



**UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARÁ  
NÚCLEO DE MEDICINA TROPICAL  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO  
EM DOENÇAS TROPICAIS**

**ALINE CORREA DE CARVALHO**

**AVALIAÇÃO DA RAZÃO SINAL RUÍDO EM  
ELETORRETINOGRRAFIA MULTIFOCAL: DESCRIÇÃO DO  
MÉTODO E APLICAÇÃO EM TOXOPLASMOSE OCULAR**

**BELÉM  
2009**

**ALINE CORREA DE CARVALHO**

**AVALIAÇÃO DA RAZÃO SINAL RUÍDO EM  
ELETORRETINOGRRAFIA MULTIFOCAL: DESCRIÇÃO DO  
MÉTODO E APLICAÇÃO EM TOXOPLASMOSE OCULAR**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Doenças Tropicais do Núcleo de Medicina Tropical, da Universidade Federal do Pará como requisito parcial para obtenção do título de Mestre em Doenças Tropicais.

Orientador: Prof. Dr. Luiz Carlos de Lima Silveira.

Co-orientador: Dr. Givago da Silva Souza.

**BELÉM  
2009**

**ALINE CORREA DE CARVALHO**

**AVALIAÇÃO DA RAZÃO SINAL RUÍDO EM  
ELETORRETINOGRRAFIA MULTIFOCAL: DESCRIÇÃO DO  
MÉTODO E APLICAÇÃO EM TOXOPLASMOSE OCULAR**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Doenças Tropicais do Núcleo de Medicina Tropical da Universidade Federal do Pará como requisito parcial para obtenção do título de mestre em Doenças Tropicais, para a comissão formada pelos seguintes professores:

- Orientador: **Prof. Dr. Luiz Carlos de Lima Silveira.**  
Instituto de Ciências Biológicas, UFPA.  
Núcleo de Medicina Tropical, UFPA.
- Co-orientador: **Dr. Givago da Silva Souza.**  
Núcleo de Medicina Tropical, UFPA.
- Examinadores: **Dr. Anderson Raiol Rodrigues.**  
Núcleo de Medicina Tropical, UFPA.  
**Prof. Dr. Antônio José de Oliveira Castro.**  
Departamento de Nutrição, UFPA.  
**Prof. Dr. Fernando Allan Faria Rocha.**  
Departamento de Fisiologia, ICB, UFPA.
- Suplente: **Prof. Dr. Bruno Duarte Gomes.**  
Departamento de Biofísica, UFPA.

**BELÉM**

**2009**

Carvalho, Aline Correa de

AVALIAÇÃO DA RAZÃO SINAL RUÍDO EM  
ELETORRETINOGRRAFIA MULTIFOCAL: DESCRIÇÃO DO MÉTODO E  
APLICAÇÃO EM TOXOPLASMOSE OCULAR. Belém, Pará, UFPA/NMT, 2009.  
xvii, 150 f.

Dissertação: Mestre em Doenças Tropicais.

1. Eletrorretinografia multifocal. 2. Avaliação da razão sinal-ruído (SNR). 3. Análise da densidade de resposta. 4. Análise dos componentes principais. 5. Retina. 6. Toxoplasmose ocular. I. Núcleo de Medicina Tropical / Universidade Federal do Pará. II. Título.

“Já perdoei erros quase imperdoáveis, tentei substituir pessoas insubstituíveis e esquecer pessoas inesquecíveis. Já fiz coisas por impulso, já me decepcionei com pessoas quando nunca pensei me decepcionar, mas também decepcionei alguém. Já abracei para proteger, já dei risada quando não podia e também quando não queria, fiz amigos eternos, amei e fui amado, mas também fui rejeitado, fui amado e não amei. Já gritei e pulei de tanta felicidade, já vivi de AMOR e quebrei a cara uma vez! Já CHOREI ouvindo música e vendo fotos, já liguei só para ouvir a voz, me apaixonei por um sorriso, já pensei que fosse morrer de tanta saudade, tive medo de perder alguém especial (e acabei perdendo)! Mas vivi! Viva! Não passo pela vida... você também não deveria passar! Bom mesmo é ir à luta com determinação, abraçar a vida e viver com paixão, perder com classe e vencer com ousadia, porque o mundo pertence a quem se atreve e a vida é muito para ser insignificante.”

(Charles Chaplin)

## DEDICATÓRIA

À minha mãe Ivonete, um exemplo de força e caráter, por seu amor e apoio incondicional;

Ao meu irmão Arthur, por amenizar os momentos tensos através de sua conversa descontraída, e meu sobrinho Gabriel por aqueles abraços gostosos que me dava depois de correr em minha direção aos berros;

Ao Benício, pelos inesquecíveis bons momentos;

À minha avó Carmem, minha madrinha Ivone e minha família pela torcida e energias positivas.

## AGRADECIMENTO

Em especial ao Prof. Dr. Luiz Carlos de Lima Silveira, por acreditar em mim e ter me dado a oportunidade de desenvolver este trabalho;

Ao Dr. Givago da Silva Souza, por ter me ajudado a tentar entender esse universo complicado que é a eletrofisiologia;

Ao Dr. Bruno Duarte Gomes pelos conselhos dados no desenvolvimento deste trabalho;

Aos colegas do laboratório de Psicofísica do Núcleo de Medicina Tropical: Eliza Lacerda (e Heitor, que de vez enquanto me deixava um pedaço de bolo), Mônica Gomes, Dr. Antônio Castro, Iza Tacolini, Dr. Anderson Raiol e Luana Athaide.

À minha amiga Juçara, simplesmente por me escutar e me fazer ouvir.

As pessoas que contribuíram de forma direta e indireta para a realização deste trabalho;

Ao Programa de Pós-Graduação em Doenças Tropicais;

À Universidade Federal do Pará.

Agradeço principalmente à:

DEUS infinitivamente bom, que o teu nome seja bendito pelos benefícios que me hás concedido. Bons Espíritos, que fostes os executores das vontades de DEUS, agradeço-vos e especialmente ao meu anjo guardião. (Cap. XXVIII, 29. O Evangelho Segundo Espiritismo).

## RESUMO

Este trabalho objetivou desenvolver uma análise quantitativa que permita, em sujeitos saudáveis e pacientes com perda visual, separar registros com sinal correlacionado com a estimulação visual, dos registros que contenham ruído. Foi usado o sistema VERIS Science v6.0.5d para extrair o *kernel* de primeira ordem dos registros, e posterior exportação dos dados para análise no MATLAB. Neste ambiente de programação foi realizada a análise dos componentes principais (PCA), que é usada para reduzir a dimensionalidade dos dados conservando sua variação e minimizando a influência do ruído; e a avaliação da razão sinal ruído (SNR) das respostas multifocais (mfERG) usando a distribuição cumulativa SNR realizadas em dois intervalos de tempo, um compreendendo apenas o sinal e outro apenas o ruído, para classificação das respostas em válidas, diminuídas ou ausentes. No grupo dos sujeitos saudáveis, não houve sobreposição de curvas na distribuição cumulativa da SNR do sinal e do ruído, que ocuparam diferentes valores em todos os sujeitos. Com o critério de 1% para falsos positivos e falsos negativos foi possível definir as bordas da SNR do sinal, das respostas diminuídas e do ruído. Este mesmo protocolo foi aplicado a três (3) pacientes com perda visual decorrente da toxoplasmose ocular. Nestes casos, houve sobreposição das curvas da distribuição cumulativa da SNR do sinal e ruído. O limite de confiança da distância entre os limites da SNR do sinal e do ruído obtidos do grupo de sujeitos saudáveis, foi usado para separar respostas válidas, respostas diminuídas e ausência de resposta. Os resultados da avaliação da SNR foram usadas para mostrar os registros do mfERG em gráficos topográficos que discriminam as respostas válidas (sinal), respostas diminuídas e ausência de resposta (ruído). O uso desta ferramenta nos permitiu identificar danos na topografia retiniana, como também a localização da cabeça do nervo óptico, e mais facilmente discriminado, artefatos como o pico central errôneo que podem ser rejeitados, além de áreas retinianas com diminuição funcional no caso dos pacientes. Conclui-se então que a combinação da PCA para

reconstruir registros mfERG com a avaliação da SNR são ferramentas úteis para analisar a topografia retiniana de sujeitos saudáveis e acometido por doenças, como por exemplo, a toxoplasmose com complicações oculares.

**Palavras chaves:** Eletrorretinografia multifocal, Avaliação da razão sinal-ruído (SNR), Análise da densidade de resposta, Análise dos componentes principais, Retina, Toxoplasmose ocular.

## ABSTRACT

The purpose of this work was to develop a quantitative analysis that allows, in healthful and patient with visual loss, to separate registers with signal correlated with the visual stimulation, of the registers that contain noise. System VERIS Science v6.0.5d was used to extract kernel first-class of the registers, and posterior exportation of the data for analysis in the MATLAB. In this environment of programming was carried the analysis of the main components (PCA), that is used to reduce the dimensionalidad of the data conserving its variation and minimizing the influence of the noise; the signal-to-noise analysis (SNR) of the multifocal responses (mfERG) using cumulative distribution SNR carried through in two intervals of time, one understanding only the signal and another one only the noise, for classification of the valid, diminished or absent responses. We have found that in a group healthy subjects, the noise and signal SNR cumulative distributions have not overlapped and occupy distinct ranges of SNR values in all subjects. By using a 1% criterion for false positives and false negatives, it was possible to define the borders of noise, low response, and signal SNR ranges. We have also applied this protocol to a three subject with visual loss due to ocular toxoplasmosis scares. In this case, there was a degree of overlapping between the noise and signal SNR distributions. It was still possible to separate the noise, low response, and signal SNR range by using the confidence limits for the distance between noise and signal boundaries obtained from the group of healthy subjects. The results of SNR evaluation were then used to display the mfERG waveforms in topographical plots that discriminate between reliable responses (signal), low responses, and no responses (noise). Using this approach, features of retinal topography, such as the optic nerve head, are more easily discriminate, whilst artifacts such as an erroneous central peak, are more easily rejected. The combinations of PCA to reconstruct mfERG waveforms with SNR evaluation are useful tools to analyze retinal topography both in healthy and impaired conditions.

<b>SUMÁRIO</b>	
<b>RESUMO</b>	<b>viii</b>
<b>ABSTRACT</b>	<b>x</b>
<b>LISTA DE FIGURAS</b>	<b>xiv</b>
<b>1. INTRODUÇÃO</b>	<b>1</b>
1.1. BIOLOGIA DO <i>TOXOPLASMA GONDII</i>	1
1.1.1. <b>Taxonomia</b>	1
1.1.2. <b>Histórico</b>	1
1.1.3. <b>Morfologia</b>	2
1.1.4. <b>Ciclo biológico</b>	5
1.1.4.1 Fase assexuada	5
1.1.4.2 Fase sexuada	7
1.2. TOXOPLASMOSE	9
1.2.1. <b>Quadro clínico</b>	<b>10</b>
1.2.1.1 Toxoplasmose ocular	13
1.2.2. <b>Epidemiologia</b>	<b>17</b>
1.3. MORFOLOGIA E FISIOLOGIA BÁSICAS DO OLHO E RETINA	18
3.1. <b>Estrutura da retina</b>	<b>20</b>

1.4.	ELETORRETINOGRRAFIA	29
1.4.1.	<b>Tecnologia básica do mfERG</b>	<b>32</b>
1.4.2.	<b>Doenças que afetam a retina e a relação com mfERG</b>	<b>37</b>
1.4.3.	<b>Eletrorrelinograma multifocal como método avaliativo e objetivo das alterações funcionais da retina</b>	<b>37</b>
2.	<b>OBJETIVOS</b>	<b>39</b>
2.1.	GERAL	39
2.2.	ESPECÍFICOS	39
3.	<b>MATERIAIS E MÉTODOS</b>	<b>40</b>
3.1	SUJEITOS	40
3.2.	ELETORRETINOGRRAFIA MULTIFOCAL (mfERG)	41
3.2.1.	<b>Estimulação visual</b>	<b>41</b>
3.2.2.	<b>Registro</b>	<b>42</b>
3.2.3.	<b>Análise dos componentes principais</b>	<b>43</b>
3.2.4.	<b>Análise dos dados</b>	<b>44</b>
3.2.5.	<b>Aplicação do protocolo de avaliação dos mfERG em uma simulação de perda visual total</b>	<b>47</b>
4.	<b>RESULTADOS</b>	<b>47</b>
4.1.	REGISTROS mfERG	47

4.2.	AVALIAÇÃO DA RAZÃO SINAL-RUÍDO (SNR)	49
4.3.	DENSIDADE DE RESPOSTA E TEMPO IMPLÍCITO P1	50
4.4.	APLICAÇÃO DA AVALIAÇÃO SNR EM CASOS DE PERDA VISUAL	52
4.5.	APLICAÇÃO DO PROTOCOLO DE AVALIAÇÃO DAS RESPOSTAS MULTIFOCALIS EM SIMULAÇÃO DE PERDA VISUAL	56
<b>5.</b>	<b>DISCUSSÃO</b>	<b>59</b>
5.1.	MÉTODO OBJETIVO PARA AVALIAR A CONFIABILIDADE DOS REGISTROS mfERG	59
5.2.	LIMINAÇÃO DO PICO CENTRAL ERRÔNEO E IDENTIFICAÇÃO PONTO CEGO	61
5.3.	APLICAÇÃO CLÍNICA DO mfERG	62
<b>6.</b>	<b>CONCLUSÕES</b>	<b>63</b>
<b>7.</b>	<b>REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS</b>	<b>64</b>
	<b>ANEXO I</b>	<b>73</b>
	<b>APÊNDICE 1</b>	<b>74</b>
	<b>APÊNDICE 2</b>	<b>80</b>
	<b>APÊNDICE 3</b>	<b>81</b>
	<b>APÊNDICE 4</b>	<b>82</b>
	<b>APÊNDICE 5</b>	<b>123</b>

## LISTA DE FIGURAS

<b>Figura 1</b>	Formas evolutivas infectantes do protozoário <i>Toxoplasma gondii</i> . (A) Taquizoíto; (B) Bradizoíto; (C) Cortes ultrafinos de cisto tecidual de <i>T. gondii</i> contendo aproximadamente 110 bradizoítos (D-F) Oocistos de <i>T. gondii</i> formas eliminadas nas fezes de felinos. (D) Oocistos não esporulados. (E) Oocisto esporulado mostrando quatro esporozoítos no interior do esporocisto (setas). (F) Microscopia eletrônica mostrando esporulação do oocisto.	4
<b>Figura 2</b>	Ciclo de vida do protozoário <i>Toxoplasma gondii</i> .	9
<b>Figura 3</b>	(A) Morfologia normal da retina de hamster observada através de microscopia de luz. (B) Morfologia da retina de hamster infectado pelo <i>T. gondii</i> . HE. Visualização x 85 (A) e x 110 (B)	16
<b>Figura 4</b>	Vista dorsal de secção transversal do globo ocular direito humano.	19
<b>Figura 5</b>	Principais tipos celulares existentes na retina de mamíferos.	20
<b>Figura 6</b>	Camadas da retina e seus principais tipos celulares.	22
<b>Figura 7</b>	Distribuição dos fotorreceptores na retina. Os cones apresentam maior densidade na retina central (fóvea) enquanto os bastonetes apresentam maior densidade em excentricidades de aproximadamente 20° desde a fóvea. Na cabeça do nervo óptico (CNO) não há fotorreceptores	24
<b>Figura 8</b>	Representação esquemática das correntes extracelulares registradas durante o ERG. A alteração do potencial elétrico na retina é conduzida até a córnea através dos meios dióptricos.	31
<b>Figura 9</b>	Estímulos geradores de ERG. (A) Estimulador Ganzfeld ou de campo total para gerar o ERG de campo total. (B) Estímulo utilizado para gerar o ERG de padrões. (C) Arranjo de hexágonos utilizado para gerar o mfERG.	32

<b>Figura 10</b>	Extração dos <i>kernels</i> . Para o <i>kernel</i> de primeira ordem a sequência derivada da sequência- <i>m</i> recebe valores +1 e -1 no primeiro valor de um bp caso o bp apresente luminância do hexágono máxima e mínima, respectivamente	35
<b>Figura 11</b>	Onda bifásica do <i>kernel</i> de primeira ordem resultante do mfERG.	36
<b>Figura 12</b>	(A) Arranjo de hexágonos utilizados como estímulo para obter os 103 mfERGs. (B-C) Projeções do estímulo sobre a retina direita e esquerda, respectivamente. As áreas em destaque (em tons de cinza) indicam os hexágonos que se projetam sobre a provável localização do disco óptico.	42
<b>Figura 13</b>	Os registros originais (A) foram processados por uma análise de componentes principais através de decomposição em valores singulares. Os registros foram reconstruídos com os dois primeiros componentes principais. (B) Gráfico de Pareto indicando a contribuição de cada componente principal sobre a variância total dos dados de registro	44
<b>Figura 14</b>	Distribuição cumulativa da SNR dos mfERGs. (A-C) Histogramas de frequência e distribuição cumulativa da SNR dos registros contínuos e (B-D) dos registros reconstruídos.	46
<b>Figura 15</b>	<i>Kernel</i> de primeira ordem de dois sujeitos saudáveis (linhas superior e inferior) obtidos com os dados originais (coluna A) e com os dados reconstruídos com os dois primeiros componentes principais (coluna B).	48
<b>Figura 16</b>	Gráficos de densidade de resposta de dois sujeitos saudáveis (linhas superior e inferior). (A-D) Gráficos gerados pelos dados originais sem avaliação da SNR; (B-E) Gráficos gerados pelos dados originais com avaliação da SNR; (C-F). Gráficos gerados pelos dados reconstruídos com os dois primeiros componentes principais e avaliação da SNR.	51

- Figura 17** Gráfico de tempo implícito de P1 para os dois sujeitos da figura anterior. (A-D) Gráfico gerado pelos dados originais sem avaliação da SNR. (B-E) Gráfico gerado pelos dados originais com avaliação da SNR. (C-F) Gráfico gerado pelos dados reconstruídos com os dois primeiros componentes principais com avaliação da SNR. N, nasal; T, temporal; S, superior; I, inferior. 52
- Figura 18** Distribuições cumulativas dos dados originais (A) e reconstruídos (B) do paciente RFA090116. Em destaque mostra a sobreposição das curvas. Como o limite inferior do intervalo de SNR do sinal foi menor que o limite superior do intervalo de SNR do ruído (linha tracejada), foi necessário estimar um novo limite inferior do intervalo de SNR do sinal (linha contínua). 53
- Figura 19** *Kernels* de primeira ordem do paciente RFA090116 que teve perda visual após infecção com *Toxoplasma gondii*. (A) Dados originais. (B) Dados reconstruídos com os dois primeiros componentes principais. Registros pretos apresentaram SNR do sinal superiores ao limite inferior do intervalo do sinal. Registros azuis apresentaram SNR do sinal menor que o limite inferior do intervalo do sinal e maior que o limite superior do intervalo do ruído. Registros em vermelhos apresentaram SNR no intervalo do ruído. N, nasal; T, temporal; S, superior; I, inferior. 54
- Figura 20** Gráfico de densidade de resposta e de tempo implícito de P1 para o paciente RFA090116. (A-D) Dados originais sem avaliação da SNR. (B-E) Dados originais com avaliação da SNR. (C-F) Dados reconstruídos com os dois primeiros componentes principais e com avaliação da SNR. 55
- Figura 21** Gráficos de comparação dos dados de amplitude RMS (A) e de tempo implícito de P1 (B) do paciente RFS090131 e o intervalo de confiança do grupo controle para esses parâmetros. (C) Gráfico de desvio padrão da perimetria estática de Humphrey para o protocolo 30-2. 56

- Figura 22** Distribuição cumulativa da SNR do ruído (em vermelho) e do sinal (em verde) obtidos de solução salina usando os dados originais (**A**) e reconstruídos com os dois primeiros componentes principais (**B**). 57
- Figura 23** Gráfico de densidade de resposta para os registros obtidos da solução salina. (**A**) Dados originais sem avaliação da SNR. (**B**) Dados originais com avaliação da SNR. (**C**) Dados reconstruídos com os dois primeiros componentes principais e com avaliação da SNR. Apenas em (C), todas as áreas foram indicadas como áreas com perda visual. 58

## **1. INTRODUÇÃO**

### **1.1. BIOLOGIA DO *TOXOPLASMA GONDII***

#### **1.1.1. Taxonomia**

Segundo DUBEY *et al.*, (1998) o *Toxoplasma gondii* (*T. gondii*) é um protozoário pertencente ao reino Protista, filo Protozoa, classe Apicomplexa, ordem Eucoccidiida, família Sarcocystiidae, sub-família Toxoplasmatinae, gênero *Toxoplasma* e espécie *Toxoplasma gondii*.

#### **1.1.2. Histórico**

Em 1908, o protozoário *T. gondii* foi encontrado por Nicolle e Manceaux, na Tunísia - Norte da África (Instituto Pasteur), de formas oriundas de amostras hepáticas do roedor *Ctenodactylus gondii*; e no Brasil, nesse mesmo ano, por Splendore, em coelhos doentes ou mortos “naturalmente” em laboratório. No ano seguinte (1909), Nicolle e Manceaux descreveram o parasito, criaram o gênero *Toxoplasma* e a espécie *T. gondii* (NEVES, 2000; VERONESI, 2002).

O primeiro caso da doença humana causada pelo *T. gondii* foi documentada por Janku, na Rússia, ao isolar o parasito de cistos oculares localizados em lesões retinianas de uma criança (JANKU, 1923). No que se refere às vias de infecção, a transmissão congênita da doença foi relatada anos depois, em 1937 por Wolf e Cowen; e a transmissão adquirida demonstrada por Pinkerton e Weinman, 1940 (REY, 1997).

Em 1948, a frequência da infecção humana só foi reconhecida com a introdução do teste clássico de Sabin-Feldman, que contribuiu decisivamente para a realização de inquéritos epidemiológicos, e também para o diagnóstico sorológico da toxoplasmose (AMATO NETO *et al.*, 1995).

O ciclo sexuado do parasito foi descrito por Frankel, em 1976. No ano seguinte, Dubey (1977) caracterizou o oocisto e, Miller (1972) provou que os únicos que desenvolvem o ciclo sexuado intestinal do *T. gondii* e eliminam os oocistos nas fezes são os felinos, tanto domésticos como selvagens (DUBEY 1991, 1998, 2003).

### **1.1.3. Morfologia**

O *T. gondii* assume diferentes formas dependendo do habitat e do estágio de seu ciclo. As principais formas infectantes apresentadas pelo agente durante o ciclo evolutivo são os taquizoítos, bradizoítos e oocistos. Essas três formas infectantes apresentam organelas citoplasmáticas características do filo Apicomplexa: conóide, anel polar, microtúbulos subpeliculares, róptrias, micronemas e grânulos densos, formando o então chamado complexo apical (NEVES, 2000).

Seu tamanho varia de acordo em que animal foi encontrado, ou do qual pôde ser isolado e, essas diferenças corresponderiam a cepas diversas, provavelmente dotadas de virulências diferentes. O parasito foi localizado em células mononucleares, neutrófilos e eosinófilos (DUBEY *et al.*, 2003). O *T. gondii* é um parasito de células teciduais e dos líquidos somáticos do hospedeiro, localiza-se no interior do citoplasma celular e nunca no interior dos núcleos. Os cistos são encontrados principalmente no fígado, coração e pulmão (REY, 1991).

Os taquizoítos apresentam forma de arco, e possuem em média 6,0 µm de comprimento e 2,0 µm de largura (Figura 1A). Estão presentes em infecções agudas, e nessas condições, as células parasitárias contêm poucos elementos infectantes, os quais têm numerosos grânulos de glicogênio. Após a ruptura da célula os taquizoítos são liberados e podem invadir outros constituintes teciduais, surgindo nos locais infectados intensas lesões, sobretudo inflamatórias e necróticas (AMATO NETO *et al.*, 1995).

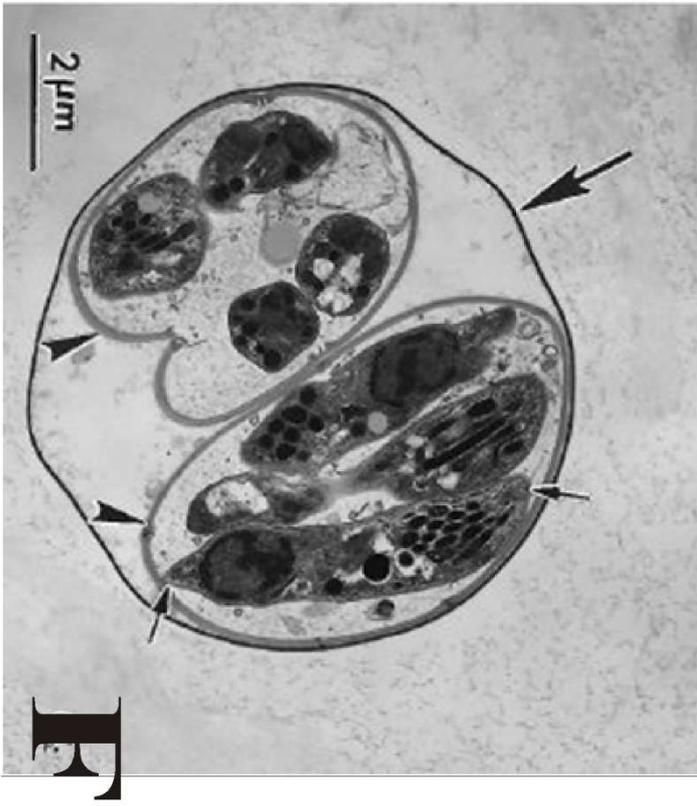
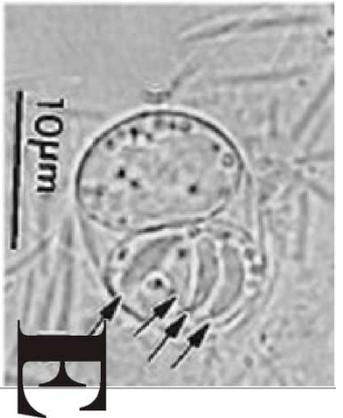
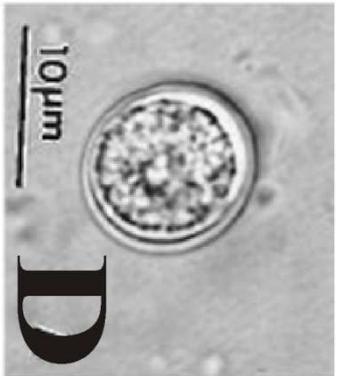
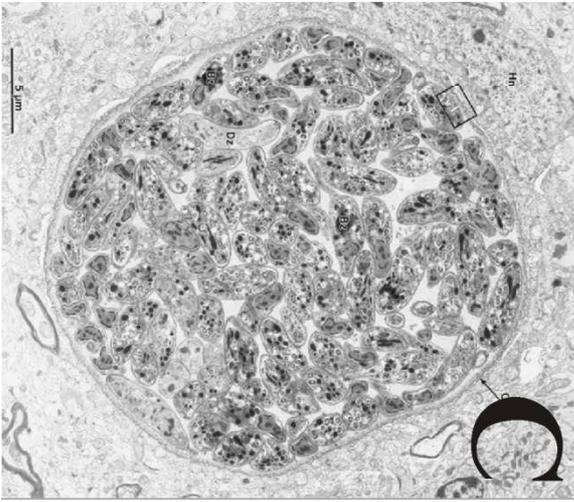
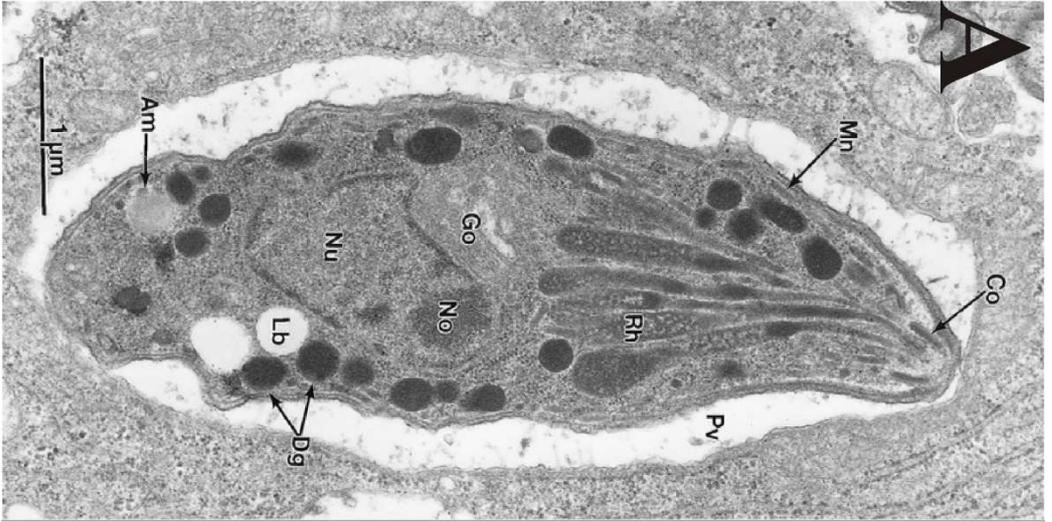
Morfologicamente muito similar ao taquizoíto, o bradizoíto (Figura 1B), representa uma forma evolutiva do ciclo. É formado em resposta ao controle da infecção pelo sistema imunológico do hospedeiro. Após invasão das células, os taquizoítos, que sofreram uma multiplicação inicial, desenvolvem uma cápsula cística na parede do vacúolo parasitóforo, diminuindo seu metabolismo e transformando-se em bradizoítos (DUBEY *et al.*, 1998; NEVES, 2000).

Esses envoltórios císticos podem ser encontrados em células dos sistemas nervoso, cardíaco e muscular. É considerada a forma de resistência no organismo, que de acordo com a localização tecidual, pode apresentar forma variável, mas geralmente é redondo, medindo entre 20 e 200  $\mu\text{m}$  (DUBEY *et al.*, 2003).

Nos taquizoítos e bradizoítos, a divisão celular ocorre dentro do vacúolo parasitóforo através de endodiogenia, processo em que duas células filhas são geradas dentro das membranas da célula-mãe. Após a duplicação do DNA no núcleo, inicia-se a divisão celular pela duplicação da região do conóide, segue para as róptrias, aparelho de Golgi, núcleo e então são geradas as duas células-filhas. No entanto, o bradizoíto permanece no interior do cisto (Figura 1C) multiplicando-se lentamente, diferindo do taquizoíto (DUBEY *et al.*, 1998).

Biologicamente, o que diferencia os bradizoítos dos taquizoítos é que os primeiros sobrevivem ao processo digestivo no estômago, enquanto que o mesmo não ocorre com os taquizoítos. Isso é justificado pela presença do envoltório cístico, considerado a forma de resistência do organismo (DUBEY, 1991).

O oocisto (Figura 1D-E) consiste na forma infectante produzida unicamente no intestino do felino não imune e eliminados imaturos junto com as fezes. Têm forma esférica e mede cerca de 10 a 12  $\mu\text{m}$  de diâmetro, que depois do processo de esporulação no meio ambiente apresenta dois esporocistos, com quatro esporozoítos cada um (Figura F) (NEVES, 2000; DUBEY *et al.*, 1998).



**Figura 1.** (A) Taquizoíto de *T. gondii* visualizado através de microscopia eletrônica de transmissão. Co, conóide; Mn, micronema; Pv, vacúolo parasitóforo; Rh, róptrias; Go, complexo de golgi; No, nucléolo; Nu, núcleo; Dg, grânulos densos. Modificado de DUBEY *et al.*, 1998. (B) Bradizoíto de *T. gondii* visualizado através de microscopia eletrônica de transmissão. Co, conóide; Mn, micronema; Dg, grânulo denso; Rh, róptrias; Go, complexo de golgi; Ga, apicoplasma; Mi, mitocôndria; Ce, centríolo; Nu, núcleo. (C) Cortes ultrafinos de cisto tecidual de *T. gondii* contendo aproximadamente 110 bradizoítos (Bz). Cw, parede cística; Dz, bradizoíto degenerado observado por microscopia eletrônica de transmissão. (D-F) Oocistos de *T. gondii* formas eliminadas nas fezes de felinos. (D) Oocistos não esporulados. (E) Oocisto esporulado mostrando quatro esporozoítos no interior do esporocisto (setas). (F) Microscopia eletrônica de transmissão mostrando esporulação do oocisto. Modificado de DUBEY *et al.*, 1998.

#### 1.1.4. Ciclo biológico

O *T. gondii* é um parasito de ciclo heteroxeno, ou seja, possui hospedeiro definitivo e intermediário. Por esse motivo, ocorre em duas fases distintas: a fase assexuada, que ocorre nos linfonodos e tecidos de vários hospedeiros como o homem, outros mamíferos e aves, chamados de hospedeiro intermediário. E uma fase sexuada, também conhecida como fase enteroepitelial ou ciclo coccidiano, que transcorre nas células do epitélio intestinal de gatos jovens não imunes e outros felídeos, por isso são considerados hospedeiros definitivos (NEVES, 2000).

##### 1.1.4.1. Fase assexuada

Inicia quando um hospedeiro suscetível ingere oocistos maduros contendo esporozoítos e/ou taquizoítos, ou ainda, cistos contendo bradizoítos encontrados na carne crua ou alimentos e água contaminados (Figura 2). No estômago, sob ação do suco gástrico, as formas taquizoítas serão destruídas, no entanto, as que permanecerem na mucosa oral poderão evoluir do mesmo modo que os cistos e oocistos depois que alcançam o intestino (DUBEY *et al.*, 1998, 2003).

Após rápida passagem pelo epitélio intestinal, enzimas digestivas irão degradar as paredes externas dos cistos ou dos oocistos e as formas infectantes serão liberadas no lúmen

intestinal. Rapidamente, cada taquizoíto, esporozoíto ou bradizoíto invadirá diferentes tipos celulares, e no interior destas sofrerão intensa multiplicação, formando os vacúolos citoplasmáticos ou parasitóforo (HILL & DUBEY, 2002; NEVES, 2000).

Após sucessivas divisões pelo processo de endodiogenia, novos taquizoítos são formados (fase proliferativa), rompendo a célula parasitada. Essas novas formas infectantes liberadas invadirão o tecido linfóide associado ao intestino, e então serão disseminados pelos sistemas linfático e sanguíneo, parasitando novas células. Esse episódio pode provocar um quadro polissintomático, cuja gravidade dependerá da quantidade de formas infectantes adquiridas, cepa do parasito e suscetibilidade do hospedeiro (DUBEY *et al.*, 1998, 2003; HILL & DUBEY, 2002).

A essa fase inicial da infecção dá-se o nome de fase aguda, e tem a duração de aproximadamente 24 – 48 horas. A doença pode evoluir para a morte do hospedeiro, ou então, ocorrer a diminuição ou cessamento da sintomatologia, fazendo com que alguns parasitos evoluam para a formação de cistos, caracterizando a fase crônica da doença e podendo durar por longo período. Pode também ocorrer reagudização com sintomas parecidos à primoinfecção, no entanto os motivos que levam a esse desfecho ainda não estão completamente esclarecidos (DUBEY *et al.*, 1998, 2003; NEVES, 2000).

Em aproximadamente duas semanas, o hospedeiro começa a desenvolver imunidade, que faz com que a taxa de multiplicação do parasito diminua. Os organismos com lenta taxa de multiplicação, agora chamados de bradizoítos, confinam-se num cisto de parede elástica, no citoplasma das células infectadas. A resposta imune do hospedeiro destrói os taquizoítos, mas os bradizoítos ficam protegidos pelo cisto intracelular e permanecem viáveis, por muitos anos em estado latente (DUBEY *et al.*, 1998).

#### 1.1.4.2. Fase sexuada

A fase sexuada ocorre somente nas células epiteliais do gato e de outros felídeos jovens (Figura 2). Inicia-se pela ingestão de tecidos contendo cistos (por exemplo, carne de porco, rato ou coelho), pelos felídeos. A parede do cisto é dissolvida por enzimas proteolíticas do estômago e intestino delgado, então os parasitos liberados do cisto (bradizoítos) penetram nos enterócitos (células da mucosa intestinal) do animal e replicam-se dando origem a várias gerações de toxoplasma através da reprodução assexuada (DUBEY *et al.*, 1998, 2003).

Os esporozoítos, bradizoítos ou taquizoítos, ao penetrarem no epitélio intestinal do gato sofrerão um processo de multiplicação por endodiogenia e merogonia (esquizogonia), dando origem a vários merozoítos. O conjunto desses merozoítos formados dentro do vacúolo parasitóforo da célula é denominado meronte ou esquizonte maduro. Após a esquizogonia do ciclo enteroepitelial vai haver o rompimento desses vacúolos e posterior liberação de merozoítos, que invadirão novas células (AMATO NETO *et al.*, 1995).

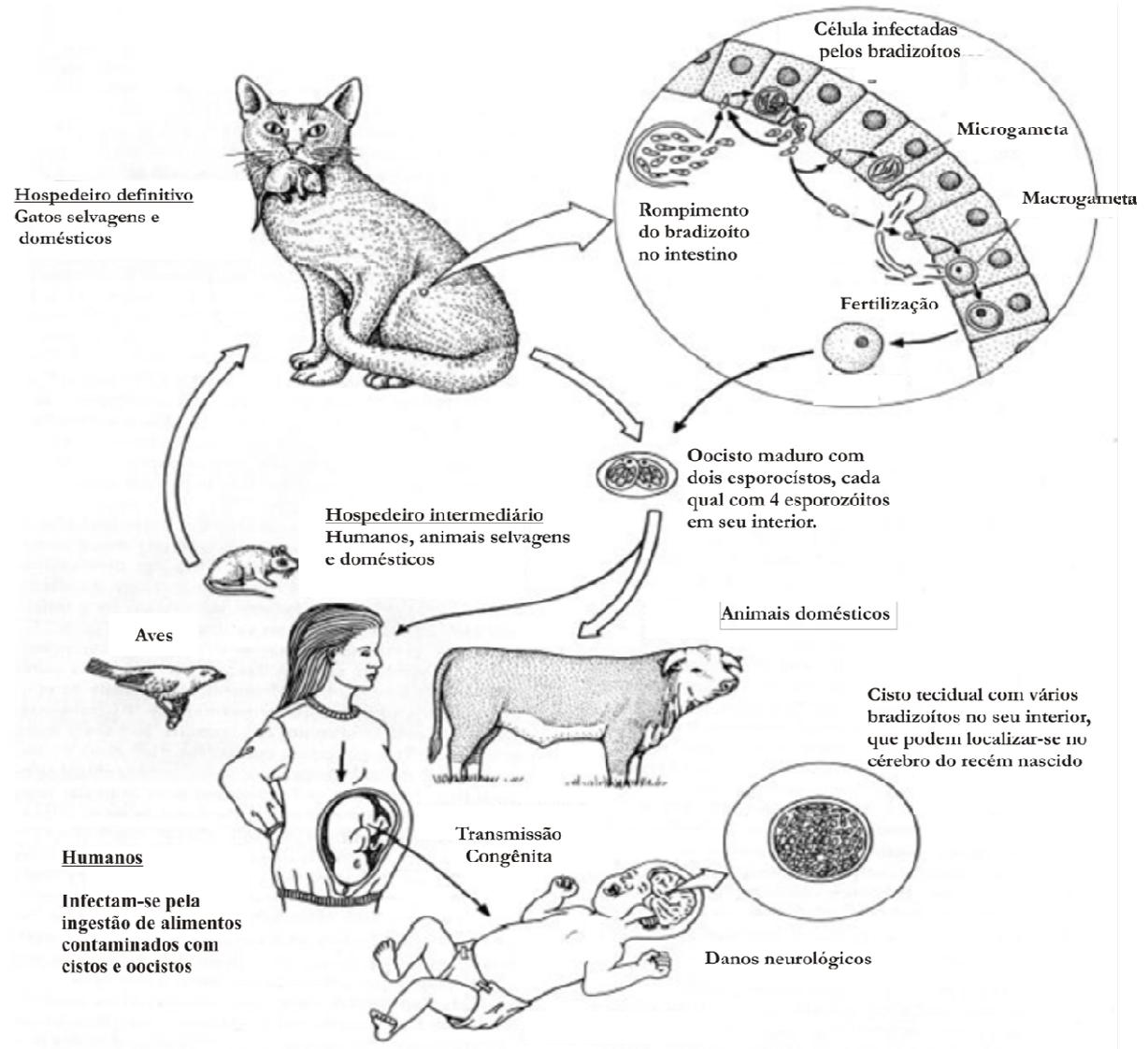
Cinco dias depois dessa infecção, inicia-se o processo de reprodução sexuada, em que os merozoítos formados na reprodução assexuada se transformarão em gametócitos ou gamontes. Por um processo de maturação, esses gametócitos irão dar origem aos gametas. Os gametas masculino (microgameta - móveis) e feminino (macrogameta - imóveis), descendentes do mesmo parasita ou de dois diferentes, fundem-se dando origem ao ovo ou zigoto, que após segregar a parede cística dá origem ao oocisto imaturo (DUBEY *et al.*, 1998, NEVES, 2000).

O gato sofrerá uma infecção aguda e, então, o oocisto imaturo é expulso com as fezes do animal após nove dias (cada felino doméstico elimina mais de 500 milhões de oocistos em cada defecação). No meio externo, sofre novamente divisão meiótica (esporulação) após 1 – 4 dias, formando-se dois esporocistos cada um com quatro esporozoítos, semelhantes ao taquizoíto, exceto por apresentar, nos esporozoítos, um número

maior de micronemas e róprias. Uma forma altamente resistente e infectante que pode durar viável por até 18 meses em condições favoráveis de umidade e temperatura (DUBEY *et al.*, 1998; NEVES, 2000).

Estes são ativados em taquizoítos se forem ingeridos por outro animal, chamado hospedeiro intermediário: por exemplo, um rato ou coelho que coma erva em que algum gato ou outro felíneo tenha defecado ou uma criança ou adulto que mexa com os dedos em material contaminado com fezes e depois leve-os à boca (DUBEY *et al.*, 1998; NEVES, 2000).

Os taquizoitos multiplicam-se nas células do hospedeiro intermediário, onde algumas formas formam cistos nos tecidos. As formas ativas são destruídas pelo sistema imunológico, mas os cistos permanecem. Se o animal for caçado e devorado por um felíneo, os cistos liberam os parasitas dentro do intestino, infectando o novo hospedeiro definitivo, fechando o ciclo de vida (DUBEY *et al.*, 1998; NEVES, 2000).



**Figura 2.** Ciclo de vida do protozoário *Toxoplasma gondii*.

## 1.2. TOXOPLASMOSE

É uma protozoonose de distribuição mundial, provocada pelo *Toxoplasma gondii*.

Um protozoário coccídeo, considerado cosmopolita, patógeno intracelular obrigatório de humanos e animais, que infecta aproximadamente um bilhão de seres humanos mundialmente (TEDESCO *et al.*, 2004), além de mamíferos e aves. A infecção no homem é comum, com alta prevalência sorológica e de distribuição mundial (Centro de Controle de Doenças de Atlanta).

O protozoário *T. gondii* é transmitido ao homem por diversas maneiras: através da ingestão de carne mal cozida contendo cistos de toxoplasma; pela ingestão de oocistos provenientes de mão contaminada por fezes ou alimento e água; transmissão transplacentária; inoculação acidental de taquizoítos ou pela ingestão de oocistos infectantes na água ou alimento contaminado com fezes de gato. Pode ocorrer transmissão através da inalação de oocistos esporulados. A infecção por transfusão de sangue e transplante de órgãos de um doador infectado é rara, porém pode ocorrer (BENENSON, 1992).

### **1.2.1. Quadro clínico**

O tipo de severidade de doenças clínicas com infecções de *T. gondii* é independente do grau e localização do tecido ferido, e a necrose da célula é proporcional ao crescimento intracelular do parasito (AMATO NETO *et al.*, 1995). Quando disseminado em órgãos extra-intestinais, através do sistema linfático ou sanguíneo pode desenvolver-se em vários órgãos e o resultado clínico é determinado pela extensão do ferimento para esses órgãos, especialmente aos vitais como, coração, olhos e glândulas adrenais (CIMERMAN & CIMERMAN, 1999).

Com exceção das infecções disseminadas agudas, que podem ser fatais, o hospedeiro geralmente se recupera. Aproximadamente, na terceira semana após a infecção, os taquizoítos começam a desaparecer dos tecidos viscerais e podem ser localizados em cistos teciduais, em resposta ao mecanismo de imunidade do hospedeiro. Os cistos dos tecidos podem romper, e os bradizoítos liberados podem iniciar um relapso clínico durante uma imunossupressão (REY, 1991).

O motivo pelos quais determinados animais infectados desenvolvem a toxoplasmose clínica enquanto outros não apresentam tal infecção, é desconhecido (DUBEY *et al.*, 1998). Doenças concomitantes ou imunossupressão podem tornar um hospedeiro mais

suscetível devido à proliferação do *T. gondii* como um patógeno oportunista (CIMERMAN & CIMERMAN, 1999).

A patogenicidade da toxoplasmose na espécie humana está ligada a fatores como: cepa do parasito, resistência da pessoa e o modo pelo qual ela se infecta. No entanto, a transmissão congênita é frequentemente a mais grave. A toxoplasmose adquirida após o nascimento pode apresentar evolução variável (REY, 1991; NEVES, 2000).

A toxoplasmose congênita ocorre quando a mãe se infecta durante a gestação e o feto entra em contato com os taquizoítos através da placenta. Como o feto ainda não apresenta sistema imunológico e a resposta imune da mãe não consegue atravessar de forma eficiente à barreira placentária, a infecção progride sem controle e de forma devastadora (BENENSON, 1992; NEVES, 2000). A taxa global de transmissão da infecção congênita é de aproximadamente 23%. O dano e a transmissão fetal podem ser prevenidos pelo tratamento antiparasitário durante a gravidez, reduzindo o impacto deste como problema de saúde (JENUM *et al.*, 1998).

O grau de severidade da toxoplasmose congênita depende do período no qual a mulher foi infectada, se no primeiro ou terceiro trimestre de gestação. Frequentemente, o contato com o protozoário durante o terceiro trimestre resulta em infecções subclínicas (CHHIABRA *et al.*, 2007).

Durante a gravidez, a incidência da infecção pelo *T. gondii* é variável. A maioria das infecções não é reconhecida, pois, a infecção materna pode apresentar características subclínicas, ou a infecção no recém-nascido normalmente pode ser assintomática, ou os sintomas do recém-nascido não são específicos, e/ou durante a emergência dos sintomas é difícil identificar o agente etiológico (JENUM *et al.*, 1998).

As características clássicas dessa infecção são denominadas de “Tétrade de Sabin”, sendo tais alterações: hidrocefalia ou microcefalia (modificações no volume do

crânio); coriorretinite (inflamação da coróide e da retina), que é a manifestação mais constante e constitui, por si só, elemento significativo para levantar forte suspeita da doença; estrabismo e nistagmo (movimentos rápidos e involuntários do globo ocular); calcificações intracranianas (atingem o córtex e os núcleos da base do crânio) e retardamento mental (REY, 1991).

Dependendo da virulência da cepa, do estado imunológico do indivíduo e outros fatores, a toxoplasmose adquirida pode apresentar casos benignos ou assintomáticos até casos de morte (NEVES, 2000). DUBEY *et al.*, (1998) cita que essa variedade de situações, conhecida com síndrome toxoplasmática, apresenta sete formas distintas: forma prevalentemente linfadenítica; forma prevalentemente nervosa; forma prevalentemente exantemática; forma prevalentemente ocular; forma prevalentemente miocárdica; forma prevalentemente pulmonar; formas leves ou subclínicas.

Considerada a manifestação clínica mais comum da doença, a forma linfadenítica, ocorre em adultos e crianças. Suas manifestações normalmente são: febre alta, calafrios, cefaléia, mal-estar. Frequentemente ocorrem no primeiro estágio da doença, rinite, faringite, diarreia, vômitos e dores musculares e o comprometimento dos gânglios é generalizado. A febre persiste por um ou dois meses, os olhos e o miocárdio são geralmente poupados, mas já existem várias observações de lesões oculares concomitantes ou logo após a fase aguda da forma linfadenítica (NEVES, 2000).

A forma nervosa é caracterizada pelo comprometimento do sistema nervoso central, com os sintomas: cefaléia, vômito, confusão mental, convulsões, tremores, paralisias de nervos cranianos, estrabismo, nistagmo e disartria. Seu prognóstico é grave, podendo evoluir para a cronicidade ou até mesmo ao óbito (HASSENE *et al.*, 2008).

O tipo mais grave da toxoplasmose adquirida é a exantemática ou cutânea, que forma lesões generalizadas na pele. A letalidade é elevada e o parasito é encontrado

difusamente em quase todos os órgãos, tem evolução rápida e fatal. Na forma miocárdica, o miocárdio pode ser acometido durante a fase aguda e evoluir para a cronicidade (NEVES, 2000). No caso da toxoplasmose pulmonar consideram-se casos com comprometimento prevalentemente pulmonar. O início é semelhante ao de uma gripe ou resfriado comum e logo ocorrem manifestações para o lado do trato inferior do aparelho respiratório (HILL & DUBEY, 2002).

Acredita-se que a maior parte dos casos de toxoplasmose passa despercebida em virtude das discretas manifestações. Muitas vezes é o enfartamento discreto dos gânglios cervicais o único sintoma presente, sem outro qualquer comprometimento do estado geral e permitindo as atividades habituais do indivíduo. Essas são as formas leves ou subclínicas (DUBEY *et al.*, 1998).

#### 1.2.1.1. Toxoplasmose ocular

A toxoplasmose é freqüentemente assintomática em indivíduos imunocompetentes, no entanto lesões oculares, principalmente retinocoroidite, estão presentes em cerca de 20% dos pacientes infectados. Já em indivíduos imunocomprometidos, como portadores do vírus HIV, pacientes com câncer e que passaram por transplante de órgãos a doença é mais destrutiva, sendo a maior causadora de doenças oculares (NOROSE *et al.*, 2005).

No Brasil, o *T. gondii* é o agente etiológico mais freqüente nas uveítes de localização posterior, podendo a toxoplasmose ocular ter origem congênita ou adquirida. Estima-se que aproximadamente 60% da população adulta tenham entrado em contato com o parasito (NETO *et al.*, 2008). Alguns autores relataram ser a toxoplasmose ocular adquirida bastante comum no sul do Brasil. O risco de infecção toxoplásmica é maior entre a população

rural devido aos seus hábitos e ao contato freqüente com as fontes de infecção, por exemplo, animais domésticos (GARCIA *et al.*, 1999; MEIRELES *et al.*, 2004).

Essas complicações causadas pela infecção por toxoplasma podem resultar de infecção congênita ou ingestão de alimentos contaminados por cistos maduros. Essas lesões oculares transmitidas por infecção congênita ocorrem em 20-80% das pessoas infectadas. Infecções oculares podem conduzir a lesões inflamatórias agudas na retina, que podem causar complicações retinianas (HASSENE *et al.*, 2007).

A forma prevalentemente ocular é considerada como consequência da evolução sub-aguda ou crônica da toxoplasmose adquirida. O acometimento ocular pode ser achado isoladamente, ao exame oftalmológico de rotina, ou consecutivo a um episódio agudo do tipo linfadenítico. A evolução das lesões ocorre por meio dos surtos consequentes às rupturas dos pseudocistos, os quais atuam não só pela atividade dos parasitos vivos, como também através de fenômenos de hipersensibilização local, provocados pela liberação de produtos de parasitos mortos (HOLLAND, 2003).

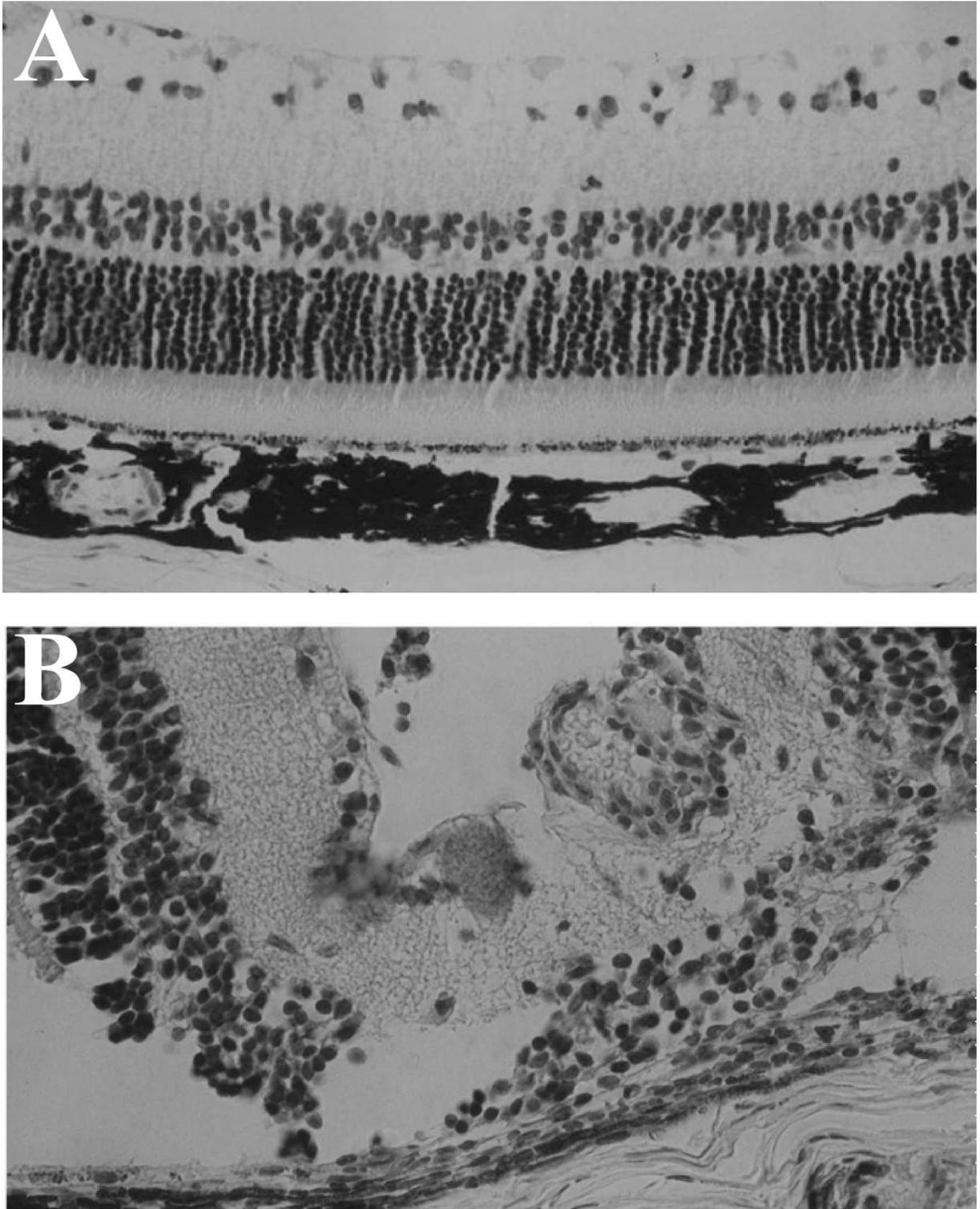
Uma das principais formas clínicas encontradas nos indivíduos com toxoplasmose é a retinocoroidite, que é uma lesão ocular (inflamação da coróide e retina) que pode causar perda parcial ou total da visão, e está associada à toxoplasmose ou traumas. O olho é o órgão mais afetado quando da ocorrência de toxoplasmose congênita, e a retina é o componente do globo ocular mais frequentemente acometido, com a presença de taquizoítos na infecção aguda, ou cistos contendo bradizoítos na infecção crônica (AMATO NETO *et al.*, 1995; TEDESCO *et al.*, 2007).

O *T. gondii* alcança a retina através da corrente sangüínea na forma de taquizoítos livres ou taquizoítos residindo dentro dos macrófagos circulantes, temporariamente seqüestrados para o interior dos capilares da retina. Os taquizoítos são liberados quando as células infectadas são rompidas e podem invadir e degenerar os segmentos dos

fotorreceptores na retina adjacente. O local mais atingido na retina é sua camada celular interna, podendo também localizar-se na cabeça do nervo óptico, e causar graves danos aos olhos, vasculite, infiltrado inflamatório no vítreo e na região externa da retina e coróide (JONES *et al.*, 2006; NEVES, 2000; NOROSE *et al.*, 2005).

A toxoplasmose ocular ativa consiste num foco coagulativo e necrótico localizado na retina (Figura 3). Além disso, pode estar presente uma inflamação difusa da retina e da coróide (NEVES, 2000). Dois tipos de lesões podem ser observados. O primeiro é a retinite aguda, com intensa inflamação de início súbito que desaparece após um curto período. Essa patologia é decorrente da liberação de antígenos durante o processo de invasão celular, que leva à destruição da retina, além da presença de hipersensibilidade e inflamação aguda local. O segundo é a retinite crônica, que é progressiva e pode acarretar a perda total da visão, devido à cicatrização e reativação das lesões (CARMO, *et al.*, 2005).

As conseqüências mais comuns da toxoplasmose ocular aumentam com o número e severidade das crises, e inclui organização vítrea com opacificação permanente, glaucoma, descolamento de retina e catarata. Os sintomas primordiais incluem diminuição da visão pelo edema, inflamação ou necrose retiniana e opacidades no campo visual (AMATO NETO, *et al.*, 1995; DINIZ, *et al.*, 1991; REMINGTON, *et al.*, 1995).



**Figura 3.** (A) Morfologia normal da retina de hamster observada através de microscopia de luz. (B) Morfologia da retina de hamster infectado pelo *T. gondii*, observar total desorganização dos componentes celulares da retina. Coloração: hematoxilina e eosina. Visualização x 85 (A) e x 110 (B). Modificado de GORMLEY *et al.*, 1999.

Dentre as lesões oculares que podem acometer a população infectada, a principal é a coriorretinite. Normalmente são muito similares, independentemente se a infecção foi do

tipo adquirida ou congênita, no entanto, os mecanismos imunológicos e o desenvolvimento da doença envolvidos dependem do tipo de infecção. Essas lesões frequentemente são necróticas, destruindo a arquitetura da retina neural e algumas vezes envolvendo a coróide (retinocoroidite). Em alguns casos graves, as lesões são bastante profundas, que através do exame de fundo de olho é possível visualizar a esclera (VALLOCHI *et al.*, 2002).

### **1.2.2 Epidemiologia**

A toxoplasmose tem distribuição cosmopolita, e levando em consideração esse fator o *T. gondii* apresenta alta infecciosidade e baixa patogenicidade em hospedeiros humanos se compararmos à baixa ocorrência de casos clínicos graves. O estudo da epidemiologia da toxoplasmose determina as formas de ocorrência dessa enfermidade em condições naturais, indicando os fatores que empreendem àqueles que costumam albergar o parasito, visando à prevenção da infecção em seres humanos (CIMERMAN & CIMERMAN, 1999).

Pode ocorrer de duas maneiras: forma adquirida e congênita. No Brasil, a soroprevalência dessa enfermidade na população pode variar de 40-80% e tende a aumentar de acordo com a idade do indivíduo. Observa-se a predominância da doença adquirida sobre a congênita, pois indivíduos com toxoplasmose congênita têm a resposta imune contra antígenos toxoplasma diminuída, quando comparado com indivíduos com doença adquirida, o que sugere diferenças na terapêutica (FRANCISCO *et al.*, 2006; VALLOCHI *et al.*, 2002).

A prevalência da infecção por este parasito varia geograficamente, e tende a aumentar com a idade. É a terceira causa mais comum de mortes relacionada à contaminação alimentar, nos Estados Unidos (HOLLAND, 2003).

O *T. gondii* infecta aproximadamente um quarto da população mundial, 60% dos adultos no estado de São Paulo e, na França, 90% da população na quarta década de vida

(PASSOS, *et al.*, 2000). Nos Estados Unidos a infecção congênita é a que causa mais seqüelas. A infecção ocorre em 2/1000 de mulheres grávidas e a taxa de infecção transplacentária é de 50%. Aproximadamente 70% dos recém-nascidos que desenvolveram infecção congênita mostram cicatrização coreoretinal (GILBERT *et al.*, 2008; TEDESCO *et al.*, 2007; VALLOCHI *et al.*, 2002).

Segundo a CDC (Centro de Controle de Doenças), também nos Estados Unidos cerca de 22,5 % da população acima de doze anos estão infectados pelo *T. gondii*, e em vários outros lugares do mundo esse percentual pode atingir 95% . A infecção é maior em países com clima quente e úmido, e com baixas altitudes. Sua prevalência pode variar de região para região, de acordo com hábitos socioculturais, fatores geográficos, genéticos e climáticos (JONES *et al.*, 2006; VALLOCHI *et al.*, 2002).

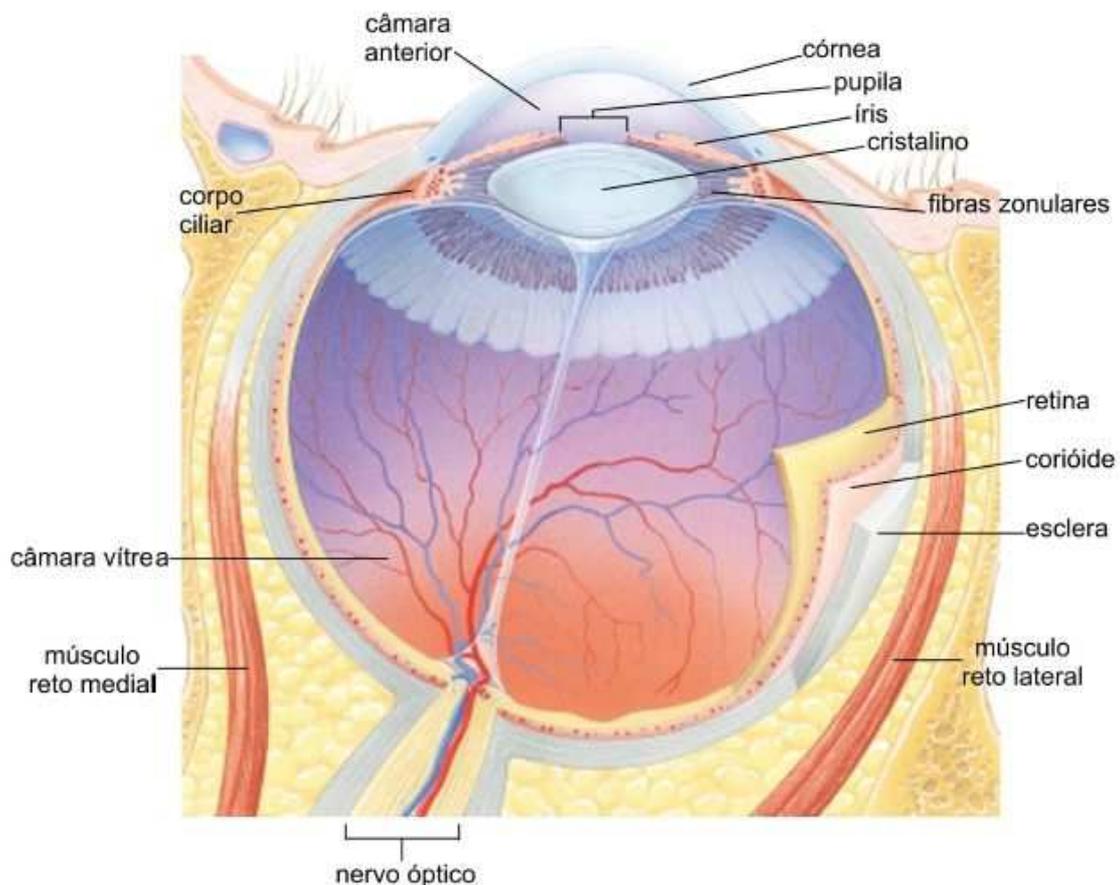
Atualmente, apesar de benigna ou assintomática, essa doença é a que mais causa seqüelas oculares em indivíduos imunocompetentes, principalmente retinocoroidite. Cerca de 20% dos indivíduos infectados pelo *T. gondii* manifestam a toxoplasmose ocular (ou lesões oculares) (TEDESCO *et al.*, 2007). Essas complicações são mais comuns e mais graves no Brasil quando comparado a Europa ou América do Norte. Na transmissão adquirida o risco de desenvolver esse mesmo sintoma varia de 2% no norte do Brasil, para 25% no sul do Brasil, enquanto que na Europa ou América do Norte essa taxa cai para 0,3 – 1% (GILBERT *et al.*, 2008).

### 1.3. MORFOLOGIA E FISILOGIA BÁSICAS DO OLHO E RETINA

Dentre os sistemas sensoriais, a visão é o sentido mais desenvolvido nos primatas. Em humanos, as áreas visuais ocupam cerca de 40% do córtex, com mais de uma dúzia de áreas visuais já identificadas (GRILL-SPECTOR & MALACH, 2004; TOOTELL *et al.*, 1996), o que denota a importância do sistema visual.

O olho (Figura 4), órgão receptor da visão, tem a função de captar a informação luminosa e transformar em impulsos elétricos a serem decodificados pelo sistema nervoso. Suas estruturas possuem papel importante e específico na transformação do estímulo luminoso em informação bioelétrica, sendo a retina a primeira estrutura a processar tal informação (BICAS, 2004; FARIA E SOUSA, 1990).

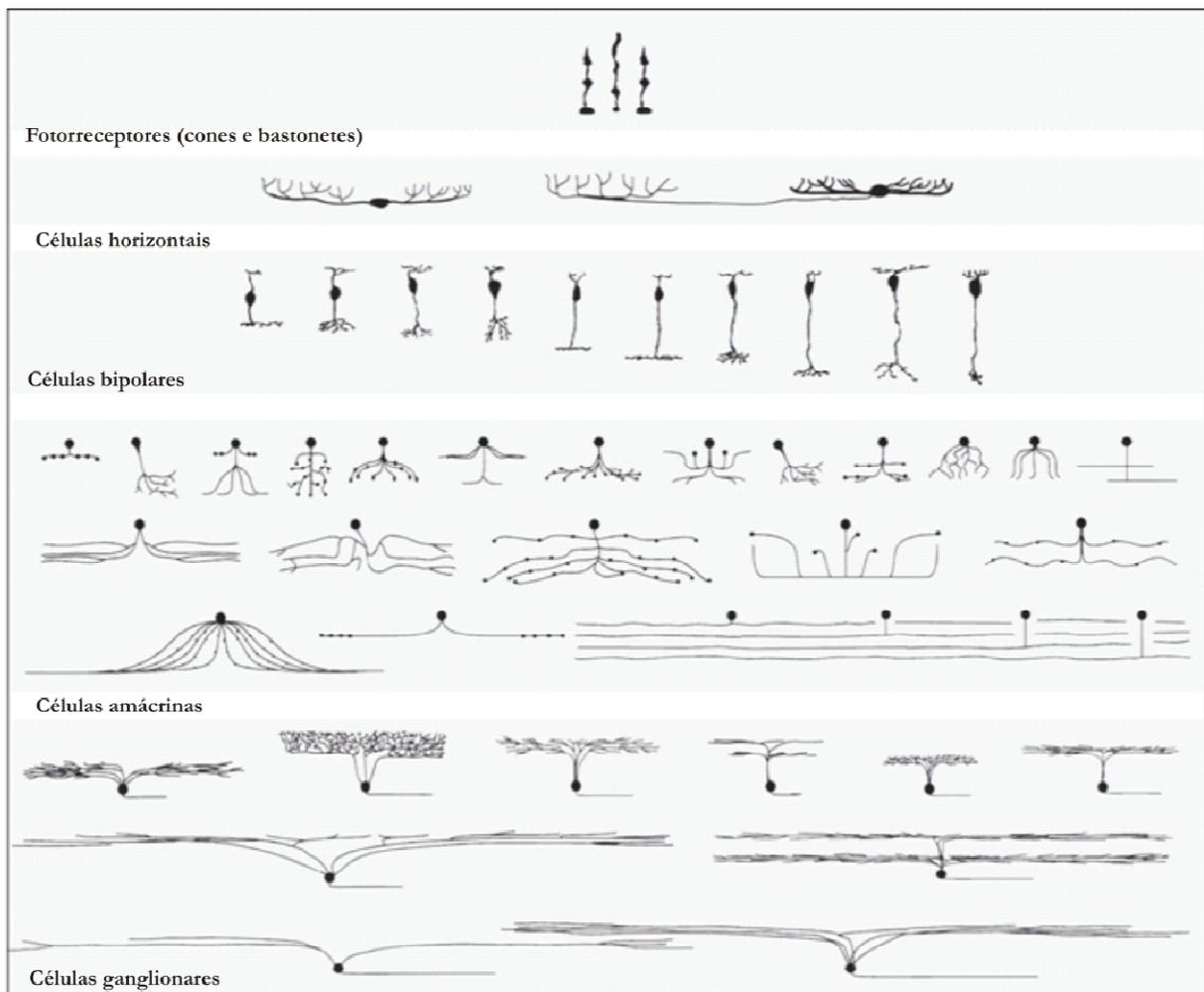
A projeção das informações do olho para o cérebro está organizada em vias paralelas, e as fibras do trato óptico são responsáveis por essa distribuição de informações para diferentes áreas subcorticais como o núcleo supraquiasmático, núcleo geniculado lateral e outros. Essas áreas têm diferentes funções na captação e processamento da informação visual provenientes dos diferentes tipos de células da retina (WASSLE, 2004), e é após a organização dessas informações que conseguimos “ver” os objetos.



**Figura 4.** Vista dorsal de secção transversal do globo ocular direito humano. Modificado de SHERWOOD & KLANDORF (2005).

### 1.3.1. Estrutura da retina

A retina é uma estrutura do sistema nervoso central que consiste de uma membrana fina e transparente que mede cerca de 200  $\mu\text{m}$  de espessura e preenche a parede interna em volta do olho. Esta estrutura apresenta uma grande variedade de tipos neuronais, nos mamíferos, por exemplo, existem aproximadamente 55 tipos celulares distintos, cada qual com uma função diferente (Figura 5). Não é considerado um circuito único e constituí-se por vários microcircuitos responsáveis por ligar a retina a diversas estruturas alvo no cérebro. A identificação e a classificação dos seus tipos neuronais começaram a ser feita há mais de cem anos, por Ramon y Cajal. (DACEY, 1999, 2000; MASLAND, 2001) e alguns tipos neuronais ainda não estão bem descritos na literatura (DACEY, 2000).

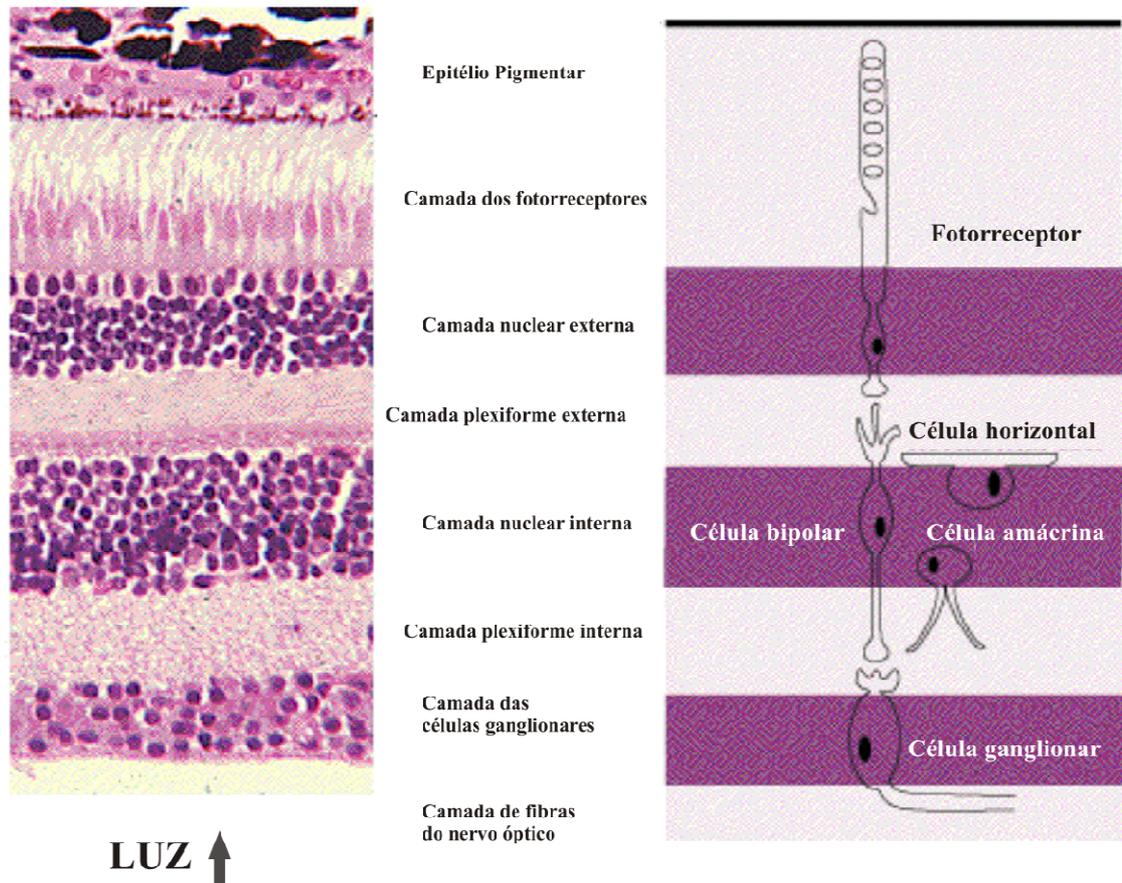


**Figura 5.** Principais tipos celulares existentes na retina de mamíferos. Modificado de MASLAND (2001).

É na retina que ocorrem os mecanismos de transdução da informação luminosa incidente. Potenciais receptores serão produzidos nos fotorreceptores atingidos pelo estímulo luminoso, e essa nova informação traduzida na linguagem bioelétrica que será transmitida por uma cadeia de células retinianas até emergir codificada em potenciais de ação pelas fibras das células ganglionares que compõe o nervo óptico (LENT, 2002).

A barreira hematoretiniana é constituída pelas células endoteliais dos capilares retinianos, juntamente com sua própria membrana basal, e unidas pelas “*tight junctions*” (MASLAND, 2001). Os vasos da retina seguem o padrão dos cerebrais, ou seja, os gases como O<sub>2</sub> e CO<sub>2</sub> são difundidos livremente e o transporte através da barreira retiniana é feito de modo altamente seletivo (WASSLE, 2004).

Histologicamente a retina é dividida em 10 camadas (Figura 6) que distribuem-se da mais externa para a mais interna na seguinte ordem: epitélio pigmentar, membrana limitante externa, camada de fotorreceptores, membrana limitante interna, camada nuclear externa, camada plexiforme externa, camada nuclear interna, camada plexiforme interna, camada de células ganglionares, fibras do nervo óptico (DACEY, 1999; KOLB, 2003).



**Figura 6.** Corte histológico da retina de mamífero mostrando suas camadas e principais células. Modificado de DEBAECKER & BENOSMAN, 2007.

Existem retina vários tipos de neurônios, entretanto, destacam-se os fotorreceptores (cones e bastonetes), as células bipolares, as células ganglionares, as células horizontais e as células amácrinas. Dependendo do local da retina, um neurônio pode se conectar com poucos neurônios ou ter mais de duzentas conexões com vinte ou trinta outros neurônios (DACEY, 2000).

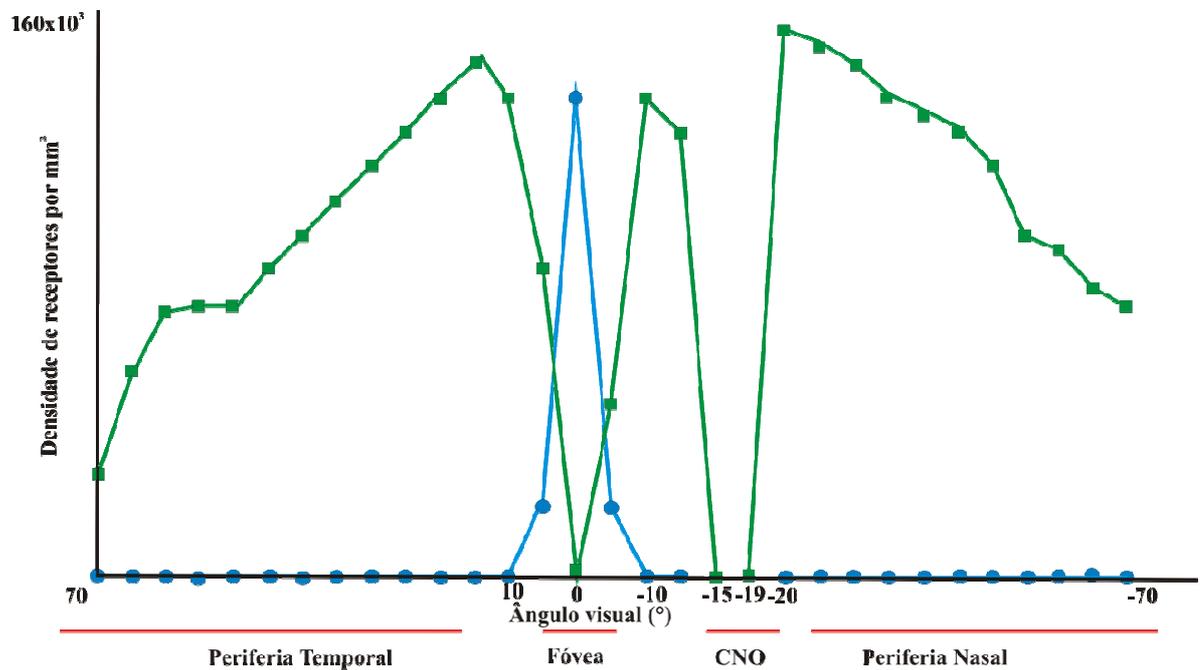
O epitélio pigmentar está envolvido no transporte de substâncias para os fotorreceptores, sendo constituídos por uma camada única de células hexagonais contendo melanina e apresentando vilosidades apicais que envolvem as extremidades dos bastonetes. Tem papel vital no metabolismo da retina devido à sua capacidade de fagocitose dos fragmentos liberados pelas extremidades dos bastonetes (BOYCOTT & WASSLE, 1999).

A camada de fotorreceptores é constituída pelos segmentos internos e externos dos cones e bastonetes. Essas células, que são diferenciáveis morfológicamente e fisiologicamente, são responsáveis por captar os fótons e converter a energia em potencial elétrico de membrana, processo conhecido como fototransdução. Na maioria dos mamíferos, os bastonetes são numericamente vinte vezes mais que os cones, aproximadamente, e são considerados os fotorreceptores primordiais (Figura 7) (MASLAND, 2001).

Os bastonetes são células especializadas em responder a situações com baixa luminosidade, ou seja, em condições escotópicas, sendo necessário somente um único fóton para geração de uma resposta neural. Isto ocorre devido à maior quantidade de pigmento presente nesses fotorreceptores, que permite aos bastonetes aumentar a probabilidade de captá-los em condições de baixa luminosidade (WASSLE, 2004).

Os cones são os fotorreceptores adaptados para a visão fotópica, ou seja, não apresentam grande sensibilidade em condições de baixa luminosidade. Os cones estão principalmente ativos em níveis fotópicos, como a luminosidade ambiente durante o dia. Os bastonetes e cones podem estar ambos ativos em níveis mesópicos, onde a luminosidade não é tão baixa quanto no escotópico e nem o suficiente para ser fotópico (LENT, 2004).

A densidade de fotorreceptores cones na retina é maior no centro da retina, na fóvea, diminuindo consideravelmente com o afastamento do centro. Os bastonetes não existem na fóvea e apresentam máximo de densidade a 20° da fóvea. Não existem fotorreceptores em uma região da retina nasal a 15° da fóvea onde se localiza a emergência do nervo óptico para o tálamo, a papila óptica ou disco óptico ou cabeça do nervo óptico (BOYCOTT & WASSLE, 1999)



**Figura 7.** Distribuição dos fotorreceptores na retina. Os cones apresentam maior densidade na retina central (fóvea) enquanto os bastonetes apresentam maior densidade em excentricidades de aproximadamente 20° desde a fóvea. Na cabeça do nervo óptico (CNO) não há fotorreceptores.

Em humanos e primatas com visão tricromática, podemos observar três tipos de cones, que são diferenciáveis pelos seus picos de sensibilidade espectral: os cones S, M e L, que são sensíveis a comprimentos de onda curtos, médios e longos, respectivamente. Nos mamíferos são observáveis somente dois tipos de cones – L e S (DACEY, 2000; MASLAND, 2001; WASSLE, 2004).

Na camada nuclear externa observam-se dois grupos de núcleos de fotorreceptores: externamente, os cones e internamente, os bastonetes. Sua maior espessura está nas bordas da fóvea e tende a se adelgaçar em direção à periferia. Na camada plexiforme externa, vai ocorrer conexão dos axônios dos fotorreceptores com as fibras das células horizontais e bipolares (LENT, 2002).

Localizam-se na camada nuclear interna, além dos pericários neuronais das células horizontais, os núcleos das células bipolares e amácrinas. Essa camada é formada por uma série de lâminas funcionais empilhadas umas sobre as outras (MASLAND, 2001). As células horizontais são os interneurônios da retina externa, cujos terminais dendríticos comunicam-se com os terminais axônicos dos cones e bastonetes. Numericamente, sua população é menor em relação aos outros interneurônios da retina, correspondendo a cerca de 5% das células da camada nuclear interna. Estão eletricamente unidas entre si por junções intercomunicantes, sendo responsáveis pelo sinal de retroalimentação negativa aos fotorreceptores e com papel importante na formação dos campos receptivos ao redor das células bipolares e ganglionares (DACEY, 1999). Em primatas, incluindo o homem, existem dois tipos morfológicamente distintos de células horizontais, tipo H1 e H2, que se conectam de maneira não seletiva com todos os tipos de cones. Uma das funções deste tipo celular é aumentar o contraste entre regiões claras e escuras adjacentes, ou seja, ela ajusta as respostas do sistema e diminui a redundância do sinal transmitido para o interior da retina (DACEY, 1999, 2000; MASLAND, 2001). Os dois tipos de células horizontais apresentam conexões com os três tipos de cones, no entanto a H2 apresenta maior afinidade ao cone S que a H1 (AHNELT & KOLB, 1994).

Existem vinte e nove tipos de células amácrinas na retina de mamíferos. Sua função principal é fazer sinapses inibitórias nos terminais axônicos das células bipolares, controlando a saída de informação em direção às células ganglionares. As células amácrinas têm ramificações com 2 – 4  $\mu\text{m}$  de espessura, localizadas na camada plexiforme interna. Diferente das células horizontais que tem um papel bem amplo, as células amácrinas têm função relacionada com a modelação e controle das respostas das células ganglionares (DACEY, 1999, 2000; MASLAND, 2001). Existem células amácrinas conhecidas como AI. Este tipo celular apresenta árvore dendrítica bastante ramificada, com tamanho médio, corpo

celular grande, e por isso é alvo fácil de registros intracelulares in vivo na retina. Recebem inputs de ambos cones L e M, e componentes ON e OFF do campo receptivo, e não apresentam respostas significativas oriundas dos cones S (DACEY, 1999, 2000). Outro tipo de célula amácrina, uma das mais caracterizadas na retina de mamíferos, denomina-se AII. É a principal responsável pela comunicação entre os bastonetes e as células ganglionares, e também pela modulação da resposta temporal destes fotorreceptores, através da regeneração da resposta pelo input sináptico. Pelo fato de suas ramificações serem biestratificadas, participa da sinapse inibitória de inversão de sinal, e requer o tempo de trinta minutos para que haja adaptação ao escuro (DACEY 1999). Existem também as células amácrinas dopaminérgicas, que tem por função ajustar as respostas da retina para condições claras ou escuras. A dopamina afeta muitos elementos do circuito retinal: a condutância das junções GAP entre células horizontais e amácrinas, potenciais de respostas dos receptores de glutamato ionotrópico das células bipolares, e também a proporção centro-periferia das células ganglionares (MASLAND, 2001).

As células bipolares correspondem ao terceiro tipo de célula presente na camada nuclear interna de uma típica retina de mamífero, existe cerca de nove a onze tipos distintos, cada qual carregando um diferente tipo de informação, número e distribuição de sinapses. Estas convergem os sinais dos fotorreceptores para as células ganglionares e amácrinas, e são divididas em quatro classes: células bipolares midget (MB), células bipolares difusas (DB), células bipolares do cone S (BB), células bipolares dos bastonetes (RB) (DACEY, 1999, 2000; MASLAND, 2001). Células bipolares MB correspondem a 70% da população total de células bipolares, e sua conexão ocorre com somente um tipo de cone M ou L na região central e com 2 – 4 cones na região periférica, possivelmente de ambas as classes. Nas regiões intermediárias e periféricas da retina, as células DB fazem sinapses com 5 – 10 cones M ou L,

as células BB com 1 – 5 cones S e as células RB com 15 – 60 bastonetes (MASLAND, 2001; SILVEIRA *et al.*, 2004).

Existem duas subclasses de células MB (uma ON e outra OFF), pelo menos seis subclasses de células DB (metade ON e metade OFF). As células BB e RB são de uma única classe, ON. Os dendritos das células bipolares OFF localizam-se na metade externa da camada plexiforme interna, enquanto que as arborizações dendríticas das células bipolares ON estão localizadas na metade interna dessa mesma camada. Os axônios das células ganglionares formam uma estrutura que é conhecida como nervo óptico, que é o local de saída retiniana da informação fototransduzida (SILVEIRA *et al.*, 2004).

O modo de sinalização intracelular e tipos de "inputs" inibitórios ou excitatórios das células bipolares são distintos, refletindo assim as diferenças moleculares destas células. Essas diferenças podem ser vistas, por exemplo, na maneira em que as células bipolares ramificam-se à diferentes níveis da camada plexiforme interna (interior), que contém processos de diferentes tipos de células ganglionares e amácrinas. Algumas células bipolares têm dendritos confinados somente no nível 1 da IPL, outros para o nível 2 (MASLAND, 2001).

As células bipolares não são cromaticamente seletivas, e são subdivididas fisiologicamente em dois tipos celulares: ON e OFF. Essa classificação baseia-se no tipo de receptores de glutamato presentes na membrana plasmática desta célula, que podem ser ionotrópicos de glutamato do tipo AMPA ou kainato (OFF), ou metabotrópicos de glutamato mGluR6, que agem através de segundos mensageiros (ON) (MASLAND, 2001).

As células bipolares OFF apresentam receptores ionotrópicos que permitem a passagem de cátions para o interior da célula. Na presença de luz, há diminuição da ativação desses receptores devido à diminuição de neurotransmissor na fenda sináptica e conseqüente

diminuição da entrada de cátions na célula, resultando na hiperpolarização da mesma (DHINGRA *et al.*, 1993; MASLAND, 2001; VARDI *et al.*, 2000).

Na presença de luz, os fotorreceptores hiperpolarizam e diminuem a liberação de neurotransmissor glutamato na fenda sináptica. As células bipolares ON apresentam receptores metabotrópicos de glutamato que através de segundos mensageiros controlam a abertura de canais de K<sup>+</sup>. Visto a menor ativação deste receptor na presença da luz devido a diminuição de neurotransmissor na fenda sináptica, as células bipolares ON despolarizam devido à diminuição da saída do K<sup>+</sup> intracelular (DHINGRA *et al.*, 1993; VARDI *et al.*, 2000)

A camada plexiforme interna é ricamente vascularizada e mede cerca de 18 – 36 micra de espessura. Considerada a segunda sináptica, tem circuitos que envolvem complexas interações excitatórias e inibitórias (WASSLE, 2004). Forma a junção entre os neurônios da primeira e segunda ordem e é o local onde as interações das vias laterais e verticais se fundem, produzindo os estímulos que serão levados ao cérebro pelos axônios das células ganglionares. Compõem-se pelos processos das células da camada nuclear interna e ganglionar (DACEY, 1999, 2000; LENT, 2000).

As células ganglionares são as geradoras do sinal de saída da retina e foram descritas pela primeira vez por Polyak, em 1941. A informação visual é processada por várias classes de células ganglionares retinianas, cada uma delas situando-se na saída de um microcircuito neuronal que inclui classes específicas de células amácrinas, bipolares, horizontais e fotorreceptoras (SILVEIRA *et al.*, 2004).

Existem cerca de dez a quinze tipos de células ganglionares que são facilmente diferenciáveis levando em consideração seu nível de ramificação, árvore dendrítica, e em alguns casos a fisiologia dos registros diretos, no entanto, duas classes têm sido muito estudadas e são importantes para a visão fotópica monocromática: as células ganglionares M e

P que constituem 90 % das células ganglionares da retina. Além dessas células, existem várias outras classes de células ganglionares menos estudadas, agrupadas no grupo de células K (DACEY, 1999, 2000; MASLAND, 2001).

As células M apresentam campo dendrítico de tamanho pequeno, respondem a estímulos com disparo de potenciais de ação transitório e apresentam grande sensibilidade ao contraste. Correspondem à cerca de 10% da população de células ganglionares retinianas, projetando-se para as camadas magnocelulares do núcleo geniculado lateral (LGN) (KAPLAN & SHAPLEY, 1986; SILVEIRA & PERRY, 1991). As células P são menores que as células M, e respondem tonicamente a estímulos luminosos e têm baixa sensibilidade ao contraste acromático. Representam 80% das células ganglionares retinianas e projetam-se para as camadas parvocelulares do LGN (PERRY *et al.*, 1991; LEE *et al.*, 1989). As células P apresentam otonomia cromática verde-vermelha. As células do grupo K são bastante heterogêneas entre si. Variam desde células com campos dendríticos pequenos até células com campos dendríticos gigantes. Algumas células só respondem para contrastes acromáticos, enquanto outras apresentam otonomia cromática azul-amarela (DACEY & LEE, 1994). As células K enviam projeções axonais para as camadas koniocelulares do LGN.

A camada de fibras nervosas contém os axônios das células ganglionares que convergem para formar o nervo óptico. Seu sistema vascular é exuberante, mostrando maior espessura na cabeça do nervo óptico, cerca de 20 – 30 micra e na periferia funde-se com a camada de células ganglionares. Seus axônios são desmielinizados e nela está presente o feixe papilomacular, com espessura de 10 micras (HENDRY & REID, 2000).

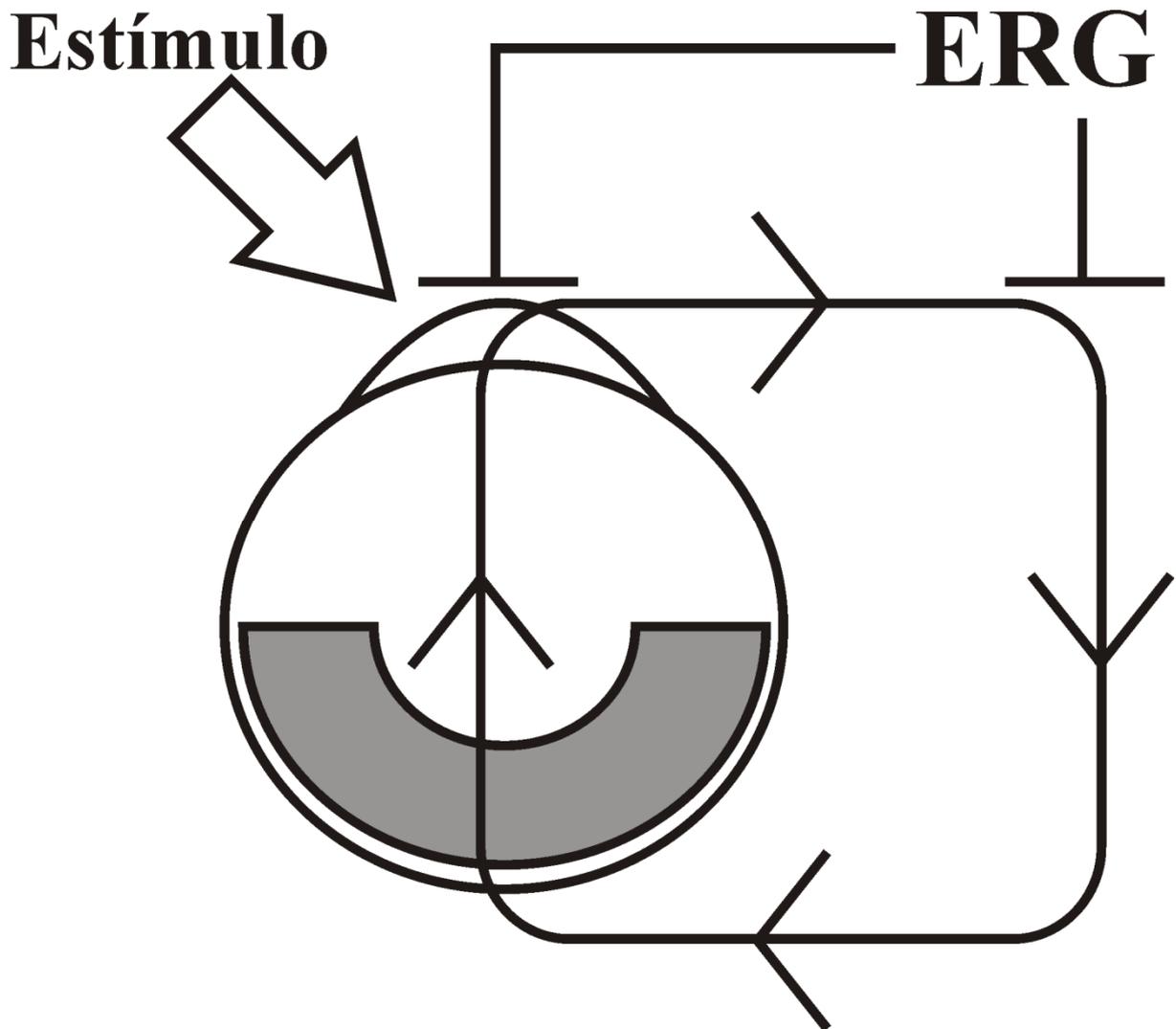
#### 1.4. ELETORRETINOGRÁFIA

O potencial de membrana das células retinianas é alterado pela estimulação luminosa. O potencial elétrico do meio extracelular, por conseguinte, também é alterado e tal

mudança do potencial elétrico é conduzida pelos meios dióptricos da retina em direção à córnea (Figura 8). Esta alteração de potencial elétrico pode ser registrada na córnea. O registro da atividade retiniana sincronizada a uma estimulação é denominado de eletrorretinografia e o teste para se obter os registros eletrorretinográficos é o eletrorretinograma (ERG) (HOLDER *et al.*, 2007; HOOD *et al.*, 2008; MARMOR *et al.*, 2009).

Até a realização de experimentos de registros unitários, o entendimento da fisiologia da retina era baseado em estudos eletrorretinográficos (GRANIT, 1947). Ao longo do tempo o ERG perdeu importância na pesquisa básica, no entanto permanece sendo utilizado como ferramenta clínica, devido ser uma técnica não invasiva e consideravelmente rápida.

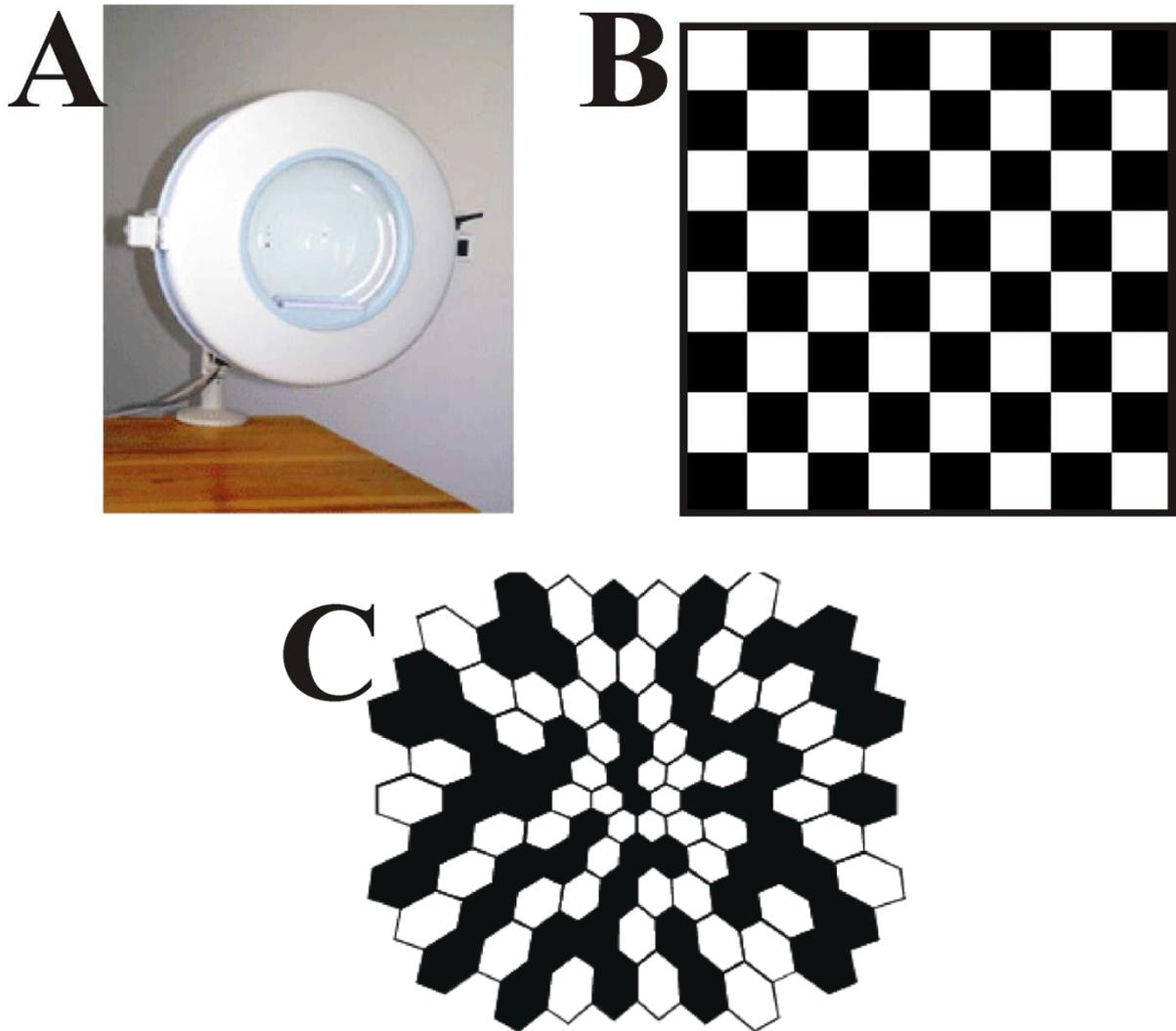
O registro eletrorretinográfico pode ser obtido através de diferentes tipos de estimulação e expressar a atividade de diferentes grupos celulares. O eletrorretinograma de campo total registra um sinal referente à atividade retiniana gerada por uma estimulação espacialmente homogênea ao longo de todo o campo visual simultaneamente. Dependendo das características do estímulo pode-se isolar a atividade de bastonetes, cones, células bipolares, células amácrinas e células ganglionares (Figura 9A) (WACHTMEISTER & DOWLING, 1978).



**Figura 8.** Representação esquemática das correntes extracelulares registradas durante o ERG. A alteração do potencial elétrico na retina é conduzida até a córnea através dos meios dióptricos.

O eletrorretinograma de padrão registra a resposta retiniana central para uma estimulação espacialmente heterogênea, ou seja, com contraste espacial, cujo sinal é gerado na camada retiniana interna, principalmente corpo celular e axônio das células ganglionares (Figura 9B) (SHERMAN, 1982; HOLDER, 1987, HOLDER et al., 2007).

No início da década de 1990 foi desenvolvida a técnica de eletrorretinografia multifocal (mfERG) por Erick Sutter e colaboradores (SUTTER, 1991; SUTTER & TRAN, 1992). Esta técnica permite a estimulação e o registro simultâneos de diferentes áreas da retina, permitindo o mapeamento funcional da mesma (Figura 9C).



**Figura 9.** Estímulos geradores de ERG. (A) Estimulador Ganzfeld ou de campo total para gerar o ERG de campo total. (B) Estímulo utilizado para gerar o ERG de padrões. (C) Arranjo de hexágonos utilizado para gerar o mfERG.

#### 1.4.1. Tecnologia básica do mfERG

Os estímulos mais comumente usados para gerar os eletrorretinogramas multifocais são conjuntos de hexágonos dispostos lado a lado, cobrindo aproximadamente 50° de ângulo visual (Figura 9C). Os hexágonos aumentam de tamanho conforme se distanciam do centro, ou seja, os hexágonos mais centrais são menores que os mais periféricos (BACH *et al.*, 2000). O tamanho dos hexágonos pode ser configurado de forma que as respostas geradas por cada um sejam semelhantes em amplitude (HOOD, 2000).

A intensidade luminosa de cada hexágono é modulada independentemente por uma sequência binária pseudoaleatória denominada sequência-m. A sequência-m é dita binária por ser composta por dois valores (por exemplo, +1 e -1). O número de elementos da sequência-m é sempre de  $2^n - 1$ , onde  $n \in \mathbf{N}$ ,  $n > 0$ . O número de elementos +1 é sempre uma unidade maior que o número de elementos -1. A sequência-m é considerada pseudoaleatória devido ao processo lógico de sua geração. Esse processo é causal determinístico que parece aleatório, mas não é, e que apresenta como benefício o fato de ser usado várias vezes para produzir exatamente os mesmos números. O processo pelo qual são geradas as sequências-m é chamado de função de retroalimentação de uma sequência de  $n$  bits (do inglês *Linear Feedback Shift Registers*) (SUTTER, 1991).

O programa de computador responsável pela estimulação lê a sequência-m em um intervalo de tempo constante, denominado de período base (bp). Cada elemento da sequência-m tem a probabilidade de 50% de ser lido. Durante a estimulação a intensidade luminosa do hexágono é mudada de acordo com a leitura da sequência-m. A apresentação do estímulo durante um bp pode conter um ou mais *frames*<sup>1</sup> ou quadros de apresentação. Quando a sequência-m apresenta valor de +1, o hexágono da estimulação exibe uma luminância máxima (alta intensidade luminosa) e caso o valor da sequência-m seja -1, o hexágono exibirá luminância mínima (baixa intensidade luminosa) (SUTTER, 2000, 2001).

Enquanto o sujeito observa o estímulo, um registro eletrorretinográfico contínuo é obtido da mesma forma que são registrados os demais tipos de eletrorretinograma. Deste único registro contínuo é derivada uma série de respostas para cada um dos hexágonos que constituem o estímulo. A essas respostas denominam-se *kernels*, os quais podem ser de primeira ou segunda ordem (SUTTER & TRAN, 1992).

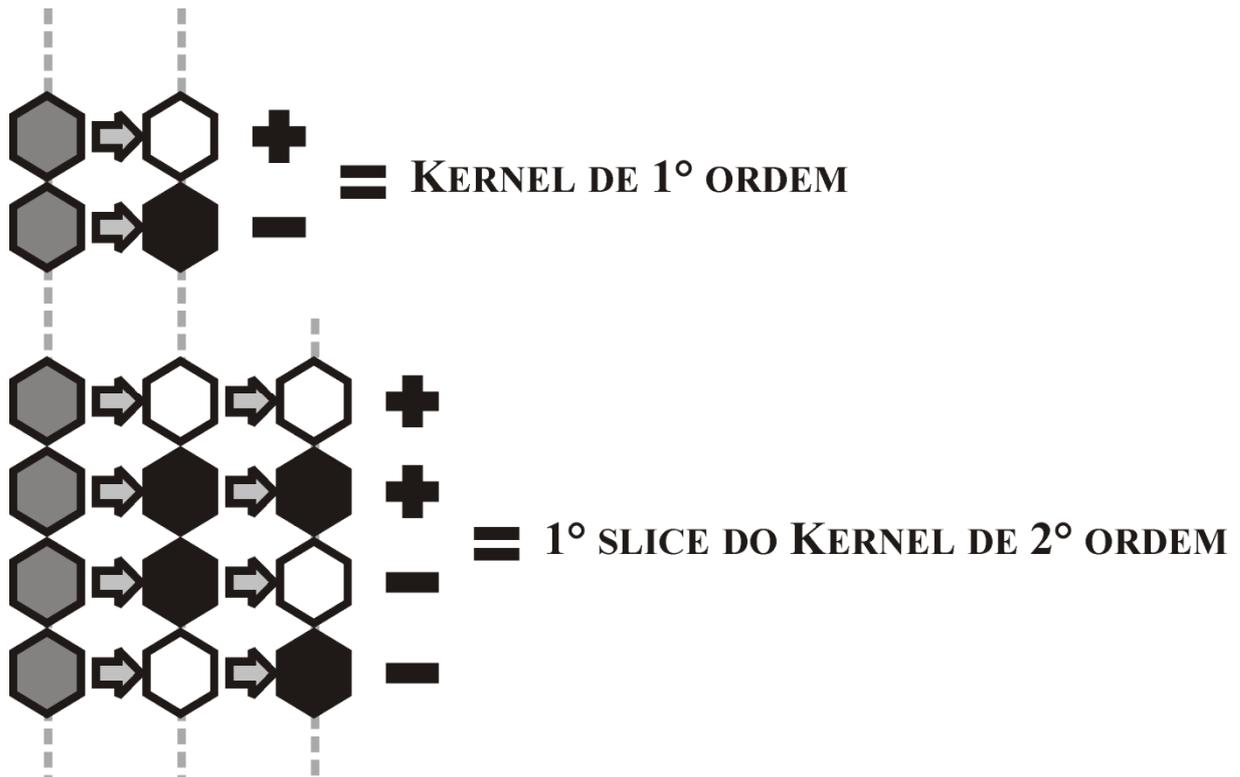
---

<sup>1</sup>*Frame* é cada quadro que constitui uma apresentação. Um monitor de computador comumente apresenta 60 ou 75 quadros ou *frames* por segundo.

A extração dos *kernels* é obtida através da correlação cruzada entre o registro contínuo e uma sequência derivada da sequência-m (SUTTER, 1991, 2000, 2001). A sequência derivada da sequência-m recebe valores + 1 ou -1 no momento da primeira amostragem de cada bp e zeros em todos os outros pontos (SUTTER, 2000) (APÊNDICE 1).

Para obtenção do *kernel* de primeira ordem a sequência derivada da sequência m recebe valores +1 no primeiro valor de um bp caso o bp apresente luminância do hexágono máxima e valores -1 caso a luminância do hexágono seja mínima. O processamento do *kernel* de primeira ordem não leva em consideração os bps precedentes (HOOD, 2000; HOOD & ZHANG, 2000; SUTTER, 2000) (Figura 10).

Para obtenção do primeiro *slice* do *kernel* de segunda ordem leva-se em consideração o bp precedente. Quando o início do bp for igual ao início do bp anterior (ambos com luminância máxima ou ambos com luminância mínima) a sequência derivada da da sequência-m recebe o valor de +1 em seu primeiro dígito para um determinado bp e o valor -1 quando o início do bp for diferente do início do período base anterior (Figura 10). Para obtenção do segundo *slice* do *kernel* de segunda ordem o raciocínio é o mesmo, no entanto leva-se em consideração dois bps precedentes (HOOD, 2000; HOOD & ZHANG, 2000; SUTTER, 2000).

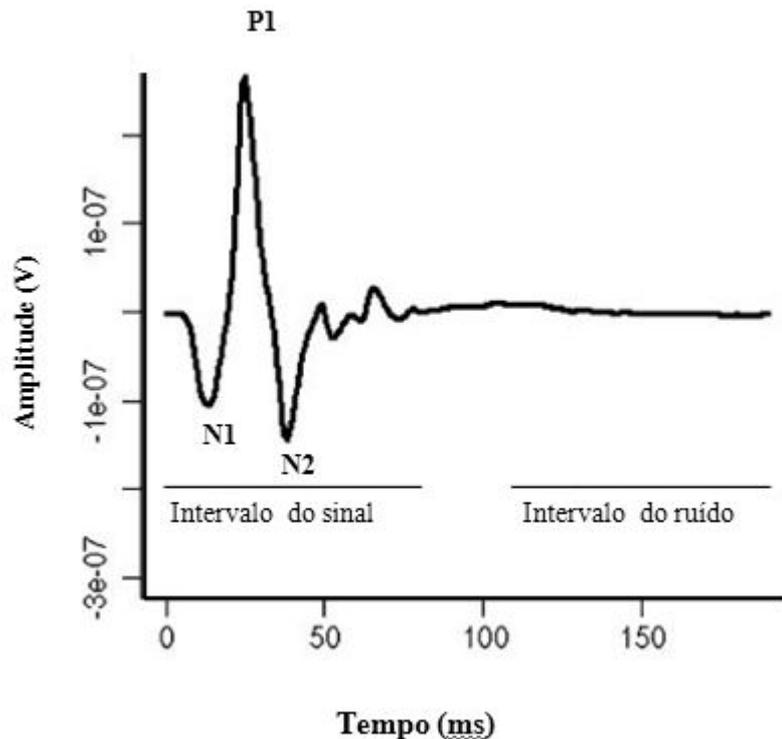


**Figura 10.** Extração dos kernels. Para o kernel de primeira ordem a sequência derivada da sequência-m recebe valores +1 e -1 no primeiro valor de um bp caso o bp apresente luminância do hexágono máxima e mínima, respectivamente.

As respostas do *kernel* primeira ordem do mfERG são representadas em onda bifásicas com uma deflexão negativa inicial (N1) seguida de um pico positivo (P1), e uma segunda deflexão negativa (N2) após o pico positivo (Figura 11) (HOOD *et al.*, 2008; LAI *et al.*, 2007). As respostas do primeiro *slice* do *kernel* de segunda ordem estão apresentadas também em ondas bifásicas com um pico inicial positivo (P1) seguida de uma deflexão negativa (N1), e um segundo pico positivo (P2). (HOOD, 2007; SUTTER, 2000).

A amplitude dos *kernels* pode ser medida como valores absolutos ou como densidade de resposta, isto é, a amplitude absoluta é dividida pela área do hexágono no qual a resposta foi provocada em unidades de V/grau quadrado. Uma das medidas de amplitude mais utilizadas é a amplitude RMS (do inglês *Root Mean Square*), a qual é uma medida estatística da magnitude de uma quantidade de variação. A medida da amplitude RMS sofre menos influência do ruído quando comparado com a medida da amplitude absoluta do pico de uma

deflexão. O tempo implícito do pico de uma deflexão é o tempo relativo entre o primeiro ponto do *kernel* ( $t=0$ ) e o ponto do pico da deflexão analisada (SUTTER, 1991, 2000).



**Figura 11.** Onda bifásica do *kernel* de primeira ordem resultante do mfERG. Observar os três componentes principais N1, P1 e N2.

Estudos em primatas não humanos têm revelado as contribuições celulares para as respostas do mfERG. O início da deflexão negativa N1 recebe contribuições das células bipolares OFF, podendo também ser influenciada por fotorreceptores, só que com intensidade menor e talvez pela retina interna. Antes de ser atingido o valor máximo da deflexão N1, este componente recebe forte influência das células bipolares ON (HOOD *et al.*, 2002).

A porção inicial da deflexão positiva P1 é a combinação da despolarização das células bipolares ON e hiperpolarização das células bipolares OFF. Entretanto, após a contribuição das células bipolares OFF atingirem seu pico máximo, o P1 recebe contribuição da despolarização de ambas células bipolares ON e OFF (HOOD *et al.*, 2002). Finalmente, a diminuição de P1 recebe ampla contribuição da repolarização das células bipolares ON, com

alguma da repolarização das células OFF e retina interna. O pico P1 ocorre entre o tempo do pico da contribuição das células bipolares OFF e ON (KRETSCHMANN *et al.*, 2000).

#### **1.4.2. Doenças que afetam a retina e a relação com mfERG**

A função retiniana pode ser afetada por possíveis danos em sua estrutura, que dependendo do local, refletem alterações na forma da onda do mfERG. Algumas doenças causam danos no segmento externo dos cones, que tem como consequência a redução da amplitude do pico positivo (P1), essa redução pode atrasar moderadamente o tempo implícito (HOOD & LI, 1997). Danos na camada plexiforme externa podem fazer com que a amplitude de resposta seja aumentada e o tempo implícito acabe atrasando (BEREZOVSKY *et al.*, 2004).

As células bipolares são responsáveis pela respostas P1. Em geral, qualquer dano ao receptor que destrua a célula ou reduza significativamente as resposta das células bipolares ON e OFF, diminuem e aumentam a amplitude de resposta do mfERG, respectivamente, enquanto que o tempo implícito pode atrasar moderadamente. Danos na camada plexiforme interna, pode fazer com que ocorreram alterações na transmissão sináptica e consequentemente haja um pequeno atraso no tempo implícito (MARMOR, *et al.*, 2004).

#### **1.4.3. Eletrorretinograma multifocal como método avaliativo e objetivo das alterações funcionais da retina**

A técnica eletrofisiológica visual multifocal (mfERG) foi desenvolvida por Sutter e colaboradores, cujo objetivo era registrar simultaneamente diferentes regiões da retina e do córtex visual durante um tempo relativamente curto, em relação a outras técnicas (BASELER *et al.*, 1994; BEARSE & SUTTER, 1996; SUTTER, 1991; SUTTER & TRAN, 1992). Os *kernels* das respostas são extraídos através da correlação cruzada entre os dados do registro

contínuo e a matriz de estimulação derivada da sequência m, durante o momento em que cada área do estímulo estava sendo iluminada (SUTTER, 2001).

O estímulo enviado do eletrorretinograma multifocal origina respostas que são proporcionais à excentricidade e ao tamanho dos hexágonos do estímulo, e que são refletidos na retina. A relação entre o tamanho do hexágono e a amplitude de resposta do mfERG é reflexo da excentricidade, ou seja, a amplitude de resposta do mfERG tende a aumentar conforme o hexágono aumenta de tamanho. Entretanto, como o tamanho do hexágono é consideravelmente grande, o mapa topográfico desta técnica perde resolução espacial. O tamanho do hexágono é escalado inversamente com a densidade de cones na retina, resultando na obtenção de respostas similares através do campo visual. A Sociedade Internacional de Eletrofisiologia Clínica da Visão (ISCEV) recomenda para a investigação clínica o protocolo de 60 ou 103 hexágonos (HOOD *et al.*, 2007).

Os sistemas comerciais disponíveis para registros do mfERG comumente mostra arranjos de registros, dados de densidade de resposta e dados de tempo implícito. Os dados do arranjo de registros informam a respeito da forma de onda do *kernels*. A densidade de resposta corresponde à taxa entre a amplitude RMS e absoluta, e a área do hexágono obtém a resposta local. O tempo implícito é o tempo relativo do primeiro ponto da resposta derivada até o pico do componente de resposta (SUTTER 1991, 2001).

KRETSCHMANN *et al.*, (2000) afirmam que muitos casos clínicos de perda visual local podem ser detectados apenas pela forma do arranjo, uma vez que os gráficos da densidade de resposta mostram artifícios técnicos que podem mascarar a presença de algum tipo de disfunção na retina. Mesmo quando nenhuma resposta é registrada, os gráficos da densidade de resposta podem mostrar um falso pico central (HOOD *et al.*, 2003, 2007). Outras dificuldades para a investigação clínica é a interpretação objetiva dos mfERGs como respostas normais, respostas baixas ou ausências de respostas.

## 2. OBJETIVOS

### 2.1. GERAL

❖ Desenvolver uma análise quantitativa que permita separar registros com sinal correlacionado com a estimulação visual de registros que contenham ruído em eletrorretinograma multifocal de sujeitos saudáveis e de pacientes com perda visual decorrentes da toxoplasmose ocular.

### 2.2. ESPECÍFICOS

❖ Registrar as respostas eletrorretinográficas de sujeitos saudáveis e com sorologia positiva para toxoplasmose;

❖ Medir as amplitudes e o tempo implícito das deflexões do *kernels* de primeira ordem;

❖ Estimar a razão sinal-ruído dos mfERG;

❖ Aplicar um protocolo de avaliação de razão sinal ruído em sujeitos saudáveis e pacientes com perda visual decorrentes de toxoplasmose ocular.

❖ Comparar os resultados da avaliação eletrofisiológicas dos pacientes com toxoplasmose ocular com os seus resultados da perimetria estática de Humphrey.

### 3. MATERIAIS E MÉTODOS

#### 3.1. SUJEITOS

Foram estudados dez sujeitos com idade média de  $25,4 \pm 3,5$  anos, que participaram voluntariamente dos experimentos. A acuidade visual dos indivíduos foi aferida pelo autorrefratômetro (Humphrey Systems, ZEISS) e quando necessário, foi corrigida por lentes dióptricas para o valor de 20/20. Nenhum dos sujeitos apresentou histórico de doenças infecciosas, vasculares, visuais ou neurodegenerativas. Antes do início dos registros eletrofisiológicos, as pupilas dos sujeitos foram dilatadas e anestesiadas anteriormente a colocação do eletrodo. Todos foram instruídos sobre a necessidade de ficarem imóveis e atentos durante a aquisição da mfERG.

Também foram testados três sujeitos com histórico de infecção pelo protozoário *Toxoplasma gondii*, (RFA090116 – sexo masculino, 24 anos, diagnóstico de toxoplasmose adquirida; RMV090123 – 21 anos, sexo masculino, diagnóstico de toxoplasmose adquirida; JCC090109 - 23 anos, sexo feminino, diagnóstico de toxoplasmose congênita). Todos foram encaminhados pelo setor de oftalmologia do Núcleo de Medicina Tropical da Universidade Federal do Pará. A sorologia IgM positiva para toxoplasmose foi comprovada laboratorialmente. Os procedimentos para a realização dos testes eletrofisiológicos dos pacientes com toxoplasmose foi o mesmo empregado para os indivíduos do grupo de sujeitos saudáveis.

Todos os participantes deste trabalho foram esclarecidos sobre os objetivos do estudo e da divulgação dos resultados, e concordaram com o termo de livre consentimento (APÊNDICE 2) que foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa (CEP) envolvendo seres humanos, do Núcleo de Medicina Tropical da Universidade Federal do Pará (Nº. 057/2008, ANEXO I), seguindo a resolução 196/66 do Conselho Nacional de Saúde do Brasil.

Os pacientes saudáveis e com toxoplasmose realizaram além da eletrofisiologia a perimetria estática de Humphrey usando o protocolo 30 – 2 com estratégia SITA-fast de detecção do limiar (Humphrey Field Analyzer II, Carl Zeiss Medtec, Dublin, CA).

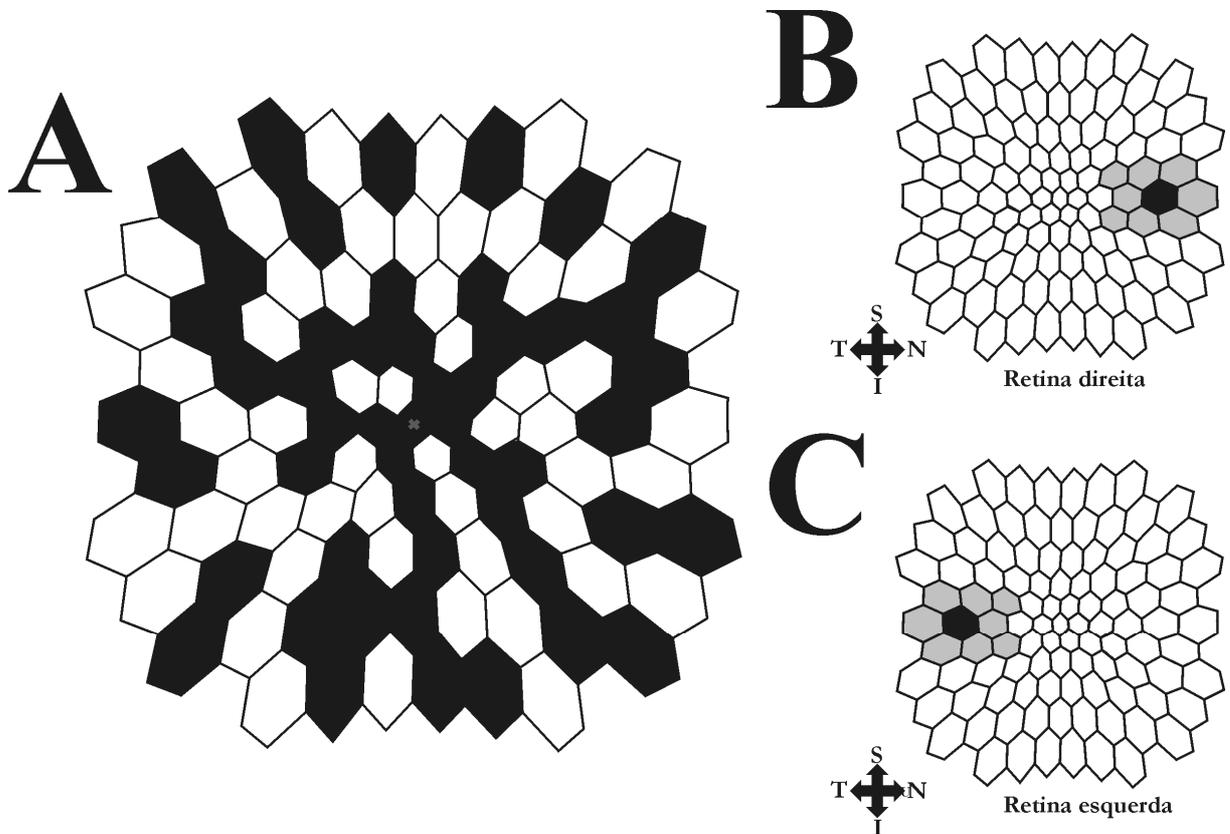
### 3.2. ELETORRETINOGRRAFIA MULTIFOCAL (mfERG)

#### 3.2.1. Estimulação visual

O sistema VERIS Science v6.0.5d (Electro-Diagnostic Imaging, EDI, San Mateo, California) foi usado para gerar um conjunto de 103 hexágonos pretos e brancos, cobrindo aproximadamente 45° x 45° de campo visual (Figura 12A). Este estímulo foi mostrado em um micromonitor FMSII em cores, taxa de atualização de 60 Hz e resolução espacial de 1280 x 1024 pixels, que foi posicionado em frente ao olho do sujeito. A distância óptica do olho ao estímulo foi ajustada até o foco apropriado ter sido encontrado. O teste foi realizado monocularmente.

Os hexágonos foram escalonados de acordo com a excentricidade para equalizar a amplitude de resposta através do campo visual, seguindo recomendações da ISCEV (HOOD *et al.*, 2008). A modulação da luminância temporal para cada hexágono foi controlada por um ciclo completo de uma mesma sequência-m binária com  $2^{14} - 1$  elementos (SUTTER & TRAN, 1992), e com os pontos iniciadores deslocados no tempo relativo para outros elementos. O estado 1 e o estado -1 da sequência-m binária representam o período *flash* (branco) e não *flash* (preto), respectivamente. O período base foi de 16,6 ms (1 *frame* por estado de sequência-m). O ciclo completo de estimulação tem a duração de 4 minutos e 33 segundos, divididos em 8 segmentos cada qual com 34,13 segundos. A luminância dos estímulos hexagonais pretos é de 0 cd/m<sup>2</sup> (luminância residual do monitor) e dos brancos 202 cd/m<sup>2</sup>. Uma cruz central vermelha em forma de ×, correspondendo a 1° de ângulo visual, foi

usado como ponto de referência e a fixação do olho foi monitorada durante a estimulação visual por uma câmera infravermelha localizado no interior do estímulo.



**Figura 12.** (A) Arranjo de hexágonos utilizados como estímulo para obter os 103 mfERGs. (B-C) Projeções do estímulo sobre a retina direita e esquerda, respectivamente. As áreas em destaque (em tons de cinza) indicam os hexágonos que se projetam sobre a provável localização do disco óptico.

### 3.2.2. Registro

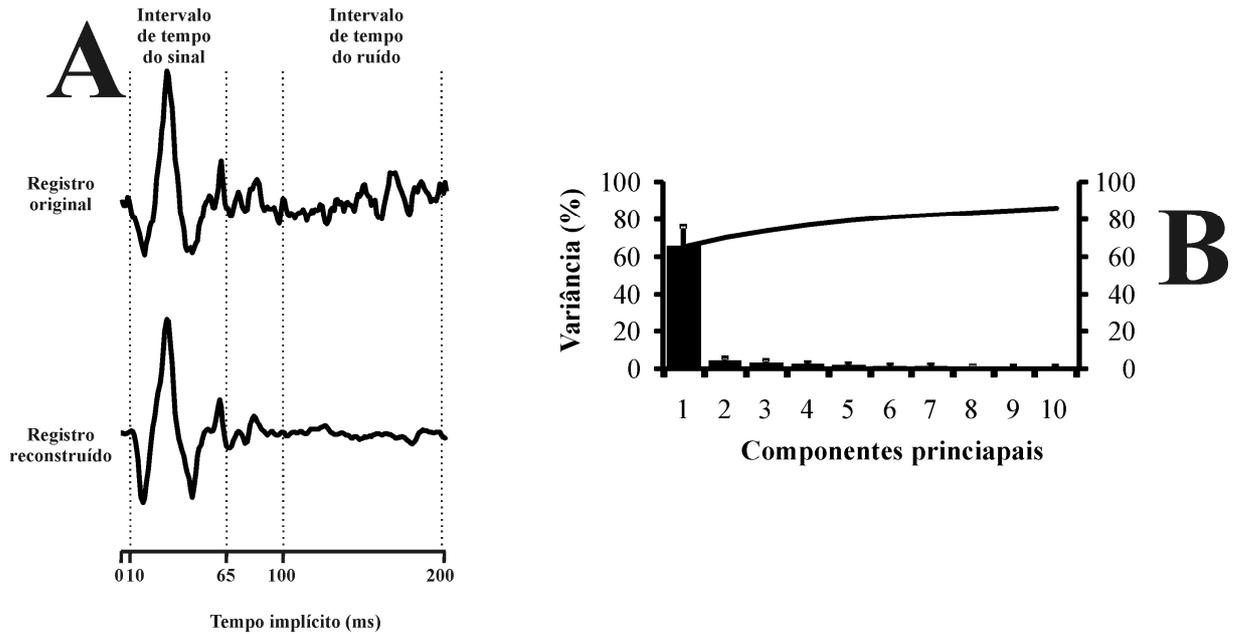
Antes do teste foram aplicados no olho do paciente duas gotas do anestésico cloridrato de proximetacaína 0,5% (Anestalcon, Alcon), seguido de duas gotas de tropicamida 1% (Mydriacil, Alcon) e duas gotas de cloridrato de fenilefrina 10% (Fenilefrina, Allergan), que são dilatadores de pupila. Após esse procedimento, aguardamos cerca de 10 minutos para que ocorresse a dilatação de pelo menos 6 mm da pupila. Foi instilado metilcelulose a 2% na cúpula da lente do eletródio corneano de registro. Posterior a limpeza com gel abrasivo (Nuprep, D.O.Weaver, Aurora, EUA) do lobo da orelha ipsilateral ao olho testado, foi

colocado o eletródio de superfície (terra) com uma pasta eletrolítica (Ten20, D.O.Weaver, EUA).

Após a medida monocular da acuidade visual com a melhor correção dióptrica através do autorrefratômetro (Humphrey System), os registros contínuos foram captado por eletródio corneano bipolar em forma de lente de contato (Burian-Allen - GoldLens, Doran Instruments, MD, USA) no olho com menor erro dióptrico. A impedância do eletródio sempre esteve abaixo de 2 k $\Omega$ . Os sinais bioelétricos foram amplificados com um ganho de 50.000 vezes, mostrados 16 vezes por *frame* (cerca de 960 Hz), e usados filtros eletrônicos de 10-300 Hz usando um amplificador (Physiodata Amplifier) diferencial de 15LT (Grass, Quincy, Massachusetts). Foi usada uma placa de aquisição de dados (PCI ESeries, National Instruments, TX) para digitalizar os sinais analógicos. A câmera foi usada para monitorar a posição do olho, o alinhamento do eletródio de lente de contato com a pupila e a estabilidade da fixação durante o registro. Quando da perda de fixação, o segmento foi interrompido e descartado.

### **3.2.3. Análise dos componentes principais**

Realizou-se a análise dos componentes principais como uma decomposição de valores singulares usando uma matriz de 103 x 193 correspondendo aos 103 registros mfERG por 193 pontos de amostragem do registro obtidos do intervalo de 0 – 200 ms. O primeiro e o segundo componentes principais explicam a maior parte da variância dos dados e por isso foram usados para reconstruir os registros do mfERG (Figura 13). Então, foram comparados os resultados da análise SNR realizado no registro original e o registro reconstruído, seguindo o protocolo desenvolvido por Zhang e Hood (2004) para o mfVEP. O APÊNDICE 3 traz o código em MATLAB para a aplicação da decomposição em valores singulares dos dados de registros e sua posterior reconstrução com os dois primeiros componentes principais.



**Figura 13.** Os registros originais (A) foram processados por uma análise de componentes principais através de decomposição em valores singulares. Os registros foram reconstruídos com os dois primeiros componentes principais. (B) Gráfico de Pareto indicando a contribuição de cada componente principal sobre a variância total dos dados de registro.

### 3.2.4. Análise dos dados

O sistema VERIS Science v6.0.5d ( EDI) foi usado para extrair o *kernel* de primeira ordem através da correlação cruzada entre a sequência-m e o registro contínuo. Os dados do registro no intervalo entre 0 e 200 ms foram exportados para análise no ambiente de programação MATLAB (The Mathworks, Natick, Massachusetts).

Realizou-se a avaliação da razão sinal-ruído (SNR) de cada resposta local de todos os sujeitos, baseado em um método similar ao desenvolvido por Zhang *et al.*, 2002, para análise do potencial visual provocado multifocal (mfVEP), chamado de método mnSNR (Figura 13). Primeiro, foi calculado a amplitude RMS do *kernel* de primeira ordem para o intervalo de tempo que compreende o sinal, localizado entre 10 – 65 ms, e para o intervalo de tempo que compreende somente o ruído não correlacionado com a estimulação visual, localizado entre 100 – 200 ms (Equação 1 e 2, respectivamente). Estimou-se a SNR para o intervalo de tempo do sinal (SNR do sinal  $_{\text{hexágono } j\text{th}}$ ) como a razão entre a amplitude RMS do

sinal do  $j$ th hexágono e a média da amplitude RMS do ruído para todos os 103 hexágonos do mfERG obtidos dos mesmos sujeitos (Equação 3). Para obter um valor equivalente para o intervalo do ruído ( $SNR$  do ruído<sub>hexágono (jth)</sub>), dividiu-se a amplitude RMS do ruído para o  $j$ th hexágono pela média da amplitude RMS do ruído (Equação 4).

Equação 1: 
$$\text{Amplitude RMS do Sinal}_{\text{hexágono (jth)}} = \sqrt{\frac{\sum_{t=10}^{199} (R_t - \bar{X}_{10 \text{ to } 65})^2}{N}}$$

Onde, Amplitude RMS do sinal<sub>hexágono (jth)</sub> é a amplitude RMS calculada sobre o intervalo de tempo do sinal do  $j$ th hexágono do registro,  $R_t$  é a amplitude absoluta do registro no tempo  $t$ ,  $\bar{X}_{10 \text{ to } 65}$  é a amplitude média do registro no intervalo temporal do sinal, e  $N$  é o número de pontos do registro no intervalo de tempo do sinal.

Equação 2: 
$$\text{Amplitude RMS do Ruído}_{\text{hexágono (jth)}} = \sqrt{\frac{\sum_{t=100}^{200} (R_t - \bar{X}_{100 \text{ to } 200})^2}{N}}$$

Onde, Amplitude RMS do ruído<sub>hexágono (jth)</sub> é a amplitude RMS calculada sobre o intervalo de tempo do ruído do  $j$ th hexágono do registro,  $R_t$  é a amplitude absoluta do registro no tempo  $t$ ,  $\bar{X}_{100 \text{ to } 200}$  é a amplitude média do registro no intervalo temporal do ruído, e  $N$  é o número de pontos do registro no intervalo de tempo do ruído.

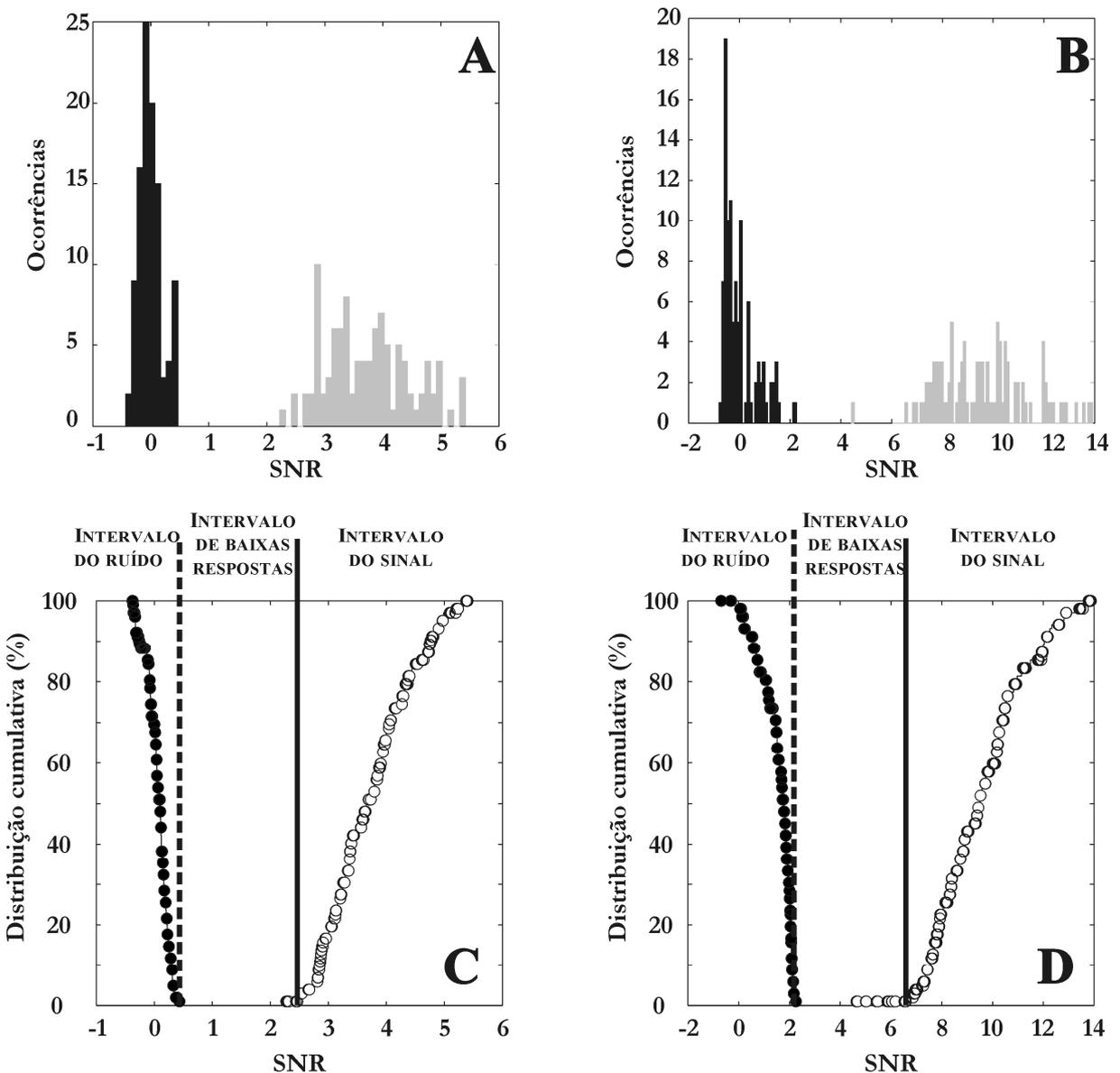
Equação 3: 
$$SNR \text{ do Sinal}_{\text{hexágono (jth)}} = \frac{\text{Amplitude RMS do Sinal}_{\text{hexágono (jth)}}}{\text{Amplitude RMS média do Ruído}_{\text{hexágono (1 a 103)}}} - 1$$

Onde,  $SNR$  do sinal<sub>hexágono (jth)</sub> é a  $SNR$  do intervalo de tempo do sinal para o  $j$ th hexágono do registro, Amplitude RMS do sinal<sub>hexágono (jth)</sub> é a amplitude RMS para o intervalo de tempo do sinal do  $j$ th hexágono do registro, Amplitude RMS média do ruído<sub>hexágono (1 a 103)</sub> é a média da amplitude RMS do ruído para os 103 hexágonos do registro.

Equação 4: 
$$SNR \text{ do Ruído}_{\text{hexágono (jth)}} = \frac{\text{Amplitude RMS do Ruído}_{\text{hexágono (jth)}}}{\text{Amplitude RMS média do Ruído}_{\text{hexágono (1 a 103)}}} - 1$$

Onde,  $SNR_{\text{hex\u00e1gono } (jth)}$  \u00e9 a SNR do intervalo de tempo do ru\u00eddo para o  $jth$  hex\u00e1gono do registro, Amplitude RMS do ru\u00eddo $_{\text{hex\u00e1gono } (jth)}$  \u00e9 a amplitude RMS para o intervalo de tempo do ru\u00eddo do  $jth$  hex\u00e1gono do registro, Amplitude RMS m\u00e9dia do ru\u00eddo $_{\text{hex\u00e1gono } (1 \text{ a } 103)}$  \u00e9 a m\u00e9dia da amplitude RMS do ru\u00eddo para os 103 hex\u00e1gonos do registro.

A distribui\u00e7\u00e3o cumulativa foi usada para definir tr\u00eas regi\u00f5es de an\u00e1lise (Fig. 14): uma regi\u00e3o compreendendo 99% dos valores SNR do ru\u00eddo, um intervalo de SNR do ru\u00eddo ou intervalo sem resposta; uma regi\u00e3o compreendendo 99% dos valores SNR do sinal, um intervalo de SNR do sinal ou intervalo com respostas v\u00e1lidas; e uma regi\u00e3o intermedi\u00e1ria entre esses dois intervalos dos valores de SNR ou intervalo de respostas diminuídas.



**Figura 14.** Distribuição cumulativa da SNR dos mfERGs. (A e C) Histogramas de frequência e distribuição cumulativa da SNR dos registros contínuos e (B e D) dos registros reconstruídos. Em sujeitos saudáveis foi possível separar três intervalos de SNR: intervalo do ruído que inclui 99% das SNR do ruído; intervalo do sinal que inclui 99% das SNR do sinal; intervalo de baixas respostas que inclui SNR do sinal com valores superiores ao limite superior do limite do intervalo do ruído (linha tracejada) e valores inferiores ao limite inferior do intervalo do sinal (linha contínua).

### 3.2.5. Aplicação do protocolo de avaliação dos mfERG em uma simulação de perda visual total

Para simular uma perda visual total foi registrado em um béquer com solução salina as alterações de potencial elétrico equivalente aos mfERG de um paciente com perda funcional retiniana total. Os mesmos protocolos de análise de dados aplicados aos pacientes com toxoplasmose foram aplicados aos registros obtidos do béquer de solução salina.

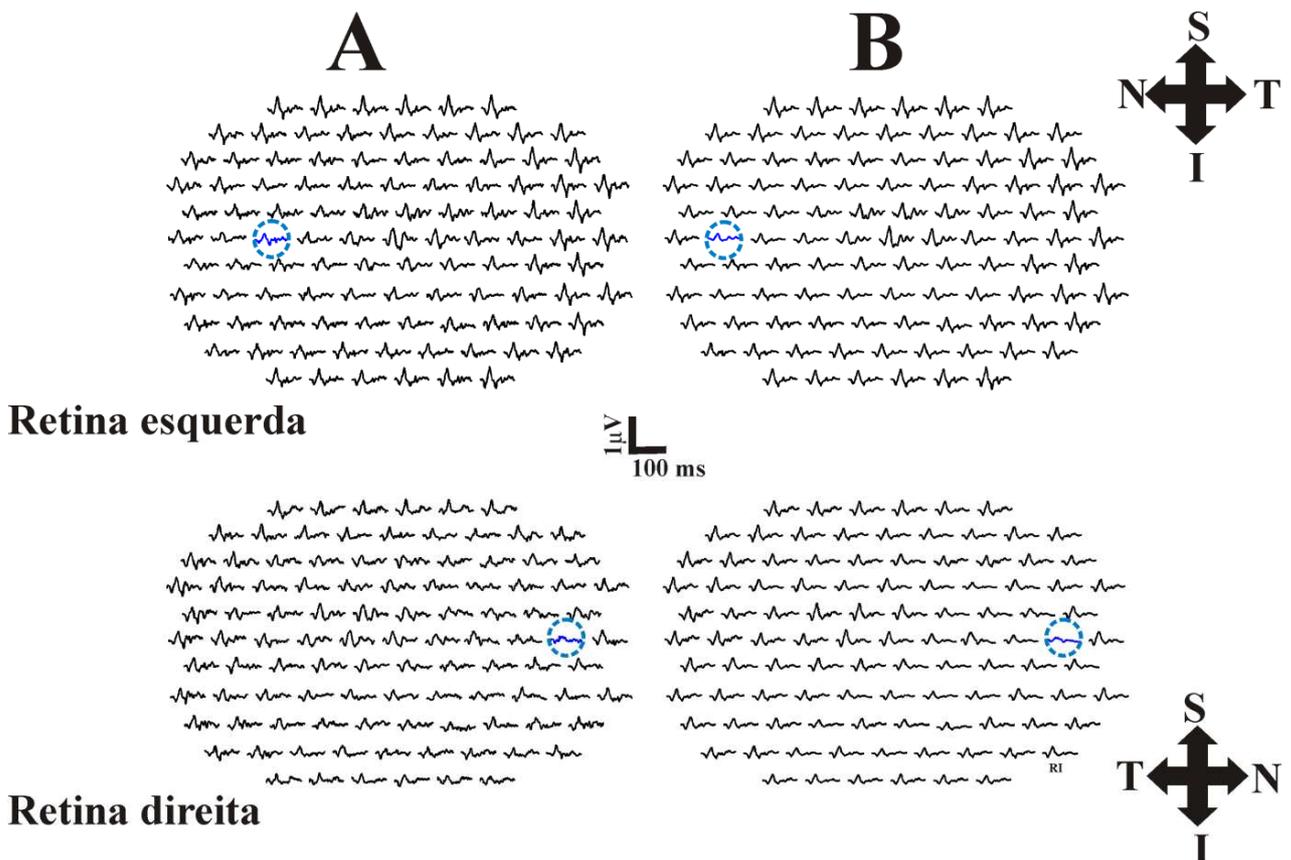
## 4. RESULTADOS

### 4.1. REGISTROS mfERG

Para todos os sujeitos saudáveis, os registros mfERG originais e reconstruídos para o *kernel* de primeira ordem exibiram três deflexões como descritos pela ISCEV (HOOD *et al.*, 2008). Os registros de todos os sujeitos são mostrado no APÊNDICE 4. Três deflexões, N1, P1, e N2 foram identificadas na maioria dos registros, principalmente nos registros reconstruídos (Fig. 13). A Figura 15 mostra os registros originais e reconstruídos pela PCA de dois sujeitos controle e a tabela 1 mostra o intervalo de valores da mediana, máximos e mínimos, para a amplitude RMS do sinal e tempo implícito dos componentes N1, P1 e N2 de todos os 103 registros de todos os sujeitos controle.

**Tabela 1.** Valores de mediana para a amplitude RMS e tempo implícito dos componentes N1, P1 e N2 dos mfERG do grupo controle (n = 10)

	Registros originais		Registros reconstruídos	
	Mínimo	Máximo	Mínimo	Máximo
Amplitude RMS ( $\mu\text{V}$ )	0,073	0,108	0,071	0,101
Tempo implícito N1 (ms)	14,58	16,14	15,62	16,67
Tempo implícito P1 (ms)	29,68	31,25	31,25	31,25
Tempo implícito N2 (ms)	42,71	46,88	45,83	46,35



**Figura 15.** Kernel de primeira ordem de dois sujeitos saudáveis (linhas superior e inferior) obtidos com os dados originais (coluna A) e com os dados reconstruídos com os dois primeiros componentes principais (coluna B). Os registros em preto mostram aqueles com SNR do sinal no intervalo de SNR do sinal. Os registros azuis circundados mostram aqueles com SNR do sinal no intervalo de SNR de baixas respostas, indicando a localização da cabeça do nervo óptico.

#### 4.2. AVALIAÇÃO DA RAZÃO SINAL-RUÍDO (SNR)

Para os registros originais e reconstruídos, as distribuições cumulativas para o intervalo de tempo do sinal e do ruído foram estimadas. O resultado para um único sujeito saudável foi mostrado na Figura 14. As distribuições cumulativas de todos os sujeitos estão no APÊNDICE 4. Para o grupo dos dez sujeitos saudáveis, a média do limite superior para o intervalo de SNR do ruído foi de  $0,53 \pm 0,12$  e  $1,79 \pm 0,54$ , e a média do limite inferior para o intervalo de SNR do sinal foi de  $1,33 \pm 0,64$  e  $4,49 \pm 1,76$ , para os registros originais e reconstruídos, respectivamente.

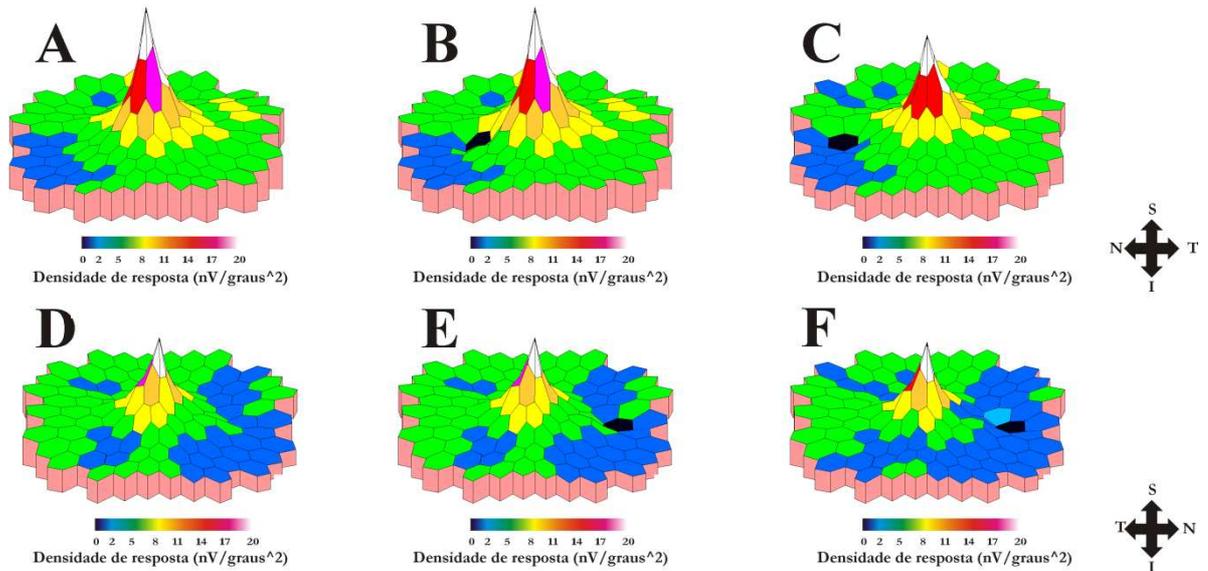
Analisando os registros originais e reconstruídos, observou-se que nenhum sujeito mostrou sobreposição de curvas da distribuição cumulativa, conseqüentemente, o limite inferior do intervalo de SNR do sinal sempre foi maior do que o limite superior do intervalo de SNR do ruído. Para registros originais, a diferença média entre os dois limites foi de  $0,8 \pm 0,63$  e a média dos limites dos intervalos de confiança foi de 0,41-1,2. Já para os registros reconstruídos, esses valores foram de  $2,7 \pm 1,46$  e 1,78-3,6, respectivamente. Esses valores foram significativamente diferentes entre os registros originais e reconstruídos (teste t Student's, graus de liberdade = 9;  $P < 0.001$ ).

A figura 15 mostra o arranjo dos registros originais e reconstruídos obtidos de dois sujeitos saudáveis, S1 e S2. Os registros mostrados em preto têm SNR do sinal maior do que o limite inferior do SNR do sinal e são considerados respostas seguras ou confiáveis. Registros em azul têm valores de SNR localizados entre o limite superior da SNR do ruído e o limite inferior da SNR do sinal, e são considerados respostas com amplitude diminuídas obtidas pelo estímulo localizado na região da cabeça do nervo óptico. Em sujeitos saudáveis, não há registros com SNR abaixo do limite superior da SNR do ruído e que podem ser classificadas como ausência de resposta.

Para análises adicionais, somou-se o número de registros que não apresentaram resposta e registros com respostas diminuídas para identificar áreas com nenhuma ou diminuída sensibilidade visual. Em sujeitos saudáveis, o número de registros que indicam diminuição funcional identificados pela avaliação da SNR foi somente uma para cada retina. Em registros originais de sete sujeitos e em registros reconstruídos de nove sujeitos saudáveis, a região de nenhuma ou baixa atividade funcional foi localizada na região da retina nasal que corresponde a nove hexágonos de estimulação localizados na cabeça do nervo óptico e sua região vizinha (Figs. 12B-C e 15). Na Figura 12, o hexágono mais escuro apresentou maior frequência de ausência ou diminuição de respostas (5/10 e 7/10 para registros originais e reconstruídos, respectivamente) e os hexágonos cinzas representam outros lugares com menor frequência de respostas diminuídas ou ausência de resposta.

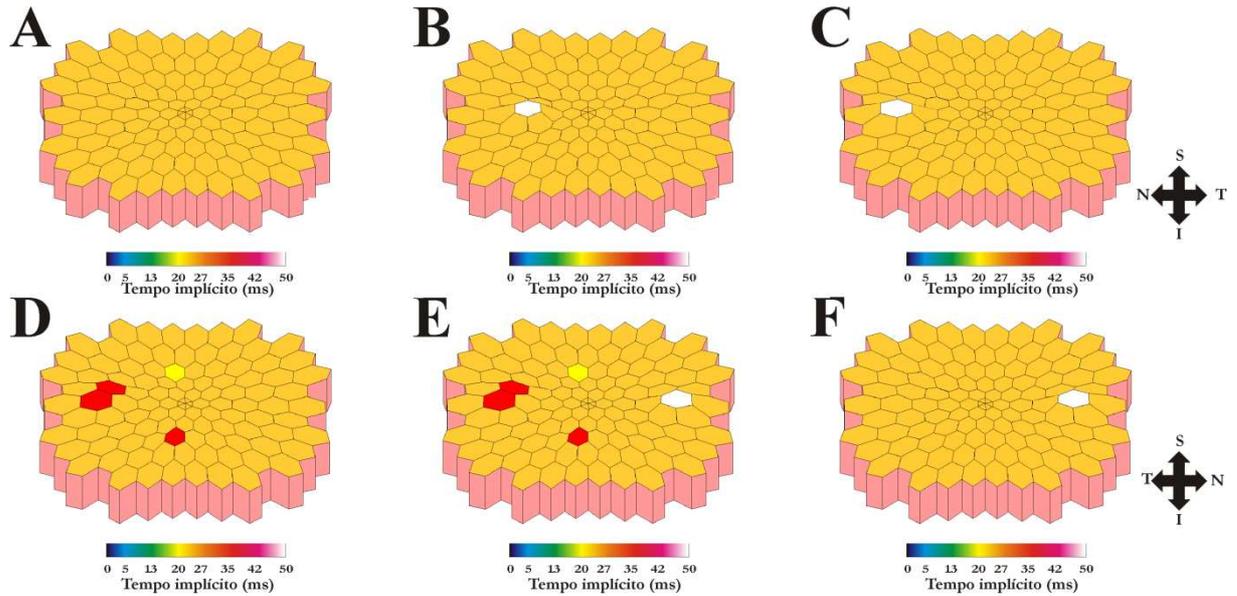
#### 4.3. DENSIDADE DE RESPOSTA E TEMPO IMPLÍCITO P1

A Figura 16 ilustra os gráficos tridimensionais (3D) da densidade de resposta para diferentes regiões da retina e semelhantes para dois sujeitos saudáveis da Figura 15. Os gráficos de densidade de resposta para todos os sujeitos estão no APÊNDICE 4. Os gráficos permitem a comparação dos dados originais sem avaliação da SNR (Figura 16A e D), dados originais com avaliação da SNR (Figura 16B e E), e registros reconstruídos com a avaliação da SNR (Figura 16C e F). O hexágono que correspondente às áreas de respostas diminuídas ou ausentes foram representados com amplitude zero (hexágonos pretos).



**Figura 16.** Gráficos de densidade de resposta de dois sujeitos saudáveis (linhas superior e inferior). (A e D) Gráficos gerados pelos dados originais sem avaliação da SNR; (B e E) Gráficos gerados pelos dados originais com avaliação da SNR; (C e F) Gráficos gerados pelos dados reconstruídos com os dois primeiros componentes principais e avaliação da SNR. Os hexágonos pretos indicam os locais cujos registros apresentavam a SNR do sinal no intervalo de baixas respostas ou de ausência do sinal. N, nasal; T, temporal; S, superior; I, inferior.

A figura 17 mostra o gráfico de tempo implícito da deflexão P1 dos mesmos dois sujeitos da figura anterior. Os gráficos de tempo implícito de N1, P1 e N2 para todos os sujeitos estão no APÊNDICE 4. Os hexágonos em branco representam os dados da amplitude que foram usados nos gráficos para identificar as regiões com ausência ou diminuição das respostas, que correspondem à latência infinita ou muito alta. Os três pares de gráficos comparam os dados dos registros originais sem avaliação da SNR (Figuras 17A e D), dados dos registros originais com avaliação da SNR (Figuras 17B e E) e os dados dos registros reconstruídos com avaliação da SNR (Figuras 17C e F).

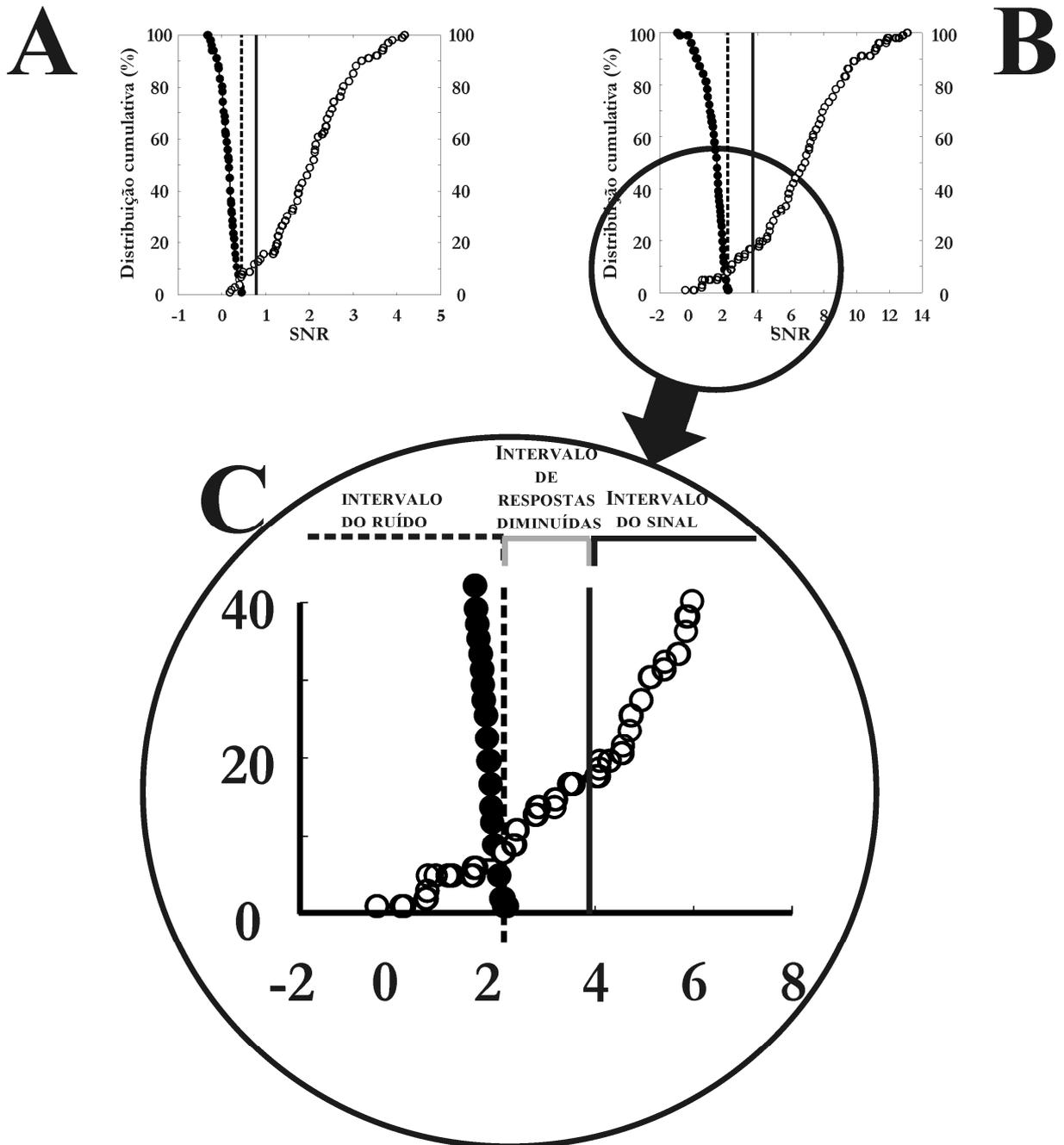


**Figura 17.** Gráfico de tempo implícito de P1 para os dois sujeitos da figura anterior. (A e D) Gráfico gerado pelos dados originais sem avaliação da SNR. (B e E) Gráfico gerado pelos dados originais com avaliação da SNR. (C e F) Gráfico gerado pelos dados reconstruídos com os dois primeiros componentes principais com avaliação da SNR. N, nasal; T, temporal; S, superior; I, inferior.

#### 4.4. APLICAÇÃO DA AVALIAÇÃO SNR EM CASOS DE PERDA VISUAL

As Figuras 18 – 21 ilustram os resultados de sujeito RFA090116 com perda visual decorrente da infecção pelo protozoário *Toxoplasma gondii*. Os resultados referentes aos demais pacientes com histórico de toxoplasmose estão no APÊNDICE 5. A Figura 18 mostra as distribuições cumulativas dos valores estimados da SNR nos intervalos do sinal e ruído dos registros originais e reconstruídos para os sujeitos RFA090116. As distribuições cumulativas do sinal e ruído, tanto para os dados originais como para os dados reconstruídos, sobrepõem-se em certa extensão. Para os pacientes, como o limite inferior do sinal foi menor que o limite superior do ruído trabalhou-se com um limite inferior redefinido da SNR do sinal. Primeiro, foi estimado o limite de confiança inferior da distancia média entre o limite superior da SNR do ruído e o limite inferior da SNR do sinal obtidos dos sujeitos saudáveis, 0,41 e 1,78 para registros originais e reconstruídos, respectivamente. Então, este valor foi adicionado ao limite superior da SNR do ruído na distribuição cumulativa dos pacientes para obter o limite inferior

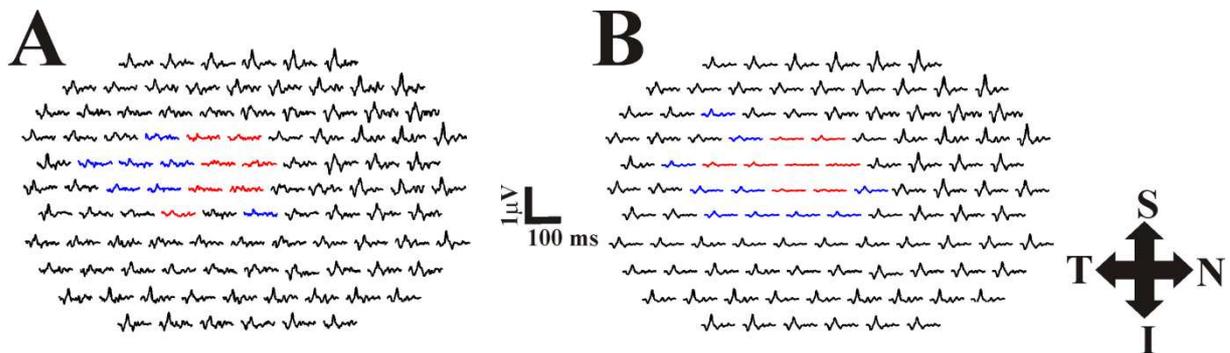
da SNR do sinal. Usando o valor da SNR do ruído e o valor redefinido para o limite inferior da SNR do sinal, os registros dos pacientes foram classificados como respostas confiáveis com o sinal correlacionado com o estímulo visual (Figura 19, registros em preto), respostas diminuídas (Figuras 19, registros em azul) e ausência de respostas (Figuras 19, registros em vermelho).



**Figura 18.** Distribuições cumulativas dos dados originais (A) e reconstruídos (B) do paciente RFA090116. Em destaque mostra a sobreposição das curvas. Como o limite inferior do intervalo de SNR do sinal foi menor que o limite superior do intervalo de SNR do ruído (linha

tracejada), foi necessário estimar um novo limite inferior do intervalo de SNR do sinal (linha contínua). Para tal, o valor do limite superior do intervalo de SNR do ruído foi somado ao limite de confiança inferior do da diferença média entre os limites do sinal e do ruído do grupo controle.

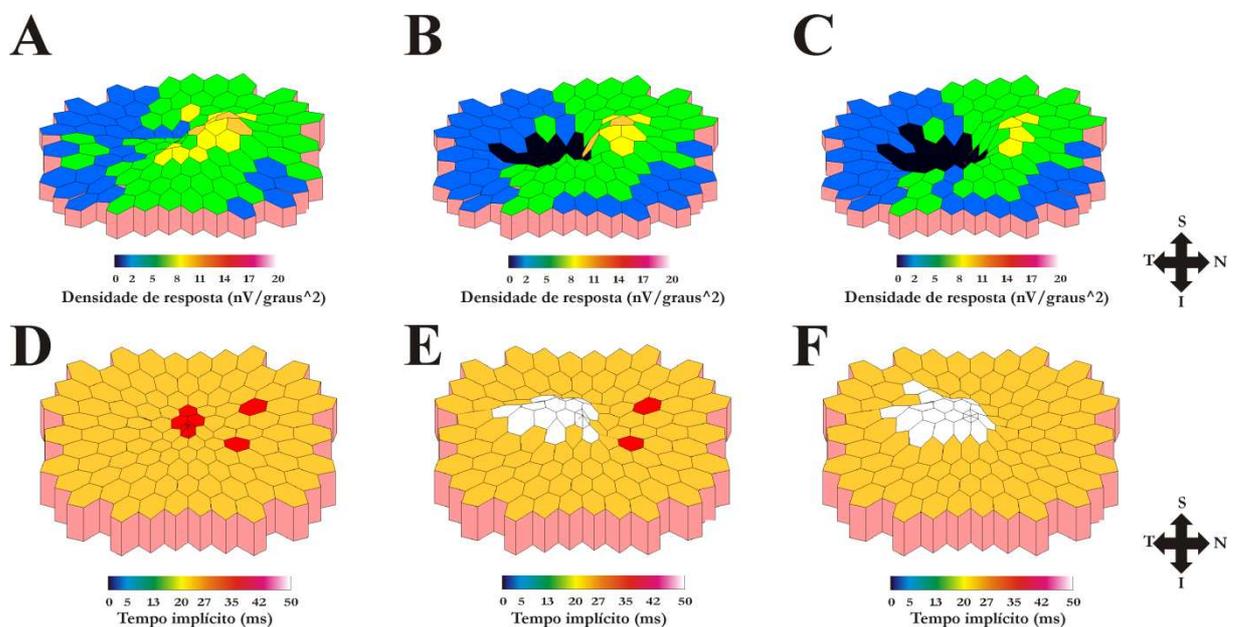
A Figura 20 mostra a densidade de resposta e o tempo implícito de P1 dos dados dos registros originais sem avaliação da SNR (Figuras 20A-D), dados dos registros originais com avaliação da SNR (Figuras 20B-E), e dados dos registros reconstruídos com avaliação da SNR (Figuras 20C-F) para o paciente RFA090116. Os hexágonos pretos nos gráficos de densidade de resposta e os hexágonos brancos nos gráficos de tempo implícito representam regiões da retina com respostas diminuídas ou ausentes.



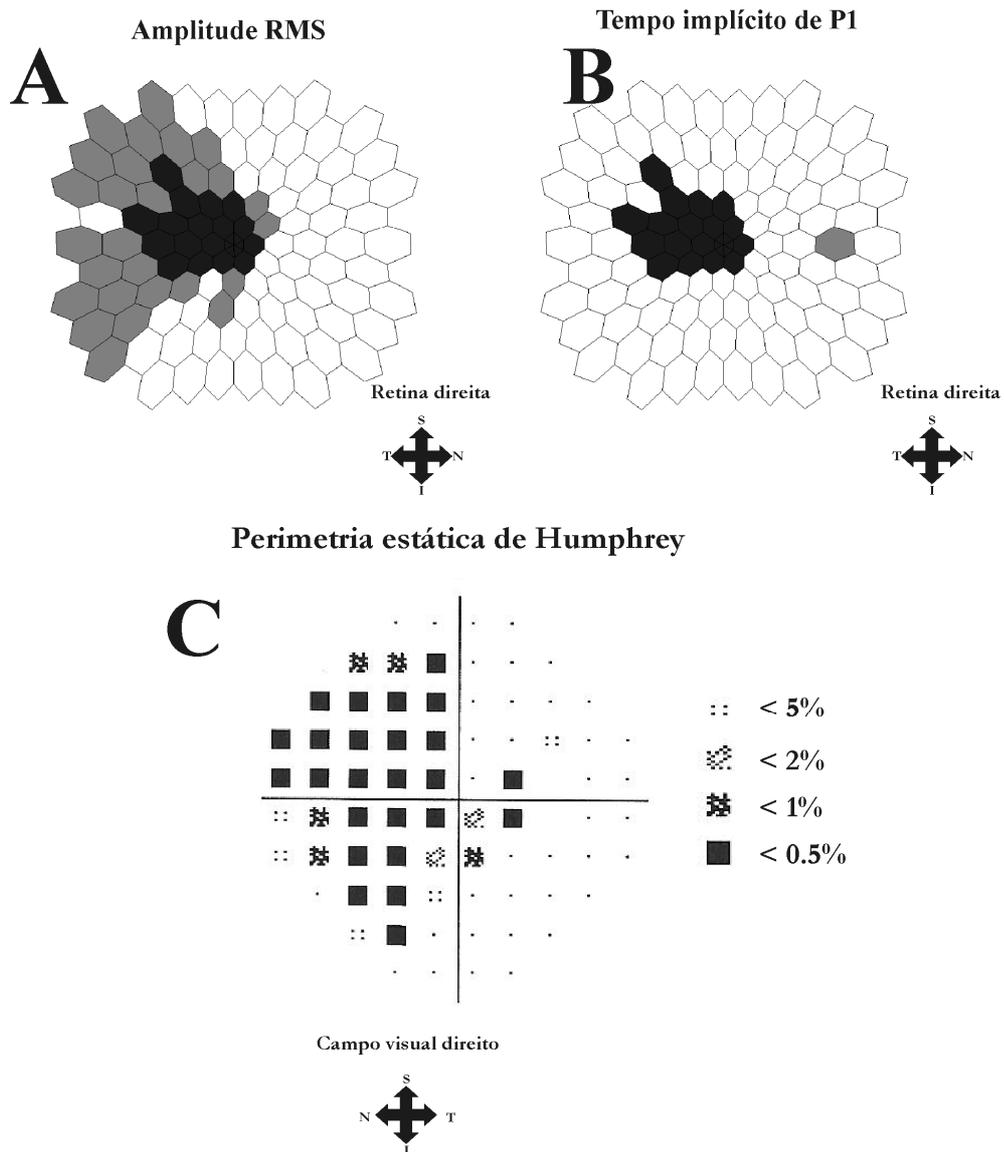
**Figura 19.** Kernels de primeira ordem do paciente RFA090116 que teve perda visual após infecção com *Toxoplasma gondii*. (A) Dados originais. (B) Dados reconstruídos com os dois primeiros componentes principais. Registros pretos apresentaram SNR do sinal superiores ao limite inferior do intervalo do sinal. Registros azuis apresentaram SNR do sinal menor que o limite inferior do intervalo do sinal e maior que o limite superior do intervalo do ruído. Registros em vermelhos apresentaram SNR no intervalo do ruído. N, nasal; T, temporal; S, superior; I, inferior.

A Figura 21 mostra os gráficos que resumem a avaliação da amplitude RMS e tempo implícito de P1 para o paciente RFA090116 baseado na análise de registros reconstruídos pela PCA. Os gráficos de resumo da amplitude RMS, do tempo implícito de N1, P1 e N2 para todos os pacientes com histórico de toxoplasmose estão no APÊNDICE 3. Como recomendado pela ISCEV, os dados dos pacientes foram comparados com a mediana e o intervalo de confiança da mediana obtida do grupo. Nesses gráficos, os hexágonos pretos indicam regiões da retina com respostas diminuídas ou ausentes, como determinado pela

análise de SNR de registros reconstruídos; os hexágonos cinzas indicam regiões da retina com amplitude RMS de resposta abaixo do limite de confiança inferior ao do grupo controle ou tempo implícito da resposta maior que o limite de confiança superior ao do grupo controle; e hexágonos brancos indicam regiões com respostas confiáveis dentro do intervalo de confiança da mediana. Os resultados do paciente RFA090116 obtidos com mfERG mostram uma grande região da retina com perda visual (Figuras 21A-B) que são semelhantes aos resultados das de diminuição da sensibilidade visual obtidos pela perimetria automatizada padrão (Figura 21C).



**Figura 20.** Gráfico de densidade de resposta e de tempo implícito de P1 para o paciente RFA090116. (A-D) Dados originais sem avaliação da SNR. (B-E) Dados originais com avaliação da SNR. (C-F) Dados reconstruídos com os dois primeiros componentes principais e com avaliação da SNR. Os hexágonos pretos (gráfico de densidade de resposta) e brancos (gráfico de tempo implícito de P1) indicam regiões com respostas diminuídas ou ausentes.

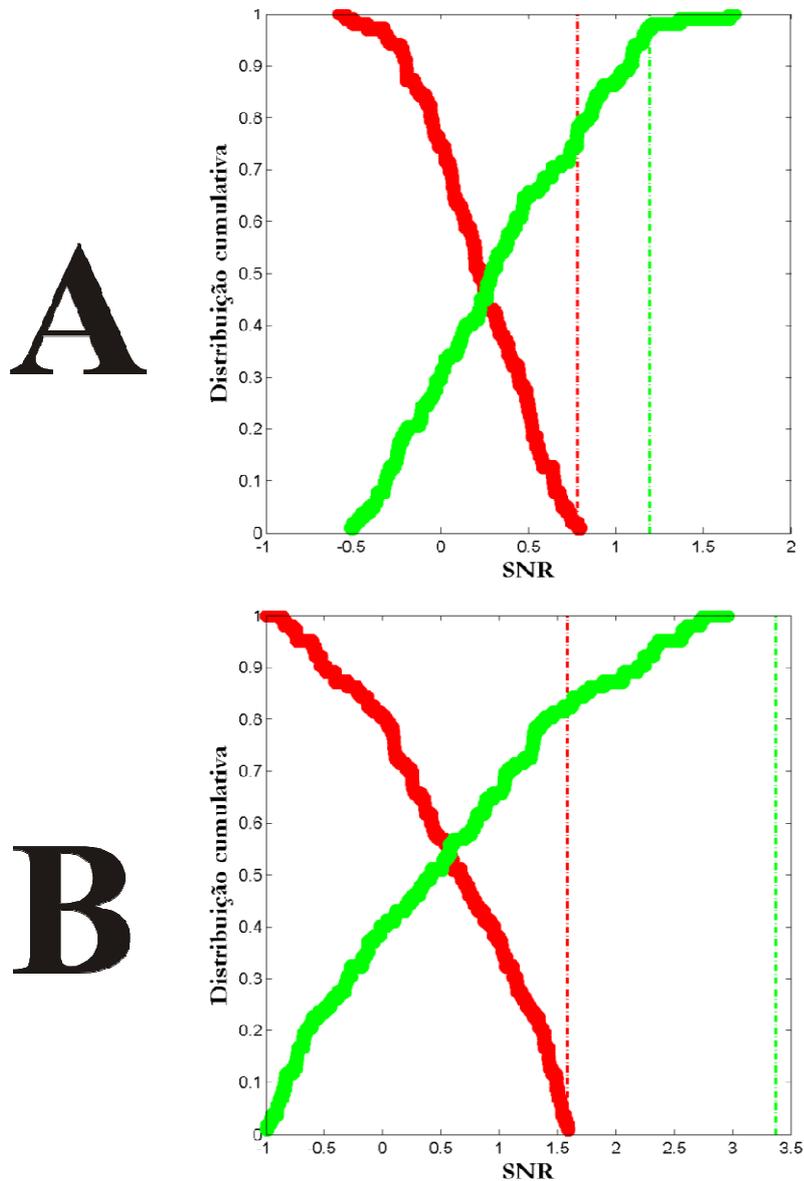


**Figura 21.** Gráficos de comparação dos dados de amplitude RMS (A) e de tempo implícito de P1 (B) do paciente RFS090131 e o intervalo de confiança do grupo controle para esses parâmetros. (C) Gráfico de desvio padrão da perimetria estática de Humphrey para o protocolo 30-2. A perda visual na retina temporal indicada pela avaliação da amplitude RMS é compatível com a perda de sensibilidade de campo visual nasal.

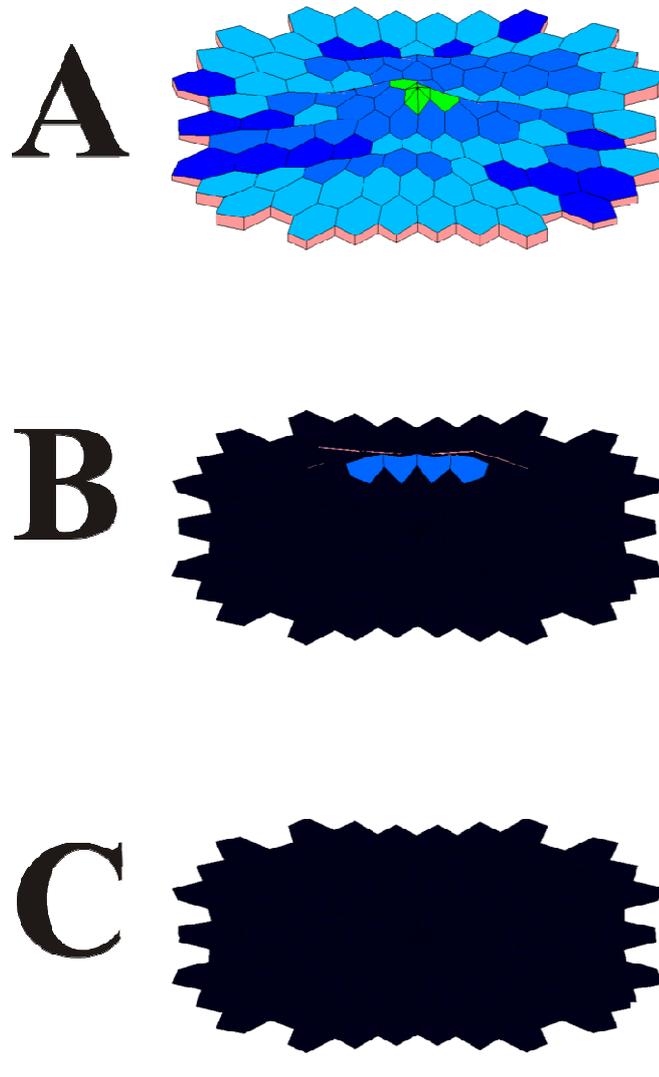
#### 4.5. APLICAÇÃO DO PROTOCOLO DE AVALIAÇÃO DAS RESPOSTAS MULTIFOCAIS EM SIMULAÇÃO DE PERDA VISUAL

A figura 22 mostra a distribuição cumulativa da SNR do ruído e do sinal para os registros obtidos do béquer com salina. Devido haver sobreposição das curvas de distribuição cumulativa foi realizada uma reestimativa do limite inferior do sinal assim como foi feito para

os pacientes. A figura 23 mostra os gráficos de densidade de resposta para condição com os dados originais sem avaliação da SNR, com os dados originais com a SNR, e dos registros reconstruídos com a SNR obtidos de solução salina. Nas várias vezes testadas a condição que associou os registros reconstruídos com PCA e a avaliação da SNR foi a única a rejeitar todos os registros e qualificá-los como registros indicadores de ausência de resposta ou resposta diminuída.



**Figura 22.** Distribuição cumulativa da SNR do ruído (em vermelho) e do sinal (em verde) obtidos de solução salina usando os dados originais (A) e reconstruídos com os dois primeiros componentes principais (B). A linha tracejada vermelha indica o limite superior do intervalo do ruído e a linha tracejada verde indica o limite inferior do intervalo do sinal.



**Figura 23.** Gráfico de densidade de resposta para os registros obtidos da solução salina. (A) Dados originais sem avaliação da SNR. (B) Dados originais com avaliação da SNR. (C) Dados reconstruídos com os dois primeiros componentes principais e com avaliação da SNR. Apenas em (C), todas as áreas foram indicadas como áreas com perda visual.

## 5. DISCUSSÃO

### 5.1. MÉTODO OBJETIVO PARA AVALIAR A CONFIABILIDADE DOS REGISTROS mfERG

Este trabalho teve como objetivo desenvolver um método avaliativo dos resultados gerados pelo mfERG e eliminar artifícios técnicos que surgem na exibição de seus gráficos 3D. Esse método baseia-se em dois processos: o primeiro, no qual é feita a análise dos componentes principais (PCA) para reconstruir o *kernel* de primeira ordem do mfERG e aumentar a razão sinal ruído, e um segundo, onde é feita a análise da distribuição cumulativa da SNR para determinar quais critérios serão usados para separar registros com respostas válidas, registros com respostas diminuídas, e registros sem algum sinal.

A análise PCA é amplamente utilizada em áreas das ciências biológicas e biomédicas, incluindo a eletrofisiologia visual (ZHANG & HOOD, 2004). A PCA é uma ferramenta usada para reduzir a dimensionalidade dos dados conservando sua variação, minimizando a influência do ruído e aumentando a SNR (ver Figura 13D dos registros reconstruídos usando PCA). Entretanto, a classificação dos registros como resposta diminuída, foi bastante eficiente e similar entre os sujeitos saudáveis depois da PCA, que aumenta o intervalo de tempo entre a distribuição cumulativa SNR do sinal e ruído (Figura 13).

Outras ferramentas para manipulação dos dados têm sido testadas para aumentar a SNR de respostas multifocais do VEP e ERG. Sutter e Tran (1991) desenvolveram o produto escalar entre as respostas multifocais e padrão para aumentar a SNR. O padrão pode ser medido pelas respostas de muitos sujeitos ou medindo muitas respostas focais de um sujeito. Zhang & Hood (2004) utilizaram essa informação de *kernels* de ordens maiores usando o método da PCA em estudos com mfVEP. Esse método é eficiente para o mfVEP, teste para

detectar defeitos do campo visual de glaucomatosos. Wrigth *et al.*, (2008) conseguiram reduzir artificialmente a amplitude dos registros e comparar a sensibilidade e a especificidade de diferentes métodos automatizados de detecção de sinal do mfERG. Métodos automatizados baseados na correlação padrão têm melhor desempenho para detectar o sinal do que métodos baseados na avaliação SNR.

Zhang *et al.*, (2002) sugerem três métodos para avaliar a SNR dos registros do mfVEP, um deles é o método mnSNR, que foi usado neste trabalho. Para discriminar entre respostas provocadas visuais e registros não correlatados com a estimulação visual Zhang *et al.*, (2002) estimaram o limite superior da RMS do ruído. Discriminou-se entre registros com sinal provocado visual confiável dos registros com sinal provocado visual com amplitude diminuídas, e registros sem sinal provocado visual. Usaram-se o limite superior da SNR do ruído para separa os registros sem respostas daqueles registros com respostas diminuídas. Além do mais, foi utilizado o limite inferior da SNR para discriminar entre registros com resposta provocada visual pequena daquela com resposta provocada visual confiável.

Para validar o processo empregado neste trabalho, analisaram-se os dados de pacientes com toxoplasmose usando a mesma metodologia. Para a análise dos pacientes foi necessário o uso de recursos estatísticos adicionais do grupo de sujeitos saudáveis para determinar a distância entre o limite superior da SNR do ruído e o limite inferior da SNR do sinal. Foi usado o intervalo de confiança inferior para calcular a distância obtida do grupo controle dos dez sujeitos saudáveis. Esse processo dá consistência para determinar a área da retina onde ocorre a perda visual dos pacientes.

## 5.2. ELIMINAÇÃO DO PICO CENTRAL ERRÔNEO E IDENTIFICAÇÃO PONTO CEGO

No protocolo da ISCEV (HOOD *et al.*, 2008) estão listados uma série de artefatos que podem ocorrer pelo uso dos registros do mfERG. Dois deles podem ser eliminados com o protocolo usado neste trabalho: o pico central errôneo e a identificação do ponto cego.

No gráfico 3D da densidade de resposta é possível visualizar diferentes respostas da região da retina decorrentes da estimulação visual. Contudo, é comum representá-los independentemente de uma avaliação confiável do sinal visual. Por essa razão, fisiologistas visuais e oftalmologistas têm muita atenção para depender exclusivamente das informações dadas por estes.

Hood *et al.*, (2003, 2008) consideram que o gráfico 3D da densidade de resposta só pode estar presente em associação com os arranjos. Eles explicam que quando nenhum sinal está presente, o gráfico da densidade de resposta pode mostrar o pico central com o gráfico da densidade gerado por uma série de registros mfERG obtidos de um béquer de solução salina. Foram realizados experimentos semelhantes em diferentes tempos usando os mesmos protocolo (Fig. 11). A combinação da PCA dos registros construídos e avaliação SNR eliminaram todos os artefatos dos plots 3D.

O mfERG provocado por cada hexágono do estímulo é gerado parcialmente pela atividade de células localizadas na área onde esses hexágonos estão projetados em menor extensão pela atividade de áreas vizinhas. Assim, espera-se que hexágonos com estímulos uniformes que se projetem sobre o disco óptico originem baixas respostas retinianas semelhantemente de áreas vizinhas (HOOD *et al.*, 2008). Com o procedimento apresentado aqui, é possível detectar mfERG decorrentes da estimulação da região do disco óptico e a identificação desses locais pelo uso da PCA e avaliação da SNR correspondendo a hexágonos do estímulo que se projetam na cabeça do nervo óptico ou em suas vizinhanças (Fig. 1

hexágonos preto e cinza). A ausência de registros com SNR do sinal localizado em sua resposta diminuída podem ser usada como indicador de perda fixação.

### 5.3. APLICAÇÃO CLÍNICA DO mfERG

A complicação ocular é o principal quadro clínico decorrente da infecção pelo protozoário *T. gondii* (GILBERT *et al.*, 2008). Outros trabalhos têm mostrado que a reativação da retinocoroidite decorrente da toxoplasmose pode estar associada à lesões no nervo óptico (BOURRAT *et al.*, 1993) De acordo com Holland (2003), a retinocoroidite é mais comum em indivíduos que adquiriram a toxoplasmose congenitamente, do que aqueles no qual ocorreu a infecção adquirida. O resultado deste trabalho está de acordo com a literatura (JONES *et al.*, 2006); dos três pacientes com toxoplasmose ocular, o que apresenta maior perda visual é o que adquiriu a toxoplasmose por via congênita.

Mwanza *et al.*, (2004) mostraram que pacientes portadores do HIV com toxoplasmose associada apresentavam potencial cortical provocado visual anormal. Norose *et al.*, (2005) avaliaram a função retiniana através do ERG, e observou que camundongos GKO com retinocoroidite decorrente da infecção pelo *T. gondii*, têm a amplitude das ondas b diminuídas em relação aos não infectados. Esses achados indicam que este protozoário afeta as células fotorreceptoras e as células da camada interna da retina.

## 6. CONCLUSÕES

Após a realização dos registros eletrofisiológicos dos indivíduos saudáveis e dos pacientes com toxoplasmose, e posteriormente a medição da amplitude e o tempo implícito das deflexões do *kernel* de primeira ordem, para estimar a razão sinal-ruído do mfERG foi possível concluir que a análise quantitativa proposta por este, que permite separar registros com sinal correlacionado ao estímulo visual dos que contenham ruído durante a técnica do mfERG, é uma ferramenta válida para o estudo da atividade retiniana. E que, o protocolo da avaliação da razão sinal ruído (SNR), é útil para diferenciação entre as respostas válidas, respostas diminuídas e ausência de resposta, principalmente após a aplicação da PCA.

Seguidamente a todas essas análises e avaliações, a comparação dos resultados eletrofisiológicos com os da perimetria estática de Humphrey, nos pacientes com toxoplasmose, foi realizada e concluiu-se que esses dados estão correlacionados e podem ser usados como parâmetro de comparação.

Depois da implementação deste recurso será possível avaliar com mais precisão a atividade retiniana de várias doenças, dentre elas a toxoplasmose ocular, principal consequência da toxoplasmose em indivíduos imunocompetentes e, principalmente nos imunocomprometidos.

## 7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. AMATO NETO, V.; MEDEIROS, E. A. S.; LEVI, G. C.; DUARTE, M. I. S. D. **Toxoplasmose**. 4. ed. São Paulo: Sarvier, p. 154, 1995.
2. AHNELT, P. AND KOLB, H. Horizontal cells and cone photoreceptors in human retina: a golgi-electron micro-scopic study of spectral connectivity. **J. Comp. Neurol.** p. 406 – 427, 1994.
3. BACH, M.; HAWLINA, M.; HOLDER, G. E.; MARMOR, M. F.; MEIGEN, T.; MIYAKE, V.; MIYAKE, Y. Standard for pattern electroretinography. **Inter. Soc. Clin. Electrophysiol. Doc. Ophthalmol.** V. 101: p. 11 – 18, 2000.
4. BASELER, H. A.; SUTTER, E. E.; KLEIN, S. A.; CARNEY, T. The topography of visual evoked response properties across the visual field. **Electroencephalogr Clin Neurophysiol.** V. 90: p. 65 – 81, 1994.
5. BEARSE, M. A.; SUTTER, E. E. Imaging localized retinal dysfunction with the multifocal electroretinogram. **J Opt Soc Am A.** V. 13: p. 634 – 640, 1996.
6. BENENSON, A. S. El Control de las enfermedades transmisibles em el hombre. **Informe oficial de la Asociación Estadounidense de Salud Pública.** 15. ed. Washington. V. 652: p. 520, 1992.
7. BEREZOVSKY, A.; SALOMÃO, S. R.; PEREIRA, J. M.; SACAI, P. Y.; CHOJNIAK, M. M. M. Eletrorretinograma multifocal em pacientes tratadas com tamoxifeno em baixa dosagem. **Arq. Bras. Oftalmol.** V. 67: n. 4, p. 631 – 635, 2004.
8. BICAS, H. E. A. Fisiologia da visão binocular. **Arq. Brasileiro Oftalmol.** V. 30: p. 7 – 15, 2004.
9. BOYCOTT, B.; HEINZ WASSLE, H. Parallel Processing in the Mammalian Retina. **Invest. Ophthalmol. Vis. Science.** V. 40: n. 7, p. 1313 – 1327, 1999.

10. BORRUAT, F. X.; KAPOOR, R.; SANDERS, M. D. Simultaneous retinal and optic nerve lesions in toxoplasmosis: the advantages of magnetic resonance imaging. **Br. J. Ophthalmol.** V. 77; p. 450 – 452, 1993.
11. CARMO, E. L., ALMEIDA, E. F., BICHARA, C. N., PÓVOA, M. M. Research on antibodies anti *Toxoplasma gondii* in intraocular fluids (Aqueous and vitreous humor) from patients with ocular toxoplasmosis, in the City of Belém, Pará State. **Rev. Inst. Med. Trop. S. Paulo.** V. 38: n. 1, 77 – 79. 2005.
12. CENTRO DE CONTROLE E PREVENÇÃO DE DOENÇAS (CDC). Disponível em: <http://www.cdc.gov/toxoplasmosis/disease.html>. Acesso em 06 jun. 2008.
13. CHHIABRA, M. S.; PRAKASH, G.; VASHISHT, N.; GARG, S. P. Retinitis pigmentosa and congenital toxoplasmosis: A rare coexistence. **Indian J. Ophthalmol.** V. 55: p. 303 – 304, 2007.
14. CIMERMAN, B; CIMERMAN, S. **Parasitologia humana e seus fundamentos** gerais. São Paulo: Atheneu, p. 151 – 181, 1999.
15. DACEY, D. M. Primate Retina: Cell Types, Circuits and Color Opponency. **Progress in Retinal Eye Res.** V. 18: n. 6, p. 737 – 763, 1999.
16. DACEY, D. M. Parallel pathways for spectral coding in primate retina. **Annu. Rev. Neurosci.** V. 3: p. 743 – 775, 2000.
17. DACEY, D.M.; LEE, B.B. The 'blue-on' opponent pathway in primate retina originates from a distinct bistratified ganglion cell type. **Nature.** V. 367: p. 731 – 735, 1994.
18. DEBAECKER, T. BENOSMAN, R. Bio-inspired model of visual information encoding for localization: from the retina to the lateral geniculate nucleus. V. 6: n. 3, p. 477 – 509, 2007.
19. DINIZ, E. M. A.; COSTA VAZ, F. A. **Infecções congênitas e perinatais.** São Paulo: Atheneu, p. 31 – 72, 1991.

20. DHINGRA, A., LYUBARSKY, A., JIANG, M., PUGH, E. N., BIRNBAUMER, L., STERLING, P., VARDI, N. The light response of ON bipolar neurons requires Gao. **J Neurosci.** V. 20: p. 9053 – 9058, 2000.
21. DUBEY, J.P. Toxoplasmosis – an overview. **Southeast Asian. J. Trop. Med. Public. Helth.** V. 22, p. 88 – 119, 1991.
22. DUBEY, J. P.; LINDSAY, D. S.; SPEER, C. A. Structures of *Toxoplasma gondii* tachyzoites, bradyzoites, sporozoites and biology and development of tissue cysts. **Clin. Microbiol. Rev.** V. 11: n. 2, p. 267 – 299, 1998.
23. DUBEY, J.P.; NAVARRO, I. T.; GRAHAM, D. H.; DAHL, E.; FREIRE, R.L.; PRUDENCIO, L. B.; SREEKUMAR, C.; VIANA, M. C.; LEHMANN, T. Characterization of *Toxoplasma gondii* isolates from free range chickens from Paraná, Brazil. **Vet. Parasitol.** V 117: p. 229 – 234, 2003.
24. FARIA E SOUSA S. J. O sistema visual e o cérebro. **Anais, Resumos, XX Reunião Anual de Psicologia. Ribeirão Preto.** p. 182 – 185, 1990.
25. FRANCISCO, F. M., SOUZA, S. L. P., GENNARI, S. M., PINHEIRO, S. R., MURADIAN, V., SOARES, R. M. Seroprevalence of toxoplasmosis in a low-income community in the São Paulo municipality, SP, Brazil. **Rev. Inst. Med. Trop. S. Paulo.** V. 48: n. 3, p. 167 – 170, 2006.
26. GARCIA, J. L.; NAVARRO, I. T., OGAWA, L., OLIVEIRA, R. C., KOBILKA, E. Soroprevalência, epidemiologia e avaliação ocular da toxoplasmose humana na zona rural de Jaguapitã (Paraná), Brasil. **Pan. Am. J. Public. Health.** V. 6: n.3, p. 157 – 163, 1999.
27. GILBERT, R. E.; FREEMAN, K.; LAGO, E. G.; BAHIA-OLIVEIRA, L. M. G.; TAN, H. K.; WALLON, M.; BUFFOLANO, W.; STANFORD, M. R.; PETERSEN, E.

- Ocular sequelae of congenital toxoplasmosis in Brazil compared with Europe. **PLoS. Negl. Trop. Dis.** V. 2: n. 8, p. 277 – 284, 2008.
28. GORMLEY, P. D.; PAVESIO, C. E.; LUTHERT, P.; LIGHTMAN, S. Retinochoroiditis is induced by oral administration of *Toxoplasma gondii* cysts in the hamster model. **Exp. Eye Res.** V. 68: p. 657 – 661, 1999.
  29. GRANIT, R. Sensory mechanism of the retina. Oxford University: London, 1947.
  30. GRILL-SPECTOR, K.; MALACH, R. The human visual cortex. **Annu. Rev. Neurosci.** V. 27: p. 649 – 677, 2004.
  31. HASSENE, A.; VITAL, A.; ANGHEL, A.; GUEZ, S.; SERIES, C. Acute acquired toxoplasmosis presenting as polymyositis and chorioreinitis in immunocompetent patient. **Joint Bone Spine.** p. 1 – 3, 2008.
  32. HENDRY, S.H.; REID, R.C. The koniocellular pathway in primate vision. **Annual Rev Neurosci.** V. 23: p. 127 – 153, 2000.
  33. HILL, D.; DUBEY, P. *Toxoplasma gondii*: transmission, diagnosis and prevention. **Clin. Microbiol. Infect.** Vol. 8: p. 634 – 640, 2002.
  34. HOLDER, G.E. The significance of abnormal pattern electroretinography in anterior visual pathway dysfunction, **Br. J. Ophthalmol.** V. 71: p. 166 – 171, 1987.
  35. HOLDER, G. E, BRIGELL, M. G., HAWLINA, M., MEIGEN, T., VAEGAN, BACH, M. ISCEV standard for clinical pattern electroretinography - 2007 update. **Doc Ophthalmol.** V. 114: p. 111-116, 2007.
  36. HOLLAND, G. N. Ocular toxoplasmosis: a global reassessment. Part I: epidemiology and course of disease. **Am. J. Ophthalmol.** V. 136: n. 6, p. 973 – 988, 2003.
  37. HOOD, D. C. Assessing retinal function with the multifocal technique. **Prog. Ret. Eye Res.** V. 19: n. 5, p. 607 – 646, 2000.

38. HOOD, D. C.; LI, J. A technique for measuring in-dividual multifocal ERG records. In Non- invasive. Assessment of the Visual System, Trends in Optics and Photonics. ed. D. Yager, V. 11: p. 33 – 41. Optical Society of America, Washington, DC.
39. HOOD, D. C.; ZHANG, X. Multifocal ERG and VEP responses and visual fields: comparing disease-related changes. **Doc. Ophthalmol.** V. 100: p. 115 – 137, 2000.
40. HOOD, D. C.; BACH, M.; BRIGELL, M.; KEATING, D.; KONDO, M.; LYONS, J. S.; PALMOWSKI-WOLFE, A. M. ISCEV Guidelines for clinical multifocal eletroretinography (2007 edition). **Inter. Soc. Clin. Eletrophysiol. Vis. Doc. Ophthalmol.** V. 116: p 1 – 11, 2008.
41. JANKU, J. Pathogenesis and pathologic anatomy of coloboma of macula lútea in eye of normal dimensions, and in microphthalmic eye, with parasites in the retina. **Cas. Lek. Cesk.** V. 62: p. 1021 – 1027, 1923.
42. JENUM, P. A; STRAY-PEDERSEN, B.; MELBY, K. K.; KAPPERUD, G.; WHITELAW, A.; ESKILD, A.; AND ENG, J. Incidence of *Toxoplasma gondii* infection in 35,94 pregnant women in Norway and pregnancy outcome for infected women. **J. Clin. Microbiol.** V. 36: p. 2900 – 2906, 1998.
43. JONES, L. A.; J. ALEXANDER, J.; ROBERTS, C. W. Ocular toxoplasmosis: in the storm of the eye. **Parasit. Immunol.** V. 28: p. 635 – 642, 2006.
44. KAPLAN, E., SHAPLEY, R.M. The primate retina contains two types of ganglion cells, with high and low contrast sensitivity. **Proceedings of the National Academy of Sciences.** V. 83: p. 2755 – 2757, 1986.
45. KOLB, H. How the retina works. **American Scientist.** V. 91: p. 28 – 35, 2003.

46. KRETSCHMANN, U.; BOCK, M.; GOCKELN, R.; ZRENNER, E. Clinical applications of multifocal electroretinography. **Doc Ophthalmol.** V. 100: p. 99 – 113, 2000.
47. LAI, T. Y. Y.; WAI-MAN, C.; LAI, R. Y. K.; NGAI, J. W. S.; LI, H. LAM, D. S. C. The clinical applications of multifocal electroretinography: A systematic review. **S. Ophthalmol.** V. 52: n. 1, p. 61 – 92, 2007.
48. LEE, B.B.; MARTIN, P.R.; VALBERG, A. Nonlinear summation of M- and L cone inputs to phasic retinal ganglion cells of the macaque. **J Neurosci.** V. 9: p. 1433 – 1442, 1989.
49. LENT, R. Cem Bilhões de Neurônios. 2. ed. Rio de Janeiro: Atheneu, p. 698, 2004.
50. MARMOR, M. F.; HOLDER, G. E.; SEELIGER, M. W.; YAMAMOTO, S. Standard for clinical electroretinography (2004 update\*). **Doc. Ophthalmol.** V. 108: p.107 – 114, 2004.
51. MARMOR, M. F., FULTON, A. B., HOLDER, G. E., MIYAKE, Y., BRIGELL, M., BACH, M. Standard for clinical electroretinography (2008 update). **Doc Ophthalmol.** V. 118: p. 69 – 77, 2009.
52. MASLAND., R. H. The fundamental plan of the retina. **Nat. Neuroc.** V. 4: n. 9, p. 877 – 886, 2001.
53. MEIRELES, L. R.; GALISTEO JR., A. J.; POMPEU, E.; ANDRADE JR., H. F. Toxoplasma gondii spreading in an urban area evaluated by seroprevalence in free-living cats and dogs. **Trop. Med. Intern. Health.** V. 9: n.8, p. 876 – 881, 2004.
54. MWANZA, J. C.; NYAMABO, L. K.; TYLLESKAR, T.; PLANT, G. T. Neuro-ophthalmological disorders in HIV infected subjects with neurological manifestations. **British J. Ophthalmol.** V. 88: n.11, p. 1455 – 1459, 2004.

55. NETO, J. O. A. N.; AZEVEDO, S.S.; GENNARI, S. M.; FUNADA, M. R.; PENA, H. F. J.; ARAÚJO, A. R. C. P.; BATISTA, C. S. A.; SILVA, M. L. C. R.; GOMES, A. A. B.; PIATTI, R. M.; ALVES, C. J. Prevalência and risk factors for anti-*Toxoplasma gondii* antibodies in goats of the Seridó Oriental microregion, Rio Grande do Norte state, Northeast region of Brazil. **Vet. Parasitol.** V. 156: p. 329 – 332, 2008.
56. NEVES, D. P. **Parasitologia Humana**. 10. ed. São Paulo: Atheneu, p. 147 – 156, 2000.
57. NOROSE, K.; AOSAI, F.; MIZOTA, A.; YAMAMOTO, S.; MUN, H-S.; YANO, A. Deterioration of visual function as examined by eletroretinograms in toxoplasma gondii-infected IFN- $\gamma$ -knockout mice. **Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.** V. 46: n. 1, p. 317 – 321, 2005.
58. PASSOS, L. N., FILHO, O. F. A., ANDRADE JR, H. F. Toxoplasma Encephalitis in AIDS patients in São Paulo during 1988 and 1991. A comparative retrospective analysis. **Rev. Inst. Med. Trop.**, V. 42: n. 3, p. 141 – 145. 2000.
59. PERRY, H.; OEHLER, R.; COWEY, A. Retinal ganglion cells that project to the dorsal lateral geniculate nucleus in the macaque monkey. **J Neurosci.** V. 12: p. 1101 – 1123, 1984.
60. REMINGTON, J. S.; KLEIN, J. O. **Infect. Dis. Fetus & Newborn Infant**. 5. ed. Philadelphia: W. B. Saunders, p. 205 – 346, 2001.
61. REY, L. **Parasitologia**. 2. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1991.
62. SHERMAN, J. Simultaneous pattern reversal electroretinograms and visual evoked potential diseases of the macula and optic nerve. **Ann. NY Acad. Sci.** V. 388: p. 214 – 226, 1982.
63. SHERWOOD, L., KLANDORF, H., YANCEY, P. Animal Physiology – from Genes to Organisms. **Brookscole**. p. 816, 2005.

64. SILVEIRA, L.C.L.; PERRY, V.H. The topography of magnocellular projecting ganglion cells (M-ganglion cells) in the primate retina. **J Neurosci.** V. 40, p. 217 – 237, 1991.
64. SILVEIRA, L.C., SAITO, C.A., LEE, B.B., KREMERS, J., DA SILVA FILHO, M., KILAVIK, B.E., YAMADA, E.S., PERRY, V.H. Morphology and physiology of primate M- and P-cells. **Progress in Brain Research.** V. 144: p. 21 – 26, 2004.
65. SUTTER, E. E. The fast m-Transform: a fast computation of cross – correlations with binary m-sequences. **Soc Ind Appl Math.** V. 20: p. 686 – 694, 1991.
66. SUTTER, E. E. The interpretation of multifocal binary kernels. **Doc. Ophthalmol.** V. 100: p. 49 – 75, 2000.
67. SUTTER, E. E. Imaging visual function with the multifocal m-sequence technique. **Vis. Research.** V. 41: p. 1241 – 1255, 2001.
68. SUTTER, E. E; TRAN, D. The field topography of ERG components in man-I. The photopic luminance response. **Vis. Research.** V. 32 : n. 3, p. 433 – 46, 1992.
69. TEDESCO, R. C.; VITOR, R. W. A.; BRANDÃO, G. P.; CALABRESE, K. S. Ocular toxoplasmosis signs in mice embryo. **Micron.** V. 38: p. 729 – 733, 2007.
70. TOOTELL, R. B. H.; DALE, A. M.; SERENO, M. I.; MALACH, R. New images from human visual cortex. **Trends in Neurosci.** V. 19: p. 481 – 489, 1996.
71. VALLOCHI, A. L.; NAKAMURA, M. V.; SCHLESINGER, D.; MARTINS, M. C.; SILVEIRA, C.; BELFORT JR., R.; RIZZO, L. V. Ocular toxoplasmosis: more than just what meets the eye. **Scand. J. Immunol.** V. 55: p. 324 – 328, 2002.
72. VARDI, N.; DUVOISIN, R.; WU, G.; STERLING, P. Localization of mGLUR6 to dendrites of ON bipolars cells in primate retina. **J. Comp. Physiology.** V. 31: p. 402 – 412, 2000.

73. VERONESI, R. **Tratado de Infectologia**. 2. ed. São Paulo: Atheneu, p. 204 – 217, 2002.
74. WACHTMEISTER, L.; DOWLING, J. E. The oscillatory potentials of the mudpuppy retina. **Invest. Ophthalmol. & Vis. Science**. V. 17: p. 1176 – 1188, 1978.
75. WASSLE, H. Parallel processing in the mammalian retina. **Nat. Neurosci.** V. 5: p. 1 – 11, 2004.
76. ZHANG, X.; HOOD, D. C.; CHEN, C. S.; HONG, J. E. A signal-to-noise analysis multifocal VEP responses: an objective definition for poor records. **Doc. Ophthalmol.** V. 104: p. 287 – 302, 2002.

**ANEXO I**

UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARÁ  
NÚCLO DE MEDICINA TROPICAL  
COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA ENVOLVENDO SERES HUMANOS

**PARECER DE ÉTICA DE PROJETO DE PESQUISA ENVOLVENDO SERES HUMANOS**

1. **Protocolo:** Nº057/2008-CEP/NMT
2. **Projeto de Pesquisa:** ESTUDO DAS RESPOSTAS ELETROFISIOLOGICAS RETINIANAS À ESTIMULAÇÃO MULTIFOCAL – DADOS NORMATIVOS PARA O SISTEMA VERIS (EDI) E APLICAÇÃO CLÍNICA EM TOXOPLASMOSE OCULAR.
3. **Pesquisador Responsável:** Luiz Carlos de Lima Silveira.
4. **Instituição / Unidade:** NMT/UFP..
5. **Data de Entrada:** 10/11/2008.
6. **Data do Parecer:** 26/11/2008.

**PARECER**

O Comitê de Ética em Pesquisa do NMT/UFPa apreciou o protocolo em tela e, verificou que foram atendidas todas as exigências da Resolução 196/96-CNS/MS. Portanto, manifesta-se pela sua aprovação.

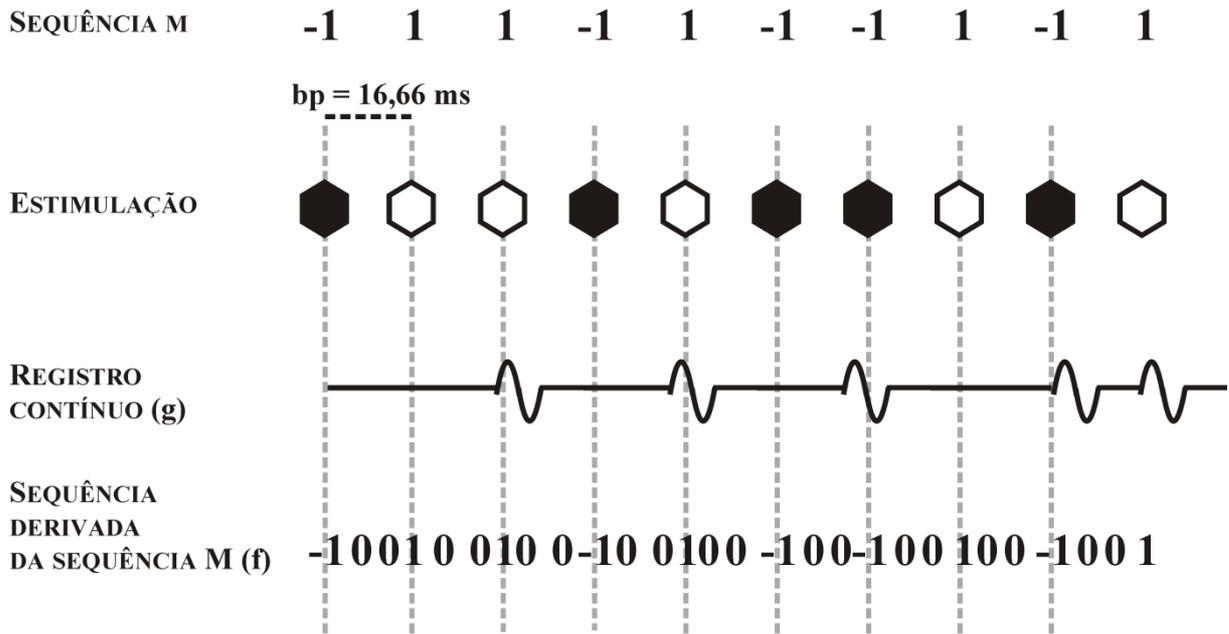
Parecer: **APROVADO**

Belém, 09 de janeiro de 2009.

  
**Profº Teijchi Oikawa**  
Coordenador do CEP-NMT/UFPa.

## APÊNDICE 1

Os kernels são extrações matemáticas geradas por uma correlação cruzada entre uma sequência de números 1, 0 e -1 derivados da sequência-m que comanda a luminância dos hexágonos e os valores de amplitude do registro contínuo obtido ao longo da leitura da sequência-m (Fig. 34).

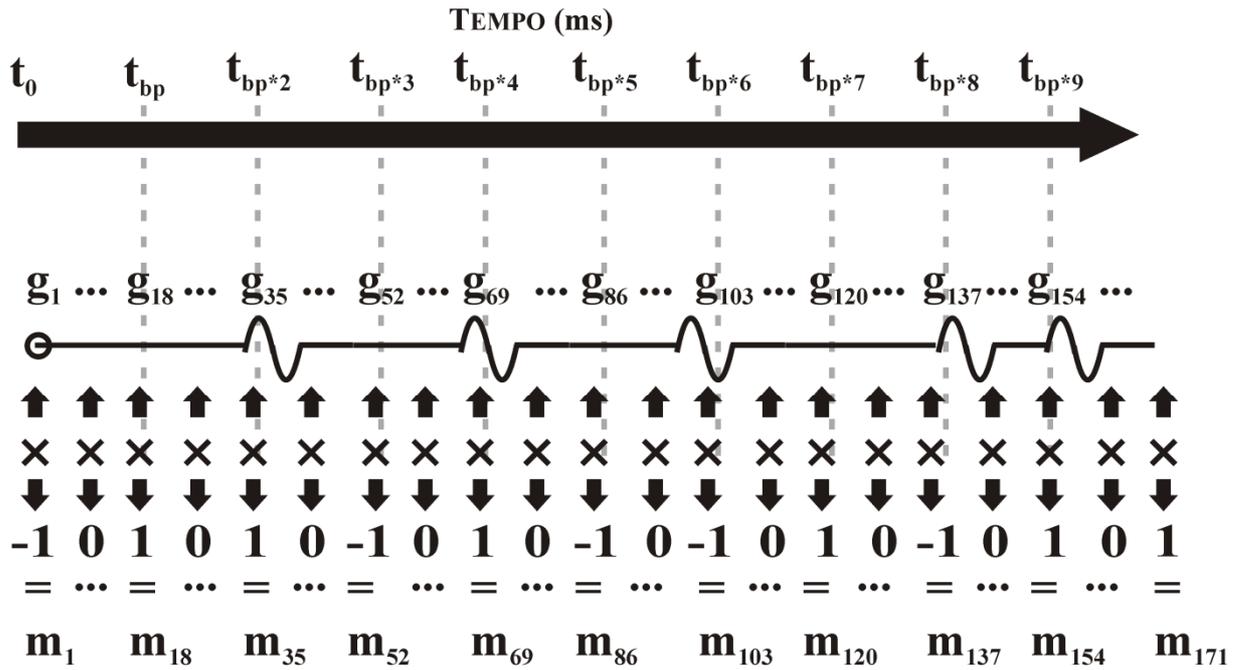


**Figura A1-1.** Representação esquemática de como a sequência-m determina a estimulação de um determinado hexágono. Um registro contínuo é obtido ao longo da leitura da sequência-m. Uma sequência derivada da sequência-m é gerada para a realização da correlação cruzada. A geração dos valores do conjunto f é dependente do kernel que se quer obter. O exemplo acima e os seguintes são referentes à obtenção do kernel de primeira ordem. Se o hexágono inicial do período base apresentar um flash, o valor correspondente da sequência no conjunto f é 1, senão o valor é -1. Todos os outros valores intermediários entre os valores iniciais dos períodos bases são zeros

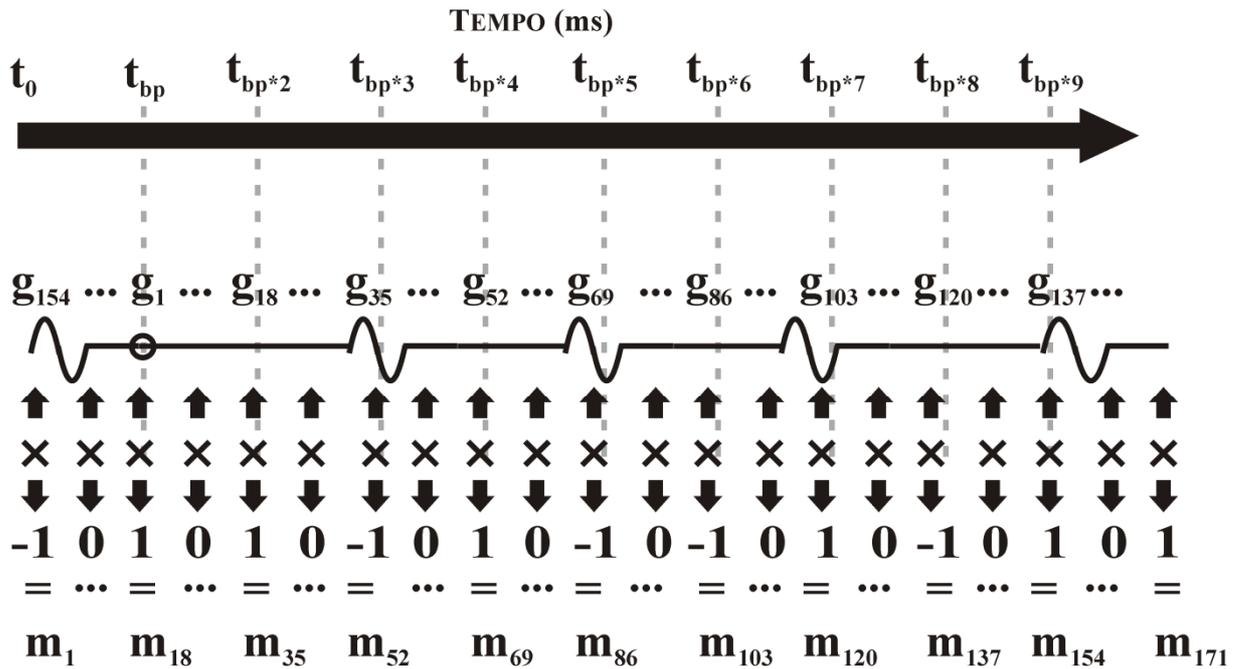
A correlação cruzada é a somatória da multiplicação de dois conjuntos de acordo com a seguinte fórmula para variáveis discretas:

$$(g * f)(i) = \sum g(t) \times f(t + i)$$

$f$  é conjunto de valores da sequência derivada da sequência-m,  $g$  é o conjunto de valores de amplitude do registro contínuo ao longo do tempo,  $i$  é um intervalo de deslocamento entre os conjuntos  $g$  e  $f$  em cada etapa de multiplicação da correlação cruzada,  $t$  é o tempo (ms).

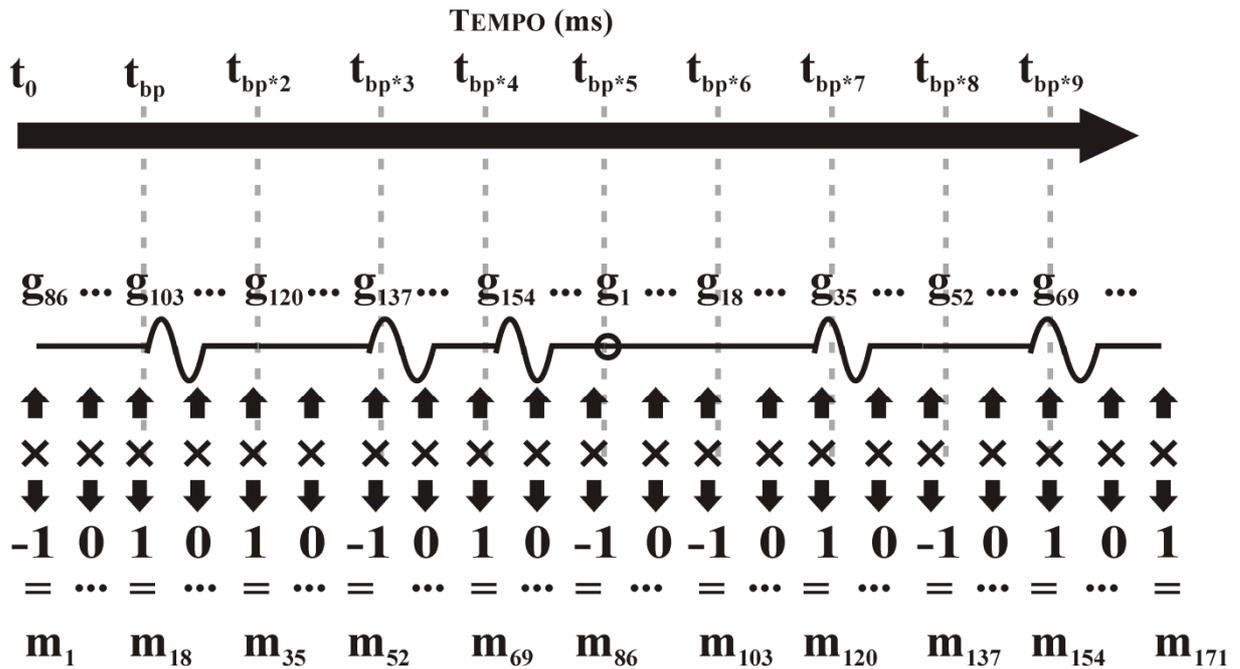


**Figura A1-2.** Correlação cruzada entre os conjuntos  $g$  (valores amostrais do registro) e  $f$  (sequência de 1,0 e -1) para um valor de  $i$  igual a zero. A somatória da multiplicação dos conjuntos que nesta simulação resultaria em um valor  $M_1$  que será o primeiro valor de amplitude do kernel extraído.



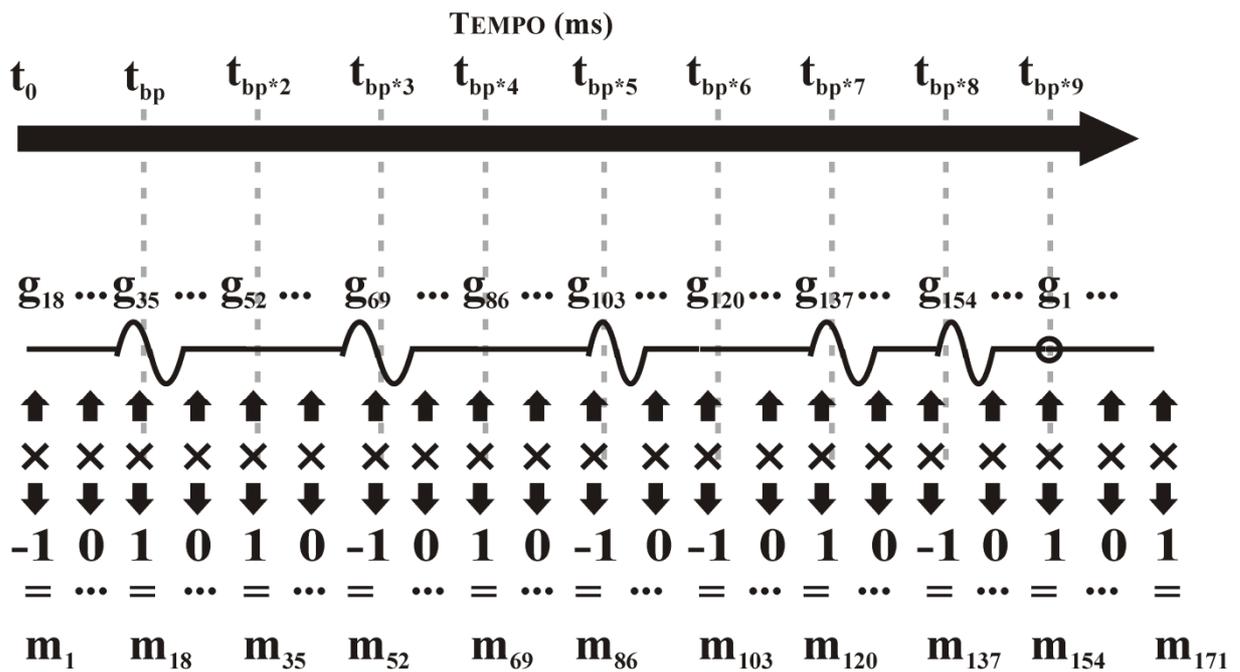
$$M_2 = \sum m$$

**Figura A1-3.** Correlação cruzada entre os conjuntos  $g$  (valores amostrais do registro) e  $f$  (sequência de 1,0 e -1) para um valor de  $i$  igual um período base. A somatória da multiplicação dos conjuntos que nesta simulação resultaria em um valor  $M_2$  que será o segundo valor de amplitude do kernel extraído.



$$M_6 = \sum m$$

**Figura A1-4.** Correlação cruzada entre os conjuntos  $g$  (valores amostrais do registro) e  $f$  (sequência de 1,0 e -1) para um valor de  $i$  igual um 5 períodos bases. A somatória da multiplicação dos conjuntos que nesta simulação resultaria em um valor  $M_6$  que será o sexto valor de amplitude do kernel extraído.



$$M_{10} = \sum m$$

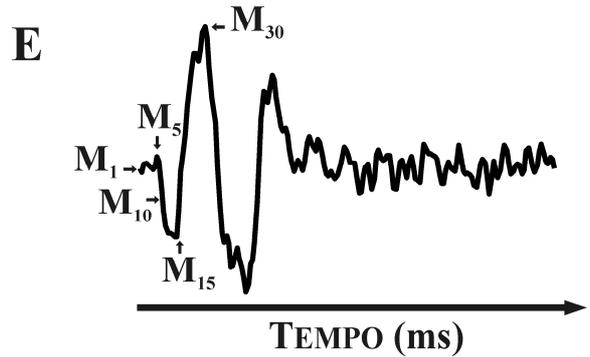
**Figura A1-5.** Correlação cruzada entre os conjuntos  $g$  (valores amostrais do registro) e  $f$  (sequência de 1,0 e -1) para um valor de  $i$  igual a nove períodos base. A somatória da multiplicação dos conjuntos que nesta simulação resultaria em um valor  $M_{10}$  que será o décimo valor do kernel extraído. A correlação cruzada termina quando  $i$  alcançar o seu número máximo que é estipulado pelo programador. O conjunto de valores  $M_n$  são os pontos da forma de onda do *kernel*.

**A**  $g = [g_1 g_2 g_3 g_4 g_5 g_6 g_7 \dots g_n]$

**B**  $f = [f_1 f_2 f_3 f_4 f_5 f_6 f_7 \dots f_n]$

**C**  $(g.f)(i) = \sum g(t) \times f(t+i) = [M_1 M_2 M_3 M_4 M_5 M_6 M_7 \dots M_n]$

**D** Kernel =  $[M_1 M_2 M_3 M_4 M_5 M_6 M_7 \dots M_n]$



**Figura A1-6.** Resumo da correlação cruzada. Uma matriz de dados de amplitude do registro contínuo (A) e outra matriz de dados derivados da sequência-m são usadas para a extração matemática dos kernels através de uma correlação cruzada (C). A correlação cruzada entre as matrizes g e f resultam em um conjunto de valores  $M_n$  (D) que constituem a forma de onda do kernel extraído (E).

## APÊNDICE 2

### TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

Título do Projeto de Pesquisa: **ESTUDO DAS RESPOSTAS ELETROFISIOLÓGICAS RETINIANAS À ESTIMULAÇÃO MULTIFOCAL – DADOS NORMATIVOS PARA O SISTEMA VERIS (EDI) E APLICAÇÃO CLÍNICA EM TOXOPLASMOSE OCULAR.**

Estamos realizando uma pesquisa que tem como objetivo normatizar dados e investigar as respostas eletrofisiológicas retinianas de pacientes com sorologia positiva para toxoplasmose, que será realizada de acordo com a seguinte metodologia:

Antes do teste serão aplicadas no globo ocular do paciente duas gotas de anestésico (cloridrato de proximetacaína 0,5%) e duas gotas de dilatadores de pupila (tropicamida 1% e cloridrato de fenilefrina 10%). Após esse procedimento, aguardaremos dez minutos para que ocorra a dilatação de pelo menos 6 mm da pupila. Em seguida, será instilada metilcelulose na lente do eletródio para proteção da córnea, limpeza do lobo da orelha com gel abrasivo, e colocação do eletródio terra com uma pasta eletrolítica. Então, o estímulo visual será mostrado em uma pequena câmera. Tais procedimentos ocorrerão no Laboratório de Eletrofisiologia Humana do Núcleo de Medicina Tropical, com duração de aproximadamente 1 (uma) hora. Os pacientes não correm o risco de sofrer qualquer tipo de choque elétrico e não há indícios de lesões corneanas causadas pelo uso do eletródio corneano.

Pretendemos obter resultados que nos auxiliem a padronizar dados que são considerados normais, e a partir daí, comparar com os pacientes que apresentam lesões retinianas decorrentes da Toxoplasmose.

A sua participação será de livre e espontânea vontade, informamos também que sua privacidade será assegurada. O senhor (a) tem plena liberdade de interromper sua participação na pesquisa a qualquer momento, sem qualquer tipo de penalização ou prejuízo. Os indivíduos terão acesso às informações sobre seu estado de saúde visual que o equipamento fornece.

Responsável pela Pesquisa: Prof. Dr. Luiz Carlos de Lima Silveira.

End.: Av. Generalíssimo Deodoro, 92. Bairro: Umarizal. CEP: 66055-240

Fone: 3201-6819      Fone/Fax: 3241-0032      E-mail: luiz@ufpa.br

### CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

Declaro que li as informações acima sobre a pesquisa, que me sinto perfeitamente esclarecido sobre o conteúdo da mesma. Declaro ainda que, por minha livre vontade, concordo em participar, desde que sejam respeitadas todas as disposições citadas.

\_\_\_\_\_  
Assinatura

Belém, \_\_\_\_ de \_\_\_\_\_ de 200\_\_.

Nome: \_\_\_\_\_

End.: \_\_\_\_\_

Fone: \_\_\_\_\_ Celular: \_\_\_\_\_ E-mail: \_\_\_\_\_

### APÊNDICE 3

O código abaixo foi criado para realizar a decomposição em valores singulares do conjunto de kernels extraídos do sistema Veris Science 6.05 em ambiente MATLAB 2008b.

```

REC = (1:193,1:103);      % REC é uma matriz que contém as linhas compostas
                             pelos 193 valores de amostragem de cada um dos 103
                             kernels (colunas da matriz) no intervalo entre 0 - 200 ms
                             exportados do Veris Science.

[U,S,V] = svd(REC);      % A função svd( ) realiza a decomposição em valores
                             singulares dos dados dos kernels, retornando três
                             matrizes U, S, V. U e V são matrizes quadradas chamadas
                             de vetores singulares esquerdo e direito respectivamente,
                             enquanto S é uma matriz retangular com valores
                             diferentes e superiores a zero na diagonal da matriz e
                             valores iguais a zero nos demais elementos da matriz. A
                             matriz S é a matriz dos valores singulares.

cp = U(:,:) * S(:,:);    % A matriz cp (componentes principais) resultam da
                             multiplicação das matrizes U e S.

FD = cp(:,1:2) * V(:,1:2)'; % A matriz FD contém os dados dos kernels reconstruídos
                             com os dois primeiros componentes principais (duas
                             primeiras colunas da matriz cp) multiplicados pela
                             transposta das duas primeiras colunas da matriz V.

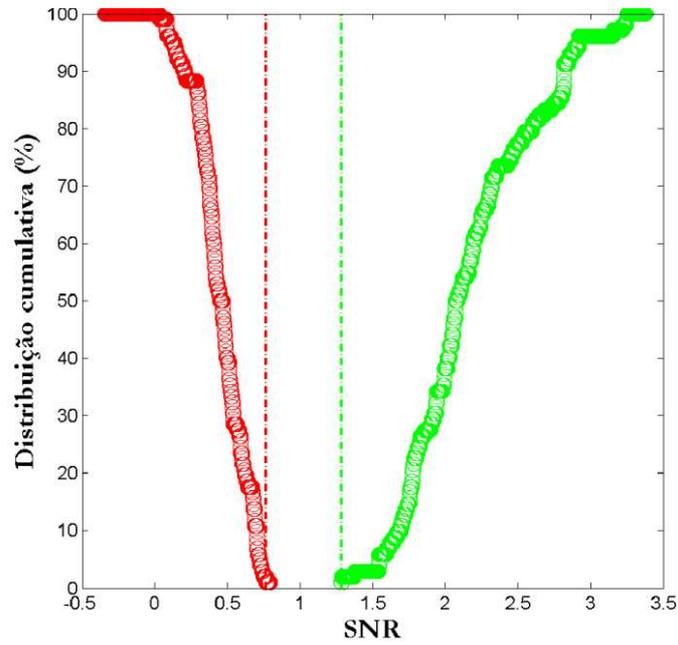
```

## **APÊNDICE 4**

### **RESULTADOS DOS SUJEITOS CONTROLES**

SUJEITO ACC080626

# A



# B

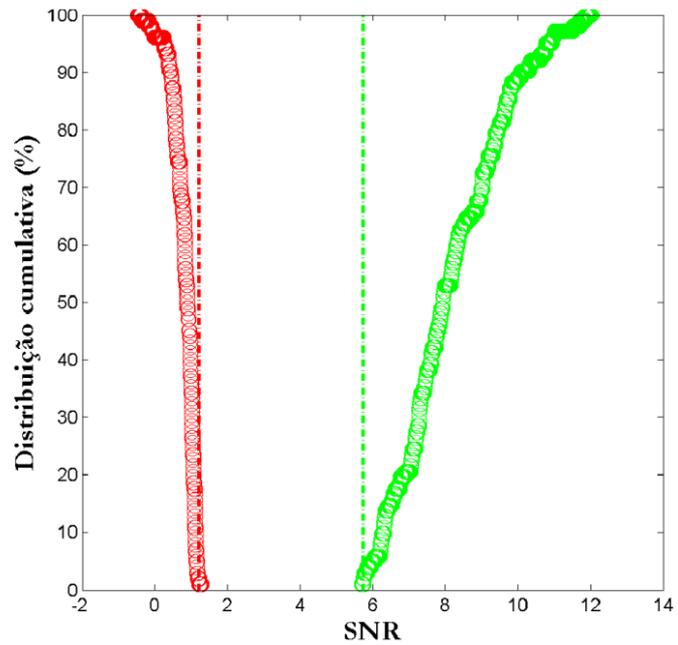


Figura A4-1. Distribuição cumulativa da SNR dos dados originais (A) e reconstruídos com os dois primeiros componentes principais. A distribuição cumulativa da SNR do ruído (em vermelho) e a distribuição cumulativa do sinal (em verde) ocupam diferentes faixas no domínio dos valores de SNR.

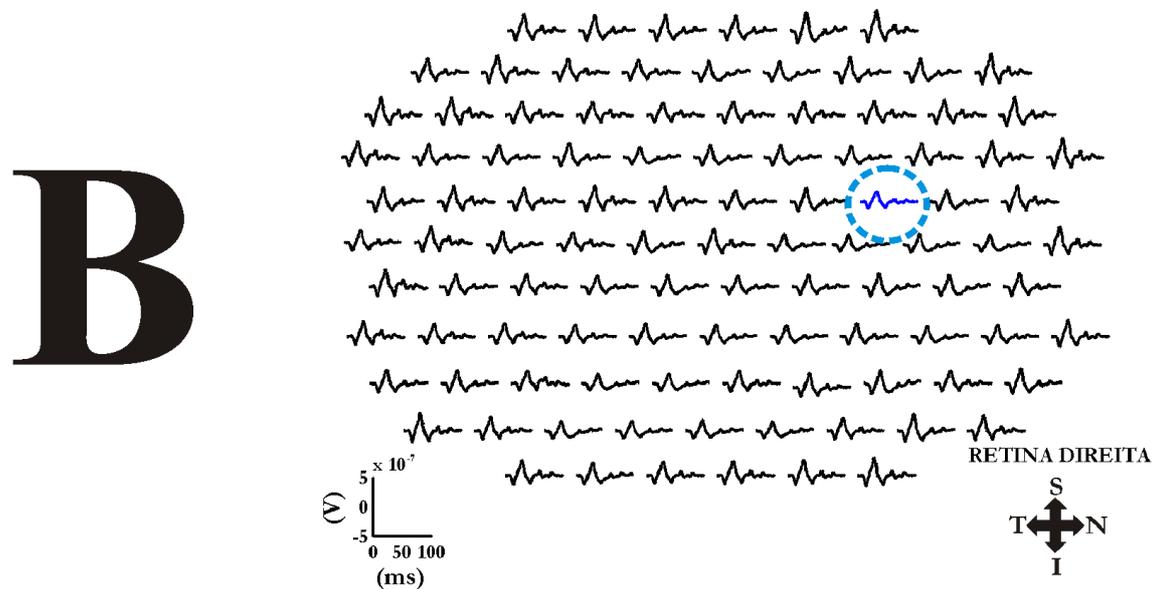
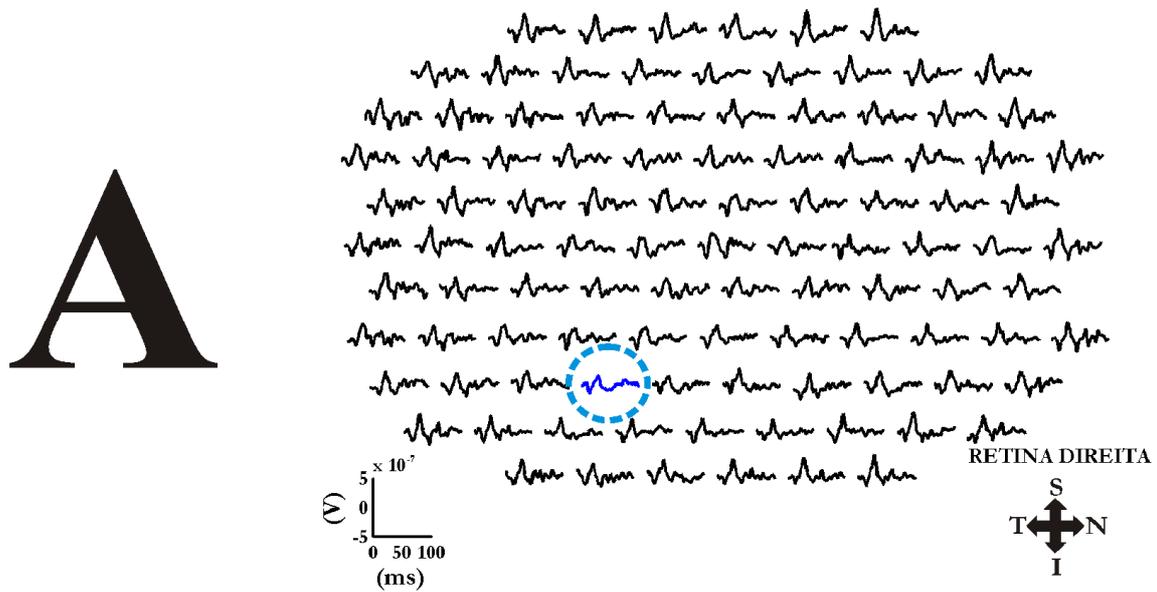


Figura A4-2. Kernels de primeira ordem originais (A) e reconstruídos com os dois primeiros componentes principais (B). Registros pretos apresentaram SNR do sinal no intervalo de SNR do sinal e registros azuis circundados apresentaram SNR do sinal no intervalo de baixas respostas. N, nasal; T, temporal; S, superior; I, inferior.

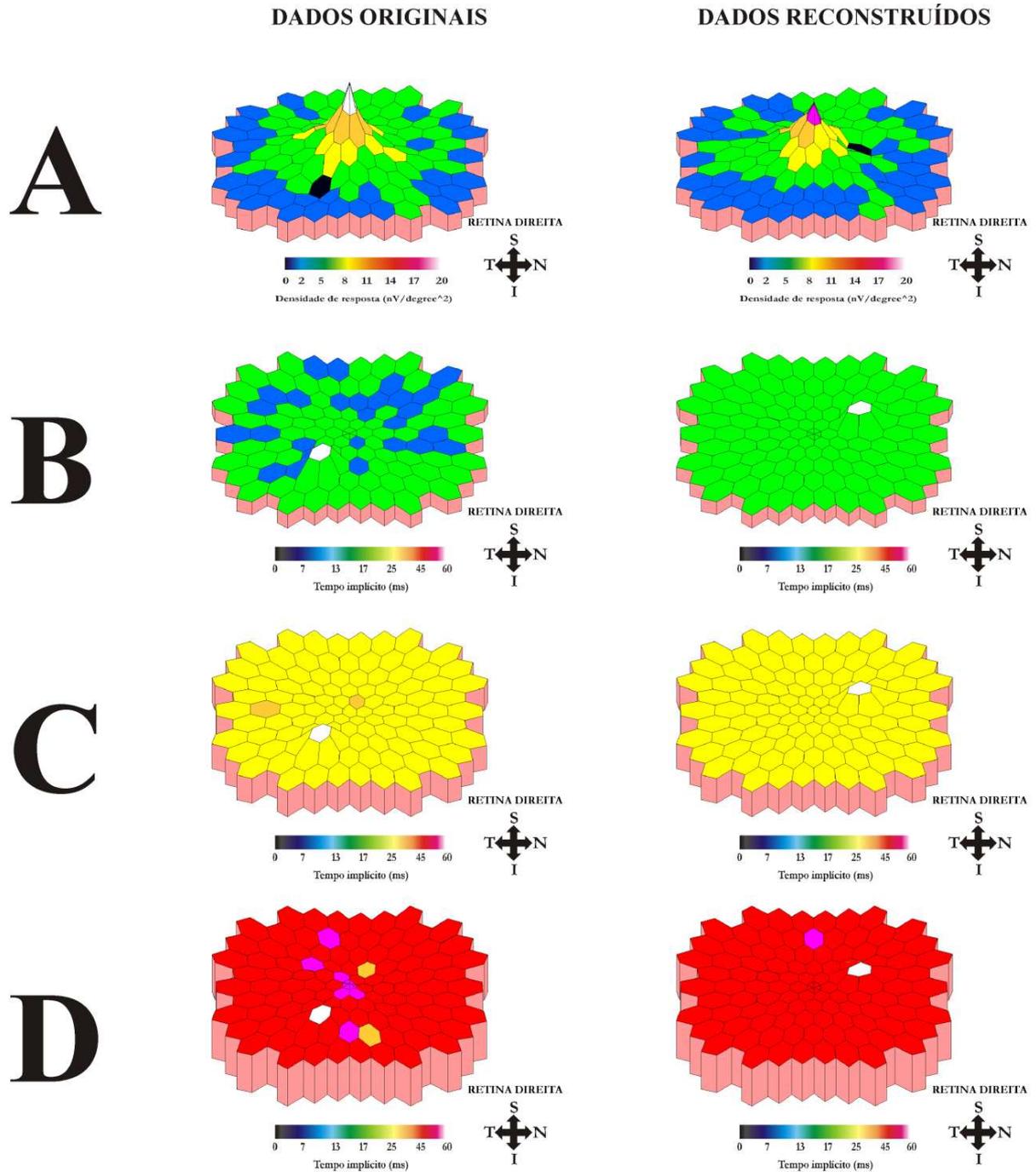
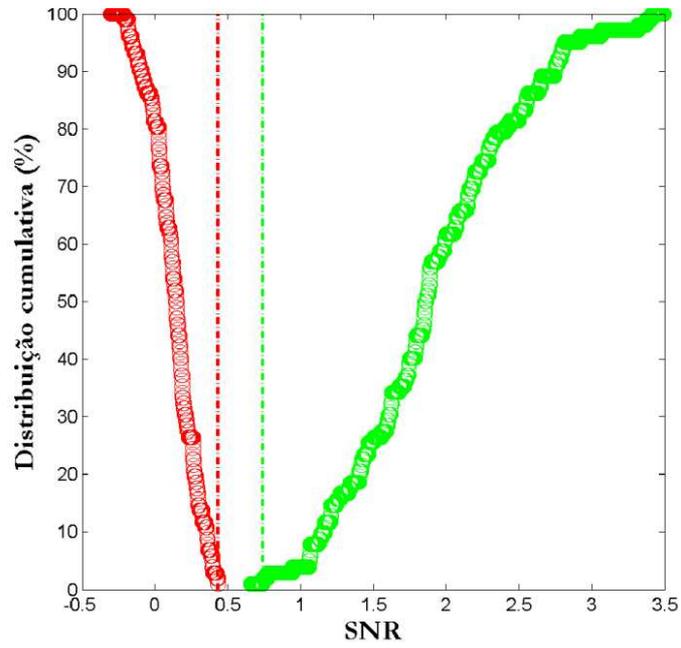


Figura A4-3. Gráficos tridimensionais de densidade de respostas (A), tempo implícito de N1 (B), P1 (C) e N2 (D) gerados com dados originais (coluna esquerda) e reconstruídos com os dois primeiros componentes principais (coluna direita). Os hexágonos pretos nos gráficos de densidade de resposta e os hexágonos brancos nos gráficos de tempo implícito representam áreas com SNR no intervalo de baixas respostas ou ausência de respostas. N, nasal; T, temporal; S, superior; I, inferior.

SUJEITO BDG080701

# A



# B

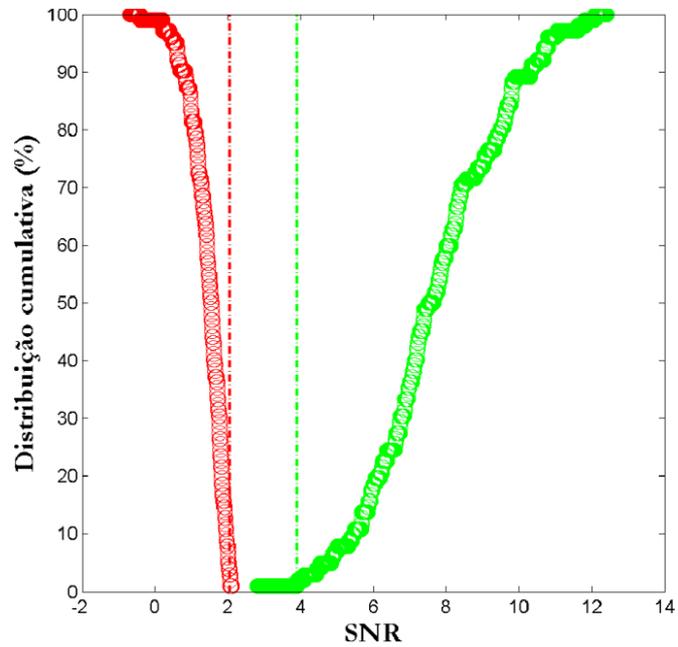


Figura A4-4. Distribuição cumulativa da SNR dos dados originais (A) e reconstruídos com os dois primeiros componentes principais. A distribuição cumulativa da SNR do ruído (em vermelho) e a distribuição cumulativa do sinal (em verde) ocupam diferentes faixas no domínio dos valores de SNR.

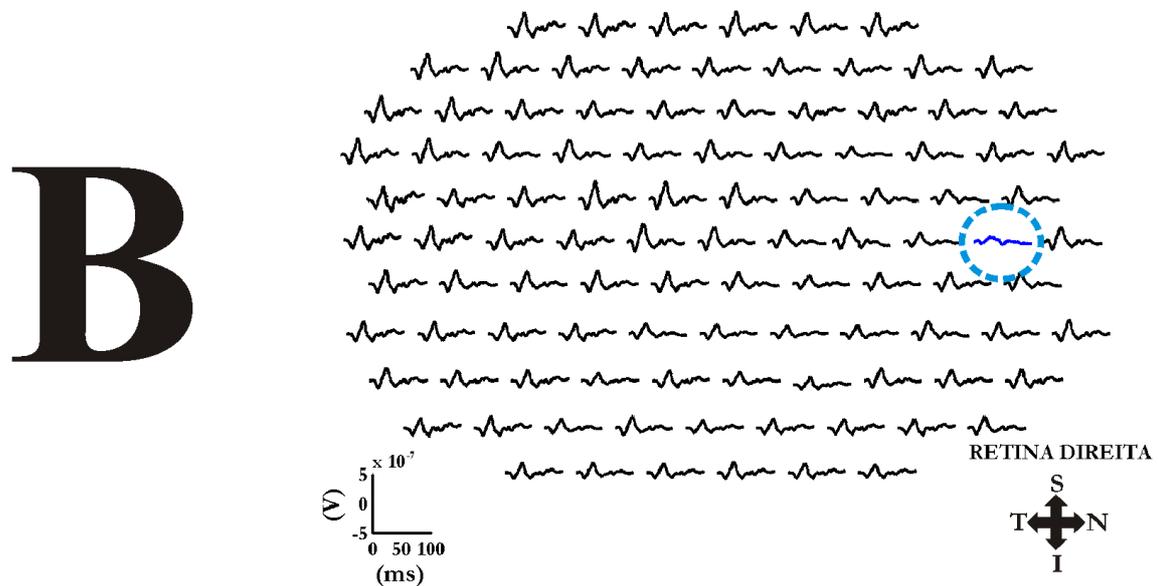
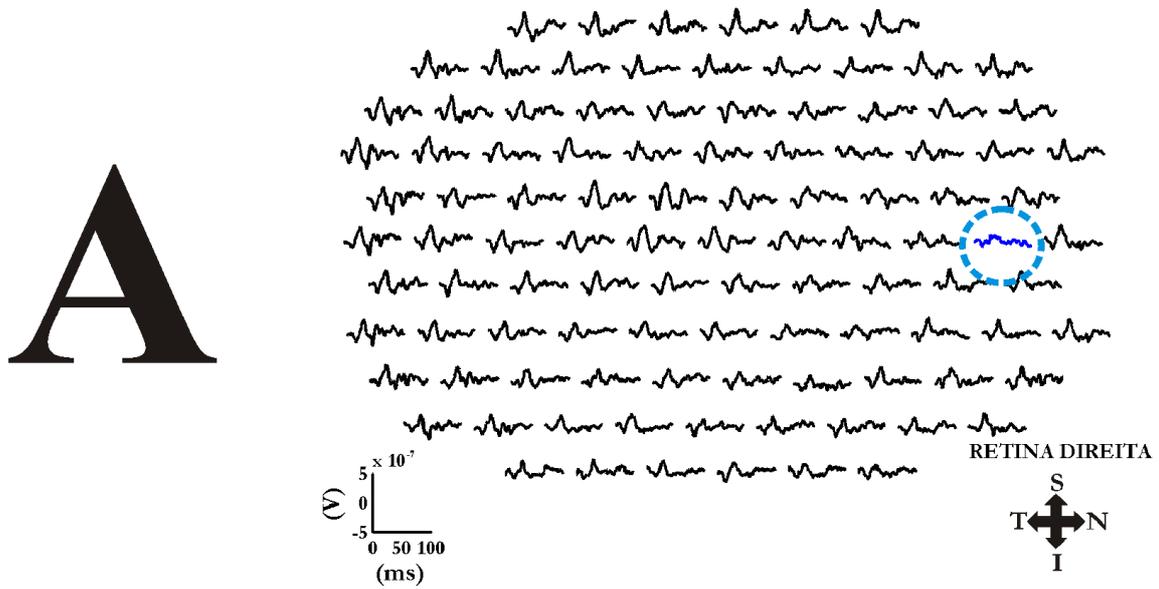


Figura A4-5. Kernels de primeira ordem originais (A) e reconstruídos com os dois primeiros componentes principais (B). Registros pretos apresentaram SNR do sinal no intervalo de SNR do sinal e registros azuis circundados apresentaram SNR do sinal no intervalo de baixas respostas. N, nasal; T, temporal; S, superior; I, inferior.

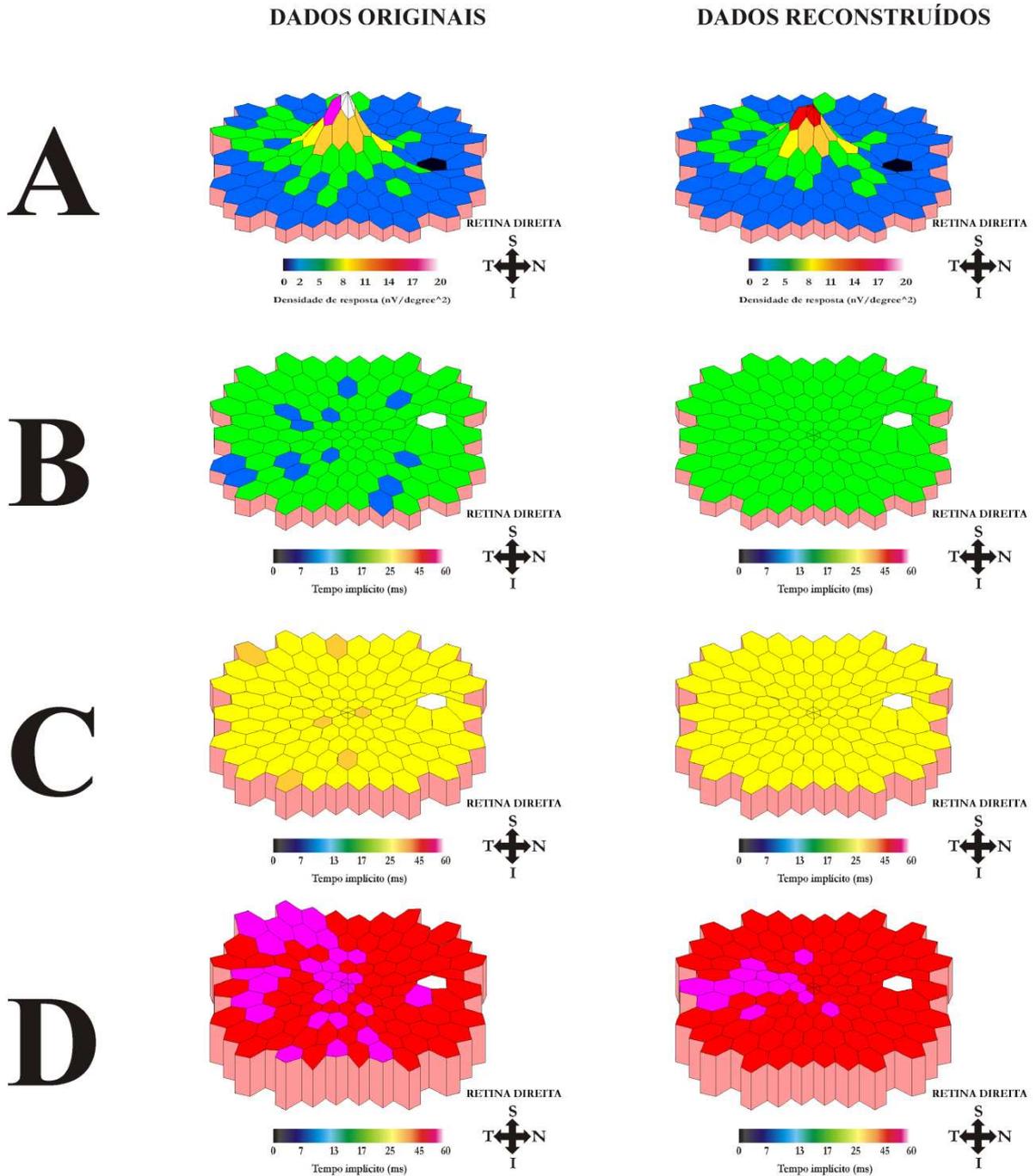
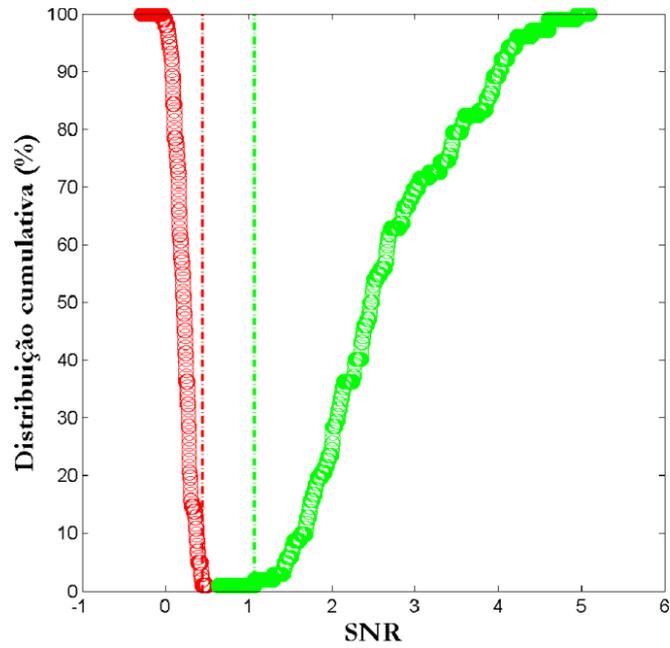


Figura A4-6. Gráficos tridimensionais de densidade de respostas (A), tempo implícito de N1 (B), P1 (C) e N2 (D) gerados com dados originais (coluna esquerda) e reconstruídos com os dois primeiros componentes principais (coluna direita). Os hexágonos pretos nos gráficos de densidade de resposta e os hexágonos brancos nos gráficos de tempo implícito representam áreas com SNR no intervalo de baixas respostas ou ausência de respostas. N, nasal; T, temporal; S, superior; I, inferior.

SUJEITO BLS 080604

# A



# B

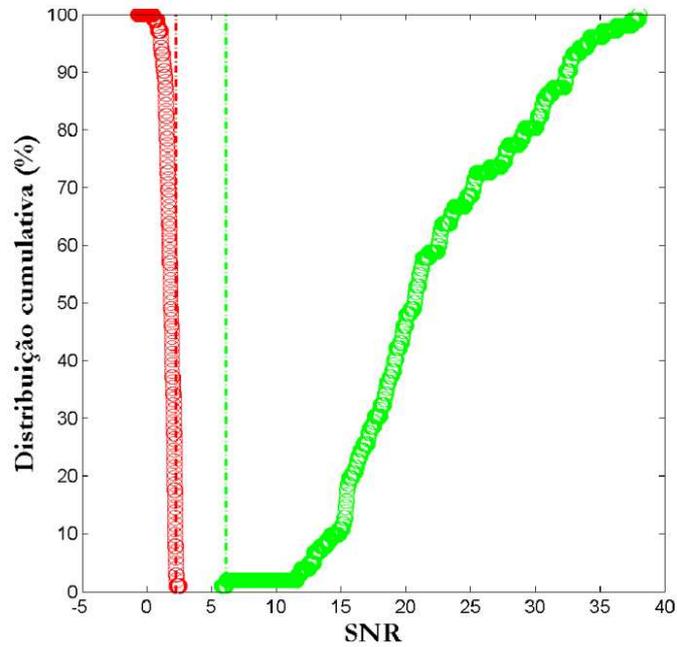


Figura A4-7. Distribuição cumulativa da SNR dos dados originais (A) e reconstruídos com os dois primeiros componentes principais. A distribuição cumulativa da SNR do ruído (em vermelho) e a distribuição cumulativa do sinal (em verde) ocupam diferentes faixas no domínio dos valores de SNR.

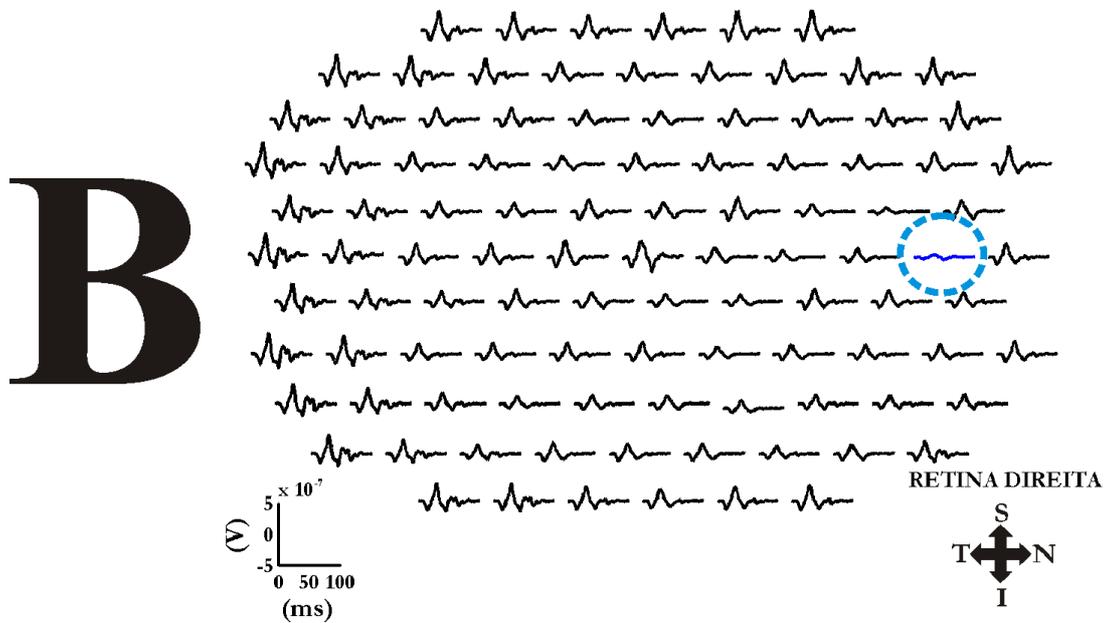
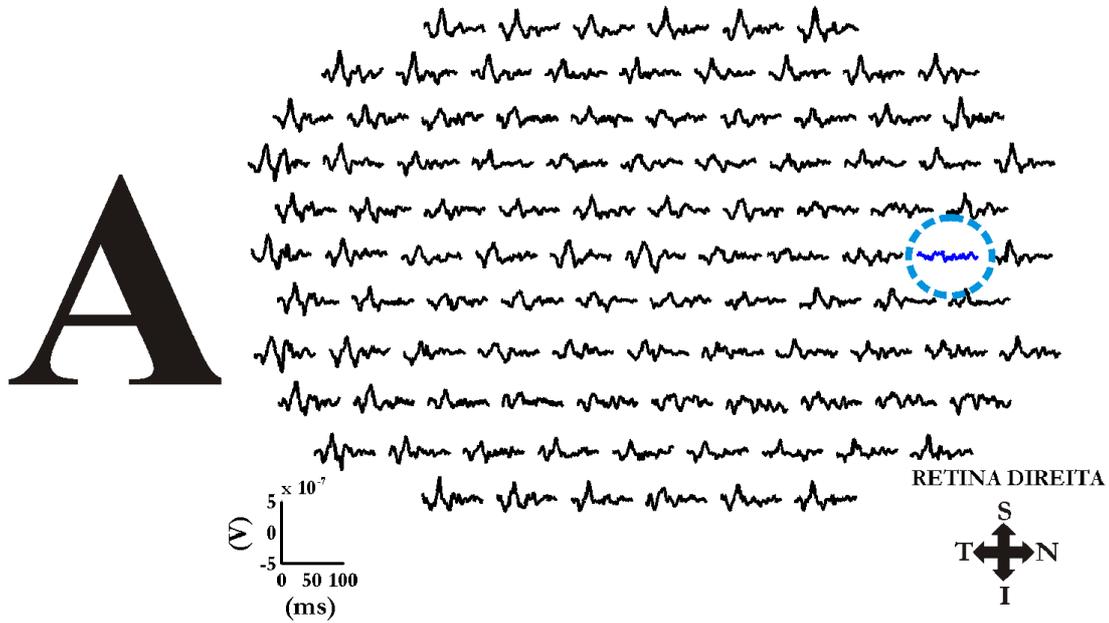


Figura A4-8. Kernels de primeira ordem originais (A) e reconstruídos com os dois primeiros componentes principais (B). Registros pretos apresentaram SNR do sinal no intervalo de SNR do sinal e registros azuis circundados apresentaram SNR do sinal no intervalo de baixas respostas. N, nasal; T, temporal; S, superior; I, inferior.

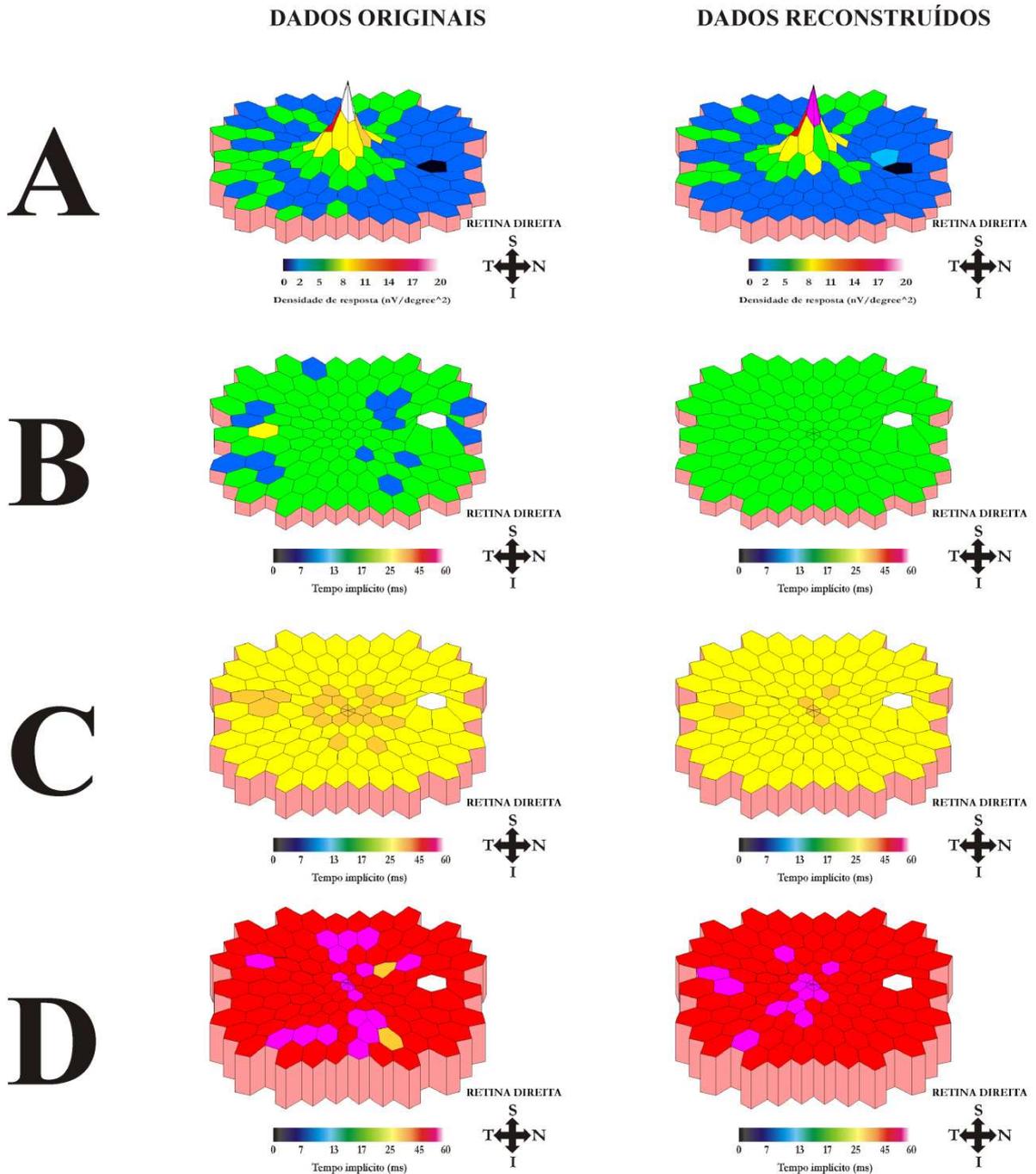
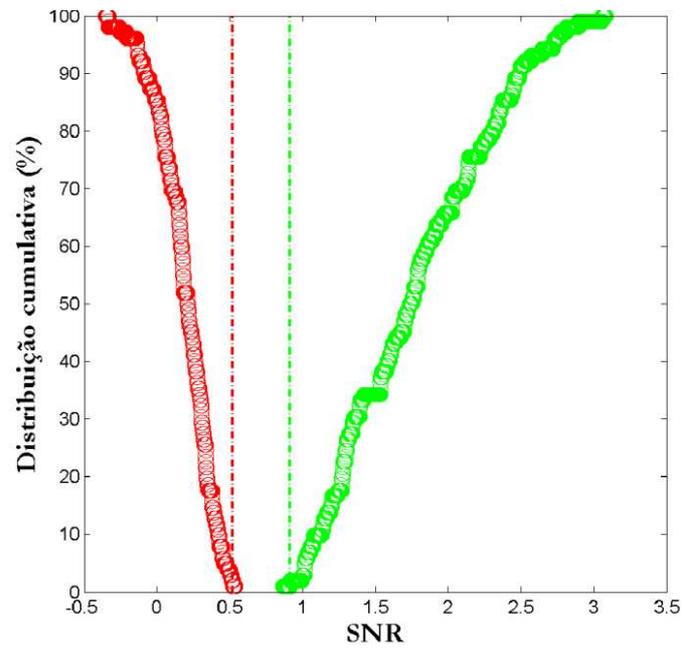


Figura A4-9. Gráficos tridimensionais de densidade de respostas (A), tempo implícito de N1 (B), P1 (C) e N2 (D) gerados com dados originais (coluna esquerda) e reconstruídos com os dois primeiros componentes principais (coluna direita). Os hexágonos pretos nos gráficos de densidade de resposta e os hexágonos brancos nos gráficos de tempo implícito representam áreas com SNR no intervalo de baixas respostas ou ausência de respostas. N, nasal; T, temporal; S, superior; I, inferior.

SUJEITO ESS080926

A



B

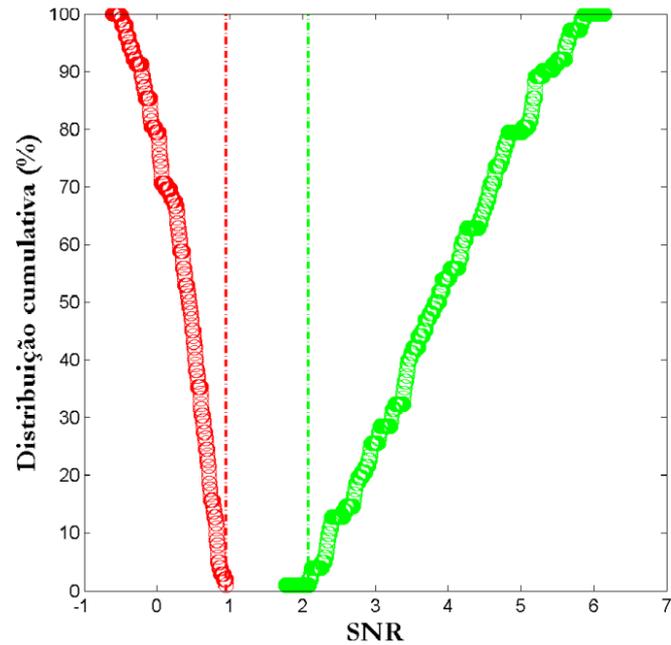


Figura A4-10. Distribuição cumulativa da SNR dos dados originais (A) e reconstruídos com os dois primeiros componentes principais. A distribuição cumulativa da SNR do ruído (em vermelho) e a distribuição cumulativa do sinal (em verde) ocupam diferentes faixas no domínio dos valores de SNR.

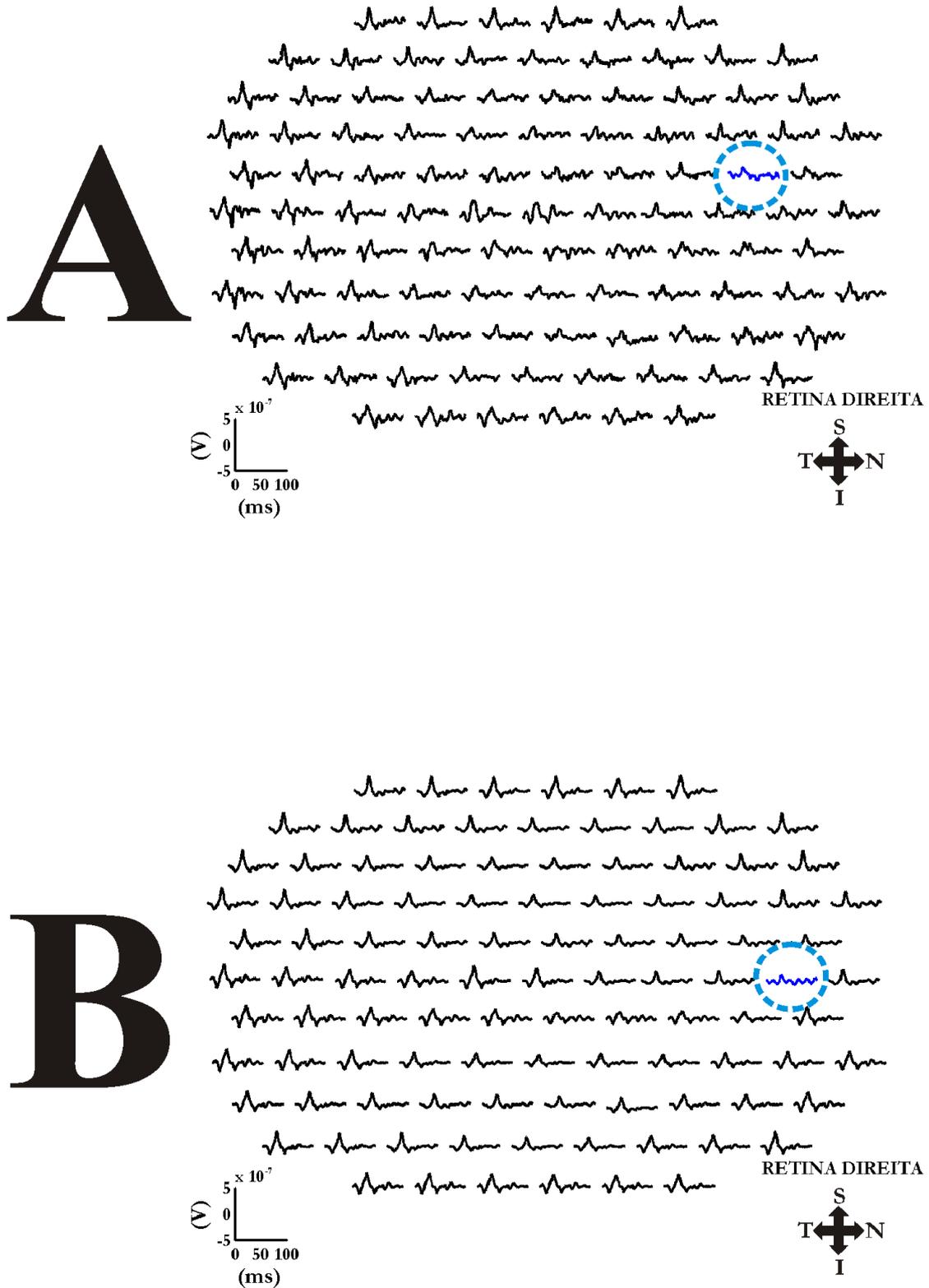


Figura A4-11. Kernels de primeira ordem originais (A) e reconstruídos com os dois primeiros componentes principais (B). Registros pretos apresentaram SNR do sinal no intervalo de SNR do sinal e registros azuis circundados apresentaram SNR do sinal no intervalo de baixas respostas. N, nasal; T, temporal; S, superior; I, inferior.

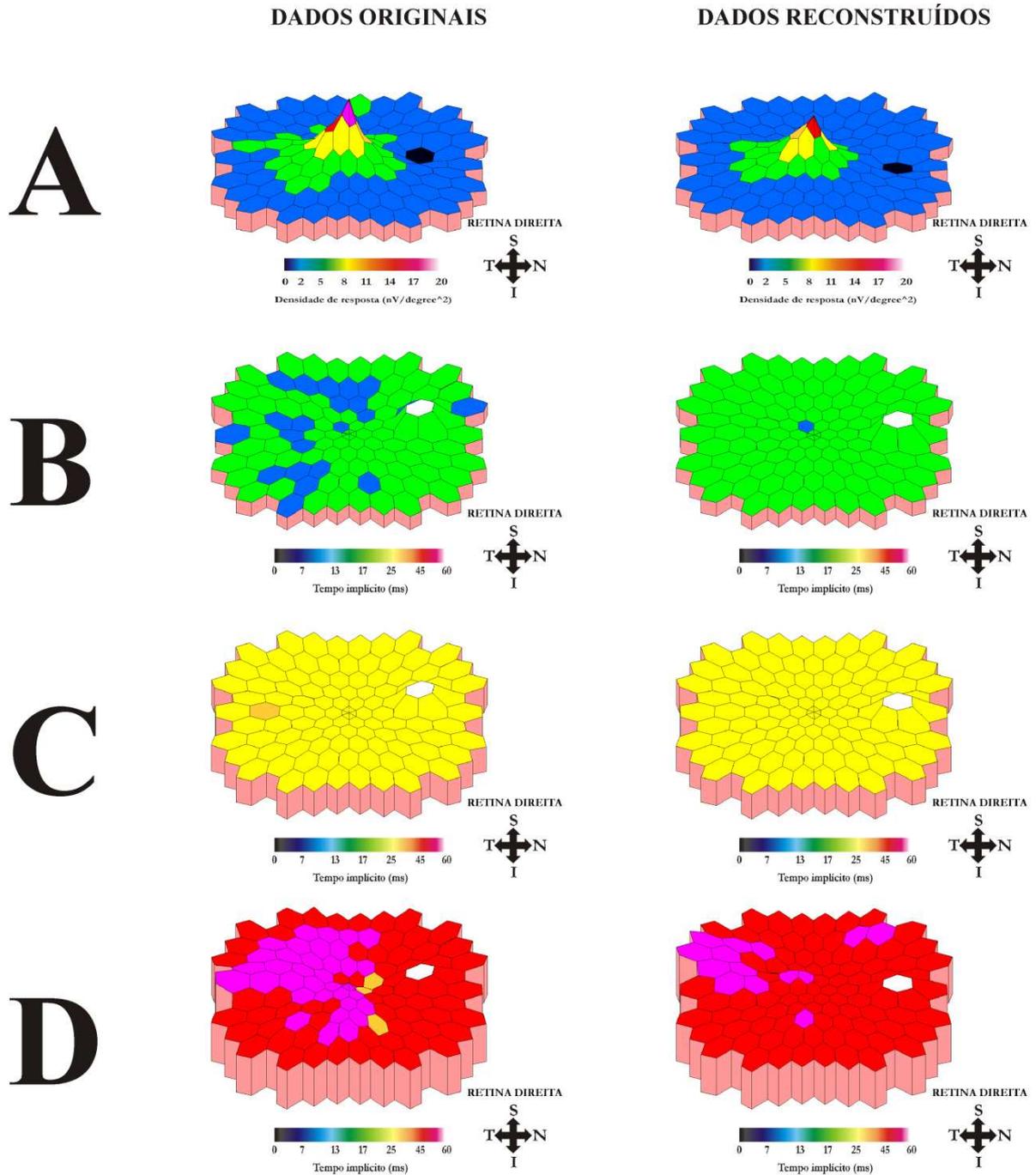
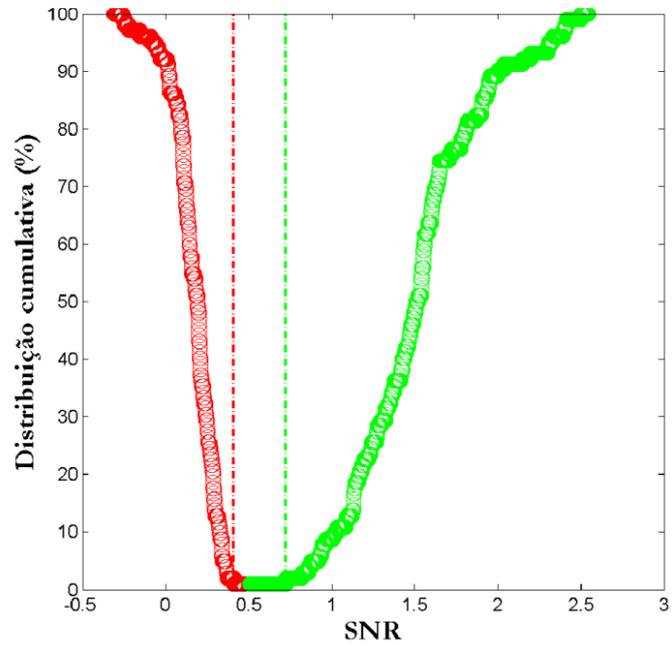


Figura A4-12. Gráficos tridimensionais de densidade de respostas (A), tempo implícito de N1 (B), P1 (C) e N2 (D) gerados com dados originais (coluna esquerda) e reconstruídos com os dois primeiros componentes principais (coluna direita). Os hexágonos pretos nos gráficos de densidade de resposta e os hexágonos brancos nos gráficos de tempo implícito representam áreas com SNR no intervalo de baixas respostas ou ausência de respostas. N, nasal; T, temporal; S, superior; I, inferior.

SUJEITO ESJ080716

# A



# B

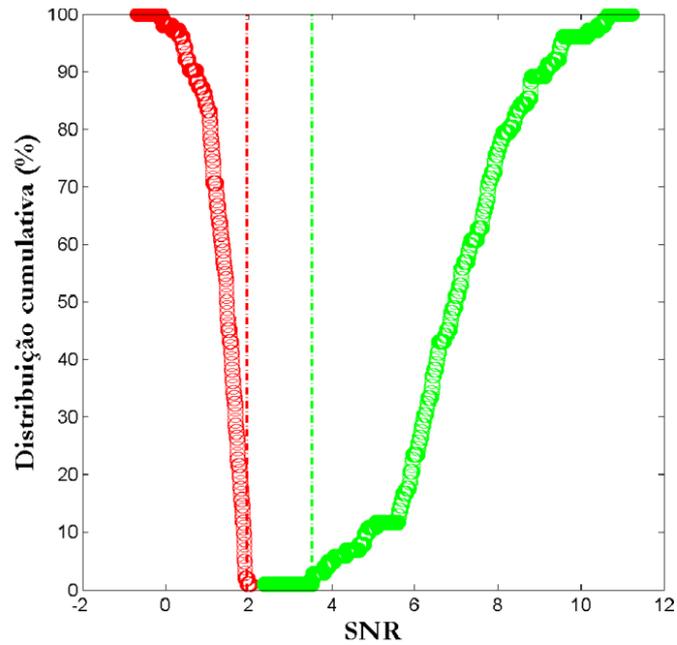


Figura A4-13. Distribuição cumulativa da SNR dos dados originais (A) e reconstruídos com os dois primeiros componentes principais. A distribuição cumulativa da SNR do ruído (em vermelho) e a distribuição cumulativa do sinal (em verde) ocupam diferentes faixas no domínio dos valores de SNR.

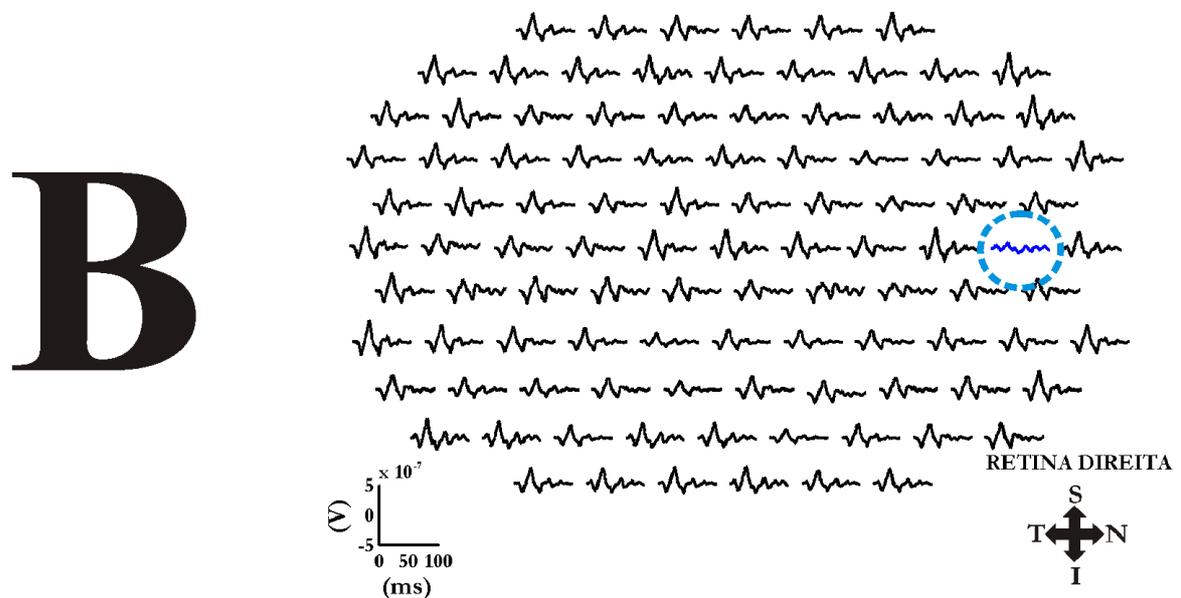
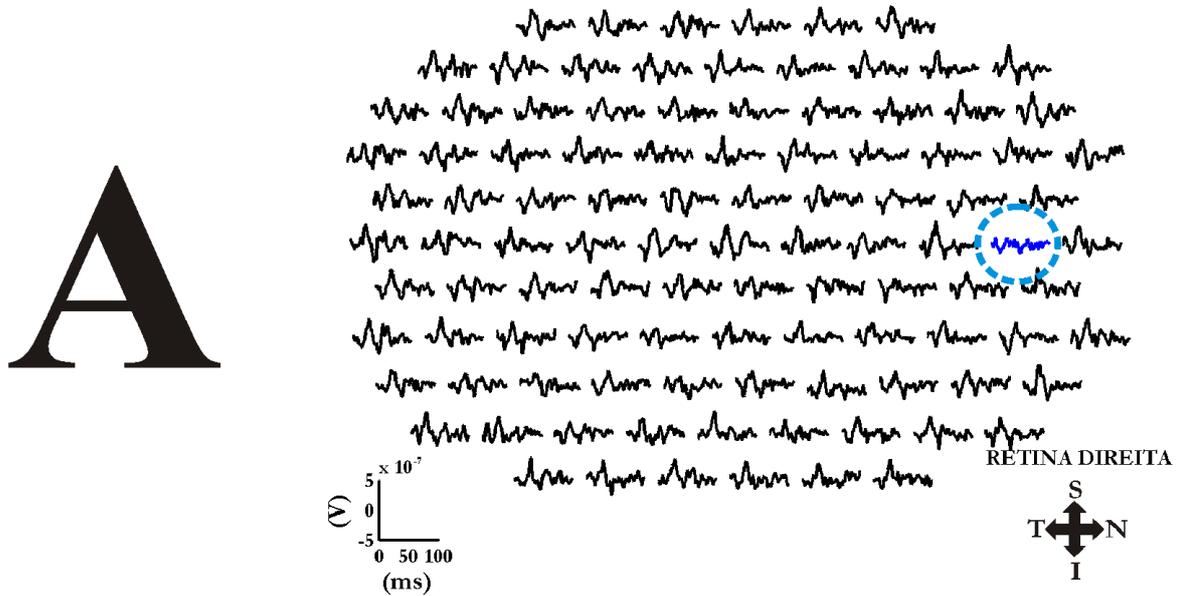


Figura A4-14. Kernels de primeira ordem originais (A) e reconstruídos com os dois primeiros componentes principais (B). Registros pretos apresentaram SNR do sinal no intervalo de SNR do sinal e registros azuis circundados apresentaram SNR do sinal no intervalo de baixas respostas. N, nasal; T, temporal; S, superior; I, inferior.

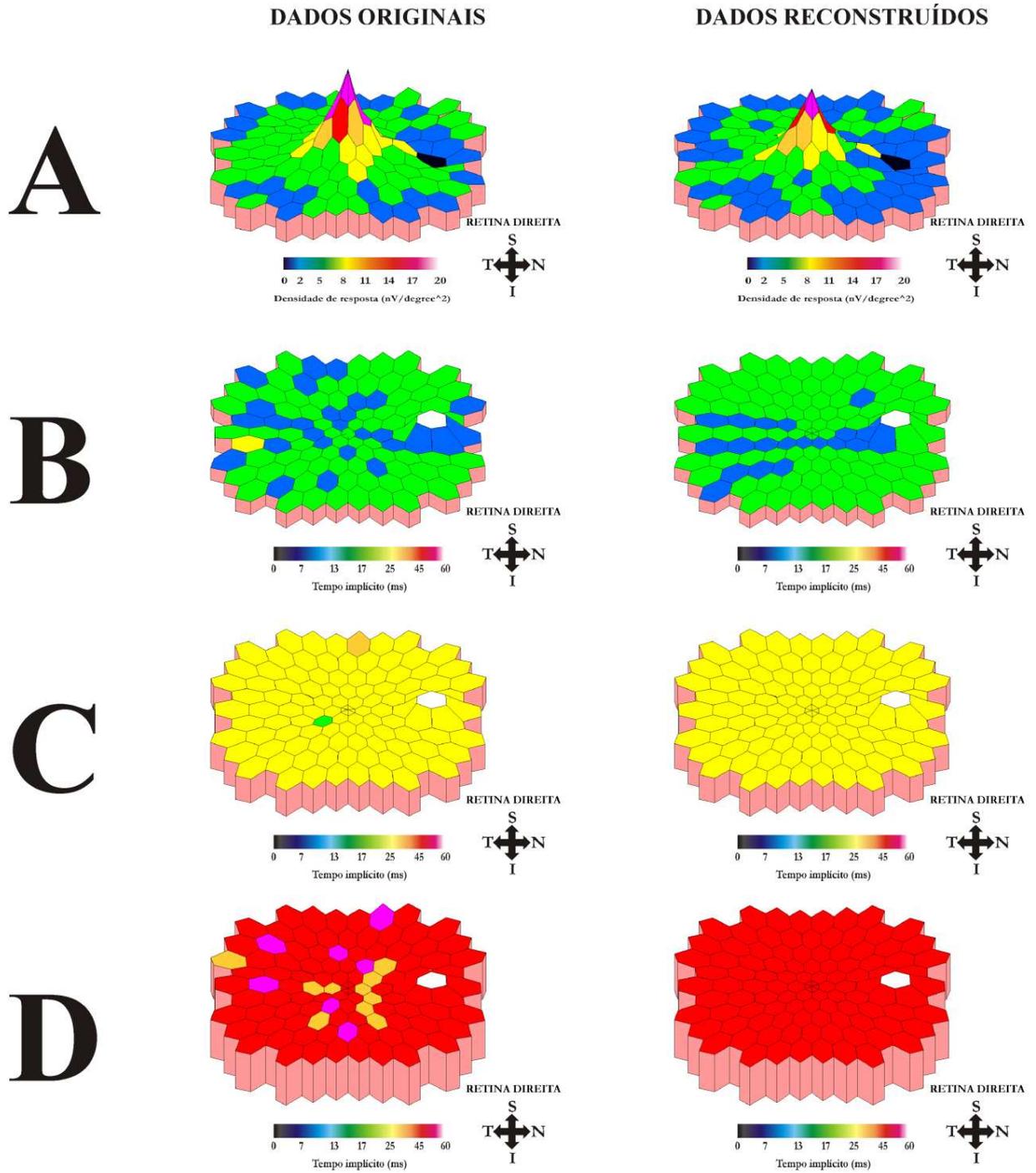
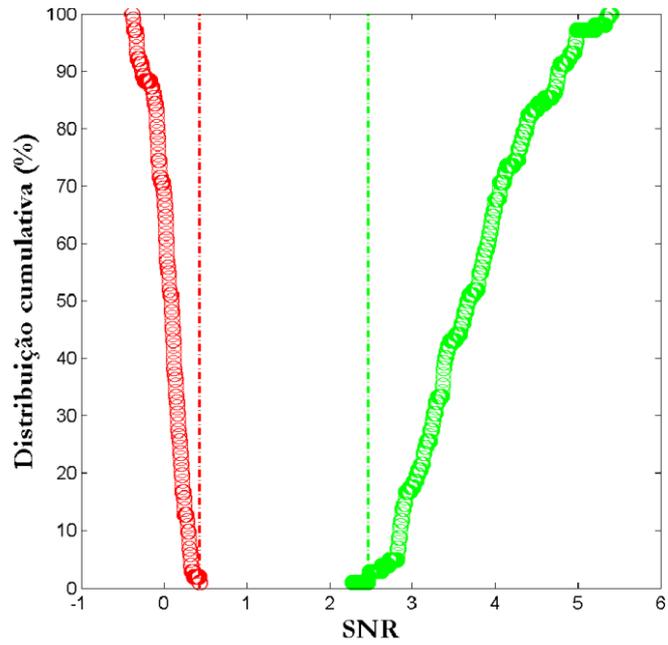


Figura A4-15. Gráficos tridimensionais de densidade de respostas (A), tempo implícito de N1 (B), P1 (C) e N2 (D) gerados com dados originais (coluna esquerda) e reconstruídos com os dois primeiros componentes principais (coluna direita). Os hexágonos pretos nos gráficos de densidade de resposta e os hexágonos brancos nos gráficos de tempo implícito representam áreas com SNR no intervalo de baixas respostas ou ausência de respostas. N, nasal; T, temporal; S, superior; I, inferior.

SUJEITO GSS080625

# A



# B

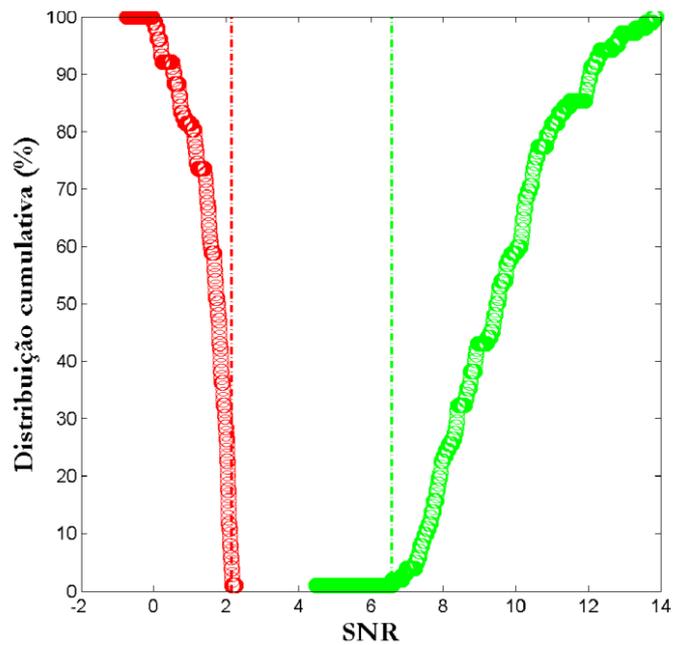


Figura A4-16. Distribuição cumulativa da SNR dos dados originais (A) e reconstruídos com os dois primeiros componentes principais. A distribuição cumulativa da SNR do ruído (em vermelho) e a distribuição cumulativa do sinal (em verde) ocupam diferentes faixas no domínio dos valores de SNR.

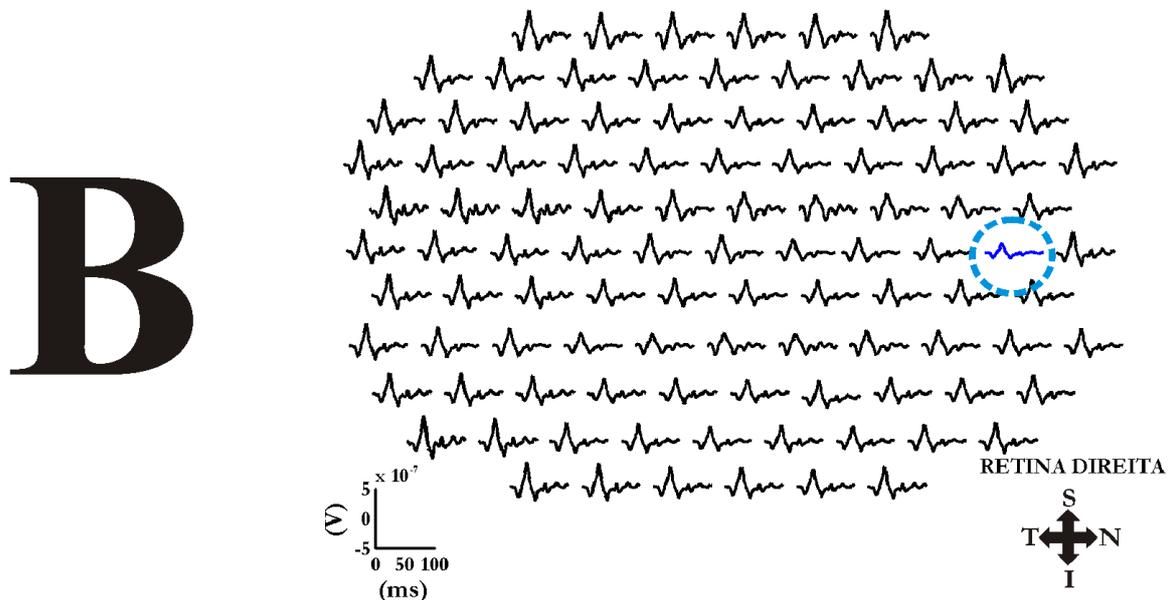
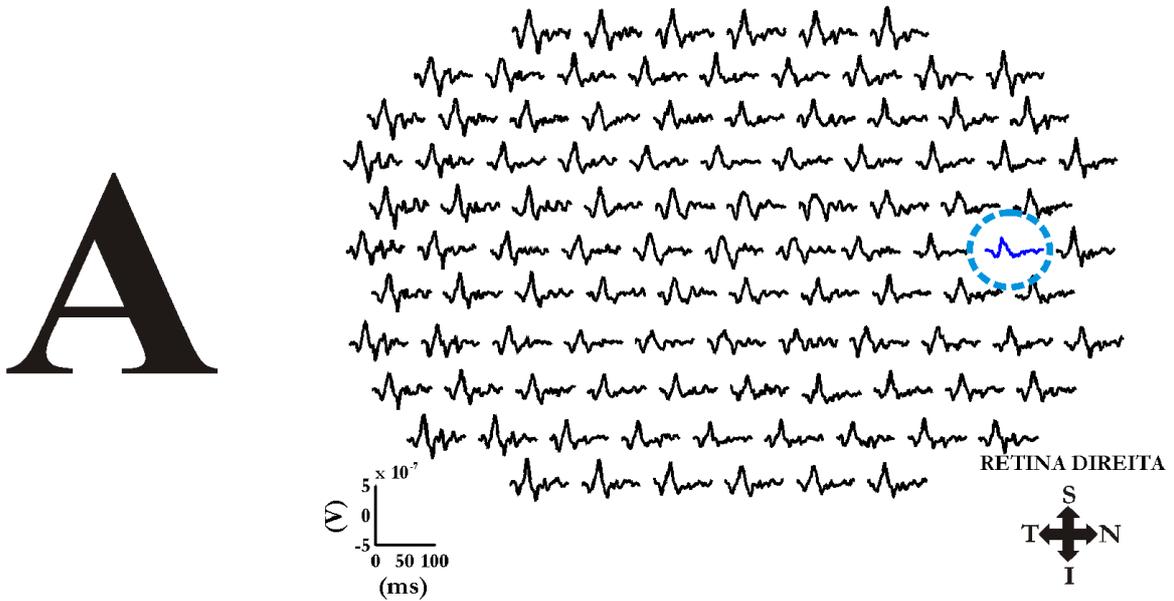


Figura A4-17. Kernels de primeira ordem originais (A) e reconstruídos com os dois primeiros componentes principais (B). Registros pretos apresentaram SNR do sinal no intervalo de SNR do sinal e registros azuis circundados apresentaram SNR do sinal no intervalo de baixas respostas. N, nasal; T, temporal; S, superior; I, inferior.

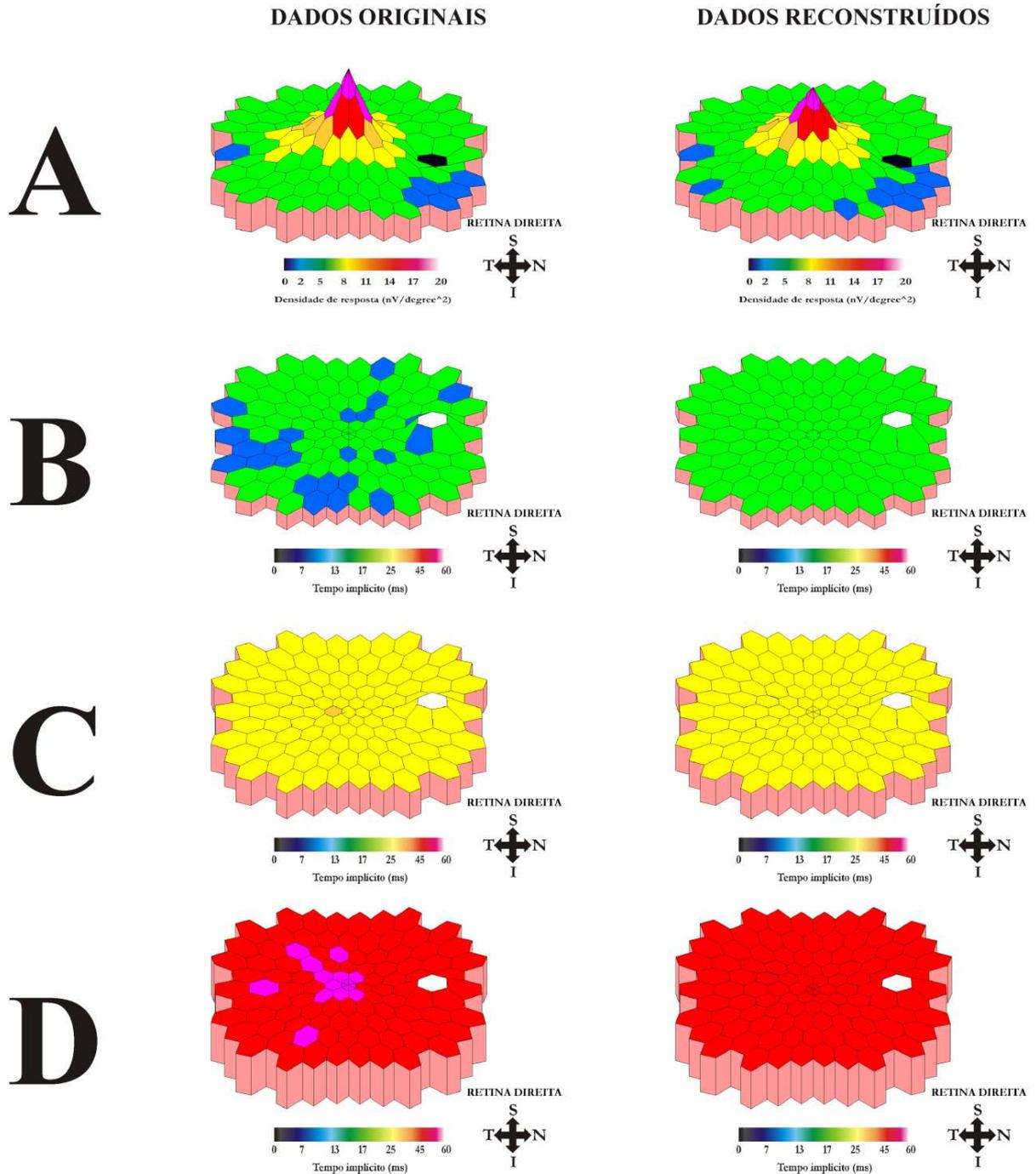
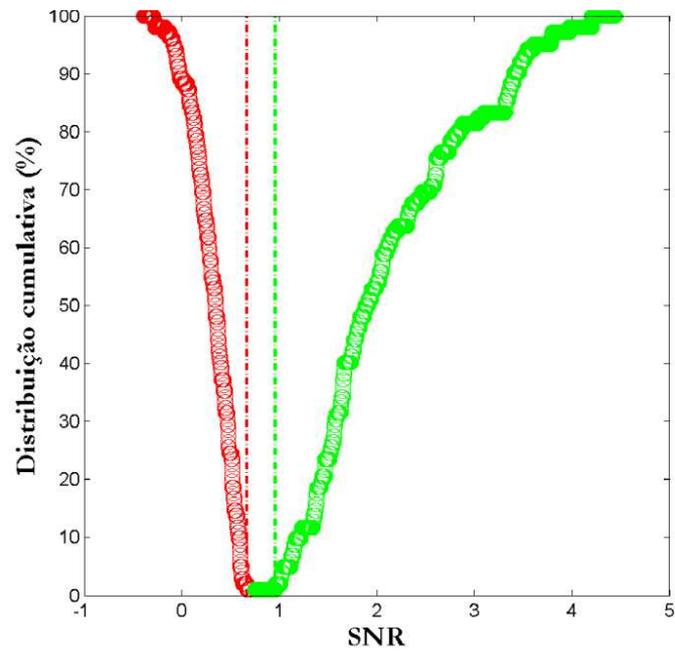


Figura A4-18. Gráficos tridimensionais de densidade de respostas (A), tempo implícito de N1 (B), P1 (C) e N2 (D) gerados com dados originais (coluna esquerda) e reconstruídos com os dois primeiros componentes principais (coluna direita). Os hexágonos pretos nos gráficos de densidade de resposta e os hexágonos brancos nos gráficos de tempo implícito representam áreas com SNR no intervalo de baixas respostas ou ausência de respostas. N, nasal; T, temporal; S, superior; I, inferior.

SUJEITO IBT081016

# A



# B

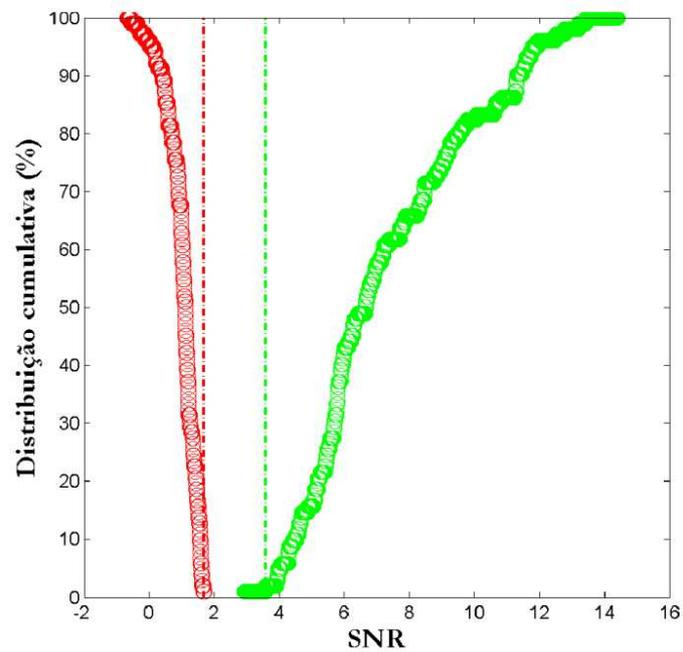
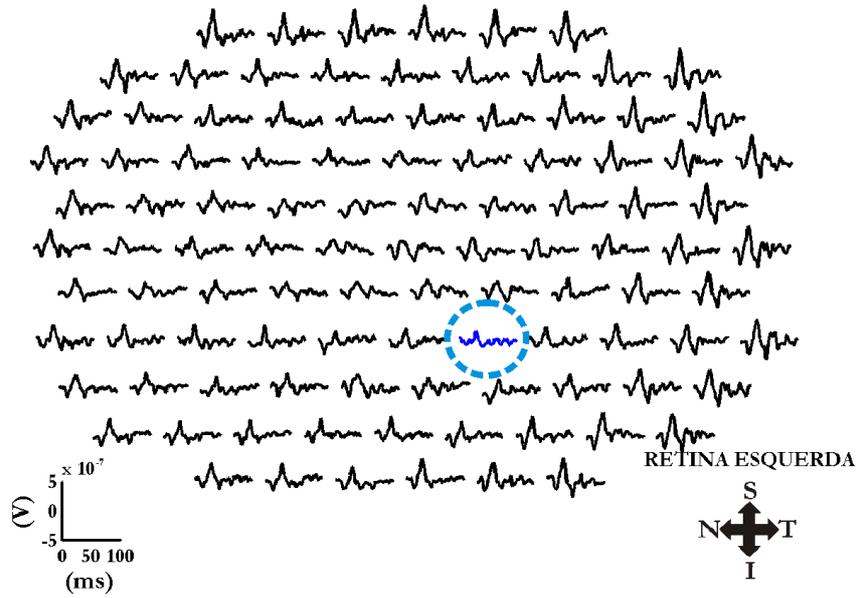


Figura A4-19. Distribuição cumulativa da SNR dos dados originais (A) e reconstruídos com os dois primeiros componentes principais. A distribuição cumulativa da SNR do ruído (em vermelho) e a distribuição cumulativa do sinal (em verde) ocupam diferentes faixas no domínio dos valores de SNR.

A



B

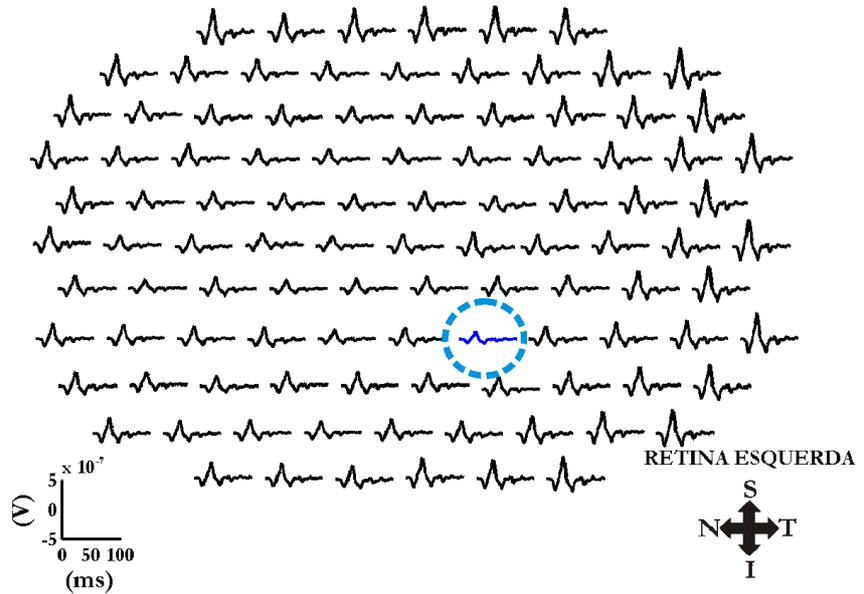


Figura A4-20. Kernels de primeira ordem originais (A) e reconstruídos com os dois primeiros componentes principais (B). Registros pretos apresentaram SNR do sinal no intervalo de SNR do sinal e registros azuis circundados apresentaram SNR do sinal no intervalo de baixas respostas. N, nasal; T, temporal; S, superior; I, inferior.

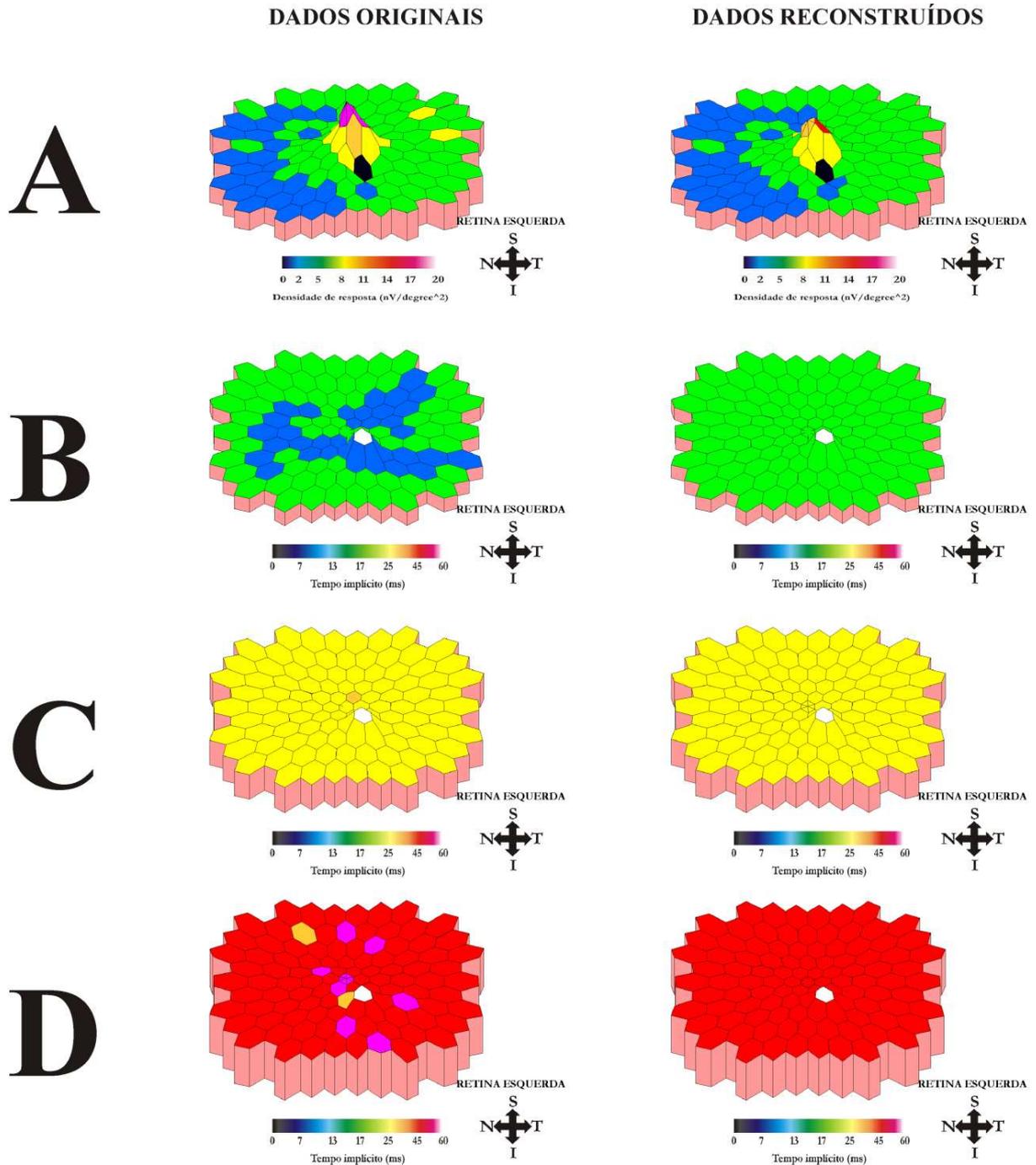
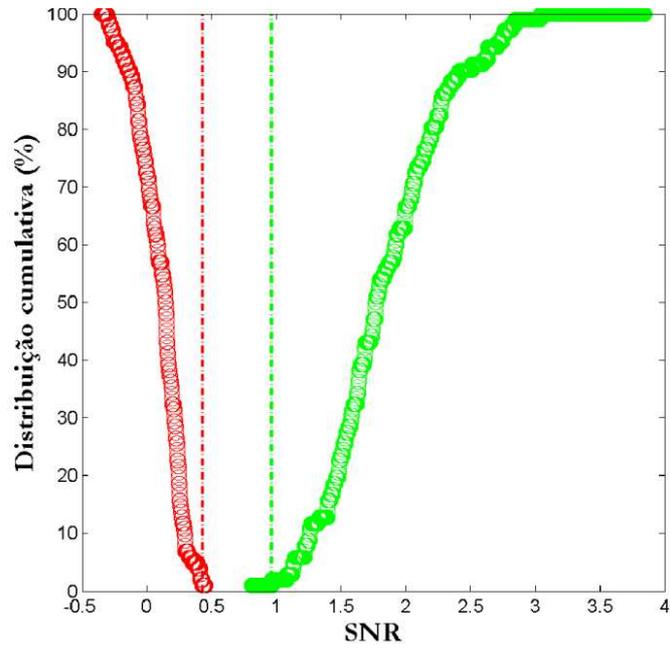


Figura A4-21. Gráficos tridimensionais de densidade de respostas (**A**), tempo implícito de N1 (**B**), P1 (**C**) e N2 (**D**) gerados com dados originais (coluna esquerda) e reconstruídos com os dois primeiros componentes principais (coluna direita). Os hexágonos pretos nos gráficos de densidade de resposta e os hexágonos brancos nos gráficos de tempo implícito representam áreas com SNR no intervalo de baixas respostas ou ausência de respostas. N, nasal; T, temporal; S, superior; I, inferior.

SUJEITO JSS080710

# A



# B

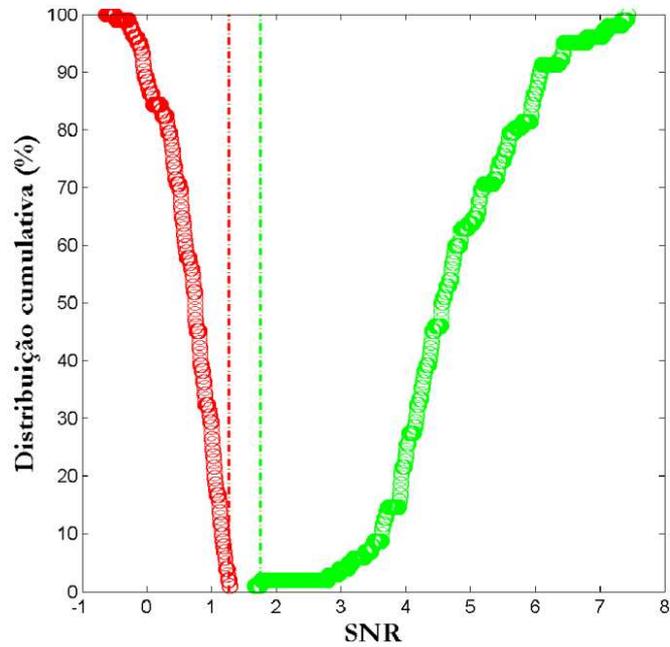


Figura A4-22. Distribuição cumulativa da SNR dos dados originais (A) e reconstruídos com os dois primeiros componentes principais. A distribuição cumulativa da SNR do ruído (em vermelho) e a distribuição cumulativa do sinal (em verde) ocupam diferentes faixas no domínio dos valores de SNR.

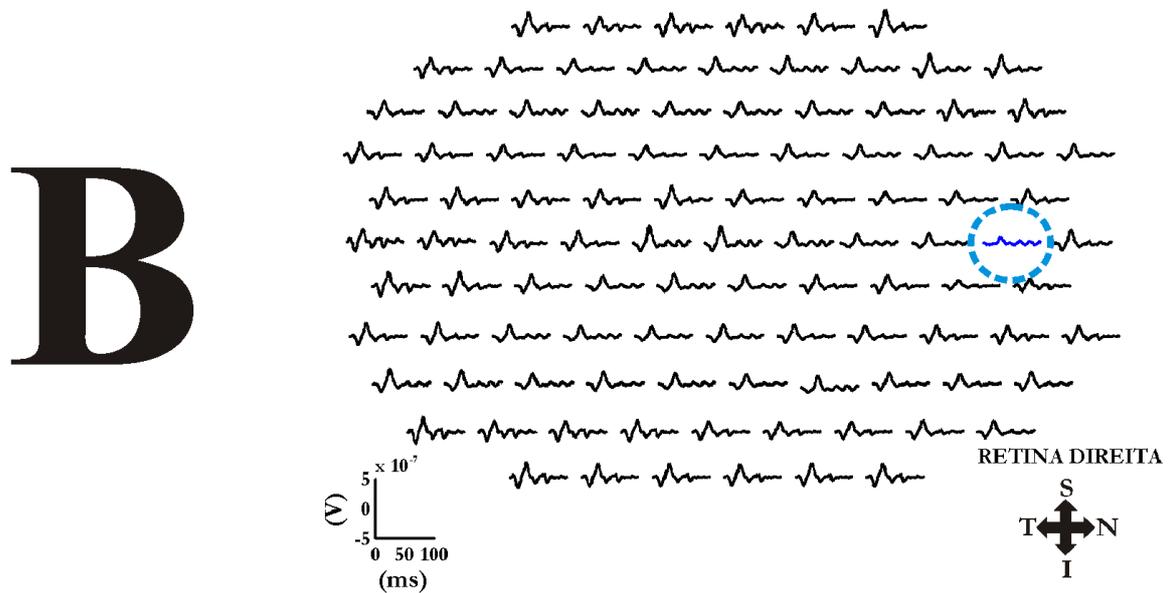
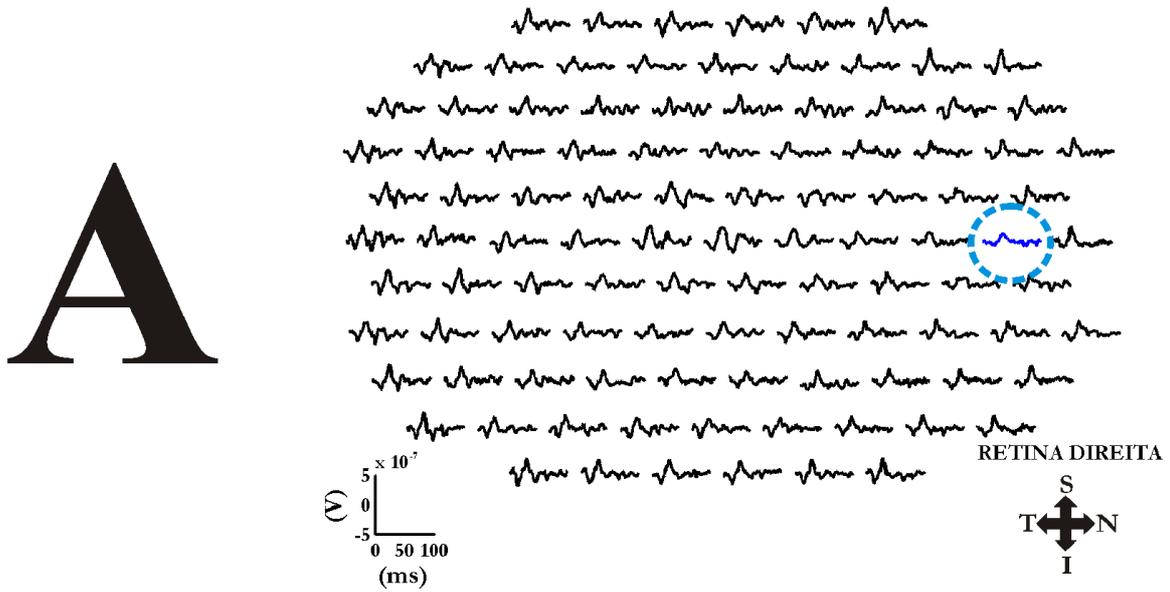


Figura A4-23. Kernels de primeira ordem originais (A) e reconstruídos com os dois primeiros componentes principais (B). Registros pretos apresentaram SNR do sinal no intervalo de SNR do sinal e registros azuis circundados apresentaram SNR do sinal no intervalo de baixas respostas. N, nasal; T, temporal; S, superior; I, inferior.

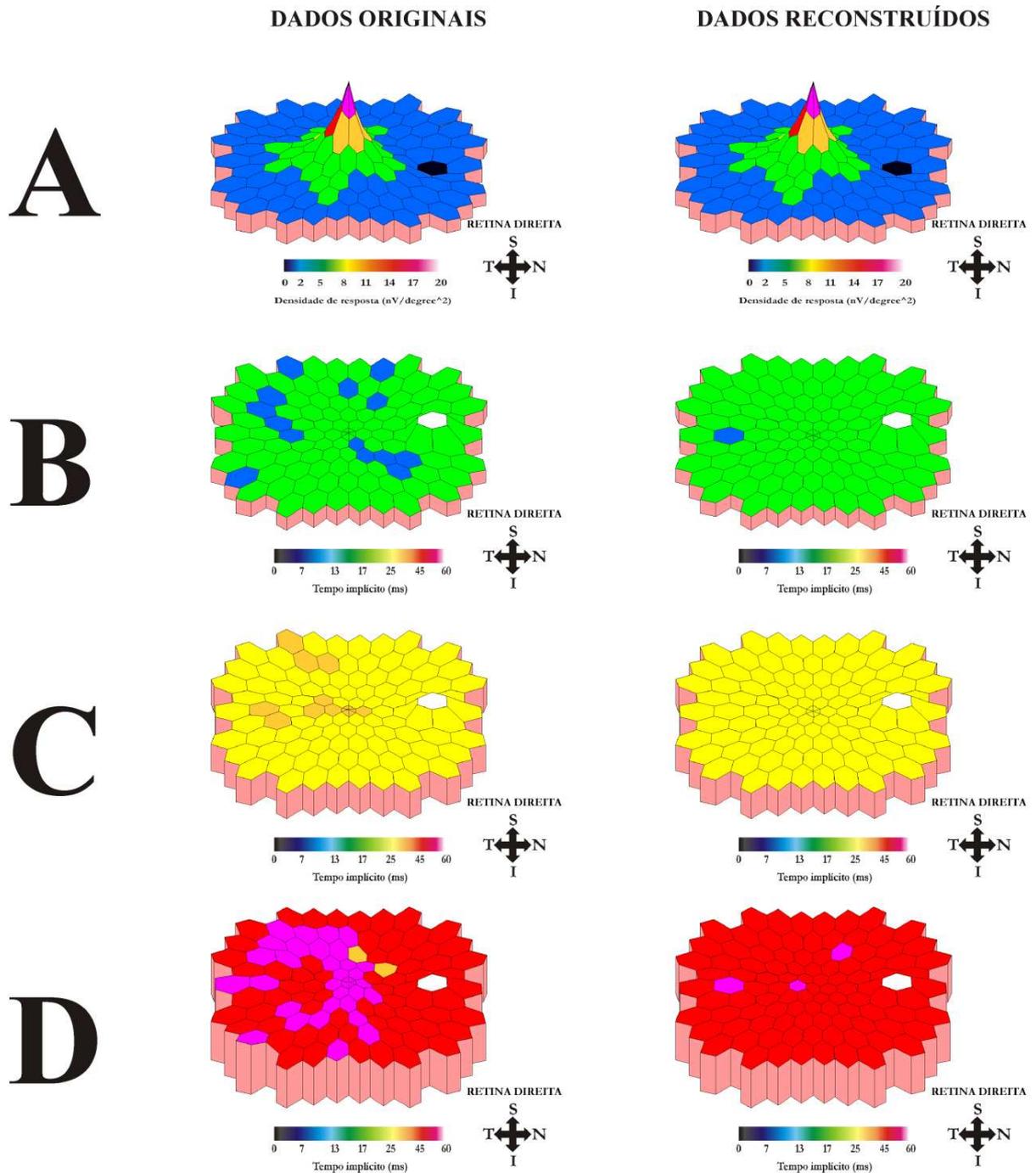
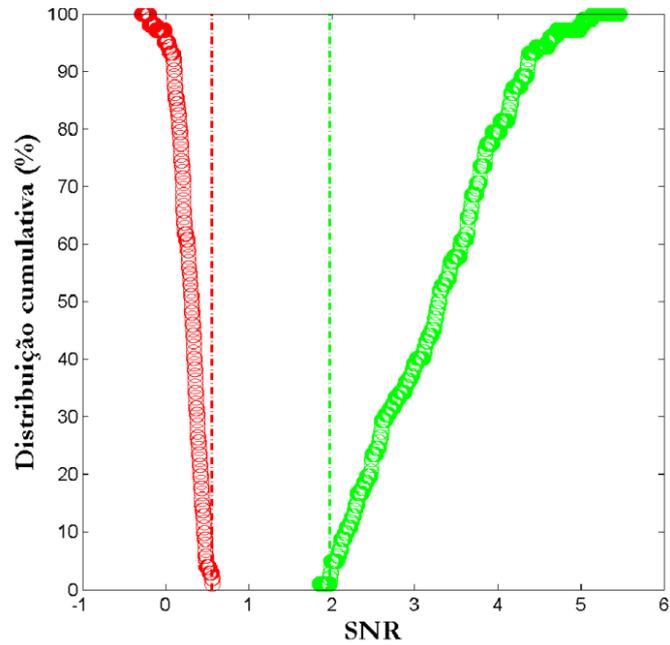


Figura A4-24. Gráficos tridimensionais de densidade de respostas (A), tempo implícito de N1 (B), P1 (C) e N2 (D) gerados com dados originais (coluna esquerda) e reconstruídos com os dois primeiros componentes principais (coluna direita). Os hexágonos pretos nos gráficos de densidade de resposta e os hexágonos brancos nos gráficos de tempo implícito representam áreas com SNR no intervalo de baixas respostas ou ausência de respostas. N, nasal; T, temporal; S, superior; I, inferior.

SUJEITO MGL081016

# A



# B

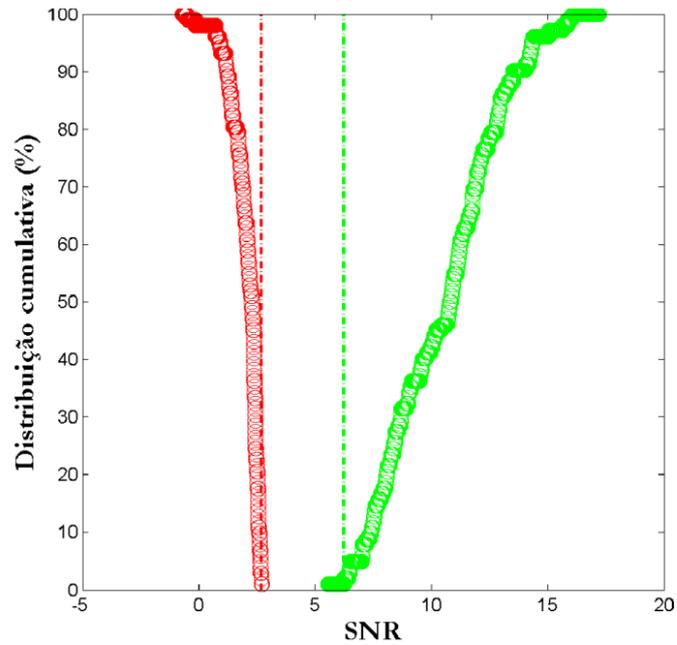


Figura A4-25. Distribuição cumulativa da SNR dos dados originais (A) e reconstruídos com os dois primeiros componentes principais. A distribuição cumulativa da SNR do ruído (em vermelho) e a distribuição cumulativa do sinal (em verde) ocupam diferentes faixas no domínio dos valores de SNR.

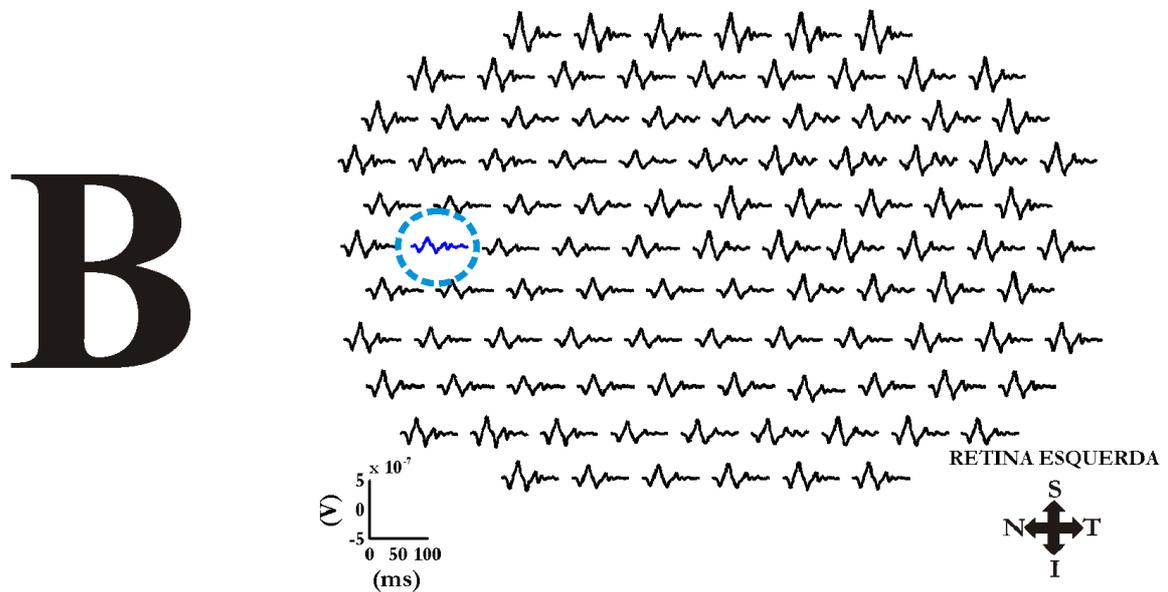
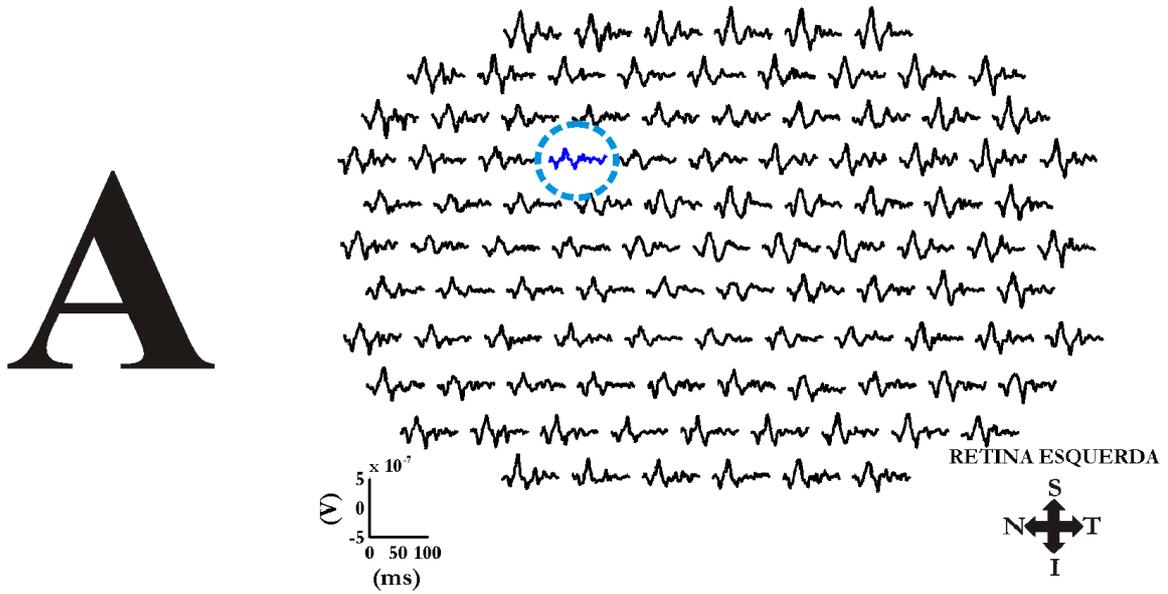


Figura A4-26. Kernels de primeira ordem originais (A) e reconstruídos com os dois primeiros componentes principais (B). Registros pretos apresentaram SNR do sinal no intervalo de SNR do sinal e registros azuis circundados apresentaram SNR do sinal no intervalo de baixas respostas. N, nasal; T, temporal; S, superior; I, inferior.

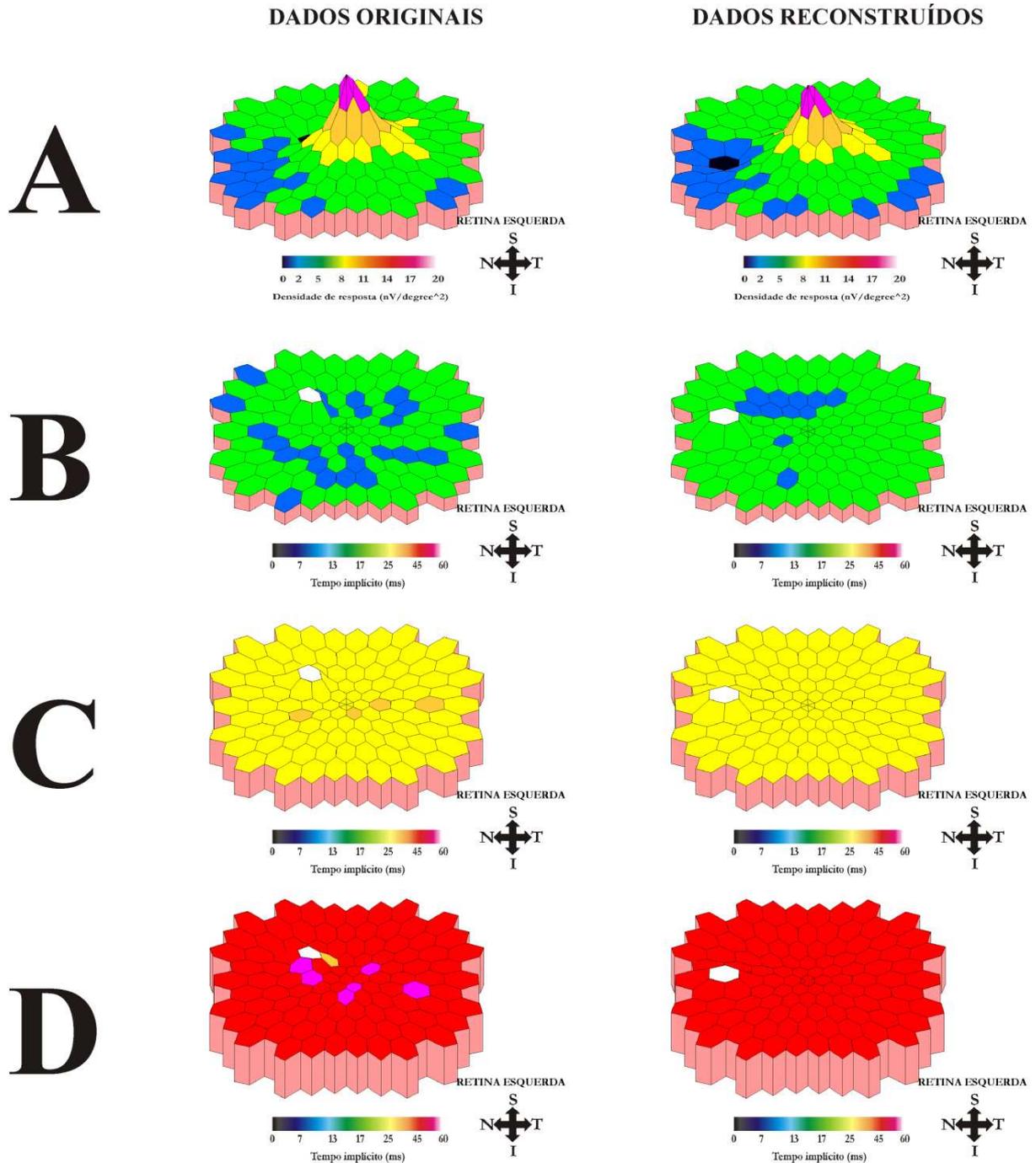
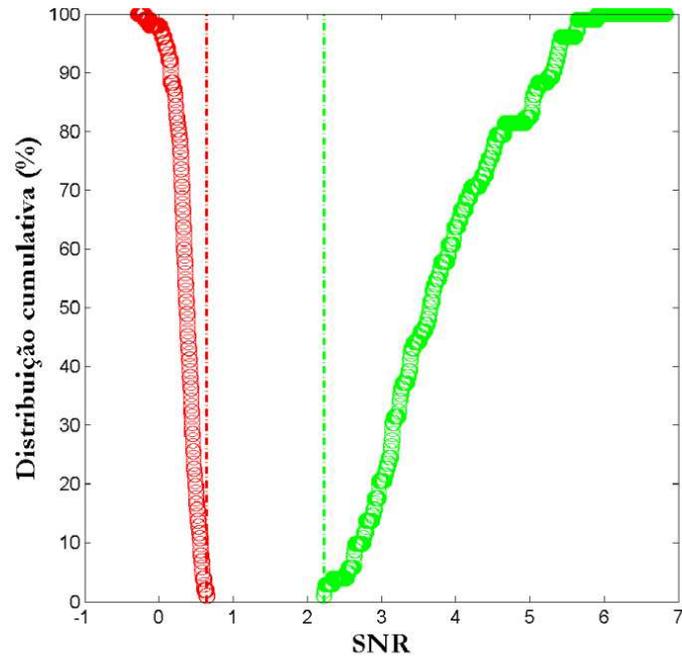


Figura A4-27. Gráficos tridimensionais de densidade de respostas (A), tempo implícito de N1 (B), P1 (C) e N2 (D) gerados com dados originais (coluna esquerda) e reconstruídos com os dois primeiros componentes principais (coluna direita). Os hexágonos pretos nos gráficos de densidade de resposta e os hexágonos brancos nos gráficos de tempo implícito representam áreas com SNR no intervalo de baixas respostas ou ausência de respostas. N, nasal; T, temporal; S, superior; I, inferior.

SUJEITO RRES081007

# A



# B

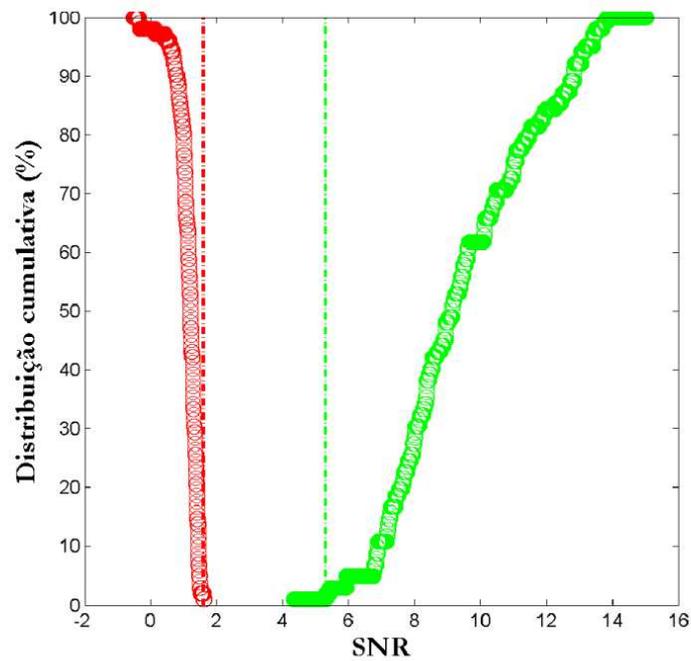
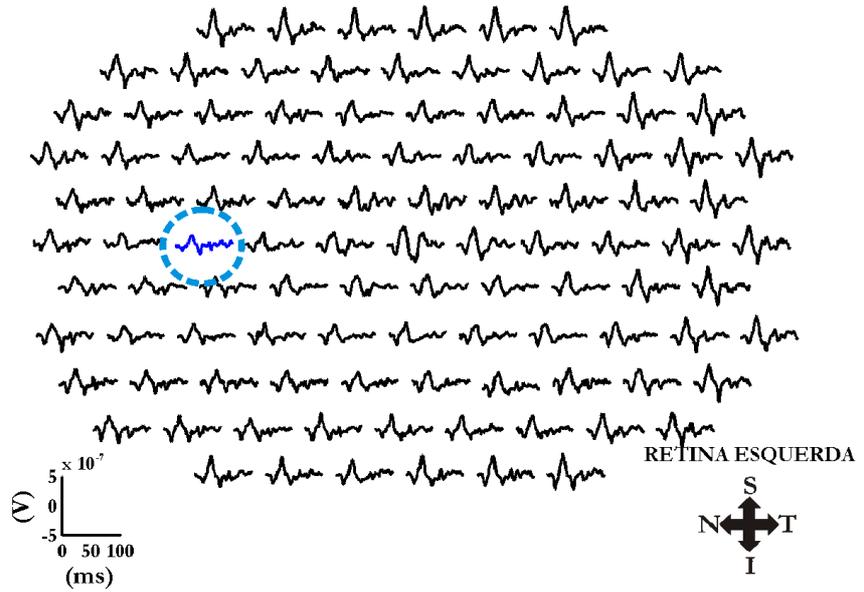


Figura A4-28. Distribuição cumulativa da SNR dos dados originais (A) e reconstruídos com os dois primeiros componentes principais. A distribuição cumulativa da SNR do ruído (em vermelho) e a distribuição cumulativa do sinal (em verde) ocupam diferentes faixas no domínio dos valores de SNR.

A



B

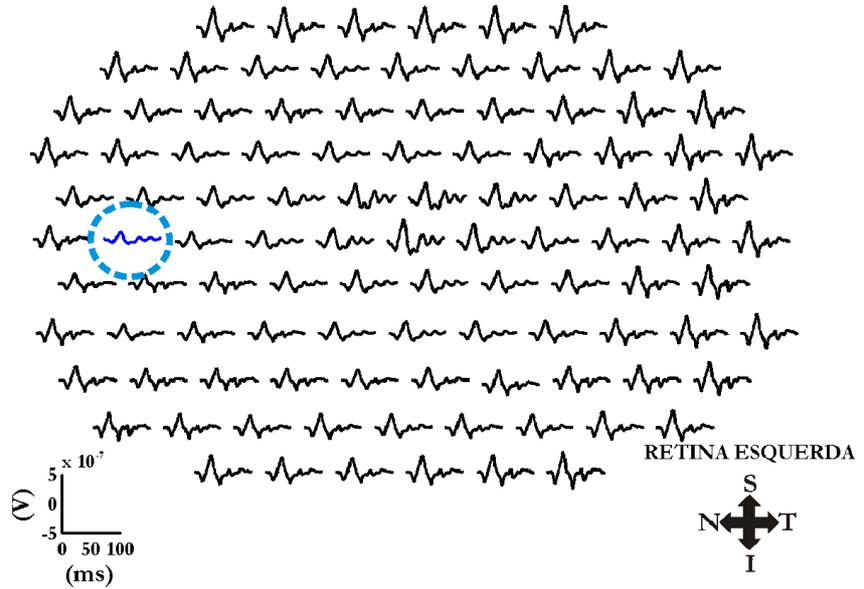


Figura A4-29. Kernels de primeira ordem originais (A) e reconstruídos com os dois primeiros componentes principais (B). Registros pretos apresentaram SNR do sinal no intervalo de SNR do sinal e registros azuis circundados apresentaram SNR do sinal no intervalo de baixas respostas. N, nasal; T, temporal; S, superior; I, inferior.

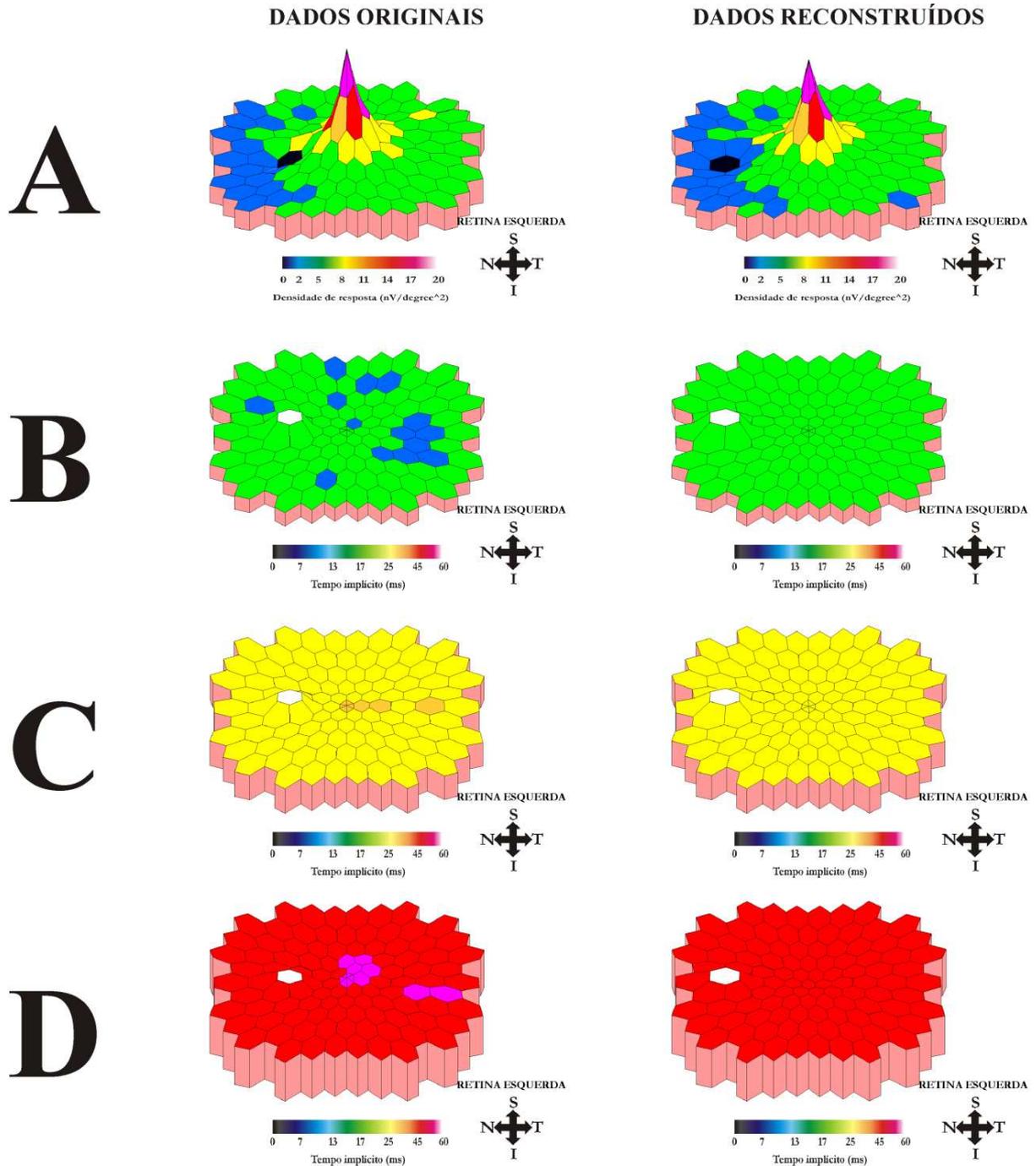
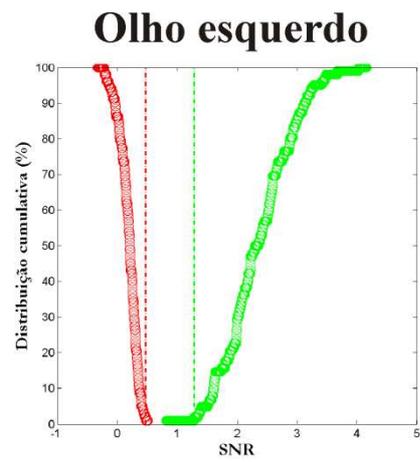
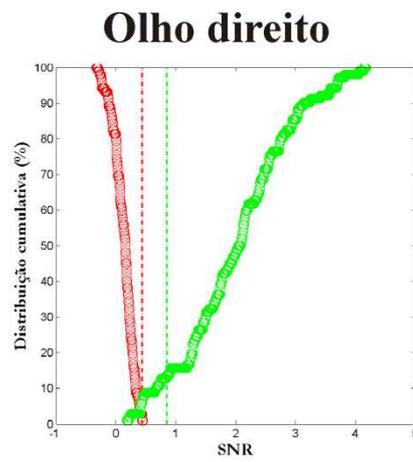


Figura A4-30. Gráficos tridimensionais de densidade de respostas (A), tempo implícito de N1 (B), P1 (C) e N2 (D) gerados com dados originais (coluna esquerda) e reconstruídos com os dois primeiros componentes principais (coluna direita). Os hexágonos pretos nos gráficos de densidade de resposta e os hexágonos brancos nos gráficos de tempo implícito representam áreas com SNR no intervalo de baixas respostas ou ausência de respostas. N, nasal; T, temporal; S, superior; I, inferior.

**APÊNDICE 5****RESULTADOS DOS PACIENTES COM HISTÓRICO DE TOXOPLASMOSE**

PACIENTE RFA090116

A



B

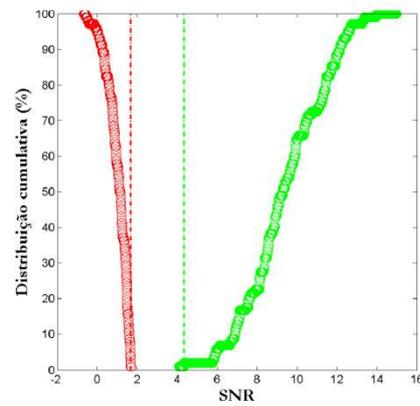
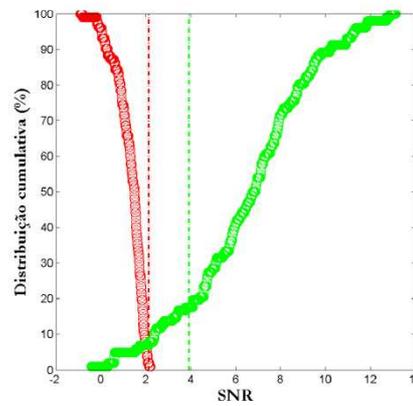
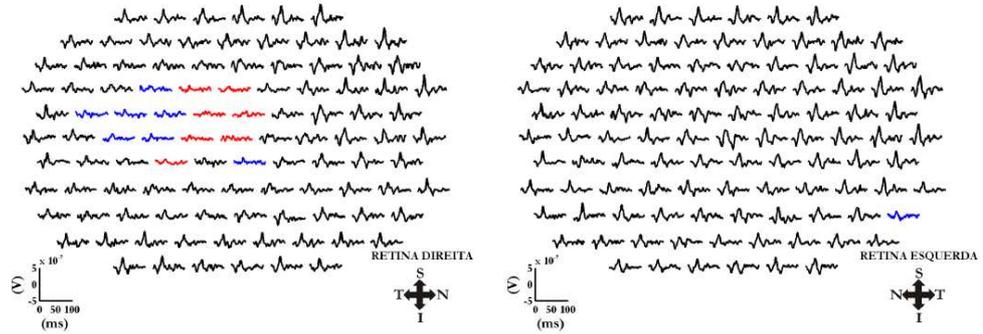


Figura A5-1. Distribuição cumulativa da SNR dos dados originais (A) e reconstruídos com os dois primeiros componentes principais de ambos os olhos do paciente (B). Em vermelho, distribuições cumulativas de SNR do ruído (círculos) e limite do ruído (linha tracejada). Em verde, distribuições cumulativas de SNR do sinal (círculos) e limite do sinal (linha tracejada).

**A**



**B**

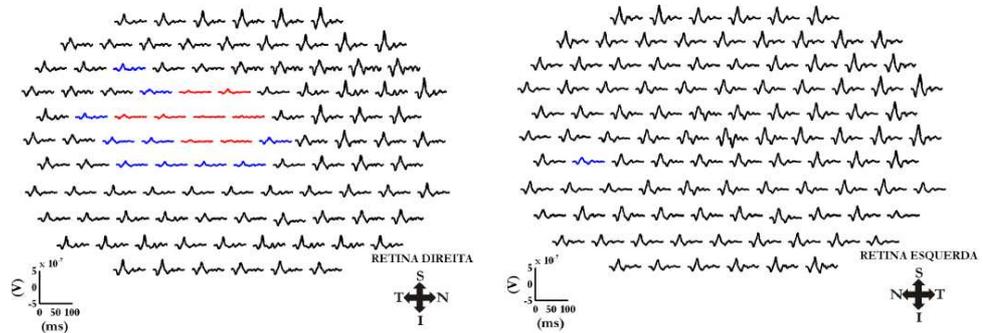


Figura A5-2. *Kernels* de primeira ordem de ambos os olhos do paciente gerados pelos dados originais (A) e reconstruídos com os dois primeiros componentes principais (B). Registros pretos apresentaram SNR do sinal no intervalo do sinal, registros azuis apresentaram SNR no intervalo de baixas respostas e registros vermelhos apresentaram SNR no intervalo do ruído. N, nasal; T, temporal; S, superior; I, inferior.

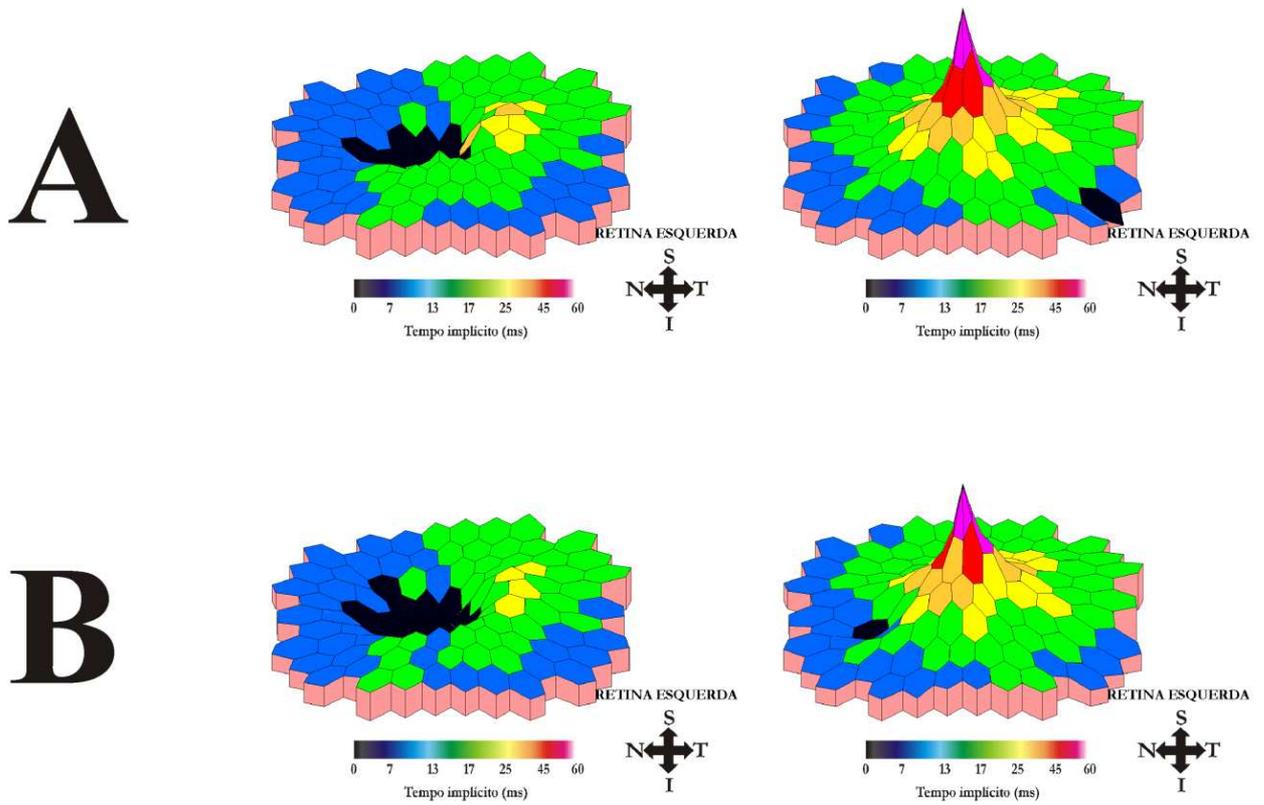


Figura A5-3. Gráficos de densidade de resposta de ambos os olhos do paciente gerados com dados originais (A) e dados reconstruídos com os dois primeiros componentes principais (B). Hexágonos pretos indicam áreas com diminuição funcional, ou seja, áreas com registro que apresentaram SNR do sinal no intervalo de baixas respostas ou do ruído.

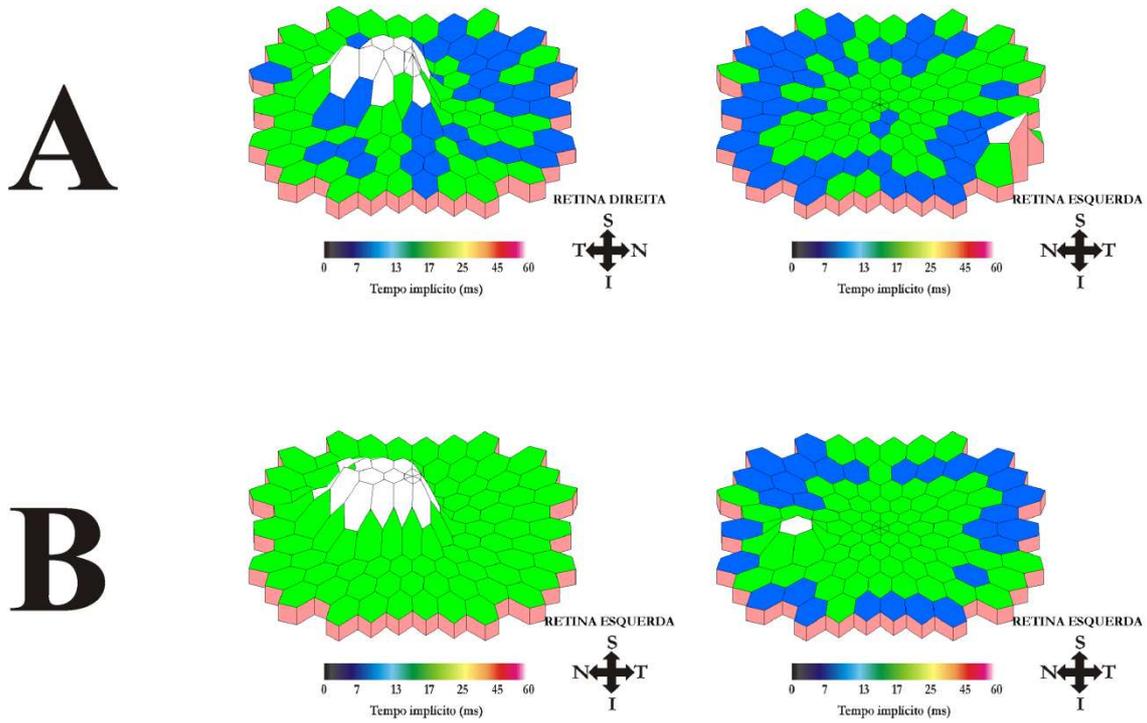


Figura A5-4. Gráficos de tempo implícito de N1 de ambos os olhos do paciente gerados com dados originais (A) e dados reconstruídos com os dois primeiros componentes principais (B). Hexágonos brancos indicam áreas com diminuição funcional, ou seja, áreas com registro que apresentaram SNR do sinal no intervalo de baixas respostas ou do ruído.

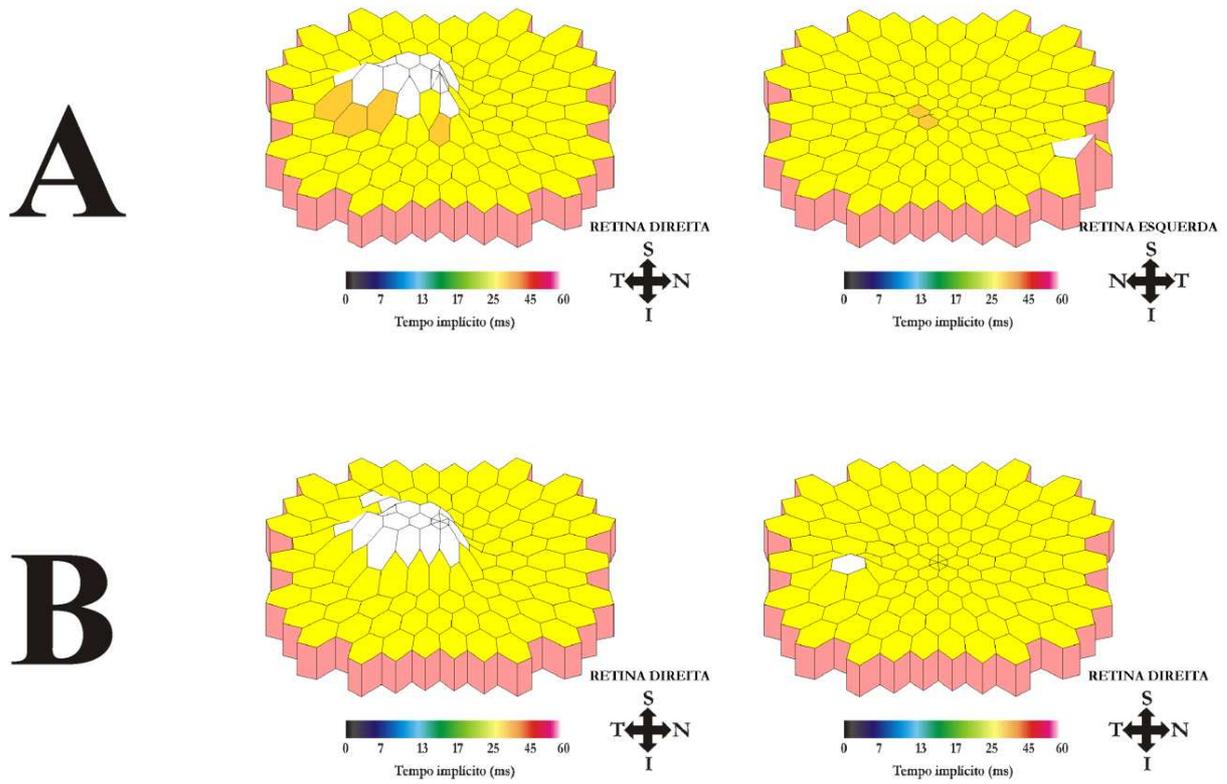


Figura A5-5. Gráficos de tempo implícito de P1 de ambos os olhos do paciente gerados com dados originais (A) e dados reconstruídos com os dois primeiros componentes principais (B). Hexágonos brancos indicam áreas com diminuição funcional, ou seja, áreas com registro que apresentaram SNR do sinal no intervalo de baixas respostas ou do ruído.

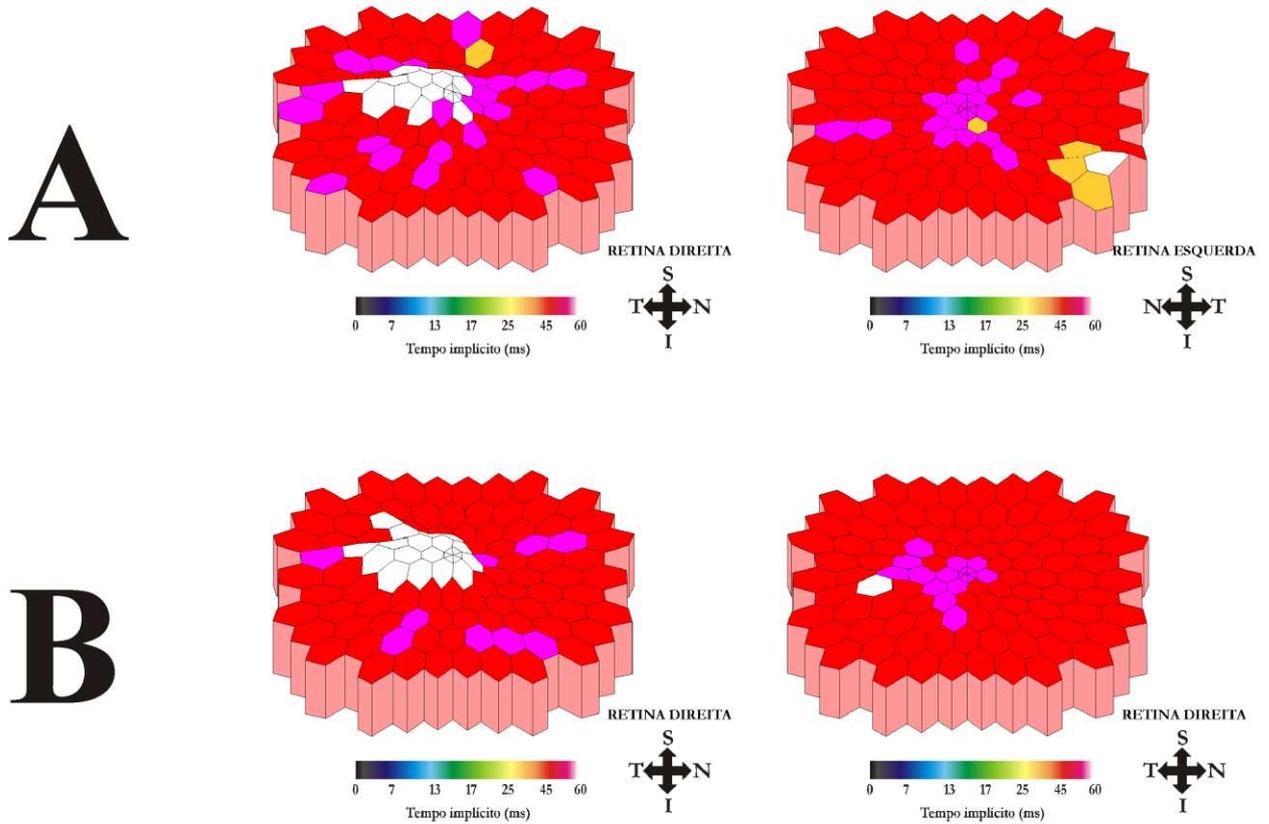
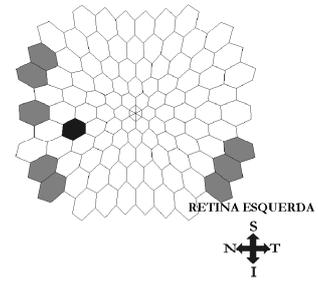
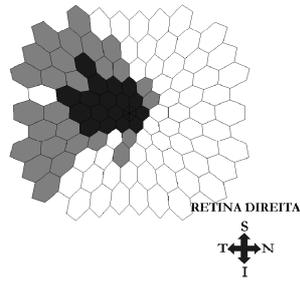
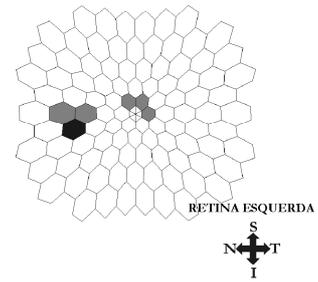
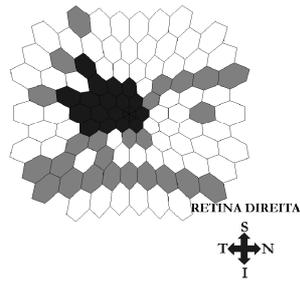


Figura A5-6. Gráficos de tempo implícito de N2 de ambos os olhos do paciente gerados com dados originais (A) e dados reconstruídos com os dois primeiros componentes principais (B). Hexágonos brancos indicam áreas com diminuição funcional, ou seja, áreas com registro que apresentaram SNR do sinal no intervalo de baixas respostas ou do ruído.

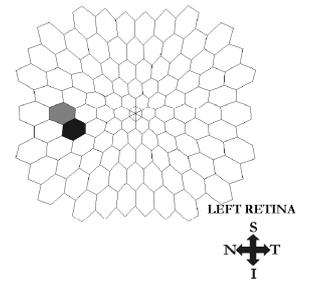
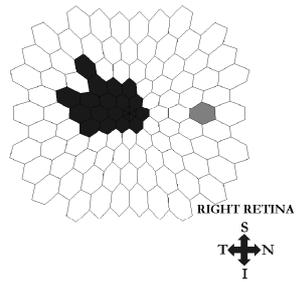
A



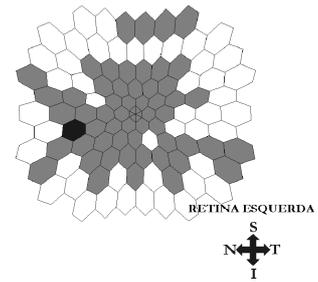
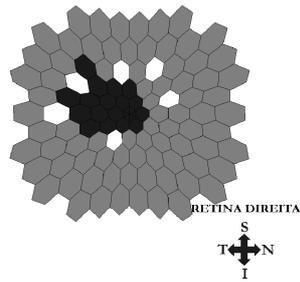
B



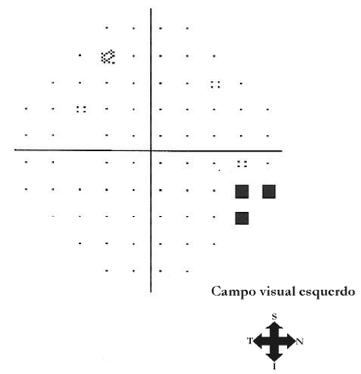
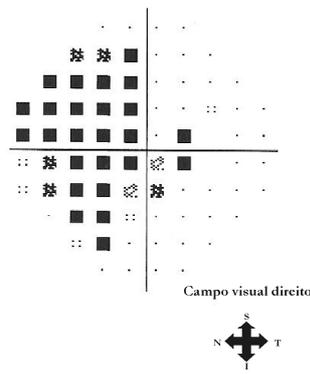
C



D



E



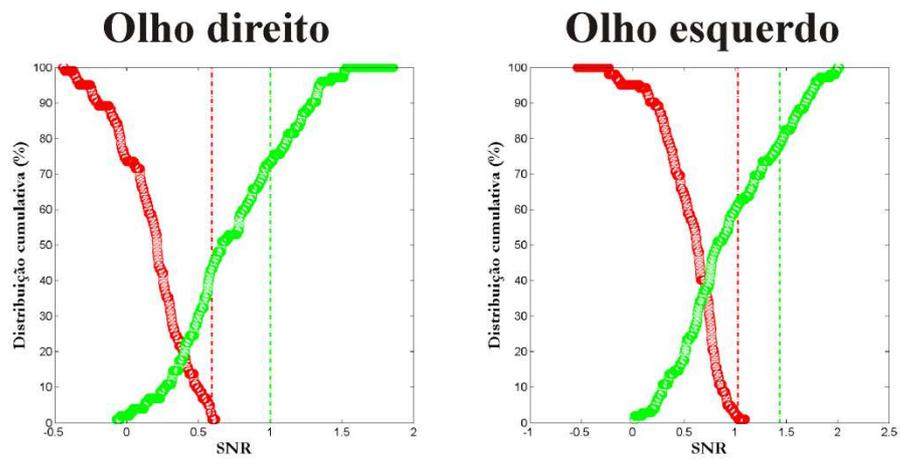
:: < 5%  
 ☒ < 2%  
 ☒ < 1%  
 ■ < 0.5%

:: < 5%  
 ☒ < 2%  
 ☒ < 1%  
 ■ < 0.5%

Figura A5-7. Gráficos que mostram a comparação dos resultados eletrorretinográficos do paciente com os valores do intervalo de confiança da mediana do grupo controle para a amplitude RMS (A), tempo implícito de N1 (B), P1 (C) e N2 (D). Áreas brancas: dados dentro do intervalo de confiança. Áreas cinza: dados de amplitude abaixo do limite de confiança inferior ou dados de tempo implícito acima do limite de confiança superior. Áreas pretas: dados com SNR do sinal no intervalo de baixas respostas ou ausência de respostas. Apenas os dados reconstruídos com os dois primeiros componentes principais foram comparados aos gráficos de desvio padrão da perimetria estática de ambos os olhos do paciente. As alterações na retina temporal do gráfico de densidade de resposta são compatíveis com as perdas de sensibilidade do campo visual nasal.

PACIENTE RMV090123

A



B

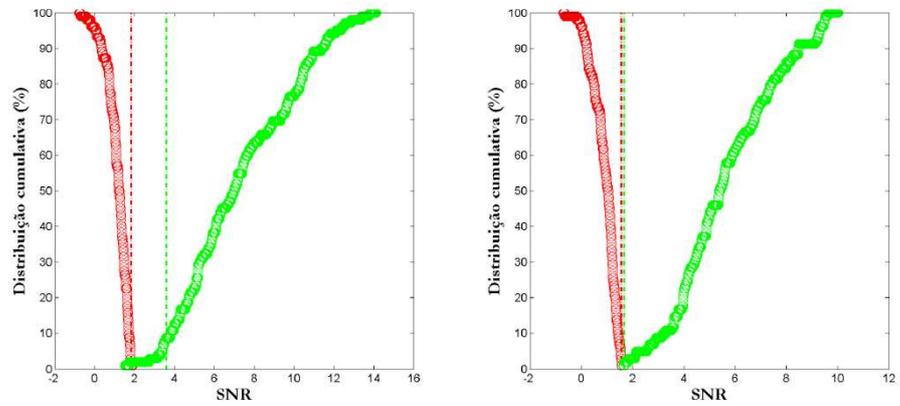


Figura A5-8. Distribuição cumulativa da SNR dos dados originais (A) e reconstruídos com os dois primeiros componentes principais de ambos os olhos do paciente (B). Em vermelho, distribuições cumulativas de SNR do ruído (círculos) e limite do ruído (linha tracejada). Em verde, distribuições cumulativas de SNR do sinal (círculos) e limite do sinal (linha tracejada).

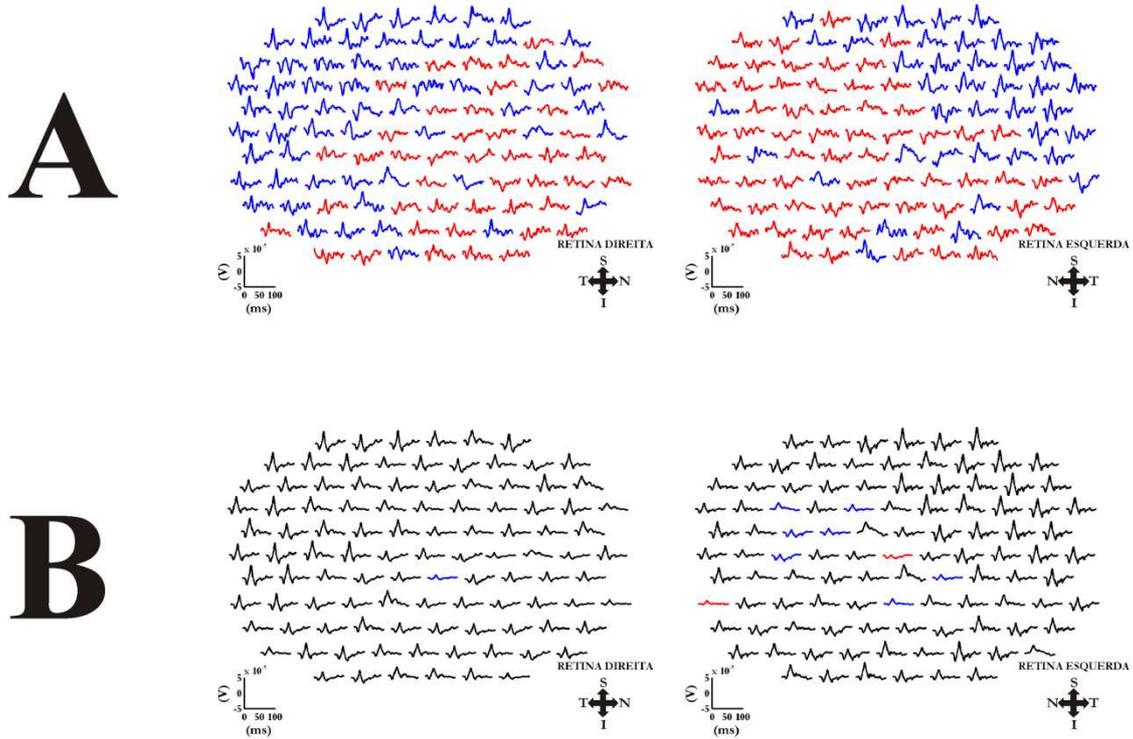


Figura A5-9. Kernels de primeira ordem de ambos os olhos do paciente gerados pelos dados originais (A) e reconstruídos com os dois primeiros componentes principais (B). Registros pretos apresentaram SNR do sinal no intervalo do sinal, registros azuis apresentaram SNR no intervalo de baixas respostas e registros vermelhos apresentaram SNR no intervalo do ruído. N, nasal; T, temporal; S, superior; I, inferior.

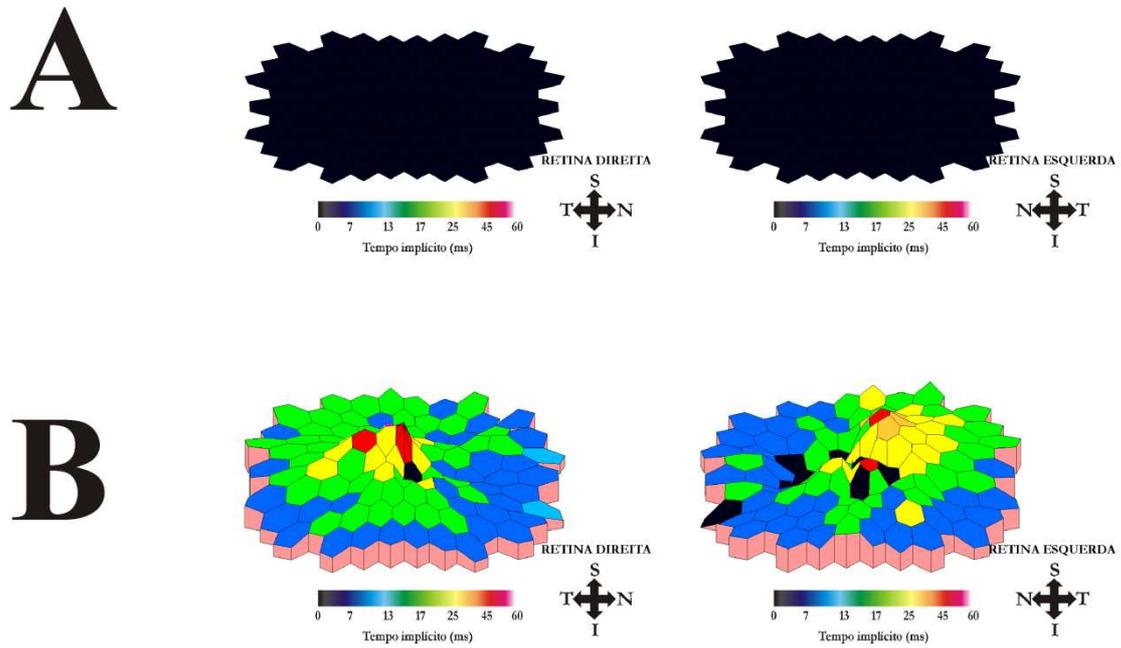


Figura A5-10. Gráficos de densidade de resposta de ambos os olhos do paciente gerados com dados originais (A) e dados reconstruídos com os dois primeiros componentes principais (B). Hexágonos pretos indicam áreas com diminuição funcional, ou seja, áreas com registro que apresentaram SNR do sinal no intervalo de baixas respostas ou do ruído.

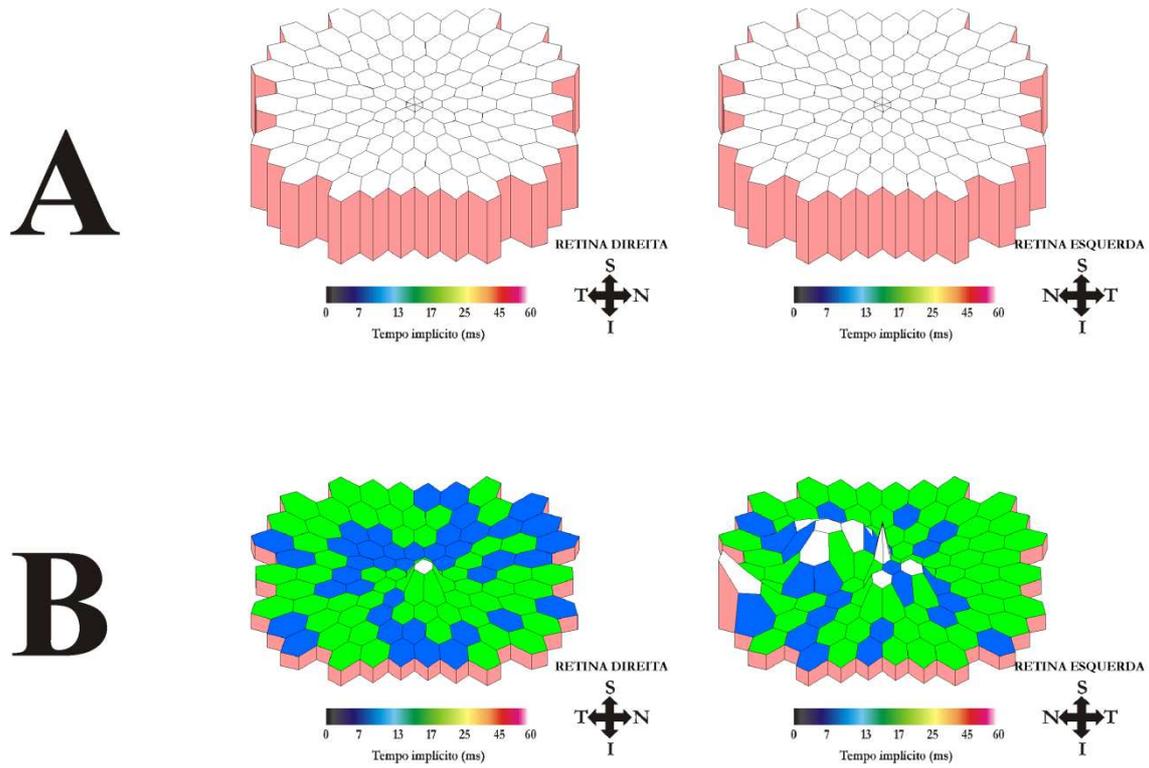


Figura A5-11. Gráficos de tempo implícito de N1 de ambos os olhos do paciente gerados com dados originais (A) e dados reconstruídos com os dois primeiros componentes principais (B). Hexágonos brancos indicam áreas com diminuição funcional, ou seja, áreas com registro que apresentaram SNR do sinal no intervalo de baixas respostas ou do ruído.

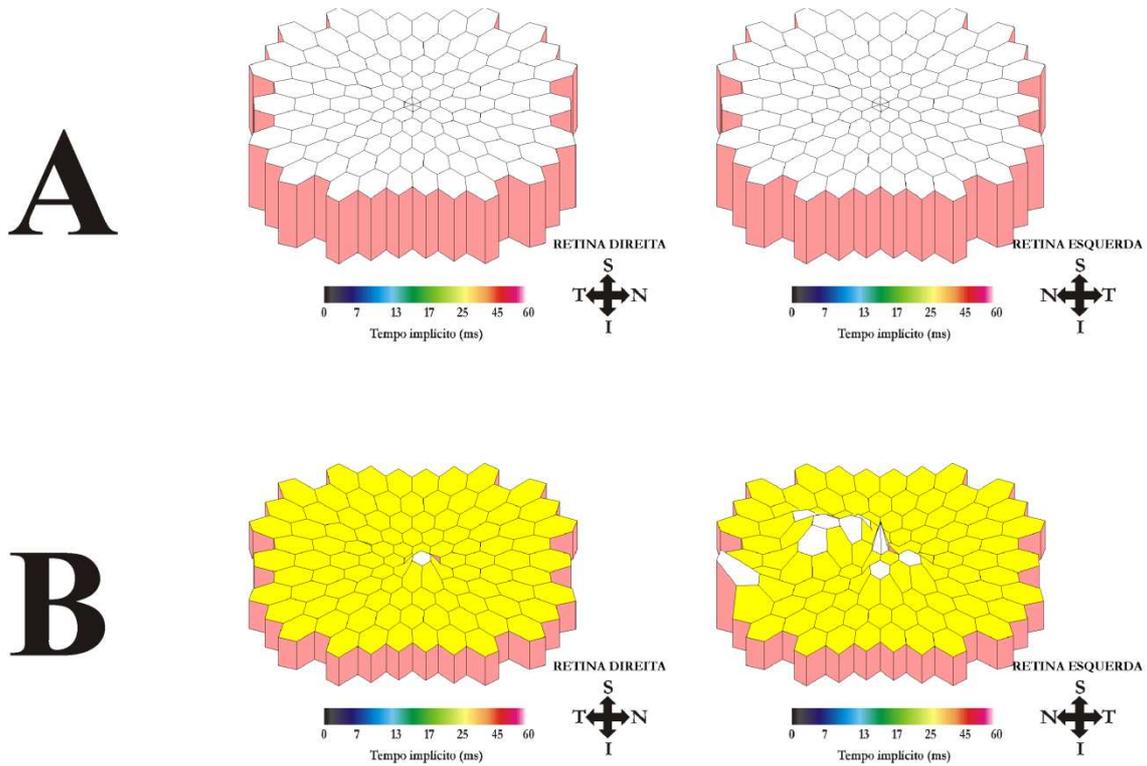


Figura A5-12. Gráficos de tempo implícito de P1 de ambos os olhos do paciente gerados com dados originais (A) e dados reconstruídos com os dois primeiros componentes principais (B). Hexágonos brancos indicam áreas com diminuição funcional, ou seja, áreas com registro que apresentaram SNR do sinal no intervalo de baixas respostas ou do ruído.

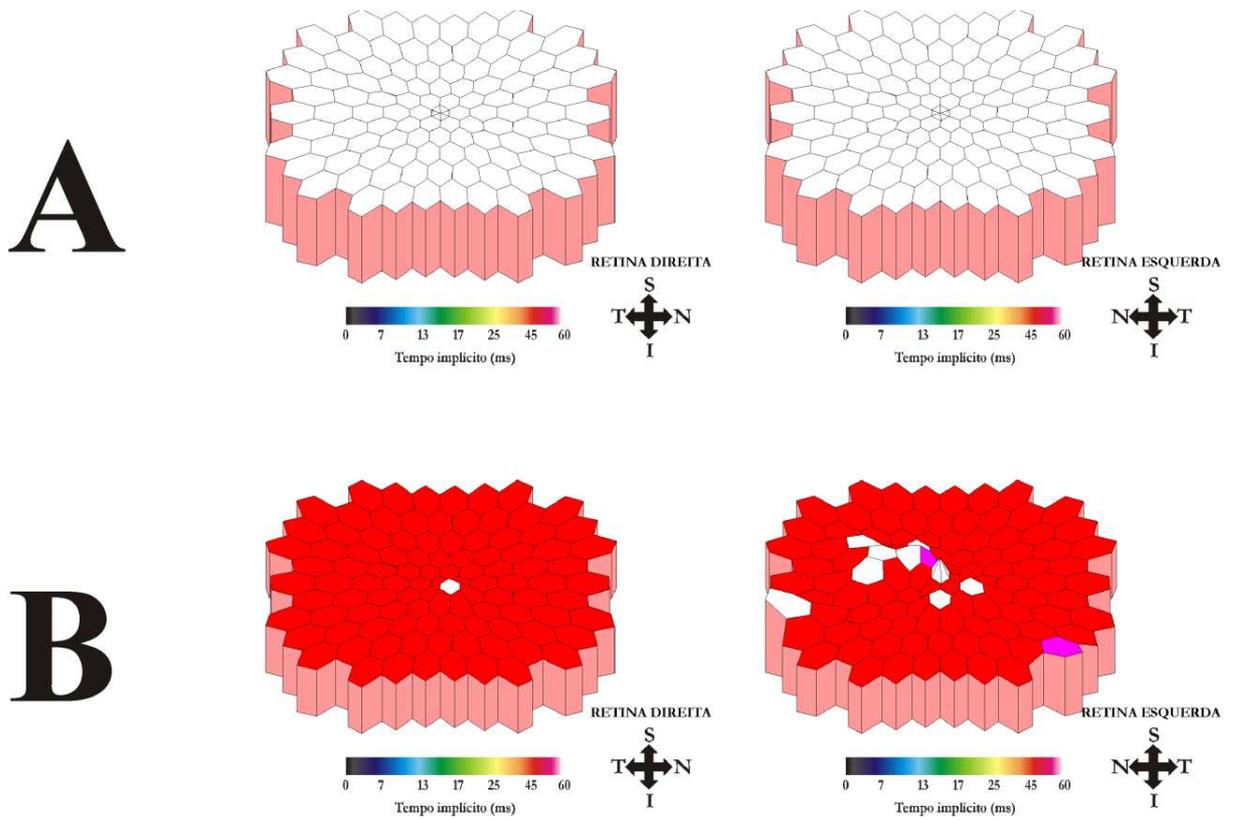
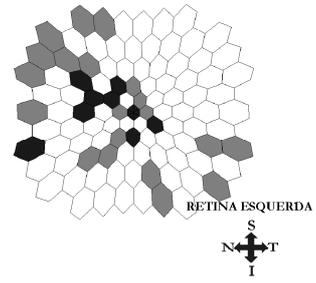
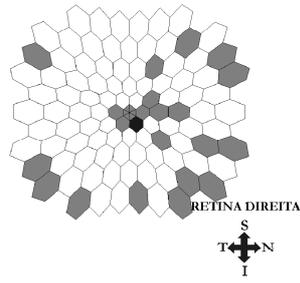
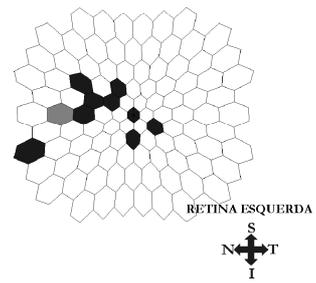
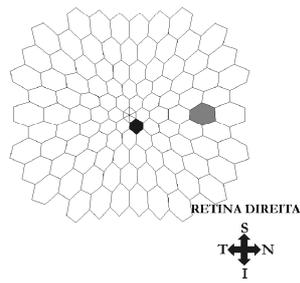


Figura A5-13. Gráficos de tempo implícito de N2 de ambos os olhos do paciente gerados com dados originais (A) e dados reconstruídos com os dois primeiros componentes principais (B). Hexágonos brancos indicam áreas com diminuição funcional, ou seja, áreas com registro que apresentaram SNR do sinal no intervalo de baixas respostas ou do ruído.

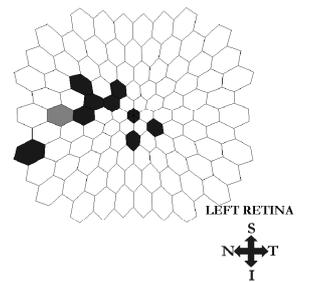
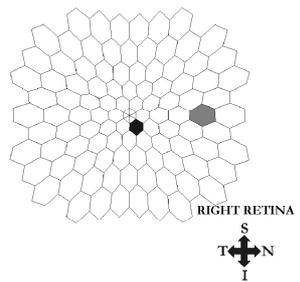
A



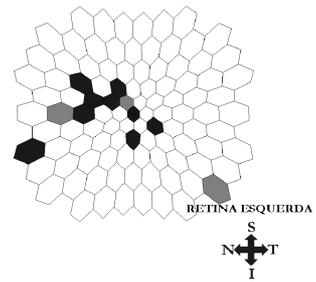
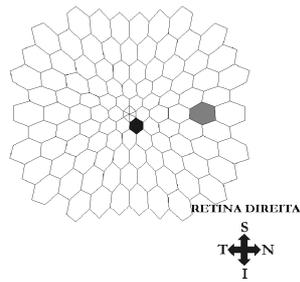
B



C



D



E

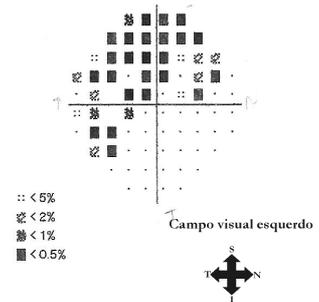
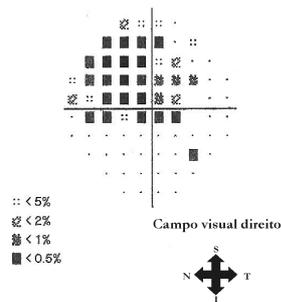
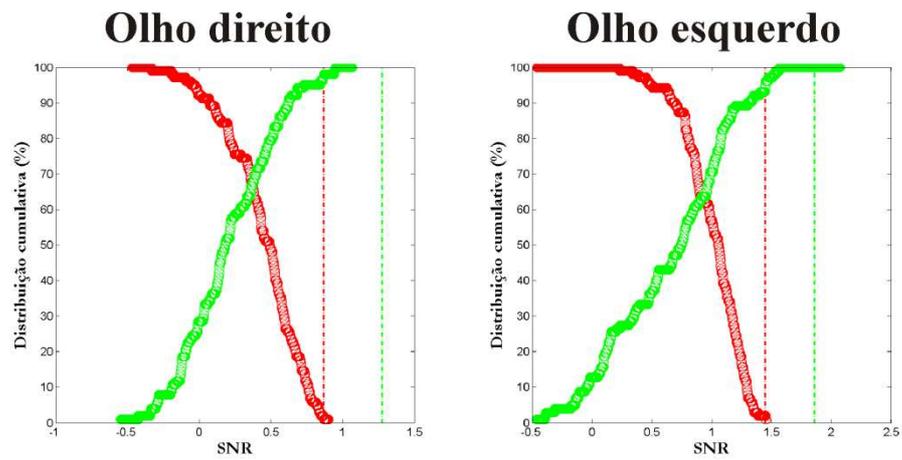


Figura A5-14. Gráficos que mostram a comparação dos resultados eletrorretinográficos do paciente com os valores do intervalo de confiança da mediana do grupo controle para a amplitude RMS (A), tempo implícito de N1 (B), P1 (C) e N2 (D). Áreas brancas: dados dentro do intervalo de confiança. Áreas cinza: dados de amplitude abaixo do limite de confiança inferior ou dados de tempo implícito acima do limite de confiança superior. Áreas pretas: dados com SNR do sinal no intervalo de baixas respostas ou ausência de respostas. Apenas os dados reconstruídos com os dois primeiros componentes principais foram comparados aos gráficos de desvio padrão da perimetria estática de ambos os olhos do paciente. As alterações na retina esquerda e direita do gráfico de densidade de resposta são compatíveis com as perdas de sensibilidade do campo visual.

PACIENTE JCC090109

A



B

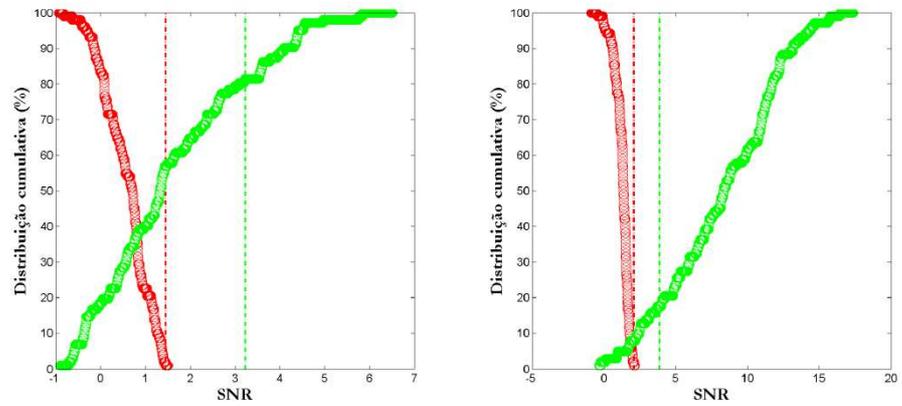


Figura A5-15. Distribuição cumulativa da SNR dos dados originais (A) e reconstruídos com os dois primeiros componentes principais de ambos os olhos do paciente (B). Em vermelho, distribuições cumulativas de SNR do ruído (círculos) e limite do ruído (linha tracejada). Em verde, distribuições cumulativas de SNR do sinal (círculos) e limite do sinal (linha tracejada).

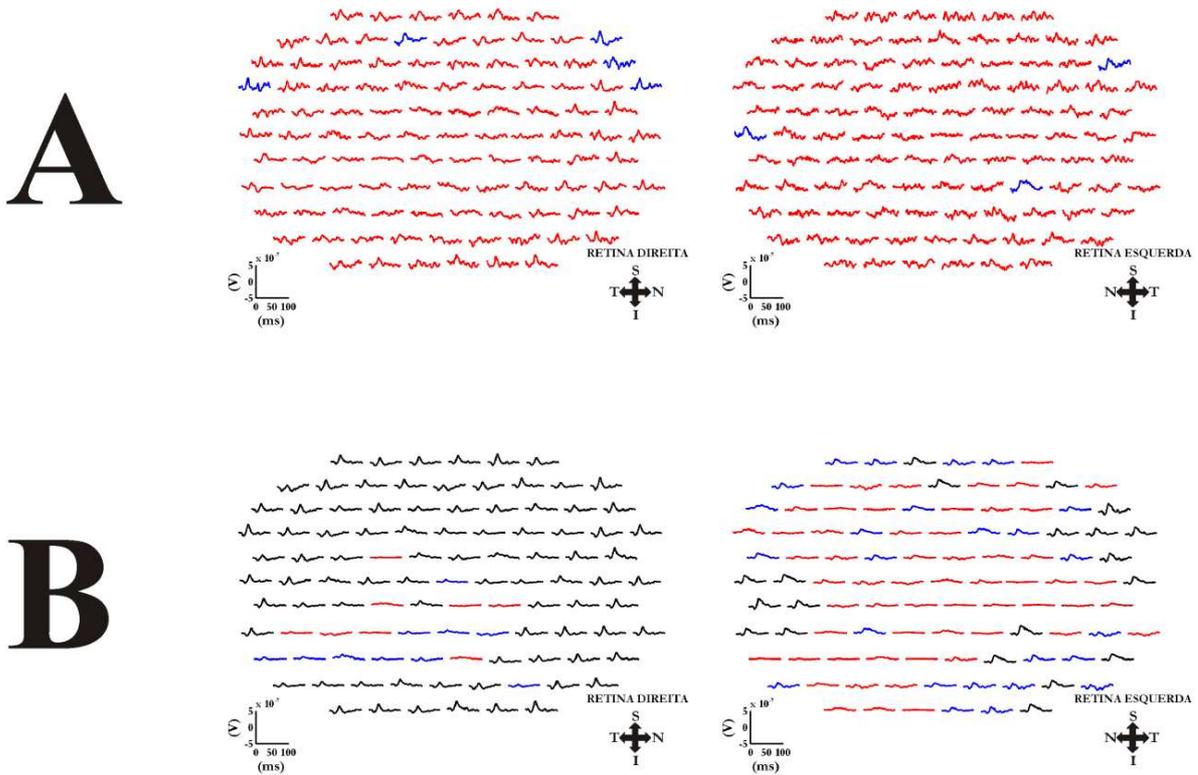


Figura A5-16. Kernels de primeira ordem de ambos os olhos do paciente gerados pelos dados originais (A) e reconstruídos com os dois primeiros componentes principais (B). Registros pretos apresentaram SNR do sinal no intervalo do sinal, registros azuis apresentaram SNR no intervalo de baixas respostas e registros vermelhos apresentaram SNR no intervalo do ruído. N, nasal; T, temporal; S, superior; I, inferior.

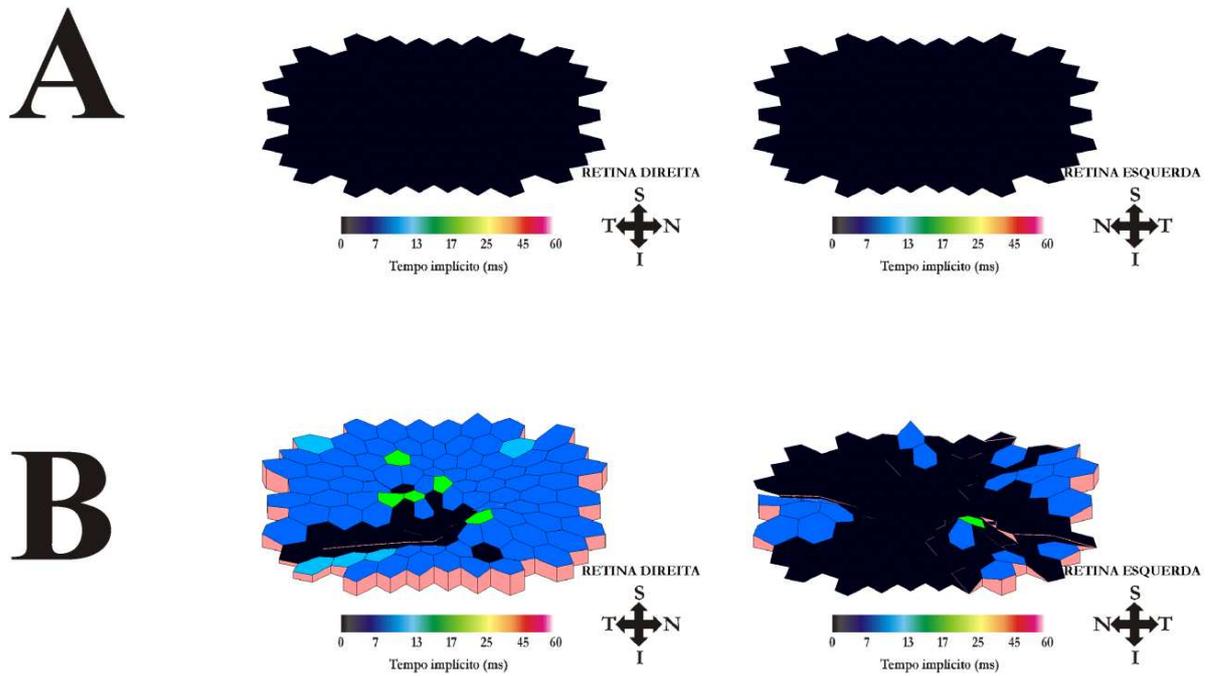


Figura A5-17. Gráficos de densidade de resposta de ambos os olhos do paciente gerados com dados originais (A) e dados reconstruídos com os dois primeiros componentes principais (B). Hexágonos pretos indicam áreas com diminuição funcional, ou seja, áreas com registro que apresentaram SNR do sinal no intervalo de baixas respostas ou do ruído.

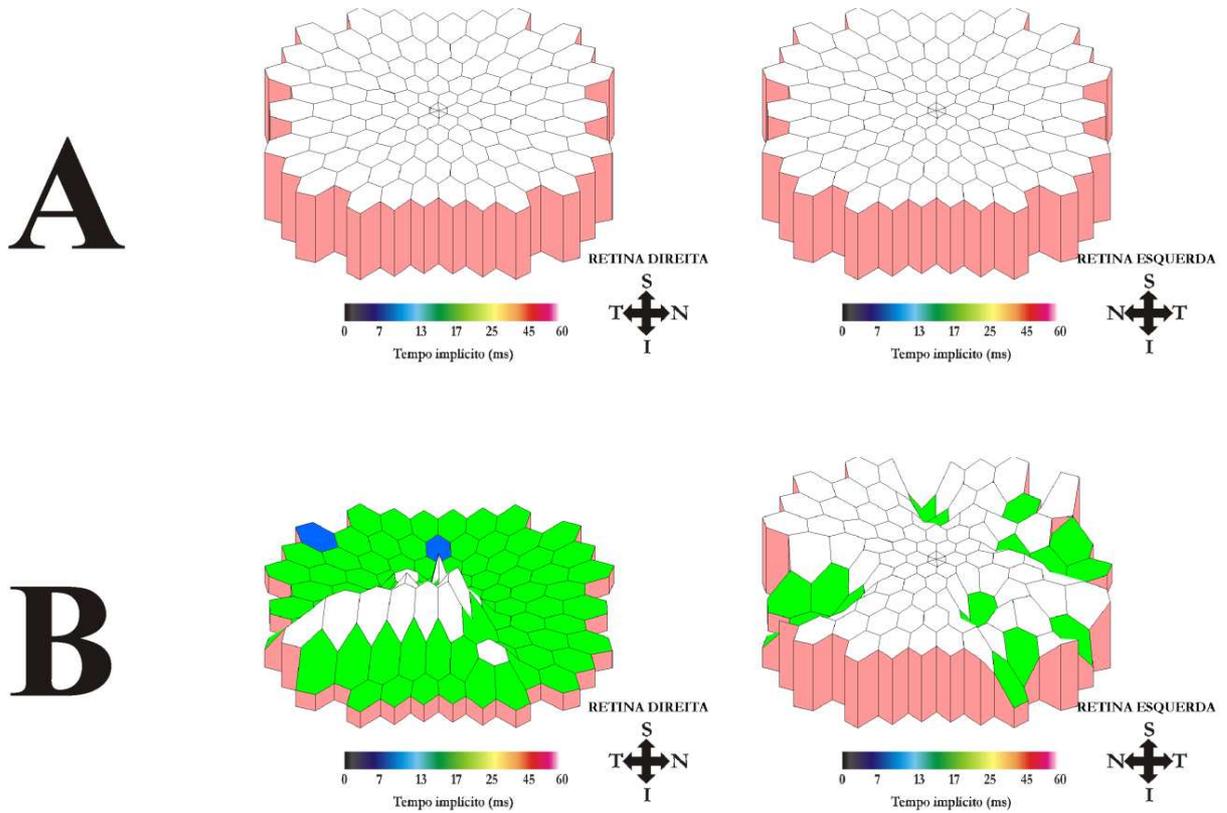


Figura A5-18. Gráficos de tempo implícito de N1 de ambos os olhos do paciente gerados com dados originais (A) e dados reconstruídos com os dois primeiros componentes principais (B). Hexágonos brancos indicam áreas com diminuição funcional, ou seja, áreas com registro que apresentaram SNR do sinal no intervalo de baixas respostas ou do ruído.

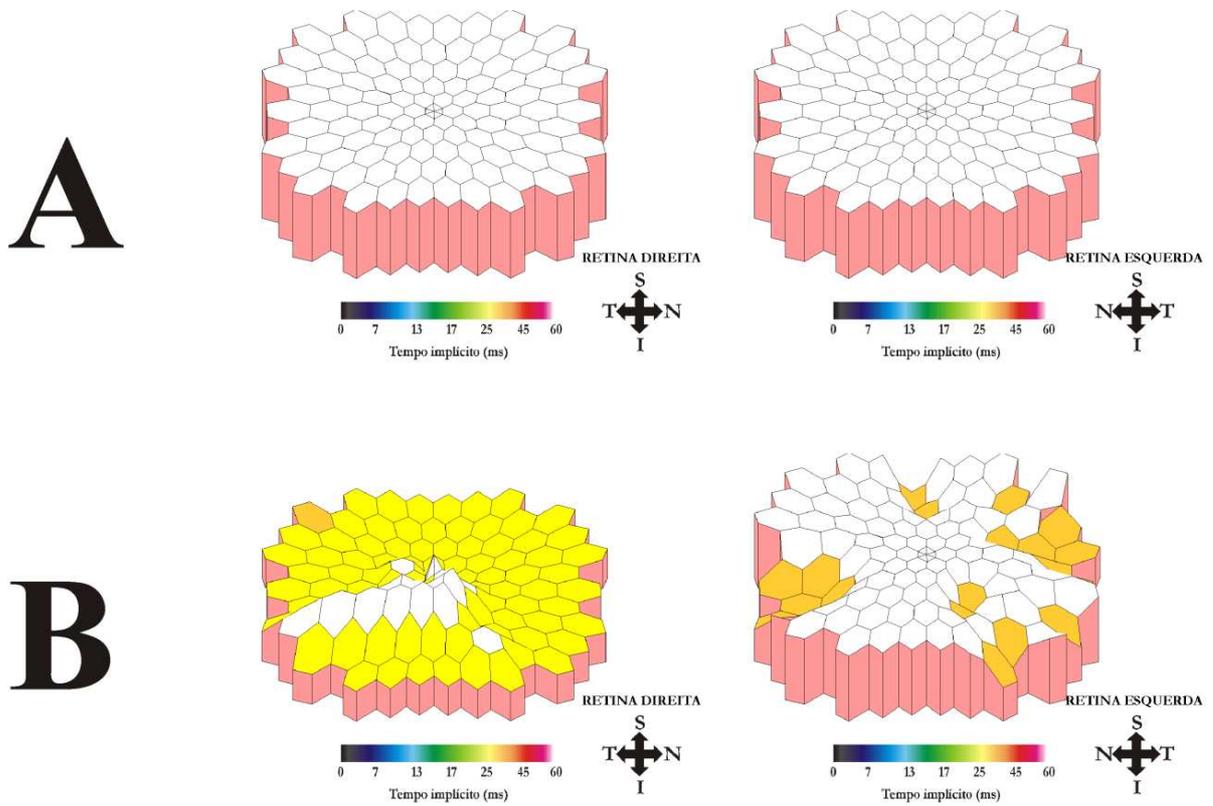


Figura A5-19. Gráficos de tempo implícito de P1 de ambos os olhos do paciente gerados com dados originais (A) e dados reconstruídos com os dois primeiros componentes principais (B). Hexágonos brancos indicam áreas com diminuição funcional, ou seja, áreas com registro que apresentaram SNR do sinal no intervalo de baixas respostas ou do ruído.

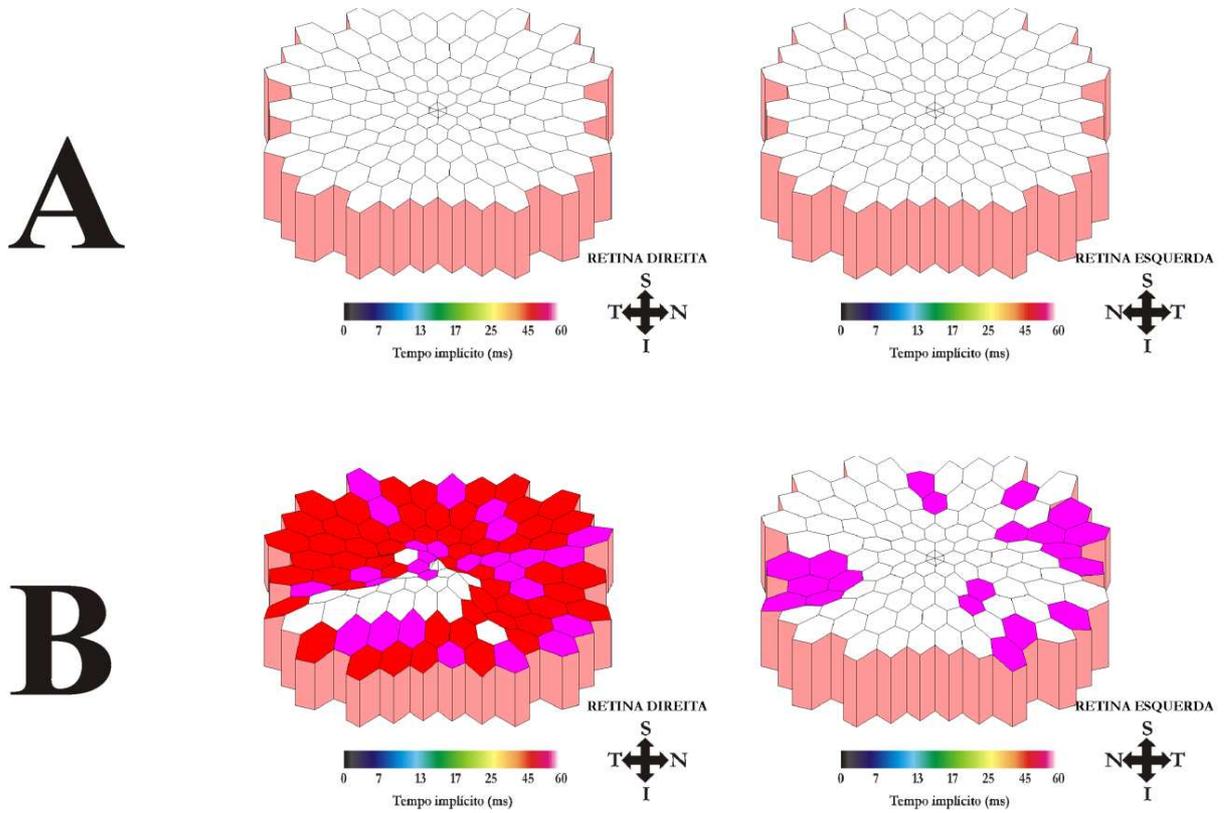
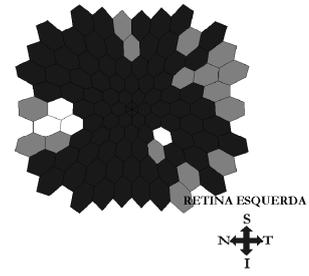
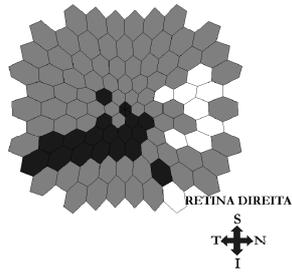
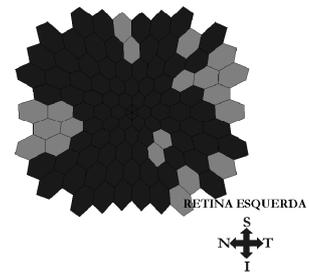
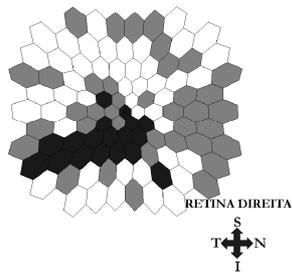


Figura A5-20. Gráficos de tempo implícito de N2 de ambos os olhos do paciente gerados com dados originais (A) e dados reconstruídos com os dois primeiros componentes principais (B). Hexágonos brancos indicam áreas com diminuição funcional, ou seja, áreas com registro que apresentaram SNR do sinal no intervalo de baixas respostas ou do ruído.

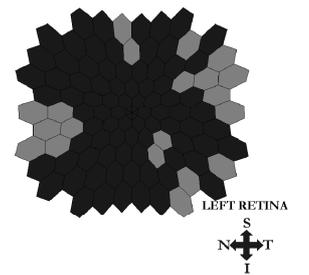
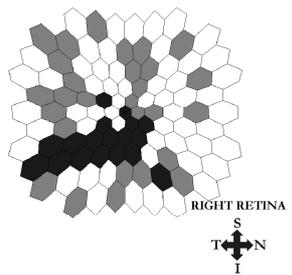
A



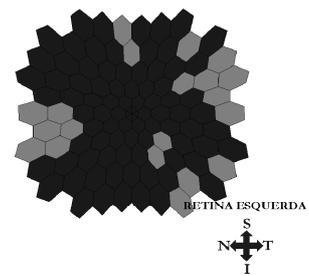
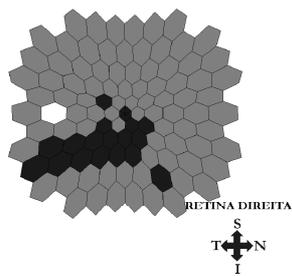
B



C



D



E

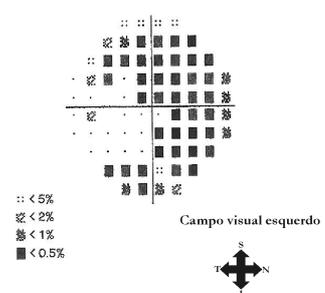
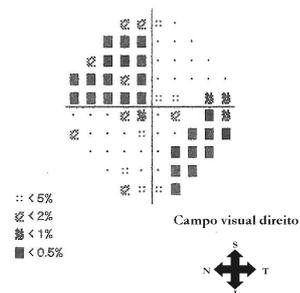


Figura A5-21. Gráficos que mostram a comparação dos resultados eletrorretinográficos do paciente com os valores do intervalo de confiança da mediana do grupo controle para a amplitude RMS (A), tempo implícito de N1 (B), P1 (C) e N2 (D). Áreas brancas: dados dentro do intervalo de confiança. Áreas cinza: dados de amplitude abaixo do limite de confiança inferior ou dados de tempo implícito acima do limite de confiança superior. Áreas pretas: dados com SNR do sinal no intervalo de baixas respostas ou ausência de respostas. Apenas os dados reconstruídos com os dois primeiros componentes principais foram comparados aos gráficos de desvio padrão da perimetria estática de ambos os olhos do paciente. As alterações na retina esquerda e direita do gráfico de densidade de resposta são compatíveis com as perdas de sensibilidade do campo visual.