*. 2012;7(6):e39465.
17. Eisbach SE, Outeiro TF. Alpha-synuclein and intracellular trafficking: impact on the spreading of Parkinson's disease pathology. *J Mol Med (Berl)*. 2013;91(6):693-703.
18. Conditions NCCfC, editor Parkinson's disease: national clinical guideline for diagnosis and management in primary and secondary care 2006: Royal College of Physicians.
19. Harnois C, Di Paolo T. Decreased dopamine in the retinas of patients with Parkinson's disease. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 1990;31(11):2473-5.

20. Archibald NK, Clarke MP, Mosimann UP, Burn DJ. The retina in Parkinson's disease. *Brain*. 2009;132(Pt 5):1128-45.
21. La Morgia C, Ross-Cisneros FN, Sadun AA, Carelli V. Retinal Ganglion Cells and Circadian Rhythms in Alzheimer's Disease, Parkinson's Disease, and Beyond. *Front Neurol*. 2017;8:162.
22. Chrysou A, Jansonius NM, van Laar T. Retinal layers in Parkinson's disease: A meta-analysis of spectral-domain optical coherence tomography studies. *Parkinsonism Relat Disord*. 2019;64:40-9.
23. Ortuno-Lizaran I, Beach TG, Serrano GE, Walker DG, Adler CH, Cuenca N. Phosphorylated alpha-synuclein in the retina is a biomarker of Parkinson's disease pathology severity. *Mov Disord*. 2018;33(8):1315-24.
24. Bodis-Wollner I, Kozlowski PB, Glazman S, Miri S. alpha-synuclein in the inner retina in parkinson disease. *Ann Neurol*. 2014;75(6):964-6.
25. Beach TG, Carew J, Serrano G, Adler CH, Shill HA, Sue LI, et al. Phosphorylated alpha-synuclein-immunoreactive retinal neuronal elements in Parkinson's disease subjects. *Neurosci Lett*. 2014;571:34-8.
26. Veys L, Vandenabeele M, Ortuno-Lizaran I, Baekelandt V, Cuenca N, Moons L, et al. Retinal alpha-synuclein deposits in Parkinson's disease patients and animal models. *Acta Neuropathol*. 2019;137(3):379-95.
27. Braak H, Rüb U, Gai W, Del Tredici K. Idiopathic Parkinson's disease: possible routes by which vulnerable neuronal types may be subject to neuroinvasion by an unknown pathogen. *Journal of neural transmission*. 2003;110(5):517-36.
28. Pflug R, Nelson R, Huber S, Reitsamer H. Modulation of horizontal cell function by dopaminergic ligands in mammalian retina. *Vision Res*. 2008;48(12):1383-90.
29. Nguyen-Legros J, Versaux-Botteri C, Vernier P. Dopamine receptor localization in the mammalian retina. *Mol Neurobiol*. 1999;19(3):181-204.

30. Witkovsky P. Dopamine and retinal function. *Doc Ophthalmol.* 2004;108(1):17-40.
31. Bulens C, Meerwaldt JD, Van der Wildt GJ, Van Deursen JB. Effect of levodopa treatment on contrast sensitivity in Parkinson's disease. *Ann Neurol.* 1987;22(3):365-9.
32. Hutton JT, Morris JL, Elias JW. Levodopa improves spatial contrast sensitivity in Parkinson's disease. *Arch Neurol.* 1993;50(7):721-4.
33. Jaffe MJ, Bruno G, Campbell G, Lavine RA, Karson CN, Weinberger DR. Ganzfeld electroretinographic findings in parkinsonism: untreated patients and the effect of levodopa intravenous infusion. *J Neurol Neurosurg Psychiatry.* 1987;50(7):847-52.
34. Sen A, Tugcu B, Coskun C, Ekinci C, Nacaroglu SA. Effects of levodopa on retina in Parkinson disease. *Eur J Ophthalmol.* 2014;24(1):114-9.
35. Marmor MF. Contrast sensitivity versus visual acuity in retinal disease. *Br J Ophthalmol.* 1986;70(7):553-9.
36. Sakata LM, Deleon-Ortega J, Sakata V, Girkin CA. Optical coherence tomography of the retina and optic nerve - a review. *Clin Exp Ophthalmol.* 2009;37(1):90-9.
37. Schneider M, Muller HP, Lauda F, Tumani H, Ludolph AC, Kassubek J, et al. Retinal single-layer analysis in Parkinsonian syndromes: an optical coherence tomography study. *J Neural Transm (Vienna).* 2014;121(1):41-7.
38. Unlu M, Gulmez Sevim D, Gultekin M, Karaca C. Correlations among multifocal electroretinography and optical coherence tomography findings in patients with Parkinson's disease. *Neurol Sci.* 2018;39(3):533-41.
39. Hajee ME, March WF, Lazzaro DR, Wolintz AH, Shrier EM, Glazman S, et al. Inner retinal layer thinning in Parkinson disease. *Arch Ophthalmol.* 2009;127(6):737-41.

40. Chauhan BC, Burgoyne CF. From clinical examination of the optic disc to clinical assessment of the optic nerve head: a paradigm change. *Am J Ophthalmol.* 2013;156(2):218-27 e2.
41. Burgoyne C. The morphological difference between glaucoma and other optic neuropathies. *J Neuroophthalmol.* 2015;35 Suppl 1(0 1):S8-S21.
42. Adam CR, Shrier E, Ding Y, Glazman S, Bodis-Wollner I. Correlation of inner retinal thickness evaluated by spectral-domain optical coherence tomography and contrast sensitivity in Parkinson disease. *J Neuroophthalmol.* 2013;33(2):137-42.
43. Hasanov S, Demirkilinc Biler E, Acarer A, Akkin C, Colakoglu Z, Uretmen O. Functional and morphological assessment of ocular structures and follow-up of patients with early-stage Parkinson's disease. *Int Ophthalmol.* 2019;39(6):1255-62.
44. de Carlo TE, Romano A, Waheed NK, Duker JS. A review of optical coherence tomography angiography (OCTA). *Int J Retina Vitreous.* 2015;1:5.
45. Kwamong WR, Ye H, Peng C, Zhuang X, Wang J, Shen M, et al. Retinal Microvascular Impairment in the Early Stages of Parkinson's Disease. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 2018;59(10):4115-22.
46. Shi C, Chen Y, Kwamong WR, Tong Q, Wu S, Zhou Y, et al. Characterization by Fractal Dimension Analysis of the Retinal Capillary Network in Parkinson Disease. *Retina.* 2020;40(8):1483-91.
47. Rascuna C, Russo A, Terravecchia C, Castellino N, Avitabile T, Bonfiglio V, et al. Retinal Thickness and Microvascular Pattern in Early Parkinson's Disease. *Front Neurol.* 2020;11:533375.
48. Zou J, Liu K, Li F, Xu Y, Shen L, Xu H. Combination of optical coherence tomography (OCT) and OCT angiography increases diagnostic efficacy of Parkinson's disease. *Quant Imaging Med Surg.* 2020;10(10):1930-9.

49. Robbins CB, Thompson AC, Bhullar PK, Koo HY, Agrawal R, Soundararajan S, et al. Characterization of Retinal Microvascular and Choroidal Structural Changes in Parkinson Disease. *JAMA Ophthalmol.* 2021;139(2):182-8.
50. Robbins CB, Grewal DS, Thompson AC, Soundararajan S, Yoon SP, Polascik BW, et al. Identifying peripapillary radial capillary plexus alterations in Parkinson's disease using optical coherence tomography angiography. *Ophthalmology Retina.* 2021.
51. Garcia-Martin E, Pablo LE, Bambo MP, Alarcia R, Polo V, Larrosa JM, et al. Comparison of peripapillary choroidal thickness between healthy subjects and patients with Parkinson's disease. *PLoS One.* 2017;12(5):e0177163.
52. Satue M, Obis J, Alarcia R, Orduna E, Rodrigo MJ, Vilades E, et al. Retinal and Choroidal Changes in Patients with Parkinson's Disease Detected by Swept-Source Optical Coherence Tomography. *Curr Eye Res.* 2018;43(1):109-15.
53. Eraslan M, Cerman E, Yildiz Balci S, Celiker H, Sahin O, Temel A, et al. The choroid and lamina cribrosa is affected in patients with Parkinson's disease: enhanced depth imaging optical coherence tomography study. *Acta ophthalmologica.* 2016;94(1):e68-e75.
54. Moschos MM, Chatziralli IP. Evaluation of Choroidal and Retinal Thickness Changes in Parkinson's Disease Using Spectral Domain Optical Coherence Tomography. *Semin Ophthalmol.* 2018;33(4):494-7.
55. Kamata Y, Hara N, Satou T, Niida T, Mukuno K. Investigation of the pathophysiology of the retina and choroid in Parkinson's disease by optical coherence tomography. *Int Ophthalmol.* 2022;42(5):1437-45.
56. Zhang Y, Yang L, Gao Y, Zhang D, Tao Y, Xu H, et al. Choroid and choriocapillaris changes in early-stage Parkinson's disease: a swept-source optical coherence tomography angiography-based cross-sectional study. *Alzheimers Res Ther.* 2022;14(1):116.

57. Brown GL, Camacci ML, Kim SD, Grillo S, Nguyen JV, Brown DA, et al. Choroidal Thickness Correlates with Clinical and Imaging Metrics of Parkinson's Disease: A Pilot Study. *J Parkinsons Dis.* 2021;11(4):1857-68.
58. Gottlob I, Schneider E, Heider W, Skrandies W. Alteration of visual evoked potentials and electroretinograms in Parkinson's disease. *Electroencephalogr Clin Neurophysiol.* 1987;66(4):349-57.
59. Machida S. Clinical applications of the photopic negative response to optic nerve and retinal diseases. *J Ophthalmol.* 2012;2012:397178.
60. Colotto A, Falsini B, Salgarello T, Iarossi G, Galan ME, Scullica L. Photopic negative response of the human ERG: losses associated with glaucomatous damage. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 2000;41(8):2205-11.
61. Viswanathan S, Frishman LJ, Robson JG, Walters JW. The photopic negative response of the flash electroretinogram in primary open angle glaucoma. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 2001;42(2):514-22.
62. Machida S, Gotoh Y, Tanaka M, Tazawa Y. Predominant loss of the photopic negative response in central retinal artery occlusion. *Am J Ophthalmol.* 2004;137(5):938-40.
63. Gotoh Y, Machida S, Tazawa Y. Selective loss of the photopic negative response in patients with optic nerve atrophy. *Arch Ophthalmol.* 2004;122(3):341-6.
64. Rangaswamy NV, Frishman LJ, Dorotheo EU, Schiffman JS, Bahrani HM, Tang RA. Photopic ERGs in patients with optic neuropathies: comparison with primate ERGs after pharmacologic blockade of inner retina. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 2004;45(10):3827-37.
65. Kizawa J, Machida S, Kobayashi T, Gotoh Y, Kurosaka D. Changes of oscillatory potentials and photopic negative response in patients with early diabetic retinopathy. *Jpn J Ophthalmol.* 2006;50(4):367-73.

66. Chen H, Wu D, Huang S, Yan H. The photopic negative response of the flash electroretinogram in retinal vein occlusion. *Doc Ophthalmol.* 2006;113(1):53-9.
67. Wang J, Cheng H, Hu YS, Tang RA, Frishman LJ. The photopic negative response of the flash electroretinogram in multiple sclerosis. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 2012;53(3):1315-23.
68. Abed E, Placidi G, Campagna F, Federici M, Minnella A, Guerri G, et al. Early impairment of the full-field photopic negative response in patients with Stargardt disease and pathogenic variants of the ABCA4 gene. *Clin Exp Ophthalmol.* 2018;46(5):519-30.
69. Yavas GF, Yilmaz O, Kusbeci T, Ozturk F. The effect of levodopa and dopamine agonists on optic nerve head in Parkinson disease. *Eur J Ophthalmol.* 2007;17(1):812-6.
70. Lee J-Y, Ahn J, Kim TW, Jeon BS. Optical coherence tomography in Parkinson's disease: is the retina a biomarker? *Journal of Parkinson's disease.* 2014;4(2):197-204.
71. Louis ED, Marder K, Cote L, Tang M, Mayeux R. Mortality from Parkinson disease. *Arch Neurol.* 1997;54(3):260-4.
72. Yang W, Hamilton JL, Kopil C, Beck JC, Tanner CM, Albin RL, et al. Current and projected future economic burden of Parkinson's disease in the U.S. *NPJ Parkinsons Dis.* 2020;6:15.
73. Bovolenta TM, de Azevedo Silva SMC, Saba RA, Borges V, Ferraz HB, Felicio AC. Average annual cost of Parkinson's disease in Sao Paulo, Brazil, with a focus on disease-related motor symptoms. *Clin Interv Aging.* 2017;12:2095-108.
74. Parkinson J. An essay on the shaking palsy. 1817. *J Neuropsychiatry Clin Neurosci.* 2002;14(2):223-36; discussion 2.

75. Gelb DJ, Oliver E, Gilman S. Diagnostic criteria for Parkinson disease. *Arch Neurol*. 1999;56(1):33-9.
76. Jankovic J. Parkinson's disease: clinical features and diagnosis. *J Neurol Neurosurg Psychiatry*. 2008;79(4):368-76.
77. Jiang W, Ju C, Jiang H, Zhang D. Dairy foods intake and risk of Parkinson's disease: a dose-response meta-analysis of prospective cohort studies. *Eur J Epidemiol*. 2014;29(9):613-9.
78. Callaghan RC, Cunningham JK, Sajeev G, Kish SJ. Incidence of Parkinson's disease among hospital patients with methamphetamine-use disorders. *Movement Disorders*. 2010;25(14):2333-9.
79. Curtin K, Fleckenstein AE, Robison RJ, Crookston MJ, Smith KR, Hanson GR. Methamphetamine/amphetamine abuse and risk of Parkinson's disease in Utah: a population-based assessment. *Drug Alcohol Depend*. 2015;146:30-8.
80. Tanner CM, Kamel F, Ross GW, Hoppin JA, Goldman SM, Korell M, et al. Rotenone, paraquat, and Parkinson's disease. *Environ Health Perspect*. 2011;119(6):866-72.
81. Fang X, Han D, Cheng Q, Zhang P, Zhao C, Min J, et al. Association of Levels of Physical Activity With Risk of Parkinson Disease: A Systematic Review and Meta-analysis. *JAMA Netw Open*. 2018;1(5):e182421.
82. Hernan MA, Takkouche B, Caamano-Isorna F, Gestal-Otero JJ. A meta-analysis of coffee drinking, cigarette smoking, and the risk of Parkinson's disease. *Ann Neurol*. 2002;52(3):276-84.
83. Ascherio A, Zhang SM, Hernan MA, Kawachi I, Colditz GA, Speizer FE, et al. Prospective study of caffeine consumption and risk of Parkinson's disease in men and women. *Ann Neurol*. 2001;50(1):56-63.
84. Li FJ, Ji HF, Shen L. A meta-analysis of tea drinking and risk of Parkinson's disease. *ScientificWorldJournal*. 2012;2012:923464.

85. Qi H, Li S. Dose-response meta-analysis on coffee, tea and caffeine consumption with risk of Parkinson's disease. *Geriatr Gerontol Int.* 2014;14(2):430-9.
86. Song YJ, Li SR, Li XW, Chen X, Wei ZX, Liu QS, et al. The Effect of Estrogen Replacement Therapy on Alzheimer's Disease and Parkinson's Disease in Postmenopausal Women: A Meta-Analysis. *Front Neurosci.* 2020;14:157.
87. Gudala K, Kanukula R, Bansal D. Reduced Risk of Parkinson's Disease in Users of Calcium Channel Blockers: A Meta-Analysis. *Int J Chronic Dis.* 2015;2015:697404.
88. Weisskopf M, O'reilly E, Chen H, Schwarzschild M, Ascherio A. Plasma urate and risk of Parkinson's disease. *American journal of epidemiology.* 2007;166(5):561-7.
89. Liu R, Gao X, Lu Y, Chen H. Meta-analysis of the relationship between Parkinson disease and melanoma. *Neurology.* 2011;76(23):2002-9.
90. Rugbjerg K, Ritz B, Korbo L, Martinussen N, Olsen JH. Risk of Parkinson's disease after hospital contact for head injury: population based case-control study. *BMJ.* 2008;337:a2494.
91. Shen X, Yang H, Wu Y, Zhang D, Jiang H. Meta-analysis: Association of Helicobacter pylori infection with Parkinson's diseases. *Helicobacter.* 2017;22(5).
92. Dardiotis E, Tsouris Z, Mentis A-FA, Siokas V, Michalopoulou A, Sokratous M, et al. H. pylori and Parkinson's disease: meta-analyses including clinical severity. *Clinical neurology and neurosurgery.* 2018;175:16-24.
93. Zhong R, Chen Q, Zhang X, Li M, Lin W. Helicobacter pylori infection is associated with a poor response to levodopa in patients with Parkinson's disease: a systematic review and meta-analysis. *Journal of Neurology.* 2021:1-9.

94. Wirdefeldt K, Adami HO, Cole P, Trichopoulos D, Mandel J. Epidemiology and etiology of Parkinson's disease: a review of the evidence. *Eur J Epidemiol*. 2011;26 Suppl 1:S1-58.
95. Forno LS. Neuropathology of Parkinson's Disease. *Journal of Neuropathology & Experimental Neurology*. 1996;55(3):259–72.
96. Srivastava G, Singh K, Tiwari MN, Singh MP. Proteomics in Parkinson's disease: current trends, translational snags and future possibilities. *Expert Rev Proteomics*. 2010;7(1):127-39.
97. Martinez A, Portero-Otin M, Pamplona R, Ferrer I. Protein targets of oxidative damage in human neurodegenerative diseases with abnormal protein aggregates. *Brain Pathol*. 2010;20(2):281-97.
98. Ferrer I, Martinez A, Blanco R, Dalfo E, Carmona M. Neuropathology of sporadic Parkinson disease before the appearance of parkinsonism: preclinical Parkinson disease. *J Neural Transm (Vienna)*. 2011;118(5):821-39.
99. Burre J, Sharma M, Sudhof TC. Cell Biology and Pathophysiology of alpha-Synuclein. *Cold Spring Harb Perspect Med*. 2018;8(3).
100. Braak H, Del Tredici K, Bratzke H, Hamm-Clement J, Sandmann-Keil D, Rub U. Staging of the intracerebral inclusion body pathology associated with idiopathic Parkinson's disease (preclinical and clinical stages). *J Neurol*. 2002;249 Suppl 3:III/1-5.
101. Burke RE, Dauer WT, Vonsattel JP. A critical evaluation of the Braak staging scheme for Parkinson's disease. *Ann Neurol*. 2008;64(5):485-91.
102. Halliday GM, Del Tredici K, Braak H. Critical appraisal of brain pathology staging related to presymptomatic and symptomatic cases of sporadic Parkinson's disease. *J Neural Transm Suppl*. 2006(70):99-103.
103. Jellinger KA. A critical reappraisal of current staging of Lewy-related pathology in human brain. *Acta Neuropathol*. 2008;116(1):1-16.

104. Parkkinen L, Pirttila T, Alafuzoff I. Applicability of current staging/categorization of alpha-synuclein pathology and their clinical relevance. *Acta Neuropathol.* 2008;115(4):399-407.
105. Jellinger KA. Is Braak staging valid for all types of Parkinson's disease? *Journal of Neural Transmission.* 2019;126(4):423-31.
106. Halliday G, McCann H, Shepherd C. Evaluation of the Braak hypothesis: how far can it explain the pathogenesis of Parkinson's disease? *Expert Rev Neurother.* 2012;12(6):673-86.
107. Fearnley JM, Lees AJ. Ageing and Parkinson's disease: substantia nigra regional selectivity. *Brain.* 1991;114 (Pt 5):2283-301.
108. Hawkes CH, Del Tredici K, Braak H. A timeline for Parkinson's disease. *Parkinsonism Relat Disord.* 2010;16(2):79-84.
109. Wolters EC, Braak H. Parkinson's disease: premotor clinico-pathological correlations. *Parkinson's Disease and Related Disorders.* 2006:309-19.
110. Chaudhuri KR, Schapira AH. Non-motor symptoms of Parkinson's disease: dopaminergic pathophysiology and treatment. *Lancet Neurol.* 2009;8(5):464-74.
111. Koller WC, Montgomery EB. Issues in the early diagnosis of Parkinson's disease. *Neurology.* 1997;49(1 Suppl 1):S10-25.
112. Williams DR, Litvan I. Parkinsonian syndromes. *Continuum (Minneapolis, Minn).* 2013;19(5 Movement Disorders):1189-212.
113. Gibb WR, Lees AJ. The relevance of the Lewy body to the pathogenesis of idiopathic Parkinson's disease. *J Neurol Neurosurg Psychiatry.* 1988;51(6):745-52.
114. Bloem BR, Okun MS, Klein C. Parkinson's disease. *Lancet.* 2021;397(10291):2284-303.

115. Baumann CR. Epidemiology, diagnosis and differential diagnosis in Parkinson's disease tremor. *Parkinsonism Relat Disord.* 2012;18 Suppl 1:S90-2.
116. Hughes AJ, Daniel SE, Ben-Shlomo Y, Lees AJ. The accuracy of diagnosis of parkinsonian syndromes in a specialist movement disorder service. *Brain.* 2002;125(Pt 4):861-70.
117. Rizzo G, Copetti M, Arcuti S, Martino D, Fontana A, Logroscino G. Accuracy of clinical diagnosis of Parkinson disease: A systematic review and meta-analysis. *Neurology.* 2016;86(6):566-76.
118. Hughes AJ, Daniel SE, Kilford L, Lees AJ. Accuracy of clinical diagnosis of idiopathic Parkinson's disease: a clinico-pathological study of 100 cases. *J Neurol Neurosurg Psychiatry.* 1992;55(3):181-4.
119. Poewe W, Seppi K, Tanner CM, Halliday GM, Brundin P, Volkmann J, et al. Parkinson disease. *Nat Rev Dis Primers.* 2017;3:17013.
120. Schapira AHV, Chaudhuri KR, Jenner P. Non-motor features of Parkinson disease. *Nat Rev Neurosci.* 2017;18(7):435-50.
121. Perissinotto MC, D'Ancona CA, Lucio A, Campos RM, Abreu A. Transcutaneous tibial nerve stimulation in the treatment of lower urinary tract symptoms and its impact on health-related quality of life in patients with Parkinson disease: a randomized controlled trial. *J Wound Ostomy Continence Nurs.* 2015;42(1):94-9.
122. Chaudhuri KR, Healy DG, Schapira AH. Non-motor symptoms of Parkinson's disease: diagnosis and management. *The Lancet Neurology.* 2006;5(3):235-45.
123. Chaudhuri KR, Odin P, Antonini A, Martinez-Martin P. Parkinson's disease: the non-motor issues. *Parkinsonism Relat Disord.* 2011;17(10):717-23.
124. Jellinger KA. Synuclein deposition and non-motor symptoms in Parkinson disease. *J Neurol Sci.* 2011;310(1-2):107-11.

125. Seppi K, Ray Chaudhuri K, Coelho M, Fox SH, Katzenschlager R, Perez Lloret S, et al. Update on treatments for nonmotor symptoms of Parkinson's disease-an evidence-based medicine review. *Mov Disord.* 2019;34(2):180-98.
126. Racette BA, Gokden MS, Tychemen LS, Perlmutter JS. Convergence insufficiency in idiopathic Parkinson's disease responsive to levodopa. *Strabismus.* 1999;7(3):169-74.
127. Armstrong RA. Oculo-Visual Dysfunction in Parkinson's Disease. *J Parkinsons Dis.* 2015;5(4):715-26.
128. Guo L, Normando EM, Shah PA, De Groef L, Cordeiro MF. Oculo-visual abnormalities in Parkinson's disease: Possible value as biomarkers. *Mov Disord.* 2018;33(9):1390-406.
129. Hipp G, Diederich NJ, Pieria V, Vaillant M. Primary vision and facial emotion recognition in early Parkinson's disease. *J Neurol Sci.* 2014;338(1-2):178-82.
130. Buttner T, Kuhn W, Muller T, Patzold T, Heidbrink K, Przuntek H. Distorted color discrimination in 'de novo' parkinsonian patients. *Neurology.* 1995;45(2):386-7.
131. Bodis-Wollner I, Marx MS, Mitra S, Bobak P, Mylin L, Yahr M. Visual dysfunction in Parkinson's disease. Loss in spatiotemporal contrast sensitivity. *Brain.* 1987;110 (Pt 6):1675-98.
132. Jones RD, Donaldson IM, Timmings PL. Impairment of high-contrast visual acuity in Parkinson's disease. *Mov Disord.* 1992;7(3):232-8.
133. Biousse V, Skibell BC, Watts RL, Loupe DN, Drews-Botsch C, Newman NJ. Ophthalmologic features of Parkinson's disease. *Neurology.* 2004;62(2):177-80.
134. Pagonabarraga J, Martinez-Horta S, Fernandez de Bobadilla R, Perez J, Ribosa-Nogue R, Marin J, et al. Minor hallucinations occur in drug-naive

Parkinson's disease patients, even from the premotor phase. *Mov Disord.* 2016;31(1):45-52.

135. Goetz CG, Vogel C, Tanner CM, Stebbins GT. Early dopaminergic drug-induced hallucinations in parkinsonian patients. *Neurology.* 1998;51(3):811-4.

136. Muller AJ, Shine JM, Halliday GM, Lewis SJ. Visual hallucinations in Parkinson's disease: theoretical models. *Movement Disorders.* 2014;29(13):1591-8.

137. Gibson JM, Pimlott R, Kennard C. Ocular motor and manual tracking in Parkinson's disease and the effect of treatment. *J Neurol Neurosurg Psychiatry.* 1987;50(7):853-60.

138. London A, Benhar I, Schwartz M. The retina as a window to the brain—from eye research to CNS disorders. *Nat Rev Neurol.* 2013;9(1):44-53.

139. Stell WK. The morphological organization of the vertebrate retina. *Physiology of photoreceptor organs: Springer; 1972.* p. 111-213.

140. Masland RH. The neuronal organization of the retina. *Neuron.* 2012;76(2):266-80.

141. Roy S, Field GD. Dopaminergic modulation of retinal processing from starlight to sunlight. *J Pharmacol Sci.* 2019;140(1):86-93.

142. Barbur J, Stockman A. Photopic, mesopic and scotopic vision and changes in visual performance. *Encyclopedia of the Eye.* 2010;3:323-31.

143. Doyle SE, McIvor WE, Menaker M. Circadian rhythmicity in dopamine content of mammalian retina: role of the photoreceptors. *J Neurochem.* 2002;83(1):211-9.

144. Hellmer CB, Bohl JM, Hall LM, Koehler CC, Ichinose T. Dopaminergic Modulation of Signal Processing in a Subset of Retinal Bipolar Cells. *Front Cell Neurosci.* 2020;14:253.

145. Seeman P, Van Tol HH. Dopamine receptor pharmacology. *Trends Pharmacol Sci.* 1994;15(7):264-70.
146. Twig G, Levy H, Perlman I. Color opponency in horizontal cells of the vertebrate retina. *Prog Retin Eye Res.* 2003;22(1):31-68.
147. Dowling JE. Retinal neuromodulation: the role of dopamine. *Vis Neurosci.* 1991;7(1-2):87-97.
148. Thoreson WB, Dacey DM. Diverse Cell Types, Circuits, and Mechanisms for Color Vision in the Vertebrate Retina. *Physiol Rev.* 2019;99(3):1527-73.
149. Masland RH. The fundamental plan of the retina. *Nat Neurosci.* 2001;4(9):877-86.
150. Burkhardt DA. Contrast processing by ON and OFF bipolar cells. *Vis Neurosci.* 2011;28(1):69-75.
151. Farshi P, Fyk-Kolodziej B, Krolewski DM, Walker PD, Ichinose T. Dopamine D1 receptor expression is bipolar cell type-specific in the mouse retina. *Journal of Comparative Neurology.* 2016;524(10):2059-79.
152. Awatramani GB, Slaughter MM. Origin of transient and sustained responses in ganglion cells of the retina. *J Neurosci.* 2000;20(18):7087-95.
153. Kolb H. Roles of amacrine cells. *Webvision: The organization of the retina and visual system [Internet].* 2007.
154. Dacey DM. The dopaminergic amacrine cell. *J Comp Neurol.* 1990;301(3):461-89.
155. Morgan IG, Boelen MK. A retinal dark-light switch: a review of the evidence. *Vis Neurosci.* 1996;13(3):399-409.
156. Wiechmann AF, Sherry DM. Role of melatonin and its receptors in the vertebrate retina. *Int Rev Cell Mol Biol.* 2013;300:211-42.

157. Hadjiconstantinou M, Krajnc D, Rossetti Z, Neff NH. Modulation of dopamine metabolism in the retina via dopamine D2 receptors. *Brain Res.* 1990;533(1):20-3.
158. Hu EH, Pan F, Volgyi B, Bloomfield SA. Light increases the gap junctional coupling of retinal ganglion cells. *J Physiol.* 2010;588(Pt 21):4145-63.
159. Bodis-Wollner I, Tzelepi A. The push-pull action of dopamine on spatial tuning of the monkey retina: the effects of dopaminergic deficiency and selective D1 and D2 receptor ligands on the pattern electroretinogram. *Vision Res.* 1998;38(10):1479-87.
160. Bringmann A, Pannicke T, Grosche J, Francke M, Wiedemann P, Skatchkov SN, et al. Muller cells in the healthy and diseased retina. *Prog Retin Eye Res.* 2006;25(4):397-424.
161. Biedermann B, Frohlich E, Grosche J, Wagner HJ, Reichenbach A. Mammalian Muller (glial) cells express functional D2 dopamine receptors. *Neuroreport.* 1995;6(4):609-12.
162. Wu HJ, Li XY, Qian WJ, Li Q, Wang SY, Ji M, et al. Dopamine D1 receptor-mediated upregulation of BKCa currents modifies Muller cell gliosis in a rat chronic ocular hypertension model. *Glia.* 2018;66(7):1507-19.
163. Ortuno-Lizaran I, Sanchez-Saez X, Lax P, Serrano GE, Beach TG, Adler CH, et al. Dopaminergic Retinal Cell Loss and Visual Dysfunction in Parkinson Disease. *Ann Neurol.* 2020;88(5):893-906.
164. Surguchov A, McMahan B, Masliah E, Surgucheva I. Synucleins in ocular tissues. *J Neurosci Res.* 2001;65(1):68-77.
165. Ho CY, Troncoso JC, Knox D, Stark W, Eberhart CG. Beta-Amyloid, Phospho-Tau and Alpha-Synuclein Deposits Similar to Those in the Brain Are Not Identified in the Eyes of Alzheimer's and Parkinson's Disease Patients. *Brain pathology.* 2014;24(1):25-32.

166. Lin TP, Rigby H, Adler JS, Hentz JG, Balcer LJ, Galetta SL, et al. Abnormal visual contrast acuity in Parkinson's disease. *J Parkinsons Dis.* 2015;5(1):125-30.
167. Uc EY, Rizzo M, Anderson SW, Qian S, Rodnitzky RL, Dawson JD. Visual dysfunction in Parkinson disease without dementia. *Neurology.* 2005;65(12):1907-13.
168. Matsui H, Udaka F, Tamura A, Oda M, Kubori T, Nishinaka K, et al. Impaired visual acuity as a risk factor for visual hallucinations in Parkinson's disease. *Journal of geriatric psychiatry and neurology.* 2006;19(1):36-40.
169. Regan D, Maxner C. Orientation-selective visual loss in patients with Parkinson's disease. *Brain.* 1987;110 (Pt 2):415-32.
170. Kaur M, Saxena R, Singh D, Behari M, Sharma P, Menon V. Correlation Between Structural and Functional Retinal Changes in Parkinson Disease. *J Neuroophthalmol.* 2015;35(3):254-8.
171. Langheinrich T, Tebartz van Elst L, Lagreze WA, Bach M, Lucking CH, Greenlee MW. Visual contrast response functions in Parkinson's disease: evidence from electroretinograms, visually evoked potentials and psychophysics. *Clin Neurophysiol.* 2000;111(1):66-74.
172. Tagliati M, Bodis-Wollner I, Yahr MD. The pattern electroretinogram in Parkinson's disease reveals lack of retinal spatial tuning. *Electroencephalogr Clin Neurophysiol.* 1996;100(1):1-11.
173. Robson AG, Nilsson J, Li S, Jalali S, Fulton AB, Tormene AP, et al. ISCEV guide to visual electrodiagnostic procedures. *Doc Ophthalmol.* 2018;136(1):1-26.
174. Wachtmeister L. Oscillatory potentials in the retina: what do they reveal. *Prog Retin Eye Res.* 1998;17(4):485-521.
175. Nowacka B, Lubinski W, Honczarenko K, Potemkowski A, Safranow K. Bioelectrical function and structural assessment of the retina in patients with early stages of Parkinson's disease (PD). *Doc Ophthalmol.* 2015;131(2):95-104.

176. Nightingale S, Mitchell KW, Howe JW. Visual evoked cortical potentials and pattern electroretinograms in Parkinson's disease and control subjects. *J Neurol Neurosurg Psychiatry*. 1986;49(11):1280-7.
177. He S-b, Liu C-y, Chen L-d, Ye Z-n, Zhang Y-p, Tang W-g, et al. Meta-analysis of visual evoked potential and Parkinson's Disease. *Parkinson's Disease*. 2018;2018.
178. Ikeda H, Head GM, Ellis CJ. Electrophysiological signs of retinal dopamine deficiency in recently diagnosed Parkinson's disease and a follow up study. *Vision Res*. 1994;34(19):2629-38.
179. Gottlob I, Weghaupt H, Vass C, Auff E. Effect of levodopa on the human pattern electroretinogram and pattern visual evoked potentials. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol*. 1989;227(5):421-7.
180. Peppe A, Stanzione P, Pierelli F, Stefano E, Rizzo PA, Tagliati M, et al. Low contrast stimuli enhance PERG sensitivity to the visual dysfunction in Parkinson's disease. *Electroencephalogr Clin Neurophysiol*. 1992;82(6):453-7.
181. Peppe A, Stanzione P, Pierantozzi M, Semprini R, Bassi A, Santilli A, et al. Does pattern electroretinogram spatial tuning alteration in Parkinson's disease depend on motor disturbances or retinal dopaminergic loss? *Electroencephalography and clinical neurophysiology*. 1998;106(4):374-82.
182. Stanzione P, Traversa R, Pierantozzi M, Semprini R, Marciani MG, Bernardi G. An electrophysiological study of D2 dopaminergic actions in normal human retina: a tool in Parkinson's disease. *Neurosci Lett*. 1992;140(1):125-8.
183. Palmowski-Wolfe AM, Perez MT, Behnke S, Fuss G, Martziniak M, Ruprecht KW. Influence of dopamine deficiency in early Parkinson's disease on the slow stimulation multifocal-ERG. *Doc Ophthalmol*. 2006;112(3):209-15.
184. Moschos MM, Tagaris G, Markopoulos I, Margetis I, Tsapakis S, Kanakis M, et al. Morphologic changes and functional retinal impairment in patients with Parkinson disease without visual loss. *Eur J Ophthalmol*. 2011;21(1):24-9.

185. Huang J, Li Y, Xiao J, Zhang Q, Xu G, Wu G, et al. Combination of multifocal electroretinogram and spectral-domain OCT can increase diagnostic efficacy of Parkinson's disease. *Parkinson's Disease*. 2018;2018.
186. Economou SG, Stefanis CN. Changes of electrooculogram (EOG) in Parkinson's disease. *Acta Neurologica Scandinavica*. 1978;58(1):44-52.
187. Sartucci F, Orlandi G, Lucetti C, Bonuccelli U, Murri L, Orsini C, et al. Changes in pattern electroretinograms to equiluminant red-green and blue-yellow gratings in patients with early Parkinson's disease. *J Clin Neurophysiol*. 2003;20(5):375-81.
188. Sartucci F, Orlandi G, Bonuccelli U, Borghetti D, Murri L, Orsini C, et al. Chromatic pattern-reversal electroretinograms (ChPERGs) are spared in multiple system atrophy compared with Parkinson's disease. *Neurol Sci*. 2006;26(6):395-401.
189. Sartucci F, Porciatti V. Visual-evoked potentials to onset of chromatic red-green and blue-yellow gratings in Parkinson's disease never treated with L-dopa. *Journal of clinical neurophysiology: official publication of the American Electroencephalographic Society*. 2006;23(5):431.
190. Buttner T, Kuhn W, Muller T, Heinze T, Puhl C, Przuntek H. Chromatic and achromatic visual evoked potentials in Parkinson's disease. *Electroencephalogr Clin Neurophysiol*. 1996;100(5):443-7.
191. Barbato L, Rinalduzzi S, Laurenti M, Ruggieri S, Accornero N. Color VEPs in Parkinson's disease. *Electroencephalogr Clin Neurophysiol*. 1994;92(2):169-72.
192. Frishman L, Sustar M, Kremers J, McAnany JJ, Sarossy M, Tzekov R, et al. ISCEV extended protocol for the photopic negative response (PhNR) of the full-field electroretinogram. *Doc Ophthalmol*. 2018;136(3):207-11.

193. Morny EKA, Patel K, Votruba M, Binns AM, Margrain TH. The Relationship Between the Photopic Negative Response and Retinal Ganglion Cell Topography. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 2019;60(6):1879-87.
194. Marmoy OR, Viswanathan S. Clinical electrophysiology of the optic nerve and retinal ganglion cells. *Eye (Lond)*. 2021;35(9):2386-405.
195. Gupta S, Zivadinov R, Ramanathan M, Weinstock-Guttman B. Optical coherence tomography and neurodegeneration: are eyes the windows to the brain? *Expert Rev Neurother*. 2016;16(7):765-75.
196. Pellegrini M, Vagge A, Ferro Desideri LF, Bernabei F, Triolo G, Mastropasqua R, et al. Optical Coherence Tomography Angiography in Neurodegenerative Disorders. *J Clin Med*. 2020;9(6).
197. Yu JG, Feng YF, Xiang Y, Huang JH, Savini G, Parisi V, et al. Retinal nerve fiber layer thickness changes in Parkinson disease: a meta-analysis. *PLoS One*. 2014;9(1):e85718.
198. Huang L, Wang C, Wang W, Wang Y, Zhang R. The specific pattern of retinal nerve fiber layer thinning in Parkinson's disease: a systematic review and meta-analysis. *J Neurol*. 2020.
199. Zhou WC, Tao JX, Li J. Optical coherence tomography measurements as potential imaging biomarkers for Parkinson's disease: A systematic review and meta-analysis. *Eur J Neurol*. 2021;28(3):763-74.
200. Huang L, Zhang D, Ji J, Wang Y, Zhang R. Central retina changes in Parkinson's disease: a systematic review and meta-analysis. *J Neurol*. 2020.
201. Margolis R, Spaide RF. A pilot study of enhanced depth imaging optical coherence tomography of the choroid in normal eyes. *Am J Ophthalmol*. 2009;147(5):811-5.
202. Spaide RF, Klancnik JM, Jr., Cooney MJ. Retinal vascular layers imaged by fluorescein angiography and optical coherence tomography angiography. *JAMA Ophthalmol*. 2015;133(1):45-50.

203. Spaide RF, Koizumi H, Pozzoni MC. Enhanced depth imaging spectral-domain optical coherence tomography. *Am J Ophthalmol.* 2008;146(4):496-500.
204. Spaide RF, Fujimoto JG, Waheed NK, Sadda SR, Staurenghi G. Optical coherence tomography angiography. *Prog Retin Eye Res.* 2018;64:1-55.
205. Lauermann JL, Sochurek JAM, Plottner P, Alten F, Kasten M, Prasuhn J, et al. Applicability of optical coherence tomography angiography (OCTA) imaging in Parkinson's disease. *Sci Rep.* 2021;11(1):5520.
206. Lauermann JL, Treder M, Heiduschka P, Clemens CR, Eter N, Alten F. Impact of eye-tracking technology on OCT-angiography imaging quality in age-related macular degeneration. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol.* 2017;255(8):1535-42.
207. Woetzel AK, Lauermann JL, Kreitz K, Alnawaiseh M, Clemens CR, Eter N, et al. Optical coherence tomography angiography image quality assessment at varying retinal expertise levels. *Journal of current ophthalmology.* 2019;31(2):161-7.
208. Kashani AH, Asanad S, Chan JW, Singer MB, Zhang J, Sharifi M, et al. Past, present and future role of retinal imaging in neurodegenerative disease. *Prog Retin Eye Res.* 2021:100938.
209. Miri S, Shrier EM, Glazman S, Ding Y, Selesnick I, Kozlowski PB, et al. The avascular zone and neuronal remodeling of the fovea in Parkinson disease. *Ann Clin Transl Neurol.* 2015;2(2):196-201.
210. Kromer R, Buhmann C, Hidding U, Keseru M, Keseru D, Hassenstein A, et al. Evaluation of Retinal Vessel Morphology in Patients with Parkinson's Disease Using Optical Coherence Tomography. *PLoS One.* 2016;11(8):e0161136.
211. Sevim DG, Unlu M, Sonmez S, Gultekin M, Karaca C, Oner AO. Retinal vessel diameter obtained by optical coherence tomography is spared in Parkinson's disease. *International ophthalmology.* 2019;39(4):813-9.

212. Zhou M, Wu L, Hu Q, Wang C, Ye J, Chen T, et al. Visual Impairments Are Associated With Retinal Microvascular Density in Patients With Parkinson's Disease. *Front Neurosci.* 2021;15:718820.
213. Zhang Y, Zhang D, Gao Y, Yang L, Tao Y, Xu H, et al. Retinal Flow Density Changes in Early-stage Parkinson's Disease Investigated by Swept-Source Optical Coherence Tomography Angiography. *Curr Eye Res.* 2021:1-6.
214. Ranjbar M, Plottner P, Sochurek JAM, Lauermann JL, Alten F, Prasuhn J, et al. The impact of motion artifacts on quantitative optical coherence tomography angiography analysis in Parkinson's disease. *Parkinsonism Relat Disord.* 2022;95:57-8.
215. Xu B, Wang X, Guo J, Xu H, Tang B, Jiao B, et al. Retinal Microvascular Density Was Associated With the Clinical Progression of Parkinson's Disease. *Front Aging Neurosci.* 2022;14:818597.
216. Li Y, Wang X, Zhang Y, Zhang P, He C, Li R, et al. Retinal microvascular impairment in Parkinson's disease with cognitive dysfunction. *Parkinsonism Relat Disord.* 2022;98:27-31.
217. Murueta-Goyena A, Barrenechea M, Erramuzpe A, Teijeira-Portas S, Pengo M, Ayala U, et al. Foveal Remodeling of Retinal Microvasculature in Parkinson's Disease. *Frontiers in Neuroscience.* 2021;15.
218. Lin CW, Lai TT, Chen SJ, Lin CH. Elevated alpha-synuclein and NfL levels in tear fluids and decreased retinal microvascular densities in patients with Parkinson's disease. *Geroscience.* 2022;44(3):1551-62.
219. Emamzadeh FN, Surguchov A. Parkinson's disease: biomarkers, treatment, and risk factors. *Frontiers in neuroscience.* 2018;12:612.
220. Fox SH, Katzenschlager R, Lim SY, Barton B, de Bie RMA, Seppi K, et al. International Parkinson and movement disorder society evidence-based medicine review: Update on treatments for the motor symptoms of Parkinson's disease. *Mov Disord.* 2018;33(8):1248-66.

221. Schapira A. Progress in neuroprotection in Parkinson's disease. *European journal of neurology*. 2008;15:5-13.
222. Boll M-C, Alcaraz-Zubeldia M, Rios C. Medical management of Parkinson's disease: focus on neuroprotection. *Current neuropharmacology*. 2011;9(2):350-9.
223. Albrecht S, Buerger E. Potential neuroprotection mechanisms in PD: focus on dopamine agonist pramipexole. *Curr Med Res Opin*. 2009;25(12):2977-87.
224. Goetz CG, Tilley BC, Shaftman SR, Stebbins GT, Fahn S, Martinez-Martin P, et al. Movement Disorder Society-sponsored revision of the Unified Parkinson's Disease Rating Scale (MDS-UPDRS): scale presentation and clinimetric testing results. *Mov Disord*. 2008;23(15):2129-70.
225. Goetz CG, Poewe W, Rascol O, Sampaio C, Stebbins GT, Counsell C, et al. Movement Disorder Society Task Force report on the Hoehn and Yahr staging scale: status and recommendations. *Mov Disord*. 2004;19(9):1020-8.
226. Pelli D, Robson J, editors. The design of a new letter chart for measuring contrast sensitivity. *Clinical Vision Sciences*; 1988: Citeseer.
227. Sloan LL. New test charts for the measurement of visual acuity at far and near distances. *American journal of ophthalmology*. 1959;48(6):807-13.
228. Tewarie P, Balk L, Costello F, Green A, Martin R, Schippling S, et al. The OSCAR-IB consensus criteria for retinal OCT quality assessment. *PLoS One*. 2012;7(4):e34823.
229. Group ETDRSR. Grading diabetic retinopathy from stereoscopic color fundus photographs—an extension of the modified Airlie House classification: ETDRS report number 10. *Ophthalmology*. 1991;98(5):786-806.
230. Heindl LM, Adler W, El-Malahi O, Schaub F, Hermann MM, Dietlein TS, et al. The Optimal Diameter for Circumpapillary Retinal Nerve Fiber Layer Thickness Measurement by SD-OCT in Glaucoma. *J Glaucoma*. 2018;27(12):1086-93.

231. Ghassibi MP, Chien JL, Patthanathamrongkasem T, Abumasmah RK, Rosman MS, Skaat A, et al. Glaucoma Diagnostic Capability of Circumpapillary Retinal Nerve Fiber Layer Thickness in Circle Scans With Different Diameters. *J Glaucoma*. 2017;26(4):335-42.
232. Schindelin J, Arganda-Carreras I, Frise E, Kaynig V, Longair M, Pietzsch T, et al. Fiji: an open-source platform for biological-image analysis. *Nat Methods*. 2012;9(7):676-82.
233. Campbell JP, Zhang M, Hwang TS, Bailey ST, Wilson DJ, Jia Y, et al. Detailed Vascular Anatomy of the Human Retina by Projection-Resolved Optical Coherence Tomography Angiography. *Sci Rep*. 2017;7:42201.
234. Otsu N. A threshold selection method from gray-level histograms. *IEEE transactions on systems, man, and cybernetics*. 1979;9(1):62-6.
235. Suzuki ACF, Zacharias LC, Preti RC, Cunha LP, Monteiro MLR. Circumpapillary and macular vessel density assessment by optical coherence tomography angiography in eyes with temporal hemianopia from chiasmal compression. Correlation with retinal neural and visual field loss. *Eye (Lond)*. 2020;34(4):695-703.
236. Curcio CA, Allen KA. Topography of ganglion cells in human retina. *J Comp Neurol*. 1990;300(1):5-25.
237. Zhang C, Tatham AJ, Weinreb RN, Zangwill LM, Yang Z, Zhang JZ, et al. Relationship between ganglion cell layer thickness and estimated retinal ganglion cell counts in the glaucomatous macula. *Ophthalmology*. 2014;121(12):2371-9.
238. McCulloch DL, Marmor MF, Brigell MG, Hamilton R, Holder GE, Tzekov R, et al. ISCEV Standard for full-field clinical electroretinography (2015 update). *Doc Ophthalmol*. 2015;130(1):1-12.
239. de Araujo RB, Oyamada MK, Zacharias LC, Cunha LP, Preti RC, Monteiro MLR. Morphological and Functional Inner and Outer Retinal Layer Abnormalities

in Eyes with Permanent Temporal Hemianopia from Chiasmal Compression. *Front Neurol.* 2017;8:619.

240. Burton P, Gurrin L, Sly P. Extending the simple linear regression model to account for correlated responses: an introduction to generalized estimating equations and multi-level mixed modelling. *Stat Med.* 1998;17(11):1261-91.

241. Fan Q, Teo YY, Saw SM. Application of advanced statistics in ophthalmology. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 2011;52(9):6059-65.

242. Ying GS, Maguire MG, Glynn R, Rosner B. Tutorial on Biostatistics: Statistical Analysis for Correlated Binary Eye Data. *Ophthalmic Epidemiol.* 2018;25(1):1-12.

243. Kirkwood BR, Sterne JA. *Essential medical statistics*: John Wiley & Sons; 2010.

244. McCullagh P, Nelder J. *Generalized Linear Models II*. Chapman and Hall, London; 1989.

245. Neter J, Kutner MH, Nachtsheim CJ, Wasserman W. *Applied linear statistical models*. 1996.

246. DeLong ER, DeLong DM, Clarke-Pearson DL. Comparing the areas under two or more correlated receiver operating characteristic curves: a nonparametric approach. *Biometrics.* 1988;44(3):837-45.

247. Spund B, Ding Y, Liu T, Selesnick I, Glazman S, Shrier EM, et al. Remodeling of the fovea in Parkinson disease. *J Neural Transm (Vienna).* 2013;120(5):745-53.

248. Slotnick S, Ding Y, Glazman S, Durbin M, Miri S, Selesnick I, et al. A novel retinal biomarker for Parkinson's disease: Quantifying the foveal pit with optical coherence tomography. *Mov Disord.* 2015;30(12):1692-5.

249. Foos RY, Miyamasu W. Synaptic analysis of inner plexiform layer in human retina. *Journal of Comparative Neurology.* 1973;147(4):447-53.

250. Masri RA, Weltzien F, Purushothuman S, Lee SCS, Martin PR, Grunert U. Composition of the Inner Nuclear Layer in Human Retina. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 2021;62(9):22.
251. Mariani AP. The neuronal organization of the outer plexiform layer of the primate retina. *Int Rev Cytol.* 1984;86:285-320.
252. Scharf J, Freund KB, Sadda S, Sarraf D. Paracentral acute middle maculopathy and the organization of the retinal capillary plexuses. *Prog Retin Eye Res.* 2021;81:100884.
253. Ortuno-Lizaran I, Esquivia G, Beach TG, Serrano GE, Adler CH, Lax P, et al. Degeneration of human photosensitive retinal ganglion cells may explain sleep and circadian rhythms disorders in Parkinson's disease. *Acta Neuropathol Commun.* 2018;6(1):90.
254. Uc EY, Rizzo M, Johnson AM, Dastrup E, Anderson SW, Dawson JD. Road safety in drivers with Parkinson disease. *Neurology.* 2009;73(24):2112-9.
255. Mello LGM, Bissoli LB, Saraiva FP, Maia RPD, Monteiro MLR. Retinal Layers and Choroid Measurements in Parkinson's Disease With or Without Pramipexole Treatment. *Mov Disord.* 2020;35(12):2357-9.
256. Bush RA, Sieving PA. A proximal retinal component in the primate photopic ERG a-wave. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 1994;35(2):635-45.
257. Sieving PA, Murayama K, Naarendorp F. Push-pull model of the primate photopic electroretinogram: a role for hyperpolarizing neurons in shaping the b-wave. *Vis Neurosci.* 1994;11(3):519-32.
258. Rangaswamy NV, Hood DC, Frishman LJ. Regional variations in local contributions to the primate photopic flash ERG: revealed using the slow-sequence mfERG. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 2003;44(7):3233-47.
259. He S, Weiler R, Vaney DI. Endogenous dopaminergic regulation of horizontal cell coupling in the mammalian retina. *J Comp Neurol.* 2000;418(1):33-40.

260. Ogden TE. The oscillatory waves of the primate electroretinogram. *Vision Res.* 1973;13(6):1059-74.
261. Speros P, Price J. Oscillatory potentials. History, techniques and potential use in the evaluation of disturbances of retinal circulation. *Survey of Ophthalmology.* 1981;25(4):237-52.
262. Gutierrez O, Spiguel RD. Oscillatory potentials of the cat retina: effects of adrenergic drugs. *Life Sci.* 1973;13(7):991-9.
263. Hempel F. Modification of the rabbit electroretinogram by reserpine. *Ophthalmic Research.* 1972;4(2):65-75.
264. Viswanathan S, Frishman LJ, Robson JG, Harwerth RS, Smith EL, 3rd. The photopic negative response of the macaque electroretinogram: reduction by experimental glaucoma. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 1999;40(6):1124-36.
265. Tang J, Edwards T, Crowston JG, Sarossy M. The Test-Retest Reliability of the Photopic Negative Response (PhNR). *Transl Vis Sci Technol.* 2014;3(6):1.
266. Mortlock KE, Binns AM, Aldebasi YH, North RV. Inter-subject, inter-ocular and inter-session repeatability of the photopic negative response of the electroretinogram recorded using DTL and skin electrodes. *Doc Ophthalmol.* 2010;121(2):123-34.
267. Bach M, Brigell MG, Hawlina M, Holder GE, Johnson MA, McCulloch DL, et al. ISCEV standard for clinical pattern electroretinography (PERG): 2012 update. *Doc Ophthalmol.* 2013;126(1):1-7.

11 APÊNDICES

Apêndice A – Termo de consentimento livre e esclarecido do estudo 1

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

O(A) Sr.(a) _____, CPF/RG _____
foi convidado (a) a participar da pesquisa intitulada **EFEITOS DOS INIBIDORES DA MONOAMINA OXIDASE B NA RETINA DE PACIENTES COM DOENÇA DE PARKINSON**, sob a responsabilidade de Luiz Guilherme Marchesi Mello.

JUSTIFICATIVA

A doença de Parkinson é uma doença neurológica que possui várias manifestações clínicas em várias partes do corpo, como tremores, alteração do sono e problemas psiquiátricos. Ela também pode causar alterações nos olhos, levando à baixa da visão. Assim, é importante investigar as alterações oculares associadas à doença de Parkinson e os possíveis impactos oculares das medicações usadas no seu tratamento.

OBJETIVO(S) DA PESQUISA

Investigar as características da retina (uma parte do olho responsável por enxergar) de pacientes com doença de Parkinson; avaliar os efeitos de duas medicações utilizadas no tratamento da doença de Parkinson, a selegilina e a rasagilina, na evolução das alterações associadas à doença de Parkinson.

PROCEDIMENTOS

O Sr.(a) será submetido a exame neurológico e oftalmológico detalhado (acuidade visual, biomicroscopia do segmento anterior, tonometria de aplanção, fundoscopia e aquisição das imagens da Tomografia de Coerência Óptica) no primeiro dia de atendimento, após 3 e 6 meses.

DURAÇÃO E LOCAL DA PESQUISA

A pesquisa terá duração de 6 meses e será realizada no Hospital Universitário Cassiano Antonio Moraes (HUCAM), Vitória, Espírito Santo, Brasil.

RISCOS E DESCONFORTOS

Considera-se mínimo os riscos aos quais o Sr.(a) será submetido. Há possibilidade de constrangimento ao responder às perguntas de rotina dos examinadores médicos. No entanto, todo o processo é voluntário, o sigilo é garantido e o anonimato mantido, podendo responder apenas às perguntas que quiser ou se afastar da pesquisa sem prejuízos.

BENEFÍCIOS

Realização gratuita de exames e assistência médica, com acesso aos serviços da Neurologia e Oftalmologia. O Sr.(a) poderá ter seu tratamento modificado caso seja observada a necessidade de alguma intervenção médica. Em caso de ser observado que uma medicação possui efeito protetor à retina, os pacientes em uso de uma medicação com menor efeito protetor poderão receber outro tratamento. Em caso de comprovação do benefício para a saúde ocular das medicações utilizadas no tratamento da doença de Parkinson, futuros pacientes (com doença de Parkinson e, até certo ponto, com outras doenças com acometimento ocular) poderão se beneficiar com o uso de drogas que tenham um efeito benéfico.

ACOMPANHAMENTO E ASSISTÊNCIA

Durante o período da pesquisa, o(a) Sr.(a) terá assistência dos médicos participantes do projeto no serviço de Neurologia e de Oftalmologia do Hospital Universitário Cassiano Antonio Moraes em consultas agendadas e em casos de intercorrências. A assistência em caso de danos decorrentes da pesquisa será de forma imediata e integral, sempre de forma gratuita. Após o encerramento da pesquisa, o(a) Sr.(a) manterá acompanhamento regular no Hospital Universitário Cassiano Antonio Moraes conforme indicação médica.

GARANTIA DE RECUSA EM PARTICIPAR DA PESQUISA E/OU RETIRADA DE CONSENTIMENTO

O(A) Sr.(a) não é obrigado(a) a participar da pesquisa, podendo deixar de participar dela em qualquer momento de sua execução, sem que haja penalidades ou prejuízos decorrentes de sua recusa. Caso decida retirar seu consentimento, o(a) Sr.(a) não mais será contatado(a) pelos pesquisadores.

GARANTIA DE MANUTENÇÃO DO SIGILO E PRIVACIDADE

Os pesquisadores se comprometem a resguardar sua identidade durante todas as fases da pesquisa, inclusive após publicação.

GARANTIA DE RESSARCIMENTO FINANCEIRO

Todos os procedimentos necessários para realização deste projeto são gratuitos e disponíveis no Sistema Único de Saúde (SUS), não havendo custos para o Sr.(a) e seus acompanhantes. Não há nenhuma vantagem financeira para os participantes do projeto.

GARANTIA DE INDENIZAÇÃO

De acordo com o item IV.4.c da Res. CNS 466/12, não se deve exigir do participante da pesquisa renúncia ao direito à indenização por dano decorrente da pesquisa. Em caso de eventual dano decorrente dos procedimentos realizados da pesquisa, o Sr.(a) terá direito a indenização, conforme a legislação.

ESCLARECIMENTO DE DÚVIDAS

Em caso de dúvidas sobre a pesquisa ou para relatar algum problema, o(a) Sr.(a) pode contatar o(a) pesquisador(a) Luiz Guilherme Marchesi Mello nos telefones (27) 3335-7303 e (27) 3335-7450. O(A) Sr.(a) também pode contatar o Comitê de Ética em Pesquisa do Hospital Universitário Cassiano Antonio Moraes (CEP-HUCAM) através do telefone (27) 3335-7326, do email (cephucam@gmail.com) ou no endereço Av. Marechal Campos, 1468, Maruípe, CEP 29.040-090, Vitória - ES, Brasil. O CEP-HUCAM tem a função de analisar projetos de pesquisa visando à proteção dos participantes dentro de padrões éticos nacionais e internacionais.

Declaro que fui verbalmente informado e esclarecido sobre o presente documento, entendendo todos os termos acima expostos, e que voluntariamente aceito participar deste estudo. Também declaro ter recebido uma via deste Termo de Consentimento Livre e Esclarecido, de igual teor, assinada pelo pesquisador principal ou seu representante, rubricada em todas as páginas.

Vitória-ES, ____ de _____ de _____.

Participante da pesquisa/Responsável legal

Na qualidade de pesquisador responsável pela pesquisa **EFEITOS DOS INIBIDORES DA MONOAMINA OXIDASE B NA RETINA DE PACIENTES COM DOENÇA DE PARKINSON**, eu, Luiz Guilherme Marchesi Mello, declaro ter cumprido as exigências do(s) item(s) IV.3 e IV.4 (se pertinente), da Resolução CNS 466/12, a qual estabelece diretrizes e normas regulamentadoras de pesquisas envolvendo seres humanos.

Luiz Guilherme Marchesi Mello
Médico Residente em Oftalmologia e Pesquisador principal

Apêndice B – Termo de consentimento livre e esclarecido do estudo 2

Parkinson_OCTA_ERG_PhNR – TCLE versão 1 – 21/06/2019

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

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

1. TÍTULO DO PROTOCOLO DE PESQUISA: **Avaliação morfológica e funcional da retina de pacientes com doença de Parkinson usando a tomografia de coerência óptica e o eletrorretinograma**
2. PESQUISADOR: **Prof. Dr. Mário Luiz Ribeiro Monteiro**
CARGO/FUNÇÃO: **Professor Associado FMUSP / Chefe do Serviço de Neuro-oftalmologia HCFMUSP**
INSCRIÇÃO CONSELHO REGIONAL Nº: **36445**
UNIDADE DO HCFMUSP: **Depto. de Oftalmologia e Otorrinolaringologia**
3. DURAÇÃO DA PESQUISA: **24 meses**

4. Apresentação:

Convidamos o(a) senhor(a) a participar da pesquisa “**Avaliação morfológica e funcional da retina de pacientes com doença de Parkinson usando a tomografia de coerência óptica e o eletrorretinograma**”. Pesquisa é um conjunto de procedimentos que procura criar ou aumentar o conhecimento sobre um assunto. Estas descobertas embora frequentemente não tragam benefícios diretos ao participante da pesquisa, podem no futuro ser úteis para muitas pessoas. Para decidir se aceita ou não participar desta pesquisa, o(a) senhor(a) precisa entender o suficiente sobre os riscos e benefícios, para que possa fazer um julgamento consciente. Inicialmente explicaremos as razões da pesquisa. A seguir, forneceremos um termo de consentimento livre e esclarecido (TCLE), documento que contém informações sobre a pesquisa, para que leia e discuta com familiares e/ou outras pessoas de sua confiança. Uma vez compreendido o objetivo da pesquisa e havendo seu interesse em participar, será solicitada a sua rubrica (assinatura) em todas as páginas do TCLE e sua assinatura na última página. Uma via assinada deste termo deverá ser retida pelo senhor(a) ou por seu representante legal e uma cópia será arquivada pelo pesquisador responsável.

5. Justificativa, objetivos e procedimentos:

A doença de Parkinson é uma doença neurológica com múltiplas manifestações clínicas em várias partes do corpo, como tremores, alteração do sono e problemas psiquiátricos. Ela também afeta o olho, podendo causar alterações da visão. Assim, é importante investigar as alterações oculares associadas à doença de Parkinson e os possíveis impactos oculares das medicações utilizadas no tratamento desta doença. O objetivo desta pesquisa é investigar as alterações na retina (uma parte do olho responsável pela visão) de pacientes com a doença de Parkinson em comparação com pacientes sem a doença de Parkinson, por meio dos exames angiografia por tomografia de coerência óptica (OCTA), eletrorretinograma de campo total com avaliação dos potenciais oscilatórios (ERG) e resposta fotópica negativa do eletrorretinograma adaptado à luz (PhNR).

O(A) senhor(a) será submetido(a) a exame oftalmológico completo de rotina (acuidade visual, teste da sensibilidade visual ao contraste, biomicroscopia do segmento anterior, medida da pressão do olho com a tonometria de aplanção e fundoscopia) com realização dos exames OCTA, ERG e PhNR. Os participantes desta pesquisa que possuam a doença de Parkinson também serão submetidos a uma avaliação neurológica clínica direcionada para a doença. A OCTA, o ERG e a PhNR são exames não invasivos, realizados através de um aparelho digital após a dilatação da pupila (“menina dos olhos”) com colírio, em que você terá apenas que olhar em um ponto luminoso na máquina enquanto o aparelho faz a captação das informações do exame. Os exames ERG e PhNR são parecidos com o eletrocardiograma (que examina o coração), mas o ERG e a PhNR avaliam o funcionamento da retina. Para realização desses dois exames (ERG e PhNR) serão colocados eletrodos (um tipo de fio condutor que vai captar a informação do olho para o computador) em contato com a pele e uma lente de contato na superfície do olho, após aplicação de colírio anestésico visando diminuir possíveis incômodos.

Rubrica do pesquisador _____

Rubrica do participante da pesquisa _____

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

6. Riscos, desconfortos e benefícios:

Todos os exames desta pesquisa fazem parte da prática internacional da Oftalmologia. Consideram-se mínimos os riscos aos quais o(a) senhor(a) será submetido(a). Há possibilidade de constrangimento ao responder às perguntas de rotina dos examinadores médicos e também risco da perda de confidencialidade. Contudo, todo o processo é voluntário, a equipe do estudo garantirá a confidencialidade e o anonimato codificando todos os pacientes do estudo, e o participante da pesquisa pode responder apenas às perguntas que quiser ou se afastar da pesquisa sem prejuízos. Os exames OCTA, ERG e PhNR podem causar algum desconforto e embaçamento transitório da visão pela iluminação do aparelho e pela dilatação da pupila (“menina dos olhos”), que são reversíveis espontaneamente após algumas horas. Além disso, o ERG e a PhNR, por terem a necessidade de colocação de um eletrodo em formato de lente de contato na superfície dos olhos e outros três eletrodos em contato com a pele na face, podem causar leve desconforto e vermelhidão ocular transitórios e discreta vermelhidão transitória no local de contato dos eletrodos com a pele. Para diminuir os riscos de incômodos com a lente de contato, será utilizado colírio anestésico antes da colocação da lente de contato por um oftalmologista treinado participante deste projeto. Todos os exames poderão ser interrompidos quando solicitado pelo participante da pesquisa. Caso ocorra alguma complicação relacionada ao estudo, todo o auxílio disponível será fornecido a fim de diminuir e evitar maiores complicações ao participante. Os exames serão realizados por médicos oftalmologistas que prestarão atendimento imediato diante de qualquer necessidade.

Os exames e a assistência médica são gratuitos, com acesso ao serviço da oftalmologia. Por estarem sendo acompanhados por uma equipe médica, os pacientes poderão ter seus tratamentos modificados caso seja observada a necessidade de alguma intervenção médica. Estudos científicos baseiam-se na análise de grande número de amostras, sendo impossível estimar o benefício individual de cada paciente incluído no estudo. Pode ser que os resultados deste estudo tragam um benefício para uma parcela de pacientes no futuro. Estes resultados podem levar muitos anos para serem alcançados, por isso qualquer benefício proveniente desse estudo, caso haja, será apenas em longo prazo.

7. Forma de acompanhamento e assistência:

Durante o período da pesquisa, o(a) senhor(a) terá assistência dos médicos participantes do projeto no serviço de Oftalmologia do Hospital das Clínicas da FMUSP em consultas agendadas e em casos de intercorrências. O investigador principal é o **Prof. Dr. Mário Luiz Ribeiro Monteiro**, o investigador executante é o **Dr. Luiz Guilherme Marchesi Mello**. Outros investigadores envolvidos são: Dra. Thais Souza Andrade, Dr. Arthur Andrade do Nascimento Rocha, Dra. Maria Kiyoko Oyamada e Dr. Egberto Reis Barbosa. Se apresentar qualquer evento adverso, entre em contato com algum dos investigadores. Todos podem ser encontrados no **Serviço de Neuro-Oftalmologia do Ambulatório de Oftalmologia HCFMUSP na Av. Dr. Enéas Carvalho de Aguiar, 155, 6º andar, CEP 05403-000, São Paulo – SP, Brasil. Telefone: (11) 2661-6213, horário de atendimento: segundas e quartas-feiras de 8h às 12h. Contato para emergência 24 horas – Enfermaria da Oftalmologia (11) 2661-6287**. Após o encerramento da pesquisa, o(a) senhor(a) manterá acompanhamento regular no Hospital das Clínicas da FMUSP conforme indicação médica. Se você tiver alguma consideração ou dúvida sobre a ética da pesquisa, entre em contato com o Comitê de Ética para Análise de Projetos de Pesquisa (CAPESQ) – Rua Ovídio Pires de Campos, 225 – 5º andar – tel: (11) 2661-7585 – E-mail: cappesq.adm@hc.fm.usp.br

8. Garantia de recusa em participar da pesquisa e/ou retirada de consentimento:

O(A) senhor(a) não é obrigado(a) a participar da pesquisa, podendo deixar de participar dela em qualquer momento de sua execução, sem que haja penalidades ou prejuízos decorrentes de sua recusa. Caso decida retirar seu consentimento, o(a) senhor(a) não mais será contatado(a) pelos pesquisadores.

Rubrica do pesquisador _____

Rubrica do participante da pesquisa _____

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

9. Manutenção do sigilo e privacidade:

Os seus dados serão analisados em conjunto com outros participantes da pesquisa, não sendo divulgado a identificação de nenhum participante sob qualquer circunstância. Solicitamos sua autorização para que os dados obtidos nesta pesquisa sejam utilizados em uma publicação científica, meio como os resultados de uma pesquisa são divulgados e compartilhados com a comunidade científica.

10. Garantia de Ressarcimento:

Todos os procedimentos necessários para realização deste projeto são gratuitos e disponíveis no Sistema Único de Saúde (SUS), não havendo custos para o(a) senhor(a) e seus acompanhantes. Não há nenhuma vantagem financeira para os participantes do projeto.

11. Garantia de indenização:

De acordo com o item IV.4.c da Res. CNS 466/12, não se deve exigir do participante da pesquisa renúncia ao direito à indenização por dano decorrente da pesquisa. Em caso de eventual dano decorrente dos procedimentos realizados da pesquisa, o senhor(a) terá direito a indenização, conforme a legislação.

Fui suficientemente informado a respeito do estudo “**Avaliação morfológica e eletrofisiológica da retina na doença de Parkinson**”. Eu discuti as informações acima com o Pesquisador Responsável (Dr Mário Luiz Ribeiro) ou um dos pesquisadores participantes (Dr Luiz Guilherme Marchesi Mello, Dra. Thais Souza Andrade, Dr Arthur Andrade do Nascimento Rocha, Dra Maria Kiyoko Oyamada e Dr. Egberto Reis Barbosa) sobre a minha decisão em participar nesse estudo. Ficaram claros para mim quais são os propósitos do estudo, os procedimentos a serem realizados, seus desconfortos e riscos, as garantias de confidencialidade e de esclarecimentos permanentes. Concordo voluntariamente em participar deste estudo e poderei retirar o meu consentimento a qualquer momento, antes ou durante o mesmo, sem penalidades ou prejuízo ou perda de qualquer benefício que eu possa ter adquirido, ou no meu atendimento neste Serviço. Assino este termo de consentimento e recebo uma via rubricada por um dos pesquisadores.

Assinatura do paciente/representante legal _____ Data ____/____/____

Assinatura da testemunha _____ Data ____/____/____

Para casos de pacientes menores de 18 anos, analfabetos, semi-analfabetos ou portadores de deficiência auditiva ou visual



Impressão
datiloscópica
do participante

(Somente para o responsável do projeto)

Declaro que obtive de forma apropriada e voluntária o Consentimento Livre e Esclarecido deste paciente ou representante legal para a participação neste estudo.

Assinatura do pesquisador _____ Data ____/____/____

Rubrica do pesquisador _____ Rubrica do participante da pesquisa _____

DADOS DE IDENTIFICAÇÃO DO PARTICIPANTE DA PESQUISA OU RESPONSÁVEL LEGAL

1. NOME:

DOCUMENTO DE IDENTIDADE Nº: SEXO: M F

DATA NASCIMENTO:/...../.....

ENDEREÇO: Nº: APTO:

BAIRRO: CIDADE:

CEP: TELEFONE: DDD (.....)

2. RESPONSÁVEL LEGAL:

NATUREZA (grau de parentesco, tutor, curador etc.):

DOCUMENTO DE IDENTIDADE: SEXO: M F

DATA NASCIMENTO:/...../.....

ENDEREÇO: Nº: APTO:

BAIRRO: CIDADE:

CEP: TELEFONE: DDD (.....)

Rubrica do pesquisador _____

Rubrica do participante da pesquisa _____

Apêndice C – Código da macro para análise da espessura da coroide peripapilar

```
34 // Select a new image to analyze
35 path = File.openDialog("Select a File");
36 open(path);
37 directory = File.directory;
38
39 // Beginning of the loop; This loop allows to analyze images sequentially
40 fileList = getFileList(directory)
41 for (i=0; i < lengthOf(fileList); i++) {
42
43 // Store the selected image name into the nameStore variable
44 nameStore = getTitle();
45 dir = getDirectory("image");
46
47 // Draw the polygon (delimitate the pChoroid)
48 setTool("polygon");
49 waitForUser("Waiting for user to draw a polygon. Press OK to continue...");
50
51 // Clear the content outside of the pChoroid/polygon
52 run("ROI Manager...");
53 roiManager("Add");
54 roiManager("Select", 0);
55 roiManager("Rename", "Total choroid");
56 run("Clear Outside");
57 saveAs("Tiff", dir+nameStore+" - TOTAL CHOROID.tif");
58
59 // Convert to 8-bit image
60 run("8-bit");
61
62 // Define the scale
63 run("Set Scale...", "distance=53 known=200 unit=micra");
64
65 // Creating rectangles to delimitate each pChoroid sector
66 // Delimitating the TEMPORAL sector
67 roiManager("Select", 0);
68 setKeyDown("alt");
69 makeRectangle(96, 0, 576, 496);
70 roiManager("Add");
71 roiManager("Select", 1);
72 roiManager("Rename", "TEMPORAL");
73 run("Clear Outside");
74 saveAs("Tiff", dir+nameStore+" - TEMPORAL.tif");
75 run("Undo");
76
77 // Delimitating the TS sector
78 //left rectangle
79 roiManager("Select", 0);
80 setKeyDown("alt");
81 makeRectangle(0, 0, 96, 496);
82 //right rectangle
83 setKeyDown("alt");
84 makeRectangle(181.33, 0, 768, 496);
85 roiManager("Add");
86 roiManager("Select", 2);
87 roiManager("Rename", "TS");
88 run("Clear Outside");
89 saveAs("Tiff", dir+nameStore+" - TS.tif");
90 run("Undo");
91
92 // Delimitating the NS sector
93 //left rectangle
94 roiManager("Select", 0);
95 setKeyDown("alt");
96 makeRectangle(0, 0, 181.33, 496);
```

```

97 //right rectangle
98 setKeyDown("alt");
99 makeRectangle(266.67, 0, 768, 496);
100 roiManager("Add");
101 roiManager("Select", 3);
102 roiManager("Rename", "NS");
103 run("Clear Outside");
104 saveAs("Tiff", dir+nameStore+ " - NS.tif");
105 run("Undo");
106
107 // Delimitating the NASAL sector
108 //left rectangle
109 roiManager("Select", 0);
110 setKeyDown("alt");
111 makeRectangle(0, 0, 266.67, 496);
112 //right rectangle
113 setKeyDown("alt");
114 makeRectangle(501.327, 0, 768, 496);
115 roiManager("Add");
116 roiManager("Select", 4);
117 roiManager("Rename", "NASAL");
118 run("Clear Outside");
119 saveAs("Tiff", dir+nameStore+ " - NASAL.tif");
120 run("Undo");
121
122 // Delimitating the NI sector
123 //left rectangle
124 roiManager("Select", 0);
125 setKeyDown("alt");
126 makeRectangle(0, 0, 501.327, 496);
127 //right rectangle
128 setKeyDown("alt");
129 makeRectangle(586.657, 0, 768, 496);
130 roiManager("Add");
131 roiManager("Select", 5);
132 roiManager("Rename", "NI");
133 run("Clear Outside");
134 saveAs("Tiff", dir+nameStore+ " - NI.tif");
135 run("Undo");
136
137 // Delimitating the TI sector
138 //left rectangle
139 roiManager("Select", 0);
140 setKeyDown("alt");
141 makeRectangle(0, 0, 586.657, 496);
142 //right rectangle
143 setKeyDown("alt");
144 makeRectangle(672, 0, 768, 496);
145 roiManager("Add");
146 roiManager("Select", 6);
147 roiManager("Rename", "TI");
148 run("Clear Outside");
149 saveAs("Tiff", dir+nameStore+ " - TI.tif");
150 run("Undo");
151
152 // Delimitating the SUPERIOR sector
153 //left rectangle
154 roiManager("Select", 0);
155 setKeyDown("alt");
156 makeRectangle(0, 0, 96, 496);
157 //right rectangle
158 setKeyDown("alt");
159 makeRectangle(266.67, 0, 768, 496);
160 roiManager("Add");
161 roiManager("Select", 7);
162 roiManager("Rename", "SUPERIOR");
163 run("Clear Outside");

```

```

164 saveAs("Tiff", dir+nameStore+ " - SUPERIOR.tif");
165 run("Undo");
166
167 // Delimitating the INFERIOR sector
168 //left rectangle
169 roiManager("Select", 0);
170 setKeyDown("alt");
171 makeRectangle(0, 0, 501.327, 496);
172 //right rectangle
173 setKeyDown("alt");
174 makeRectangle(672, 0, 768, 496);
175 roiManager("Add");
176 roiManager("Select", 8);
177 roiManager("Rename", "INFERIOR");
178 run("Clear Outside");
179 saveAs("Tiff", dir+nameStore+ " - INFERIOR.tif");
180 run("Undo");
181
182 // Rename the image to the original title
183 roiManager("Select", 0);
184 rename(nameStore);
185
186 // Analysis of the mean pChoroid thickness in each sector (scale of black-white : highest-lowest height)
187 //Select the pChoroid and filling it in white
188 //setTool("dropper"); to fill the pChoroid selection with white
189 roiManager("Select", 0);
190 run("Color Picker...");
191 setForegroundColor(255, 255, 255);
192 run("Fill", "slice");
193
194 //Calibrate the vertical scale bar (white = 1870 micra; black = 0 micrca); 1870 micra is the maximum image height
195 run("Calibrate...", "function=[Straight Line] unit=micra text1=[0.00 255.00 ] text2=[0\015 1870] show");
196 close();
197
198 //Overall average pChoroid thickness (360°)
199 run("Select All");
200 roiManager("Add");
201 roiManager("Select", 9);
202 roiManager("Rename", "pChoroid_TOTAL");
203 run("Set Measurements...", "mean display redirect=None decimal=2");
204 roiManager("Select", 9);
205 run("Measure");
206
207 //TEMPORAL average thickness (90°)
208 makeRectangle(0, 0, 96, 496);
209 setKeyDown("shift");
210 makeRectangle(672, 0, 96, 496);
211 roiManager("Add");
212 roiManager("Select", 10);
213 roiManager("Rename", "pChoroid_TEMPORAL");
214 roiManager("Select", 10);
215 run("Measure");
216
217 //TS average thickness (40°)
218 makeRectangle(96, 0, 85.33, 496);
219 roiManager("Add");
220 roiManager("Select", 11);
221 roiManager("Rename", "pChoroid_TS");
222 roiManager("Select", 11);
223 run("Measure");
224
225 //NS average thickness (40°)
226 makeRectangle(181.33, 0, 85.33, 496);
227 roiManager("Add");
228 roiManager("Select", 12);
229 roiManager("Rename", "pChoroid_NS");
230 roiManager("Select", 12);
231 run("Measure");

```

```

232
233 //NASAL average thickness (110°)
234 makeRectangle(266.67, 0, 234.657, 496);
235 roiManager("Add");
236 roiManager("Select", 13);
237 roiManager("Rename", "pChoroid_NASAL");
238 roiManager("Select", 13);
239 run("Measure");
240
241 //NI average thickness (40°)
242 makeRectangle(501.327, 0, 85.33, 496);
243 roiManager("Add");
244 roiManager("Select", 14);
245 roiManager("Rename", "pChoroid_NI");
246 roiManager("Select", 14);
247 run("Measure");
248
249 //TI average thickness (40°)
250 makeRectangle(586.657, 0, 85.33, 496);
251 roiManager("Add");
252 roiManager("Select", 15);
253 roiManager("Rename", "pChoroid_TI");
254 roiManager("Select", 15);
255 run("Measure");
256
257 //SUPERIOR average thickness (80°)
258 makeRectangle(96, 0, 170.66, 496);
259 roiManager("Add");
260 roiManager("Select", 16);
261 roiManager("Rename", "pChoroid_SUPERIOR");
262 roiManager("Select", 16);
263 run("Measure");
264
265 //INFERIOR average thickness (80°)
266 makeRectangle(501.327, 0, 170.66, 496);
267 roiManager("Add");
268 roiManager("Select", 17);
269 roiManager("Rename", "pChoroid_INFERIOR");
270 roiManager("Select", 17);
271 run("Measure");
272
273 // To save the data into .xlsx file in desktop
274 /* results are displayed as:
275 * first line: TOTAL;
276 * second line: TEMPORAL;
277 * third line: TS;
278 * fourth line: NS;
279 * fifth line: NASAL;
280 * sixth line: NI;
281 * seventh line: TI;
282 * eighth line: SUPERIOR;
283 * ninth line: INFERIOR;
284 */
285 run("Read and Write Excel");
286 // Close all images and opened windows (Results, ROI and CP)
287 selectWindow("Results");
288 run("Close");
289 selectWindow("ROI Manager");
290 run("Close");
291 selectWindow("CP");
292 run("Close");
293 run("Close All");
294 // Select a new image to analyze the pChoroid thickness
295 path = File.openDialog("Select a File");
296 open(path);
297
298 // End of the Loop
299 }

```


Apêndice D – Código da macro para análise dos plexos e complexos vasculares peripapilares (pNFLVP, pSVP e pSVC) do olho direito

```
31 // Store the initial image name into the nameStore variable
32 nameStore = getTitle();
33 dir = getDirectory("image");
34
35 // To run this macro faster (without showing images during the process)
36 setBatchMode(true)
37
38 // Convert to 8-bit image
39 run("8-bit");
40
41 // Adjust Thresholding
42 run("Otsu Thresholding");
43
44 // Define the scale
45 run("Set Scale...", "distance=43 known=200 pixel=1 unit=micra");
46
47 // Save the Thresholding image
48 selectWindow("Threshold");
49 saveAs("Tiff", dir+nameStore+" - Threshold.tif");
50
51 /*Create a donut shaped/ring of the peripapillary area of interest and clear the content outside of the ring
52 * Outer ring diameter: 3400 micra
53 * Inner ring diameter: 1700 micra
54 */
55 run("ROI Manager...");
56 makeOval(469, 469, 764.47, 764.47);
57 run("Specify...", "width=1700 height=1700 x=2181.395 y=2181.395 oval centered scaled");
58 run("Make Band...", "band=850");
59 roiManager("Add");
60 roiManager("Select", 0);
61 roiManager("Rename", "Ring");
62 run("Clear Outside");
63
64 // Create the SUPERIOR sector of the ring
65 makeOval(469, 469, 764.47, 764.47);
66 run("Specify...", "width=1700 height=1700 x=2181.395 y=2181.395 oval centered scaled");
67 run("Make Band...", "band=850");
68 setKeyDown("alt");
69 makePolygon(0,938,469,469,797.4,938);
70 setKeyDown("alt");
71 makePolygon(0,938,469,469,0,0);
72 setKeyDown("alt");
73 makePolygon(938,0,798,0,469,469,790,938,938,938);
74 roiManager("Add");
75 roiManager("Select", 1);
76 roiManager("Rename", "Superior");
77
78 // Create the INFERIOR sector of the ring
79 makeOval(469, 469, 764.47, 764.47);
80 run("Specify...", "width=1700 height=1700 x=2181.395 y=2181.395 oval centered scaled");
81 run("Make Band...", "band=850");
82 setKeyDown("alt");
83 makePolygon(0,0,469,469,797.4,0);
84 setKeyDown("alt");
85 makePolygon(0,938,469,469,0,0);
86 setKeyDown("alt");
87 makePolygon(938,0,790,0,469,469,798,938,938,938);
88 roiManager("Add");
89 roiManager("Select", 2);
90 roiManager("Rename", "Inferior");
91
92 // Create the LEFT_TEMPORAL_OD sector of the ring
93 makeOval(469, 469, 764.47, 764.47);
94 run("Specify...", "width=1700 height=1700 x=2181.395 y=2181.395 oval centered scaled");
95 run("Make Band...", "band=850");
96 setKeyDown("alt");
97 makePolygon(0,0,469,469,797.4,0);
```



```

98 setKeyDown("alt");
99 makePolygon(0,938,469,469,797.4,938);
100 setKeyDown("alt");
101 makePolygon(938,0,790,0,469,469,790,938,938,938);
102 roiManager("Add");
103 roiManager("Select", 3);
104 roiManager("Rename", "LEFT_TEMPORAL_OD");
105
106 // Create the RIGHT_NASAL_OD sector of the ring
107 makeOval(469, 469, 764.47, 764.47);
108 run("Specify...", "width=1700 height=1700 x=2181.395 y=2181.395 oval centered scaled");
109 run("Make Band...", "band=850");
110 setKeyDown("alt");
111 makePolygon(0,0,469,469,797.4,0);
112 setKeyDown("alt");
113 makePolygon(0,938,469,469,797.4,938);
114 setKeyDown("alt");
115 makePolygon(0,938,469,469,0,0);
116 roiManager("Add");
117 roiManager("Select", 4);
118 roiManager("Rename", "RIGHT_NASAL_OD");
119
120 // Adjust measurements (%pixels/área)
121 run("Set Measurements...", "area_fraction display redirect=None decimal=2");
122
123 /*Clear the inside area of the sectors to obtain measurements of each area of interest inside the RING
124 * and saving the images of each sector
125 */
126 // Full ring (360°)
127 roiManager("Select", 0);
128 run("Clear Outside");
129 saveAs("Tiff", dir+nameStore+ " - ring.tif");
130 roiManager("Select", 0);
131 roiManager("Measure");
132 run("Undo");
133
134 // SUPERIOR RIM (80°)
135 roiManager("Select", 1);
136 run("Clear Outside");
137 saveAs("Tiff", dir+nameStore+ " - superior_rim.tif");
138 roiManager("Select", 1);
139 roiManager("Measure");
140 run("Undo");
141
142 // INFERIOR RIM (80°)
143 roiManager("Select", 2);
144 run("Clear Outside");
145 saveAs("Tiff", dir+nameStore+ " - inferior_rim.tif");
146 roiManager("Select", 2);
147 roiManager("Measure");
148 run("Undo");
149
150 // LEFT_TEMPORAL_OD RIM (90°)
151 roiManager("Select", 3);
152 run("Clear Outside");
153 saveAs("Tiff", dir+nameStore+ " - left_temporal_OD_rim.tif");
154 roiManager("Select", 3);
155 roiManager("Measure");
156 run("Undo");
157
158 // RIGHT_NASAL_OD RIM (110°)
159 roiManager("Select", 4);
160 run("Clear Outside");
161 saveAs("Tiff", dir+nameStore+ " - right_nasal_OD_rim.tif");
162 roiManager("Select", 4);
163 roiManager("Measure");
164 run("Undo");
165

```

```
166 // To save the data into .xlsx file in desktop
167 /* results are displayed as:
168 * first line: total ring;
169 * second line: superior_rim;
170 * third line: inferior_rim;
171 * fourth line: left_temporal_OD_rim;
172 * fifth line: right_nasal_OD_rim.
173 */
174 run("Read and Write Excel")
175
176 // Close all images
177 run("Close All");
178
179 // Close Results window
180 selectWindow("Results");
181 run("Close");
```

Apêndice E – Código da macro para análise dos plexos e complexos vasculares peripapilares (pNFLVP, pSVP e pSVC) do olho esquerdo

```
31 // Store the initial image name into the nameStore variable
32 nameStore = getTitle();
33 dir = getDirectory("image");
34
35 // To run this macro faster (without showing images during the process)
36 setBatchMode(true)
37
38 // Convert to 8-bit image
39 run("8-bit");
40
41 // Adjust Thresholding
42 run("Otsu Thresholding");
43
44 // Define the scale
45 run("Set Scale...", "distance=43 known=200 pixel=1 unit=micra");
46
47 // Save the Thresholding image
48 selectWindow("Threshold");
49 saveAs("Tiff", dir+nameStore+" - Threshold.tif");
50
51 /*Create a donut shaped/ring of the peripapillary area of interest and clear the content outside of the ring
52 * Outer ring diameter: 3400 micra
53 * Inner ring diameter: 1700 micra
54 */
55 run("ROI Manager...");
56 makeOval(469, 469, 764.47, 764.47);
57 run("Specify...", "width=1700 height=1700 x=2181.395 y=2181.395 oval centered scaled");
58 run("Make Band...", "band=850");
59 roiManager("Add");
60 roiManager("Select", 0);
61 roiManager("Rename", "Ring");
62 run("Clear Outside");
63
64 // Create the SUPERIOR sector of the ring
65 makeOval(469, 469, 764.47, 764.47);
66 run("Specify...", "width=1700 height=1700 x=2181.395 y=2181.395 oval centered scaled");
67 run("Make Band...", "band=850");
68 setKeyDown("alt");
69 makePolygon(938,938,469,469,140,938);
70 setKeyDown("alt");
71 makePolygon(938,0,469,469,938,938);
72 setKeyDown("alt");
73 makePolygon(0,0,140,0,469,469,150,938,0,938);
74 roiManager("Add");
75 roiManager("Select", 1);
76 roiManager("Rename", "Superior");
77
78 // Create the INFERIOR sector of the ring
79 makeOval(469, 469, 764.47, 764.47);
80 run("Specify...", "width=1700 height=1700 x=2181.395 y=2181.395 oval centered scaled");
81 run("Make Band...", "band=850");
82 setKeyDown("alt");
83 makePolygon(938,0,469,469,140,0);
84 setKeyDown("alt");
85 makePolygon(938,0,469,469,938,938);
86 setKeyDown("alt");
87 makePolygon(0,0,150,0,469,469,140,938,0,938);
88 roiManager("Add");
89 roiManager("Select", 2);
90 roiManager("Rename", "Inferior");
91
92 // Create the RIGHT_TEMPORAL_OE sector of the ring
93 makeOval(469, 469, 764.47, 764.47);
94 run("Specify...", "width=1700 height=1700 x=2181.395 y=2181.395 oval centered scaled");
95 run("Make Band...", "band=850");
96 setKeyDown("alt");
97 makePolygon(938,0,469,469,140,0);
98 setKeyDown("alt");
```

```

98 setKeyDown("alt");
99 makePolygon(938,938,469,469,140,938);
100 setKeyDown("alt");
101 makePolygon(0,0,150,0,469,469,150,938,0,938);
102 roiManager("Add");
103 roiManager("Select", 3);
104 roiManager("Rename", "RIGHT_TEMPORAL_OE");
105
106 // Create the LEFT_NASAL_OE sector of the ring
107 makeOval(469, 469, 764.47, 764.47);
108 run("Specify...", "width=1700 height=1700 x=2181.395 y=2181.395 oval centered scaled");
109 run("Make Band...", "band=850");
110 setKeyDown("alt");
111 makePolygon(938,0,469,469,140,0);
112 setKeyDown("alt");
113 makePolygon(938,938,469,469,140,938);
114 setKeyDown("alt");
115 makePolygon(938,0,469,469,938,938);
116 roiManager("Add");
117 roiManager("Select", 4);
118 roiManager("Rename", "LEFT_NASAL_OE");
119
120 // Adjust measurements (%pixels/area)
121 run("Set Measurements...", "area_fraction display redirect=None decimal=2");
122
123 /*Clear the inside area of the sectors to obtain measurements of each area of interest inside the RING
124 * and saving the images of each sector
125 */
126 // Full ring (360°)
127 roiManager("Select", 0);
128 run("Clear Outside");
129 saveAs("Tiff", dir+nameStore+" - ring.tif");
130 roiManager("Select", 0);
131 roiManager("Measure");
132 run("Undo");

133
134 // SUPERIOR RIM (80°)
135 roiManager("Select", 1);
136 run("Clear Outside");
137 saveAs("Tiff", dir+nameStore+" - superior_rim.tif");
138 roiManager("Select", 1);
139 roiManager("Measure");
140 run("Undo");
141
142 // INFERIOR RIM (80°)
143 roiManager("Select", 2);
144 run("Clear Outside");
145 saveAs("Tiff", dir+nameStore+" - inferior_rim.tif");
146 roiManager("Select", 2);
147 roiManager("Measure");
148 run("Undo");
149
150 // LEFT_TEMPORAL_OD RIM (90°)
151 roiManager("Select", 3);
152 run("Clear Outside");
153 saveAs("Tiff", dir+nameStore+" - right_temporal_OE_rim.tif");
154 roiManager("Select", 3);
155 roiManager("Measure");
156 run("Undo");
157
158 // RIGHT_NASAL_OD RIM (110°)
159 roiManager("Select", 4);
160 run("Clear Outside");
161 saveAs("Tiff", dir+nameStore+" - left_nasal_OE_rim.tif");
162 roiManager("Select", 4);
163 roiManager("Measure");
164 run("Undo");
165
166 // To save the data into .xlsx file in desktop
167 /* results are displayed as:

```

```
168 * first line: total ring;
169 * second line: superior_rim;
170 * third line: inferior_rim;
171 * fourth line: right_temporal_OE_rim;
172 * fifth line: left_nasal_OE_rim.
173 */
174 run("Read and Write Excel")
175
176 // Close all images
177 run("Close All");
178
179 // Close Results window
180 selectWindow("Results");
181 run("Close");
```

Apêndice F – Código da macro para análise da espessura da coroide da região macular

```
41 // Select a new image to analyze
42 path = File.openDialog("Select a File");
43 open(path);
44 directory = File.directory;
45
46 // Beginning of the loop; This loop allows to analyze images sequentially
47 filelist = getFileList(directory)
48 for (i=0; i < lengthOf(filelist); i++) {
49
50 // Store the selected image name into the nameStore variable
51 nameStore = getTitle();
52 dir = getDirectory("image");
53
54 // Define the scale (width)
55 run("Set Scale...", "distance=53 known=200 unit=micra");
56
57 // Convert to 8-bit image
58 run("8-bit");
59
60 // Selecting the 6mm centered on the fovea
61 makeRectangle(99, 0, 570, 496);
62 run("Crop");
63
64 // Draw the polygon (delimitate the mChoroid)
65 setTool("polygon");
66 waitForUser("Waiting for user to draw a polygon. Press OK to continue..");
67
68 // Clear the content outside of the mChoroid/polygon
69 run("ROI Manager...");
70 roiManager("Add");
71 roiManager("Select", 0);
72 roiManager("Rename", "Total choroid");
73 run("Clear Outside");
74 saveAs("Tiff", dir+nameStore+" - TOTAL CHOROID.tif");
75
76 // Define the scale (height)
77 run("Set Scale...", "distance=53 known=200 unit=micra");
78
79 // Creating rectangles to delimitate each mChoroid sector
80 // Delimitating the LEFT AVERAGE sector
81 makeRectangle(0, 0, 237.5, 496);
82 roiManager("Add");
83 roiManager("Select", 1);
84 roiManager("Rename", "mChoroid_LEFT_AVG");
85 run("Clear Outside");
86 saveAs("Tiff", dir+nameStore+" - LEFT_AVGL.tif");
87 run("Undo");
88
89 // Delimitating the LEFT OUTER (LEFT_OUT) sector
90 makeRectangle(0, 0, 142.5, 496);
91 roiManager("Add");
92 roiManager("Select", 2);
93 roiManager("Rename", "mChoroid_LEFT_OUT");
94 run("Clear Outside");
95 saveAs("Tiff", dir+nameStore+" - LEFT_OUT.tif");
96 run("Undo");
97
98 // Delimitating the LEFT INNER (LEFT_INN) sector
99 makeRectangle(142.5, 0, 95, 496);
100 roiManager("Add");
101 roiManager("Select", 3);
102 roiManager("Rename", "mChoroid_LEFT_INN");
103 run("Clear Outside");
104 saveAs("Tiff", dir+nameStore+" - LEFT_INN.tif");
105 run("Undo");
106
```

```

107 // Delimitating the SUBFOVEAL sector
108 makeRectangle(237.5, 0, 95, 496);
109 roiManager("Add");
110 roiManager("Select", 4);
111 roiManager("Rename", "mChoroid_SUBFOVEAL");
112 run("Clear Outside");
113 saveAs("Tiff", dir+nameStore+ " - SUBFOVEAL.tif");
114 run("Undo");
115
116 // Delimitating the RIGHT AVERAGE sector
117 makeRectangle(332.5, 0, 237.5, 496);
118 roiManager("Add");
119 roiManager("Select", 5);
120 roiManager("Rename", "mChoroid_RIGHT_AVG");
121 run("Clear Outside");
122 saveAs("Tiff", dir+nameStore+ " - RIGHT_AVG.tif");
123 run("Undo");
124
125 // Delimitating the RIGHT INNER (RIGHT_INN) sector
126 makeRectangle(332.5, 0, 95, 496);
127 roiManager("Add");
128 roiManager("Select", 6);
129 roiManager("Rename", "mChoroid_RIGHT_INN");
130 run("Clear Outside");
131 saveAs("Tiff", dir+nameStore+ " - RIGHT_INN.tif");
132 run("Undo");
133
134 // Delimitating the RIGHT OUTER (RIGHT_OUT) sector
135 makeRectangle(427.5, 0, 142.5, 496);
136 roiManager("Add");
137 roiManager("Select", 7);
138 roiManager("Rename", "mChoroid_RIGHT_OUT");
139 run("Clear Outside");
140 saveAs("Tiff", dir+nameStore+ " - RIGHT_OUT.tif");
141 run("Undo");
142
143 // Rename the image to the original title
144 roiManager("Select", 0);
145 rename(nameStore);
146
147 // Analysis of the mean mChoroid thickness in each sector (scale of black-white : highest-lowest height)
148 //Select the mChoroid and filling it in white
149 //setTool("dropper"); to fill the mChoroid selection with white
150 roiManager("Select", 0);
151 run("Color Picker...");
152 setForegroundColor(255, 255, 255);
153 run("Fill", "slice");
154
155 //Calibrate the vertical scale bar (white = 1870 micra; black = 0 micra); 1870 micra is the maximum image height
156 run("Calibrate...", "function=[Straight Line] unit=micra text1=[0.00 255.00] text2=[0\015 1870] show");
157 close();
158
159 //Overall average mChoroid thickness
160 run("Select All");
161 roiManager("Add");
162 roiManager("Select", 8);
163 roiManager("Rename", "mChoroid_TOTAL");
164 run("Set Measurements...", "mean display redirect=None decimal=2");
165 roiManager("Select", 8);
166 run("Measure");
167
168 //LEFT average thickness
169 roiManager("Select", 1);
170 run("Measure");
171
172 //LEFT OUTER thickness
173 roiManager("Select", 2);
174 run("Measure");

```

```

175
176 //LEFT INNER thickness
177 roiManager("Select", 3);
178 run("Measure");
179
180 //SUBFOVEAL thickness
181 roiManager("Select", 4);
182 run("Measure");
183
184 //RIGHT average thickness
185 roiManager("Select", 5);
186 run("Measure");
187
188 //RIGHT INNER thickness
189 roiManager("Select", 6);
190 run("Measure");
191
192 //RIGHT OUTER thickness
193 roiManager("Select", 7);
194 run("Measure");
195
196 // To save the data into .xlsx file in desktop
197 /* results are displayed as:
198 * first line: TOTAL;
199 * second line: LEFT average;
200 * third line: LEFT OUTER;
201 * fourth line: LEFT INNER;
202 * fifth line: SUBFOVEAL;
203 * sixth line: RIGHT average;
204 * seventh line: RIGHT INNER;
205 * eighth line: RIGHT OUTER;
206 */
207 run("Read and Write Excel");
208
209 // Close all images and opened windows (Results, ROI and CP)
210 selectWindow("Results");
211 run("Close");
212 selectWindow("ROI Manager");
213 run("Close");
214 selectWindow("CP");
215 run("Close");
216 run("Close All");
217
218 // Select a new image to analyze the mChoroid thickness
219 path = File.openDialog("Select a File");
220 open(path);
221
222 // End of the Loop
223 }

```


Apêndice G – Código da macro para análise dos plexos e complexos vasculares maculares (mSVC, mNFLVP, mSVP, mDVC, mICP, mDCP, mCoriocapilar e mCoroide)

```
27 // Store the initial image name into the nameStore variable
28 nameStore = getTitle();
29 dir = getDirectory("image");
30
31 // To run this macro faster (without showing images during the process)
32 setBatchMode(true)
33
34 // Convert to 8-bit image
35 run("8-bit");
36
37 // Adjust Thresholding
38 run("Otsu Thresholding");
39
40 // Define the scale
41 run("Set Scale...", "distance=43 known=200 pixel=1 unit=micra");
42
43 // Save the Thresholding image; edit the folder where the image will be saved and rename it if necessary
44 selectWindow("Threshold");
45 rename(nameStore+"Threshold")
46 saveAs("Tiff", dir+nameStore+" - Threshold.tif");
47
48 // Adjust measurements (%pixels/área), measure full macular area and 4 sectors (0- Total area, 1-Superior, 2-Inferior, 3-Left, 4-Right)
49 run("ROI Manager...");
50 run("Set Measurements...", "area_fraction display redirect=None decimal=2");
51 run("Select All");
52 roiManager("Add");
53 roiManager("Select", 0);
54 roiManager("Rename", "Total area");
55 //setTool("polygon"); to create the 4 macular sectors
56 makePolygon(0,0,481,481,962,0);
57 roiManager("Add");
58 roiManager("Select", 1);
59 roiManager("Rename", "Superior");
60 makePolygon(0,962,481,481,962,962);
61 roiManager("Add");
62 roiManager("Select", 2);
63 roiManager("Rename", "Inferior");
64 makePolygon(0,962,481,481,0,0);
65 roiManager("Add");
66 roiManager("Select", 3);
67 roiManager("Rename", "Left");
68 makePolygon(481,481,962,962,962,0);
69 roiManager("Add");
70 roiManager("Select", 4);
71 roiManager("Rename", "Right");
72 roiManager("Show All");
73 roiManager("Select", newArray(0,1,2,3,4));
74 roiManager("Measure");
75
76 // To save the data into .xlsx file in desktop
77 /* results are displayed as:
78 * first line: total macula;
79 * second line: superior sector;
80 * third line: inferior sector;
81 * fourth line: left sector;
82 * fifth line: right sector.
83 */
84 run("Read and Write Excel")
85
86 // Close all open images
87 run("Close All");
88
89 // Close Results window
90 selectWindow("Results");
91 run("Close");
```

Apêndice H – Código da macro para análise da zona avascular foveal superficial

```
29 // Store the initial image name into the nameStore variable
30 nameStore = getTitle();
31 dir = getDirectory("Image");
32
33 // To run this macro faster (without showing images during the process)
34 setBatchMode(true)
35
36 // Convert to 8-bit image
37 run("8-bit");
38
39 // Define the scale
40 run("Set Scale...", "distance=43 known=0.2 pixel=1 unit=mm");
41
42 // setTool("oval"); to select a sector inside the FAZ (the OCTA must be centered in the fovea)
43 makeOval(476, 476, 10, 10);
44
45 // Run Level Sets: delimitate the FAZ
46 run("Level Sets", "method=[Active Contours] use_level_sets grey_value_threshold=50 distance_threshold=0.50 advection=2.20 propagation=1 curvature=1 grayscale=3 convergence=0.0100 region=outside");
47
48 // Analyze the FAZ parameters
49 run("Set Measurements...", "area perimeter shape redirect=None decimal=4");
50 run("Analyze Particles...", "display");
51
52 // Save and close the images
53 saveAs("Iiff", dir+nameStore+" - FAZ");
54 close();
55 saveAs("Iiff", dir+nameStore+" - FAZ limits");
56 close();
57
58 // To save the data into .xls file in desktop
59 run("Read and Write Excel")
60
61 // Close all open images
62 run("Close All");
63
64 // Close Results window
65 selectWindow("Results");
66 run("Close");
67
68 // Close Log window
69 selectWindow("Log");
70 run("Close");
```

Apêndice I – Código da macro para análise da zona avascular foveal profunda

```
29 // Store the initial image name into the nameStore variable
30 nameStore = getTitle();
31 dir = getDirectory("Image");
32
33 // To run this macro faster (without showing images during the process)
34 setBatchMode(true)
35
36 // Convert to 8-bit image
37 run("8-bit");
38
39 // Define the scale
40 run("Set Scale...", "distance=43 known=0.2 pixel=1 unit=mm");
41
42 // setTool("oval"); to select a sector inside the FAZ (the OCTA must be centered in the fovea)
43 makeOval(476, 476, 18, 18);
44
45 // Run Level Sets: delimitate the FAZ
46 run("Level Sets", "method=[Active Contours] use_level_sets grey_value_threshold=50 distance_threshold=0.50 advection=2.20 propagation=1 curvature=1 grayscale=15 convergence=0.0300 region=outside");
47
48 // Analyze the FAZ parameters
49 run("Set Measurements...", "area perimeter shape redirect=None decimal=4");
50 run("Analyze Particles...", "display");
51
52 // Save and close the images
53 saveAs("Ifff", dir+nameStore+ " - FAZ");
54 close();
55 saveAs("Ifff", dir+nameStore+ " - FAZ limits");
56 close();
57
58 // To save the data into .xlsx file in desktop
59 run("Read and Write Excel")
60
61 // Close all open images
62 run("Close All");
63
64 // Close Results window
65 selectWindow("Results");
66 run("Close");
67
68 // Close Log window
69 selectWindow("Log");
70 run("Close");
```

Apêndice J – Artigo publicado – MELLO, L. G. M.; BISSOLI, L. B.; SARAIVA, F. P.; MAIA, R. P. D. et al. Retinal Layers and Choroid Measurements in Parkinson's Disease With or Without Pramipexole Treatment. *Mov Disord*, 35, n. 12, p. 2357-2359, Dec 2020.

LETTERS: NEW OBSERVATION

Retinal Layers and Choroid Measurements in Parkinson's Disease with or Without Pramipexole Treatment

It is known that most of Parkinson's disease (PD) symptoms, including visual disturbances, are secondary to dopaminergic neurons degeneration.¹ Pharmacological treatment is generally directed to correct dopamine deficiency,¹ but 1 dopaminergic agonist, pramipexole, was shown in preclinical studies to also have neuroprotective action.² Optical coherence tomography (OCT) measurements emerged as possible biomarkers of neurodegeneration in PD, but no previous study has evaluated the therapeutic effects of pramipexole using such technology. Also, although OCT-measured neurodegeneration has been well documented based on inner retinal layer (IRL) thinning, knowledge of the PD effect on the outer retinal layers (ORL) and choroid are incomplete.³⁻⁵

We prospectively assessed 38 PD eyes and 40 eyes of healthy controls with regard to the inner and outer retinal layers and choroidal thickness and compared those with or

without pramipexole treatment. See Appendix S1 for the clinical-demographic characteristics, neuro-ophthalmological examination, OCT nomenclature and data, and additional information.

Table 1 shows statistically significant OCT measurements. A thinner fovea in PD was the only significant full-thickness measurement when compared with controls. On the other hand, macular segmentation revealed significantly thinning of several parameters including both the IRL (macular retinal nerve fiber layer, ganglion cell layer + inner plexiform layer, and ganglion cell complex) and ORL in the innermost sectors in patients with PD compared with controls. Choroid thickness determinations were statistically similar between groups, although a tendency for thicker measurements in PD could be observed. PD was further divided into 2 groups: with or without pramipexole treatment. Significant thinning of the inferior inner macular retinal nerve fiber layer, inner annulus ganglion cell complex, inferior inner ganglion cell complex, inferior inner IRL, and superior outer ONL were observed in patients with PD without pramipexole treatment compared with patients with PD with pramipexole treatment.

A recent meta-analysis demonstrated that the ganglion cell layer + inner plexiform layer is the most affected macular

TABLE 1. Mean (standard deviation) values of statistically significant macular retinal layers thickness (µm)

Layer	Sector	Group		P Value
		PD, n = 38	CT, n = 40	
Macula, full-thickness	Fovea	251.15 (21.74)	273.06 (15.70)	<0.001
mRNFL	Inferior-inner	34.46 (4.84)	37.56 (3.61)	0.005
GCL + IPL	Fovea	33.84 (6.54)	42.25 (6.80)	<0.001
GCC	Fovea	37.57 (7.42)	44.59 (8.00)	0.002
	Inferior-inner	119.65 (11.84)	127.12 (7.58)	0.010
IRL	Fovea	64.79 (14.17)	76.37 (12.43)	0.004
ORL	Fovea	171.96 (12.62)	181.44 (9.75)	0.006
		PD-P, n = 20	PD + P, n = 18	
mRNFL	Inferior-inner	32.18 (4.99)	37.00 (3.12)	<0.001
GCC	Inner annulus	113.72 (7.34)	120.67 (5.48)	0.010
	Inferior-inner	113.88 (12.38)	126.07 (6.88)	0.002
IRL	Inferior-inner	158.30 (15.33)	173.53 (7.93)	0.002
ONL	Superior-outer	76.62 (4.59)	81.30 (3.73)	0.010

Bold values are statistically significant at the P value ≤0.01. Abbreviations: PD, Parkinson's disease; n, number of eyes; CT, control; mRNFL, macular retinal nerve fiber layer; GCL + IPL, ganglion cell layer + inner plexiform layer; GCC, ganglion cell complex; IRL, inner retinal layer; ORL, outer retinal layer; ONL: outer nuclear layer; PD-P, patients with PD without pramipexole treatment; PD + P, patients with PD with pramipexole treatment.

© 2020 International Parkinson and Movement Disorder Society

Key Words: optical coherence tomography, Parkinson's disease, pramipexole, retina, retinal ganglion cells

***Correspondence to:** Dr. Luiz Guilherme Marchesi Mello, Division of Ophthalmology, Faculdade de Medicina FMUSP, Universidade de São Paulo, Av. Dr Enéas de Carvalho Aguiar, 255, Cerqueira César, São Paulo, 05403-001, Brazil; E-mail: marchesi_lg@hotmail.com

Relevant conflicts of interest/financial disclosures: The authors report no conflicts of interest relative to the research covered in this article.

Funding agencies: This work was supported by grants CAPES—Coordenação de Aperfeiçoamento de Nível Superior, Brasília, Brazil and CNPq—Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (no. 308172/2018-3), Brasília, Brazil. The funding organizations had no role in the design or conduct of this research.

Received: 12 April 2020; **Revised:** 8 August 2020; **Accepted:** 17 August 2020

Published online in Wiley Online Library (wileyonlinelibrary.com). DOI: 10.1002/mds.28280

layer in PD, but macular sectors, segmented ORL, and the choroid were not meta-analyzed.³ Abnormalities of the ORL have already been described in neurodegenerative diseases, such as glaucoma, multiple sclerosis, and compressive optic neuropathies.⁶ Although ORL dysfunction has been described in PD, few structural analysis were performed. Our findings match previous studies in PD regarding IRL and indicate that ORL are also affected.

Dopamine is an essential chemical messenger in the retinal circuitry, from photoreceptors to ganglion cells. Neuronal death and dysregulation of cellular homeostasis in the retina associated with dopamine deficiency and α -synuclein deposition may explain the predominant thinning of the inner but also the outer retinal layers in PD.^{7,8} A postmortem analysis of patients with PD under levodopa therapy immediately before death showed retinal dopamine levels similar to controls and lower levels in those without levodopa.⁸ These observations support the findings of retinal dopamine deficiency in PD and reveal that antiparkinsonian drugs can alter ocular tissues. Our observations of less prominent retinal abnormalities in PD under pramipexole treatment suggest that the drug can possibly prevent retinal thinning in the disease.

In conclusion, segmented retinal layer measurements are better biomarkers of retinal thinning in PD than full-thickness OCT analysis. The foveal IRL and inner sectors (especially the macular retinal nerve fiber layer and the ganglion cell layer + inner plexiform layer) were significantly thinner in PD than in controls. Pramipexole treatment appeared to prevent retinal degeneration, but further studies are necessary to confirm this finding. ■

Luiz Guilherme Marchesi Mello, MD,^{1,2*} 
 Leandro Bortolon Bissoli, MD,¹
 Fábio Petersen Saraiva, MD, PhD,¹
 Raphael de Paula Doyle Maia, Msc, MD,³ and
 Mário Luiz Ribeiro Monteiro, MD, PhD²

¹Department of Specialized Medicine, Centro de Ciências da Saúde CCS-UFES, Universidade Federal do Espírito Santo, Vitória, Brazil, ²Division of Ophthalmology and the Laboratory for Investigation in Ophthalmology (LIM-33), Faculdade de Medicina FMUSP, Universidade de São Paulo, São Paulo, Brazil, and ³Division of Neurology, Hospital Universitário Cassiano Antonio Moraes HUCAM/EBSEF, Universidade Federal do Espírito Santo, Vitória, Brazil

References

1. Ekker MS, Janssen S, Seppi K, et al. Ocular and visual disorders in Parkinson's disease: common but frequently overlooked. *Parkinsonism Relat Disord* 2017;40:1-10.
2. Albrecht S, Buerger E. Potential neuroprotection mechanisms in PD: focus on dopamine agonist pramipexole. *Curr Med Res Opin* 2009; 25:2977-2987.
3. Chrysou A, Jansonius NM, van Laar T. Retinal layers in Parkinson's disease: a meta-analysis of spectral-domain optical coherence tomography studies. *Parkinsonism Relat Disord* 2019;64:40-49.
4. Moschos MM, Chatziralli IP. Evaluation of choroidal and retinal thickness changes in Parkinson's disease using spectral domain optical coherence tomography. *Semin Ophthalmol* 2018;33:494-497.
5. Obis J, Satue M, Alarcia R, Pablo LE, Garcia-Marrin E. Update on visual function and choroidal-retinal thickness alterations in Parkinson's disease. *Arch Soc Esp Ophthalmol* 2018;93:231-238.
6. de Araujo RB, Oyamada MK, Zacharias LC, Cunha LP, Preti RC, Monteiro MLR. Morphological and functional inner and outer retinal layer abnormalities in eyes with permanent temporal hemianopia from Chiasmal compression. *Front Neurol* 2017;8:619.
7. Veys L, Vandenabeele M, Ortuno-Lizaran I, et al. Retinal alpha-synuclein deposits in Parkinson's disease patients and animal models. *Acta Neuropathol* 2019;137:379-395.
8. Harnois C, Di Paolo T. Decreased dopamine in the retinas of patients with Parkinson's disease. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 1990;31:2473-2475.

Supporting Data

Additional Supporting Information may be found in the online version of this article at the publisher's web-site.

Apêndice K – Média (DP) da espessura (μm) e volume (mm^3) da pRNFL, mCoroide e espessura macular total dos grupos PD e CT

	Parâmetro	PD (n = 38)	CT (n = 40)	Valor p	
pRNFL	Média	93,18 (10,42)	91,18 (7,23)	0,476	
	Inferior	121,58 (16,36)	121,78 (13,88)	0,966	
	Nasal	73,58 (12,46)	68,40 (9,76)	0,127	
	Superior	116,95 (14,93)	112,98 (11,33)	0,314	
	Temporal	60,71 (10,11)	61,55 (7,13)	0,744	
Macula	Média global	301,35 (14,68)	303,34 (11,27)	0,613	
	Fóvea	251,15 (21,74)	273,06 (15,70)	<0,001	
	Anel interno ¹	328,05 (14,71)	336,00 (14,03)	0,068	
	Anel externo ¹	295,23 (15,53)	294,71 (10,88)	0,899	
	Anéis ¹	302,80 (14,75)	304,22 (11,32)	0,720	
	Inferior	297,63 (15,35)	296,42 (10,67)	0,751	
	Nasal	320,28 (17,27)	323,99 (13,50)	0,429	
	Superior	303,71 (14,92)	306,95 (12,79)	0,437	
	Temporal	289,26 (13,90)	289,21 (11,95)	0,989	
	Inferior-interno	327,78 (16,90)	335,87 (13,56)	0,074	
	Nasal-interno	333,45 (17,06)	342,86 (14,95)	0,051	
	Superior-interno	333,34 (13,78)	339,51 (14,35)	0,141	
	Temporal-interno	317,61 (14,66)	325,78 (15,04)	0,070	
	Inferior-externo	288,52 (16,41)	284,46 (10,91)	0,300	
	Nasal-externo	316,36 (18,47)	318,39 (13,75)	0,683	
	Superior-externo	294,76 (16,17)	297,28 (12,93)	0,563	
	Temporal-externo	280,72 (14,73)	278,25 (11,42)	0,525	
	Volume total	10,25 (0,52)	10,30 (0,39)	0,740	
	mCoroide	Média global	299,06 (52,85)	293,97 (40,67)	0,658
		Subfoveal (1 mm)	327,36 (63,51)	320,00 (49,91)	0,726
		Anel interno ¹	323,77 (58,02)	315,24 (46,63)	0,594
		Anel externo ¹	290,58 (51,92)	286,63 (39,07)	0,781
		Anéis ¹	298,24 (52,74)	293,22 (40,48)	0,729
Inferior		307,33 (62,75)	294,23 (52,72)	0,449	
Nasal		278,00 (56,34)	267,55 (49,43)	0,518	
Superior		319,56 (57,98)	321,59 (42,65)	0,895	
Temporal		288,29 (46,07)	289,34 (33,49)	0,931	
Inferior-interno		322,90 (65,98)	309,73 (52,92)	0,460	
Nasal-interno		320,79 (62,51)	309,06 (55,70)	0,508	
Superior-interno		332,81 (59,28)	327,23 (45,81)	0,718	
Temporal-interno		318,57 (54,58)	314,92 (43,35)	0,806	
Inferior-externo		302,61 (64,03)	289,45 (53,81)	0,454	
Nasal-externo		265,30 (55,61)	255,23 (48,43)	0,527	
Superior-externo		315,56 (59,85)	319,92 (42,49)	0,781	
Temporal-externo		279,15 (44,12)	281,65 (32,12)	0,829	
Volume total	10,86 (1,80)	10,75 (1,38)	0,814		

Apêndice K – Média (DP) da espessura (μm) e volume (mm^3) da pRNFL, mCoroide e espessura macular total dos grupos PD e CT

Parâmetro	PD (n = 38)	CT (n = 40)	Valor p
------------------	--------------------	--------------------	----------------

NOTA: CT = grupo controle; PD = grupo com a doença de Parkinson; mCoroide = coroide da região macular; pRNFL = camada de fibras nervosas da retina peripapilar; DP = desvio padrão. A análise estatística foi realizada utilizando equações de estimação generalizadas (GEE). Os valores de p estatisticamente significantes ($\leq 0,01$) são mostrados em negrito e sublinhados.

¹ Os anéis correspondem aos setores do ETDRS com diâmetro interno de 1 mm e diâmetro externo de 3 mm (Anel interno), com diâmetro interno de 3 mm e diâmetro externo de 6 mm (Anel externo) e à média dos anéis interno e externo (Anéis).

Apêndice L – Média (DP) da espessura (μm) e volume (mm^3) das camadas da retina em região macular dos grupos PD e CT

	Parâmetro	PD (n = 38)	CT (n = 40)	Valor p
mRNFL	Média global	43,43 (3,93)	44,78 (3,96)	0,242
mRNFL	Fóvea	3,72 (3,11)	2,35 (2,16)	0,054
mRNFL	Anel interno ¹	32,07 (2,43)	33,61 (2,50)	0,024
mRNFL	Anel externo ¹	48,32 (4,92)	49,70 (4,70)	0,331
mRNFL	Anéis ¹	44,57 (4,06)	45,99 (4,07)	0,230
mRNFL	Inferior	48,30 (5,29)	49,39 (5,25)	0,480
mRNFL	Nasal	53,18 (5,99)	56,95 (5,98)	0,031
mRNFL	Superior	46,36 (4,60)	47,34 (4,36)	0,423
mRNFL	Temporal	30,39 (2,64)	30,24 (2,54)	0,835
mRNFL	Inferior-interno	34,46 (4,84)	37,56 (3,61)	0,005
mRNFL	Nasal-interno	30,70 (3,25)	32,18 (2,87)	0,078
mRNFL	Superior-interno	36,21 (5,06)	36,94 (3,47)	0,519
mRNFL	Temporal-interno	26,92 (2,07)	27,75 (2,15)	0,157
mRNFL	Inferior-externo	52,47 (6,28)	52,97 (6,04)	0,780
mRNFL	Nasal-externo	59,86 (7,20)	64,30 (7,26)	0,036
mRNFL	Superior-externo	49,40 (5,28)	50,43 (5,13)	0,476
mRNFL	Temporal-externo	31,43 (3,20)	30,98 (2,88)	0,600
mRNFL	Volume total	1,74 (0,18)	1,79 (0,16)	0,310
GCL+	Média global	67,28 (5,33)	67,22 (3,51)	0,969
GCL+	Fóvea	33,84 (6,54)	42,25 (6,80)	<0,001
GCL+	Anel interno ¹	84,94 (6,14)	88,92 (5,26)	0,025
GCL+	Anel externo ¹	63,23 (5,61)	61,67 (3,35)	0,284
GCL+	Anéis ¹	68,24 (5,42)	67,94 (3,56)	0,835
GCL+	Inferior	65,55 (5,46)	64,59 (4,42)	0,525
GCL+	Nasal	72,11 (6,59)	71,20 (3,62)	0,582
GCL+	Superior	66,70 (5,41)	67,72 (3,13)	0,446
GCL+	Temporal	68,51 (5,77)	68,16 (4,85)	0,836
GCL+	Inferior-interno	85,19 (8,15)	89,56 (5,76)	0,043
GCL+	Nasal-interno	86,69 (7,29)	90,85 (5,47)	0,035
GCL+	Superior-interno	86,41 (5,77)	89,90 (5,07)	0,027
GCL+	Temporal-interno	81,46 (5,63)	85,35 (6,05)	0,030
GCL+	Inferior-externo	59,62 (5,56)	57,02 (4,63)	0,083
GCL+	Nasal-externo	67,78 (7,06)	65,37 (3,78)	0,169
GCL+	Superior-externo	60,75 (5,89)	61,14 (3,05)	0,782
GCL+	Temporal-externo	64,60 (6,35)	63,01 (4,73)	0,359
GCL+	Volume total	2,26 (0,18)	2,26 (0,11)	0,934
INL	Média global	38,53 (2,07)	38,04 (1,52)	0,368
INL	Fóvea	30,94 (8,59)	34,19 (7,40)	0,171
INL	Anel interno ¹	45,60 (2,72)	46,31 (2,46)	0,357
INL	Anel externo ¹	36,69 (1,98)	35,71 (1,37)	0,054
INL	Anéis ¹	38,75 (2,04)	38,15 (1,52)	0,267
INL	Inferior	37,17 (2,05)	36,29 (2,05)	0,138

Apêndice L – Média (DP) da espessura (μm) e volume (mm^3) das camadas da retina em região macular dos grupos PD e CT

	Parâmetro	PD (n = 38)	CT (n = 40)	Valor p
INL	Nasal	40,35 (2,63)	39,52 (1,91)	0,197
INL	Superior	38,10 (2,63)	37,71 (2,15)	0,580
INL	Temporal	39,32 (2,15)	39,05 (1,88)	0,644
INL	Inferior-interno	45,87 (3,65)	45,77 (2,87)	0,917
INL	Nasal-interno	46,69 (3,24)	47,35 (2,95)	0,440
INL	Superior-interno	45,83 (2,86)	46,76 (3,11)	0,259
INL	Temporal-interno	44,01 (3,09)	45,34 (2,82)	0,123
INL	Inferior-externo	34,54 (2,11)	33,41 (2,04)	0,054
INL	Nasal-externo	38,47 (2,74)	37,20 (1,91)	0,055
INL	Superior-externo	35,77 (2,83)	35,02 (2,06)	0,305
INL	Temporal-externo	37,90 (2,03)	37,16 (1,81)	0,178
INL	Volume total	1,30 (0,07)	1,29 (0,05)	0,306
IRL	Média global	149,26 (11,08)	150,10 (7,91)	0,756
IRL	Fóvea	64,79 (14,17)	76,37 (12,43)	0,004
IRL	Anel interno ¹	162,67 (9,31)	168,81 (8,76)	0,030
IRL	Anel externo ¹	148,24 (10,72)	147,08 (7,16)	0,686
IRL	Anéis ¹	151,58 (9,88)	152,04 (7,30)	0,867
IRL	Inferior	150,93 (11,08)	150,36 (7,91)	0,846
IRL	Nasal	165,63 (11,79)	167,62 (8,25)	0,533
IRL	Superior	151,15 (9,76)	152,76 (7,49)	0,537
IRL	Temporal	138,23 (8,92)	137,42 (7,68)	0,755
IRL	Inferior-interno	165,52 (14,52)	172,89 (8,96)	0,040
IRL	Nasal-interno	164,09 (11,62)	170,41 (9,41)	0,050
IRL	Superior-interno	168,47 (8,58)	173,52 (9,39)	0,050
IRL	Temporal-interno	152,37 (8,87)	158,47 (9,74)	0,035
IRL	Inferior-externo	146,62 (11,71)	143,42 (8,37)	0,300
IRL	Nasal-externo	166,08 (12,87)	166,82 (8,72)	0,832
IRL	Superior-externo	145,92 (11,28)	146,61 (7,63)	0,813
IRL	Temporal-externo	133,94 (9,80)	131,31 (7,47)	0,313
IRL	Volume total	5,31 (0,37)	5,34 (0,26)	0,757
GCL++	Média global	110,70 (8,40)	112,00 (6,43)	0,577
GCL++	Fóvea	37,57 (7,42)	44,59 (8,00)	0,002
GCL++	Anel interno ¹	117,01 (7,39)	122,52 (7,17)	0,013
GCL++	Anel externo ¹	111,55 (9,54)	111,37 (6,61)	0,943
GCL++	Anéis ¹	112,81 (8,61)	113,93 (6,55)	0,636
GCL++	Inferior	113,85 (9,79)	113,98 (7,19)	0,962
GCL++	Nasal	125,29 (10,40)	128,15 (8,01)	0,320
GCL++	Superior	113,06 (8,26)	115,07 (6,50)	0,359
GCL++	Temporal	98,89 (7,79)	98,40 (6,52)	0,823
GCL++	Inferior-interno	119,65 (11,84)	127,12 (7,58)	0,010
GCL++	Nasal-interno	117,39 (9,33)	123,03 (7,77)	0,028
GCL++	Superior-interno	122,62 (7,73)	126,84 (7,55)	0,047

Apêndice L – Média (DP) da espessura (μm) e volume (mm^3) das camadas da retina em região macular dos grupos PD e CT

	Parâmetro	PD (n = 38)	CT (n = 40)	Valor p
GCL++	Temporal-interno	108,38 (6,69)	113,10 (7,77)	0,034
GCL++	Inferior-externo	112,09 (10,59)	109,99 (7,70)	0,453
GCL++	Nasal-externo	127,63 (11,49)	129,67 (8,66)	0,521
GCL++	Superior-externo	110,15 (9,46)	111,57 (6,87)	0,560
GCL++	Temporal-externo	96,03 (8,85)	93,99 (6,48)	0,392
GCL++	Volume total	4,00 (0,33)	4,05 (0,24)	0,588
OPL	Média global	18,63 (1,92)	17,99 (1,69)	0,212
OPL	Fóvea	16,65 (3,10)	18,06 (1,81)	0,046
OPL	Anel interno ¹	21,80 (3,52)	21,44 (3,28)	0,694
OPL	Anel externo ¹	17,76 (1,71)	16,96 (1,39)	0,082
OPL	Anéis ¹	18,69 (1,94)	17,99 (1,73)	0,180
OPL	Inferior	18,66 (2,67)	17,95 (3,03)	0,336
OPL	Nasal	20,42 (3,37)	19,36 (2,38)	0,198
OPL	Superior	17,83 (1,42)	17,56 (1,06)	0,447
OPL	Temporal	17,82 (1,75)	17,09 (1,99)	0,173
OPL	Inferior-interno	22,84 (6,48)	22,73 (7,06)	0,950
OPL	Nasal-interno	23,59 (6,30)	22,75 (4,92)	0,563
OPL	Superior-interno	20,67 (2,01)	20,55 (3,10)	0,846
OPL	Temporal-interno	20,08 (2,57)	19,73 (2,78)	0,617
OPL	Inferior-externo	17,40 (1,99)	16,50 (2,21)	0,098
OPL	Nasal-externo	19,48 (2,92)	18,36 (1,87)	0,123
OPL	Superior-externo	16,97 (1,44)	16,67 (0,85)	0,388
OPL	Temporal-externo	17,14 (1,64)	16,29 (1,84)	0,099
OPL	Volume total	0,65 (0,06)	0,63 (0,05)	0,238
ONL	Média global	80,83 (4,58)	80,93 (4,02)	0,941
ONL	Fóvea	105,79 (9,38)	112,19 (7,29)	0,012
ONL	Anel interno ¹	89,79 (6,58)	90,66 (6,42)	0,664
ONL	Anel externo ¹	77,20 (4,21)	76,85 (3,53)	0,772
ONL	Anéis ¹	80,11 (4,55)	80,03 (3,98)	0,952
ONL	Inferior	76,83 (5,11)	75,16 (4,38)	0,299
ONL	Nasal	81,02 (5,88)	81,18 (5,85)	0,929
ONL	Superior	81,56 (5,20)	82,63 (4,72)	0,482
ONL	Temporal	80,96 (4,48)	81,06 (3,60)	0,935
ONL	Inferior-interno	86,78 (9,74)	85,79 (8,82)	0,701
ONL	Nasal-interno	90,48 (9,53)	92,39 (9,97)	0,505
ONL	Superior-interno	90,59 (7,20)	91,91 (7,75)	0,546
ONL	Temporal-interno	91,33 (5,76)	92,55 (5,24)	0,461
ONL	Inferior-externo	73,82 (4,37)	71,94 (3,69)	0,117
ONL	Nasal-externo	78,21 (5,45)	77,85 (4,95)	0,824
ONL	Superior-externo	78,84 (4,81)	79,87 (4,30)	0,465
ONL	Temporal-externo	77,84 (4,34)	77,62 (3,31)	0,855
ONL	Volume total	2,82 (0,16)	2,83 (0,13)	0,917

Apêndice L – Média (DP) da espessura (μm) e volume (mm^3) das camadas da retina em região macular dos grupos PD e CT

Parâmetro		PD (n = 38)	CT (n = 40)	Valor p
PRL	Média global	40,81 (2,52)	41,52 (5,06)	0,543
PRL	Fóvea	49,51 (3,21)	51,26 (4,95)	0,146
PRL	Anel interno ¹	41,82 (3,36)	41,76 (5,68)	0,962
PRL	Anel externo ¹	40,18 (2,45)	41,09 (4,95)	0,431
PRL	Anéis ¹	40,56 (2,54)	41,25 (5,06)	0,563
PRL	Inferior	40,06 (3,00)	40,73 (5,05)	0,569
PRL	Nasal	40,62 (2,67)	41,33 (4,88)	0,530
PRL	Superior	41,49 (2,89)	42,24 (5,71)	0,583
PRL	Temporal	40,08 (2,86)	40,68 (5,28)	0,628
PRL	Inferior-interno	41,13 (3,91)	41,06 (6,09)	0,956
PRL	Nasal-interno	42,62 (3,68)	42,70 (5,57)	0,957
PRL	Superior-interno	41,67 (3,82)	41,44 (6,05)	0,872
PRL	Temporal-interno	41,85 (3,60)	41,83 (5,92)	0,989
PRL	Inferior-externo	39,75 (3,04)	40,63 (4,85)	0,436
PRL	Nasal-externo	40,02 (2,62)	40,92 (4,79)	0,417
PRL	Superior-externo	41,43 (2,84)	42,47 (5,73)	0,450
PRL	Temporal-externo	39,54 (2,79)	40,33 (5,16)	0,512
PRL	Volume total	1,47 (0,09)	1,50 (0,17)	0,439
ORL	Média global	140,30 (6,03)	140,41 (5,86)	0,951
ORL	Fóvea	171,96 (12,62)	181,44 (9,75)	0,006
ORL	Anel interno ¹	153,36 (7,56)	153,85 (7,86)	0,835
ORL	Anel externo ¹	135,18 (5,80)	134,89 (5,47)	0,867
ORL	Anéis ¹	139,30 (5,96)	139,23 (5,86)	0,966
ORL	Inferior	135,55 (5,80)	133,80 (5,93)	0,312
ORL	Nasal	142,05 (6,97)	141,80 (6,66)	0,905
ORL	Superior	140,92 (6,66)	142,37 (6,47)	0,464
ORL	Temporal	138,87 (6,01)	138,85 (6,23)	0,992
ORL	Inferior-interno	150,79 (8,01)	149,57 (8,28)	0,614
ORL	Nasal-interno	156,75 (8,54)	157,79 (9,03)	0,700
ORL	Superior-interno	152,92 (8,44)	153,89 (8,29)	0,696
ORL	Temporal-interno	153,26 (8,07)	154,06 (7,77)	0,733
ORL	Inferior-externo	131,02 (5,77)	129,16 (5,51)	0,257
ORL	Nasal-externo	137,73 (7,04)	137,15 (6,34)	0,780
ORL	Superior-externo	137,24 (6,38)	139,04 (6,29)	0,343
ORL	Temporal-externo	134,55 (5,77)	134,18 (5,98)	0,831
ORL	Volume total	4,94 (0,20)	4,96 (0,19)	0,778

NOTA: CT = grupo controle; PD = grupo de participantes com a doença de Parkinson; GCL+ = soma da camada de células ganglionares com a camada plexiforme interna; GCL++ = complexo de células ganglionares; INL = camada nuclear interna; IRL = camadas internas da retina; mRNFL = camada de fibras nervosas da retina macular; ONL = camada nuclear externa; OPL = camada plexiforme externa; ORL = camadas externas da retina; PRL = camada de fotorreceptores; DP = desvio padrão. A análise estatística foi realizada utilizando

Apêndice L – Média (DP) da espessura (μm) e volume (mm^3) das camadas da retina em região macular dos grupos PD e CT

Parâmetro	PD (n = 38)	CT (n = 40)	Valor p
------------------	--------------------	--------------------	----------------

equações de estimação generalizadas (GEE). Os valores de p estatisticamente significantes ($\leq 0,01$) são mostrados em negrito e sublinhados.

¹ Os anéis correspondem aos setores do ETDRS com diâmetro interno de 1 mm e diâmetro externo de 3 mm (Anel interno), com diâmetro interno de 3 mm e diâmetro externo de 6 mm (Anel externo) e à média dos anéis interno e externo (Anéis).

Apêndice M – Média (DP) da espessura (μm) e volume (mm^3) das camadas da retina em região macular e da coroide dos grupos de participantes com a doença de Parkinson com e sem uso do pramipexol

	Parâmetro	PD-P (n = 20)	PD+P (n = 18)	Valor p
mRNFL	Média global	42,49 (4,25)	44,46 (3,24)	0,195
mRNFL	Fóvea	4,21 (3,71)	3,19 (2,16)	0,359
mRNFL	Anel interno ¹	31,40 (2,16)	32,82 (2,50)	0,100
mRNFL	Anel externo ¹	47,28 (5,41)	49,48 (3,99)	0,257
mRNFL	Anéis ¹	43,60 (4,41)	45,64 (3,32)	0,192
mRNFL	Inferior	46,07 (5,56)	50,78 (3,62)	0,013
mRNFL	Nasal	51,93 (5,84)	54,56 (5,85)	0,256
mRNFL	Superior	45,93 (4,99)	46,84 (4,07)	0,592
mRNFL	Temporal	30,45 (2,93)	30,32 (2,27)	0,896
mRNFL	Inferior-interno	32,18 (4,99)	37,00 (3,12)	<u><0,001</u>
mRNFL	Nasal-interno	30,11 (2,97)	31,34 (3,42)	0,296
mRNFL	Superior-interno	36,55 (5,10)	35,83 (4,99)	0,699
mRNFL	Temporal-interno	26,76 (2,32)	27,10 (1,73)	0,664
mRNFL	Inferior-externo	50,24 (6,70)	54,94 (4,67)	0,047
mRNFL	Nasal-externo	58,43 (7,16)	61,44 (6,92)	0,284
mRNFL	Superior-externo	48,77 (5,80)	50,11 (4,53)	0,498
mRNFL	Temporal-externo	31,56 (3,47)	31,28 (2,85)	0,821
mRNFL	Volume total	1,69 (0,20)	1,80 (0,12)	0,100
GCL+	Média global	65,63 (6,08)	69,10 (3,54)	0,117
GCL+	Fóvea	31,37 (6,64)	36,59 (5,18)	0,032
GCL+	Anel interno ¹	82,32 (6,41)	87,85 (4,20)	0,018
GCL+	Anel externo ¹	61,91 (6,38)	64,70 (4,15)	0,244
GCL+	Anéis ¹	66,62 (6,17)	70,04 (3,68)	0,131
GCL+	Inferior	64,34 (6,33)	66,90 (3,86)	0,261
GCL+	Nasal	69,99 (6,92)	74,47 (5,28)	0,097
GCL+	Superior	64,84 (6,05)	68,77 (3,60)	0,067
GCL+	Temporal	67,23 (6,96)	69,93 (3,57)	0,262
GCL+	Inferior-interno	81,70 (8,88)	89,07 (4,91)	0,014
GCL+	Nasal-interno	83,75 (7,45)	89,96 (5,50)	0,026
GCL+	Superior-interno	84,20 (5,81)	88,86 (4,61)	0,018
GCL+	Temporal-interno	79,60 (6,13)	83,52 (4,13)	0,074
GCL+	Inferior-externo	59,09 (6,53)	60,21 (4,15)	0,626
GCL+	Nasal-externo	65,89 (7,31)	69,88 (6,13)	0,176
GCL+	Superior-externo	58,94 (6,54)	62,76 (4,24)	0,112
GCL+	Temporal-externo	63,49 (7,64)	65,84 (4,17)	0,380
GCL+	Volume total	2,20 (0,20)	2,33 (0,12)	0,091
INL	Média global	38,02 (2,31)	39,09 (1,58)	0,207
INL	Fóvea	31,06 (10,77)	30,79 (5,19)	0,938
INL	Anel interno ¹	44,76 (2,80)	46,54 (2,28)	0,099
INL	Anel externo ¹	36,26 (2,14)	37,17 (1,66)	0,265

Apêndice M – Média (DP) da espessura (μm) e volume (mm^3) das camadas da retina em região macular e da coroide dos grupos de participantes com a doença de Parkinson com e sem uso do pramipexol

	Parâmetro	PD-P (n = 20)	PD+P (n = 18)	Valor p
INL	Anéis ¹	38,22 (2,20)	39,33 (1,65)	0,183
INL	Inferior	36,83 (2,31)	37,55 (1,65)	0,383
INL	Nasal	39,86 (2,62)	40,89 (2,53)	0,323
INL	Superior	37,14 (2,80)	39,17 (1,93)	0,051
INL	Temporal	38,99 (2,13)	39,68 (2,12)	0,426
INL	Inferior-interno	44,46 (3,66)	47,44 (2,94)	0,034
INL	Nasal-interno	45,75 (2,98)	47,74 (3,19)	0,101
INL	Superior-interno	45,10 (2,99)	46,64 (2,47)	0,164
INL	Temporal-interno	43,72 (2,84)	44,34 (3,31)	0,621
INL	Inferior-externo	34,52 (2,45)	34,56 (1,64)	0,962
INL	Nasal-externo	38,11 (2,74)	38,86 (2,69)	0,495
INL	Superior-externo	34,71 (2,95)	36,93 (2,14)	0,045
INL	Temporal-externo	37,57 (2,03)	38,28 (1,96)	0,377
INL	Volume total	1,29 (0,07)	1,32 (0,06)	0,175
IRL	Média global	146,20 (11,29)	152,66 (5,93)	0,102
IRL	Fóvea	62,45 (16,84)	67,38 (9,80)	0,385
IRL	Anel interno ¹	158,45 (9,57)	167,36 (6,39)	0,011
IRL	Anel externo ¹	145,45 (12,51)	151,33 (7,11)	0,189
IRL	Anéis ¹	148,45 (11,47)	155,05 (6,09)	0,102
IRL	Inferior	147,15 (12,51)	155,14 (7,19)	0,073
IRL	Nasal	161,70 (13,33)	169,99 (7,83)	0,082
IRL	Superior	147,90 (11,02)	154,75 (6,43)	0,068
IRL	Temporal	136,65 (10,66)	139,98 (6,01)	0,378
IRL	Inferior-interno	158,30 (15,33)	173,53 (7,93)	0,002
IRL	Nasal-interno	159,60 (11,64)	169,09 (9,37)	0,032
IRL	Superior-interno	165,80 (8,39)	171,43 (7,83)	0,063
IRL	Temporal-interno	150,10 (9,48)	154,89 (7,35)	0,187
IRL	Inferior-externo	143,85 (13,56)	149,71 (8,18)	0,222
IRL	Nasal-externo	162,40 (14,69)	170,18 (8,85)	0,149
IRL	Superior-externo	142,45 (12,65)	149,78 (7,89)	0,100
IRL	Temporal-externo	132,70 (11,63)	135,32 (6,97)	0,533
IRL	Volume total	5,18 (0,43)	5,45 (0,22)	0,063
GCL++	Média global	108,13 (9,71)	113,56 (5,37)	0,109
GCL++	Fóvea	35,58 (7,97)	39,78 (6,04)	0,140
GCL++	Anel interno ¹	113,72 (7,34)	120,67 (5,48)	0,010
GCL++	Anel externo ¹	109,18 (11,13)	114,18 (6,44)	0,207
GCL++	Anéis ¹	110,22 (9,97)	115,68 (5,50)	0,117
GCL++	Inferior	110,40 (11,05)	117,69 (6,24)	0,061
GCL++	Nasal	121,92 (11,60)	129,03 (7,21)	0,087
GCL++	Superior	110,77 (9,33)	115,60 (5,92)	0,128

Apêndice M – Média (DP) da espessura (μm) e volume (mm^3) das camadas da retina em região macular e da coroide dos grupos de participantes com a doença de Parkinson com e sem uso do pramipexol

	Parâmetro	PD-P (n = 20)	PD+P (n = 18)	Valor p
GCL++	Temporal	97,68 (9,38)	100,25 (5,19)	0,430
GCL++	Inferior-interno	113,88 (12,38)	126,07 (6,88)	<u>0,002</u>
GCL++	Nasal-interno	113,86 (9,18)	121,30 (7,81)	0,033
GCL++	Superior-interno	120,75 (7,50)	124,69 (7,45)	0,149
GCL++	Temporal-interno	106,36 (7,49)	110,62 (4,74)	0,106
GCL++	Inferior-externo	109,33 (12,18)	115,15 (7,35)	0,175
GCL++	Nasal-externo	124,32 (12,96)	131,32 (8,14)	0,137
GCL++	Superior-externo	107,71 (10,71)	112,86 (6,90)	0,169
GCL++	Temporal-externo	95,05 (10,52)	97,11 (6,35)	0,581
GCL++	Volume total	3,89 (0,38)	4,13 (0,20)	0,072
OPL	Média global	18,18 (1,57)	19,13 (2,14)	0,205
OPL	Fóvea	16,16 (3,07)	17,18 (3,05)	0,396
OPL	Anel interno ¹	21,10 (2,10)	22,57 (4,48)	0,259
OPL	Anel externo ¹	17,38 (1,62)	18,17 (1,72)	0,259
OPL	Anéis ¹	18,24 (1,59)	19,18 (2,17)	0,214
OPL	Inferior	18,03 (1,87)	19,35 (3,20)	0,155
OPL	Nasal	19,43 (2,31)	21,52 (3,96)	0,119
OPL	Superior	17,72 (1,74)	17,95 (0,92)	0,686
OPL	Temporal	17,77 (1,82)	17,89 (1,66)	0,860
OPL	Inferior-interno	21,50 (3,55)	24,33 (8,39)	0,235
OPL	Nasal-interno	22,27 (4,65)	25,05 (7,47)	0,210
OPL	Superior-interno	20,79 (2,53)	20,54 (1,20)	0,759
OPL	Temporal-interno	19,84 (2,24)	20,35 (2,88)	0,558
OPL	Inferior-externo	16,98 (1,73)	17,87 (2,15)	0,211
OPL	Nasal-externo	18,59 (2,16)	20,47 (3,30)	0,123
OPL	Superior-externo	16,78 (1,69)	17,18 (1,05)	0,499
OPL	Temporal-externo	17,15 (1,82)	17,14 (1,41)	0,997
OPL	Volume total	0,63 (0,05)	0,67 (0,06)	0,158
ONL	Média global	79,40 (3,95)	82,41 (4,70)	0,125
ONL	Fóvea	102,77 (9,32)	109,15 (8,23)	0,089
ONL	Anel interno ¹	88,70 (5,57)	91,00 (7,35)	0,424
ONL	Anel externo ¹	75,72 (3,85)	78,84 (3,99)	0,078
ONL	Anéis ¹	78,73 (3,96)	81,64 (4,68)	0,136
ONL	Inferior	76,53 (4,22)	77,16 (5,93)	0,777
ONL	Nasal	79,60 (5,54)	82,60 (5,83)	0,227
ONL	Superior	79,25 (4,96)	84,12 (4,15)	0,014
ONL	Temporal	79,45 (3,59)	82,64 (4,76)	0,089
ONL	Inferior-interno	87,64 (6,92)	85,82 (12,06)	0,643
ONL	Nasal-interno	89,77 (8,43)	91,26 (10,56)	0,707
ONL	Superior-interno	87,92 (6,69)	93,55 (6,25)	0,041

Apêndice M – Média (DP) da espessura (μm) e volume (mm^3) das camadas da retina em região macular e da coroide dos grupos de participantes com a doença de Parkinson com e sem uso do pramipexol

	Parâmetro	PD-P (n = 20)	PD+P (n = 18)	Valor p
ONL	Temporal-interno	89,49 (5,11)	93,38 (5,76)	0,100
ONL	Inferior-externo	73,19 (4,26)	74,53 (4,39)	0,472
ONL	Nasal-externo	76,56 (5,30)	80,03 (5,02)	0,125
ONL	Superior-externo	76,62 (4,59)	81,30 (3,73)	0,010
ONL	Temporal-externo	76,42 (3,52)	79,41 (4,62)	0,101
ONL	Volume total	2,77 (0,14)	2,88 (0,15)	0,086
PRL	Média global	40,50 (2,38)	41,16 (2,62)	0,518
PRL	Fóvea	48,40 (3,11)	50,73 (2,86)	0,049
PRL	Anel interno ¹	41,22 (3,31)	42,49 (3,28)	0,334
PRL	Anel externo ¹	39,98 (2,22)	40,40 (2,66)	0,677
PRL	Anéis ¹	40,27 (2,39)	40,89 (2,66)	0,552
PRL	Inferior	39,75 (2,65)	40,41 (3,31)	0,577
PRL	Nasal	40,12 (2,22)	41,16 (2,99)	0,319
PRL	Superior	41,51 (2,75)	41,45 (3,03)	0,959
PRL	Temporal	39,71 (2,92)	40,49 (2,72)	0,491
PRL	Inferior-interno	40,87 (3,98)	41,42 (3,81)	0,712
PRL	Nasal-interno	41,95 (3,64)	43,37 (3,57)	0,339
PRL	Superior-interno	41,08 (3,47)	42,33 (4,07)	0,373
PRL	Temporal-interno	40,97 (3,43)	42,83 (3,53)	0,172
PRL	Inferior-externo	39,41 (2,57)	40,11 (3,45)	0,562
PRL	Nasal-externo	39,58 (2,00)	40,51 (3,09)	0,355
PRL	Superior-externo	41,65 (2,68)	41,19 (2,98)	0,698
PRL	Temporal-externo	39,33 (2,91)	39,78 (2,62)	0,686
PRL	Volume total	1,46 (0,08)	1,48 (0,09)	0,679
ORL	Média global	138,10 (4,79)	142,74 (6,33)	0,059
ORL	Fóvea	167,35 (11,76)	177,09 (11,53)	0,055
ORL	Anel interno ¹	151,00 (6,18)	155,96 (8,06)	0,109
ORL	Anel externo ¹	133,10 (4,98)	137,50 (5,80)	0,063
ORL	Anéis ¹	137,15 (4,79)	141,69 (6,24)	0,065
ORL	Inferior	134,40 (5,40)	136,81 (5,91)	0,328
ORL	Nasal	139,15 (5,91)	145,27 (6,62)	0,029
ORL	Superior	138,50 (5,27)	143,60 (7,03)	0,055
ORL	Temporal	136,95 (4,59)	141,00 (6,64)	0,103
ORL	Inferior-interno	150,15 (8,28)	151,49 (7,62)	0,693
ORL	Nasal-interno	154,05 (7,15)	159,74 (8,97)	0,110
ORL	Superior-interno	149,80 (5,84)	156,38 (9,46)	0,039
ORL	Temporal-interno	150,35 (6,37)	156,50 (8,48)	0,052
ORL	Inferior-externo	129,65 (5,56)	132,55 (5,61)	0,223
ORL	Nasal-externo	134,75 (6,42)	141,03 (6,16)	0,021
ORL	Superior-externo	135,10 (5,32)	139,61 (6,57)	0,077

Apêndice M – Média (DP) da espessura (μm) e volume (mm^3) das camadas da retina em região macular e da coroide dos grupos de participantes com a doença de Parkinson com e sem uso do pramipexol

Parâmetro		PD-P (n = 20)	PD+P (n = 18)	Valor p
ORL	Temporal-externo	132,90 (4,79)	136,38 (6,22)	0,144
ORL	Volume total	4,87 (0,16)	5,02 (0,22)	0,059
Coroide	Média global	323,37 (58,98)	331,79 (67,93)	0,754
Coroide	Subfoveal (1 mm)	304,81 (43,34)	292,66 (61,09)	0,607
Coroide	Anel interno ¹	324,56 (50,05)	322,90 (65,75)	0,949
Coroide	Anel externo ¹	298,16 (41,56)	282,14 (60,30)	0,490
Coroide	Anéis ¹	304,28 (43,04)	291,54 (61,05)	0,589
Coroide	Inferior	319,63 (46,44)	293,66 (74,57)	0,349
Coroide	Nasal	290,83 (46,32)	263,74 (62,69)	0,263
Coroide	Superior	318,08 (47,39)	321,21 (67,80)	0,903
Coroide	Temporal	288,85 (42,90)	287,67 (49,35)	0,954
Coroide	Inferior-interno	327,61 (57,64)	317,68 (73,80)	0,731
Coroide	Nasal-interno	324,95 (54,86)	316,17 (69,75)	0,744
Coroide	Superior-interno	329,54 (49,19)	336,44 (68,60)	0,784
Coroide	Temporal-interno	316,15 (49,85)	321,26 (59,27)	0,831
Coroide	Inferior-externo	317,24 (44,64)	286,35 (77,07)	0,271
Coroide	Nasal-externo	280,68 (44,38)	248,21 (61,52)	0,170
Coroide	Superior-externo	314,56 (50,49)	316,67 (68,74)	0,936
Coroide	Temporal-externo	280,59 (41,39)	277,54 (46,92)	0,875
Coroide	Volume total	11,18 (1,42)	10,51 (2,08)	0,404

NOTA: PD+P = participantes com a doença de Parkinson que fizeram uso de pramipexol; PD-P = participantes com a doença de Parkinson que não fizeram uso de pramipexol; GCL+ = soma da camada de células ganglionares com a camada plexiforme interna; GCL++ = complexo de células ganglionares; INL = camada nuclear interna; IRL = camada interna da retina; mRNFL = camada de fibras nervosas da retina macular; ONL = camada nuclear externa; OPL = camada plexiforme externa; ORL = camadas externas da retina; PRL = camada de fotorreceptores; DP = desvio padrão. A análise estatística foi realizada utilizando equações de estimação generalizadas (GEE). Os valores de p estatisticamente significantes ($\leq 0,01$) são mostrados em negrito e sublinhados.

¹ Os anéis correspondem aos setores do ETDRS com diâmetro interno de 1 mm e diâmetro externo de 3 mm (Anel interno), com diâmetro interno de 3 mm e diâmetro externo de 6 mm (Anel externo) e à média dos anéis interno e externo (Anéis).

Apêndice N – Artigo publicado – MELLO, L. G. M.; PARAGUAY, I. B. B.; DE SOUZA ANDRADE, T.; DO NASCIMENTO ROCHA, A. A. et al. Electroretinography reveals retinal dysfunction in Parkinson's disease despite normal high-resolution optical coherence tomography findings. *Parkinsonism Relat Disord*, 101, p.90-95, Aug 2022.

Parkinsonism and Related Disorders 101 (2022) 90–95



Contents lists available at ScienceDirect

Parkinsonism and Related Disorders

journal homepage: www.elsevier.com/locate/parkreldis



Electroretinography reveals retinal dysfunction in Parkinson's disease despite normal high-resolution optical coherence tomography findings

Luiz Guilherme Marchesi Mello^{a,b,*}, Isabela Bruzzi Bezerra Paraguay^c,
Thais de Souza Andrade^a, Arthur Andrade do Nascimento Rocha^a, Egberto Reis Barbosa^c,
Maria Kiyoko Oyamada^a, Mário Luiz Ribeiro Monteiro^a

^a Division of Ophthalmology, Faculdade de Medicina FMUSP, Universidade de São Paulo, São Paulo, Brazil

^b Department of Specialized Medicine, Centro de Ciências da Saúde (CCS), Universidade Federal do Espírito Santo, Vitória, Brazil

^c Division of Neurology, Faculdade de Medicina FMUSP, Universidade de São Paulo, São Paulo, Brazil

ARTICLE INFO

Keywords:
Electroretinography
Optical coherence tomography
Parkinson's disease
Retina
Retinal ganglion cells

ABSTRACT

Introduction: Parkinson's disease (PD)-associated inner retinal abnormalities, particularly the retinal ganglion cells (RGC) layer, on optical coherence tomography (OCT) have recently gained importance as a biomarker of non-motor involvement of the disease but functional RGC evaluation using photopic negative response (PhNR) has not yet been determined. This study aims to compare structural and functional findings of the retina and optic nerve in PD with healthy controls (CT) including PhNR and OCT.

Methods: Forty-one eyes of 21 PD patients and 38 eyes of 19 CT underwent ophthalmic examination including visual contrast sensitivity test (CS), OCT, light-adapted full-field electroretinography (ffERG), and PhNR. OCT was used to measure the peripapillary retinal nerve fiber layer, the segmented macular layers, and the choroid. For functional parameters, CS, ffERG (oscillatory potentials, photopic response, 30 Hz-flicker), and PhNR waves were used. Measurements were compared using generalized estimating equation and significance was set at $P \leq 0.05$.

Results: The PD group presented a significantly lower mono- and binocular CS, oscillatory potentials amplitude, b-wave amplitude on ffERG (152.3[45.4] vs 187.1[32.7] μ V; $P = 0.002$), and PhNR amplitude (135.0[35.0] vs 156.3[34.1] μ V; $P = 0.025$). There was no statistically significant difference in OCT measurements between groups. No correlation was found between statistically significant measurements and clinical data.

Conclusions: Functional abnormalities on CS, ffERG, and PhNR can be detected in PD even when structural damages are not observed on OCT. PhNR represents a new potential biomarker in PD. Our findings indicate dysfunction of bipolar, amacrine, and retinal ganglion cells in PD, probably with a cellular dysfunction overcoming morphological damage.

1. Introduction

Parkinson's disease (PD) is characterized by the accumulation of alfa-synuclein and degeneration in several nuclei of the central nervous system, particularly of the dopaminergic neurons in the substantia nigra pars compacta, as well in the retina [1,2]. Neuronal damage and neurotransmitter imbalance are related to motor and non-motor symptoms, such as anosmia, sleep behavior disorder, and visual disturbance [1,2]. In the last years, PD-associated non-motor abnormalities have gained importance in clinical and scientific scenarios [3], especially the

retina given its easy structure and function *in vivo* evaluation [4].

Structural and functional measurements of anterior visual pathway structures have emerged as potential biomarkers of neurodegeneration in PD [4–6]. Recently, optical coherence tomography (OCT) brought new insights concerning structural retinal abnormalities in PD. It is known that the innermost retinal layers are affected in those patients, mainly in the inner macular sectors [4,5]. The improvement of OCT devices increased image quality, making data more accurate and improving the evaluation of segmented macular retinal layers, peripapillary retinal nerve fiber layer (pRNFL), and other ocular tissues in

* Corresponding author. Division of Ophthalmology, University of São Paulo Medical School (USP), Av. Dr Enéas de Carvalho Aguiar, 255, Cerqueira César, São Paulo, São Paulo, 05403-001, Brazil.

E-mail address: marchesi_lg@hotmail.com (L.G.M. Mello).

<https://doi.org/10.1016/j.parkreldis.2022.06.018>

Received 1 May 2022; Received in revised form 19 June 2022; Accepted 20 June 2022

Available online 28 June 2022

1353-8020/© 2022 Elsevier Ltd. All rights reserved.

the eye fundus.

Functional assessment of the retina and optic nerve can also be useful to detect non-motor visual dysfunction in PD and includes visual acuity (VA) measurement, visual contrast sensitivity (CS), and electrophysiological testing [7,8]. While VA and CS are subjective, the full-field electroretinogram (fERG) and other electrophysiological tests have the advantage to obtain objective measurements of visual function, to evaluate retinal cellular activity, and to present superior test-retest reliability in both clinical and scientific scenarios. The fERG assesses the response of the entire retina to flashes of light. The fERG a-wave is dominated by the activity of the photoreceptors, localized in the outer retina, while the b-wave is dominated by the bipolar cells in the middle retinal layers. It is believed that the fERG oscillatory potentials (OPs) reflect the activity of the amacrine and other cells of the inner retinal layers [9]. Previous studies suggested an important role of the innermost retinal layers in PD-related visual dysfunction, particularly of the retinal ganglion cells (RGC) and their axons [10]. However, traditional fERG fails to selectively determine RGC function. The recently described photopic negative response (PhNR) of the fERG reflects the generalized activity of RGC and may be a powerful resource to evaluate PD-related retinal dysfunction [11]. However, there are no studies assessing the PhNR in PD eyes.

The purpose of the present study was therefore to evaluate and compare structural OCT-measured pRNFL, segmented retinal layers and choroid with functional visual parameters (CS, fERG, and PhNR) in PD patients and healthy controls.

2. Materials and methods

2.1. Participants

Forty-one eyes of 21 PD patients and 38 eyes of 19 healthy controls (CT) were included in this prospective observational study. Patients were recruited from the Movement Disorders Outpatient Clinic of the Division of Neurology, at a tertiary hospital. The study followed the principles of the Declaration of Helsinki and was approved by our Institutional Review Board Ethics Committee (CAAE 18243119.9.0000.0068). Subjects filled out informed consent before enrolling in the study.

Exclusion criteria included age <18 years, other neurological diseases, diabetes mellitus, serious chronic systemic disease, previous brain surgery, ocular surgery that has evolved with complication, previous cornea, retina or glaucoma surgery, light-filtering intraocular lens, ocular disease that might affect the retina, choroid or optic nerve, spherical refraction > ± six diopters and cylinder refraction > ± three diopters, intraocular pressure >21 mmHg, eyes with media opacification preventing good quality of OCT imaging, and best-corrected VA worse than 0.80 (20/25).

2.2. Neurologic examination

All participants were evaluated neurologically by a movement disorders specialist. The diagnosis of PD was based on criteria from the United Kingdom Parkinson Disease Society Brain Bank [12]. The duration of the disease and treatments (current and previous medications) were self-reported by patients or retrieved from medical records. Disease severity was measured by the motor status of the Movement Disorders Society Unified Parkinson Disease Rating Scale (MDS-UPDRS-III) in ON and OFF states and by Hoehn & Yahr staging scale (H&Y) [13].

2.3. Ophthalmologic examination

Patients underwent a complete ophthalmologic examination, including best-corrected VA evaluation (measured with a standard Snellen chart at 6 m), CS test using the Pelli-Robson chart, pupillary reactions, slit-lamp biomicroscopy, Goldmann applanation tonometry,

fundoscopy, OCT, light-adapted fERG, and PhNR. All tests were conducted by a single examiner in the same examination room at a similar time of day to minimize the potential influence of diurnal fluctuations of choroidal thickness. In all patients, the pupils were dilated with tropicamide 1% eye drops after VA measurements to perform OCT and electroretinography tests with good quality.

2.3.1. OCT

Spectral-domain OCT scans were acquired using the Spectralis OCT-2 device (Heidelberg Engineering, Heidelberg, Germany) with TruTrack Active Eye Tracking and Glaucoma Module Premium Edition. Scan quality <25 dB or with artifacts were repeated. All scans were manually revised to ensure adequate segmentation.

Optic nerve head (ONH) evaluation with OCT included pRNFL and peripapillary choroid (pChoroid) thicknesses measurements from circular peripapillary scans (3.5 mm diameter) with 768 A-scans each centered on the ONH and aligned with the fovea using the Anatomic Positioning System. After automatic segmentation the following macular layers were determined: retinal nerve fiber layer (mRNFL), ganglion cell layer (GCL), inner plexiform layer (IPL), GCL + IPL (GCL+), mRNFL + IPL + GCL (GCL++), inner nuclear layer (INL), outer plexiform layer (OPL), outer nuclear layer (ONL), photoreceptor layer (PRL), outer retinal layers (ORL), and pigmented retinal epithelium (RPE). Macular choroid (mChoroid) thickness was automatically measured using Fiji software (National Institutes of Health, Bethesda, MD, USA) [14]. Macular measurements were also divided into the three sectors as defined by the Early Treatment Diabetic Retinopathy Study (ETDRS): fovea (a circle of 1 mm diameter), inner ring (inner diameter of 1 mm and outer diameter of 3 mm), and outer ring (inner diameter of 3 mm and outer diameter of 6 mm) [15].

2.3.2. fERG and PhNR

fERG and PhNR were performed in all subjects during the medication-ON state (Fig. 1). Electrophysiological tests followed the recommendations of the International Society for Clinical Electrophysiology of Vision (ISCEV), using the RETI-port system (Roland Consult; Electrophysiological Diagnostic Systems, Brandenburg, Germany) with ERG-jet electrodes (Universe SA, La Chaux-de-Fons, Switzerland) [9, 11]. Tests were recorded after a minimum interval of 30 min from the OCT acquisition and after 10 min of light adaptation.

The average of the responses of eight stimulus-response of photopic OPs, photopic response, and 30 Hz flicker evaluated in white background (25 cd/m²) with white flashes stimulus (3.0 cd s/m² at a frequency of 0.67, 0.2, and 30 Hz, respectively) were obtained. For the OPs analysis, a 100–300 Hz line filter was used to analyze the amplitude (μV) of OP1 (N1–P1), OP2 (N2–P2), OP3 (N3–P3), and OP4 (N4–P4), the average amplitude of the four OPs (meanOPs), and the oscillatory index (OI, corresponding to the sum of the amplitude of OP1 to OP4). For the photopic response, a line filter of 1–300 Hz was used to analyze the amplitude and peak time (ms) of a- and b-wave. For the 30 Hz flicker, a line filter of 1–300 Hz was used to analyze the peak time and amplitude.

The average of twenty stimulus-response of PhNR evaluated in a blue background (470 nm and luminance intensity of 10 cd/m²) with red flashes stimulus (625 nm and intensity of 3.0 cd s/m² at a frequency of 1.099 Hz) was obtained. A 1–300 Hz line filter was used to analyze the peak time and amplitude of a-wave, b-wave, and PhNR. The PhNR amplitude was considered from the peak of the b-wave to the maximum amplitude in the trough (PhNR_PT) and from the baseline to the maximum amplitude in the trough (PhNR_BT). The ratios between PhNR and b-wave (respectively, PhNR_PT/b-wave and PhNR_BT/b-wave) were also evaluated.

2.4. Data analysis and statistics

Statistical analyses were performed using IBM SPSS Statistics version 25.0 (IBM Corp., Armonk, NY, USA). The Shapiro-Wilk test was used to

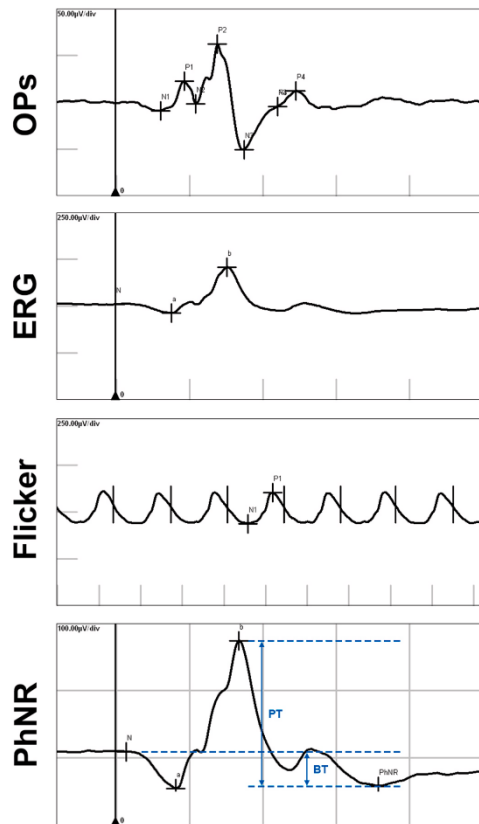


Fig. 1. Example of the light-adapted full-field electroretinography responses. Oscillatory potentials (OPs), photopic response (ERG), 30 Hz flicker, and photopic negative response (PhNR) were evaluated. PhNR was measured from the peak of the b-wave (PhNR_PT) and from baseline to the lowest response value (PhNR_BT).

test the normality of data. Qualitative variables were described using absolute and relative frequencies and the association between the groups was verified using the chi-square test or Fisher's exact test. Descriptive statistics of normally distributed quantitative variables included mean values \pm standard deviation (SD) and the association between the groups was verified using Student's t-test. Groups were compared using generalized estimating equation (GEE) to compensate for inter-eye correlation in the same subject. Correlations of statistically significant measurements with clinical data were verified using Pearson's correlation test. The level of statistical significance was set at $P \leq 0.05$.

3. Results

Forty-one eyes of 21 PD patients and 38 eyes of 19 CT were included in the study. One eye of one individual in the PD group was excluded due to a peripheral retinoschisis (the contralateral eye did not show any abnormality and was maintained in the study). The clinical-

demographic data of the groups are described in Table 1. None of the participants were smokers during the research period. Five subjects in the CT group and nine in the PD group had essential systemic arterial hypertension controlled with up to two antihypertensive medications without evidence of target organ damage. One participant in each group had primary hypothyroidism controlled with the use of levothyroxine.

Macular and peripapillary OCT measurements did not differ significantly between groups (Table 2). Table 3 shows the data of CS and electrophysiological exams. CS was significantly lower in monocular and binocular evaluations in the PD group than in the CT group. Furthermore, regarding electrophysiological tests, OP1, OP3, meanOPs, the b-wave amplitude of the photopic response, and PhNR_PT were also statistically significantly lower in the PD group. There were no statistically significant differences between the dominant and non-dominant sides of PD symptoms regarding structural and functional data. None of the statistically significant measurements presented a statistically significant correlation with clinical data (Supplementary Table 1).

Table 1
Clinical-demographic data of the control (CT) and Parkinson's disease (PD) groups.

Data	Group	PD	P-value*
	CT	PD	
Subjects (eyes)	19 (38 eyes)	21 (41 eyes)	–
Age (y; mean \pm SD)	52.5 \pm 8.3	58.5 \pm 11.1	0.062 ^c
Gender, n (%)			
Male	8 (42.1)	14 (66.7)	0.119 ^b
Female	11 (57.9)	7 (33.3)	
Comorbidities, n (%)			
No	14 (73.7)	12 (57.1)	0.273 ^b
Yes	5 (26.3)	9 (42.9)	
Ex-smoking, n (%)			
No	17 (89.5)	17 (81)	0.664 ^c
Yes	2 (10.5)	4 (19)	
VA (mean \pm SD)	1.0 \pm 0	0.998 \pm 0.016	0.329 ^d
SEQ (mean \pm SD)	–0.138 \pm 0.993	0.238 \pm 1.084	0.195 ^d
IOP (mean \pm SD)	13.5 \pm 1.6	12.7 \pm 1.4	0.109 ^d
Time of diagnosis (y; mean \pm SD)	–	9.1 \pm 6.6	–
Time of motor symptoms (y; mean \pm SD)	–	10.5 \pm 6.6	–
Worse side of symptoms (Right/Left)	–	10/11	–
MDS-UPDRS-III ON (mean \pm SD)	–	32.6 \pm 21.5	–
MDS-UPDRS-III OFF (mean \pm SD)	–	44.7 \pm 21.6	–
Hoehn e Yahr scale (mean \pm SD)	–	2.14 \pm 0.96	–
Levodopa, n/y (mean \pm SD)	–	20/8.66 \pm 5.43	–
Pramipexole, n/y (mean \pm SD)	–	17/5.54 \pm 4.92	–
Amantadine, n/y (mean \pm SD)	–	8/6.63 \pm 4.17	–
Entacapone, n/y (mean \pm SD)	–	10/3.17 \pm 2.20	–
MAO-B inhibitor, n/y (mean \pm SD)	–	4/4.14 \pm 7.25	–
Biperiden, n/y (mean \pm SD)	–	2/3.83 \pm 4.48	–
Clonazepam, n/y (mean \pm SD)	–	5/4.75 \pm 5.75	–

P-values ≤ 0.05 were considered statistically significant. Abbreviations: IOP, intraocular pressure; MDS-UPDRS-III, part III of the Movement Disorder Society-Sponsored Revision of the Unified Parkinson's Disease Rating Scale in ON or OFF state; n, number of subjects; SEQ, spherical equivalent; SD, standard deviation; VA, visual acuity; y, years.

^a Student's t-test.

^b Chi-square test.

^c Fisher's exact test.

^d Generalized estimating equation (GEE).

Table 2
Optical coherence tomography (OCT) measurements of the macular and peripapillary region of the control (CT) and Parkinson's disease (PD) groups.

Parameter	Group		P-value*
	CT	PD	
BMO area (mm ²)	1899 ± 339.2	2064.9 ± 505.6	0.255
BMO-MRW (μm)			
Global	310.5 ± 35.9	322.2 ± 64.8	0.471
Temporal	218.8 ± 41.8	228.7 ± 47.6	0.448
Superior	323 ± 38.9	332.1 ± 76.2	0.561
Inferior	363.9 ± 50.7	369.1 ± 73.6	0.785
Nasal	337.7 ± 45.0	357.4 ± 81.8	0.372
pRNFL (μm)			
Global	100.6 ± 8.5	103.1 ± 13.3	0.566
Temporal	70.8 ± 8.8	70.3 ± 9.6	0.842
Superior	128 ± 12.1	128.1 ± 21.2	0.947
Inferior	135.3 ± 20.7	135.6 ± 18.1	0.924
Nasal	80.5 ± 13.3	88.5 ± 16.2	0.100
pChoroid (μm)			
Global	224.1 ± 66.1	206.2 ± 67.6	0.356
Temporal	234.7 ± 74.9	207.5 ± 70.0	0.193
Superior	238.5 ± 76.3	220.6 ± 67.4	0.376
Inferior	195.7 ± 57.4	176.1 ± 62.5	0.268
Nasal	225.7 ± 66.5	216.5 ± 76.9	0.648
Macular full-thickness (μm)			
Fovea	267.2 ± 21.9	271.5 ± 27.5	0.716
Inner ring	335.5 ± 17.3	332.9 ± 20.5	0.558
Outer ring	292.5 ± 11.7	292.3 ± 14.8	0.806
mRNFL (μm)			
Fovea	11.6 ± 2.9	12.5 ± 3.4	0.486
Inner ring	21.9 ± 2.1	21.9 ± 2.3	0.965
Outer ring	34.8 ± 3.4	35.3 ± 4.3	0.759
GCL (μm)			
Fovea	14.6 ± 4.9	14 ± 3.5	0.578
Inner ring	50.9 ± 4.9	48.7 ± 5.5	0.133
Outer ring	36.4 ± 3.0	35.9 ± 3.8	0.501
IPL (μm)			
Fovea	19.6 ± 4.3	20.3 ± 3.9	0.664
Inner ring	42.1 ± 3.6	41.5 ± 4.0	0.567
Outer ring	29.9 ± 2.4	30 ± 3.1	0.940
GCL+ (μm)			
Fovea	34.1 ± 9.0	34.3 ± 7.2	0.938
Inner ring	93 ± 8.4	90.3 ± 9.2	0.258
Outer ring	66.3 ± 5.3	65.8 ± 6.8	0.683
GCL++ (μm)			
Fovea	45.7 ± 11.6	46.7 ± 10.3	0.892
Inner ring	114.8 ± 9.7	112.2 ± 10.8	0.336
Outer ring	101.1 ± 7.0	101.1 ± 9.3	0.876
INL (μm)			
Fovea	18.8 ± 6.1	19.8 ± 6.7	0.695
Inner ring	40.5 ± 3.6	40.5 ± 4.2	0.869
Outer ring	32.9 ± 1.8	32 ± 2.2	0.109
OPL (μm)			
Fovea	24.1 ± 5.5	25.5 ± 5.4	0.444
Inner ring	31.5 ± 3.2	31.7 ± 4.3	0.892
Outer ring	26.5 ± 1.8	26.8 ± 1.7	0.609
ONL (μm)			
Fovea	91.6 ± 7.4	91.8 ± 11.4	0.976
Inner ring	69 ± 6.7	69.1 ± 8.0	0.998
Outer ring	54.9 ± 5.4	55.2 ± 6.5	0.939
PRL (μm)			
Fovea	70.8 ± 4.1	71 ± 3.4	0.938
Inner ring	64.6 ± 2.0	64.9 ± 1.6	0.666
Outer ring	64 ± 1.6	63.8 ± 1.3	0.740
ORL (μm)			
Fovea	162.3 ± 8.0	162.8 ± 12.1	0.997
Inner ring	133.6 ± 7.2	134 ± 8.6	0.928
Outer ring	118.8 ± 5.9	119 ± 6.9	0.995
RPE (μm)			
Fovea	16.8 ± 2.4	16.7 ± 2.1	0.828
Inner ring	15 ± 1.5	15.2 ± 1.5	0.806
Outer ring	13.3 ± 1.2	13.2 ± 1.3	0.997
mChoroid (μm)			
Fovea	335 ± 87.7	315.7 ± 97.4	0.472
Inner ring	320.7 ± 83.5	306.7 ± 92.6	0.574
Outer ring	274 ± 70.3	257.3 ± 78.4	0.434

* P-values ≤ 0.05 were considered statistically significant. Abbreviations: BMO, Bruch's membrane opening; BMO-MRW, Bruch's membrane opening-minimum rim width; GCL, ganglion cell layer; GCL+, GCL + IPL; GCL++, ganglion cell complex (GCL + IPL + RNFL); INL, inner nuclear layer; IPL, inner plexiform layer; mChoroid, macular choroid; mRNFL, macular retinal nerve fiber layer; ONL, outer nuclear layer; OPL, outer plexiform layer; ORL, outer retinal layers; pChoroid, peripapillary choroid; PRL, photoreceptor layer; pRNFL, peripapillary retinal nerve fiber layer; RPE, retinal pigment epithelium.

Table 3
Contrast sensitivity, photopic response, oscillatory potentials (OPs), 30 Hz flicker, and photopic negative response (PhNR) measurements (mean ± SD) in the control (CT) and Parkinson's disease (PD) groups.

Parameter	Group		P-value*
	CT	PD	
Contrast sensitivity			
Monocular	1.82 ± 0.1	1.68 ± 0.12	<0.001
Binocular	1.92 ± 0.08	1.81 ± 0.1	<0.001
Oscillatory potentials (μV)			
OP1	27 ± 5.6	21.5 ± 7.4	0.004
OP2	49.9 ± 14.2	43.3 ± 15.5	0.115
OP3	37.3 ± 10.1	29.2 ± 12.7	0.012
OP4	13.8 ± 5.7	11.5 ± 4.0	0.109
MeanOPs	32 ± 7.0	26.4 ± 8.4	0.010
OI	128.1 ± 28	105.5 ± 33.6	0.010
Photopic response			
a-wave			
Peak time (ms)	15.7 ± 0.5	16.1 ± 0.9	0.068
Amplitude (μV)	39.1 ± 7.4	36.5 ± 11.1	0.340
b-wave			
Peak time (ms)	30.6 ± 1.0	31.4 ± 1.5	0.069
Amplitude (μV)	187.1 ± 32.7	152.3 ± 45.4	0.002
b-wave/a-wave ratio	4.89 ± 0.93	4.32 ± 1.16	0.062
30 Hz Flicker			
Peak time (ms)	27.2 ± 1.4	28.2 ± 2.1	0.068
Amplitude (μV)	53.7 ± 11.5	48.3 ± 11.9	0.099
PhNR			
a-wave (μV)	44.8 ± 9.1	41 ± 8.9	0.126
b-wave (μV)	158.4 ± 35.5	140.6 ± 36.3	0.089
PhNR			
Peak time (ms)	69.5 ± 3.0	70.7 ± 4.1	0.323
PhNR_PT (μV)	156.3 ± 34.1	135.0 ± 35.0	0.025
PhNR_BT (μV)	42.7 ± 14.9	35.4 ± 16.5	0.079
PhNR_PT/b-wave ratio (μV)	0.99 ± 0.09	0.96 ± 0.11	0.332
PhNR_BT/b-wave ratio (μV)	0.28 ± 0.12	0.27 ± 0.14	0.596

* Statistically significant P-values (≤0.05) are shown in bold and underlined. Abbreviations: MeanOPs, the average amplitude of the four oscillatory potentials; ms, millisecond; OI, oscillatory index; OP1 to 4, first to fourth oscillatory potential; PhNR_PT, photopic negative response measured from the b-wave peak to the lowest response value; PhNR_BT, photopic negative response measured from baseline to lowest response value; SD, standard deviation; μV, microvolts.

4. Discussion

Our study showed that PD patients can present significant visual dysfunction, such as reduced CS and lower amplitude of the OPs, b-wave of the photopic response, and PhNR compared to healthy controls, even when quantitative structural abnormalities of retinal layers are absent on OCT examination. It is known that levodopa can improve, at least partially, CS [16]. In line with the literature, the PD group presented lower monocular and binocular CS in comparison with CT, despite good VA and antiparkinsonian treatment. Contrast vision is important for carrying out basic activities of daily living, and, for example, it is considered a predictor of motor vehicle driving by people with PD [17]. As a quick and easy method to evaluate CS, the Pelli-Robson chart can be an important tool in clinical practice for the basic assessment and management of PD patients.

The fERG is another functional test that may aid in understanding cellular involvement in PD-associated retinal dysfunction. As far as we know, our study is the second using fERG to evaluate PD patients

without statistical difference in OCT measurements when compared to CT [6]. However, in contrast with Nowacka et al. [6], we fully assess all segmented retinal layers, which is an important analysis in PD as it can provide more detailed data than a basic assessment of the full retinal thickness [4]. We have found that PD eyes present a lower amplitude of OP1, OP3, meanOPs, OI, b-wave of the photopic response, and PhNR_PT compared to CT. It is important to consider that antiparkinsonian treatment could have affected our electrophysiological findings. However, patients with Parkinson's disease in use of medications represent the most commonly observed scenario and discontinuing such drugs would create an artificial and improper situation. Therefore, our findings suggest that retinal dysfunction related to the cellular origins of OPs, b-wave of the photopic response, and PhNR superpose the effects of current antiparkinsonian treatment. Furthermore, once CS, fFERG, and PhNR better reveal ophthalmological abnormalities in PD than high-resolution OCT, functional evaluation of these patients seems to stand out from the structural findings of the retina, choroid, and optic nerve.

Regarding structural evaluation with OCT, we did not find a statistically significant difference between PD and CT groups. The lack of structural abnormalities of the retina, choroid, and optic nerve in OCT images differs from other studies, including those evaluating patients recently diagnosed with PD [5,18–20]. These differences between studies may be associated with the participants' selection criteria, disease stage, severity, and asymmetry, and sample sizes. For example, a long time of motor symptoms (10.5[6.6] years) was observed in PD group and some participants presented young-onset disease. Therefore, our findings could be at least partially influenced by the age at onset of PD, since a less severe motor and nonmotor PD phenotype, a slower progression rate, and a less widespread neurodegeneration are observed in patients with younger age at disease onset [21,22]. Although other studies have shown morphological abnormalities in the retina of PD patients, our findings suggest that retinal dysfunction seems to be more significant than structural abnormalities.

Understanding the origin of electroretinogram waves is important to investigate the correlation between structural and functional retinal findings in PD. The b-wave of the electroretinogram starts from the depolarization of bipolar cells and is possibly influenced by horizontal and Müller cells [23,24]. Dopaminergic level restoration appears to increase the amplitude of the b-waves of the fFERG [25]. Thus, our findings of a lower b-wave amplitude of the photopic response in the PD group could be associated with a dysfunction of bipolar and horizontal cells [26], and could be functionally or even morphologically affected in PD. It is believed that OPs originate in the inner retina, especially in the IPL and INL, involving mainly the activity of bipolar and amacrine cells although the interplexiform and RGC may also contribute to its formation [27]. Dopamine can influence OPs since dopamine-depleting drugs reduce its amplitude and dopaminergic replacement can reverse this effect [28]. Therefore, the finding of lower OPs amplitude in the PD group suggests dysfunction of amacrine, bipolar, and possibly interplexiform cells overcoming the antiparkinsonian treatment effects. PhNR, in turn, essentially originates from ganglion cell activity with a possible influence by glial cells [29]. For the first time, we demonstrated that PhNR_PT amplitude is statistically significantly reduced in the PD group compared to CT. Studies in humans suggest that the measurement reliability is greater for PhNR_PT than PhNR_BT and even for the evaluation of PhNR at a fixed time [30,31]. In addition to PhNR_PT, PhNR_BT and b-wave amplitudes of the PhNR test were reduced in the PD group compared to CT, but these findings did not reach statistical significance.

It is not possible to compare our findings of PhNR with other studies in PD since for the first time this evaluation was carried out. However, pattern electroretinogram (PERG) is another electrophysiological test that mainly assesses RGC function [32]. It is important to consider that different from PhNR, PERG evaluates the most central region of the retina, needs refractive error correction, and can be affected by tremors

and involuntary movements of PD patients. Nevertheless, it is believed that a reduced amplitude of PERG waves in PD is related to dopaminergic deficiency [33]. Our findings of PhNR seem to corroborate with those of PERG studies, suggesting the involvement of RGC in the ophthalmological abnormalities in PD.

Given the functional visual tests (CS, OPs, fFERG, and PhNR) and structural assessment of the retina, choroid, and optic nerve (using OCT) performed in the present study, we hypothesize that PD may initially lead to a retinal dysfunction, especially of the amacrine, bipolar, and RGC before the development of microcellular structural damage of synapses and neurons leading to retinal thinning. In conclusion, our study suggests that the use of electrophysiology, particularly PhNR, may reveal functional retinal changes in PD before detectable structural abnormalities by high-resolution OCT. Such knowledge could be of importance both for its diagnostic and therapeutic implications, although further studies are necessary to confirm it.

Declarations of competing interest

None.

Acknowledgments

This work was supported by grants from CAPES - Coordenação de Aperfeiçoamento de Nível Superior, Brasília, Brazil and CNPq - Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (No 308172/2018–3), Brasília, Brazil. The funding organizations had no role in the design or conduct of this research.

Appendix A. Supplementary data

Supplementary data to this article can be found online at <https://doi.org/10.1016/j.parkreldis.2022.06.018>.

References

- [1] A.L. Bartels, K.L. Leenders, Parkinson's disease: the syndrome, the pathogenesis and pathophysiology, *Cortex* 45 (8) (2009) 915–921. <https://doi.org/10.1016/j.cortex.2008.11.010>.
- [2] M.S. Ekker, S. Janssen, K. Seppi, W. Poewe, N.M. de Vries, T. Theelen, J. Nonnekes, B.R. Bloem, Ocular and visual disorders in Parkinson's disease: common but frequently overlooked, *Park. Relat. Disord.* 40 (2017) 1–10. <https://doi.org/10.1016/j.parkreldis.2017.02.014>.
- [3] A.H.V. Schapira, K.R. Chaudhuri, P. Jenner, Non-motor features of Parkinson disease, *Nat. Rev. Neurosci.* 18 (7) (2017) 435–450. <https://doi.org/10.1038/nrn.2017.62>.
- [4] L.G.M. Mello, L.B. Bissoli, F.P. Saraiva, R.d.P.D. Maia, M.L.R. Monteiro, Retinal layers and choroid measurements in Parkinson's disease with or without pramipexole treatment, *Mov. Disord.* 35 (12) (2020) 2357–2359. <https://doi.org/10.1002/mds.28280>.
- [5] A. Chrysoy, N.M. Jansonius, T. van Laar, Retinal layers in Parkinson's disease: a meta-analysis of spectral-domain optical coherence tomography studies, *Park. Relat. Disord.* 64 (2019) 40–49. <https://doi.org/10.1016/j.parkreldis.2019.04.023>.
- [6] B. Nowacka, W. Lubinski, K. Honczarenko, A. Potemkowski, K. Safranow, Bioelectrical function and structural assessment of the retina in patients with early stages of Parkinson's disease (PD), *Doc. Ophthalmol.* 131 (2) (2015) 95–104. <https://doi.org/10.1007/s10633-015-9503-0>.
- [7] K.A. Schindlbeck, D. Eidelberg, Network imaging biomarkers: insights and clinical applications in Parkinson's disease, *Lancet Neurol.* 17 (7) (2018) 629–640. [https://doi.org/10.1016/S1474-4422\(18\)30169-8](https://doi.org/10.1016/S1474-4422(18)30169-8).
- [8] J. Jankovic, A.S. Kapadia, Functional decline in Parkinson disease, *Arch. Neurol.* 58 (10) (2001) 1611–1615. <https://doi.org/10.1001/archneur.58.10.1611>.
- [9] D.L. McCulloch, M.F. Marmor, M.G. Brigell, R. Hamilton, G.E. Holder, R. Tzekov, M. Bach, ISCEV Standard for full-field clinical electroretinography (2015 update), *Doc. Ophthalmol.* 130 (1) (2015) 1–12. <https://doi.org/10.1007/s10633-014-9473-7>.
- [10] E. Garcia-Martin, D. Rodriguez-Mena, M. Satue, C. Almarcegui, I. Dolz, R. Alarcia, M. Seral, V. Polo, J.M. Larrosa, L.E. Pablo, Electrophysiology and optical coherence tomography to evaluate Parkinson disease severity, *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.* 55 (2) (2014) 696–705. <https://doi.org/10.1167/iovs.13-13062>.
- [11] L. Frishman, M. Sustar, J. Kremers, J.J. McNamany, M. Sarossy, R. Tzekov, S. Viswanathan, ISCEV extended protocol for the photopic negative response (PhNR) of the full-field electroretinogram, *Doc. Ophthalmol.* 136 (3) (2018) 207–211. <https://doi.org/10.1007/s10633-018-9638-x>.

- [12] W.R. Gibb, A.J. Lees, The relevance of the Lewy body to the pathogenesis of idiopathic Parkinson's disease, *J. Neurol. Neurosurg. Psychiatry* 51 (6) (1988) 745–752. <https://doi.org/10.1136/jnnp.51.6.745>.
- [13] C.G. Goetz, W. Poewe, O. Rascol, C. Sampaio, G.T. Stebbins, C. Counsell, N. Giladi, R.G. Holloway, C.G. Moore, G.K. Wenning, M.D. Yahr, L. Seidl, M. Disease, Movement disorder society task force report on the Hoehn and Yahr staging scale: status and recommendations, *Mov. Disord.* 19 (9) (2004) 1020–1028. <https://doi.org/10.1002/mds.20213>.
- [14] J. Schindelin, I. Arganda-Carreras, E. Frise, V. Kaynig, M. Longair, T. Pietzsch, S. Preibisch, C. Rueden, B. Schmid, J.Y. Tinevez, D.J. White, V. Hartenstein, K. Eliceiri, P. Tomancak, A. Cardona, Fiji: an open-source platform for biological-image analysis, *Nat. Methods* 9 (7) (2012) 676–682. <https://doi.org/10.1038/nmeth.2019>.
- [15] Early Treatment Diabetic Retinopathy Study Research Group, Grading diabetic retinopathy from stereoscopic color fundus photographs—an extension of the modified Airle House classification. ETDRS report number 10, *Ophthalmology* 98 (5 Suppl) (1991) 786–806. <https://doi.org/10.1016/j.ophtha.2020.01.030>.
- [16] C. Bultens, J.D. Meerwaldt, C.J. Van der Wildt, J.B. Van Deursen, Effect of levodopa treatment on contrast sensitivity in Parkinson's disease, *Ann. Neurol.* 22 (3) (1987) 365–369. <https://doi.org/10.1002/ana.410220313>.
- [17] E.Y. Uc, M. Rizzo, A.M. Johnson, E. Dastrup, S.W. Anderson, J.D. Dawson, Road safety in drivers with Parkinson disease, *Neurology* 73 (24) (2009) 2112–2119. <https://doi.org/10.1212/WNL.0b013e3181c67b77>.
- [18] M. Satue, J. Obis, R. Alarcia, E. Orduna, M.J. Rodrigo, E. Vilades, H. Gracia, S. Otin, M.I. Fuertes, V. Polo, J.M. Larrosa, L.E. Pablo, E. Garcia-Martin, Retinal and choroidal changes in patients with Parkinson's disease detected by swept-source optical coherence tomography, *Curr. Eye Res.* 43 (1) (2018) 109–115. <https://doi.org/10.1080/02713683.2017.1370116>.
- [19] M.M. Moschos, L.P. Chatziralli, Evaluation of choroidal and retinal thickness changes in Parkinson's disease using spectral domain optical coherence tomography, *Semin. Ophthalmol.* 33 (4) (2018) 494–497. <https://doi.org/10.1080/08820538.2017.1307423>.
- [20] C. Rascuna, A. Russo, C. Terravecchia, N. Castellino, T. Avitabile, V. Bonfiglio, M. Fallico, C.G. Chisari, C.E. Cicero, M. Grillo, A. Longo, A. Luca, G. Mostile, M. Zappia, M. Reibaldi, A. Nicoletti, Retinal thickness and microvascular pattern in early Parkinson's disease, *Front. Neurol.* 11 (2020), 533375. <https://doi.org/10.3389/fneur.2020.533375>.
- [21] G. Paganò, N. Ferrara, D.J. Brooks, N. Pavese, Age at onset and Parkinson disease phenotype, *Neurology* 86 (15) (2016) 1400–1407. <https://doi.org/10.1212/WNL.0000000000002461>.
- [22] R. Mehanna, J. Jankovic, Young-onset Parkinson's disease: its unique features and their impact on quality of life, *Park. Relat. Disord.* 65 (2019) 39–48. <https://doi.org/10.1016/j.parkrel.2019.06.001>.
- [23] P.A. Sieving, K. Murayama, F. Naarendorp, Push-pull model of the primate photopic electroretinogram: a role for hyperpolarizing neurons in shaping the b-wave, *Vis. Neurosci.* 11 (3) (1994) 519–532. <https://doi.org/10.1017/s0952523800002431>.
- [24] N.V. Rangaswamy, D.C. Hood, L.J. Frishman, Regional variations in local contributions to the primate photopic flash ERG: revealed using the slow-sequence mERG, *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.* 44 (7) (2003) 3233–3247. <https://doi.org/10.1167/iovs.03-0009>.
- [25] M.J. Jaffe, G. Bruno, G. Campbell, R.A. Lavine, C.N. Karson, D.R. Weinberger, Ganzfeld electroretinographic findings in parkinsonism: untreated patients and the effect of levodopa intravenous infusion, *J. Neurol. Neurosurg. Psychiatry* 50 (7) (1987) 847–852. <https://doi.org/10.1136/jnnp.50.7.847>.
- [26] C.B. Hellmer, J.M. Bohl, L.M. Hall, C.C. Koehler, T. Ichinose, Dopaminergic modulation of signal processing in a subset of retinal bipolar cells, *Front. Cell. Neurosci.* 14 (2020) 253. <https://doi.org/10.3389/fncel.2020.00253>.
- [27] L. Wachtmeister, Oscillatory potentials in the retina: what do they reveal, *Prog. Retin. Eye Res.* 17 (4) (1998) 485–521. [https://doi.org/10.1016/s1350-9462\(98\)00006-8](https://doi.org/10.1016/s1350-9462(98)00006-8).
- [28] F. Hempel, Modification of the rabbit electroretinogram by reserpine, *Ophthalmic Res.* 4 (2) (1972) 65–75.
- [29] Y. Gotoh, S. Machida, Y. Tazawa, Selective loss of the photopic negative response in patients with optic nerve atrophy, *Arch. Ophthalmol.* 122 (3) (2004) 341–346. <https://doi.org/10.1001/archoph.122.3.341>.
- [30] J. Tang, T. Edwards, J.G. Crowston, M. Sarossy, The test-retest reliability of the photopic negative response (PhNR), *Transl Vis Sci Technol* 3 (6) (2014) 1. <https://doi.org/10.1167/tvst.3.6.1>.
- [31] K.E. Mortlock, A.M. Binns, Y.H. Aldebasi, R.V. North, Inter-subject, inter-ocular and inter-session repeatability of the photopic negative response of the electroretinogram recorded using DTL and skin electrodes, *Doc. Ophthalmol.* 121 (2) (2010) 123–134. <https://doi.org/10.1007/s10633-010-9239-9>.
- [32] M. Bach, M.G. Brigell, M. Hawlina, G.E. Holder, M.A. Johnson, D.L. McCulloch, T. Meigen, S. Viswanathan, ISCEV standard for clinical pattern electroretinography (PERG): 2012 update, *Doc. Ophthalmol.* 126 (1) (2013) 1–7. <https://doi.org/10.1007/s10633-012-9353-y>.
- [33] A. Peppe, P. Stanzione, M. Pierantozzi, R. Semprini, A. Bassi, A. Santilli, R. Formisano, M. Piccolino, G. Bernardi, Does pattern electroretinogram spatial tuning alteration in Parkinson's disease depend on motor disturbances or retinal dopaminergic loss? *Electroencephalogr. Clin. Neurophysiol.* 106 (4) (1998) 374–382. [https://doi.org/10.1016/s0013-4694\(97\)00075-8](https://doi.org/10.1016/s0013-4694(97)00075-8).

Apêndice O – Artigo publicado – MELLO, L.G.M.; RODRIGUES NETO, T.D.S.; DA SILVA NETO, E.D.; PRETI, R.C.; MONTEIRO, M.L.R.; ZACHARIAS, L.C. A standardized method to quantitatively analyze optical coherence tomography angiography images of the macular and peripapillary vessels. *Int J Retina Vitreous*. 8, p.75-83, Oct 2022.

Mello et al.
International Journal of Retina and Vitreous (2022) 8:75
<https://doi.org/10.1186/s40942-022-00426-9>

International Journal
of Retina and Vitreous

ORIGINAL ARTICLE

Open Access

A standardized method to quantitatively analyze optical coherence tomography angiography images of the macular and peripapillary vessels



Luiz Guilherme Marchesi Mello^{1†}, Taurino dos Santos Rodrigues Neto^{2†*}, Eptácio Dias da Silva Neto², Rony Carlos Preti², Mário Luiz Ribeiro Monteiro² and Leandro Cabral Zacharias²

Abstract

Background: Optical coherence tomography angiography (OCTA) is a relatively new non-invasive imaging technique to evaluate retinal vascular complexes. However, there is still a lack of standardization and reproducibility of its quantitative evaluation. Furthermore, manual analysis of a large amount of OCTA images makes the process laborious, with greater data variability, and risk of bias. Therefore, the aim of this study is to describe a fast and reproducible quantitative analysis of the foveal avascular zone (FAZ), macular superficial and deep vascular complexes (mSVC and mDVC, respectively), and peripapillary superficial vascular complex (pSVC) in OCTA images.

Methods: We survey models and methods used for studying retinal microvasculature, and software packages used to quantify microvascular networks. These programs have provided researchers with invaluable tools, but we estimate that they have collectively achieved low adoption rates, possibly due to complexity for unfamiliar researchers and nonstandard sets of quantification metrics. To address these existing limitations, we discuss opportunities to improve effectiveness, affordability, and reproducibility of microvascular network quantification with the development of an automated method to analyze the vessels and better serve the current and future needs of microvascular research. OCTA images of the macula (10°x10°, 15°x15°, or 20°x20° centered on the fovea) and peripapillary area (15 × 15° centered on optic nerve head) were exported from the device and processed using the open-source software Fiji. The mSVC, mDVC, and pSVC were automatically analyzed regarding vascular density in the total area and four sectors (superior, inferior, nasal, and temporal). We also analyzed the FAZ regarding its area, perimeter, and circularity in the SVC and DVC images.

[†]Luiz Guilherme Marchesi Mello, Taurino dos Santos Rodrigues Neto, and Eptácio Dias da Silva Neto contributed equally to this work

*Correspondence: taurino@rodrigues@gmail.com

² Division of Ophthalmology and the Laboratory for Investigation in Ophthalmology (LIM-33), Faculdade de Medicina FMUSP, Universidade de São Paulo, Av. Dr Enéas de Carvalho Aguiar, 255, Cerqueira César, São Paulo 05403-001, Brazil

Full list of author information is available at the end of the article



© The Author(s) 2022. **Open Access** This article is licensed under a Creative Commons Attribution 4.0 International License, which permits use, sharing, adaptation, distribution and reproduction in any medium or format, as long as you give appropriate credit to the original author(s) and the source, provide a link to the Creative Commons licence, and indicate if changes were made. The images or other third party material in this article are included in the article's Creative Commons licence, unless indicated otherwise in a credit line to the material. If material is not included in the article's Creative Commons licence and your intended use is not permitted by statutory regulation or exceeds the permitted use, you will need to obtain permission directly from the copyright holder. To view a copy of this licence, visit <http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>. The Creative Commons Public Domain Dedication waiver (<http://creativecommons.org/publicdomain/zero/1.0/>) applies to the data made available in this article, unless otherwise stated in a credit line to the data.

Results: We developed an automated model and discussed a step by step method to analyze vessel density and FAZ of the macular SVC and DVC, acquired with OCTA using different fields of view. We also developed an automated analysis of the peripapillary SVC.

Conclusion: Our developed automated analysis of macular and peripapillary OCTA images will allow a fast, reproducible, and precise quantification of SVC, DVC, and FAZ. It would also allow more accurate comparisons between different studies and streamlines the processing of images from multiple patients with a single command.

Keywords: Angiography, Blood vessels, Optic disk, Optical coherence tomography, Retina

Introduction

Optical coherence tomography angiography (OCTA) has emerged in the last years as a useful noninvasive imaging modality to assess ocular vasculature. Briefly, OCTA consists of repeated acquisitions of optical coherence tomography (OCT) scans of the same spot on the retina and choroid to evaluate temporal changes in the back-scattered signal caused by moving blood particles moving within the vessels. Using an image processing algorithm, an en face image of the vascular network of the analyzed region is created and, if desirable, segmented in different vascular complexes [1].

Since the advent of OCTA, the risk of acquisition errors has been reduced by using eye-tracking systems, faster acquisition software, and higher resolution. However, the procedure is still hampered by the long time required for the repetitive scans (especially when larger areas are analyzed), the impossibility of detecting vascular leakage or permeability abnormalities, differences between software, and the persistence of image artifacts [1]. Originally, the interpretation of OCTA images was essentially qualitative, but the introduction of novel quantitative vascular network parameters has contributed to diagnosis, prognosis, and monitoring of patients [2, 3].

ImageJ (National Institutes of Health, Bethesda, MD, USA) [4] is an open-source software commonly used in manual or automatic image analyses, including OCTA [5]. OCTA images can be processed in different manners using ImageJ to obtain quantitative data, [6, 7] but the current lack of detailed information makes it difficult to establish a standard method of reproducing macular and peripapillary findings [6–9]. The purpose of this paper is to review the literature on quantitative OCTA analysis and propose a standard method of comprehensive quantitative processing and analysis of macular and peripapillary OCTA images, increasing the comparability of studies using compatible OCTA equipment.

Methods

Study participants

This cross-sectional, observational, and descriptive study complied with the Declaration of Helsinki (1996), the Nuremberg Code (1947), the guidelines of the National

Health Council on research involving humans (Resolution 466/12), and our Institutional Review Board Ethics Committee. All subjects gave their informed written consent before enrolling in the study.

The inclusion criteria required each subject to be a consenting adult (≥ 18 years) and have healthy eyes. The exclusion criteria were: diabetes mellitus, serious chronic systemic disease, previous brain surgery, ocular surgery, ocular diseases capable of affecting the retina, choroid or optic nerve (retinopathies, uveitis, optic neuropathies or abnormalities), high myopia (axial length > 26.5 or spherical refraction < -6 diopters), high hypermetropia (spherical refraction $> +6$ diopters) and cylinder refraction $> \pm 3$ diopters, intraocular pressure > 21 mmHg, media opacity compromising the quality OCT/OCTA scans (corneal opacities, nuclear opalescence > 2 according to the Lens Opacities Classification System III, and vitreous opacities), and best-corrected visual acuity (VA) worse than 20/30.

Ophthalmological examination and OCTA image acquisition

All patients underwent a complete ophthalmological examination, including VA evaluation, slit-lamp biomicroscopy, Goldman applanation tonometry, funduscopy, OCT and OCTA, and ocular biometry for axial length measurement, if necessary (IOL Master 500; Carl Zeiss Meditec, Germany). After the VA measurements, the pupils were dilated with 1% tropicamide eye drops to perform a complete fundus examination and to acquire high-quality OCT scans. Spectral-domain OCT scans were acquired using the Spectralis[®] OCT module (Heidelberg Engineering, GmbH, Heidelberg, Germany). Macular and peripapillary scans were acquired using predetermined automatic real-time tracking (ART) for each type of acquisition, with a quality index of at least 25. Images with many artifacts due to movement, projection, duplicated vessels, or distortions were repeated and all scans were manually reviewed to ensure adequate segmentation.

The macular protocol consisted of a $10^\circ \times 10^\circ$, $15^\circ \times 15^\circ$, or $20^\circ \times 20^\circ$ OCTA scan (512 A-scans/B-scan and 512 B-scans/volume) centered on the fovea. The foveal center

was manually determined and confirmed by checking the OCT B-scans acquired with the OCTA scanning protocol. The optic nerve head protocol consisted of a $15^\circ \times 15^\circ$ OCTA scan (512 A-scans/B-scan and 512 B-scans/ volume) centered on the optic disc. En face OCTA images of the superficial vascular complex (SVC) and deep vascular complex (DVC) were generated using the automatic retinal layer segmentation of the Spectralis[®] software. The upper and lower limits of the SVC were the internal limiting membrane and a point $17\ \mu\text{m}$ above the lower edge of the inner plexiform layer, respectively. Similarly, the upper and lower limits of the DVC were a point $17\ \mu\text{m}$ above the lower edge of the inner plexiform layer and the extremity of the outer plexiform layer, respectively.

Qualitative protocol

Two masked examiners reviewed all images independently. Scans were excluded in the presence of any of the following: (i) insufficient resolution, (ii) weak local signal caused by artifacts such as visual floaters, (iii) residual motion artifacts visible as irregular vessel patterns or disc boundaries in the en face angiogram, and (iv) off-centered fovea. Discrepancies between the two reviewers were resolved by consensus or adjudication by an experienced third reviewer.

We also reviewed the literature for a brief discussion on OCTA imaging processes, including the physical principles and algorithms of Heidelberg OCTA. PubMed and Google Scholar were searched for quantitative microvascular OCTA analyses, automated and manual thresholding algorithms for macular and peripapillary OCTA, objective OCTA-based evaluations of the size and shape of the foveal avascular zone (FAZ) in normal subjects, and OCTA studies employing the 'Level Sets' macro (a plug-in used to progressively evaluate differences between adjacent pixels; available at https://imagej.net/Level_Sets).

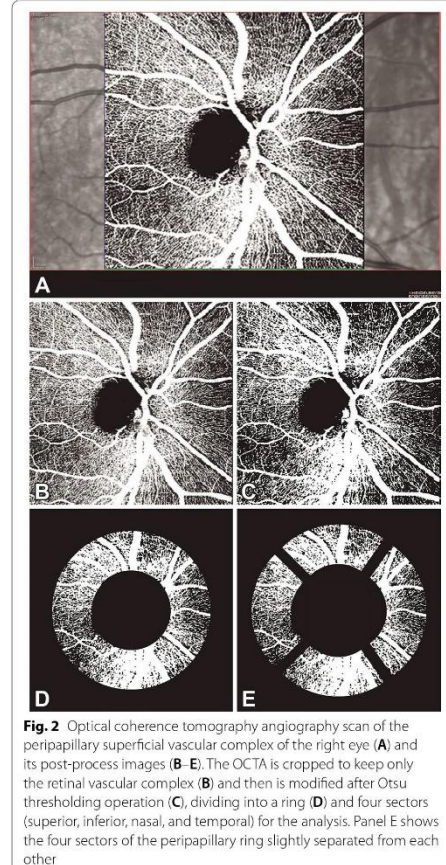
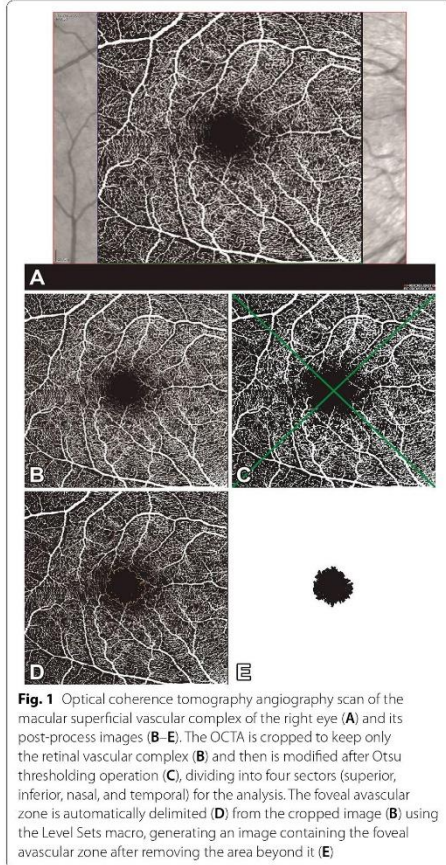
Most available software segregates the retinal vasculature into a 'superficial slab' and a 'deep slab' slab. Several field-of-view options may be provided, but as the field of view increases, the resolution of the scan decreases since the same number of A-scans are being used to scan a larger area. The predefined retinal slabs shown in the output images may be analyzed quantitatively with external software. Unfortunately, measuring and quality control methods have not been standardized, making it difficult to compare studies, and metric calculations vary from study to study. Recent studies have compared different methods of assessing capillary density and morphology [6, 7]. OCTA scans acquired for quantitative analysis are highly dependent on image processing. Pioneering studies proposed the best thresholds to intra-class correlation coefficients between consecutive OCTA measurements.

Our group has proposed a Heidelberg OCTA-based automated quantification method for the assessment of retinal vasculature in healthy subjects, standardizing and streamlining analysis by processing images from multiple patients with a single command. The method of quantitative analysis is described step by step below, followed by a discussion on the methods employed in previous studies.

OCTA image processing

En face OCTA images were used to calculate the FAZ and the vascular density of all complexes (macular SVC and DVC, and peripapillary SVC) using ImageJ (National Institutes of Health, Bethesda, Maryland, USA; available at <https://imagej.nih.gov/ij/download.html>). OCTA reports of macular SVC (mSVC) and macular DVC (mDVC) were exported in TIFF format, centered on the fovea, and cropped to 962×962 pixels (Fig. 1A, B). Subsequently, the images were binarized to black and white and Otsu's thresholding method 10 was used for vascular density analysis (Fig. 1C). The white pixels were considered vessels and the overall density was calculated by dividing the vessel area by the total area of interest, expressed according to the sector (superior, inferior, nasal, and temporal). We developed a macro (sequence of commands and functions stored in a file module, serving as a shortcut) for the analysis of mSVC and mDVC in multiple OCTA images captured using different fields of view (macro files are available in a public repository—see Data availability statement). The FAZ of the mSVC and mDVC were delimited automatically (Fig. 1D) and segmented (Fig. 1E) from the cropped macular OCTA image (Fig. 1B) using the Level Sets macro, which automatically measures and outputs the FAZ metrics (area, perimeter, and circularity).

We created another macro to analyze FAZ of the SVC and DVC of multiple OCTA images in different fields of view (macro files are available in a public repository—see Data availability statement). OCTA reports of peripapillary SVC (pSVC) were exported from OCT in TIFF format, centered on the optic nerve head, and cropped to 938×938 pixels (Fig. 2A, B). As with macular OCTA images, the cropped peripapillary OCTA images were binarized with Otsu's thresholding algorithm for vascular density analysis (Fig. 2C). The pSVC analysis was based on an annular area of 1.7 mm internal diameter and 3.4 mm external diameter centered on the optic nerve head (Fig. 2D). The pSVC ring was analyzed concerning total average (360°) and sectors (inferior 80° , superior 80° , nasal 110° , temporal 90°), corresponding to the sectors of the peripapillary retinal nerve fiber layers. We also created an automated macro to analyze the $15^\circ \times 15^\circ$ pSVC. The macro files are available for download (macro files



are available in a public repository—see Data availability statement).

Data analysis and statistics

The descriptive statistics included mean \pm standard deviation (SD) for normally distributed variables. The Shapiro-Wilk test was used to assess normality.

Results

Thirty-seven healthy participants were enrolled in this study, aged 44 years on average. The mean axial length was 23.19 mm (right eye) and 23.05 mm (left eye), and the

mean intraocular pressure was 15 mmHg. The mean signal quality (Q) was 41 for $10^\circ \times 10^\circ$, 39 for $20^\circ \times 20^\circ$, and 35 for peripapillary $15^\circ \times 15^\circ$. The procedure used to analyze the FAZs of multiple images comprises the following steps:

Step-by-step FAZ analysis

First step: Save OCTA images in tiff format on a computer, segregating OCTAs into deep and superficial FAZ, and assign a name to the file containing code, eye (right eye/left eye—OD/OS), FAZ, and layer (deep/superficial). Ex: "01_OD_FAZ_SUPERFICIAL".

Second step: Install ImageJ, then add the “Read and Write Excel” plugin to ImageJ (see https://imagej.net/Read_and_Write_Excel/; all plugin files are also available in a public repository—see Data availability statement). This plugin allows exporting the results to Excel.

Third step: Using the image editor (ImageJ), crop the OCTA area to the size of the “15 × 15_cropped.tif” file (962 × 962 pixels).

Fourth step: Execute the ImageJ commands: Process > Batch > Macro > Input (folder containing the OCTAs of FAZs to be evaluated) / Output (save images generated by ImageJ in the same folder as Input) / Select output format: tiff > Click in the “Open...” button and select file with macro code for a specific FAZ of 10 × 10 or 15 × 15 or 20 × 20 from SVC or DVC (e.g., “FAZ_10 × 10_DVC.ijm” or “FAZ_10 × 10_SVC.ijm”) > Start automatic processing (click in the “Process” button) > View result expressed in area (mm²), perimeter (mm) and circularity index on Excel spreadsheet on the desktop (Fig. 3).

Fifth step: Rename the excel file and remove it from the desktop. ‘Area’ is the size of the segmented FAZ, while ‘perimeter’ is the length of the FAZ contour. The

circularity index (deviation relative to a perfect circle) is calculated with the formula: $4\pi(\text{area}/\text{perimeter}^2)$. The closer to 0, the less circular and more irregular the shape. Post-processed images (boundaries and FAZ drawing) are automatically saved in the same folder as the original files (see Table 1).

The procedure used to analyze the vascular density of all complexes in multiple images comprises the following steps:

Step-by-step macular vascular density analysis

First step: After saving the images as described in the previous section, segregate OCTAs according to the eye (“Macula OD” or “Macula OS”) and complexes (superficial/deep) for each eye, facilitating subsequent data processing (right/left sector inversion).

Second step: Assign a name to the OCTAs within each folder specifying patient code, eye (OD/OS), macula, and complexes (deep/superficial) (Ex: “01_OD_Macula_DEEP”). Using the image editor (ImageJ), crop the OCTA area to the size of the “15 × 15_cropped.tif” file (962 × 962 pixels).

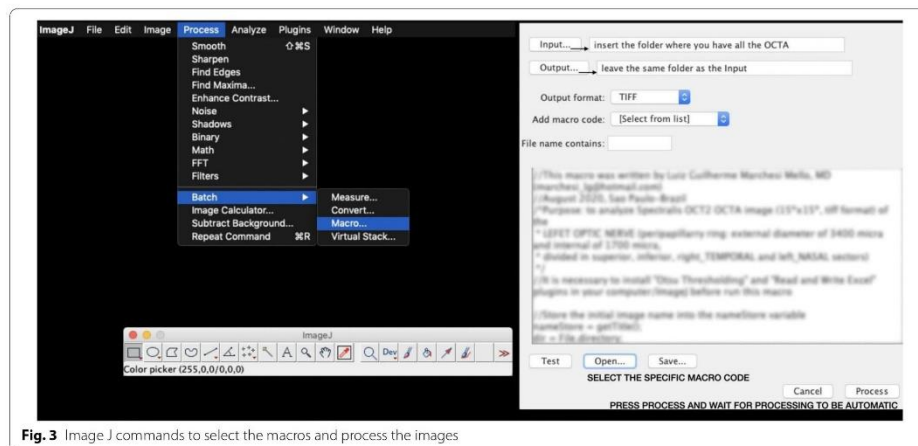


Fig. 3 Image J commands to select the macros and process the images

Table 1 Normal values of foveal avascular zone of all complexes of 20 × 20 and 10 × 10 acquisition mode

	FAZ 10 × 10 (mm ²) Superficial deep	FAZ 20 × 20 (mm ²) Superficial deep	PERIMETER 10 × 10 (mm) Superficial deep	PERIMETER 20 × 20 (mm) Superficial deep	CIRC 10 × 10 Superficial deep	CIRC 20 × 20 Superficial deep
Right eye	0.08 (±0.002) 0.09 (±0.002)	0.33 (±0.03) 0.33 (±0.01)	1.201 (±0.00) 1.201 (±0.00)	2.33 (±0.09) 2.33 (±0.00)	0.75 (±0.01) 0.75 (±0.02)	0.77 (±0.01) 0.77 (±0.00)
Left eye	0.09 (±0.002) 0.09 (±0.002)	0.33 (±0.03) 0.33 (±0.03)	1.201 (±0.00) 1.201 (±0.00)	2.33 (±0.00) 2.33 (±0.00)	0.74 (±0.02) 0.75 (±0.02)	0.77 (±0.00) 0.78 (±0.01)

Third step: Install the ImageJ plugins ‘Otsu_Thresholding.jar’ and ‘Read and Write Excel’ by putting the respective files in the folder “...\ImageJ.app\plugins” (plugin files are available in a public repository—see Data availability statement).

Fourth step: Go to Process > Batch > Macro > Input (place the folder together with the OCTA images to be evaluated) / Output (save images generated by ImageJ in the same folder as Input) > Select output format: tiff > Click in the “Open...” button and select file with macro code for a specific macula of 10 × 10 or 15 × 15 or 20 × 20 (Ex: “Macula_15 × 15.ijm”) > Click “Process” button (click ‘Ok’ each time the message “Found threshold...” is displayed). View result expressed as density (% pixels) in each sector (total, top, bottom, left, right) on an Excel spreadsheet on the Desktop. Note that in OD, ‘left’ corresponds to ‘temporal’ and ‘right’ corresponds to ‘nasal’, while the opposite is true for OS. Rename the Excel file and remove it from the desktop. Post-processed threshold images are saved in the same folder as the original files (see Tables 2 and 3).

The procedure used to analyze the peripapillary vascular density of all complexes of multiple images comprises the following steps:

Step-by-step peripapillary vascular density analysis

First step: After saving the images as described in the previous section, segregate OCTAs according to the eye (‘Nerve OD’ or ‘Nerve OS’), facilitating the subsequent data processing. Assign a name to the OCTAs within each folder specifying patient code, eye (OD/OS), and Nerve (Ex: “01_OD_Nerve”).

Second step: open ImageJ and go to Process > Batch > Macro > Input (folder containing all the OCTAs of the right eye nerves to be evaluated)/ Output (save images generated by ImageJ in the same folder as Input) > choose the output format: tiff > Click in the “Open...” button the file with the macro code for right eye nerve (Ex: “ONH_15 × 15_OD.ijm”). Press Process (click ‘Ok’ each time the message “Found threshold...” is displayed). View the result expressed in density (% pixels) for the evaluated area (total ring, superior_rim, inferior_rim, left_temporal_OD_rim, right_nasal_OS_rim) on an Excel spreadsheet on the desktop.

Third step: Rename the Excel file and remove it from the desktop. The optic nerve division adopted is that of Suzuki et al.8 Density (% pixels) in the total area of the peripapillary ring (360°), the upper rim (80°), the lower rim (80°), the left rim (temporal rim OD) (90°) / (nasal rim OS) (110°), right rim (nasal rim OD) (110°) / (temporal rim OS) (90°) (Table 4).

Discussion

To our knowledge, this is the first study to standardize a method for quantitative analysis of Heidelberg OCTA Images of the macular and peripapillary vessels. Automated algorithms generate more reproducible results and thus allow for more accurate discrimination between healthy and pathological structures.

The quantitative analysis of macular and peripapillary OCTA images depends on image quality. Some authors believe noise and vessel discontinuities can impact on the quantitative parameters [10]. Indeed, OCTA scans with many image distortion should be excluded from

Table 2 Normal values of vascular density of 20 × 20 acquisition mode stratified by macular sectors

	Global (%)	Superior (%)	Inferior (%)	Nasal (%)	Temporal (%)
	Superficial deep	Superficial deep	Superficial deep	Superficial deep	Superficial deep
Right eye	24.08 (± 5.05) 22.26 (± 3.50)	24.25 (± 5.72) 20.05 (± 4.69)	33.88 (± 8.60) 20.48 (± 5.03)	33.88 (± 6.01) 22.73 (± 5.21)	15.55 (± 6.85) 25.21 (± 5.43)
Left eye	26.61 (± 4.87) 21.98 (± 5.17)	26.16 (± 5.84) 19.77 (± 4.87)	24.94 (± 5.48) 27.11 (± 5.76)	41.07 (± 9.61) 27.14 (± 6.17)	13.96 (± 4.58) 21.92 (± 6.04)

Table 3 Normal values of vascular density of 10 × 10 acquisition mode stratified by macular sectors

	Global (%)	Superior (%)	Inferior (%)	Nasal (%)	Temporal (%)
	Superficial deep	Superficial deep	Superficial deep	Superficial deep	Superficial deep
Right eye	24.41 (± 4.32) 23.87 (± 4.25)	25.86 (± 4.86) 23.44 (± 4.83)	26.38 (± 5.45) 25.68 (± 4.81)	27.16 (± 6.27) 25.68 (± 4.81)	20.89 (± 4.52) 25.09 (± 4.20)
Left eye	25.08 (± 3.82) 24.71 (± 3.50)	25.50 (± 4.79) 24.48 (± 4.41)	23.96 (± 4.92) 23.57 (± 4.70)	28.12 (± 4.67) 27.86 (± 3.94)	19.03 (± 4.01) 23.66 (± 4.07)

Table 4 Normal values of vascular density of 15 × 15 acquisition mode stratified by peripapillary sectors

	Global (%) Superficial	Superior (%) Superficial	Inferior (%) Superficial	Nasal (%) Superficial	Temporal (%) Superficial
Right eye	56.95 (± 8.62)	67.68 (± 14.13)	75.33 (± 12.49)	47.32 (± 12.04)	42.94 (± 17.24)
Left eye	55.29 (± 8.24)	68.73 (± 12.89)	74.90 (± 11.74)	49.64 (± 13.59)	38.77 (± 11.82)

the analysis [11, 12]. No minimum quality level has been established for the selection of OCTA images, but contrast quality, vessel continuity, and background noise level in the nonvascular area should be taken into account [13, 14]. In this study, we selected only high-quality images for analysis: after selecting images with satisfactory quality parameters, the mean signal quality (Q) was 41 for 10° × 10°, 39 for 20° × 20°, and 35 for peripapillary 15° × 15°. Thus, we suggest that exams with Q over such parameters can be considered as good quality in the Heidelberg OCTA. Furthermore, Q values obtained by the different OCTA models may differ, so each model should ideally describe the minimum image quality index for the best segmentation result.

Quantitative OCTA measurements are highly dependent on binarization and since higher levels of background noise can affect the binarization threshold, it is advisable to conduct background noise and continuous vessel segmentation analysis before binarization [13]. Image processing is an important step when calculating quantitative global vessel density from OCTA images. The choice of threshold to be used for image binarization is of utmost importance. Most researchers recommend manual and automated binarization methods using open-source software, such as ImageJ. Manual methods employ a binarization threshold based on the mean signal within the vessel-free FAZ. Automated algorithms use the histogram of the image to obtain a threshold. Rabiolo et al. found significant differences in vessel density between manual and automated binarization methods, compromising the reliability of consecutive examinations [15].

Differences in binarization thresholding methodologies have been shown to influence the quantification of OCTAs in healthy eyes. Automated should be preferred over manual binarization, but algorithms are not interchangeable and outcomes can differ significantly. In one study, the intra-class correlation coefficients between two consecutive OCTA measurements were significantly higher when the Otsu binarization method was used. The method minimizes variance between foreground and background structures in the image histogram [6]. In a previous qualitative analysis of binarization threshold methods in diabetic retinopathy patients, the overall Otsu threshold yielded the best results [16].

Data obtained with different settings are not easily compared. Interstudy comparability requires the adoption of a set of common methods and standards. Our group proposes a method of a quantitative assessment of retinal vasculature in healthy subjects using Heidelberg OCTA. The step-by-step algorithm was found to provide reliable quantitative vascular measurements of the macula and peripapillary networks. Moreover, the ImageJ macro script is low-cost, time-saving, accessible, and widely available. The considerable inter-method variability observed in quantitative OCTA outcomes in general highlights the difficulty in comparing studies and the potential of the macro presented in this paper. However, despite the number of steps involved, we believe the procedures are easy to learn and that the algorithm can be used to standardize quantitative OCTA measurements for greater reproducibility and comparability.

The FAZ is highly susceptible to retinal vascular changes. Accurate observations of area and regularity are necessary for an adequate understanding of normality, but few quantitative studies are available and measuring methods have not been standardized. The method proposed in this paper allows for objective and reproducible measurements. Manually establishing the boundary of the FAZ can be taxing and time-consuming, and manual segmentation tends to be closer to a circle and smoother than automated algorithms, resulting in a shorter perimeter and greater circularity [17].

The shape of the FAZ on OCTA is considered a good indicator of retinal pathology. Thus, in some recent studies, normal eyes and eyes with diabetic retinopathy were shown to differ significantly with regard to the circularity of the FAZ [18, 19]. The circularity of the FAZ can be expressed mathematically as a deviation from the perfect circle (1.0), using the equation: $\text{circularity} = 4\pi(\text{area}/\text{perimeter}^2)$. The lower the value, the greater the deviation. Since morphological FAZ parameters are less affected by individual variation than FAZ size in normal eyes, parameters related to the shape of the FAZ are likely better for monitoring the FAZ in patients with suspected disease [20]. Since the FAZ area depends on the OCT device used, measurements obtained with different devices should not be used in clinical trials [21, 22]. In the

present study, we used Spectralis® OCTA to obtain the mean (\pm SD) FAZ area measurements shown in Table 1.

OCTA allows to non-invasively and quantitatively assess blood flow at the optic nerve head. Recent studies have shown that OCTA-measured retinal circumpapillary vessel density may be affected even in patients with non-primarily vascular optic nerve diseases such as glaucoma, inflammatory or hereditary optic neuropathies [23]. OCTA scanning makes it relatively easy to evaluate the peripapillary vascular network. A dense microvascular network with no focal capillary dropout can be observed around most healthy optic discs (often more visible immediately adjacent to the border of the disc), with decreasing clarity towards the periphery. By analyzing the vessel density separately in different sectors and layers of the optic nerve, OCTA helps distinguish between healthy and damaged optic nerves and potentially sheds light on the pathogenesis of optic disc diseases [17]. Based on our results, we propose a practical and automated method of obtaining quantitative perivascular vessel density data using Heidelberg OCTA and present normal ranges for each optic disc sector.

Our study was limited by the relatively small number of subjects and the use of only one measurement per eye. Vascular complexes were the focus of this paper, clinically it would be more interesting if we could segment and evaluate each plexus. Moreover, we did not assess comparability and reproducibility across different OCTA devices, and only normal eyes were included in the sample. It is possible that retinal layer changing in retinal pathologies may be a problem for adequate segmentation and algorithm performance. Although we have facilitated the quantitative analysis of the images, it is still necessary to export the image from the device and use third-party software. Ideally, the automated analysis strategy should be incorporated as an update in the device itself.

In conclusion, the standardization of OCTA measuring methods is of great importance for the scientific and clinical use of OCTA. The proposed steps of OCTA-based assessment of macular and peripapillary parameters (SVC, DVC, FAZ) were found to be reproducible, accurate, and easy to learn. The adoption of our method would favor inter-study comparability and contribute to the current understanding of a range of pathologies and treatment responses.

Acknowledgements

Not applicable.

Financial disclosures of all authors (for the preceding 12 months)

Dr. Mello are supported by CAPES - Coordenação de Aperfeiçoamento de Nível Superior, Brasília, Brazil. Prof. Monteiro is supported by CNPq - Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (No 307393/2014-3), Brasília, Brazil. The remaining authors report no actual or potential financial disclosures.

Author contributions

Conception and design of the study: LGMM, TSRN, EDSN, LCZ. Acquisition and analysis of data: LGMM, TSRN, EDSN, LCZ. Drafting a significant portion of the manuscript: LGMM, TSRN, EDSN, LCZ, MLRM. Revision of the manuscript: LGMM, TSRN, EDSN, LCZ, MLRM. All authors read and approved the final manuscript.

Funding

This work was supported by grants CAPES - Coordenação de Aperfeiçoamento de Nível Superior, Brasília, Brazil and CNPq - Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (No 307393/2014-3), Brasília, Brazil. The funding organizations had no role in the design or conduct of this research.

Declarations

Competing interests

The authors report no conflicts of interest relative to the research covered in this manuscript.

Author details

¹Department of Specialized Medicine, Centro de Ciências da Saúde (CCS), Universidade Federal do Espírito Santo, Vitória, Brazil. ²Division of Ophthalmology and the Laboratory for Investigation in Ophthalmology (LIM-33), Faculdade de Medicina FMUSP, Universidade de São Paulo, Av. Dr. Enéas de Carvalho Aguiar, 255, Cerqueira César, São Paulo 05403-001, Brazil.

Received: 1 August 2022 Accepted: 5 October 2022

Published online: 15 October 2022

References

- Spaide RF, Fujimoto JG, Waheed NK, Sadda SR, Staurenghi G. Optical coherence tomography angiography. *Prog Retin Eye Res.* 2018;64:1–55.
- Borrelli E, Parravano M, Sacconi R. Guidelines on optical coherence tomography angiography imaging: 2020 focused update. *Ophthalmol Ther.* 2020;9:697–707.
- Yao X, Alam MN, Le D, Toslak D. Quantitative optical coherence tomography angiography: a review. *Exp Biol Med (Maywood).* 2020;245:301–12.
- Schindelin J, Arganda-Carreras I, Frise E. et al. Fiji: an open-source platform for biological-image analysis. *Nat Methods.* 2012;9:676–82.
- Corvi F, Pellegrini M, Erba S, Cozzi M, Staurenghi G, Giani A. Reproducibility of vessel density, fractal dimension, and foveal avascular zone using 7 different optical coherence tomography angiography devices. *Am J Ophthalmol.* 2018;186:25–31.
- Terheyden JH, Wintergerst MWM, Falahat P, Berger M, Holz FG, Finger RP. Automated thresholding algorithms outperform manual thresholding in macular optical coherence tomography angiography image analysis. *PLoS ONE.* 2020;15:e0230260.
- Mehta N, Braun PX, Gendelman I. et al. Repeatability of binarization thresholding methods for optical coherence tomography angiography image quantification. *Sci Rep.* 2020;10:15368.
- Suzuki AC, Zacharias LC, Preti RC, Cunha LP, Monteiro MLR. Circumpapillary and macular vessel density assessment by optical coherence tomography angiography in eyes with temporal hemianopia from chiasmal compression. Correlation with retinal neural and visual field loss. *Eye (Lond).* 2020;34:695–703.
- Rodrigues TM, Marques JP, Soares M. Peripapillary neurovascular coupling in the early stages of diabetic retinopathy. *Retina.* 2019;39:2292–302.
- Zhang J, Tang FY, Cheung CY, Chen H. Different effect of media opacity on vessel density measured by different optical coherence tomography angiography algorithms. *Transl Vis Sci Technol.* 2020;9(8):19.
- Zhang J, Tang FY, Cheung C, Chen X, Chen H. Different effect of media opacity on auto-mated and manual measurement of foveal avascular zone of optical coherence tomography angiographies. *Br J Ophthalmol.* 2020;105(6):812–8.
- Uji A, Balasubramanian S, Lei J, Baghdasaryan E, Al-Sheikh M, Sadda SR. Impact of multiple en face image averaging on quantitative assessment

- from optical coherence tomography angiography images. *Ophthalmology*. 2017;124(7):944–52.
13. Spaide RF, Fujimoto JG, Waheed NK. Image artifacts in optical coherence tomography angiography. *Retina*. 2015;35(11):2163–80.
 14. Rabiolo A, Gelormini F, Sacconi R, Cicinelli MV, Triolo G, Bettin P, et al. Comparison of methods to quantify macular and peripapillary vessel density in optical coherence tomography angiography. *PLoS One*. 2018;13(10):e205773.
 15. Terheyden JH, Wintergerst MWM, Falahat P, Berger M, Holz FG, Finger RP. Automated thresholding algorithms outperform manual thresholding in macular optical coherence tomography angiography image analysis. *PLoS One*. 2020;5(3): e0230260.
 16. Borrelli E, Sacconi R, Parravano M, Costanzo E, Querques L, Battista M, et al. OCTA assessment of the diabetic macula. *Retina*. 2021. <https://doi.org/10.1097/IAE.0000000000003145>.
 17. Lin A, Fang D, Li C, Cheung CY, Chen H. Improved automated foveal avascular zone measurement in cirrus optical coherence tomography angiography using the level sets Macro. *Transl Vis Sci Technol*. 2020;9(12):1–10.
 18. Krawitz BD. Circularity index and axis ratio of the foveal avascular zone in diabetic eyes and healthy controls measured by optical coherence tomography angiography. *Vis Res*. 2017. <https://doi.org/10.1016/j.visres.2016.09.019>. etal.
 19. Tang FY. Determinants of quantitative optical coherence tomography angiography metrics in patients with diabetes. *Sci Rep*. 2017;7:2575. <https://doi.org/10.1038/s41598-017-02767-0>.
 20. Shihara H, Terasaki H, Sonoda S, Kakiuchi N, Shinohara Y, Tomita M, et al. Objective evaluation of size and shape of superficial foveal avascular zone in normal subjects by optical coherence tomography angiography. *Sci Rep*. 2018;8(1):1–9.
 21. Magrath CN, et al. Variability in foveal avascular zone and capillary density using optical coherence tomography angiography machines in healthy eyes. *Retina*. 2016. <https://doi.org/10.1097/IAE.00000000000001458>.
 22. Shihara H. Reproducibility and differences in area of foveal avascular zone measured by three different optical coherence tomographic angiography instruments. *Sci Rep*. 2017;7:9853.
 23. Lommatzsch C, Rothaus K, Koch JM, Heinz C, Grisanti S. Vessel density in OCT angiography permits differentiation between normal and glaucomatous optic nerve heads. *Int J Ophthalmol*. 2018;11(5):835–43. <https://doi.org/10.18240/ijo.2018.05.20>.

Publisher's Note

Springer Nature remains neutral with regard to jurisdictional claims in published maps and institutional affiliations.

Ready to submit your research? Choose BMC and benefit from:

- fast, convenient online submission
- thorough peer review by experienced researchers in your field
- rapid publication on acceptance
- support for research data, including large and complex data types
- gold Open Access which fosters wider collaboration and increased citations
- maximum visibility for your research: over 100M website views per year

At BMC, research is always in progress.

Learn more biomedcentral.com/submissions



Apêndice P – Medidas da tomografia de coerência óptica (OCT) da região peripapilar dos grupos controle (CT) e com a doença de Parkinson (PD)

Parâmetro	Grupo		Valor p
	CT	PD	
Área da BMO (mm ²)	1899 ± 339,2	2064,9 ± 505,6	0,255
MRW (µm)			
Global	310,5 ± 35,9	322,2 ± 64,8	0,471
Temporal	218,8 ± 41,8	228,7 ± 47,6	0,448
Superior	323 ± 38,9	332,1 ± 76,2	0,561
Inferior	363,9 ± 50,7	369,1 ± 73,6	0,785
Nasal	337,7 ± 45,0	357,4 ± 81,8	0,372
pRNFL (µm)			
Global	100,6 ± 8,5	103,1 ± 13,3	0,566
Temporal	70,8 ± 8,8	70,3 ± 9,6	0,842
Superior	128 ± 12,1	128,1 ± 21,2	0,947
Inferior	135,3 ± 20,7	135,6 ± 18,1	0,924
Nasal	80,5 ± 13,3	88,5 ± 16,2	0,100
pCoroide (µm)			
Global	224,1 ± 66,1	206,2 ± 67,6	0,356
Temporal	234,7 ± 74,9	207,5 ± 70,0	0,193
Superior	238,5 ± 76,3	220,6 ± 67,4	0,376
Inferior	195,7 ± 57,4	176,1 ± 62,5	0,268
Nasal	225,7 ± 66,5	216,5 ± 76,9	0,648

NOTA: BMO = abertura da membrana de Bruch; MRW = menor largura da borda da abertura da membrana de Bruch até a membrana limitante interna; pCoroide = coroide da região peripapilar; pRNFL = camada de fibras nervosas da retina peripapilar. A análise estatística foi realizada utilizando equações de estimação generalizadas (GEE).

Apêndice Q – Medidas da tomografia de coerência óptica (OCT) da região macular dos grupos controle (CT) e com a doença de Parkinson (PD)

Parâmetro (µm)	Grupo		Valor p
	CT	PD	
Macula total			
Fóvea	267,2 ± 21,9	271,5 ± 27,5	0,716
Anel interno	335,5 ± 17,3	332,9 ± 20,5	0,558
Anel externo	292,5 ± 11,7	292,3 ± 14,8	0,806
mRNFL			
Fóvea	11,6 ± 2,9	12,5 ± 3,4	0,486
Anel interno	21,9 ± 2,1	21,9 ± 2,3	0,965
Anel externo	34,8 ± 3,4	35,3 ± 4,3	0,759
GCL			
Fóvea	14,6 ± 4,9	14 ± 3,5	0,578
Anel interno	50,9 ± 4,9	48,7 ± 5,5	0,133
Anel externo	36,4 ± 3,0	35,9 ± 3,8	0,501
IPL			
Fóvea	19,6 ± 4,3	20,3 ± 3,9	0,664
Anel interno	42,1 ± 3,6	41,5 ± 4,0	0,567
Anel externo	29,9 ± 2,4	30 ± 3,1	0,940
GCL+			
Fóvea	34,1 ± 9,0	34,3 ± 7,2	0,938
Anel interno	93 ± 8,4	90,3 ± 9,2	0,258
Anel externo	66,3 ± 5,3	65,8 ± 6,8	0,683
GCL++			
Fóvea	45,7 ± 11,6	46,7 ± 10,3	0,892
Anel interno	114,8 ± 9,7	112,2 ± 10,8	0,336
Anel externo	101,1 ± 7,0	101,1 ± 9,3	0,876
INL			
Fóvea	18,8 ± 6,1	19,8 ± 6,7	0,695
Anel interno	40,5 ± 3,6	40,5 ± 4,2	0,869
Anel externo	32,9 ± 1,8	32 ± 2,2	0,109
OPL			
Fóvea	24,1 ± 5,5	25,5 ± 5,4	0,444
Anel interno	31,5 ± 3,2	31,7 ± 4,3	0,892
Anel externo	26,5 ± 1,8	26,8 ± 1,7	0,609
ONL			
Fóvea	91,6 ± 7,4	91,8 ± 11,4	0,976
Anel interno	69 ± 6,7	69,1 ± 8,0	0,998
Anel externo	54,9 ± 5,4	55,2 ± 6,5	0,939
PRL			
Fóvea	70,8 ± 4,1	71 ± 3,4	0,938
Anel interno	64,6 ± 2,0	64,9 ± 1,6	0,666
Anel externo	64 ± 1,6	63,8 ± 1,3	0,740

Apêndice Q – Medidas da tomografia de coerência óptica (OCT) da região macular dos grupos controle (CT) e com a doença de Parkinson (PD)

Parâmetro (µm)	Grupo		Valor p
	CT	PD	
ORL			
Fóvea	162,3 ± 8,0	162,8 ± 12,1	0,997
Anel interno	133,6 ± 7,2	134 ± 8,6	0,928
Anel externo	118,8 ± 5,9	119 ± 6,9	0,995
RPE			
Fóvea	16,8 ± 2,4	16,7 ± 2,1	0,828
Anel interno	15 ± 1,5	15,2 ± 1,5	0,806
Anel externo	13,3 ± 1,2	13,2 ± 1,3	0,997
mCoroide			
Subfoveal	335 ± 87,7	315,7 ± 97,4	0,472
Anel interno	320,7 ± 83,5	306,7 ± 92,6	0,574
Anel externo	274 ± 70,3	257,3 ± 78,4	0,434

NOTA: GCL = camada de células ganglionares; GCL+ = soma da camada de células ganglionares com a camada plexiforme interna; GCL++ = complexo de células ganglionares da retina; INL = camada nuclear interna; IPL = camada plexiforme interna; mCoroide = coroide da região macular; mRNFL = camada de fibras nervosas da retina da região macular; ONL = camada nuclear externa; OPL = camada plexiforme externa; ORL = camadas da retina externa; PRL = camada de fotorreceptores; RPE = epitélio pigmentar da retina. A análise estatística foi realizada utilizando equações de estimação generalizadas (GEE).

Apêndice R – Densidade vascular (%) obtida por meio angiografia por tomografia de coerência óptica (OCTA) da região peripapilar dos grupos controle (CT) e com a doença de Parkinson (PD)

Variável	Grupo		Valor p
	CT	PD	
Escore Q	35,55 ± 2,56	34,39 ± 2,68	0,104
pSVC			
Anel	55,9 ± 8,7	52,8 ± 10,9	0,239
Superior	65,6 ± 11,3	60,3 ± 14,6	0,167
Inferior	73,9 ± 9,2	69,3 ± 11,7	0,095
Temporal	43 ± 11,3	37,5 ± 13,1	0,084
Nasal	46,2 ± 12,1	47,9 ± 12,2	0,720
pNFLVP			
Anel	56,3 ± 8,8	54 ± 12,5	0,387
Superior	71,9 ± 11,5	67,3 ± 17,3	0,267
Inferior	78,7 ± 9,4	74,8 ± 14,5	0,209
Temporal	40,5 ± 12,4	35,2 ± 12,5	0,100
Nasal	41,6 ± 13,3	44,5 ± 16,2	0,621
pSVP			
Anel	42,8 ± 6,6	41,3 ± 7,6	0,423
Superior	43,2 ± 8,9	40,4 ± 9,8	0,282
Inferior	50,8 ± 9,6	47 ± 9,9	0,136
Temporal	35 ± 8,6	31,7 ± 11	0,198
Nasal	42,9 ± 8,6	45,6 ± 9,2	0,332

NOTA: pNFLVP = plexo vascular da camada de fibras nervosas peripapilar; pSVC = complexo vascular superficial peripapilar; pSVP = plexo vascular superficial peripapilar. A análise estatística foi realizada utilizando equações de estimação generalizadas (GEE).

Apêndice S – Resultados (valor p) do teste de DeLong entre cada área abaixo da curva característica de operação do receptor (AUC) das variáveis estatisticamente significantes

Variável	CVS monocular	CVS binocular	Resposta fotópica (onda b)	PO1	mOCTA (DVC)	Média PO	IO	PO3	mOCTA (DCP)	PhNR_PT
CVS monocular	1.000									
CVS binocular	0.834	1.000								
Resposta fotópica - Onda b	0.457	0.596	1.000							
PO1	0.361	0.484	0.862	1.000						
mOCTA – DVC	0.302	0.415	0.775	0.909	1.000					
Média PO	0.234	0.331	0.658	0.786	0.875	1.000				
IO	0.234	0.331	0.658	0.786	0.875	1.000	1.000			
PO3	0.187	0.271	0.567	0.689	0.773	0.896	0.896	1.000		
mOCTA – DCP	0.133	0.202	0.458	0.570	0.648	0.766	0.766	0.867	1.000	
PhNR_PT	0.107	0.165	0.392	0.495	0.568	0.680	0.680	0.777	0.912	1.000

NOTA: CVS = sensibilidade visual ao contraste; IO = índice oscilatório; mDCP = plexo capilar profundo macular; mDVC = complexo vascular profundo macular; mOCTA = tomografia de coerência óptica macular; Média PO = média dos potenciais oscilatórios de 1 a 4; PhNR_PT = resposta fotópica negativa medida do pico da onda b até o menor valor da resposta; PO1 = primeiro potencial oscilatório; PO3 = terceiro potencial oscilatório; Os valores de p estatisticamente significantes ($\leq 0,05$) são mostrados em negrito e sublinhados.

Apêndice T – Correlação de Spearman entre as variáveis estatisticamente significantes e dados clínicos do grupo com a doença de Parkinson

Variável		Diagnóstico (anos)	Sintomas motores (anos)	MDS-UPDRS-III ON	MDS-UPDRS-III OFF	H&Y
PO1	ρ	0,171	0,064	0,055	-0,062	-0,041
	Valor p	0,284	0,690	0,734	0,700	0,798
PO3	ρ	0,177	0,122	0,057	-0,042	0,090
	Valor p	0,267	0,448	0,724	0,795	0,576
Média PO	ρ	0,186	0,118	0,052	-0,112	0,047
	Valor p	0,243	0,464	0,747	0,485	0,772
IO	ρ	0,186	0,118	0,052	-0,112	0,047
	Valor p	0,243	0,464	0,747	0,485	0,772
Resposta fotópica - Onda b	ρ	0,012	-0,048	-0,065	-0,171	-0,045
	Valor p	0,943	0,767	0,686	0,284	0,780
PhNR_PT	ρ	-0,259	-0,271	-0,087	0,002	-0,017
	Valor p	0,102	0,086	0,590	0,992	0,915
mOCTA - DVC	ρ	-0,219	-0,169	-0,169	0,010	-0,068
	Valor p	0,170	0,291	0,291	0,949	0,672
mOCTA - DCP	ρ	-0,195	-0,139	-0,197	-0,012	-0,100
	Valor p	0,222	0,385	0,218	0,939	0,535
CVS monocular	ρ	-0,346	-0,353	-0,370	-0,311	-0,327
	Valor p	<u>0,027</u>	<u>0,024</u>	<u>0,017</u>	<u>0,048</u>	<u>0,037</u>
CVS binocular	ρ	-0,411	-0,422	-0,334	-0,376	-0,335
	Valor p	<u>0,008</u>	<u>0,006</u>	<u>0,033</u>	<u>0,016</u>	<u>0,033</u>

NOTA: CVS = sensibilidade visual ao contraste; H&Y = escala Hoehn e Yahr; IO = índice oscilatório; mDCP = plexo capilar profundo macular; MDS-UPDRS-III = parte III da Escala de Avaliação Unificada da Doença de Parkinson revisada pela Sociedade de Distúrbios do Movimento; mDVC = complexo vascular profundo macular; mOCTA = tomografia de coerência óptica macular; Média PO = média dos potenciais oscilatórios de 1 a 4; OFF = sem efeito das medicações antiparkinsonianas; ON = sob efeito das medicações antiparkinsonianas; PhNR_PT = resposta fotópica negativa medida do pico da onda b até o menor valor da resposta; PO1 = primeiro potencial oscilatório; PO3 = terceiro potencial oscilatório; ρ = coeficiente de correlação de Spearman (rho). Os valores de p estatisticamente significantes ($\leq 0,05$) são mostrados em negrito e sublinhados.