



**UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARÁ
INSTITUTO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM NEUROCIÊNCIAS
E BIOLOGIA CELULAR**

**CORRELAÇÃO ENTRE MEDIDAS QUANTITATIVAS DE ESPESSURA
RETINIANA, CONCENTRAÇÃO DE METABÓLITOS ENCEFÁLICOS E FUNÇÕES
NEUROPSICOLÓGICAS DE PACIENTES COM TRANSTORNOS
NEUROCOGNITIVOS**

FABIO DA SILVA WAN-MEYL

**BELÉM-PARÁ-BRASIL
2017**

FABIO DA SILVA WAN-MEYL

**CORRELAÇÃO ENTRE MEDIDAS QUANTITATIVAS DE ESPESSURA
RETINIANA, CONCENTRAÇÃO DE METABÓLITOS ENCEFÁLICOS E FUNÇÕES
NEUROPSICOLÓGICAS DE PACIENTES COM TRANSTORNOS
NEUROCOGNITIVOS**

**Dissertação apresentada ao Curso de
Mestrado do Programa de Pós-Graduação em
Neurociências e Biologia Celular do Instituto
de Ciências Biológicas da Universidade
Federal do Pará, para Defesa, requisito
obrigatório para obtenção do Grau de Mestre
em Ciências.**

**Mestrando: Fabio da Silva Wan-Meyl
Orientador: Prof. Dr. Rommel Mario
Rodriguez Burbano
Co-orientador: Prof. Dr. Claudio Eduardo
Corrêa Teixeira**

**BELÉM-PARÁ-BRASIL
2017**

Dados Internacionais de Catalogação- na-Publicação (CIP)
Biblioteca do Instituto de Ciências Biológicas - UFPA

Wan-Meyl, Fabio da Silva

Correlação entre medidas quantitativas de espessura retiniana, concentração de metabólitos encefálicos e funções neuropsicológicas de pacientes com transtornos neurocognitivos / Fabio da Silva Wan-Meyl ; Orientador, Rommel Mario Rodriguez Burbano ; Co-orientador, Claudio Eduardo Correa Teixeira. - 2017.

94 f. : il.

Inclui bibliografia

Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal do Pará, Instituto de Ciências Biológicas, Programa de Pós-graduação em Neurociências e Biologia Celular, Belém, 2017.

1. Neurofisiologia. 2. Sistema nervoso – doenças – diagnóstico. 3. Sistema nervoso - degeneração. 4. Exame neurológico. I. Burbano, Rommel Mario Rodriguez, orientador. II. Teixeira, Claudio Eduardo Correa, co-orientador. III. Título.

CDD – 22 ed. 612.8

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO.....	1
1.1 A DOENÇA DE ALZHEIMER: ASPECTOS GERAIS.....	1
1.2 O DIAGNOSTICO DA DOENÇA DE ALZHEIMER.....	1
1.3 A DOENÇA DE PARKINSON: ASPECTOS GERAIS.....	2
1.4 O DIAGNOSTICO DA DOENÇA DE PARKINSON.....	3
1.5 AVALIAÇÃO NÃO INVASIVA DO SISTEMA NERVOSO CENTRAL.....	3
1.6 TOMOGRAFIA DE COERÊNCIA ÓPTICA DA RETINA (OCT).....	4
1.7 O USO DA OCT DE RETINA NO ESTUDO DAS DOENÇAS DE ALZHEIMER E DE PARKINSON.....	6
1.8 RESSONÂNCIA MAGNÉTICA: PRINCÍPIOS DE IMAGEAMENTO.....	7
1.9 ESPECTROSCOPIA DE PRÓTONS EM RESSONÂNCIA MAGNÉTICA (EPRM).....	8
1.10 O USO DA EPRM NO ESTUDO DAS DOENÇAS DE ALZHEIMER E DE PARKINSON.....	9
1.11 BATERIA DE TESTES NEUROPSICOLÓGICOS AUTOMATIZADOS DE CAMBRIDGE (CANTAB).....	10
1.12 O USO DA CANTAB NO ESTUDO DAS DOENÇAS DE ALZHEIMER E DE PARKINSON.....	11
2 JUSTIFICATIVA.....	12
3 OBJETIVOS.....	13
4 METODOLOGIA.....	14
4.1 Participantes.....	14
4.2 Procedimento Tomográfico.....	15
4.2.1 Análise dos Dados Tomográficos.....	15
4.3 Procedimento Espectroscópico.....	15
4.3.1 Análise dos Dados Espectroscópicos.....	16
4.4 Procedimento Neuropsicológico.....	19
4.4.1 Análise dos Dados Neuropsicológicos.....	21
4.5 Análise agrupada dos dados tomográficos e neuropsicológicos.....	21
5 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	22
5.1 Comparação da espessura da camada de fibras nervosas da retina perimacular de sujeitos saudáveis e de pacientes com transtornos neurocognitivos.....	22
5.2 Comparação da concentração de metabólitos em diferentes regiões encefálicas de sujeitos saudáveis e de pacientes com transtornos neurocognitivos.....	32
5.3 Avaliação quantitativa de funções cognitivas de pacientes com transtornos neurocognitivos.....	36
5.4 Análise de componente principal correlacionando medidas de OCT e CANTAB de pacientes com transtornos neurocognitivos.....	39
5.5 Avaliação retiniana, metabólica e cognitiva de paciente diagnosticado há 5 anos com transtorno neurocognitivo associado a possível doença de Parkinson: um relato de caso.....	41
6 CONCLUSÕES.....	48
REFERÊNCIAS	
ANEXOS	

RESUMO

Atualmente, com o aumento na expectativa de vida das populações humanas, as doenças neurodegenerativas, de comum ocorrência com o avançar da idade, tornaram-se fonte de serias preocupações. Deste modo, tem sido fomentado em todo o mundo a investigação de novos meios de diagnóstico precoce de transtornos neurocognitivos associados a doenças como a de Alzheimer e de Parkinson, assim como a melhoria do entendimento dos métodos de diagnóstico clínico neurológico atualmente disponíveis. Neste sentido, este trabalho propõe investigar a existência de possíveis correlações entre os resultados de exames utilizados na investigação clínica neurológica de pacientes diagnosticados com transtorno neurocognitivo associado a essas importantes doenças neurodegenerativas (doenças de Alzheimer e Parkinson). Os resultados mostram que a medida da espessura da camada de fibras nervosas da retina perimacular, realizada por tomografia de coerência óptica, é um parâmetro que pode não diferir de modo relevante entre grupos de pacientes e sujeitos saudáveis. Por outro lado, a medida da amplitude dos sinais espectroscópicos gerados por metabólitos encefálicos, realizada por espectroscopia de prótons em ressonância magnética, revela alterações encefálicas que variam de região para região. Além disso, a medida neuropsicológica de funções cognitivas, realizada pela aplicação da bateria automatizada CANTAB, revela que diversos aspectos dessas funções estão prejudicados nesses pacientes. Finalmente, a Análise de Componente Principal mostra que, considerando o conjunto de variáveis obtidos pelas medidas tomográficas e neuropsicológicas, é possível observar uma correlação entre várias dessas variáveis. Deste modo, conclui-se que correlacionando os resultados obtidos por diferentes abordagens pode agregar potencial na interpretação dessa casuística, o que não seria possível se considerarmos tais dados de modo isolado.

PALAVRAS CHAVES

Espectroscopia por ressonância magnética, tomografia de coerência óptica, cantab, alzheimer, parkinson

ABSTRACT

Currently, with the increase in life expectancy of human populations, neurodegenerative diseases, commonly occurring with the advancing age, have become a source of serious concern. Thus, research into new ways of early diagnosis of neurocognitive disorders associated with diseases such as Alzheimer's and Parkinson's, as well as the improvement of the understanding of currently available clinical neurological diagnostic methods, has been promoted throughout the world. In this sense, this work proposes to investigate the existence of possible correlations between the results of exams used in clinical neurological investigation of patients diagnosed with neurocognitive disorder associated with these important neurodegenerative diseases (Alzheimer's and Parkinson's diseases). The results show that the measurement of the thickness of the nerve fiber layer of the perimacular retina, performed by optical coherence tomography, is a parameter that may not differ significantly between groups of patients and healthy subjects. On the other hand, the measurement of the amplitude of the spectroscopic signals generated by encephalic metabolites, performed by magnetic resonance proton spectroscopy, reveals encephalic changes that vary from region to region. In addition, the neuropsychological measure of cognitive functions, performed by the automated CANTAB battery, reveals that several aspects of these functions are impaired in these patients. Finally, Principal Component Analysis shows that, considering the set of variables obtained by tomographic and neuropsychological measurements, it is possible to observe a correlation between several of these variables. Thus, it is concluded that correlating the results obtained by different approaches may add potential in the interpretation of this casuistry, which would not be possible if we consider such data in an isolated way.

KEYWORDS

Magnetic resonance spectroscopy, optical coherence tomography, cantab, alzheimer, parkinson

1. INTRODUÇÃO

Atualmente, com o aumento na expectativa de vida das populações humanas, as doenças neurodegenerativas, de comum ocorrência com o avançar da idade, tornaram-se fonte de serias preocupações. Deste modo, tem sido fomentado em todo o mundo a investigação de novos meios de diagnóstico precoce de transtornos cognitivos associados a doenças como a de Alzheimer e de Parkinson, assim como a melhoria do entendimento dos métodos de diagnóstico clínico neurológico atualmente disponíveis. Neste sentido, este projeto propôs investigar a existência de possíveis correlações entre os resultados de exames utilizados na investigação clínica neurológica de pacientes diagnosticados com transtorno cognitivo associado a essas importantes doenças neurodegenerativas (doenças de Alzheimer e Parkinson).

1.1 A DOENÇA DE ALZHEIMER: ASPECTOS GERAIS

A Doença de Alzheimer (DA) afeta cerca de 8% da população com mais de 65 anos, e 30% da população com mais de 80 anos. Em mais de 90% dos casos, a doença desenvolve-se após 65 anos. A DA é a causa mais comum de demência nos países ocidentais, e sua prevalência dobra a cada 5 anos entre pessoas na faixa etária de 65 a 90 anos. Estimativas indicam que o número de pacientes com DA no mundo deverá atingir 100 milhões de pessoas em 2050. Clinicamente, a DA é uma patologia neurodegenerativa multifatorial e heterogênea, sem etiologia definida, sendo caracterizada pela perda de memória, função motora, perda de capacidade intelectual e linguagem (TORIGOE, 2001). Histopatologicamente, a DA é caracterizada por atrofia do tecido cerebral associada a perdas sinápticas expressivas, com depósitos de placas beta-amilóides e emaranhados neurofibrilares observados com maior frequência respectivamente no neocórtex e nos lobos frontal, parietal e occipital. O grau de agregação proteica e o acúmulo de agregados proteicos contribuem de modo significativo

para a destruição de sinapses e, conseqüentemente, para o processo neurodegenerativo (NORFRAV & PROVENZALE, 2004; SAMMALL & CAPPAL, 2006). Além disso, a ocorrência de hiperfosforilação da proteína Tau intracelularmente também contribui para o processo neurodegenerativo, pois ativa o sequestro de proteína Tau normal e outras proteínas associadas, provocando o desmonte de microtúbulos e o conseqüente prejuízo do transporte axonal, o que também compromete a função neuronal e sináptica (FITA, ENCIU & STĂNOIU, 2001; URBANELLI et al., 2009).

Estima-se que lesões típicas da DA podem começar a se desenvolver 15 a 20 anos antes de se manifestarem quaisquer sinais clínicos de disfunção cognitiva. Deste modo, um diagnóstico precoce, ou seja, realizado antes de o paciente sofrer perdas cognitivas significativas, permitiria um melhor planejamento terapêutico, objetivando o retardo dos sintomas, com a participação do paciente nas decisões terapêuticas (FROST, MARTINS & KANAGASINGAM, 2010; VILÓRIA, 2011).

1.2 O DIAGNÓSTICO DA DOENÇA DE ALZHEIMER

Embora tenha havido avanços e novas percepções a respeito da DA, pouco se tem conquistado em relação a um diagnóstico precoce da doença (FITA, ENCIU, & STĂNOIU, 2001). O diagnóstico da DA está baseado em critérios determinados pelo Instituto Nacional de Neurologia e Desordens Comunicativas Cerebrais (NINCDS) e pela Associação para Doença de Alzheimer e Desordens Associadas (ADRDA), sendo classificado da seguinte maneira: “diagnóstico definido” (diagnóstico clínico e confirmação histológica), “diagnóstico provável” (diagnóstico clínico com síndrome típica sem confirmação histológica), e “diagnóstico possível” (diagnóstico clínico aparente, atípico, e sem confirmação histológica) (SARAZIN et al., 2012).

Por outro lado, de acordo com o DSM-V, o paciente com Transtorno Cognitivo Maior é diagnosticado com “provável” DA se houver, ou evidência de mutação genética causadora

da doença a partir do histórico familiar ou de testes genéticos, ou clara evidência de perda de memória e de capacidade de aprendizado somada a presença de: (1) perdas em pelo menos outro domínio cognitivo, (2) perda cognitiva gradual, progressiva e constante, e (3) nenhuma evidência de outros fatores etiológicos. De outro modo, o paciente com Transtorno Cognitivo Maior é diagnosticado com “possível” DA. Ainda de acordo com o DSM-V, o paciente com Transtorno Cognitivo Leve é diagnosticado com “provável” DA se houver evidência de mutação genética causadora da doença a partir do histórico familiar ou de testes genéticos. Se não houver evidência genética, e houver clara evidência de perda de memória e de capacidade de aprendizado somada a presença de: (1) perdas em pelo menos outro domínio cognitivo, (2) perda cognitiva gradual, progressiva e constante, e (3) nenhuma evidência de outros fatores etiológicos, o paciente com Transtorno Cognitivo Leve é diagnosticado com “possível” DA.

Deste modo, o diagnóstico da DA é realizado baseado principalmente em observações clínicas, em resultados de testes neuropsicológicos, e em análises imagiológicas do tecido cerebral, para exclusão de outras patologias (KOIKKALAINEN et al., 2012). Atualmente, o único meio de diagnóstico definitivo é o exame histopatológico do tecido cerebral pós-morte, no qual se observa perda neuronal por conta das placas de proteínas amilóides e emaranhados neurofibrilares intracelulares de proteína Tau hiperfosforilada, com astrogliose secundária por consequência de vascularização de matéria cinzenta (FITA, ENCIU, & STĂNOIU, 2001).

1.3 A DOENÇA DE PARKINSON: ASPECTOS GERAIS

A história da doença de Parkinson veio sendo relatada pelas mais diversas personalidades: Parkinson, Charcot, Wilson. A doença era denominada “paralisia agitante” até que Charcot sugeriu a mudança para “Parkinson”, por ter sido ele o primeiro a descrever mundialmente bem o que seria a doença. James Parkinson publicou em 1817, em Londres, uma descrição sobre o que seria a doença, possibilidades de tratamento, diagnóstico,

sintomas, definição de uma maneira geral. Entretanto, somente na metade do século XIX, a doença passa a ser mais conhecida entre os neurologistas (MENESES & TEIVE, 2003).

A Academia Brasileira de Neurologia (2013) define a doença como degenerativa do sistema nervoso central, crônica e progressiva, caracterizada pela intensa diminuição da produção de dopamina. A dopamina, por sua vez, é um neurotransmissor que auxilia na transmissão de mensagens entre as células nervosas. Este neurotransmissor auxilia na elaboração dos movimentos voluntários do corpo de forma automática, com isso, não há necessidades dos indivíduos pensarem em cada movimento que seu corpo realiza, por conta desta substância no cérebro de cada um. Sua ausência, particularmente na região encefálica denominada substância negra do mesencéfalo, acarreta a perda do controle motor do indivíduo.

Segundo Galhardo (2009) é uma doença idiopática, pois não há uma etiologia definida e o desencadeador primário da morte celular é desconhecido. A Academia Brasileira de Neurologia (2013) diz que com o envelhecimento as pessoas tendem a apresentar morte progressiva das células nervosas que produzem dopamina. Porém, alguns indivíduos perdem estas células de uma maneira acelerada e acabam manifestando os sintomas da doença. Não se sabe exatamente os motivos desta perda exagerada de células nervosas (degeneração), mas admitem que mais de um fator possa estar envolvido no desencadeamento da doença: genéticos e ambientais.

De acordo com Andrade, Santos e Bueno (2004) há a possibilidade de certos processos bioquímicos estarem relacionados com as metamorfoses intracelulares que resultam na degradação celular, como por exemplo: estresse oxidativo (quando radicais livres reagem junto com outras moléculas causando oxidação), excitotoxicidade (que pode levar a morte de células por excesso de cálcio), disfunção mitocondrial (funcionando de modo anormal). Há também outras propostas de causas: o papel do ferro, envelhecimento cerebral, infecções

virais, traumatismo craneencefálico, influências ambientais que podem colaborar com a irrupção no estado de morte neuronal na substância negra.

A Academia Brasileira de Neurologia (2013) cita quatro sinais principais da doença: tremores, acinesia (ao iniciar um movimento) e bradicinesia (durante o movimento), a lentidão e diminuição dos movimentos voluntários. De acordo Galhardo et al (2009) é o sintoma mais incapacitante da doença e está presente desde o início, levando o paciente a dificuldades nas atividades cotidianas. Rigidez (enrijecimento dos músculos, principalmente no nível das articulações), instabilidade postural (dificuldades relacionadas ao equilíbrio, com quedas frequentes). No diagnóstico, não há a necessidade de que todos estes sinais estejam presentes, bastando dois dos três primeiros itens citados. Nem todos os pacientes com a doença apresentam todos os sintomas ao mesmo tempo.

De acordo com Galhardo et al (2009) há algumas alterações neuropsiquiátricas encontradas na doença como: alterações cognitivas/demência, depressão, alucinações, delírio, mania/hopomania, hipersexualidade, ansiedade/crises de pânico, transtorno obsessivo-compulsivo. E, depois de 8 anos no decorrer da doença . dos pacientes já apresentam sinais da demência.

Galhardo et al (2009) diz que estudos que relacionam as funções cognitivas e a doença de Parkinson revelam alterações na memória, linguagem, capacidade visuo-espacial e funções executivas e caracterizam a doença como uma demência.

1.4 O DIAGNÓSTICO DA DOENÇA DE PARKINSON

De acordo com o DMS-V, há dois critérios usados para diagnosticar o paciente com Transtorno Cognitivo Maior ou Leve com DP: (1) não haver evidência de outros fatores etiológicos e (2) a doença de Parkinson claramente preceder o início do transtorno cognitivo. O diagnóstico de Transtorno Cognitivo Maior ou Leve provavelmente devido a DP deve ser

feito se ambos os critérios forem preenchidos. Já o diagnóstico de Transtorno Cognitivo Maior ou Leve possivelmente devido a DP deve ser feito se um ou outro desses critérios for preenchido.

1.5 AVALIAÇÃO NÃO INVASIVA DO SISTEMA NERVOSO CENTRAL

A busca por meios que possibilitem um diagnóstico precoce e in vivo de doenças neurodegenerativas é um desafio a ser enfrentado (SAJI, 2012). Neste sentido, a utilização de métodos de avaliação não-invasiva dos aspectos morfológicos e funcionais do tecido cerebral, como o Imageamento por Ressonância Magnética (MRI, do inglês “Magnetic Resonance Imaging”), a Espectroscopia de Prótons por Ressonância Magnética (¹H MRS, do inglês “¹H Magnetic Resonance Spectroscopy”), Tomografia por Emissão de Pósitrons (PET, do inglês “Positron Emission Tomography”), Tomografia Computadorizada por Emissão de Fóton Único (SPECT, do inglês “Single Photon Emission Computed Tomography”), Tomografia de Coerência Óptica (OCT, do inglês “Optical Coherence Tomography”), Eletroencefalografia Relacionada a Eventos (ERP, do inglês “Event Related Eletroencefalography”), entre outros, vem ajudando a melhorar a acurácia e a precisão do diagnóstico desta doença (NORFRAV & PROVENZALE, 2004; LU et al., 2010). Entretanto, torna-se necessário que tais métodos apresentem sensibilidade, especificidade, e reprodutibilidade em seus resultados, assim como sejam de simples execução (HUANG et al., 1991; FERCHER, 1996; IMAMURA, 2003; HARADA, 2006; ALGER, 2010).

1.6 TOMOGRAFIA DE COERÊNCIA ÓPTICA DA RETINA (OCT)

O Tomógrafo de Coerência Óptica é uma das mais recentes ferramentas destinadas ao exame estrutural neuro-oftalmológico. A Tomografia de Coerência Óptica (OCT, do inglês “Optical Coherence Tomography”), inicialmente proposta por Huang e colaboradores (1991), é uma técnica não invasiva de imageamento tomográfico interferométrica, a qual permite uma

penetração tecidual de cerca de 2-3 mm e uma resolução axial e lateral a qual inicialmente era de aproximadamente 30 μm e atualmente atingiu a ordem submicrométrica. Os equipamentos disponíveis no mercado para uso neuro-oftalmológico oferecem resolução de cerca de 5 μm . Além de sua aplicação na neuro-oftalmologia, em particular para o exame estrutural da retina, ela tem larga aplicação como técnica de imageamento em outras aplicações biológicas e na conservação de obras de arte. O princípio físico da OCT é a interferometria de baixa coerência, na qual a interferência é encurtada para a distância micrométrica graças ao uso de fontes luminosas de banda larga gerada com diodos superluminescentes ou lasers com pulsos extremamente curtos da ordem do femtosegundo (HUANG et al., 1991; FERCHER, 1996).

A OCT de alta resolução e alta velocidade para imageamento e análise da retina foi desenvolvida com tecnologia de última geração usando coerência óptica no domínio das frequências (domínio de Fourier), recentemente trazida para a pesquisa clínica nos dois últimos anos. A alta resolução e alta velocidade possibilitam que o equipamento visualize o tecido retiniano com clareza em fração de segundos. A velha geração de aparelhos de OCT é baseada na tecnologia de coerência óptica no domínio do tempo. Nesses aparelhos, existe uma parte mecânica responsável pelas varreduras A (axiais), nas quais a informação na direção longitudinal é acumulada à medida que transcorre a varredura. Dada a natureza lenta do movimento mecânico, o tempo de varredura nesses aparelhos era muito lento. Por exemplo, um aparelho normal de imageamento retiniano pode realizar 400 varreduras A por segundo. Então, ele não pode ser usado para mapear a retina, por causa dos rápidos movimentos oculares que ocorrem durante o teste. No aparelho de OCT no domínio de Fourier, a informação completa de uma varredura A é obtida simultaneamente através de uma câmera CCD. A taxa de aquisição da varredura A é somente limitada pela taxa de transferência de quadros da câmera CCD e do tempo de computação para realizar a transformada de Fourier dos dados brutos obtidos pela câmera em varreduras A. Como ambos esses fatores podem ser

rapidamente resolvidos, aparelhos de OCT no domínio de Fourier, como o RTVue, podem realizar até 26.000 varreduras A por segundo, 65 vezes a velocidade da tecnologia anterior descrita acima (HUANG et al., 1991; FERCHER, 1996).

O equipamento de OCT possui um mecanismo que utiliza radiação eletromagnética com comprimento de onda na região espectral do infravermelho (843 nm). Nessa técnica, a radiação infravermelha é altamente refletida ou absorvida pelos tecidos biológicos, o que a torna adequada para avaliar estruturas intraoculares como a retina e coróide, em cortes transversais com resolução de cerca de 10 μ m. A radiação infravermelha refletida é captada por um sistema óptico confocal, representada em escala logarítmica e com variados graus de brilho, formando uma imagem tomográfica das estruturas do fundo do olho (Figura 1). O sistema computadorizado de análise das imagens adquiridas permite que elas sejam processadas e representadas em pseudocoloração ou tonalidades de cinza, aumentando o contraste entre as interfaces. No sistema pseudocromático, os sinais refletidos mais intensos são representados por vermelho e branco, os médios por amarelo e verde e os menos intensos por azul e preto. O comprimento de onda utilizado, na região do infravermelho próximo à luz, causa desconforto mínimo as pessoas que realizam este exame.

A digitalização da OCT se inicia com a emissão de um feixe de luz gerado a partir de um diodo superluminescente (DLV) que possui uma alta gama de comprimento de onda de coerência próximo do infravermelho 800-1400nm. O feixe de luz é dividido entre a amostra para ser medida e outro como referência. Quando o feixe de luz atinge a amostra, grande parte da luz é dispersa, a parte restante é retroespalhada em direção à fonte. Um interferômetro coleta dados sobre a luz refletida e filtra o ruído da dispersa. Os dados quantificados da luz refletida permite um nível de micrômetro de acordo com a resolução das estruturas orgânicas estudadas (GREENBERG, 2010).

O software da OCT fornece um algoritmo computacional que identifica as bordas anteriores e posteriores da retina, possibilitando assim calcular a camada de fibras nervosas e a espessura total da retina. Posteriormente, permite o mapeamento dos dados segundo os quadrantes. A retina é definida pelo sistema computacional como a distância entre a primeira reflexão na interface vítreo e o limite anterior da segunda correspondente ao epitélio pigmentado da retina. A camada altamente refletora se destaca na coloração vermelha (Figura 1) (PARISI et al., 2001).

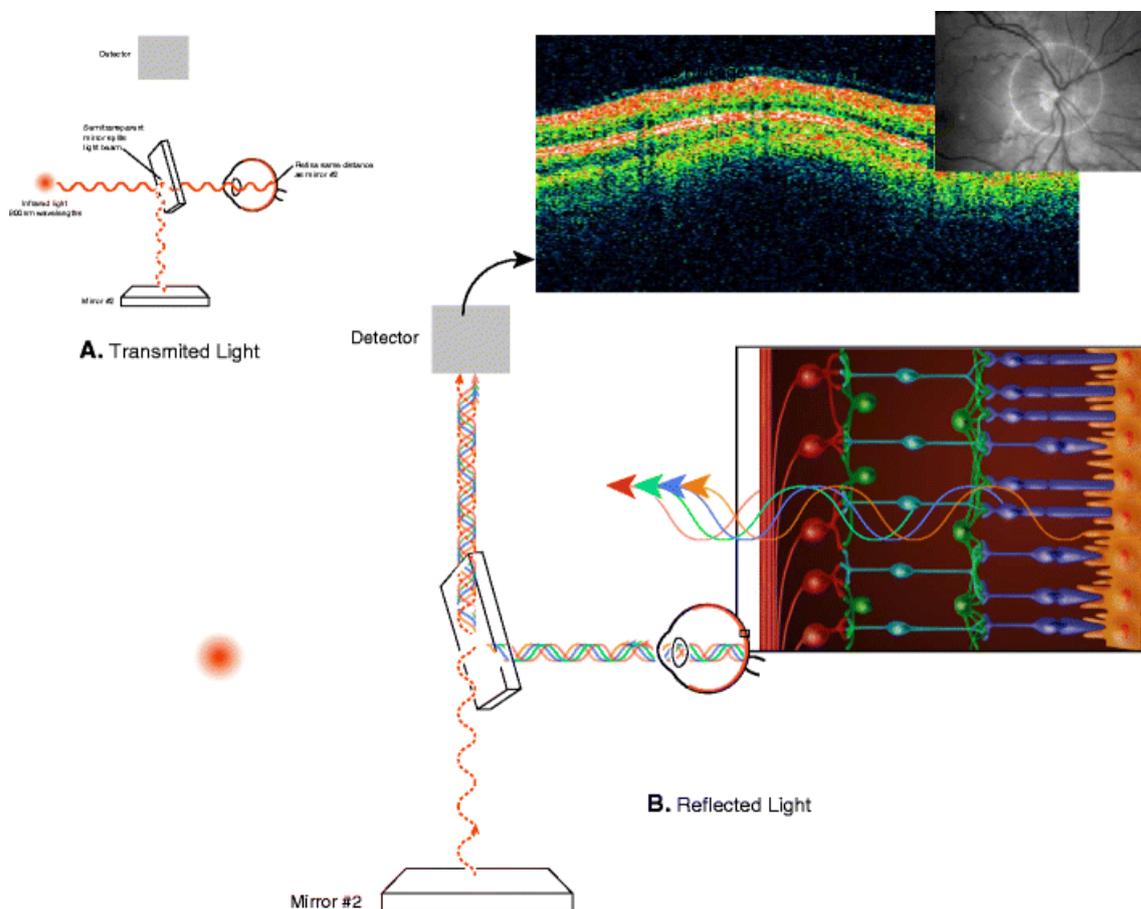


Figura 1. Imagens da estrutura da retina por OCT, (A) Transmissão de luz infravermelha de baixa coerência dentro do olho. (B) A luz é transmitida através da pupila e penetra nas camadas da retina. A luz ao retornar à pupila, os detectores analisam a interferência da luz a partir das camadas da retina em comparação com o caminho de luz de referência. Assim através de um algoritmo a imagem é formada (Fonte: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3075740/>).

Uma série de linhas transversais de verificação, que cobre um comprimento de 2-6 mm da retina, são usadas para formar uma imagem matriz, com tempo necessário de formação de

Is, minimizando artefatos de movimento involuntário (BARONI, FORTUNATO, & TORRE, 2007).

Durante o exame o paciente é instruído a fixar seu foco visual em um alvo interno fornecido pelo equipamento para permitir que a região de interesse seja visualizada pelo examinador. As medidas são obtidas a partir de 3 varreduras não consecutivas (LU et al., 2010). O procedimento é indolor e dura de 10 a 20 minutos. Não há contato do instrumento com o olho do paciente, nem necessidade de injeção intravascular de contraste, como noutras técnicas de estudo do fundo do olho (HUANG et al., 1991; FERCHER, 1996; GALETTA et al., 2011). A OCT gera como resultados mapas retinianos (Figura 2) com espessura analisada e um código de cor estipulado de acordo com o resultado da análise realizada (BOUCAULT et al., 2011). As imagens são representadas em preto e azul para baixa refletividade, verde e amarelo para meia refletividade, e vermelho e branco para alta refletividade (BARONI, FORTUNATO & TORRE, 2007).

1.7 O USO DA OCT DE RETINA NO ESTUDO DAS DOENÇAS DE ALZHEIMER E DE PARKINSON

Hinton e colaboradores (1986) foram os primeiros a mostrar histologicamente evidências de perda de células ganglionares da retina e degeneração do nervo óptico em pacientes diagnosticados com DA, sem deposição de beta-amielóide e alterações neurofibrilares na retina. Posteriormente, surgiram mais evidências de que a DA realmente produz alterações morfológicas na retina mensuráveis por OCT (LU et al., 2010; KESLER et al., 2011), seguindo um padrão específico de perda de camadas de fibras nervosas da retina, estreitamento vascular, e diminuição do fluxo de sangue nos vasos regionais (BERISBA et al., 2007). Tais alterações retinianas em pacientes com DA também foram associadas tanto a alterações na atividade das células retinianas (PARISI et al., 2001) como ao estado de prejuízo cognitivo destes pacientes (PAQUET et al., 2007). Além disso, a avaliação por OCT

permite a observação tanto do diâmetro como do reflexo pupilar, parâmetros estes que podem refletir o grau de disfunção colinérgica central, associada à progressão da DA (BERISBA et al., 2007).

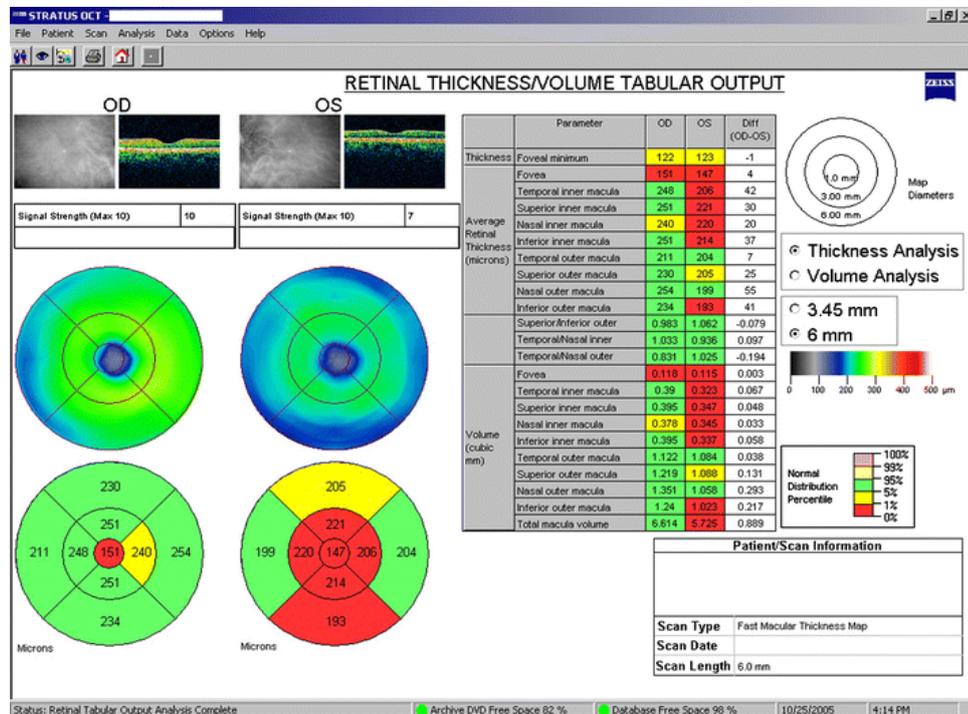


Figura 2. Relatório de mapeamento retiniano. Mostrando análises quantitativas e em cores de acordo com o protocolo. Quadrantes são estabelecidos e analisados (Fonte: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3075740/>).

Por outro lado, Harnois e Di Paolo (1990) foram os primeiros a mostrar que, em pacientes com doença de Parkinson, a concentração de dopamina retiniana também encontra-se diminuída como na via nigroestriatal. E, de modo geral, vários trabalhos mostram que a espessura da CFNR, medida por OCT, encontra-se diminuída nesses pacientes (YAVAS et al., 2007; KIRBAS et al., 2013)

Deste modo, estes dados sugerem que os resultados de medidas quantitativas por OCT de parâmetros morfológicos da retina tem o potencial de fornecer informações sobre o estado funcional do sistema nervoso central em regiões hierarquicamente superiores à retina destes pacientes (ISERI et al., 2006; PAQUET et al., 2007; ALTINTAS et al., 2008; JINDAHRA et al., 2010; KOOLWIJK et al., 2010; ALBRECHT et al., 2012).

1.8 RESSONÂNCIA MAGNÉTICA: PRINCÍPIOS DE IMAGEAMENTO

O imageamento por ressonância magnética (MRI) tem sido muito explorado para diversos fins diagnósticos. Esta técnica resulta da interação do forte campo magnético produzido por um equipamento e os prótons de Hidrogênio do tecido humano. Isto se deve ao sinal magnético do núcleo de Hidrogênio ser superior aos outros núcleos e por ser o átomo mais abundante em todo o organismo. A concentração de água, ao interagir com o campo, cria uma condição para que o Hidrogênio envie um pulso de rádio frequência, o qual é detectado por sensores, sendo este sinal enfim convertido em uma imagem ou informação (DROSTA et al., 2002).

Os núcleos de Hidrogênio, dentro de um campo magnético, respondem a frequência similar as faixas de rádio de “Frequência Modulada (FM)”. Entre os aparelhos de Ressonância Magnética (RM) mais usados para o diagnóstico clínico temos o de 1.5 Tesla, que possui uma frequência de 64 MHz. A frequência do sinal medido por RM depende do campo magnético estático do equipamento, do núcleo em estudo, mais principalmente dos campos magnéticos locais existentes próximos destes mesmos núcleos. Através da Equação de Larmor ($F = \gamma \times B_0$, onde γ é a constante precessional, e B_0 é o valor do campo magnético), calculamos a frequência dos átomos de Hidrogênio do corpo humano, onde convencionamos o átomo de Hidrogênio devido a sua abundância no corpo humano, produzindo assim um bom sinal, através do calculo matemático obtivemos o valor de sua constante de 42.58 MHz/Tesla” (DROSTA et al., 2002).

Os átomos de Hidrogênio sofrem influência do campo magnético externo e sofrem o fenômeno da ressonância quando expostos a uma determinada radiofrequência, armazenadas numa área virtual denominada “espaço k”, contendo todos os dados finais referentes as matrizes (linhas e colunas) relevantes a formação da imagem. Todos esses dados são processados por relação matemática denominada Transformada de Fourier, sendo que cada

linha com a respectiva coluna possui um valor (derivado da intensidade eletrônica do sinal do átomo de Hidrogênio), convertido em uma tonalidade de branco ou cinza, sendo que as linhas que formam a matriz são geradas pelos gradientes de baixa amplitude e as linhas que compõem a periferia são formadas pelo gradiente de alta amplitude mas ao invés de imagens, obtemos um gráfico com informações baseado na análise da curvatura química de prótons, de amplitude em função da frequência (PPM-parte por milhão) destes metabólitos no tecido estudado. Assim, explica o princípio físico da obtenção da imagem por RM que é o mesmo da Espectroscopia (ALGER JR, 2011).

1.9 ESPECTROSCOPIA DE PRÓTONS EM RESSONÂNCIA MAGNÉTICA (EPRM)

A espectroscopia é uma técnica não invasiva relacionada à medida da distribuição de diversos metabólitos ou alterações neuroquímicas que possam estar relacionados com processos fisiopatológicos, avaliando mudanças cinéticas nas vias metabólicas do sistema nervoso central, medindo as velocidades de síntese de vias neuroquímicas e de neurotransmissores nos seres humanos in vivo. Pode ser realizada a partir de variados elementos como o hidrogênio, fósforo, carbono, sódio e flúor (DROSTA et al., 2002).

Na espectroscopia por RM, os elétrons mais próximos do núcleo agem sobre o mesmo com efeito de blindagem (chemical shift), ou seja, diminui o campo magnético externo que está aplicado sobre o núcleo, conseqüentemente, a frequência de Larmor diminui e o impulso de radiofrequência apresentara uma menor frequência, fazendo com que uma espécie química crie uma frequência específica. O chemical shift depende do número e do tipo dos átomos ao seu redor e de outras estruturas moleculares envolvidas no processo (ambiente químico). O valor mínimo para detecção de uma espécie química na referida técnica deve estar no intervalo de 0.5-1.0 mmol/l (AMBROS, 2008), justificando assim a não detecção dos neurotransmissores e ácidos essenciais e sim dos seus subprodutos (metabólitos) (LEITE,

2001). Os seguintes metabólitos são detectados pela espectroscopia: Lipídios, NAA (N-acetil-aspartato), GLX (Glutamina e Glutamato), CRE (creatina), Cho (colina), e Mi (Mio-inositol) (DROSTA et al., 2002).

As áreas estudadas são de natureza tridimensional denominada tecnicamente de voxel, podendo ser múltiplo ou único, sendo este último o mais usado pelo seu menor tempo de aquisição da imagem. São conhecidas basicamente duas técnicas: STEAM (do inglês, Stimulated Echo Acquisition Mode) e PRESS (do inglês, Point Resolved Spatial Selection). Hoje em dia, a técnica usada pela maioria dos autores é a técnica PRESS, já que duplica a relação sinal/ruído em comparativo com a técnica STEAM (DROSTA et al., 2002; BRITO, 2006; BERTHOLDO, 2009; HE et al., 2010).

O sinal da água é aproximadamente 100.000 vezes superior que o dos outros metabólitos, sendo fundamental diminuí-lo, produzindo uma relação sinal/ruído adequada para detectar metabólitos de pequena concentração. A supressão de H₂O é obtida pela excitação e retirada de fase do sinal, diminuindo 1000 vezes, enquanto que a supressão de gordura é conseguida com a inversão seletiva da ressonância do lipídio com um delay de aproximadamente 220 mseg (DROSTA et al., 2002; BERTHOLDO, 2009).

Assim como na imagem da RM, a informação espectroscópica dependerá do TR e do TE utilizados, já que os metabólitos cerebrais possuem diferentes tempo de relaxamento T₂. Os metabólitos identificados com TE longo são: N-acetil-aspartato, Creatina, Colina e Lactato (quando presente). Com TE curto: Lipídios, Glutamato/Glutamina e Mio-inositol. Como menos metabólitos são observados com TE alto, a curva obtida é mais facilmente interpretada (BRITO, 2006).

A funcionalidade de alguns metabolitos no encéfalo ainda não esta bem definida assim como as sua concentrações. No presente estudo apresentamos valores de normalidade relativos a equipamentos de ressonância magnética de 1,5 T para os seguintes metabolitos:

- NAA (N-Acetil-Aspartato): dispersão química entre 2.0 a 2.6 ppm. Faz parte do grupo N-acetil, é o pico metabólito predominante da curva espectroscópica (AMBROS, 2008). O NAA está presente nos neurônios e em seus prolongamentos axonais e dendríticos, mas não são encontrados em células gliais. Pode ser encontrado em maior concentração no córtex cerebral. Seu aumento é observado na Doença de Canavan e em estados hiperosmolares. Sua diminuição é observada em pessoas com hipóxia, demência, anoxia, isquemia; AIDS, epilepsia, tumores, e derrame. Este metabólito é considerado como marcador da densidade, funcionalidade e integridade neural, pois pode demonstrar a viabilidade neural após diversos tipos de lesões (IMAMURA, 2003; LIN et al., 2005; BRITO, 2006).
- Cr (Creatina) tem concentração variando em torno de 3.03 a 3.9 p.p.m.. O equilíbrio da reação fosforo-creatina reflete o metabolismo energético das células cerebrais, servindo de referência para a quantificação de outros metabólitos no cérebro, já que os níveis permanecem estáveis em diversas situações patológicas por meses no indivíduo. A CRE funciona como reserva de fosfato para o sistema ADP-ATP. Seu aumento está relacionado com traumas e estados hiperosmolares. Sua diminuição pode ser observada em pessoas com hipóxia, AIDS, derrame, tumores, hiponatremia, e linfoma (IMAMURA, 2003; LIN et al., 2005; BRITO, 2006).
- Cho (Colina): 3.2 p.p.m., é precursora da acetilcolina e fosfatidilcolina. É um marcador de reparação de membranas celulares, sendo importante indicativo no aumento de número de células e proliferação de tumores. Seu decréscimo pode ser observado em pessoas com AIDS, encefalopatia hepática, hiponatremia, e criptococose (IMAMURA, 2003; BRITO, 2006).
- mI (Mio-inositol): encontrado em concentrações entre 3.56 a 4.06 p.p.m.. É quase exclusivamente encontrado nas células gliais, onde funciona com um importante osmólito. Também é um precursor de fosfatidilinositol e de fosfato de inositol. Apresenta sua

funcionalidade na ligação entre os receptores hormonais com a atividade intracelular, atuando como agente desintoxicante do fígado e do cérebro. Pode ser usado como marcador de disfunção de membrana e patologias de citoesqueleto. Sua elevação está relacionada com a diabetes mellitus, insuficiência renal crônica e a intoxicação por monóxido de carbono. O Mi é muito importante no equilíbrio osmótico celular e atua como 2º mensageiro na membrana da célula (LIN et al., 2005; BRITO, 2006).

1.10 O USO DA EPRM NO ESTUDO DAS DOENÇAS DE ALZHEIMER E DE PARKINSON

Vários estudos já mostraram que a quantificação da concentração de diversos metabolitos encefálicos através de espectroscopia por ressonância magnética tem revelado resultados alterados em pacientes com doença de Alzheimer, quando comparados aos de medidas realizadas em sujeitos controle (DIXON et al., 2001; ENGELHARDT et al., 2002; FREDERICKA et al., 2004; GRIFFITH et al., 2008; FOY et al., 2011; SHIINO et al., 2012; WATANABE et al., 2012). Tais alterações nas concentrações absolutas de metabolitos encefálicos em pacientes com doença de Alzheimer foram encontradas no hipocampo (DIXON et al., 2001; ENGELHARDT et al., 2002; SHIINO et al., 2012; WATANABE et al., 2012), no lobo temporal anterior (FREDERICKA et al., 2004), lobo temporal superior (KANTARCI et al., 2000), e giro do cíngulo posterior (KANTARCI et al., 2000; GRIFFITH et al., 2008; SHIINO et al., 2012; WATANABE et al., 2012).

A diminuição nas concentrações hipocampais de NAA encontradas em pacientes com doença de Alzheimer (DIXON et al., 2001; ENGELHARDT et al., 2002; FOY et al., 2011; SHIINO et al., 2012; WATANABE et al., 2012) foram positivamente relacionadas a escores de medidas cognitivas realizadas através da aplicação de testes neuropsicológicos (DIXON et al., 2001; FOY et al., 2011; WATANABE et al., 2012). Já a diminuição nas concentrações de NAA no lobo temporal anterior encontradas não foram positivamente relacionadas aos

resultados do Mini Mental Status Exam (FREDERICKA et al., 2004).

Entretanto, enquanto que um aumento nas concentrações de mI foi geralmente encontrado nas regiões hipocampais, lobo temporal anterior e superior, e giro do cíngulo posterior, as concentrações de Cho nessas diferentes regiões foram bastante variadas (KANTARCI et al., 2000; ENGELHARDT et al., 2002; FREDERICKA et al., 2004; GRIFFITH et al., 2008; SHIINO et al., 2012; WATANABE et al., 2012), não revelando associações significativas com o estado cognitivo desses pacientes.

Por outro lado, vários estudos que usaram a espectroscopia de próton por ressonância magnética para comparar indivíduos saudáveis com pacientes com doença de Parkinson obtiveram resultados inconclusivos. Entretanto, uma redução na concentração de NAA foi observada no putamen e na região temporoparietal. Além disso, há evidências de que uma redução de NAA nos lobos occipitais pode servir como marcador para demência na doença de Parkinson (Zijlmans et al., 1994; Holshouser et al., 1995; Ellis et al., 1997; Federico et al., 1997; Tedeschi et al., 1997; Hu et al., 1999; Abe et al., 2000).

1.11 BATERIA DE TESTES NEUROPSICOLÓGICOS AUTOMATIZADOS DE CAMBRIDGE (CANTAB)

De acordo com Dutra e colaboradores (2013), os processos cognitivos são realizações organizativas das funções estruturais, construídas por meio de reflexos sensoriais, representações, pensamentos e lembranças, que as pessoas captam do mundo exterior por meio dos sentidos e comunicam por meio da linguagem. Segundo Nascimento (2009) o homem da atualidade tem que utilizar recursos cognitivos não apenas para viver em ambientes de aprendizagem cada vez mais complexos, mas também pensar a alteridade, as contradições e as modificações de paradigmas no mundo social.

Neste contexto, os testes neuropsicológicos contribuem para o diagnóstico clínico de muitas doenças, buscam investigar alterações no funcionamento cerebral, avaliam habilidades

e competências cognitivas (ANDRADE, SANTOS e BUENOS, 2004; ALCHIERI, 2004). Há diversas maneiras de realizar testes, e há uma grande quantidade deles em todas as partes do mundo. Entre os testes computadorizados, um dos mais conhecidos é o Cambridge Neuropsychological Test Automated Battery (CANTAB) que, entre outras funções, é capaz de detectar alterações dos processos cognitivos (Cambridge Cognition, 2011).

É uma bateria de testes que foi produzido por pesquisadores da Universidade de Cambridge e é usado por mais de vinte anos. Mais de cem doenças foram investigadas usando o CANTAB. É empregado na avaliação cognitiva e constata primeiras alterações cognitivas em mais de trinta distúrbios do sistema nervoso central. É computadorizado, realizado na tecnologia Touchscreen (tela sensível ao toque que possui a capacidade de identificar a presença e localização de um toque dentro da área de visualização), é maleável e permite que os pesquisadores arquitetem e criem suas próprias baterias de testes, além de ser em sua maioria “não-linguístico” (independentes da linguagem), podendo ser realizado por um assistente devidamente treinado, em indivíduos a partir dos 6 anos (CAMBRIDGE CONGNITION, 2012).

A bateria CANTAB é particularmente apropriada para avaliar várias doenças para as quais a detecção precoce é muito importante, e é interessante porque possibilita ao investigador criar sua própria bateria usando uma seleção de testes sob medida para seu interesse de pesquisa. É de fácil administração, possibilitando mudanças no procedimento padrão (caso seja necessário) como o uso de um mouse em vez de uma tela sensível ao toque para testar indivíduos com limitações motoras (ROQUE et al, 2011).

Testes computadorizados como o CANTAB, podem apresentar problemas no hardware ou software, os quais o administrador deve estar atento. Os resultados que eles disponibilizam são apenas números, as interpretações e compreensões devem ser realizados por pessoas devidamente treinadas (ROQUE et al., 2011).

O CANTAB é composto por 25 testes que avaliam alterações cognitivas, o tempo médio da realização de todos os testes é de 40-45 minutos dependendo se o participante obtiver ou não algum comprometimento cognitivo. Em sua avaliação no desempenho neurocognitivo, o teste possui módulos para diferentes funções neurocognitivas que estão disponíveis em forma de demonstração ONLINE no site da Cambridge Cognition.

1.12 O USO DA CANTAB NO ESTUDO DAS DOENÇAS DE ALZHEIMER E DE PARKINSON

O CANTAB é utilizado em larga escala na avaliação de doenças como a de Parkinson, onde detecção precoce é muito importante, e Alzheimer, onde é possível produzir relatos das funções cognitivas mais afetadas. Seus testes abrangem muitos dos sintomas dessas doenças, além de os testes também ajudarem a diferenciar aspectos dessas doenças. A avaliação motora, visual, de velocidade, atenção, aprendizado, e muitas outras, numa série de testes que dispõem precisão e clareza, ajudam a detectar alterações cognitivas e avaliar tais alterações no decorrer das doenças. Por exemplo, o CANTAB é capaz de discriminar alterações motoras e cognitivas da Doença de Parkinson (Cambridge Cognition, 2011).

Entretanto, embora haja uma grande quantidade de estudos relatando a utilização da CANTAB na avaliação de pacientes com transtornos cognitivos associados a doença de Alzheimer e Parkinson (Forlenza, 2005; Mansur et al., 2005; Galhardo et al., 2009; Kumer & Teixeira, 2009; Roque et al., 2011; Cambridge Cognition, 2012; Zidan et al., 2012), na literatura atual não há um estudo que correlacione os resultados deste teste com o de outros exames que avaliem diferentes níveis da atividade neurológica.

JUSTIFICATIVA

Atualmente, de acordo com o Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders (DSM-V), o diagnóstico definitivo de transtorno cognitivo associado às doenças de Alzheimer e Parkinson só ocorre através de uma necropsia histológica. Na tentativa de tornar o diagnóstico desses quadros mais preciso e acurado, diversas abordagens vem sendo adotadas. Entre abordagens bioquímicas e neuropsicológicas, diversas técnicas imagiológicas, como a OCT, a RM, a TC, a SPECT e a PET, também são utilizadas para o esclarecimento do estado desses pacientes. Entretanto, se considerados isoladamente, os resultados dessas abordagens tendem a ser bastante variados e, conseqüentemente, tornam-se limitados em seu objetivo, apesar do grande potencial de inferência do estado do paciente a partir dos dados obtidos por essas diferentes abordagens. Por outro lado, embora haja uma grande quantidade de estudos relatando a utilização da CANTAB na avaliação de pacientes com doença de Alzheimer e Parkinson (Forlenza, 2005; Mansur et al., 2005; Galhardo et al., 2009; Kumer & Teixeira, 2009; Roque et al., 2011; Cambridge Cognition, 2012; Zidan et al., 2012), na literatura atual não há um estudo que correlacione os resultados deste teste com o de outros exames como os citados acima.

Neste sentido, este projeto justifica-se pela necessidade de se investigar potenciais correlações existentes entre os resultados de diferentes abordagens, a fim de se evidenciar com mais clareza possíveis padrões nestas relações. Se identificados e analisados, tais padrões poderão ser utilizados em um acompanhamento mais preciso e acurado da evolução do quadro desses pacientes.

3 OBJETIVOS

3.1 OBJETIVO GERAL

Investigar a existência de correlações entre medidas retinianas, de metabólitos encefálicos e de funções cognitivas de pacientes diagnosticados com transtornos cognitivos associados às doenças de Alzheimer e Parkinson.

3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Realizar medidas de espessura da camada de fibras nervosas da retina perimacular através da tomografia de coerência óptica (OCT);
- Realizar medidas de concentração de metabólitos encefálicos através da espectroscopia de prótons em ressonância magnética;
- Realizar medidas neuropsicológicas de funções cognitivas através da bateria de testes CANTAB;
- Analisar os resultados dessas medidas, buscando evidenciar correlações entre elas.

4 METODOLOGIA

4.1 Participantes

Foram convidados a participar deste projeto indivíduos avaliados por neurologista experiente e diagnosticados com transtorno neurocognitivo associado às doenças de Alzheimer e Parkinson, de acordo com os critérios de inclusão deste projeto, que seguem os critérios previstos no DSM-V. Os participantes e seus cuidadores foram inicialmente esclarecidos sobre os objetivos deste projeto pelo neurologista e, ao concordar em participar do mesmo, foram encaminhados:

- ao Laboratório de Bioestatística e Matemática Computacional do Núcleo de Medicina Tropical da Universidade Federal do Pará. Neste momento, foram apresentados a metodologia de avaliação tomográfica (OCT) e a metodologia de avaliação neuropsicológica (CANTAB) a serem empregadas, as quais apresentam riscos mínimos aos participantes, principalmente por ser tratar de técnicas de avaliação não invasivas e de simples realização. Na avaliação tomográfica, os participantes apenas tiveram que observar por alguns minutos um feixe de luz focalizado em seus olhos através de um microscópio computadorizado. Por outro lado, na avaliação neuropsicológica, os participantes apenas tiveram que operar um controlador manual para responder a demandas visuais apresentadas na tela de um *tablet*, mimetizando um jogo eletrônico. Foi também informado aos participantes que a ocorrência de desconforto visual passageiro normalmente não é relatada, mas poderia ocorrer em ambas as avaliações, e não deveria ser descartada. Caso o desconforto visual fosse relatado como não suportável, o participante seria imediatamente liberado da realização do exame tomográfico;

- à Clínica DIMAGEM-DIAGNÓSTICO POR IMAGEM, instituição participante deste projeto (ver em ANEXOS). Neste momento, foi apresentada a metodologia de avaliação em Espectroscopia por Ressonância Magnética (ERM) a ser empregada, a qual apresenta riscos mínimos aos participantes, principalmente por ser tratar de técnica de avaliação não invasiva e de simples realização. Os participantes apenas tiveram que deitar-se por alguns minutos na mesa do equipamento de Ressonância Magnética, a qual foi deslocada para o interior da câmara do equipamento para a realização das medidas espectroscópicas. Foi também informado aos participantes que a ocorrência de desconforto passageiro durante a permanência no interior da câmara de ressonância normalmente não é relatada, mas poderia ocorrer, e não deveria ser descartada. Caso o desconforto fosse relatado como não suportável, o participante seria imediatamente liberado da realização do exame espectroscópico.

Ao aceitar participar do projeto após a obtenção dessas informações, os participantes (ou seus cuidadores) assinaram um Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (ver em ANEXOS). A identificação de todos os participantes foi preservada em sigilo. Todas as informações coletadas durante o projeto não foram ou serão utilizadas para outros propósitos que não os sejam os da pesquisa, sendo mantida a privacidade dos participantes sob a responsabilidade dos professores coordenadores da pesquisa.

Foram usados como critérios de exclusão a presença de condições que pudessem interferir com os objetivos desta investigação (distúrbios neurológicos prévios, retinopatias, diabetes, hipertensão, exposição a metais pesados e solventes orgânicos, tratamento prévio com cloroquina, alcoolismo, etc.).

Foram avaliados dezessete pacientes com doenças neurodegenerativas, dentre eles, dez pacientes diagnosticados do doença de Alzheimer e sete portadores de doença de Parkinson.

Este projeto foi inicialmente submetido à avaliação do Comitê de Ética em Pesquisa

com Seres Humanos do Núcleo de Medicina Tropical da Universidade Federal do Pará com o título “Demência tipo Alzheimer: correlação entre parâmetros de tomografia de coerência óptica e espectroscopia por ressonância magnética”, sendo aprovado (CAAE no. 18300713.4.0000.5172, Parecer 995.558), obedecendo aos princípios que regem a Declaração de Helsinki. Posteriormente, devido a importante demanda espontânea de pacientes diagnosticados com transtornos neurocognitivos associados à doença de Parkinson, este projeto foi ampliado, buscando avaliar também estes pacientes, além de aplicar em todos os participantes os testes CANTAB, antes não previsto. Assim, um adendo ao projeto original foi submetido à avaliação do mesmo Comitê de Ética, intitulado “Correlação entre medidas quantitativas de espessura retiniana, concentração de metabólitos encefálicos e funções neuropsicológicas de pacientes com transtornos neurocognitivos”, foi aprovado (CAAE no. 18300713.4.0000.5172, Parecer 2.157.339), permitindo a adoção do presente título deste trabalho.

4.2 Procedimento Tomográfico

O exame estrutural da retina por tomografia de coerência óptica foi realizado por oftalmologista experiente utilizando um tomógrafo Heidelberg (Spectralis HRA – angiógrafo + OCT – Spectral Domain HEILDEMBERG). Todos os participantes tiveram suas pupilas dilatadas (Cloridrato de Ciclopentolato 1%). Ambos os olhos foram examinados pela OCT, para medidas da camada de fibra nervosa da retina perimacular. Os cortes tomográficos tiveram espessura de 2 mm e resolução axial e lateral de 5 μ m.

4.2.1 Análise dos Dados Tomográficos

Neste contexto, os dados tomográficos foram expressos como médias (\pm intervalos de confiança de 95%) da espessura da CFNR perimacular. A análise estatística foi feita através

da análise de variância seguida de teste de Sidak para múltipla comparação de médias de dados independentes ($\alpha < 0,05$). Os resultados das medidas de espessura da camada de fibras nervosas da retina perimacular foram comparados a dados de sujeitos saudáveis disponíveis na literatura.

4.3 Procedimento Espectroscópico

As medidas espectroscópicas foram realizadas por um profissional biomédico experiente e especializado na operação de equipamentos de Ressonância Magnética. As medidas espectroscópicas foram realizadas em um equipamento de Ressonância Magnética GE (HD Xt) de 1,5 Tesla, com auxílio de uma bobina neurovascular de alta definição com 08 canais que serve de antena para captar os sinais emitidos pelos metabólitos e traduzi-los em gráfico (DROSTA et al., 2002; Figuras 3 e 4), assim como de uma impressora de alta definição Xerox Dual Color 250 para impressão dos gráficos formados para posterior interpretação dos dados.

Durante os procedimentos, inicialmente foram realizadas sequências nos planos axial, coronal e sagital, cujos resultados serviram para localizar as regiões do giro do cíngulo e hipocampo. Em seguida, foram realizadas três sequências: (i) uma sequência denominada AX T2 FSE reto, usada para obtenção de um plano transversal puro (Kantarci et al., 2003); (ii) uma sequência utilizando o aplicativo Proton Brain Examination (PROBE P), usada para ajustar a transmissão e recepção dos pulsos de radiofrequência; e (iii) e uma sequência utilizando o protocolo Point Resolved Spectroscopy (PRESS), na qual utiliza-se um pulso de 90° e dois pulsos de 180°, com TE curto (35ms), Tempo de Repetição (TR) de 1500ms, Campo Visual (FOV, do inglês Field Of View) de 24mm², voxel único de 20 cm³ de área e 20 cm de espessura de corte. A duração deste procedimento foi de aproximadamente 15 minutos (Kantarci et al., 2003).

No planejamento dos cortes foi utilizada a modalidade single voxel, pois além de ser mais rápida em relação a outras modalidades (BERTHOLDO, 2009), ainda diminui a possibilidade de contaminação da área em estudo por outras áreas vizinhas.

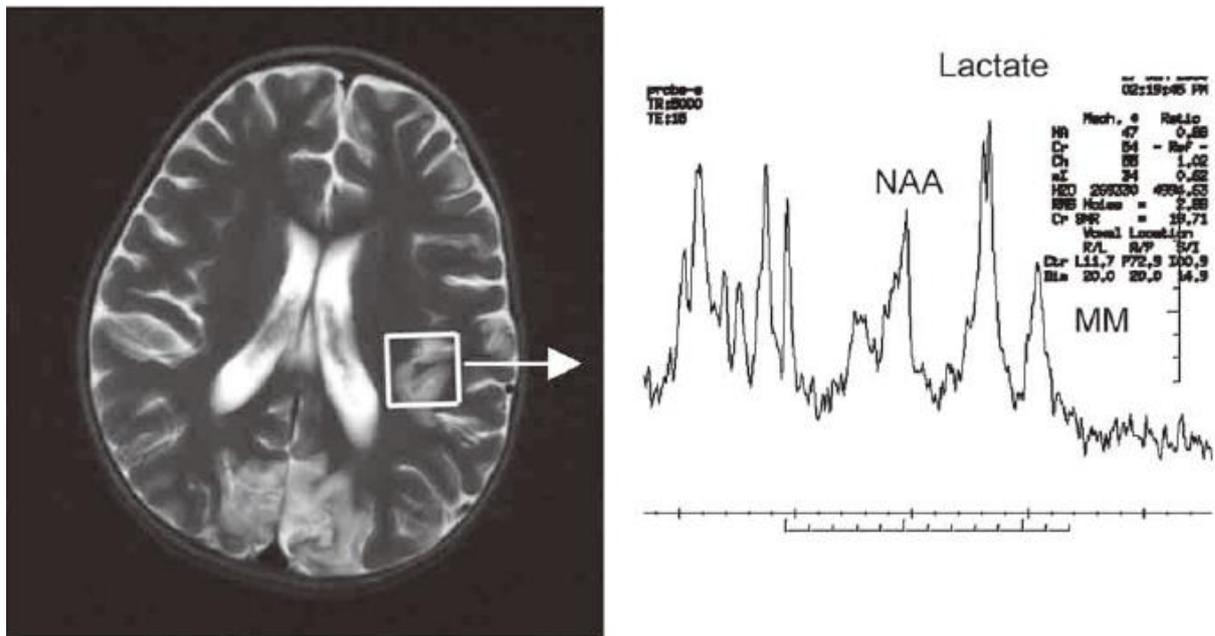


Figura 3. Esquerda: Espectroscopia single voxel no núcleo da base. Direita: gráfico com resultado da concentração de metabólitos (Fonte: HARADA, 2006).

4.3.1 Análise dos Dados Espectroscópicos

Na Figura 4, a posição ou deslocamento químico do pico de concentração dos metabólitos encefálicos diferencia cada metabólito (eixo x) (AMBROS, 2008; BERTHOLDO, 2009). Por outro lado, a concentração de um metabólito encefálico está relacionada a integral da amplitude do sinal de MRS que cada metabólito produz (eixo y). Uma boa revisão sobre esta relação pode ser encontrada em Alger (2010).

De modo resumido, enquanto que a aquisição dos sinais por MRS ocorre no domínio do tempo, estes sinais são normalmente analisados no domínio das frequências temporais. O sinal ideal de MRS no domínio do tempo (S_R e S_I) é representado por funções de decaimento exponencial de tempo t com modulação oscilatória em frequência específica:

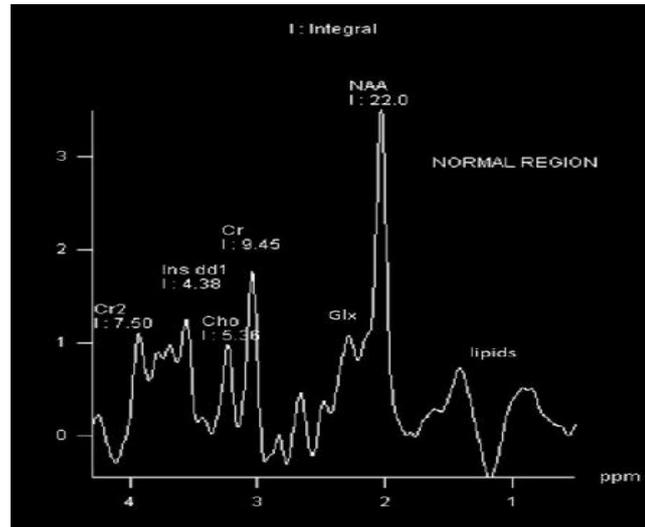


Figura 4. Gráfico com resultado de medidas espectroscópicas por ressonância magnética mostrando diferentes concentrações para diferentes metabolitos encefálicos (Fonte: BERTHOLDO et al., 2009).

$$S_R(t) = A \cos(F_0 t + j) e^{-t/T2^*} \quad (\text{Eq. 4})$$

$$S_I(t) = \pm A \sin(F_0 t + j) e^{-t/T2^*} \quad (\text{Eq. 5})$$

Nas Equações 4 e 5, ϕ é a fase do sinal, e A é energia do sinal no tempo zero. A representação deste sinal ideal no domínio das frequências tem sua forma descrita por:

$$S_R(f) = H \frac{W}{W^2 + (F_0 - f)^2} \quad (\text{Eq. 6})$$

$$S_I(f) = \pm H \frac{F_0 - f}{W^2 + (F_0 - f)^2} \quad (\text{Eq. 7})$$

Nas Equações 6 e 7, H é a amplitude do sinal, F_0 é a posição central do sinal que identifica o núcleo atômico e a molécula produtora do sinal, e W é a largura do sinal quando está com a metade de sua força máxima (FWHM, do inglês Full Width at Half Maximum), largura está relacionada a taxa de decaimento do sinal no domínio do tempo ($T2^*$):

$$W = \frac{1}{\rho T2^*} \quad (\text{Eq. 8})$$

Ambas as representações do sinal no domínio do tempo e no domínio das frequências temporais são funções complexas que possuem componentes reais ($S_R(t)$, $S_R(f)$) e imaginários ($S_I(t)$, $S_I(f)$). A integral da amplitude do sinal é definida como a integral do componente real do sinal no domínio das frequências temporais, a qual é equivalente ao valor de A do sinal no domínio do tempo. A integral da amplitude do sinal produzido pelo núcleo atômico de um metabólito M é diretamente proporcional ao número (em moles) das moléculas geradoras do sinal (N_M) no volume encefálico (V_B) avaliado. Na Equação 9, K_G é uma constante global de proporcionalidade:

$$A_M = K_G N_M \quad (\text{Eq. 9})$$

Para se estimar a concentração de um metabólito M em um volume encefálico V_B deve-se considerar a quantidade de metabólito detectável pela MRS, ou seja, o número (em moles) das moléculas geradoras do sinal (N_M). Deste modo, a concentração do metabólito M é dada por:

$$C_M = \frac{N_M}{V_B} \quad (\text{Eq. 10})$$

Na Equação 10, V_B pode se referir ao volume (ml ou cm^3) ou a massa (g) tanto do tecido encefálico em estudo como da quantidade de água presente neste tecido (Knight-Scott et al., 2003). A partir das Equações 9 e 10 temos:

$$C_M = \frac{A_M}{K_G V_B} \quad (\text{Eq. 11})$$

Assim, a estimativa da concentração de um metabólito encefálico a partir da integral da amplitude do sinal que o metabólito M produz, o qual é detectado por MRS, demanda: (i) pela medida da integral da amplitude do componente real do sinal no domínio das frequências temporais, uma tarefa nada fácil devido as complexas características do sinal do metabólito M

e a sobreposição de vários sinais produzidos por outras moléculas; (ii) pela determinação do valor da constante global K_G , a qual depende do equipamento de MR (hardware e software), da sequência de pulsos usada na aquisição dos dados, e das características físicas do indivíduo sob exame; e (iii) pelo estabelecimento da quantidade de volume encefálico amostrado, o que, apesar de relativamente fácil, potencialmente pode apresentar certas dificuldades relacionadas aos procedimentos de MRS para localização do volume encefálico que se objetiva avaliar.

A constante K_G engloba vários fatores relacionados aos processos de rendimento do sinal:

$$K_G = G_A(\rho, s, ps)G_{RC}(\rho, s, r)G_T(\rho, s, ps, r, F_0^M)G_{RLX}(T1^M, T2^M, ps)N_{AV} \quad (\text{Eq. 12})$$

Como pode ser observado na Equação 12, muitos fatores podem influenciar a amplitude do sinal medido, incluindo características específicas dos indivíduos (ρ), do equipamento de MR (s), da sequência de pulsos de radiofrequência (ps), da região encefálica (r), da frequência absoluta do sinal gerado pelo metabólito (F_0^M), e dos tempos de relaxamento ($T1^M, T2^M$) do sinal. Dentre todos os fatores envolvidos na determinação da constante global K_G , somente o número de ecos (N_{AV}) coletados pode ser considerado como facilmente conhecido, generalizável, mensurável, e fácil de computar a partir de parâmetros experimentais de uma medida particular por MRS. G_A é um fator complexo relacionado a amplificação arbitrária do sinal analógico usada para otimizar sua conversão em registro digital, o que também envolve outros fatores de escala arbitrária relacionados ao processamento digital do sinal. Por outro lado, G_{RC} é um fator que expressa a sensibilidade do sistema de detecção de radiofrequência em detectar o sinal produzido em um volume encefálico específico, o que depende: (i) de parâmetros específicos dos indivíduos avaliados, (ii) da força do campo magnético (B_0), (iii) da localização do volume encefálico de interesse, e (iv) do desenho do sistema de detecção. De maior complexidade, G_T é um fator que

expressa a eficiência do transmissor de pulsos de radiofrequência e, conseqüentemente, a eficiência dos pulsos de radiofrequência gerados em uma seqüência, em excitar um sinal específico de uma molécula. Deste modo, G_T depende da amplitude, da fase, e das frequências dos pulsos de radiofrequência associadas a frequência característica do sinal detectado por MRS, o que também envolve a seleção do volume encefálico a ser amostrado, além da supressão do sinal gerado pela água, entre outros fatores. Já o fator G_{RLX} é dependente de T1 e T2, pois a amplitude do sinal detectado por MRS depende do TE da seqüência de pulsos e de T2 como descrito pela Equação 13:

$$A(TE) = A(0)e^{-TE/T_2} \quad (\text{Eq. 13})$$

onde $A(0)$ é a amplitude do sinal que seria medida na ausência de T2, e TE é o tempo eco característico da seqüência de pulsos. E, finalmente, embora não esteja representado explicitamente na constante K_G , o ruído é um importante fator limitante da determinação da amplitude do sinal de um metabólito, sendo dependente do equipamento de MR e das propriedades elétricas do encéfalo.

A partir das Equações 11 e 12, a amplitude do sinal gerado por um metabólito encefálico medida por MRS pode ser expressada por:

$$A_M = G_A(\rho, \xi, \rho s) G_{RC}(\rho, \xi, r) G_T(\rho, \xi, \rho s, r, F_0^M) G_{RLX}(T1^M, T2^M, \rho s) N_{AV}^M C_M V_B \quad (\text{Eq. 14})$$

A estimativa da concentração de um determinado metabólito (C_M) geralmente é realizada pela razão entre o valor da amplitude do sinal gerado pelo metabólito alvo (A_M) e o valor da amplitude de um sinal de referência (A_R), procedimento este que serve como controle dos muitos fatores envolvidos na medida de sinais por MRS. Normalmente, o valor da amplitude do sinal gerado pelo metabólito Creatina é usado como referência (Bagory et al., 2007). Entretanto, este procedimento requer o cuidado de se equalizar as condições sob as

quais A_M e A_R são medidos. Deste modo, a amplitude do sinal gerado por um metabólito encefálico de referência medida por MRS pode ser expressada por:

$$A_R = G_A(\rho, s, \rho s) G_{RC}(\rho, s, r) G_T(\rho, s, \rho s, r, F_0^R) G_{RLX}(T1^R, T2^R, \rho s) N_{AV}^R C_R V_R \quad (\text{Eq. 15})$$

Assumindo-se que as condições de medida de A_M e A_R são similares, temos:

$$\frac{A_M}{A_R} = \frac{G_{RLX}(T1^M, T2^M, \rho s) N_{AV}^M C_M}{G_{RLX}(T1^R, T2^R, \rho s) N_{AV}^R C_R} \quad (\text{Eq. 16})$$

Assim:

$$C_M = \frac{A_M}{A_R} = \frac{G_{RLX}(T1^R, T2^R, \rho s) N_{AV}^R C_R}{G_{RLX}(T1^M, T2^M, \rho s) N_{AV}^M} \quad (\text{Eq. 17})$$

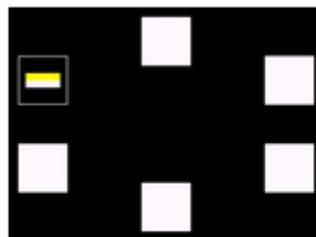
Assim, a Equação 17 descreve como a estimativa da concentração de um metabólito encefálico alvo pode ser realizada através da razão entre o valor da amplitude do sinal espectroscópico gerado pelo metabólito alvo (A_M) e o valor da amplitude de um sinal espectroscópico gerado por um metabólito de referência (A_R). Já as Equações 14 e 15 descrevem como a medida da amplitude do sinal espectroscópico gerado por um metabólito é amplamente dependente de fatores sensíveis a variações fisiológicas.

Neste contexto, os dados espectroscópicos de amplitude do sinal espectroscópico para cada metabólito de interesse neste estudo (NAA, mI, Cho, e Cr) foram expressos como médias (\pm intervalos de confiança de 95%) da amplitude. A análise estatística foi feita através da análise de variância seguida de teste de Sidak para múltipla comparação de médias de dados independentes ($\alpha < 0,05$). Os resultados das medidas espectroscópicas foram comparados a dados de normalidade de sujeitos saudáveis ($n = 47$) disponíveis no LBMC.

4.4 Procedimento Neuropsicológico

Foi aplicado o teste denominado “Paired Associates Learning” (PAL), o qual avalia memória visual em um novo aprendizado, e é um instrumento útil para avaliar indivíduos com

demência questionável, transtorno cognitivo leve, e perda de memória relacionada à idade. A realização do teste é de aproximadamente 10 minutos. Durante o teste, caixas foram apresentadas na tela, as quais piscam em uma ordem aleatória, e uma delas contém um modelo. O participante tinha que lembrar em qual caixa está este modelo originalmente localizado (Figura 5). O grau de dificuldade aumenta com o passar do tempo.



Paired Associates
Learning (PAL)

Figura 5. Teste de Memória Visual “Paired Associates Learning” (Fonte: Cambridge Cognition, 2013).

Outro teste aplicado foi o denominado “Spatial Working Memory” (SWM), o qual é um teste da capacidade do participante em reter informações espaciais e manipular itens lembrados na memória de trabalho. É uma tarefa auto-ordenada, que também avalia a estratégia heurística. O tempo decorrente do teste é de 8 minutos aproximadamente. Durante o teste, apareceram caixas de uma mesma cor na tela, e um símbolo de uma cor diferente. O participante tinha que escolher as caixas até achar um total de símbolos que preenchesse um espaço vazio no lado direito da tela (Figura 6). Por exemplo, se o lado direito da tela conter 3 espaços vazios, o participante tinha que encontrar três símbolos nas caixas, sabendo que um símbolo nunca apareceria na mesma caixa.

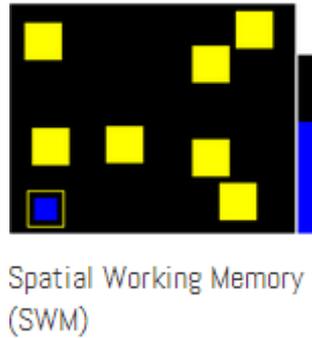


Figura 6. Teste de função executiva “Spatial Working Memory” (Fonte: Cambridge Cognition, 2013).

O último teste aplicado foi o denominado “Reaction Time” (RTI) (Figura 7), o qual dura cerca de cinco minutos. Neste teste, a tarefa foi dividida em cinco etapas, que ao passar do teste tornaram-se mais complexas. Uma mancha amarela aparece dentro de um círculo, e o participante deveria tocar o círculo assim que pudesse, após a mancha aparecer.

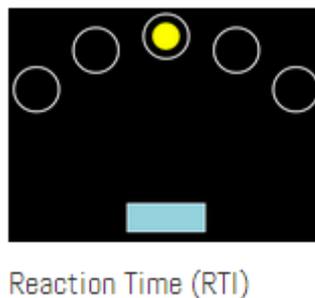


Figura 7. Teste de atenção “Reaction Time” (Fonte: Cambridge Cognition, 2013).

4.4.1 Análise dos Dados Neuropsicológicos

Os dados neuropsicológicos foram expressos em diagramas de dispersão demonstrando os escores padrões obtidos pelos participantes nos testes em função da duração da execução dos mesmos. Deste modo, tais escores foram comparados diretamente com o tempo de duração da execução dos testes e com valores de escore padrão obtidos de indivíduos saudáveis e registrados pelo próprio fabricante do CANTAB.

4.5 Análise Agrupada dos Dados Tomográficos e Neuropsicológicos

Os dados tomográficos e neuropsicológicos foram analisados estatisticamente de modo agrupado para avaliação de potencial covariância. Neste sentido, foi realizada uma Análise de Componente Principal. Maximizando a variância de um conjunto de dados, a Análise de Componente Principal é uma ferramenta estatística que permite identificar quais variáveis desse conjunto em estudo podem ser agrupadas como tendo um comportamento comum, comportamento este identificado pela força da correlação de cada variável com um componente independente. Deste modo, foram consideradas como variáveis todos os quadrantes de medida de espessura da CFNR perimacular obtidos na avaliação tomográfica, assim como todos os escores padrão e todos os tempos de duração obtidos nos testes neuropsicológicos. Infelizmente, não foi possível utilizar as variáveis espectroscópicas nesta análise, pois os pacientes que realizaram o exame espectroscópico não realizaram os exames tomográfico e neuropsicológico.

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 COMPARAÇÃO DA ESPESSURA DA CAMADA DE FIBRAS NERVOSAS DA RETINA PERIMACULAR DE SUJEITOS SAUDÁVEIS E DE PACIENTES COM TRANSTORNOS NEUROCOGNITIVOS

A Figura 8 ilustra através de uma imagem retiniana obtida por OCT como a CFNR (em inglês, RNFL - Retinal Nerve Fiber Layer) aumenta sua espessura no sentido temporal-nasal. Este aumento na espessura da CFNR no sentido temporal-nasal (ou lateral-medial) pode ser melhor entendido pela observação do esquema diagramático da Figura 9, onde a distribuição dos axônios das células ganglionares da retina, se projetando ao disco óptico, é representada de modo mais claro. Vale notar que, às projeções axonais das células ganglionares da fóvea, que se inserem no disco óptico no sentido máculopapilar, somam-se as projeções axonais de células ganglionares de regiões retinianas que circundam a fóvea, o que contribui para a maior espessura da CFNR quanto mais próximo à região de inserção no disco óptico.

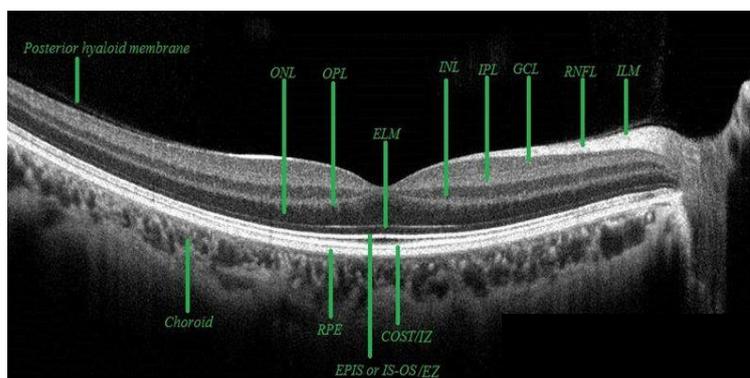


Figura 8. Imagem de OCT mostrando como a CFNR aumenta sua espessura no sentido temporal-nasal (Fonte: <http://www.octscans.com/anatomy-review.html>).

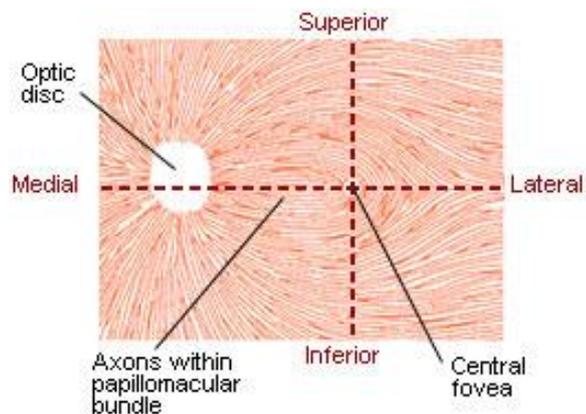


Figura 9. Diagrama esquemático mostrando como os axônios das células ganglionares retinianas se distribuem na CFNR (Fonte: http://teaching.pharmacy.umn.edu/courses/eyeAP/Eye_Anatomy/Sight/NerveFiberLayer.htm)

É importante definir as relações entre a distribuição dos axônios das células ganglionares retinianas e o aumento da espessura da CFNR, pois isto facilita o entendimento da estratégia adotada neste trabalho de medir por OCT a espessura da CFNR na região perimacular da retina. Em geral, quando se avalia impactos retinianos do processo patológico associado a outra doença neurodegenerativa, o glaucoma, a OCT é utilizada para medir a espessura retiniana global e/ou a espessura da CFNR na região peripapilar, em volta do disco óptico, onde se inserem estruturas vasculares e os axônios das células ganglionares da retina, os quais ali formam do nervo óptico. A Figura 10 (a) mostra de modo diagramático o deslocamento do campo de varredura da OCT da região peripapilar para a região perimacular, estratégia adotada no presente trabalho. Já a Figura 10 (b) mostra o posicionamento real do campo de varredura da OCT na região perimacular, e na Figura 10 (c) é demonstrado o resultado desta medida na região perimacular. Vale notar que esta medida normalmente revela uma espessura perimacular da retina que alcança valores máximos por volta de 50-60 μ m (traçado preto), bem abaixo do normalmente esperado para medidas peripapilares da espessura retiniana (região em verde). Assim, feita esta observação, evita-se fazer uma interpretação errônea das medidas realizadas neste trabalho, comparando-se, por exemplo, as

medidas perimaculares (traçado preto) com medidas peripapilares tidas como de espessura abaixo do normal (região avermelhada) ou borderline (região em amarelo).

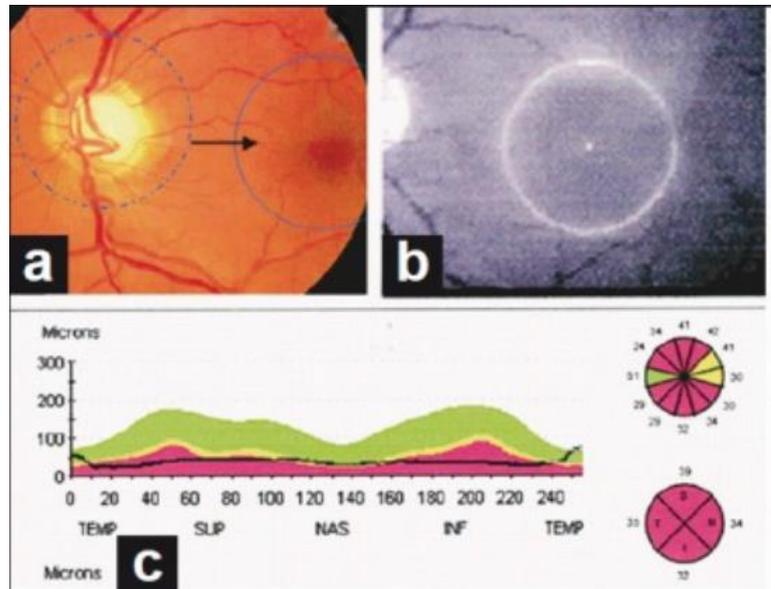


Figura 10. Procedimento de OCT perimacular adotado neste trabalho (Fonte: Arvanitak et al., 2012).

Neste contexto, a Figura 11 mostra um exemplo de medida da espessura perimacular da CFNR realizada em pacientes com transtorno neurocognitivos no presente trabalho. No alto, à esquerda, a Figura 11 mostra o campo de varredura da CFNR na região perimacular pela OCT. No alto, à direita, a Figura 11 mostra a espessura da CFNR na região perimacular varrida pela OCT. Abaixo, à esquerda, a Figura 11 mostra os valores de espessura da CFNR perimacular medidos pela OCT em diferente setores da retina (N, nasal; NI, nasal inferior; NS, nasal superior; T, temporal; TI, temporal inferior; TS, temporal superior), além da espessura média da CFNR (G) nos diferentes setores mencionados. Vale notar que entre parênteses encontram-se valores esperados normalmente para medidas peripapilares de espessura da CFNR nesses respectivos setores, além da espessura média da CFNR peripapilar. Finalmente, abaixo, à direita, a Figura 11 mostra a espessura da CFNR perimacular (traçado preto) em função dos setores retinianos. Também vale notar que a

espessura média da CFNR esperada normalmente para medidas peripapilares nesses respectivos setores também é demonstrada (traçado verde) no gráfico.

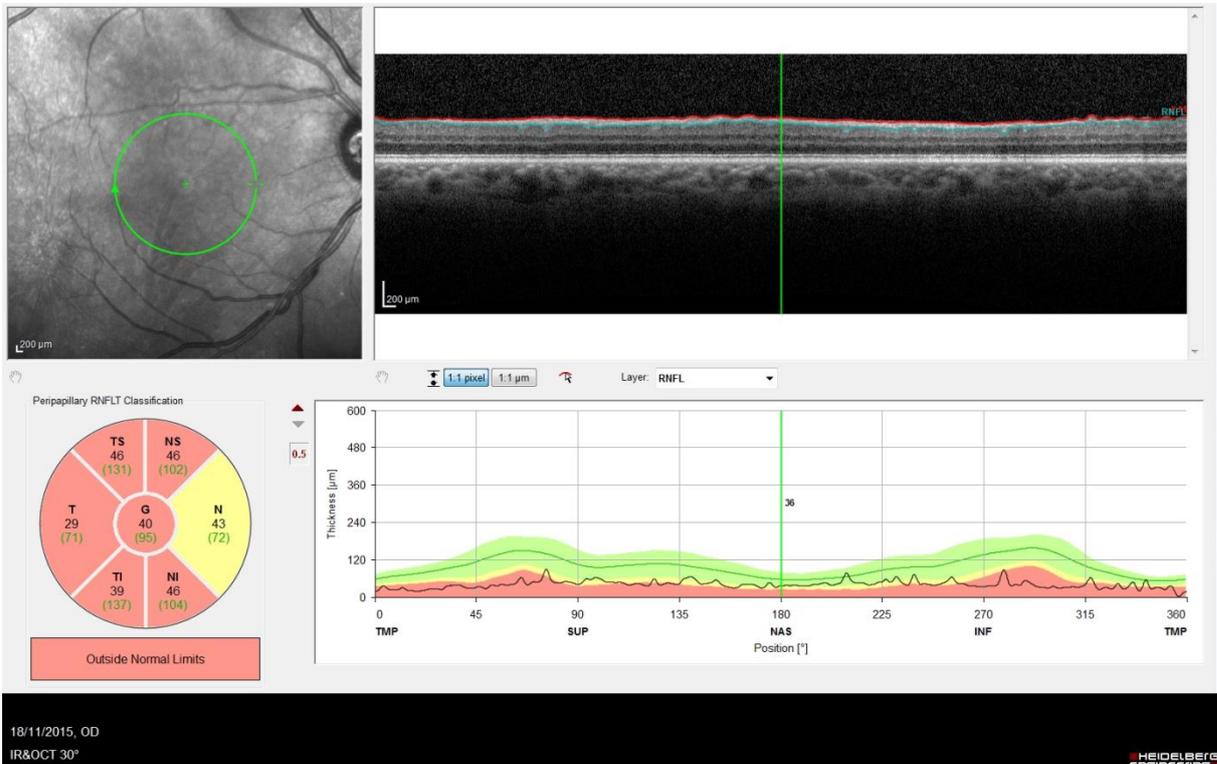


Figura 11. Exemplo de resultado obtido pelo procedimento de OCT perimacular adotado neste trabalho.

A Figura 12 mostra as médias (\pm intervalos de confiança de 95%) da espessura da CFNR perimacular nos setores temporal (esquerda) e nasal (direita) medidas em pacientes diagnosticados com transtorno neurocognitivos associado às doenças de Alzheimer e Parkinson, comparadas com as médias (\pm intervalos de confiança de 95%) da espessura da CFNR perimacular medidas nestes mesmos setores em sujeitos saudáveis, medidas estas realizadas por diferentes grupos de pesquisa e publicados na literatura na última década. Observa-se que não há diferenças relevantes quando se compara as espessuras da CFNR medidas no setor temporal, ainda que o grupo de pacientes participantes do presente trabalho tenha apresentado, na média, uma CFNR perimacular no setor temporal estatisticamente mais espessa ($p < 0,0001$) que a do grupo de sujeitos saudáveis presentes no trabalho de Kafieh e colaboradores (2015).

Em contraste, quando se compara as espessuras da CFNR medidas no setor nasal, observa-se que o grupo de pacientes participantes do presente trabalho apresentou, na média, uma CFNR perimacular estatisticamente mais espessa que as dos grupos de sujeitos saudáveis presentes nos trabalhos de Arvanitak e colaboradores (2012; $p = 0,0023$), Marziani e colaboradores (2013a; $p = 0,0004$) e Kafieh e colaboradores (2015; $p < 0,0001$). Por outro lado, observa-se também que o grupo de pacientes participantes do presente trabalho apresentou, na média, uma CFNR perimacular estatisticamente menos espessa que a do grupo de sujeitos saudáveis presentes nos trabalhos de Marziani e colaboradores (2013b; $p = 0,0002$). Além disso, nenhuma diferença estatística relevante foi encontrada entre as espessuras de CFNR perimacular medidas no grupo de pacientes participantes do presente trabalho e no grupo de sujeitos saudáveis presentes no trabalho de Xiao-Lin e colaboradores (2012). Esta variabilidade pode ser explicada pelas diferenças inerentes aos diferentes equipamentos de tomografia óptica utilizados nos diferentes trabalhos, mas também a diferenças topográficas individuais inerentes a condição biológica.

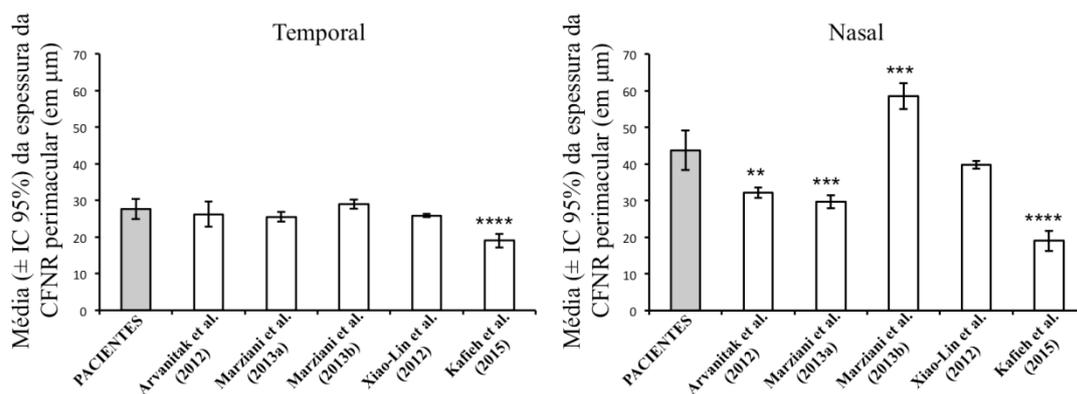


Figura 12. Medidas (média \pm intervalo de confiança de 95%) da espessura da CFNR perimacular (campos temporal e nasal) de pacientes com transtornos neurocognitivos ($n = 17$ olhos) confrontados com dados similares disponíveis na literatura, obtidos em indivíduos saudáveis de mesma faixa etária ($21 \leq n \leq 112$).

Entretanto, quando se compara as médias das espessuras setoriais da CFNR (Figura13), observa-se que o grupo de pacientes participantes do presente trabalho apresentou, na média, uma CFNR perimacular estatisticamente mais espessa que as dos grupos de sujeitos saudáveis

presentes nos trabalhos de Kotera e colaboradores (2011; $p < 0,0001$), Vajaranan e colaboradores (2011; $p = 0,012$), Akashi e colaboradores (2013; $p < 0,0001$) e Akashi e colaboradores (2014; $p = 0,0028$). Além disso, nenhuma diferença estatística relevante foi encontrada entre as espessuras de CFNR perimacular medidas no grupo de pacientes participantes do presente trabalho e no grupo de sujeitos saudáveis presentes nos trabalhos de Oberwahrenbrock e colaboradores (2013, 2014 e 2015) e Xiao-Lin e colaboradores (2012).

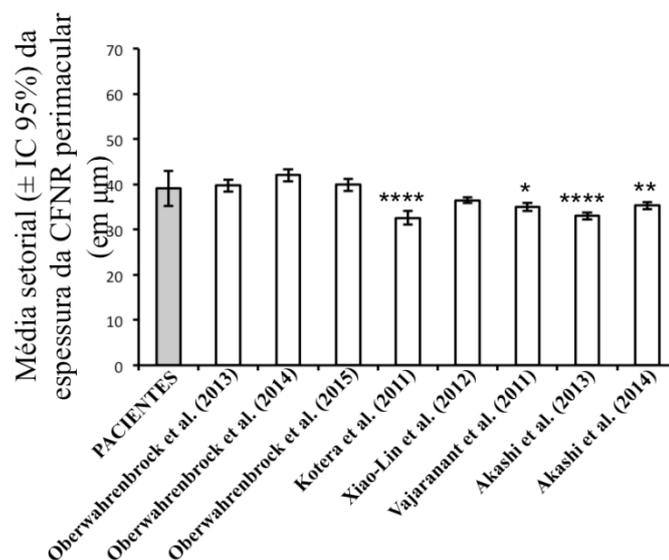


Figura13. Médias (\pm intervalos de confiança de 95%) das espessuras setoriais da CFNR perimacular de pacientes com transtornos neurocognitivos ($n = 17$ olhos) confrontados com dados similares disponíveis na literatura, obtidos em indivíduos saudáveis de mesma faixa etária ($22 \leq n \leq 86$).

Neste contexto, baseado nos dados quantitativos de medida tomográfica, pode-se inferir que, considerada isoladamente, a espessura da CFNR perimacular de pacientes com transtornos neurocognitivos associados as doenças de Alzheimer e Parkinson pode não diferir de modo relevante entre grupos de pacientes e sujeitos saudáveis. Tais medidas tomográficas mostraram-se relativamente estáveis no setor temporal retiniano e na espessura média setorial. Entretanto, estas mesmas medidas tomográficas também mostraram-se significativamente variáveis no setor nasal retiniano.

Outras características esperadas para a CFNR perimacular confirmam o padrão normal desta estrutura retiniana em pacientes com transtornos neurocognitivos associados as doenças de Alzheimer e Parkinson. A Figura 14 mostra diagramas de dispersão correlacionando as espessuras das CFNR perimaculares nos setores temporal e nasal, intermédio (A), superior (B) e inferior (C). Percebe-se claramente que não há correlação relevante entre as medidas realizadas nos setores nasal e temporal, o que foi confirmado pela análise estatística (intermédio: $r = 0,41$; $R^2 = 0,168$; $CI_{95\%} = -0,087$ a $0,744$; $p = 0,1018$ / superior: $r = 0,353$; $R^2 = 0,124$; $CI_{95\%} = -0,153$ a $0,712$; $p = 0,1644$ / inferior: $r = 0,78$; $R^2 = 0,609$; $CI_{95\%} = 0,48$ a $0,917$; $p = 0,0002$). Além disso, percebe-se claramente que as medidas no setor nasal em geral apresentam valores de maior espessura que as medidas no setor temporal, padrão este esperado para a CFNR perimacular de sujeitos saudáveis. Ilustrando isto, vemos na Figura 14A (círculos não preenchidos) que a correlação entre as medidas da espessura da CFNR perimacular de sujeitos saudáveis descritos nos trabalhos de Arvanitak e colaboradores (2012), Marziani e colaboradores (2013a,b), Kafieh e colaboradores (2015) e Xiao-Lin e colaboradores (2012), segue o mesmo padrão descrito para as medidas realizadas em pacientes com transtornos neurocognitivos no presente trabalho (círculos preenchidos).

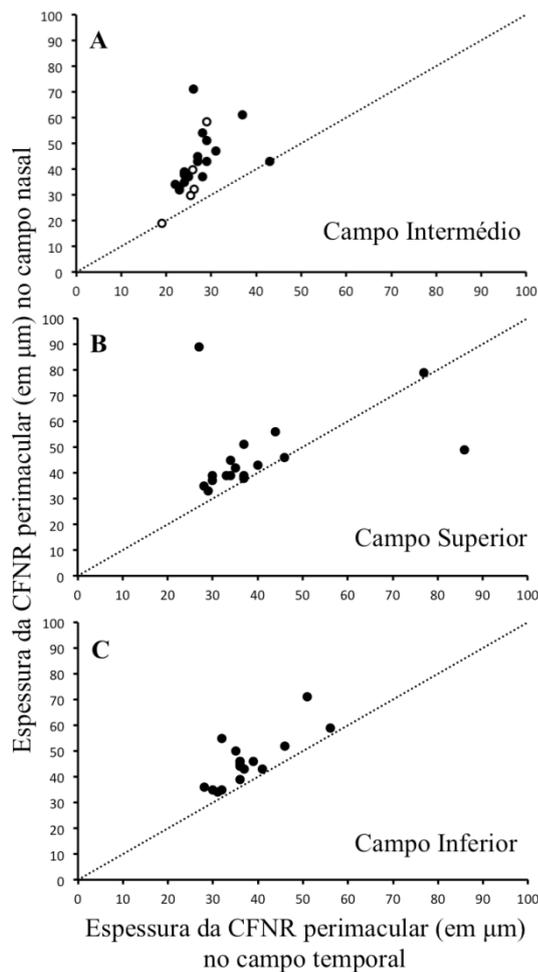


Figura 14. Comparação entre medidas da espessura da CFNR perimacular nos campos temporal e nasal intermédio (A), superior (B), e inferior (C) de pacientes com transtornos cognitivos ($n = 17$ olhos). A linha tracejada diagonal ilustra uma correlação perfeita.

Do mesmo modo, a Figura 15 mostra que não foram encontradas correlações relevantes entre as medidas da espessura da CFNR perimacular nos setores nasal superior e inferior ($r = 0,437$; $R^2 = 0,191$; $CI_{95\%} = -0,054$ a $0,758$; $p = 0,0793$) e entre as medidas da espessura da CFNR perimacular nos setores temporal superior e inferior ($r = 0,3$; $R^2 = 0,09$; $CI_{95\%} = -0,21$ a $0,682$; $p = 0,2408$). Entretanto, percebe-se claramente que as medidas no setor nasal e no setor temporal em geral não diferem de modo sistemático, padrão este esperado para a CFNR perimacular de sujeitos saudáveis.

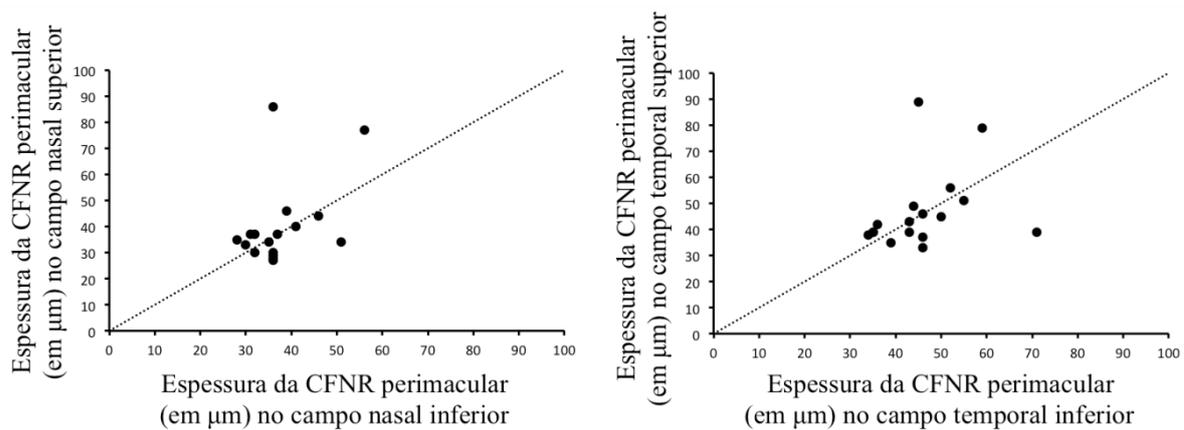


Figura 15. Comparação entre medidas da espessura da CFNR perimacular nos campos nasal superior e inferior (esquerda) e temporal superior e inferior (direita) de pacientes com transtornos cognitivos ($n = 17$ olhos). A linha tracejada diagonal ilustra uma correlação perfeita.

Os equipamentos de tomografia de coerência óptica normalmente trazem valores de referência apenas para medidas de espessura da CFNR peripapilar, muito utilizada para avaliação do impacto de outras doenças retinianas, como o glaucoma. Conseqüentemente, as medidas da espessura da CFNR perimacular realizadas no presente trabalho foram automaticamente comparadas com estes valores de referência. Curiosamente, o resultado dessa comparação discriminou os pacientes com transtornos neurocognitivos em dois grupos, um com espessura da CFNR perimacular no setor nasal dentro da faixa normal-borderline de espessura da CFNR peripapilar (grupo Pacientes OCT N normal/borderline) (Figura 16), outro com espessura da CFNR perimacular no setor nasal fora da faixa normal-borderline de espessura da CFNR peripapilar (grupo Pacientes OCT N anormal) (Figura 17).

No grupo Pacientes OCT N normal/borderline (Figura 16), percebe-se que somente nos setores temporais (TS, T e TI) e na média setorial (G) central a espessura da CFNR está sempre fora dos limites considerados normais para medidas peripapilares. Dos 8 pacientes agrupados neste padrão, 3 apresentaram este mesmo padrão para ambos os olhos. Já no grupo Pacientes OCT N anormal (Figura 17), percebe-se que a espessura da CFNR está sempre fora dos limites considerados normais para medidas peripapilares. Dos 5 pacientes agrupados neste padrão, apenas 1 apresentou este mesmo padrão para ambos os olhos.

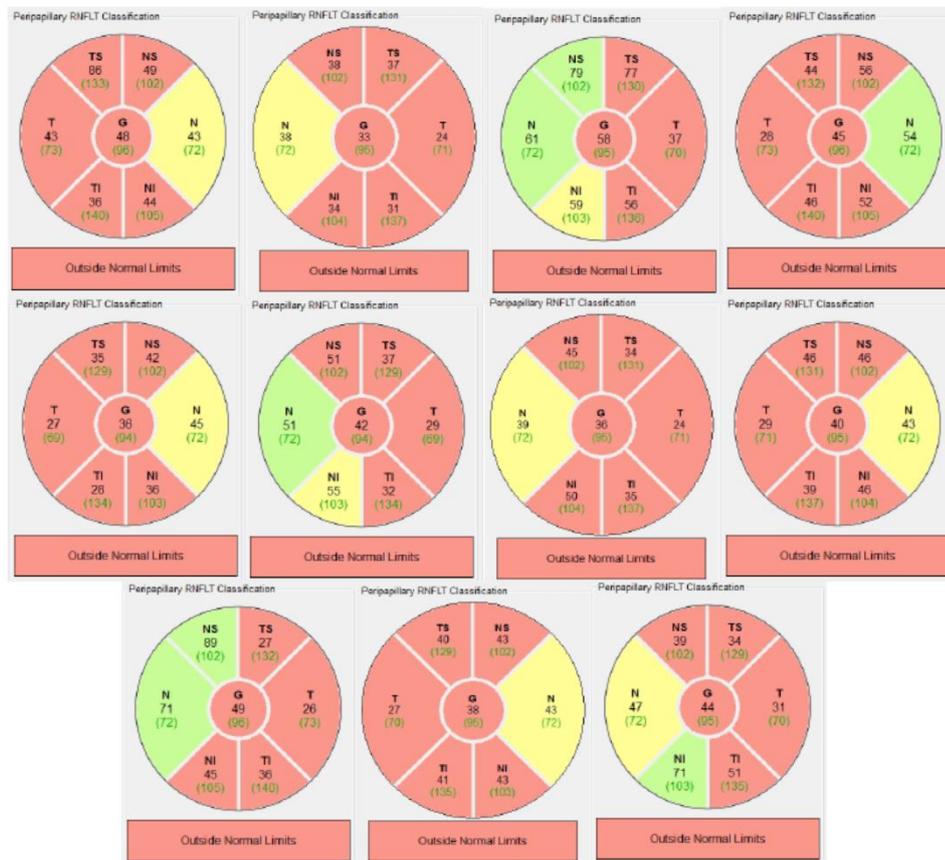


Figura 16. Medidas da espessura da CFNR perimacular de 11 olhos de 8 pacientes com transtornos neurocognitivos comparadas com medidas normativas da CFNR na região peripapilar.



Figura 17. Medidas da espessura da CFNR perimacular de 6 olhos de 5 pacientes com transtornos neurocognitivos comparadas com medidas normativas da CFNR na região peripapilar.

A Figura 18 mostra as médias (\pm intervalos de confiança de 95%) da espessura da CFNR perimacular medidas em vários setores retinianos do grupo Pacientes OCT N normal/borderline comparadas com as médias (\pm intervalos de confiança de 95%) da espessura da CFNR perimacular medidas nos mesmos setores retinianos do grupo Pacientes OCT N anormal. Observa-se que não há diferenças relevantes quando se compara as espessuras da CFNR medidas nos setores temporais e nasal inferior desses grupos. Em contraste, quando se compara as espessuras da CFNR medidas nos setores nasais intermédio (N) e superior (NS), observa-se que o grupo Pacientes OCT N anormal apresenta uma CFNR estatisticamente menos espessa que a do grupo Pacientes OCT N normal/borderline (N: $p = 0,0172$; NS: $p = 0,0038$). Vale observar que, embora a comparação dos intervalos de confiança de 95% das médias setoriais (G) da espessura da CFNR perimacular de ambos os grupos mostre que há uma diferença estatística entre os mesmos, verificou-se que tal diferença observada pode ser resultado do acaso ($p = 0,1461$).

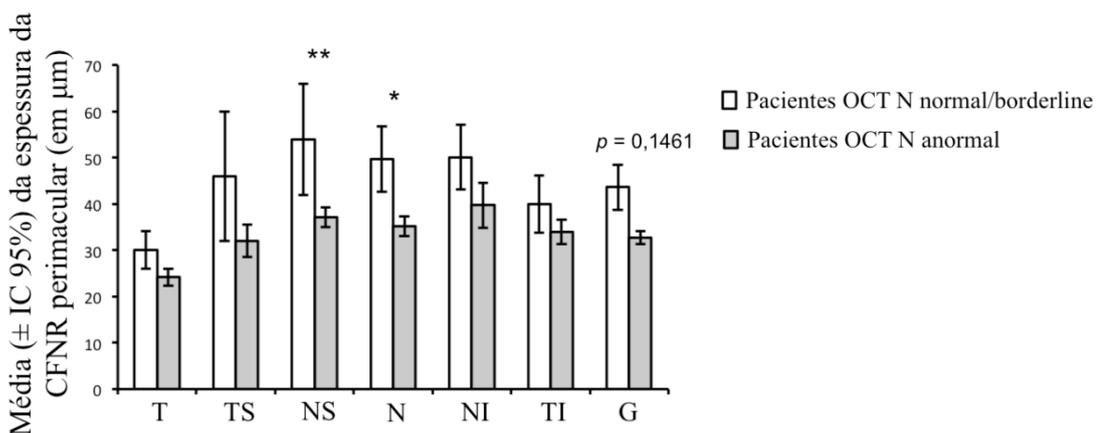


Figura 18. Médias (\pm intervalo de confiança de 95%) da espessura da CFNR perimacular de pacientes dos grupos Pacientes OCT N normal/borderline (n = 11 olhos) e Pacientes OCT N anormal (n = 6 olhos).

A Figura 19 mostra as médias (\pm intervalos de confiança de 95%) da espessura da CFNR perimacular nos setores temporal (esquerda) e nasal (direita) medidas os grupos Pacientes OCT N normal/borderline e Pacientes OCT N anormal, comparadas com as médias (\pm intervalos de confiança de 95%) da espessura da CFNR perimacular medidas nestes mesmos setores em sujeitos saudáveis, medidas estas realizadas por diferentes grupos de pesquisa e publicados na literatura na última década. Observa-se que, no geral, não há diferenças relevantes quando se compara as espessuras da CFNR medidas no setor temporal, ainda que o grupo Pacientes OCT N normal/borderline tenha apresentado, na média, uma CFNR perimacular no setor temporal estatisticamente mais espessa ($p < 0,0001$) que a do grupo de sujeitos saudáveis presentes no trabalho de Kafieh e colaboradores (2015). Em contraste, quando se compara as espessuras da CFNR medidas no setor nasal, observa-se que o grupo Pacientes OCT N normal/borderline apresentou, na média, uma CFNR perimacular estatisticamente mais espessa que as dos grupos de sujeitos saudáveis presentes nos trabalhos de Arvanitak e colaboradores (2012; $p < 0,0001$), Marziani e colaboradores (2013a; $p < 0,0001$) e Kafieh e colaboradores (2015; $p < 0,0001$). Por outro lado, observa-se que o grupo Pacientes OCT N anormal apresentou, na média, uma CFNR perimacular estatisticamente mais espessa apenas que a do grupo de sujeitos saudáveis presentes no trabalho de Kafieh e colaboradores (2015; $p = 0,0013$). Além disso, observa-se também que o grupo Pacientes OCT N anormal apresentou, na média, uma CFNR perimacular estatisticamente menos espessa apenas que a do grupo de sujeitos saudáveis presentes no trabalho de Marziani e colaboradores (2013b; $p < 0,0001$). Esta variabilidade pode ser explicada pelas diferenças inerentes aos diferentes equipamentos de tomografia óptica utilizados nos diferentes trabalhos, mas também a diferenças topográficas individuais inerentes a condição biológica.

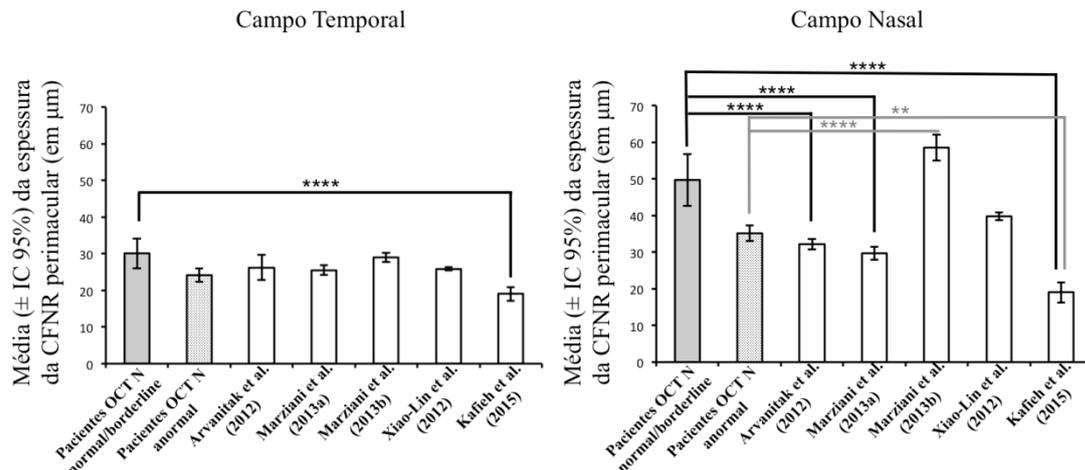


Figura 19. Medidas (média ± intervalo de confiança de 95%) da espessura da CFNR perimacular (campos temporal e nasal) dos grupos Pacientes OCT normal/borderline (n = 11 olhos) e Pacientes OCT anormal (n = 6 olhos) para o campo N, confrontadas com dados similares disponíveis na literatura, obtidos em indivíduos saudáveis de mesma faixa etária (21 ≤ n ≤ 112).

Finalmente, quando se compara as médias das espessuras setoriais da CFNR dos grupos Pacientes OCT N normal/borderline e Pacientes OCT N anormal (Figura 20), observa-se que o grupo Pacientes OCT N normal/borderline apresentou, na média, uma CFNR perimacular estatisticamente mais espessa que a do grupo Pacientes OCT N anormal ($p < 0,0001$) e que as dos grupos de sujeitos saudáveis presentes nos trabalhos de Kotera e colaboradores (2011; $p < 0,0001$), Xiao-Lin e colaboradores (2012; $p < 0,0001$), Vajaranan e colaboradores (2011; $p < 0,0001$), Akashi e colaboradores (2013; $p < 0,0001$) e Akashi e colaboradores (2014; $p < 0,0001$). Em contraste, observa-se que o grupo Pacientes OCT N anormal apresentou, na média, uma CFNR perimacular estatisticamente menos espessa que a de sujeitos saudáveis presentes nos trabalhos de Oberwahrenbrock e colaboradores (2013; $p = 0,0002$), Oberwahrenbrock e colaboradores (2014; $p < 0,0001$) e Oberwahrenbrock e colaboradores (2015; $p = 0,0001$).

Recentemente, Garcia-Martin et al. (2014) comparou a espessura da RNFL macular e peripapilar com OCT para determinar a área mais preditiva afetada em pacientes com Alzheimer leve e propôs que a espessura macular RNFL poderia ser um potencial

biomarcador pra esta doença. Entretanto, outros autores mostraram resultados semelhantes, mas considerando não a espessura macular, e sim o volume total macular (Iseri et al., 2006; Marziani et al., 2013; Polo et al., 2014). A medida por OCT da espessura de RNFL parece ser útil ao diagnóstico de discriminação entre demências, incluindo doença de Alzheimer e comprometimento cognitivo leve (Thomson et al., 2015). Foi postulado, por exemplo, que os defeitos na CFNR podem ser o primeiro sinal de Alzheimer, mesmo antes do dano à região do hipocampo que afeta a memória. Entretanto, essa evidência também pode refletir a morte celular neuronal-ganglionar da retina e a perda axonal no nervo óptico associada ao envelhecimento ou a outras doenças neuro-oftalmológicas.

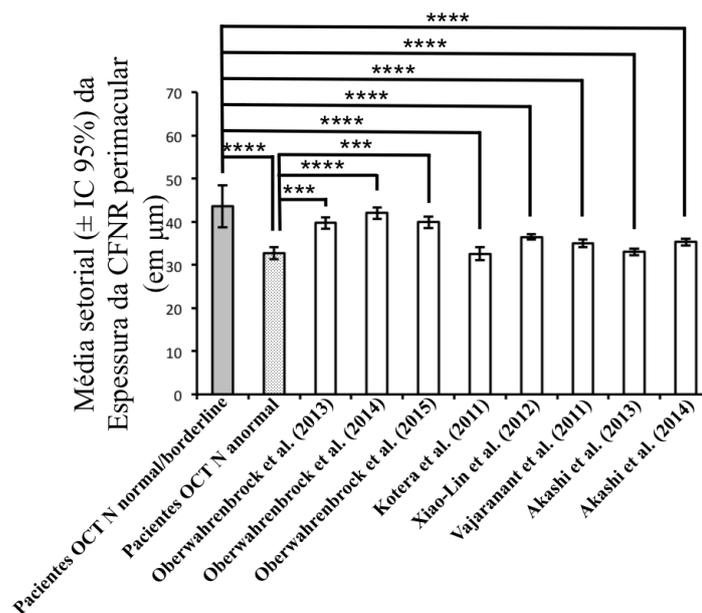


Figura 20. Medidas (média \pm intervalo de confiança de 95%) da espessura da CFNR perimacular (campo central) de pacientes dos grupos Pacientes OCT normal/borderline ($n = 11$ olhos) e Pacientes OCT anormal ($n = 6$ olhos) para o campo N, confrontadas com dados similares disponíveis na literatura, obtidos em indivíduos saudáveis de mesma faixa etária ($22 \leq n \leq 86$).

Por outro lado, também foi postulado que a OCT poderia ser uma ferramenta útil para avaliar a progressão da doença de Parkinson (Yu et al., 2014). A ideia é que o déficit funcional de interneurônios dopaminérgicos, incluindo células amácrinas da retina, pode causar alterações estruturais anatômicas na retina interna de pacientes com Parkinson (Adam

et al., 2013). Contudo, os pacientes com Parkinson podem demonstrar defeitos perimétricos semelhantes a glaucomatosos mesmo na ausência de redução da espessura da RNFL (Tsironi et al., 2012). Além disso, diferenças significativas na espessura macular foram detectadas em três dos nove subcampos medidos por OCT. No entanto, não foram detectadas reduções significativas na CFNR peripapilar e na espessura da camada retiniana interna quando comparou-se pacientes com Parkinson e sujeitos controle, o que confirma os resultados do presente trabalho. Deste modo, isso sugere que as medidas de espessura macular por OCT podem potencialmente ser usadas como um biomarcador in vivo objetivo, não invasivo e facilmente quantificável no Parkinson, mas há a necessidade de se definir melhor quais parâmetros tomográficos devem ser utilizados neste sentido. Por exemplo, há autores que mostram que, em pacientes com doença de Parkinson, há uma redução da espessura da CFNR, e da espessura e volume macular, mas a redução da espessura da fóvea não é estatisticamente diferente do normal (Altintas et al., 2007).

5.2 COMPARAÇÃO DA CONCENTRAÇÃO DE METABÓLITOS EM DIFERENTES REGIÕES ENCEFÁLICAS DE SUJEITOS SAUDÁVEIS E DE PACIENTES COM TRANSTORNOS NEUROCOGNITIVOS

A Figura 21 ilustra um típico resultado de medida espectroscópica por ressonância magnética. No alto da Figura, os retângulos delineados em vermelho indicam a localização de uma das áreas (hipocampo) onde as medidas espectroscópicas foram realizadas. Logo abaixo, a Figura mostra em gráfico a medida quantitativa dos sinais emitidos por diferentes metabólitos encefálicos localizados na área escolhida. Nota-se no centro do gráfico que o maior pico refere-se ao metabólito N-Acetil-Aspartato. Embaixo da Figura encontram-se os valores da amplitude do sinal espectroscópico emitido pelos diferentes metabólitos localizados na área escolhida.

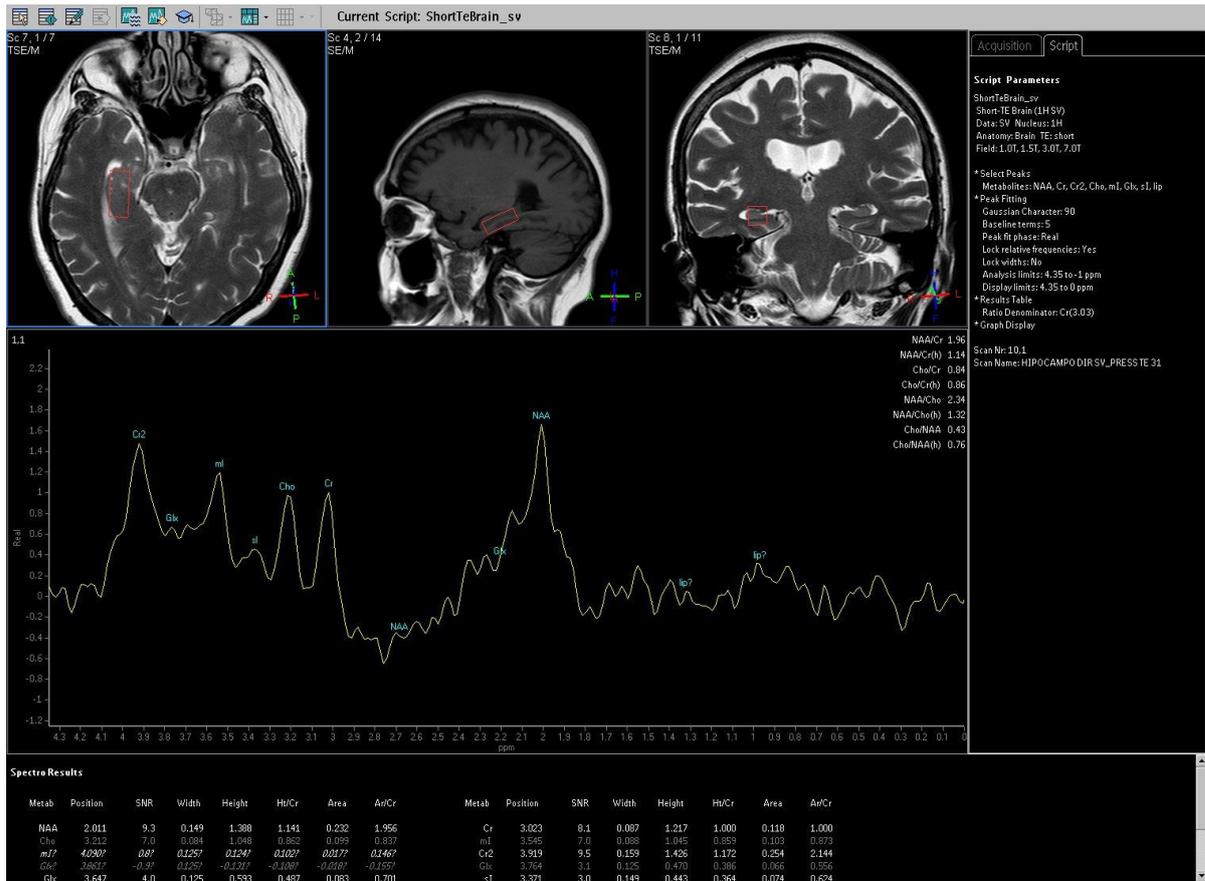


Figura 21. Exemplo da apresentação dos resultados obtidos pelo procedimento de HMRS adotado neste trabalho.

Na Figura 22, valores de amplitude do sinal espectroscópicos emitidos pelos diferentes metabólitos encefálicos detectados na região do giro do cíngulo de pacientes com transtornos neurocognitivos são comparados com valores similares de sujeitos saudáveis. Com exceção da amplitude do sinal derivado do metabólito mio-inositol, todos os outros metabólitos (NAA, Colina e Creatina) mensurados nos pacientes com transtornos neurocognitivos mostraram-se com amplitude de sinal abaixo do nível encontrado em sujeitos saudáveis (NAA, $p < 0,0001$; Colina, $p = 0,04$; Creatina, $p < 0,0001$).

GIRO DO CÍNGULO

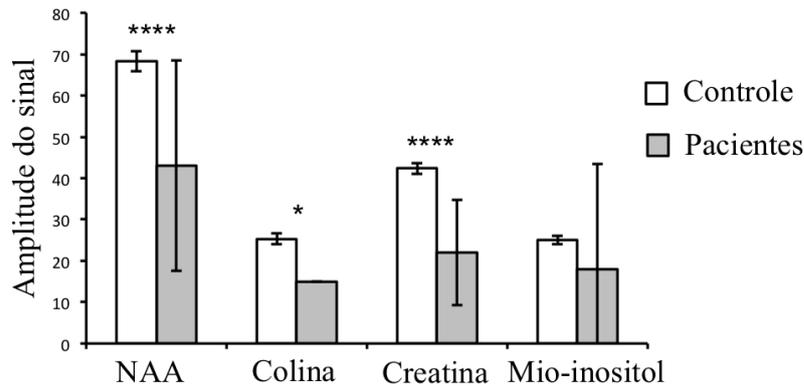


Figura 22. Medidas (média \pm intervalo de confiança de 95%) da amplitude do sinal espectroscópico (esquerda) e da concentração (direita) de diferentes metabólitos encefálicos no giro do cíngulo de pacientes com transtornos cognitivos ($n = 2$ áreas de 2 pacientes) e de indivíduos saudáveis de mesma faixa etária ($n = 47$ áreas de 47 sujeitos). *, $p = 0,04$; ****, $p < 0,0001$.

Já na região do hipocampo (Figura 23), todos os metabólitos (NAA, Colina, Creatina e Mio-inositol) mensurados nos pacientes com transtornos neurocognitivos mostraram-se com amplitude de sinal abaixo do nível encontrado em sujeitos saudáveis ($p < 0,0001$).

HIPOCAMPO

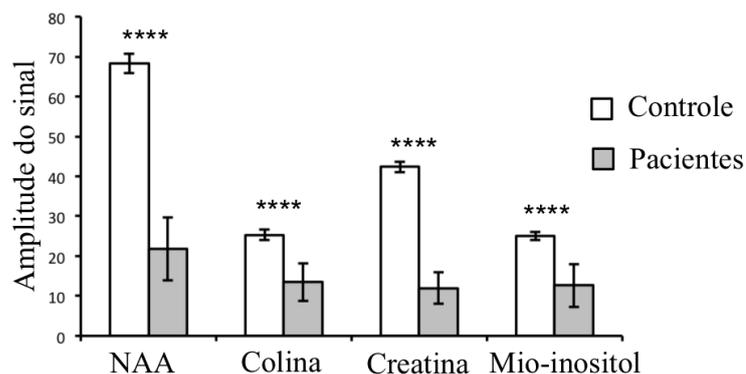


Figura 23. Medidas (média \pm intervalo de confiança de 95%) da amplitude do sinal espectroscópico (esquerda) e da concentração (direita) de diferentes metabólitos encefálicos no hipocampo de pacientes com transtornos cognitivos ($n = 8$ áreas de 5 pacientes) e de indivíduos saudáveis de mesma faixa etária ($n = 47$ áreas de 47 sujeitos). ****, $p < 0,0001$.

Finalmente, quando se analisa de modo agrupado as medidas espectroscópicas nas áreas acima mencionadas, ou seja, quando se agrupa todos os valores de amplitude do sinal espectroscópicos emitidos pelos diferentes metabólitos encefálicos detectados na região do

giro do cíngulo e do hipocampo de pacientes com transtornos neurocognitivos, e se compara com valores similares de sujeitos saudáveis, observa-se que todos os metabólitos (NAA, Colina, Creatina e Mio-inositol) mensurados nos pacientes com transtornos neurocognitivos mostraram-se com amplitude de sinal abaixo do nível encontrado em sujeitos saudáveis (NAA, $p < 0,0001$; Colina, $p < 0,0001$; Creatina, $p < 0,0001$; Mio-inositol, $p = 0,01$) (Figura 24).

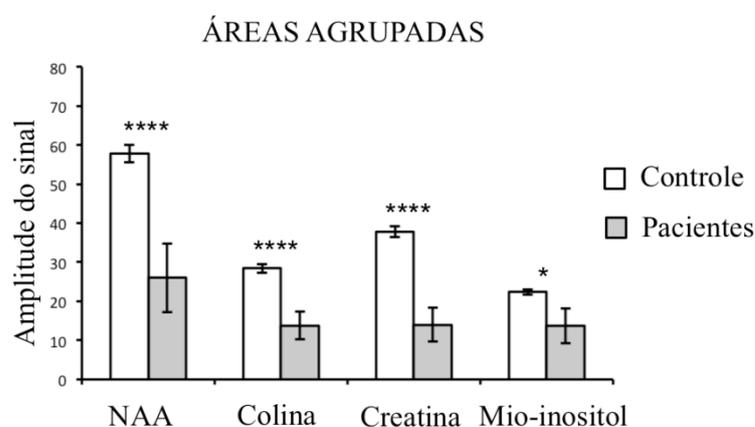


Figura 24. Medidas (média \pm intervalo de confiança de 95%) da amplitude do sinal espectroscópico (esquerda) e da concentração (direita) de diferentes metabólitos encefálicos em áreas agrupadas (giro do cíngulo e hipocampo) do encéfalo de pacientes com transtornos cognitivos ($n = 10$ áreas de 6 pacientes) e de indivíduos saudáveis de mesma faixa etária ($n = 94$ áreas de 47 sujeitos). *, $p = 0,01$; ****, $p < 0,0001$.

Esses resultados são análogos ao que é geralmente encontrado na literatura a respeito de pacientes com transtorno neurocognitivos associados ao Alzheimer ou ao Parkinson, pelo menos em parte, principalmente no que diz respeito a concentração de NAA, como já mencionado na Introdução. Além disso, como nenhuma diferença significativa na concentração tecidual global do marcador espectroscópico NAA da integridade neuronal é, geralmente, encontrada entre adultos jovens e idosos saudáveis (Wu et al., 2012), assim como não são observadas alterações nas concentrações de colina, mio-inositol e creatina total nesta população (Saunders et al., 1999), estes resultados não podem ser facilmente associados simplesmente à idade. Não obstante, a literatura mostra que, quando se trata de atrofia

cerebral associada à idade, a diminuição da NAA e do parênquima cerebral no envelhecimento parecem intimamente correlacionados, indicando que a concentração de NAA (e presumivelmente do número e integridade das células neuronais) no tecido cerebral dos idosos é semelhante ao de indivíduos mais jovens (Wu et al., 2012).

Por outro lado, há evidências na literatura que mostram que os efeitos do envelhecimento normal nos metabólitos cerebrais e na microestrutura encefálica são dependentes da região (Eylers et al., 2016), o que pode explicar em parte a queda mais acentuada, mais proeminente, da amplitude dos sinais espectroscópicos na região hipocampal, como observado no presente trabalho. Entretanto, há evidências que sugerem que NAA pode diminuir enquanto colina e creatina podem normalmente aumentar com a idade, dependendo da região encefálica avaliada. Portanto, são necessários mais dados de indivíduos mais velhos para caracterizar melhor os efeitos da idade sobre estes metabólitos encefálicos e, conseqüentemente, os índices espectroscópicos derivados de medidas realizadas em indivíduos mais velhos devem ser interpretados com cautela (Haga et al., 2009).

Neste contexto de alta variabilidade de resultados, no presente trabalho utilizou-se a amplitude do sinal espectroscópico gerados pelos metabólitos de interesse ao invés do valor inferido de sua concentração com base na amplitude do metabólito de referência interna, como geralmente é feito usando-se a creatina (Alger, 2010). Esta decisão se baseia no achado de que a amplitude do sinal do metabólito encefálico alvo não se correlaciona de modo relevante, positivo, com a concentração estimada deste mesmo metabólito calculada a partir da amplitude do sinal espectroscópico do metabólito de referência. Isto ocorre no hipocampo, por exemplo (Figura 25). Na literatura, não foram encontrados dados similares.

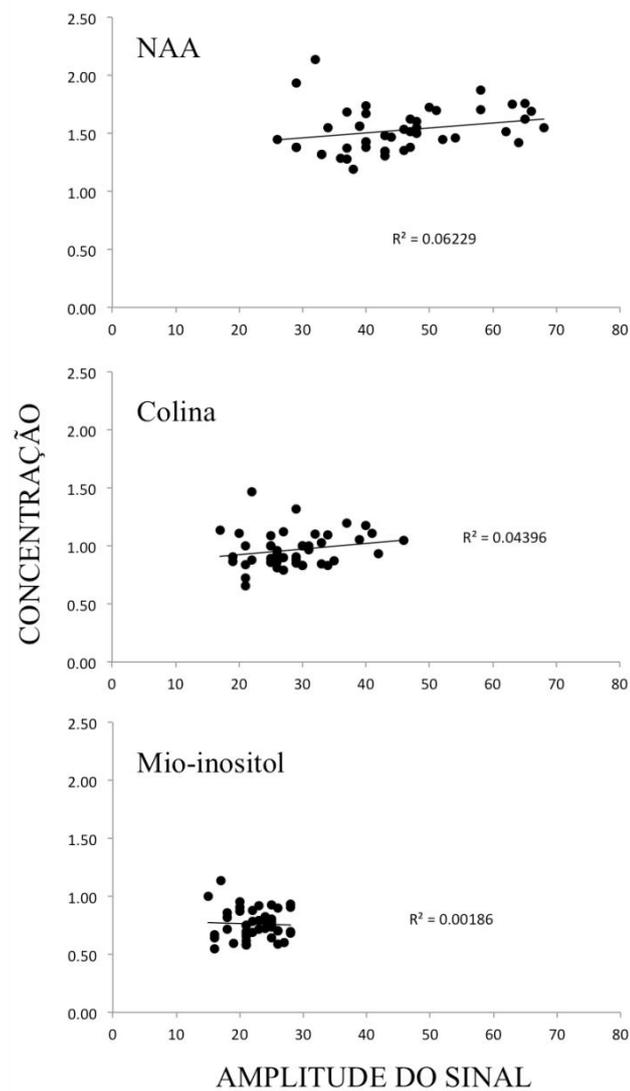


Figura 25. Comparação entre a amplitude dos sinais espectroscópicos dos metabólitos encefálicos NAA, colina e mio-inositol e a concentração estimada desses mesmos metabólitos calculada a partir da amplitude do sinal espectroscópico do metabólito de referência creatina. Estes dados são oriundos de hipocampos de 47 sujeitos saudáveis.

5.3 AVALIAÇÃO QUANTITATIVA DE FUNÇÕES COGNITIVAS DE PACIENTES COM TRANSTORNOS NEUROCOGNITIVOS

A Figura 26 ilustra um típico resultado de medida neuropsicológica utilizando-se da alguns testes da bateria CANTAB. No extremo esquerdo da Figura 26, os testes realizados (PAL, SWM e RTI) estão identificados. Para cada teste são identificadas nas colunas seguintes quais medidas foram realizadas (Measure), valores de escore bruto (Raw score) e escore padrão (Standard score) resultantes do desempenho em cada teste, a forma gráfica do escore padrão (Standard score chart), comparações com dados normativos da própria CANTAB (Better than, Good as or better than, Population diagram), e o numero total de sujeitos que compuseram os dados normativos (N). Além disso, a duração de todos os testes também é demonstrada.

Subject ID		Gender		N/A							
Age		N/A		NART		N/A					
Session start time		01/11/2005 00:06:50		User name		Paceblade					
Test	Measure	Raw score	Standard score	Standard score chart	Better than	Good as or better than	Population diagram	Comparison basis			
								Age	NART	M/F	N
PAL	Mode clinical Test start time 01/11/2005 00:06:51 Test duration 14 min 45 s										
	Total errors (adjusted)	41	-0,62		10-15%	15-20%		All	All	All	1252
	Total errors (6 shapes, adjusted)	6	0,21		35-40%	35-40%		All	All	All	480
SWM	Mode clinical Test start time 01/11/2005 00:21:47 Test duration 11 min 13 s										
	Between errors	71	-1,43		5-10%	5-10%		All	All	All	696
	Strategy	33	0,14		55-60%	65-70%		All	All	All	683
RTI	Mode clinical Test start time 01/11/2005 00:33:11 Test duration 8 s										
	Five-choice movement time ¹	N/A									
	Five-choice reaction time ¹	N/A									
RTI	Mode clinical Test start time 01/11/2005 00:33:24 Test duration 4 min 58 s										
	Five-choice movement time	2.231,0	-14,95		0%	0%		All	All	All	248
	Five-choice reaction time	665,88	-4,94		0-5%	0-5%		All	All	All	248

¹Test aborted.

Figura 26. Exemplo de resultado obtido pelos testes da CANTAB adotados neste trabalho.

Em relação ao teste de aprendizado associativo (PAL), a bateria CANTAB tem como limite normal de duração do teste até 600s (ou 10min). Escores padrão acima de zero são esperados normalmente quando sujeitos saudáveis realizam o teste. Na Figura 27, a linha vermelha pontilhada na vertical indica o tempo máximo que sujeitos saudáveis (esquerda: n =

1252; direita: n = 480) levam para realizar esses testes. A linha vermelha pontilhada na horizontal indica o limite do escore padrão para um total erros aceitável (escores positivos). Neste contexto, observa-se que a maioria dos pacientes com transtornos neurocognitivos tiveram escore padrão abaixo de zero, e realizaram o teste em mais de 600s.

Em relação ao teste de tempo de reação (RTI), a bateria CANTAB tem como limite normal de duração do teste até 300s (ou 5min). Escores padrão acima de zero são esperados normalmente quando sujeitos saudáveis realizam o teste. Na Figura 28, a linha vermelha pontilhada na vertical indica o tempo máximo que sujeitos saudáveis (esquerda e direita: n = 248) levam para realizar esses testes. A linha vermelha pontilhada na horizontal indica o limite do escore padrão para um total erros aceitável (escores positivos). Neste contexto, observa-se que a maioria dos pacientes com transtornos neurocognitivos tiveram escore padrão abaixo de zero, mas realizaram o teste em menos de 300s.

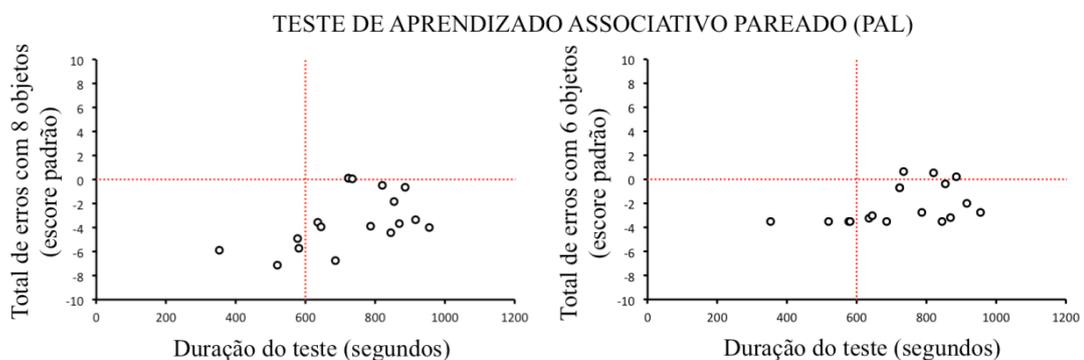


Figura 27. Medidas do total de erros no teste PAL com 8 objetos (esquerda) e 6 objetos (direita) em função da duração do teste para cada paciente com transtorno cognitivo (n = 18). A linha vermelha pontilhada na vertical indica o tempo máximo que sujeitos saudáveis (esquerda: n = 1252; direita: n = 480) levam para realizar esses testes. A linha vermelha pontilhada na horizontal indica o limite do escore padrão para um total erros aceitável (escores positivos).

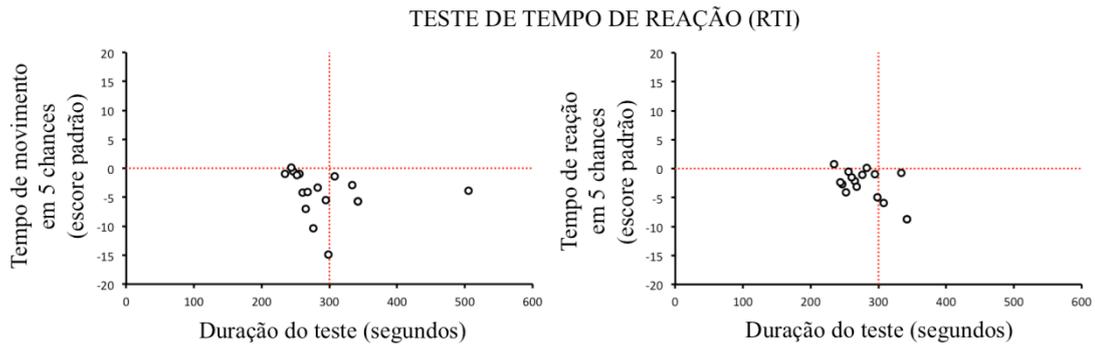


Figura 28. Medidas do tempo de movimento em 5 chances (esquerda) e do tempo de reação em 5 chances (direita) no teste RTI em função da duração do teste para cada paciente com transtorno cognitivo ($n = 17$). A linha vermelha pontilhada na vertical indica o tempo máximo que sujeitos saudáveis (esquerda e direita: $n = 248$) levam para realizar esses testes. A linha vermelha pontilhada na horizontal indica o limite do escore padrão para um total erros aceitável (escores positivos).

Já em relação ao teste de memória de trabalho espacial (SWM), a bateria CANTAB tem como limite normal de duração do teste até 500s (~8min). Escores padrão acima de zero são esperados normalmente quando sujeitos saudáveis realizam o teste. Na Figura 29, a linha vermelha pontilhada na vertical indica o tempo máximo que sujeitos saudáveis (esquerda: 696; direita: $n = 683$) levam para realizar esses testes. A linha vermelha pontilhada na horizontal indica o limite do escore padrão para um total erros aceitável (escores positivos). Neste contexto, observa-se que a maioria dos pacientes com transtornos neurocognitivos tiveram escore padrão abaixo de zero, e realizaram o teste em mais de 500s.

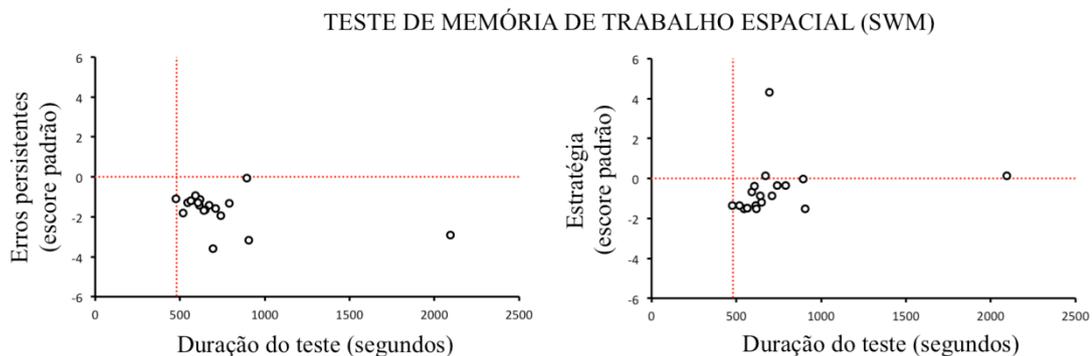


Figura 29. Medidas de erros persistentes (esquerda) e da estratégia (direita) no teste SWM em função da duração do teste para cada paciente com transtorno cognitivo ($n = 19$). A linha vermelha pontilhada na vertical indica o tempo máximo que sujeitos saudáveis (esquerda: 696; direita: $n = 683$) levam para realizar esses testes. A linha vermelha pontilhada na horizontal indica o limite do escore padrão para um total erros aceitável (escores positivos).

Como mencionado anteriormente na Introdução, uma grande quantidade de estudos relatando a utilização da CANTAB na avaliação de pacientes com transtornos cognitivos associados a doença de Alzheimer e Parkinson (Forlenza, 2005; Mansur et al., 2005; Galhardo et al., 2009; Kumer & Teixeira, 2009; Roque et al., 2011; Cambridge Cognition, 2012; Zidan et al., 2012) já demonstrou o que o presente estudo revelou nos resultados acima descritos.

5.4 ANÁLISE DE COMPONENTE PRINCIPAL CORRELACIONANDO MEDIDAS DE OCT E CANTAB DE PACIENTES COM TRANSTORNOS NEUROCOGNITIVOS

Maximizando a variância de um conjunto de dados, a Análise de Componente Principal é uma ferramenta estatística que permite identificar quais variáveis desse conjunto em estudo podem ser agrupadas como tendo um comportamento comum, comportamento este identificado pela força da correlação de cada variável com um componente independente. Neste contexto, a Figura 30 mostra que, considerando 9 variáveis obtidas a partir dos dados resultantes da aplicação das baterias PAL (duração do teste, escore padrão para 8 objetos, escore padrão para 6 objetos), RTI (duração do teste, escore padrão para tempo de movimento, escore padrão para tempo de reação), e SWM (duração do teste, escore padrão para erros persistentes, escore padrão para estratégia), e considerando 7 variáveis obtidas a partir dos dados resultantes das medidas em OCT da espessura perimacular da CFNR (temporal, temporal superior, nasal superior, nasal intermédio, nasal inferior, temporal inferior, e média setorial), percebe-se que, nesse conjunto, há 5 componentes que explicam a covariância observada nesses dados (barras acima da linha vermelha horizontal). Vale notar que o componente principal 1 (PC1) explica cerca de 30% da covariância observada neste conjunto de variáveis, enquanto que o componente principal 2 (PC2) explica cerca de 18% da covariância observada neste conjunto de variáveis.

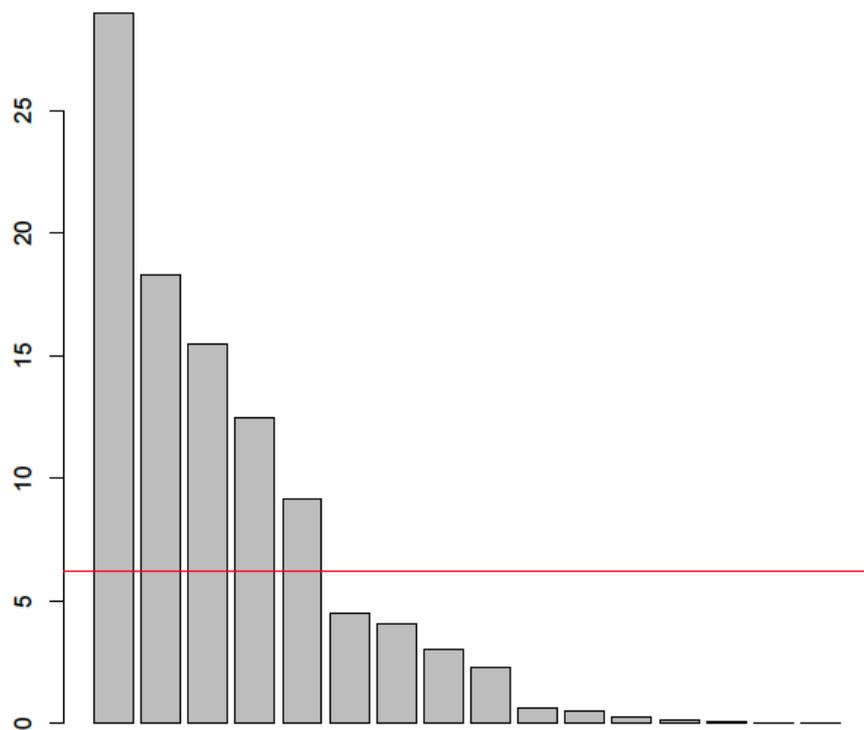


Figura 30. Análise de componente principal mostrando que há 5 componentes contribuindo mais fortemente para a covariância dos dados obtidos de pacientes com transtornos neurocognitivos relativos a medidas em OCT (n = 17 olhos de 12 pacientes) e medidas na CANTAB (n = 17 baterias de 12 pacientes).

Assim, considerando apenas os dois primeiros componentes (PC1 e PC2), os quais juntos explicam quase 50% da covariância observada no conjunto de variáveis acima mencionado, a linha pontilhada na Figura 31 mostra que a variável “b” (escore padrão para 8 objetos) da bateria PAL, e as variáveis “g” (duração do teste) e “i” (escore padrão para estratégia) da bateria SWM variam de modo semelhante às variáveis “k”, “l”, “m”, “n”, “o” e “p” das medidas por OCT (espessuras da CFNR perimacular dos setores temporal superior, nasal superior, nasal intermédio, nasal inferior, temporal inferior e média setorial, respectivamente). Em outras palavras, essas variáveis são aquelas que variam de modo mais semelhante em relação ao PC1 (negativamente), o que sugere que estas características estão mais fortemente correlacionadas entre si dentro do conjunto de variáveis em estudo. Deste modo, esses resultados sugerem que, em geral, variáveis neuropsicológicas e retinianas podem estar correlacionadas em pacientes com transtornos neurocognitivos.

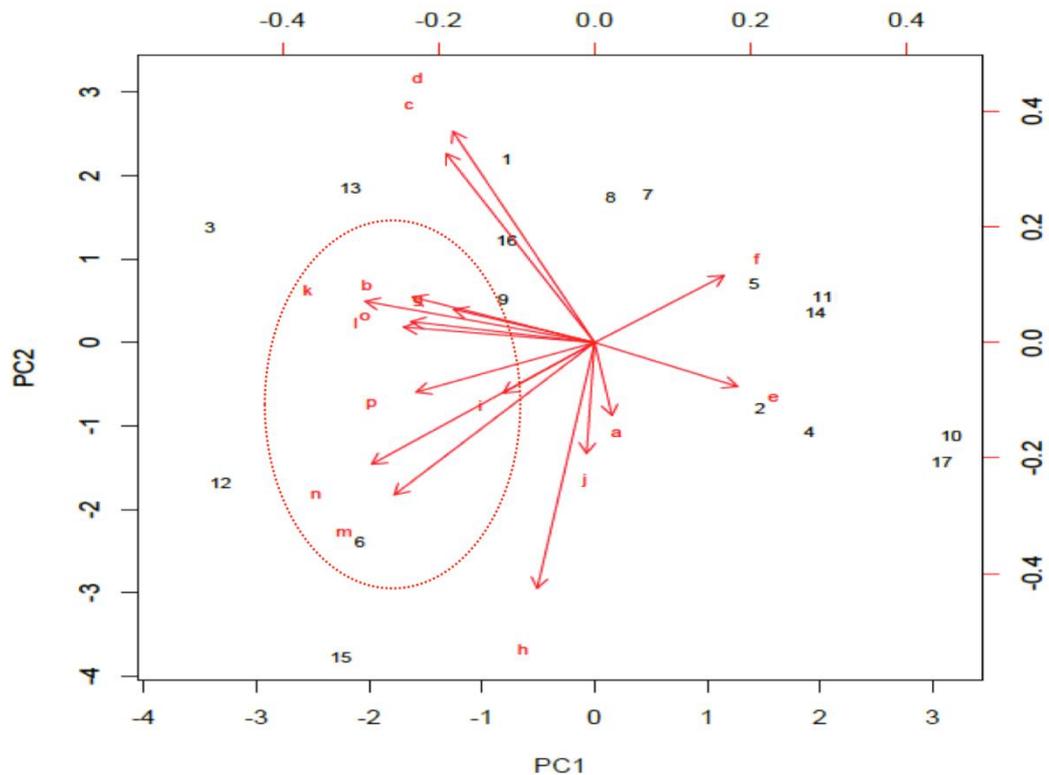


Figura 31. Análise de componente principal mostrando que a covariância dos dados obtidos de pacientes com transtornos cognitivos relativos a medidas em OCT (n = 17 olhos de 12 pacientes) e na CANTAB (n = 17 baterias de 12 pacientes). Os índices a-i correspondem em sequência aos dados obtidos nas baterias PAL (duração do teste [a], escore padrão para 8 objetos [b], escore padrão para 6 objetos [c]), RTI (duração do teste [d], escore padrão para tempo de movimento [e], escore padrão para tempo de reação [f]), e SWM (duração do teste [g], escore padrão para erros persistentes [h], escore padrão para estratégia [i]). Os índices j-p correspondem em sequência aos dados obtidos na OCT relativos à distribuição perimacular da CFNR (temporal [j], temporal superior [k], nasal superior [l], nasal intermédio [m], nasal inferior [n], temporal inferior [o], e média setorial [p]).

A PCA já foi utilizada para identificar diferenças na distribuição de fluxo sanguíneo regional no encéfalo de pacientes Alzheimer (Pagani et al., 2009), para identificar mudanças no volume encefálico nesses pacientes (Chen et al., 2004), para analisar movimentos estereotipados em pacientes Parkinson (Dillman et al., 2014), e até para comparar o nível de substância beta-amilóide entre pacientes Alzheimer e Parkinson (Campbell et al., 2013). Entretanto, não foram encontrados relatos na literatura sobre o uso da PCA para analisar o grau de covariância entre variáveis de diferentes abordagens como a OCT e a CANTAB.

5.5 AVALIAÇÃO RETINIANA, METABÓLICA E COGNITIVA DE PACIENTE DIAGNOSTICADO HÁ 5 ANOS COM TRANSTORNO NEUROCOGNITIVO ASSOCIADO A POSSÍVEL DOENÇA DE PARKINSON: UM RELATO DE CASO

Paciente, sexo masculino, 75 anos, branco, casado, apresenta tremor global sem rigidez, iniciado há 5 anos. Ressonância magnética do crânio revelou leve atrofia cortical, condizente com diagnóstico de Doença de Parkinson. Após início de tratamento com Levodopa, apresentou melhoras no quadro motor, mas com sinais de perda cognitiva aparentes. Foi encaminhado para realizar exames (OCT, HMRS e CANTAB).

5.5.1 AVALIAÇÃO RETINIANA

A Figura 32 mostra a medida da espessura perimacular da CFNR realizada em um paciente com transtorno neurocognitivo. No alto, à esquerda, os painéis da Figura 32 (A e E) mostram o campo de varredura da CFNR na região perimacular pela OCT. No alto, à direita, os painéis da Figura 32 (B e F) mostram a espessura da CFNR na região perimacular varrida pela OCT. Abaixo, à esquerda, os painéis da Figura 32 (C e G) mostram os valores de espessura da CFNR perimacular medidos pela OCT em diferente setores da retina (N, nasal; NI, nasal inferior; NS, nasal superior; T, temporal; TI, temporal inferior; TS, temporal superior), além da espessura média setorial (G). Vale notar que entre parênteses encontram-se valores esperados normalmente para medidas peripapilares de espessura da CFNR nesses respectivos setores, além da espessura média da CFNR peripapilar. Finalmente, abaixo, à direita, os painéis da Figura 32 (D e H) mostram a espessura da CFNR perimacular (traçado preto) em função dos setores retinianos. Também vale notar que a espessura média da CFNR esperada normalmente para medidas peripapilares nesses respectivos setores também é demonstrada (traçado verde) nos gráficos.

Como dito na Seção 5.1, os equipamentos de tomografia de coerência óptica normalmente trazem valores de referência apenas para medidas de espessura da CFNR peripapilar, muito utilizada para avaliação do impacto de outras doenças retinianas, como o glaucoma. Consequentemente, as medidas da espessura da CFNR perimacular realizadas neste paciente foram automaticamente comparadas com estes valores de referência. Curiosamente, o resultado dessa comparação discrimina os pacientes com transtornos neurocognitivos em dois grupos, um com espessura da CFNR perimacular no setor nasal dentro da faixa normal-borderline de espessura da CFNR peripapilar (grupo Pacientes OCT N normal/borderline) (Figura 16), outro com espessura da CFNR perimacular no setor nasal fora da faixa normal-borderline de espessura da CFNR peripapilar (grupo Pacientes OCT N anormal) (Figura 17). Neste contexto, o paciente enquadrou-se no grupo Pacientes OCT N normal/borderline (Figura 32), pois percebe-se que, em ambos os olhos, somente nos setores temporais (TS, T e TI) e na média setorial (G) central a espessura da CFNR está sempre fora dos limites considerados normais para medidas peripapilares.

A Figura 33 mostra as médias (\pm intervalos de confiança de 95%) da espessura da CFNR perimacular nos setores temporal (esquerda) e nasal (direita) medidas no paciente, comparadas com as médias (\pm intervalos de confiança de 95%) da espessura da CFNR perimacular medidas nestes mesmos setores em sujeitos saudáveis, medidas estas realizadas por diferentes grupos de pesquisa e publicados na literatura na última década. Observa-se que não há diferenças relevantes quando se compara as espessuras da CFNR medidas no setor temporal. Por outro lado, quando se compara as espessuras da CFNR medidas no setor nasal, observa-se que o paciente apresentou, na média, uma CFNR perimacular estatisticamente mais espessa que a do grupo de sujeitos saudáveis presente no trabalho de Kafieh e colaboradores (2015; $p = 0,0038$).

Por fim, quando se compara as médias das espessuras setoriais da CFNR (Figura 34), observa-se que o paciente apresentou, na média, uma CFNR perimacular estatisticamente mais espessa apenas que as dos grupos de sujeitos saudáveis presentes nos trabalhos de Kotera e colaboradores (2011; $p = 0,0195$) e Akashi e colaboradores (2013; $p = 0,0266$).

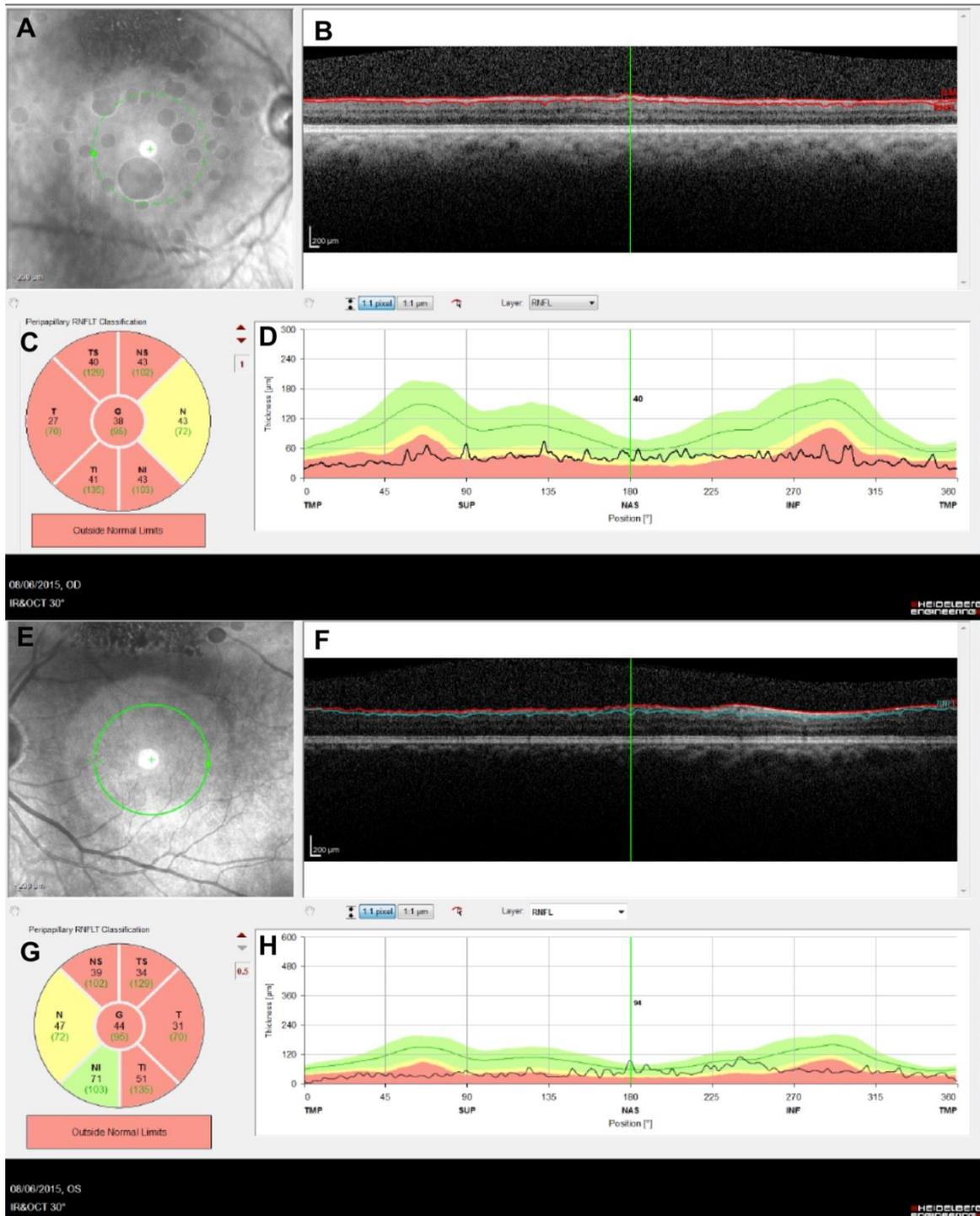


Figura 32. Medidas da espessura da CFNR perimacular nos campos nasal (N), nasal superior (NS), nasal inferior (NI), temporal (T), temporal superior (TS), temporal inferior (TI), e média setorial (G) de paciente com transtorno neurocognitivos associado a possível Doença de Alzheimer. Comparadas com medidas normativas da CFNR na região peripapilar, percebe-se que em ambos os olhos a espessura da CFNR está fora dos limites considerados normais nos campos perimaculares temporal e central, como esperado (Arvanitak et al., 2012). Entretanto, nos campos nasal e nasal inferior, a espessura da CFNR encontra-se em nível borderline/normal.

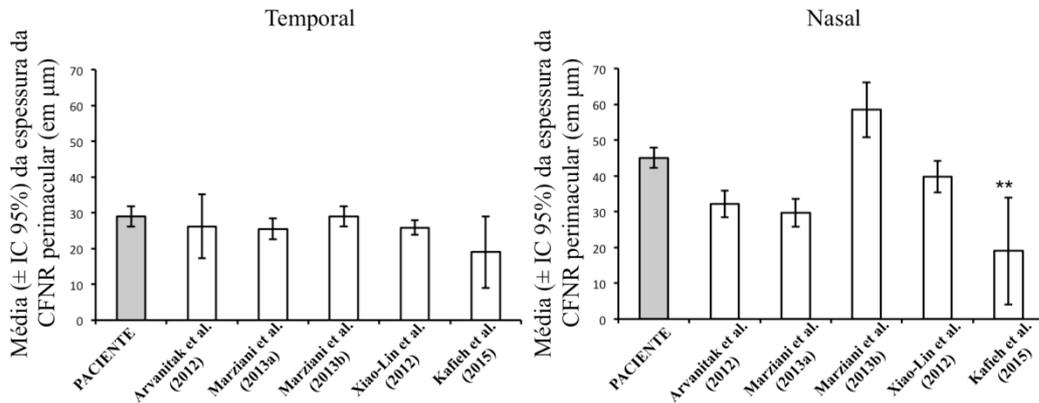


Figura 33. Medidas (média \pm intervalo de confiança de 95%) da espessura da CFNR perimacular (campos temporal e nasal) de um paciente com transtorno neurocognitivos ($n = 2$ olhos) confrontadas com dados similares disponíveis na literatura, obtidos em indivíduos saudáveis de mesma faixa etária ($21 \leq n \leq 112$). **, $p = 0,0038$

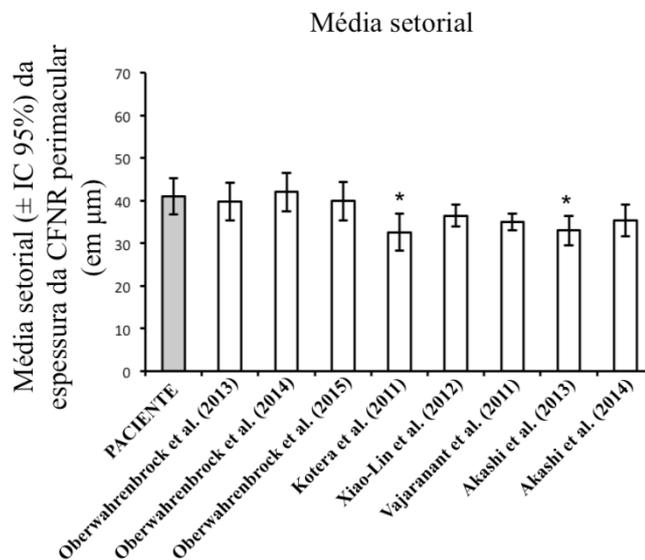


Figura 34. Médias (\pm intervalos de confiança de 95%) das espessuras setoriais da CFNR perimacular de pacientes com transtornos neurocognitivos ($n = 17$ olhos) confrontadas com dados similares disponíveis na literatura, obtidos em indivíduos saudáveis de mesma faixa etária ($22 \leq n \leq 86$). *, $p = 0,0195$ (Kotera et al., 2011); *, $p = 0,0266$ (Akashi et al., 2014).

Outras características esperadas para a CFNR perimacular confirmam o padrão normal desta estrutura retiniana no paciente com transtorno neurocognitivo. A Figura 35 mostra

diagramas de dispersão correlacionando as espessuras das CFNR perimaculares nos setores temporal e nasal, intermédio (A), superior (B) e inferior (C). Percebe-se claramente que as medidas no setor nasal em geral apresentam valores de maior espessura que as medidas no setor temporal, padrão este esperado para a CFNR perimacular de sujeitos saudáveis. Ilustrando isto, vemos na Figura 35 A que a correlação entre as medidas da espessura da CFNR perimacular de sujeitos saudáveis (círculos não preenchidos) descritos nos trabalhos de Arvanitak e colaboradores (2012), Marziani e colaboradores (2013a,b), Kafieh e colaboradores (2015) e Xiao-Lin e colaboradores (2012), segue o mesmo padrão descrito para as medidas realizadas no paciente com transtorno neurocognitivos do presente trabalho (círculos preenchidos).

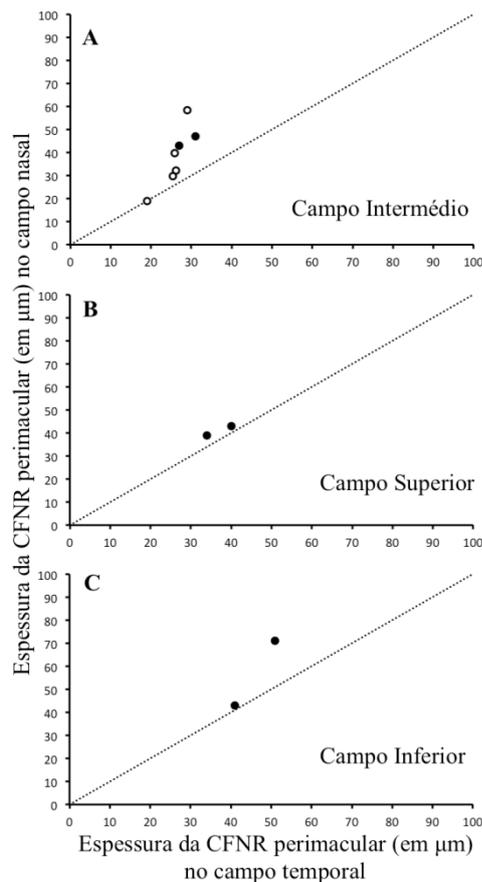


Figura 35. Comparação entre medidas da espessura da CFNR perimacular nos campos temporal e nasal intermédio (A), superior (B), e inferior (C) de pacientes com transtornos cognitivos (n = 17 olhos). A linha tracejada diagonal ilustra uma correlação perfeita.

5.5.2 AVALIAÇÃO METABÓLICA

Como já mencionado anteriormente, a Figura 36 ilustra um típico resultado de medida espectroscópica por ressonância magnética, um gráfico com a medida quantitativa dos sinais emitidos por diferentes metabólitos encefálicos localizados na área escolhida (hipocampo direito e esquerdo). Nota-se no centro do gráfico que o maior pico refere-se ao metabólito N-Acetil-Aspartato.

Na Figura 37, valores de amplitude do sinal espectroscópicos emitidos pelos diferentes metabólitos encefálicos detectados na região do hipocampo do paciente com transtorno neurocognitivo é comparado com valores similares de sujeitos saudáveis. Apenas o metabólito Creatina mensurado no paciente com transtorno neurocognitivo mostrou-se com amplitude de sinal abaixo do nível encontrado em sujeitos saudáveis (Creatina, $p = 0,0237$). Vale observar que, embora a comparação dos intervalos de confiança de 95% das amplitudes dos sinais espectroscópicos derivados dos metabólitos NAA e Colina mostre que há uma diferença estatística entre os mesmos, verificou-se que tal diferença observada pode ser resultado do acaso (NAA, $p = 0,0695$; Colina, $p = 0,2349$).

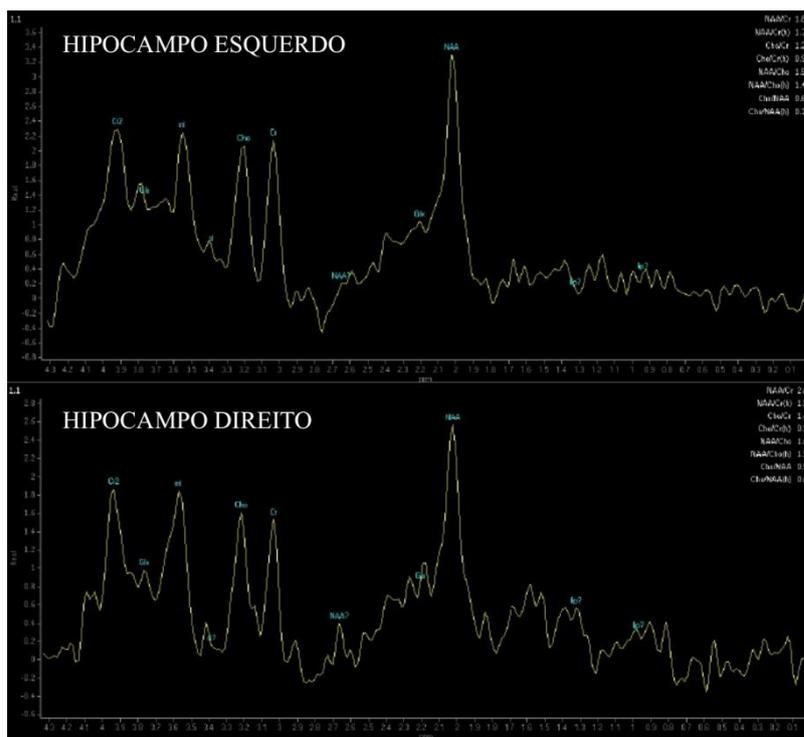


Figura 36. Resultado obtido pelo procedimento de HMRS adotado neste trabalho para áreas hipocampais.

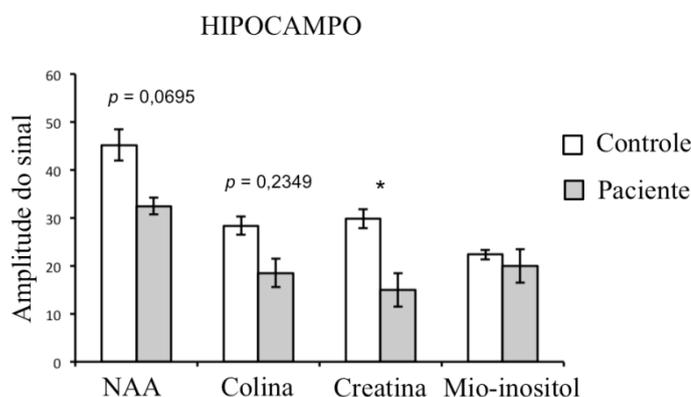


Figura 37. Medidas (média \pm intervalo de confiança de 95%) da amplitude do sinal espectroscópico de diferentes metabólitos encefálicos no hipocampo de paciente com transtorno neurocognitivo (n = 2 áreas de 1 paciente) e de indivíduos saudáveis de mesma faixa etária (n = 47 áreas de 47 sujeitos). *, p = 0,0237.

5.5.3 AVALIAÇÃO NEUROPSICOLÓGICA

Como mostrado anteriormente, a Figura 38 ilustra o resultado de medida neuropsicológica utilizando-se de alguns testes da bateria CANTAB. No extremo esquerdo da Figura 38, os testes realizados (PAL, SWM e RTI) estão identificados. Para cada teste são identificadas nas colunas seguintes quais medidas foram realizadas (Measure), valores de escore bruto (Raw score) e escore padrão (Standard score) resultantes do desempenho em cada teste, a forma gráfica do escore padrão (Standard score chart), comparações com dados normativos da própria CANTAB (Better than, Good as or better than, Population diagram), e o número total de sujeitos que compuseram os dados normativos (N). Além disso, a duração de todos os testes também é demonstrada. Vale notar que o paciente apresentou um desempenho satisfatório em apenas um dos 6 testes empregados.

Subject ID		dailson marinho noqueira			Gender		N/A				
Age		N/A			NART		N/A				
Session start time		01/11/2005 00:02:27			User name		Paceblade				
Test	Measure	Raw score	Standard score	Standard score chart	Better than	Good as or better than	Population diagram	Comparison basis			
								Age	NART	M/F	N
SWM <i>Mode clinical Test start time 01/11/2005 00:02:27 Test duration 9 min 6 s</i>											
	Between errors	68	-1,30		5-10%	10-15%		All	All	All	696
	Strategy	43	-1,52		0-5%	0-5%		All	All	All	683
RTI <i>Mode clinical Test start time 01/11/2005 00:11:46 Test duration 13 s</i>											
	Five-choice movement time ¹	N/A									
	Five-choice reaction time ¹	N/A									
RTI <i>Mode clinical Test start time 01/11/2005 00:12:04 Test duration 3 min 54 s</i>											
	Five-choice movement time	597,38	-0,96		10-15%	10-15%		All	All	All	248
	Five-choice reaction time	318,12	0,72		75-80%	75-80%		All	All	All	248
PAL <i>Mode clinical Test start time 01/11/2005 00:16:07 Test duration 14 min 13 s</i>											
	Total errors (adjusted) ²	72	-1,84		5-10%	5-10%		All	All	All	1252
	Total errors (6 shapes, adjusted) ²	13	-0,39		15-20%	15-20%		All	All	All	480

¹Test aborted.

²Subject failed - normative comparison may be invalidated.

Figura 38. Resultado obtido nas baterias de testes da CANTAB para o caso descrito.

Em relação ao teste de tempo de reação (RTI), a bateria CANTAB tem como limite normal de duração do teste até 300s (ou 5min). Escores padrão acima de zero são esperados normalmente quando sujeitos saudáveis realizam o teste. Na Figura 39, a linha vermelha pontilhada na vertical indica o tempo máximo que sujeitos saudáveis (esquerda e direita: n = 248) levam para realizar esses testes. A linha vermelha pontilhada na horizontal indica o limite do escore padrão para um total erros aceitável (escores positivos). Neste contexto, observa-se que o paciente com transtorno neurocognitivo obteve escore padrão abaixo de zero para o tempo de movimento em 5 chances (Figura 39, esquerda) e escore padrão acima de zero para o tempo de reação em 5 chances (Figura 39, direita), realizando o teste em menos de 300s.

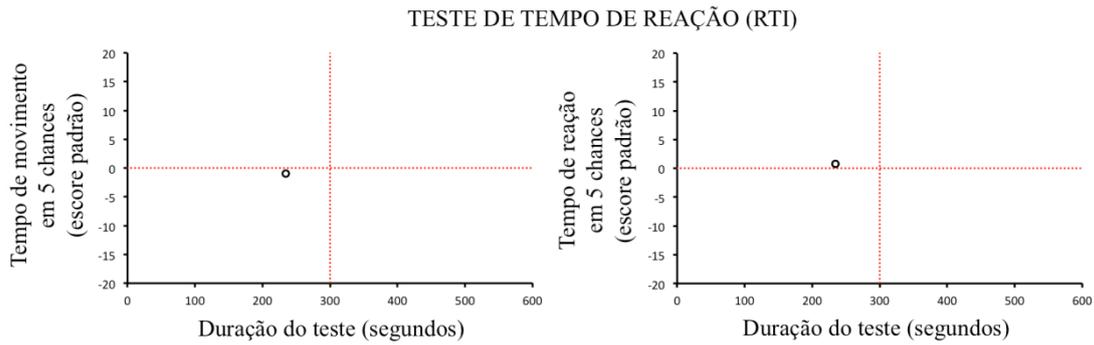


Figura 39. Medidas do tempo de movimento em 5 chances (esquerda) e do tempo de reação em 5 chances (direita) no teste RTI em função da duração do teste para o paciente com transtorno neurocognitivo.

Já em relação ao teste de memória de trabalho espacial (SWM), a bateria CANTAB tem como limite normal de duração do teste até 500s (~8min). Escores padrão acima de zero são esperados normalmente quando sujeitos saudáveis realizam o teste. Na Figura 40, a linha vermelha pontilhada na vertical indica o tempo máximo que sujeitos saudáveis (esquerda: 696; direita: n = 683) levam para realizar esses testes. A linha vermelha pontilhada na horizontal indica o limite do escore padrão para um total erros aceitável (escores positivos). Neste contexto, observa-se que o paciente com transtorno neurocognitivo obteve escore padrão abaixo de zero tanto para erros persistentes (Figura 40, esquerda), quanto para estratégia (Figura 40, direita), realizando o teste em mais de 500s.

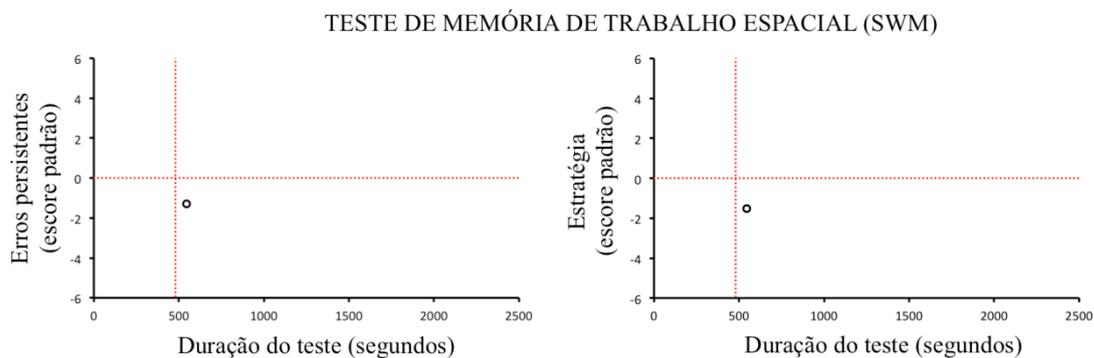


Figura 40. Medidas de erros persistentes (esquerda) e da estratégia (direita) no teste SWM em função da duração do teste para o paciente com transtorno neurocognitivo.

5.5.4 AVALIAÇÃO GERAL

Paciente com transtorno neurocognitivo associado a possível doença de Parkinson apresenta desvios metabólicos encefálicos e perda cognitiva, sem comprometimento da CFNR perimacular.

6 CONCLUSÕES

Baseado nos resultados deste trabalho, conclui-se que:

- pacientes diagnosticados com transtorno neurocognitivos não apresentam prejuízo na espessura da CFNR perimacular detectável pela OCT;
- pacientes diagnosticados com transtorno neurocognitivos apresentam prejuízo metabólico encefálico detectável por HMRS, o qual varia por região;
- pacientes diagnosticados com transtorno neurocognitivos apresentam perda cognitiva quantificável pela CANTAB;
- existe correlação dentro de um conjunto de variáveis derivadas das medidas de OCT e CANTAB;
- existe evidência de que variáveis derivadas de medidas espectroscópicas por ressonância magnética também podem fazer parte deste conjunto acima mencionado.

REFERÊNCIAS

- Abe K, Terakawa H, Takanashi M. (2000). **Proton magnetic resonance spectroscopy of patients with parkinsonism.** *Brain Res Bull.*, 52: 589-595.
- Albrecht P, Müller AK, Südmeyer M, Ferrea S, Ringelstein M. (2012). **Optical Coherence Tomography in Parkinsonian Syndromes.** *PLoS ONE* 7(4): e34891.
- Alger JR. (2010). **Quantitative Proton Magnetic Resonance Spectroscopy and Spectroscopic Imaging of the Brain: A Didactic Review.** *Topographic Magnetic Resonance Imaging*, 21(2): 115–128.
- Altintas O, Iseri AP, Özkan B, Caglar U. (2008). **Correlation between retinal morphological and functional findings and clinical severity in Parkinson's disease.** *Doc Ophthalmol*, 116:137–146.
- ANDRADE, Vivian Maria; DOS SANTOS, Flavia Heloísa; BUENO, Orlando F.A. **Neuropsicologia Hoje.** São Paulo: Artes Médicas, 2004, p.3-12, 13-36,349-370.
- Baroni M, Fortunato P, La Torre A. (2007). **Towards quantitative analysis of retinal features in optical coherence tomography.** *Medical Engineering Physics*, 29(4):432-41.
- Berisha F, Fekke GT, Trempe CL, McMeel JW, Schepens CL. (2007). **Retinal abnormalities in early Alzheimer's disease.** *Investigative Ophthalmology and Visual Sciences*, 48(5):2285-9.
- Boucalt FC, de Moura RT, Mitre J, Rehder JRCL. (2011). **Análise da relação entre espessura macular e espessura da camada de fibras nervosas.** *Revista Brasileira de Oftalmologia*, 70(1): 15-22.
- Brito A. (2006). **Estudo do Autismo através da imagem do tensor de difusão e da espectroscopia de prótons por ressonância magnética.**
- Bertholdo D, Watcharakorn A, Castillo M. (2009). **Brain Proton Magnetic Resonance Spectroscopy**
- Butler S & Tales A. (2006). **Visual mismatch negativity highlights abnormal preattentive visual processing in Alzheimer's disease.** *Neuroreport*, 17(9): 887-90.
- Campbell MC, Markham J, Flores H, Hartlein JM, Goate AM, Cairns NJ, Videen TO, Perlmutter JS. 2013. **Principal component analysis of PiB distribution in Parkinson and Alzheimer diseases.** *Neurology*, 81(6): 520-7.
- Chen K, Reiman EM, Alexander GE, Bandy D, Renaut R, Crum WR, et al. 2004. **An automated algorithm for the computation of brain volume change from sequential MRIs using an iterative principal component analysis and its evaluation for the assessment of whole-brain atrophy rates in patients with probable Alzheimer's disease.** *Neuroimage*, 22(1): 134-43.

Chi Y, Wang YH, Yang L. (2010). **The investigation of retinal nerve fiber loss in Alzheimer's disease.** *Zhonghua Yan Ke Za Zhi*, 46(2): 134-9.

Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders (DSM-IV). 4th ed. Washington, DC: American Psychiatric Association; 1994.

Dillmann U, Holzhoffer C, Johann Y, Bechtel S, Gräber S, Massing C, Spiegel J, Behnke S, Bürmann J, Louis AK. 2014. **Principal Component Analysis of gait in Parkinson's disease: relevance of gait velocity.** *Gait Posture*, 39(3): 882-7.

Dixon RM, Bradley KM, Budge MM, Styles P, Smith D. (2001). **Longitudinal quantitative proton magnetic resonance spectroscopy of the hippocampus in Alzheimer's disease.** *Arquivos de Neuropsiquiatria*, 59(4):865-870.

Drosta DJ, Clarke GD, Riddle WR. (2002). **Proton magnetic resonance spectroscopy in the brain:Report of AAPM.** *Med. Phys.* 29, 2177.

Ellis CM, Lemmens G, Williams SCR. (1997). **Changes in putamen N-acetylaspartate and choline ratios in untreated and levodopa-treated Parkinson's disease: a proton magnetic resonance spectroscopy study.** *Neurology*, 49: 438-444.

Engelhardt E, Moreira DM, Laks J, Marinho VM, Rozenhal M, Oliveira Jr AC. (2002). **Doença de Alzheimer e espectroscopia por ressonância magnética do hipocampo.** *Brain*, 125: 2332-2341.

Eylers VV, Maudsley AA, Bronzlik P, Dellani PR, Lanfermann H, Ding XQ. 2016. **Detection of Normal Aging Effects on Human Brain Metabolite Concentrations and Microstructure with Whole-Brain MR Spectroscopic Imaging and Quantitative MR Imaging.** *Am J Neuroradiol*, 37(3): 447-54.

Federico F, Simone IL, Lucivero V. (1997). **Proton magnetic resonance spectroscopy in Parkinson's disease and atypical parkinsonian disorders.** *Mov Disord*, 12: 903-909.

Fercher AF. (1996). **Optical coherence tomography.** *Journal of Biomedical Optics*, 1(2): 157-173.

Fita IG, Enciu AM, Stănoiu BP. (2011). **New insights on Alzheimer's disease diagnostic.** *Romaenia Journal of Morphological Embryology*, 52(3): 975-9.

Foy CML, Daly EM, Glover A, O’Gorman R, Simmons A, Murphy DGM, Lovestone S. (2011). **Hippocampal Proton MR Spectroscopy in Early Alzheimer’s Disease and Mild Cognitive Impairment.** *Brain Topography*, 24:316–322.

Fredericka BD, Lyoo IK, Satlinb A, Ahna KH, Kima MJ, Yurgelun-Todda DA, Cohena BM, Renshawa PF. (2004). **In vivo proton magnetic resonance spectroscopy of the temporal lobe in Alzheimer’s disease.** *Progress in Neuro-Psychopharmacology & Biological Psychiatry*, 28:1313-1322.

Frost S, Martins RN, Kanagasingam YJ. (2010). **Ocular biomarkers for early detection of Alzheimer's disease.** *Alzheimers Disease*, 22(1):1-16.

- Garcia-Martin ES, Rojas B, Ramirez AI, Hoz R, Salazar JJ, Yubero R, et al. (2014). **Macular Thickness as a Potential Biomarker of Mild Alzheimer's Disease.** *Ophthalmology*, 121(5): 1149–1151.
- Galetta KM, Calabresi PA, Frohman EM, Balcer LJ. (2011). **Optical Coherence Tomography (OCT): Imaging the Visual Pathway as a Model for Neurodegeneration.** *Neurotherapeutics*, 8(1): 117–132.
- Ghosh K, Agarwal P, Haggerty G. (2011). **Alzheimer's disease - not an exaggeration of healthy aging.** *Indian Journal of Psychology and Medicine*, 33(2):106-14.
- Greenberg BM & Frohman E. (2010). **Optical coherence tomography as a potential readout in clinical trials.** *Therapeutics Advance in Neurological Disorders*, 3(3):153-60.
- Griffith HR, den Hollander JA, Okonkwo OC, O'Brien T, Watts RL, Marson DC. (2008). **Brain metabolism differs in Alzheimer disease and Parkinson disease dementia.** *Alzheimers Dementia*, 4(6): 421–427.
- Guerra CT & Rodriguez JP. (2011). **Actualización sobre la enfermedad de Alzheimer.** *Revista Cubana de Medicina General i Integrada*, 18(4): 15-22.
- Guix JLM. (2011). **Role of biomarkers in the early diagnosis of Alzheimer's disease.** *Revista Espaniola de Geriatria y Gerontologia*, 46(1): 39-41.
- Haga KK, Khor YP, Farrall A, Wardlaw JM. 2009. **A systematic review of brain metabolite changes, measured with 1H magnetic resonance spectroscopy, in healthy aging.** *Neurobiol Aging*, 30(3): 353-63.
- Harada M. (2010). **New trend of MRI diagnosis based on the function and metabolismo in the central nervous system.** *Topographic Magnetic Resonance Imaging*, 21(2): 115–128.
- Harnois C, Di Paolo T. (1990). **Decreased Dopamine in the Retinas of Patients With Parkinson's Disease.** *Investigative Ophthalmology & Visual Science*, 31(11): 2473-2475.
- He Z & Peter B. Barker. (2011). **MR Spectroscopy and Spectroscopic Imaging of the Brain.** *Methods in Molecular Biology*, 711: 203–226.
- Hoening JM & Heisey DM. (2001). **The Abuse of Power.** *The American Statistician*, 55(1): 19-24.
- Holshouser BA, Komu M, Moller HE. (1995). **Localized proton NMR spectroscopy in the striatum of patients with idiopathic Parkinson's disease: a multicenter pilot study.** *Magn Reson Med*, 33: 589-594.
- Hu MTM, Taylor-Robinson SD, Chaudhuri KR. (1999). **Evidence for cortical dysfunction in clinically non-demented patients with Parkinson's disease: a proton MR spectroscopy study.** *J Neurol Neurosurg Psychiatry*, 67: 20-26.

Huang D, Swanson EA, Lin CP, Schuman JS, Stinson WG, Chang W, Hee MR, Flotte T, Gregory K, Puliafito CA, Fujimoto JG. (1991). **Optical coherence tomography**. *Science*, 254(5035): 1178-1181.

Imamura K. (2003). **Proton MR spectroscopy of the brain with a focus on chemical issues**. *Magnetic Resonance in Medical Sciences*, 2(3): 117-132.

Jindahra P, Hedges TR, Mendoza-Santiesteban CE, Plant GT. (2010). **Optical coherence tomography of the retina: applications in neurology**. *Current Opinion in Neurology*, 23(1):16-23.

Kantarci K, Jack Jr CR, Xu YC, Campeau NG, O'Brien PC, Smith GE, Ivnik RJ, Boeve BF, Kokmen E, Tangalos EG, Petersen RC. (2000). **Regional metabolic patterns in mild cognitive impairment and Alzheimer's disease a 1h mrs study**. *Neurology*, 55(2): 210–217

Kantarci K, Reynolds G, Petersen RC, Boeve BF, Knopman DS, Edland SD, Smith GE, Ivnik RJ, Tangalos EG, Jack Jr CR. (2003). **Spectroscopy in Mild Cognitive Impairment and Alzheimer Disease: Comparison of 1.5 and 3 T**. *American Journal of Neuroradiology*, 24:843–849.

Kelley K & Preacher KJ. (2012). **On Effect Size**. *Psychological Methods*, 17 (2): 137–152.

Kesler A, Vakhapova V, Korczyn AD, Naftaliev E, Neudorfer M. (2011). **Retinal thickness in patients with mild cognitive impairment and Alzheimer's disease**. *Clinical Neurology and Neurosurgery*, 113(7): 523-6.

Kirbas S, Turkyilmaz K, Tufekci A, Durmus M. (2013). **Retinal Nerve Fiber Layer Thickness in Parkinson Disease**. *J Neuro-Ophthalmol*, 33: 62-65.

Koikkalainen J, Polonen H, Mattila J, van Gils M, Soininen H, Lotjonen J, for the Alzheimer's Disease Neuroimaging Initiative. (2012). **Improved Classification of Alzheimer's Disease Data via Removal of Nuisance Variability**. *PLoS ONE* 7(2): e31112.

Leite C. (2001). **Espectroscopia de prótons por ressonância magnética**. *Radiologia Brasileira*, 34(1):5–6.

Lin A, Ross BD, Harris K, Wong W. (2005). **Efficacy of Proton Magnetic Resonance Spectroscopy in Neurological Diagnosis and Neurotherapeutic Decision Making**. *NeuroRx*, 2(2): 155-165.

Lu Y, Li Z, Zhang X, Ming B, Jia J, Wang R, Ma D. (2010). **Retinal nerve fiber layer structure abnormalities in early Alzheimer's disease: evidence in optical coherence tomography**. *Neuroscience Letters*, 480(1): 69-72.

McKhann G, Drachman D, Folstein M, Katzman R, Price D, Stadlan EM. (1984). **Clinical diagnosis of Alzheimer's disease: report of the NINCDS-ADRDA Work Group under the auspices of Department of Health and Human Services Task Force on Alzheimer's Disease**. *Neurology*, 34:939–944.

MENESES, Murilo S; TEIVE, Hélio A.G. **Doença de Parkinson**. 2.ed.- CIDADE?: Guanabara Koogan, 2003, p.1-8, 33-37, 108-109.

Molinuevo JL, Sánchez-Valle R, Lladó A, Fortea J, Bartrés-Faz D, Rami L. (2012). **Identifying earlier Alzheimer's disease: insights from the preclinical and prodromal phases**. *Neurodegenerative Diseases*, 10(1-4):158-60.

Neyman J & Pearson ES. (1933). **The testing of statistical hypotheses in relation to probabilities a priori**. *Mathematical Proceedings of the Cambridge Philosophical Society*, 29: 492–510.

Norfrav JF & Provenzale JM. (2004). **Doença de Alzheimer: Achados neuropatológicos e os recentes avanços em imagem**. *American Journal of Radiology*, 182(13-13): 133-135.

Pagani M, Salmaso D, Rodriguez G, Nardo D, Nobili F. 2009. **Principal component analysis in mild and moderate Alzheimer's disease--a novel approach to clinical diagnosis**. *Psychiatry Res*, 173(1): 8-14.

Parisi V, Restuccia R, Fattapposta F, Mina C, Bucci MG, Pierelli F. (2001). **Morphological and functional retinal impairment in Alzheimer's disease patients**. *Clinical Neurophysiology*, 112(10): 1860-7.

Parisi V. (2003). **Correlation between morphological and functional retinal impairment in patients affected by ocular hypertension, glaucoma, demyelinating optic neuritis and Alzheimer's disease**. *Seminars in Ophthalmology*, 18(2):50-7.

Paquet C, Boissonnot M, Roger F, Dighiero P, Gil R, Hugon J. (2007). **Abnormal retinal thickness in patients with mild cognitive impairment and Alzheimer's disease**. *Neurosciences Letter*, 420(2): 97-9.

Perez MVT. (2005). **Demencia en la enfermedad de Alzheimer: un enfoque integral**. *Revista Cubana de Medicina General y Integrada*, 21(3-4): 15-22.

Petersen RC. (2012). **New clinical criteria for the Alzheimer's disease spectrum**. *Minnesota Medicine*, 95(1):42-5.

Qiu KL & Zhang MZ. (2011). **The effect of image quality on retinal nerve fiber layer measurement in Stratus OCT**. *American Journal of Ophthalmology*, 151(2): 384-5.

Reiman EM, McKhann GM, Albert MS, Sperling RA, Petersen RC, Blacker D. (2011). **Clinical impact of updated diagnostic and research criteria for Alzheimer's disease**. *Journal of Clinical Psychiatry*, 72(12):e37.

Sammal DH & Cappai R. (2006). **Alois Alzheimer and Alzheimer's disease: a centennial perspective**. *Journal of Neurochemistry*, 99: 708-710.

Sarazin M, de Souza LC, Lehericy S, Dubois B. (2012). **Clinical and research diagnostic criteria for Alzheimer's disease**. *Neuroimaging Clinics of North America*, 22(1): 23-32.

Saunders DE, Howe FA, van den Boogaart A, Griffiths JR, Brown MM. 1999. **Ageing of the**

adult human brain: in vivo quantitation of metabolite content with proton magnetic resonance spectroscopy. *J Magn Reson Imaging*, 9(5): 711-6.

Shiino A, Watanabe T, Shirakashi Y, Kotani E, Yoshimura M, Morikawa S, Inubushi T, Akiguchi I. (2012). **The profile of hippocampal metabolites differs between Alzheimer's disease and subcortical ischemic vascular dementia, as measured by proton magnetic resonance spectroscopy.** *Journal of Cerebral Blood Flow & Metabolism*, 32: 805–815.

Tedeschi G, Litvan I, Bonavita S. (1997). **Proton magnetic resonance spectroscopic imaging in progressive supranuclear palsy, Parkinson's disease and corticobasal degeneration.** *Brain*, 120: 1541-1552.

Torigoe M. (2001). **Avaliação da camada de fibras nervosas da retina em pacientes com doença de Alzheimer, utilizando o método de polarímetro de varredura a laser.** Campinas: UNICAMP, 2001. Dissertação (Mestrado) – Centro de Ciências Médicas, Universidade de Campinas, São Paulo.

Urbanelli L, Magini A, Ciccarone V, Trivelli F, Polidoro M, Tancini B, Emiliani C. (2009). **Novas Perspectivas para o Diagnóstico de Alzheimer Disease.** *Recent Patents on CNS Drug Discovery*, 4: 160-181.

Viloria A. (2011). **Predementia Alzheimer's disease. Benefits of early diagnosis.** *Revista Espaniola de Geriatria y Gerontolya*, 46(1):47-54.

Watanabe T, Shiino A, Akiguchi I (2012). **Hippocampal metabolites and memory performances in patients with amnesic mild cognitive impairment and Alzheimer's disease.** *Neurobiology of Learning and Memory*, 97: 289-293.

Wu W & Small SA. (2006). **Imaging the earliest stages of Alzheimer's disease.** *Current Alzheimer Research*, 3(5):529-39.

Wu WE, Gass A, Glodzik L, Babb JS, Hirsch J, Sollberger M, Achtnichts L, Amann M, Monsch AU, Gonen O. 2012. **Whole brain N-acetylaspartate concentration is conserved throughout normal aging.** *Neurobiol Aging*, 33(10): 2440-7.

Yavas GR, Yilmaz O, Küsbeci T, Östürk T. (2007). **The effect of levodopa and dopamine agonists on optic nerve head in Parkinson disease.** *European Journal of Ophthalmology*, 17(5): 812-816.

Zijlmans JCM, de Koster Avan't Hof MA, Thijssen HOM, Horstink MWIM, Heerschap A. (1994). **Proton magnetic resonance spectroscopy in suspected vascular ischemic parkinsonism.** *Acta Neurol Scand*, 90: 405-411.

Zhonghua Y, Chi Y, Wang YH, Yang L. (2010). **The investigation of retinal nerve fiber loss in Alzheimer's disease.** *Ke Za Zhi*, 46(2):134-9.

ANEXOS

ANEXO 1: TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO



**UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARÁ
INSTITUTO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM NEUROCIÊNCIAS
E BIOLOGIA CELULAR**

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

PROJETO: “CORRELAÇÃO ENTRE MEDIDAS QUANTITATIVAS DE ESPESSURA RETINIANA, CONCENTRAÇÃO DE METABÓLITOS ENCEFÁLICOS E FUNÇÕES NEUROPSICOLÓGICAS DE PACIENTES COM TRANSTORNOS NEUROCOGNITIVOS”

Você está sendo convidado(a) a participar do projeto de pesquisa acima citado. O documento abaixo contém todas as informações necessárias sobre a pesquisa que estamos fazendo. Sua colaboração neste estudo será de muita importância para nós, mas se desistir a qualquer momento, isso não causará nenhum prejuízo a você.

O participante da pesquisa fica ciente:

I) Esta pesquisa que tem o objetivo de avaliar se existe alguma relação importante entre os resultados de exames de tomografia óptica e de ressonância magnética, relação esta que possa ajudar a melhorar o entendimento da doença de Alzheimer e suas complicações.. Com este objetivo, serão realizados exames que resultarão em imagens do fundo dos olhos, o que permitirá a avaliação do estado da retina, e exames que resultarão em medidas de substâncias químicas presentes no cérebro, o que permitirá a avaliação do estado cerebral. Os exames serão realizados no Laboratório de Bioestatística e Matemática Computacional do Núcleo de Medicina Tropical da Universidade Federal do Pará e na Clínica DIMAGEM-DIAGNÓSTICO POR IMAGEM, através do uso de um equipamento chamado Tomógrafo de Coerência Óptica, o qual revela imagens da retina de nossos olhos, CANTAB, o qual revela aspectos psicológicos, e através do uso de outro equipamento chamado Ressonância Magnética, o qual revela a quantidade de substâncias químicas em nosso cérebro. Neste projeto, participarão voluntariamente pessoas diagnosticadas com doença de Alzheimer e Parkinson.

II) O participante ou voluntário da pesquisa não é obrigado a responder as perguntas contidas no instrumento de coleta dos dados pesquisa;

III) A participação neste projeto não submeterá você a um tratamento, bem como não causará a você nenhum gasto com relação aos procedimentos efetuados com o estudo;

IV) O participante ou voluntário da pesquisa tem a liberdade de desistir ou de interromper a colaboração neste estudo no momento em que desejar, sem necessidade de qualquer explicação, sem penalização nenhuma e sem prejuízo a sua saúde ou bem estar físico;

V) O participante ou voluntário não receberá remuneração e nenhum tipo de recompensa nesta pesquisa, sendo sua participação voluntária;

VI) Benefícios: Os resultados desta pesquisa poderão ajudar a esclarecer melhor a relação entre os resultados dos exames de tomografia e de ressonância. Finalmente, o participante da pesquisa contribuirá para acrescentar à literatura dados referentes ao tema;

VII) Riscos: A metodologia de avaliação tomográfica (OCT) e neuropsicológica (CANTAB) a serem empregadas apresentam riscos mínimos aos participantes, principalmente por ser tratar de técnicas de avaliação não invasivas, onde os participantes apenas terão que observar por no máximo 2 minutos um feixe de luz focalizado em seus olhos através de um microscópio computadorizado, ou responder a comandos em uma tela de tablet. Normalmente, a ocorrência de desconforto visual passageiro não é relatada, mas não pode ser descartada. Do mesmo modo, a metodologia de avaliação por ressonância magnética (ERM) a ser empregada também apresenta riscos mínimos aos participantes, principalmente por ser tratar de técnica de avaliação não invasiva de simples realização. Os participantes apenas terão que deitar-se por alguns minutos na mesa do equipamento de ressonância magnética, a qual será deslocada para o interior da câmara do equipamento para a realização das medidas espectroscópicas. Será também informado aos participantes que a ocorrência de desconforto passageiro durante a permanência no interior da câmara de ressonância normalmente não é relatada, mas pode ocorrer e não deve ser descartada.

VIII) Como medida adotada para prevenir os riscos descritos acima, o pesquisador interromperá imediatamente os procedimentos caso o(a) participante relate quaisquer desconfortos durante a realização dos exames;

IX) Os dados obtidos durante a pesquisa serão mantidos em sigilo pelos pesquisadores, assegurando ao participante ou voluntário a privacidade quanto aos dados confidenciais envolvidos na pesquisa;

X) Os resultados poderão ser divulgados em publicações científicas mantendo sigilo dos dados pessoais;

XI) Durante a realização da pesquisa, serão obtidas as assinaturas dos participantes da pesquisa e do pesquisador, também, constarão em todas as páginas do TCLE as rubricas do pesquisador e do participante da pesquisa;

XII) Caso o participante da pesquisa desejar, poderá pessoalmente, ou por meio de telefone, entrar em contato com o pesquisador responsável para tomar conhecimento dos resultados parciais e finais desta pesquisa.

Eu, _____,
residente e domiciliado na _____,
portador da Cédula de identidade, RG _____, e inscrito no
CPF _____ nascido (a) em ____/____/____, abaixo assinado,
declaro que obtive todas as informações necessárias, bem como todos os eventuais

esclarecimentos quanto às dúvidas por mim apresentadas. Desta forma concordo de livre e espontânea vontade em participar como voluntário (a) do estudo acima descrito.

- () Desejo conhecer os resultados desta pesquisa.
- () Não desejo conhecer os resultados desta pesquisa.

Belém, _____ de _____ de _____

Assinatura do participante: _____

Testemunha 1: _____
(Nome / RG / Telefone)

Testemunha 2: _____
(Nome / RG / Telefone)

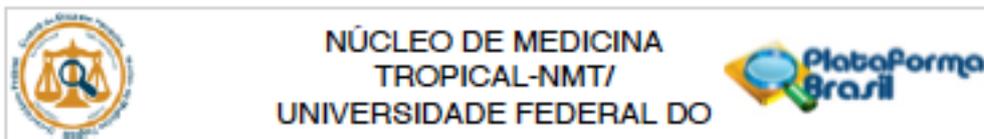
Nome do Responsável pela Pesquisa: Fábio da Silva Wan-Meyl

Assinatura do Pesquisador Responsável: _____

Contato do Pesquisador:

- **Telefones:** (91) 81178223 / (91) 30843066
- **E-mails:** fwanmeyl@hotmail.com /
- **Endereços profissionais:**
- **Hospital Porto Dias, Av. Almirante Barroso, 1454 – Marco - 66093-020 Belém, Pará, Brasil**

ANEXO 2: PARECER DE ACEITE DO PRESENTE PROJETO AO COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA COM SERES HUMANOS DO NÚCLEO DE MEDICINA TROPICAL DA UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARÁ



PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

DADOS DO PROJETO DE PESQUISA

Título da Pesquisa: DEMÊNCIA TIPO ALZHEIMER: CORRELAÇÃO ENTRE PARÂMETROS OBTIDOS POR TOMOGRAFIA DE COERÊNCIA ÓPTICA E ESPECTROSCOPIA POR RESSONÂNCIA MAGNÉTICA

Pesquisador: FABIO DA SILVA WAN-MEYL

Área Temática:

Versão: 6

CAAE: 18300713.4.0000.5172

Instituição Proponente: Núcleo de Medicina Tropical-NMT/ Universidade Federal do Pará - UFPA

Patrocinador Principal: Financiamento Próprio

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 995.558

Data da Relatoria: 25/03/2015

Apresentação do Projeto:

O projeto traz uma proposta de pesquisa com evidente importância clínica pois utilizará técnicas não invasivas de alta resolução e capazes de aperfeiçoar as técnicas convencionais disponíveis. Este projeto contextualiza-se pela necessidade de se investigar as possíveis relações existentes entre os resultados de diferentes abordagens, a fim de se evidenciar com mais clareza possíveis padrões nestas relações, os quais, se identificados e analisados, possam ser utilizados em um acompanhamento mais preciso e acurado da evolução do quadro do paciente com DA. Assim, este projeto propõe a investigação de possíveis relações entre os resultados de duas técnicas utilizadas na avaliação do estado de pacientes com DA: a tomografia de coerência óptica (OCT) da retina e a espectroscopia por ressonância magnética (ERM). Deste modo, os pesquisadores poderão testar a hipótese de que as perdas neuronais

Endereço: Av. Generalíssimo Deodoro, 92
Bairro: Umarizal CEP: 68.055-240
UF: PA Município: BELEM
Telefone: (91)3201-0951 E-mail: cepbel@ufpa.br



Continuação do Parecer: 995.558

retinianas medidas pela OCT são (ou não) acompanhadas pelas perdas neuronais em sítios neuronais hierarquicamente superiores, como no hipocampo, corpo estriado e giro do cíngulo.

Objetivo da Pesquisa:

Objetivo Primário

Avaliar se os parâmetros retinianos medidos através de tomografia de coerência óptica se correlacionam de modo significativo com os parâmetros metabólicos encefálicos medidos através de espectroscopia por ressonância magnética.

Objetivo Secundário:

Realizar medidas de área, volume, e espessura da camada de fibras nervosas da retina através da tomografia de coerência óptica (OCT) em pacientes diagnosticados com demência tipo Alzheimer e sujeitos sem a doença; Comparar estatisticamente os resultados das medidas de OCT obtidas em cada grupo (grupo Alzheimer e grupo Normal); Realizar medidas de concentração de metabólitos encefálicos (N-acetilaspártato [NAA], Creatina [Cr], Colina [Cho], Mio-Inositol [MI]) através de espectroscopia por ressonância magnética (ERM) em regiões específicas (giro do cíngulo, corpo estriado e hipocampo) em pacientes diagnosticados com demência tipo Alzheimer e sujeitos sem a doença; Comparar estatisticamente os resultados das medidas de ERM obtidas em cada grupo (grupo Alzheimer e grupo Normal); Correlacionar estatisticamente os resultados das medidas de OCT e das medidas de ERM obtidas em cada grupo (grupo Alzheimer e grupo Normal).

Avaliação dos Riscos e Benefícios:

Neste estudo, segundo o pesquisador os riscos e benefícios são:

- A metodologia de avaliação tomográfica (OCT) a ser empregada apresenta riscos mínimos aos participantes, principalmente por ser tratar de técnica de avaliação não invasiva de simples realização, onde os participantes apenas terão que observar por alguns minutos um feixe de luz focalizado em seus olhos através de um microscópio computadorizado. Será também informado aos participantes que a ocorrência de desconforto visual passageiro normalmente não é relatada, mas pode ocorrer e não deve ser descartada. Caso o desconforto visual seja relatado como não suportável, o participante será imediatamente liberado da

realização do exame tomográfico. A metodologia de avaliação espectroscópica por ressonância magnética (ERM) a ser empregada também apresenta riscos mínimos aos participantes, principalmente por ser tratar de técnica de avaliação não invasiva de simples realização. Os participantes apenas terão que deitar-se por alguns minutos na mesa do equipamento de ressonância magnética, a qual será deslocada para o interior

Endereço: Av. Generalíssimo Deodoro, 92

Bairro: Umarizal

CEP: 68.055-340

UF: PA

Município: BELEM

Telefone: (91)3201-0951

E-mail: cepbel@ufpa.br



Continuação do Parecer: 995.558

da câmara do equipamento para a realização das medidas espectroscópicas. Será também informado aos participantes que a ocorrência de desconforto passageiro durante a permanência no interior da câmara de ressonância normalmente não é relatada,

mas pode ocorrer e não deve ser descartada. Caso o desconforto seja relatado como não suportável, o participante será imediatamente liberado da realização do exame espectroscópico.

- Todos os participantes passarão por uma bateria de testes neuro-oftalmológicos, incluindo Teste de Acuidade Visual com Optótipos de Snellen, Tonometria de Aplanção de Goldmann, Biomicroscopia do Segmento Anterior, Autorefração, e Perimetria Automatizada, o que beneficiará os mesmos com uma avaliação detalhada de sua saúde visual e, caso necessário, encaminhamento para tratamento/acompanhamento de possíveis alterações encontradas. Além disso, os participantes estarão contribuindo para a adição de informação relevante e inédita na literatura especializada, o que permitirá um melhor entendimento da doença em estudo.

Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:

O projeto apresenta de forma clara e fundamentada a importância do estudo proposto

Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:

Todos foram apresentados.

Recomendações:

Sem recomendações.

Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:

Sem pendências.

Situação do Parecer:

Aprovado

Necessita Apreciação da CONEP:

Não

Considerações Finais a critério do CEP:

Endereço: Av. Generalíssimo Deodoro, 92

Bairro: Umarizal

CEP: 68.055-240

UF: PA

Município: BELEM

Telefone: (91)3201-0951

E-mail: cepbel@ufpa.br



NÚCLEO DE MEDICINA
TROPICAL-NMT/
UNIVERSIDADE FEDERAL DO



Continuação do Parecer: 995.558

BELEM, 23 de Março de 2015

Assinado por:
Hellen Thais Fuzil
(Coordenador)

Endereço: Av. Generalíssimo Deodoro, 92
Bairro: Umarizal
UF: PA Município: BELEM

CEP: 68.055-240

Telefone: (91)3201-0951

E-mail: cepbel@ufpa.br

ANEXO 3: PARECER DE ACEITE DO PRESENTE PROJETO AO COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA COM SERES HUMANOS DO NÚCLEO DE MEDICINA TROPICAL DA UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARÁ (EMENTA)



UFPA - NÚCLEO DE MEDICINA
TROPICAL-NMT



PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

DADOS DA EMENDA

Título da Pesquisa: CORRELAÇÃO ENTRE MEDIDAS QUANTITATIVAS DE ESPESSURA RETINIANA, CONCENTRAÇÃO DE METABÓLITOS ENCEFÁLICOS E FUNÇÕES NEUROPSICOLÓGICAS DE PACIENTES COM TRANSTORNOS

Pesquisador: FABIO DA SILVA WAN-MEYL

Área Temática:

Versão: 7

CAAE: 18300713.4.0000.5172

Instituição Proponente: Núcleo de Medicina Tropical-NMT/ Universidade Federal do Pará - UFPA

Patrocinador Principal: Financiamento Próprio

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 2.157.339

Apresentação do Projeto:

Atualmente, com o aumento na expectativa de vida das populações humanas, as doenças neurodegenerativas, de comum ocorrência com o avançar da idade, tornaram-se fonte de sérias preocupações. Deste modo, tem sido fomentado em todo o mundo a investigação de novos meios de diagnóstico precoce de transtornos cognitivos associados a doenças como a de Alzheimer e de Parkinson, assim como a melhoria do entendimento dos métodos de diagnóstico clínico neurológico atualmente disponíveis. Neste sentido, este projeto propõe investigar a existência de possíveis correlações entre os resultados de exames utilizados na investigação clínica neurológica de pacientes diagnosticados com transtorno cognitivo associado a essas importantes doenças neurodegenerativas (doenças de Alzheimer e Parkinson).

Objetivo da Pesquisa:

Objetivo Primário:

Investigar a existência de correlações entre medidas retinianas, de metabólitos encefálicos e de funções cognitivas de pacientes diagnosticados com transtornos cognitivos associados às doenças de Alzheimer e Parkinson.

Objetivo Secundário:

- Realizar medidas de espessura da camada de fibras nervosas da retina perimacular através da

Endereço: Av. Generalíssimo Deodoro, 62

Bairro: Umarizal

CEP: 68.065-240

UF: PA

Município: BELEM

Telefone: (91)3201-0951

E-mail: cepbel@ufpa.br



Continuação do Parecer: 2.157.939

tomografia de coerência óptica (OCT);- Realizar medidas de concentração de metabólitos encefálicos através da espectroscopia de prótons em ressonância magnética;- Realizar medidas neuropsicológicas de funções cognitivas através da bateria de testes CANTAB;- Analisar estatisticamente os resultados dessas medidas, buscando evidenciar correlações entre elas.

Avaliação dos Riscos e Benefícios:

Os riscos e benefícios para o paciente foram descritos assim como foram detalhados os critérios de inclusão e exclusão. Na presente emenda é solicitada a inclusão de um novo grupo de pacientes (com doença de Parkinson) e em todos os pacientes participantes do estudo será realizado um testes neuropsicológicos computadorizado chamado CANTAB.

Os riscos, benefícios, critérios de inclusão e exclusão transcritos à continuação.

Riscos:

As metodologias de avaliação tomográfica (OCT) e a metodologia de avaliação neuropsicológica (CANTAB) a serem empregadas, ambas apresentam riscos mínimos aos participantes, principalmente por ser tratar de técnicas de avaliação não invasivas e de simples realização. Na avaliação tomográfica, os participantes apenas terão que observar por alguns minutos um feixe de luz focalizado em seus olhos através de um microscópio computadorizado. Por outro lado, na avaliação neuropsicológica, os participantes apenas terão que operar um controlador manual para responder a demandas visuais apresentadas na tela de um tablet, mimetizando um jogo eletrônico. Será também informado aos participantes que a ocorrência de desconforto visual passageiro normalmente não é relatada, mas pode ocorrer em ambas as avaliações, e não deve ser descartada. Caso o desconforto visual seja relatado como não suportável, o participante será imediatamente liberado da realização do exame tomográfico. Do mesmo modo, a metodologia de avaliação espectroscópica (EPRM) a ser empregada, apresenta riscos mínimos aos participantes, principalmente por ser tratar de técnica de avaliação não invasiva e de simples realização. Os participantes apenas terão que deitar-se por alguns minutos na mesa do equipamento de Ressonância Magnética, a qual será deslocada para o interior da câmara do equipamento para a realização das medidas espectroscópicas. Será também informado aos participantes que a ocorrência de desconforto passageiro durante a permanência no interior da câmara de ressonância normalmente não é relatada, mas pode ocorrer e não deve ser descartada. Caso o desconforto seja relatado como não suportável, o participante será imediatamente liberado da realização do exame espectroscópico.

Benefícios:

Todos os participantes, ao realizarem os testes neuro-oftalmológico (OCT), neurológico (EPRM), e

Endereço: Av. Generalíssimo Deodoro, 92
Bairro: Umarizal
UF: PA Município: BELEM

CEP: 66.055-240

E-mail: cepbel@ufpa.br



Continuação do Parecer: 2.157.399

neuropsicológico (CANTAB), serão beneficiados, pois receberão uma avaliação detalhada de sua saúde visual, neurológica e cognitiva, e, caso necessário, encaminhamento para tratamento/acompanhamento de possíveis alterações encontradas. Além disso, os participantes estarão contribuindo para a adição de informação relevante e inédita na literatura especializada, o que permitirá um melhor entendimento da doença em estudo.

Critério de Inclusão:

Serão usados como critérios de inclusão a ausência de condições que possam interferir com os objetivos desta investigação (distúrbios neurológicos prévios, retinopatias, diabetes, hipertensão, exposição a metais pesados e solventes orgânicos, tratamento prévio com cloroquina, alcoolismo, etc.).

Critério de Exclusão:

Serão usados como critérios de exclusão a presença de condições que possam interferir com os objetivos desta investigação (distúrbios neurológicos prévios, retinopatias, diabetes, hipertensão, exposição a metais pesados e solventes orgânicos, tratamento prévio com cloroquina, alcoolismo, etc.).

Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:

Na presente emenda é solicitada a inclusão de um novo grupo de pacientes (com doença de Parkinson) e em todos os pacientes participantes do estudo será realizado um teste neuropsicológico computadorizado chamado CANTAB.

Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:

Obrigatórios

Folha de rosto anexada com as correspondentes assinaturas e carimbos.

Carta de anuência da clínica Dimagem onde será realizado o exame de imagem da retina

Aprovação deste próprio CEP no ano de 2015 para realização do estudo (CAAE: 18300713.4.0000.5172).

Novo TCLE anexado redigido em forma clara para os pacientes com a inclusão agora de pacientes com doença de Parkinson e realização do novo teste neuropsicológico computadorizado CANTAB.

Cronograma adequado.

Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:

O Projeto não apresenta pendências nem inadequações. O relator recomenda a aprovação do

Endereço: Av. Generalíssimo Deodoro, 92

Bairro: Umarizal

CEP: 66.055-240

UF: PA

Município: BELEM

Telefone: (91)3201-0961

E-mail: cepbel@ufpa.br



Continuação do Parecer: 2.157.209

Projeto.

Considerações Finais a critério do CEP:

O CEP acata o parecer do relator. O Colegiado aprova a emenda do Projeto.

Este parecer foi elaborado baseado nos documentos abaixo relacionados:

Tipo Documento	Arquivo	Postagem	Autor	Situação
Informações Básicas do Projeto	PB_INFORMAÇÕES_BÁSICAS_678426_E1.pdf	17/05/2017 16:30:13		Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	TCLE.docx	17/05/2017 16:22:30	Claudio Eduardo Corrêa Teixeira	Aceito
Folha de Rosto	Folhaderosto.pdf	17/05/2017 16:21:45	Claudio Eduardo Corrêa Teixeira	Aceito
Projeto Detalhado / Brochura Investigador	Projeto.docx	11/02/2017 18:58:34	Claudio Eduardo Corrêa Teixeira	Aceito
Declaração de Instituição e Infraestrutura	DIMAGEM.pdf	11/02/2017 18:46:43	Claudio Eduardo Corrêa Teixeira	Aceito

Situação do Parecer:

Aprovado

Necessita Apreciação da CONEP:

Não

BELEM, 05 de Julho de 2017

Assinado por:
FABIOLA ELIZABETH VILLANOVA
(Coordenador)

Endereço: Av. Generalíssimo Deodoro, 62
Bairro: Umarizal
UF: PA Município: BELEM

CEP: 68.055-240

Telefone: (91)3201-0981

E-mail: cepbel@ufpa.br

ANEXO 4: TERMO DE ACORDO DE COLABORAÇÃO.



DECLARAÇÃO

Declaramos para os devidos fins que estamos de acordo com a realização das medidas espectroscópicas previstas na metodologia do projeto de pesquisa intitulado "DEMÊNCIA TIPO ALZHEIMER: CORRELAÇÃO ENTRE PARÂMETROS OBTIDOS POR TOMOGRAFIA DE COERÊNCIA ÓPTICA E ESPECTROSCOPIA POR RESSONÂNCIA MAGNÉTICA", sob a coordenação do Prof. Dr. Claudio Eduardo Corrêa Teixeira. As medidas espectroscópicas serão realizadas em nosso equipamento de Ressonância Magnética pela Biomédica Raimunda Cláudia Martins Balbi, especialista em Tomografia Computadorizada e Ressonância Magnética. Os protocolos a serem aplicados nas avaliações espectroscópicas serão desenhados e supervisionados durante sua aplicação pelo Prof. Esp. Fábio da Silva Wan-Meyl.

Belém, 09 de Outubro de 2013.

A handwritten signature in black ink, appearing to read "Diego Souza Moura", is written over a horizontal line.

DIEGO SOUZA MOURA-CRM:10743
DIRETOR -DIMAGEM

Diagnóstico por Imagens Ltda
CNPJ: 04.886.398/0001-41

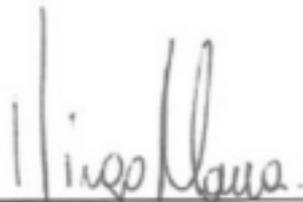
ANEXO 5: TERMO DE ACORDO DE COLABORAÇÃO (EMENTA).



DECLARAÇÃO

Declaramos para os devidos fins que estamos de acordo com a realização das medidas espectroscópicas previstas na metodologia do projeto de pesquisa intitulado "CORRELAÇÃO ENTRE MEDIDAS QUANTITATIVAS DE ESPESSURA RETINIANA, CONCENTRAÇÃO DE METABÓLITOS ENCEFÁLICOS E FUNÇÕES NEUROPSICOLÓGICAS DE PACIENTES COM TRANSTORNOS NEUROCOGNITIVOS", sob a coordenação do Prof. Dr. Claudio Eduardo Corrêa Teixeira. As medidas espectroscópicas serão realizadas em nosso equipamento de Ressonância Magnética pela Biomedica Raimunda Cláudia Martins Balbi, especialista em Tomografia Computadorizada e Ressonância Magnética. Os protocolos a serem aplicados nas avaliações espectroscópicas serão desenhados e supervisionados durante sua aplicação pelo Prof. Esp. Fabio da Silva Wan-Meyl.

Belém, 14 de Fevereiro de 2017.



DIEGO SOUZA MOURA-CRM:10743
DIRETOR -DIMAGEM

Diagnóstico por Imagens Ltda
CNPJ: 04.886.398/0001-41