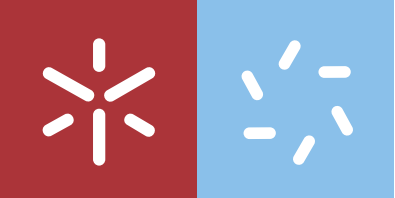


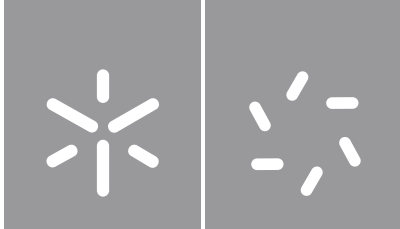


Carla Sofia Pereira Antunes

Efeito feedback na atividade bioelétrica da retina

Universidade do Minho
Escola de Ciências





Universidade do Minho
Escola de Ciências

Carla Sofia Pereira Antunes

Efeito feedback na atividade bioelétrica da retina

Dissertação de Mestrado
Mestrado em Optometria Avançada

Trabalho efetuado sob a orientação do
Professor Doutor Paulo Rodrigues Botelho Fernandes

DIREITOS DE AUTOR E CONDIÇÕES DE UTILIZAÇÃO DO TRABALHO POR TERCEIROS

Este é um trabalho académico que pode ser utilizado por terceiros desde que respeitadas as regras e boas práticas internacionalmente aceites, no que concerne aos direitos de autor e direitos conexos.

Assim, o presente trabalho pode ser utilizado nos termos previstos na licença abaixo indicada.

Caso o utilizador necessite de permissão para poder fazer um uso do trabalho em condições não previstas no licenciamento indicado, deverá contactar o autor, através do RepositóriUM da Universidade do Minho.

Licença concedida aos utilizadores deste trabalho



Atribuição-NãoComercial-SemDerivações
CC BY-NC-ND

<https://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/>

AGRADECIMENTOS

À minha mãe e à minha irmã, por todo o apoio que me deram ao longo do meu percurso acadêmico. Por serem o meu porto seguro, sempre, por todas as nossas festas de pijama. Por todas as palavras de conforto, por acreditarem sempre em mim e, principalmente, por estarem sempre presentes.

Ao meu Jó, por estar sempre lá para me ouvir, por todas as palavras de carinho e por toda a força e apoio que me deu para concluir esta etapa. Por me animar sempre com as suas canções. Por nunca me deixar desistir.

A todos os amigos, por todo o apoio e por sempre me passarem a confiança que precisava. Também aos meus coleguinhas de curso, por toda a entreaajuda e troca de conhecimento, por tornarem estes últimos anos inesquecíveis.

À Tinashe e ao Zayn, por serem o meu escape da realidade, por toda a inspiração e motivação para continuar e dar sempre o melhor de mim.

A todos os voluntários, por disponibilizarem o seu tempo para participar neste estudo. Por toda a paciência e boa disposição, sem vocês não era possível.

Um especial agradecimento ao meu orientador, Professor Paulo Rodrigues Botelho Fernandes, por toda a disponibilidade, por toda a motivação e paciência, por toda a partilha de conhecimento e por sempre ter acreditado em mim. Por todo o acompanhamento, especialmente este último ano.

DECLARAÇÃO DE INTEGRIDADE

Declaro ter atuado com integridade na elaboração do presente trabalho académico e confirmo que não recorri à prática de plágio nem a qualquer forma de utilização indevida ou falsificação de informações ou resultados em nenhuma das etapas conducente à sua elaboração.

Mais declaro que conheço e que respeitei o Código de Conduta Ética da Universidade do Minho.

Efeito feedback na atividade bioelétrica da retina

RESUMO

Existe alguma evidência que aponta para a existência de fibras retinopetálicas (ou eferentes) no nervo ótico e na retina em primatas e em seres humanos. Embora o seu número possa não ser grande, os seus ramos cobrem extensas áreas da retina, indicando a possibilidade de exercerem influências significativas na atividade e função retiniana. O objetivo do presente trabalho foi avaliar se o electroretinograma (ERG) é uma ferramenta sensível ou não para medir a atividade das fibras retinopetálicas na retina.

Foi avaliado o ERG padrão (PERG), o ON-OFF ERG e a Resposta Negativa Fotópica (PhNR) em 15 indivíduos adultos jovens ($25,6 \pm 5,18$ anos), com refração média de $M = -1,28 \pm 1,77D$. Com estimulação ERG binocular foi medido a resposta monocular das várias técnicas ERG utilizadas em três condições: sem oclusão monocular (baseline), oclusão total do olho contralateral (opaco) e oclusão parcial do olho contralateral (translúcido).

No caso do PERG, comparando a resposta monocular, observa-se um aumento do tempo implícito na componente N35 e P50 nas condições opaco e translúcido quando comparados com o valor da baseline ($p \leq 0,023$ todas as condições) e uma diminuição significativa no valor da amplitude, N35-P50 e P50-N95 ($p < 0,001$). Para o ON-OFF ERG, há uma diferença significativa na componente -b da onda, com um ligeiro aumento no tempo implícito na condição opaco em comparação com as outras duas condições ($p < 0,001$). Quando comparamos a condição opaco com as outras condições, há uma diminuição acentuada da amplitude de todas as ondas ($p < 0,001$). Para a PhNR, foi encontrada diferença significativa na onda -b e -PT, com uma ligeira diminuição da amplitude na condição opaco em relação às outras duas condições ($p \leq 0,041$).

O electroretinograma é sensível para detetar a atividade das fibras eferentes nas diferentes estruturas celulares da retina. No olho ocluído contralateral, embora a onda não tenha exatamente as mesmas características, tem semelhanças nos momentos em que os componentes da onda aparecem no olho estimulado, o que pode sugerir uma resposta olho-cérebro-olho contralateral. Apesar das limitações, são necessárias mais investigações para confirmar a existência de algumas fibras no nervo ótico que conduzem informação *top-down* (do cérebro para o olho), que pode influenciar a atividade bioelétrica da retina.

Palavras-chave: Electroretinograma; Fibras retinopetálicas; Influências eferentes; Retina.

Efferent influences on the bioelectrical activity of the retina

ABSTRACT

Most of the existing evidence points to the existence of retinopetal (or efferent) fibers in the optic nerve and retina in primates and humans. Although their number may not be large, their branches cover extensive retinal areas, which indicates the possibility of exerting significant influences on the retinal function. We aimed to detect whether the electroretinogram is sensitive or not to the activity of the retinopetal fibers in the retina.

The pattern ERG (PERG), the ON-OFF ERG and photopic negative response (PhNR) was evaluated in 15 young adult subjects (25.6 ± 5.18 years), with objective refraction ($M = -1.28 \pm 1.77$ D). With binocular ERG stimulation, the monocular ERG response of the contralateral eye was measured in three conditions: no occlusion (baseline), total monocular occlusion and partial occlusion of the contralateral.

For PERG, in the contralateral eye there was an increase in the implicit time in N35 and P50 components with the total monocular occlusion and partial occlusion when compared to the baseline value ($p \leq 0.023$ for all conditions). There was a significant decrease in the amplitude value, N35-P50 and P50-N95 ($p < 0.001$). For ON-OFF ERG, there is a significant difference in the b-wave, with a slight increase in the implicit time in the eye with monocular occlusion compared to the other two conditions ($p < 0.001$). When we compare the monocular contralateral occlusion condition with the other conditions, there is a marked decrease in amplitude in all waves ($p < 0.001$). For PhNR, a significant difference was found in the b-wave and PT-wave, with a slight decrease in amplitude in the eye with monocular occlusion compared to the other two conditions ($p \leq 0.041$).

The electroretinogram may be sensitive to detect the activity of the efferent fibers in the different cellular structures of the retina. Although the wave does not have exactly the same characteristics, it has similarities with the wave components of the uncovered eye that also appear in the contralateral occluded eye. This may suggest an eye-brain- contralateral eye response. Despite the limitations, further investigations are needed to confirm the existence of some fibers in the optic nerve conduct top-down information (from the brain to the eye), which can influence the bioelectrical activity of the retina.

Keywords: Efferent influences; Electroretinogram; Retina; Retinopetal fibers.

ÍNDICE

DIREITOS DE AUTOR E CONDIÇÕES DE UTILIZAÇÃO DO TRABALHO POR TERCEIROS.....	ii
AGRADECIMENTOS	iii
DECLARAÇÃO DE INTEGRIDADE	iv
RESUMO.....	v
ABSTRACT	vi
ABREVIATURAS E ACRÓNIMOS	x
ÍNDICE DE FIGURAS	xii
ÍNDICE DE TABELAS.....	xiv
1. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	1
1.1 Estrutura da Retina e Processamento Visual.....	1
1.1.1 Estrutura da Retina.....	1
1.1.2 Processamento Visual.....	3
1.2 Sistema Eferente	8
1.3 Evidências Anatômicas e Fisiológicas de Conexões Eferentes na Retina	9
1.3.1 Evidências Anatômicas em Animais	9
1.3.2 Evidências Fisiológicas em Animais.....	10
1.3.3 Evidências Anatômicas em Humanos.....	10
1.3.4 Evidências Fisiológicas em Humanos	11
1.4 Electroretinograma (ERG).....	13
2. HIPÓTESES E OBJETIVOS DO ESTUDO	14
2.1 Hipóteses do Estudo	14
2.2 Objetivos.....	14
3. MATERIAL E MÉTODOS.....	15
3.1 Desenho do estudo	15
3.2 Participantes e tamanho da amostra	15
3.3 Critérios de elegibilidade.....	15
3.3.1 Critérios de inclusão	15
3.4 Procedimento experimental.....	16

3.4.1	<i>Avaliação Clínica</i>	16
3.4.1.1	<i>Refração</i>	16
3.4.1.2	<i>Acuidade Visual</i>	16
3.4.1.3	<i>Comprimento Axial</i>	16
3.4.2	<i>Eletrorretinografia</i>	16
3.4.2.1	<i>Caraterização da iluminação (espaço + estímulo)</i>	17
3.4.2.2	<i>Posição dos Elétrodo</i> s	18
3.4.2.3	<i>Cronograma de medições</i>	18
3.4.2.4	<i>Caracterização do estímulo PERG</i>	19
3.4.2.5	<i>Caraterização do estímulo ON-OFF ERG</i>	20
3.4.2.6	<i>Caraterização do estímulo PhNR do ERG adaptado à luz</i>	21
3.4.3	<i>Diâmetro Pupilar</i>	21
3.5	Análise estatística	22
4.	RESULTADOS	23
4.1	Caracterização da amostra	23
4.2	Funções Visuais	23
4.2.1	<i>Dados refrativos</i>	23
4.2.2	<i>Acuidade visual em alto e baixo contraste</i>	23
4.2.3	<i>Comprimento Axial</i>	24
4.2.4	<i>Diâmetro pupilar</i>	24
4.3	Resposta ERG	25
4.3.1	<i>PERG – ERG padrão:</i>	25
4.3.1.1	<i>Tempo implícito</i>	26
4.3.1.2	<i>Amplitude</i>	27
4.3.2	<i>ON-OFF ERG:</i>	27
4.3.2.1	<i>Tempo implícito</i>	28
4.3.2.2	<i>Amplitude</i>	29
4.3.3	<i>ERG PhNR:</i>	30
4.3.3.1	<i>Tempo implícito</i>	31
4.3.3.2	<i>Amplitude</i>	32
5.	DISCUSSÃO	34

6. CONCLUSÕES	40
7. TRABALHO FUTURO	41
8. BIBLIOGRAFIA.....	42
9. ANEXOS	53
9.1 Consentimento Informado.....	53
9.2 Formulário de recolha de dados	55

ABREVIATURAS E ACRÓNIMOS

ONL	Camada Nuclear Externa
INL	Camada Nuclear Interna
OPL	Camada Plexiforme Externa
IPL	Camada Plexiforme Interna
GCL	Camada de Células Ganglionares
LGN	Núcleo Geniculado Lateral
nm	Nanometros
P	Via Parvocelular
M	Via Magnocelular
K	Via Koniocelular
CVS	Sistema Visual Centrífugo
ERG	Electroretinograma
SNC	Sistema Nervoso Central
ffERG	Electroretinograma <i>full-field</i>
PERG	Electroretinograma padrão
mfERG	Electroretinograma multifocal
VEP	Potenciais Evocados Visuais
PhNR	Resposta Negativa Fotópica
μV	Microvolt
D	Dioptrias

M	Equivalente Esférico
J0	Componente horizontal do astigmatismo
J45	Componente vertical do astigmatismo
HCDVA	Acuidade Visual à Distância de Alto Contraste
LCDVA	Acuidade Visual à Distância de Baixo Contraste
AV	Acuidade Visual
K Ω	Kilohm
Ms	Milissegundos
s	Segundos
Hz	Hertz
μ s	Microssegundos
p	Significância estatística
OD	Olho Direito
OE	Olho Esquerdo
AO	Ambos os Olhos
mm	Milímetros

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. As camadas da retina e as suas respetivas células. ²	1
Figura 2. Exemplo da anatomia do olho e as vias visuais. (a) Uma secção transversal do olho e a organização vertical da retina (modificado de ⁸). (b) A via visual para o córtex visual primário. Os sinais viajam da retina através do nervo ótico para o LGN através das radiações óticas para o córtex visual primário. ⁶	4
Figura 3. Imagem representativa da Via Parvocelular. ³	5
Figura 4. Imagem representativa da Via Magnocelular. ³	6
Figura 5. Imagem representativa da Via Koniocelular. ³	7
Figura 6. Representação esquemática das vias retinogeniculadas-estriadas. A saída da retina é subdividida em três vias: a Parvocelular P (a amarelo), a Magnocelular M (a verde), e a via Koniocelular K (a azul). As três vias permanecem segregadas no LGN e no córtex estriado V1. C, indica contralateral; I, indica ipsilateral. A entrada do olho contralateral e ipsilateral permanece separada em todo o sistema até ser processada no córtex visual. ¹³	8
Figura 7. Uma representação esquemática das correntes extracelulares que se formam após a estimulação luminosa. A via A representa as correntes locais no interior da retina, enquanto a via B mostra as correntes que saem da retina através do vítreo e da córnea e regressam à retina através da coróide e do epitélio pigmentar. O registo do ERG em humanos é feito ao longo da via B. ⁷⁵	13
Figura 8. Iluminânciómetro Konica Minolta T-10.....	17
Figura 9. Posição ilustrativa dos elétrodos para medições ERG e dos oclusores nas três condições de medida (A: Baseline; B: Opaco; C; Translúcido). (1) Elétrodo de terra Gold-cup; (2) Elétrodo de referência God-cup; (3) Elétrodo ativo DTL.	18
Figura 10. Representação esquemática da ordem das medidas com as três condições utilizadas.	19
Figura 11. PERG padrão típico. A amplitude do P50 está tipicamente entre 2,0 e 8,0 μV . ⁷⁸	19

Figura 12. (a) Representação do estímulo PERG. Devido aos padrões de inversão do mesmo, permite obter uma resposta curva semelhante à de (b). ⁸²	20
Figura 13. Diagrama dos três componentes principais do ON-OFF ERG e da sua medição. A duração do estímulo está indicada na parte inferior da figura; as setas vermelhas (verticais) indicam a medição da amplitude e as setas azuis (horizontais) indicam a medição do tempo de pico. Dois traços são sobrepostos para demonstrar a reprodutibilidade. ⁸⁰	21
Figura 14. Exemplo de medição da amplitude da PhNR desde a linha de base até ao valor mínimo da PhNR (BT) e desde o pico da onda -b até ao valor mínimo da PhNR (PT). ⁷⁹	21
Figura 15. Exemplo de uma das medições da onda PERG no mesmo indivíduo nas três condições (A: Baseline; B: Opaco; C: Translúcido).	25
Figura 16. Valores médios e desvios padrões dos componentes N35, P50 e N95 no tempo implícito. (*teste de significância ANOVA).	26
Figura 17. Valores médios e desvios padrões dos componentes N35-P50 e P50-N95. (**teste de significância Kruskal-Wallis).	27
Figura 18. Exemplo de uma das medições da onda ON-OFF ERG no mesmo indivíduo nas três condições (A: Baseline; B: Opaco; C: Translúcido).	28
Figura 19. Valores médios e desvios padrões dos componentes da onda -a, -b e -d no tempo implícito. (**teste de significância Kruskal-Wallis).	28
Figura 20. Valores médios e desvios padrões dos componentes a-wave, b-wave e d-wave. (**teste de significância Kruskal-Wallis).	29
Figura 21. Exemplo de uma das medições da onda da Resposta Fotópica Negativa (PhNR) do ERG adaptado à luz no mesmo indivíduo nas três condições (A: Baseline; B: Opaco; C: Translúcido).	31
Figura 22. Valores médios e desvios padrões dos componentes -a, -b, -BT e -PT no tempo implícito.	31
Figura 23. Valores médios e desvios padrões dos componentes a-wave, b-wave, -BT e -PT (*teste de significância ANOVA).	32

ÍNDICE DE TABELAS

Tabela 1. Caraterização da iluminância (em lux) do espaço e para cada uma das situações.	17
Tabela 2. Dados da amostra em estudo.	23
Tabela 3. Médias e desvios padrões das componentes vetoriais M, J0, J45 para o OD e OE em D.	23
Tabela 4. Média e desvio padrão da acuidade visual de alto e baixo contraste (HCDVA e LCDVA, respectivamente) na escala LogMAR.	24
Tabela 5. Média e desvios padrões do comprimento axial em mm.	24
Tabela 6. Médias, desvios padrões e significância estatística (Test T a associado para cada condição na medição do diâmetro pupilar antes e depois de cada exame (PERG: ERG padrão; ON-OFF ERG; PhNR: Resposta Fotópica Negativa).	24
Tabela 7. Diferenças médias entre condições, erro padrão e significâncias estatísticas associadas entre os tempos implícitos da onda PERG.	26
Tabela 8. Diferenças médias entre condições, erro padrão e significâncias estatísticas associadas entre as amplitudes das componentes da onda PERG.	27
Tabela 9. Diferenças médias entre condições, erro padrão e significâncias estatísticas associadas entre os tempos implícitos da onda ON-OFF ERG.	29
Tabela 10. Diferenças médias entre condições, erro padrão e significâncias estatísticas associadas entre as amplitudes da onda ON-OFF ERG.	30
Tabela 11. Diferenças médias entre condições, erro padrão e significâncias estatísticas associadas entre os tempos implícitos da onda ERG PhNR.	32
Tabela 12. Diferenças médias entre condições, erro padrão e significâncias estatísticas associadas entre as amplitudes da onda ERG PhNR.	33

1. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

1.1 Estrutura da Retina e Processamento Visual

1.1.1 Estrutura da Retina

A retina é composta por dez camadas das quais três contêm corpos celulares nervosos e duas são onde ocorrem as sinapses (Figura 1).¹ I) A camada nuclear externa (ONL) contém os corpos (núcleo) celulares dos fotorreceptores, bastonetes e cones; II) a camada nuclear interna (INL) contém os corpos celulares das células bipolares, horizontais e amácrinas e III) a camada das fibras nervosas, contém os corpos celulares das células ganglionares e das células amácrinas. A dividir estas camadas de células nervosas estão duas camadas onde ocorrem os contactos sinápticos. A primeira é a camada plexiforme externa (OPL), onde ocorrem as ligações sinápticas entre bastonetes e cones, células bipolares e células horizontais. A segunda é a camada plexiforme interna (IPL), que é onde as células bipolares se ligam às células amácrinas e ganglionares.¹ Além disso, diferentes variedades de células amácrinas dirigidas horizontal e verticalmente interagem de alguma forma com outras redes para influenciar e integrar os sinais das células ganglionares. É o conjunto de todo este processamento neural na camada plexiforme interna que a mensagem relativa à imagem visual é transmitida ao cérebro através do nervo ótico.¹

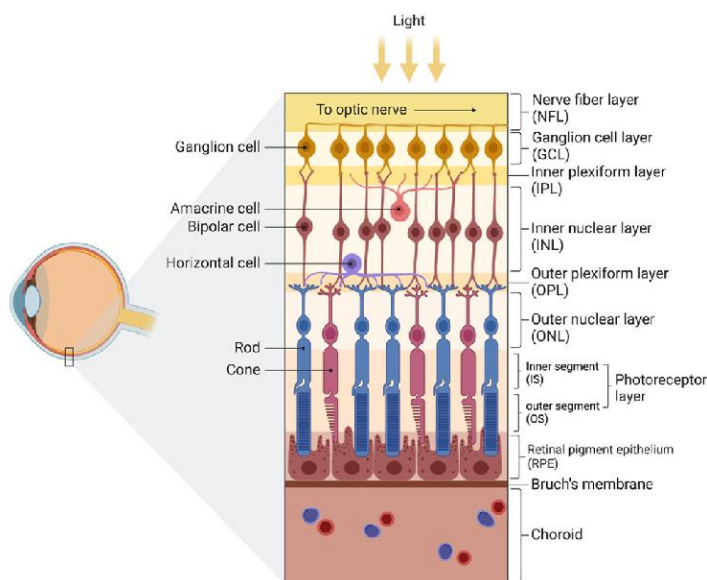


Figura 1. As camadas da retina e as suas respetivas células.²

Fotorreceptores

Existem dois tipos de fotorreceptores, os bastonetes e os cones. Estes podem ser distinguidos morfologicamente pela forma de bastonete e pela forma cônica dos seus segmentos exteriores. Os cones são maiores em diâmetro e em menos densidade do que os bastonetes, exceto na retina central.

Os segmentos externos de ambos os fotorreceptores têm adaptações que aumentam a área de superfície disponível para a captação de fótons. Uma diferenciação funcional básica entre os bastonetes e os cones é que os bastonetes medeiam a visão mais sensível em níveis de luz baixos, chamados condições escotópicas, enquanto os cones servem a visão em níveis de luz mais altos, chamados condições fotópicas.³

Células Horizontais

Existem três tipos de células horizontais, HI, HII e HIII, que se caracterizam por uma diferente morfologia e conectividade sináptica. Todas elas têm um núcleo localizado na porção mais escleral do INL, com processos que correm lateralmente no OPL; além disso, HI e HII são extensivamente ligadas através de junções de gap.⁴ É difícil distinguir claramente as três morfologias separadas na região da fóvea, onde as células são pequenas e bem compactadas, mas na retina periférica observam-se diferenças significativas entre três tipos de células posicionadas na mesma excentricidade retiniana. A sua principal função são as interações locais e de longo alcance entre fotorreceptores - sinais de feedback.

Células Bipolares

Os corpos celulares das células bipolares localizam-se no INL, com as suas dendrites projetadas no OPL para receberem a entrada sináptica dos terminais dos fotorreceptores, e os seus axónios descem para o IPL onde fazem sinapse com as dendrites das células amácrinas e ganglionares. Existem seis tipos de células bipolares com diferentes tipos de função/ligação, são o principal elemento condutor radial da retina, cuja função é transferir sinais (informações acromáticas, cromáticas e de contraste) dos terminais dos fotorreceptores para as dendrites das células ganglionares. São as principais responsáveis pelos caminhos On e Off e estão envolvidas nos caminhos dos cones e bastonetes.³

Células Amácrinas

As células amácrinas são interneurónios que regulam a transferência de sinais sinápticos das células bipolares para as células ganglionares e existem cerca de aproximadamente vinte e cinco tipos de células amácrinas. Localizam-se entre a IPL, células amácrinas intersticiais, e a camada de células ganglionares (GCL), células amácrinas deslocadas.³

As células amácrinas apresentam-se em numerosas variedades e são classificadas de acordo com: o tamanho, a morfologia e a distribuição das suas dendrites no IPL e o conteúdo em substâncias neurotransmissores ou péptidos neuroativos. As dendrites das células amácrinas produzem sinapses

convencionais com as dendrites de outras células amácrinas e ganglionares e com os terminais axonais das células bipolares, onde na sua maioria exercem função de *feed-forward* ou de *feedback* inibidor.³

Células Ganglionares

As células ganglionares são as últimas células da retina e enviam as suas dendrites para o IPL, onde recebem sinapses das células bipolares e amácrinas. Desempenham um papel importante no processamento da visão, dadas as suas características estruturais e funcionais. As diferenças anatómicas destas células concedem uma variedade de circuitos neuronais que estão na base de diferentes vias visuais. Por conseguinte, a função deste grupo celular é, entre outras, conduzir a informação visual até ao núcleo geniculado lateral (LGN) para ser selecionada e integrada em canais de processamento de informação adicionais (áreas parvocelulares e magnocelulares).

Existem aproximadamente vinte e três tipos de células ganglionares que são seletivamente responsáveis por detetar "características", incluindo a cor, o tamanho, a direção e a velocidade do estímulo visual (características de ativação). O nervo ótico reúne todos os axónios das células ganglionares e estes terminam nos centros visuais do cérebro, principalmente no LGN e no colículo superior, e dirigem-se para centros visuais específicos, dependendo das "características de ativação" visuais que codificam.⁵

1.1.2 Processamento Visual

Na Figura 2 está ilustrado a anatomia do olho (a) e a via visual para o córtex primário (b). A luz que provém de uma fonte, ou refletida, entra no olho e passa através da córnea, da pupila e dos humores aquoso e vítreo até à parte posterior do olho, onde é visualizada na retina. A córnea e os humores são essencialmente transparentes, uma característica que minimiza as distorções e as perdas de luz nos meios oculares. A luz no comprimento de onda entre os 400 a 700 nanómetros (nm) é absorvida por moléculas de pigmento visual e convertida em sinais neurais elétricos pelos fotorreceptores na retina. Estes sinais são depois transmitidos através dos circuitos da retina, para o córtex através do nervo ótico e, eventualmente, para áreas do cérebro onde as representações neurais das imagens se tornam perceções.⁶

O nervo ótico contém fibras (prolongamento dos axónios) de vários tipos de células ganglionares, incluindo três grupos principais de células: as células anãs, que representam 80% das células ganglionares e constituem a via Parvocelular (P); as células parasol, que representam 5-8% das

células ganglionares e constituem a via Magnocelular (M); e as células ganglionares bistratificadas, que representam 5% das células e constituem a via Koniocelular (K).⁷

A Figura 2b apresenta um esquema das vias visuais, desde a retina até ao córtex visual. Os sinais visuais deixam o olho através dos axónios das células ganglionares da retina. Estas células constituem a última etapa do processamento visual na retina. Os seus axónios atravessam a retina na camada de fibras nervosas e convergem no disco ótico para formar o nervo ótico que sai do olho. Como não há fotorreceptores no disco ótico, essa região é cega. As fibras das células ganglionares que representam a retina temporal permanecem segregadas no nervo ótico e atravessam o quiasma para o trato ótico contralateral e terminam no LGN contralateral. A informação do olho ipsilateral e contralateral permanece segregada em feixes, camadas e colunas separadas e a informação de ambos os olhos começa a ser processada por alguns neurónios apenas ao nível do córtex estriado.⁶

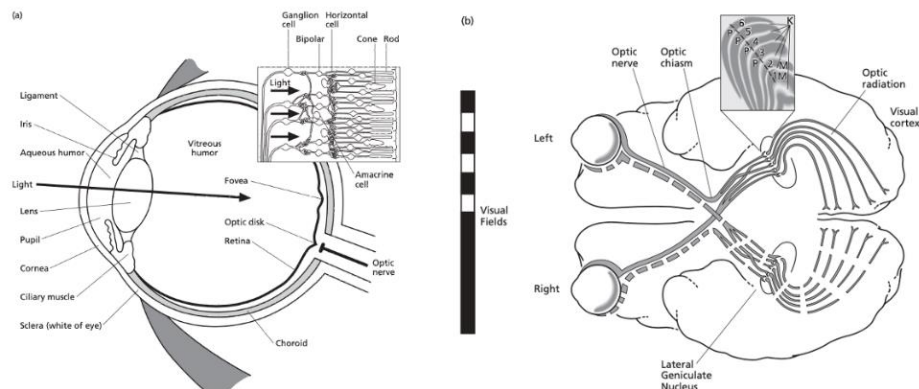


Figura 2. Exemplo da anatomia do olho e as vias visuais. **(a)** Uma secção transversal do olho e a organização vertical da retina (modificado de ⁸). **(b)** A via visual para o córtex visual primário. Os sinais viajam da retina através do nervo ótico para o LGN através das radiações óticas para o córtex visual primário.⁶

Vias Visuais

Para extrair informação sobre a cor do mundo visual, existe um código neural que depende da amostragem tricromática através dos cones, que têm uma sensibilidade máxima à luz azul, verde e vermelha. A geração de sinais que codificam a cor implica o processamento de informação através de circuitos pós-fotorreceptores que comparam a atividade dos três sinais dos cones. Este processamento é representado por mecanismos que produzem antagonismo ou oposição, limitados por duas vias paralelas; estas vias são representadas pela oposição vermelho-verde, em que os sinais dos cones vermelhos e verdes são opostos, e pela oposição azul-amarelo, em que os sinais dos cones azuis são opostos aos dos cones vermelhos e verdes, em que uma mistura equilibrada de luz vermelha e verde produz a percepção do amarelo e não dos tons vermelhos nem verdes.⁹

Via Parvocelular

As células ganglionares anãs da parafóvea são o principal tipo de célula que apresenta otonância vermelho-verde (Figura 3), e os seus axónios projetam-se para as camadas parvocelulares do LGN. Esta otonância vermelho-verde é produzida pela interação antagónica entre os cones vermelhos e verdes que prevalecem na fóvea, onde formam uma matriz de fibras finas densamente compactadas, dispostas em grupos aleatórios de cones com a mesma sensibilidade espectral. As células bipolares anãs do tipo On e Off recebem a informação a partir de um único cone e transmitem-na a uma única célula ganglionar do tipo On e Off, respetivamente. Este circuito de sinapses de três neurónios, cone, célula bipolar anã e célula ganglionar anã, fornece uma linha exclusiva para o *input* de cone vermelho ou verde puro para os centros de campo recetivo das células ganglionares On e Off.³

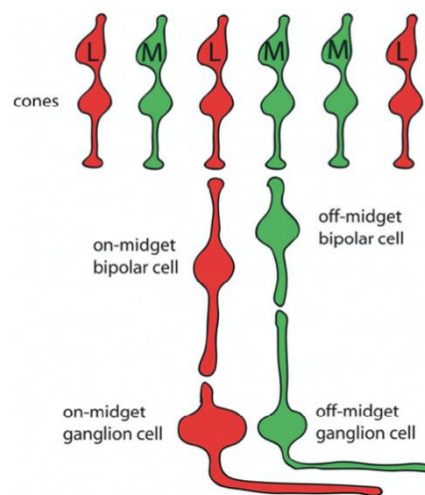


Figura 3. Imagem representativa da Via Parvocelular.³

A via Parvocelular transporta informação quanto à forma e cor dos objetos, nomeadamente no eixo verde-vermelho. Tem uma velocidade de condução de informação lenta e uma resposta tónica, respondendo preferencialmente a estímulos de frequências temporais baixas, a frequências espaciais altas e a altos contrastes, tem campos recetivos pequenos e dendrites pouco extensas.

Via Magnocelular

Embora os campos recetivos das células ganglionares parasol estejam organizados num centro com uma periferia antagónica, não apresentam otonância vermelho-verde. O centro e a periferia são de banda larga na sua sensibilidade espectral, respondendo a estímulos de cones vermelhos e verdes, mas não a estímulos de cones azuis (Figura 4). Estas células desempenham apenas um pequeno papel no processamento da informação cromática, detetam estímulos de luminosidade, movimento e padrões grandes, informação que os axónios transmitem às camadas magnocelulares do LGN, onde terminam. Embora as células ganglionares parasol sejam mais prevalentes na retina periférica, elas

também estão presentes na região da paráfóvea. As células ganglionares do tipo parasol On e Off recebem informações das células bipolares difusas que recebem estímulos de uma combinação de pedículos de cones vermelhos e verdes. Este circuito de sinapses de três neurónios, cone, célula bipolar difusa e célula ganglionar parasol fornece um *input* misto de cones vermelho e verde para os centros do campo recetivo das células ganglionares do tipo parasol On e Off.³

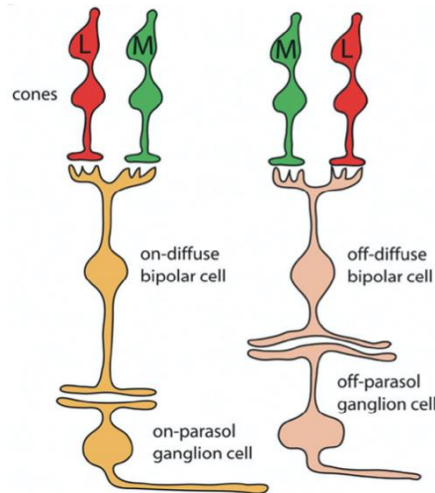


Figura 4. Imagem representativa da Via Magnocelular.³

Por sua vez, a via Magnocelular transporta informação do movimento, contraste e estereopsia, tem uma resposta transitória e responde preferencialmente a estímulos de frequências temporais altas, frequências espaciais baixas e baixos contrastes. Ao contrário da via Parvocelular, tem grandes campos recetivos e dendrites extensas, que permitem uma condução rápida da informação e é sensível a estímulos acromáticos branco-preto.

Via Koniocelular

A célula ganglionar bistratificada é a principal célula a apresentar oponência azul-amarela (Figura 5), com axónios projetados para as camadas koniocelulares K3 e K4 que se misturam com neurónios parvocelulares no LGN.¹⁰⁻¹² A oponência azul-amarela está organizada em dois campos que são espacialmente coincidentes ao longo de todo o campo recetivo das células ganglionares, que respondem a estímulos sensíveis ao cone azul e estímulos sensíveis ao cone amarelo ou a estímulos mistos do cone vermelho e verde. A base da oponência azul-amarela consiste na informação diferenciada das células bipolares recebida por cada dendrite que se estratifica em duas camadas diferentes do IPL. Neste modelo On-Off para a oposição azul-amarelo, existem dois circuitos paralelos compostos por sinapses de três neurónios: um circuito On constituído por cones azuis, células bipolares azuis e pequenas células ganglionares bistratificadas e um circuito Off constituído por cones vermelhos e verdes, células bipolares difusas e pequenas células ganglionares bistratificadas.³

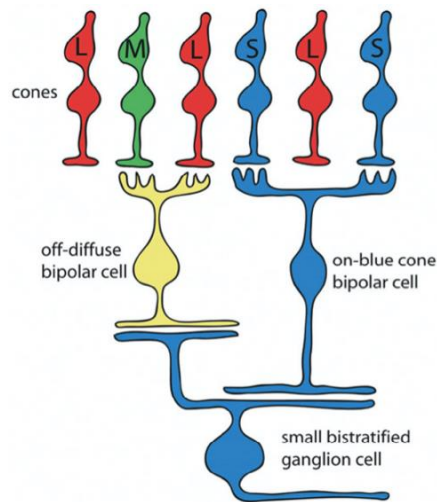


Figura 5. Imagem representativa da Via Koniocelular.³

A via Koniocelular está relacionada com a transmissão da informação cromática no eixo azul-amarelo, possuindo características intermédias entre o sistema Parvocelular e o Magnocelular no que diz respeito à sua anatomia e fisiologia.

Núcleo Geniculado Lateral (LGN)

Como mostra a Figura 6, a saída da retina para o LGN permanece segregada entre as três vias e entre o olho ipsilateral e o contralateral. O LGN contém doze camadas separadas: quatro camadas parvocelulares, duas magnocelulares e seis koniocelulares. As camadas 1 e 2 compreendem a via M (Magnocelular), as camadas 3-6 compreendem a via P (Parvocelular), enquanto as seis camadas de células intercaladas entre as camadas M e P representam o sistema K (Koniocelular). As fibras de saída da retina do olho ipsilateral e contralateral terminam em camadas alternadas do LGN (Figura 6). Existe uma correspondência de cerca de 1:1 entre as fibras retinogeniculadas provenientes da retina e os neurónios de projeção do LGN.¹³

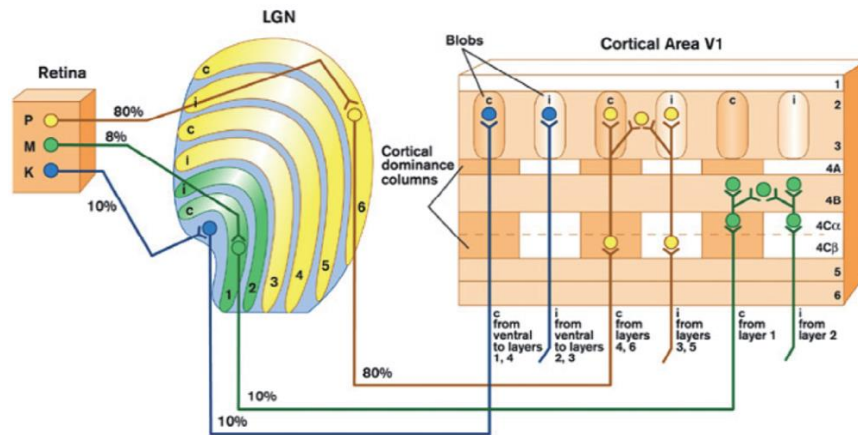


Figura 6. Representação esquemática das vias retinogênicas-estriadas. A saída da retina é subdividida em três vias: a Parvocelular P (a amarelo), a Magnocelular M (a verde), e a via Koniocelular K (a azul). As três vias permanecem segregadas no LGN e no córtex estriado V1. C, indica contralateral; I, indica ipsilateral. A entrada do olho contralateral e ipsilateral permanece separada em todo o sistema até ser processada no córtex visual.¹³

1.2 Sistema Eferente

O sistema visual centrífugo (CVS), cujos elementos (neurônios retinopetálicos), se encontram em muitos vertebrados¹⁴, é definido por uma projeção eferente do cérebro para a retina, particularmente alargada e bem definida nas aves.¹⁵ Estudos anatómicos mostraram que nos nervos óticos dos mamíferos adultos, incluindo humanos¹⁶, existem populações dispersas de fibras retinopetálicas que têm origem de vários locais, incluindo do tronco cerebral e do hipotálamo^{14,17-19}, para além do olho contralateral. Existe apenas um pequeno número destes axônios retinopetálicos, mas as suas ramificações na retina interna são muito extensas.

Foram localizados os neurônios do tronco cerebral que dão origem a estes axônios e os seus neurotransmissores foram identificados. Um conjunto de axônios retinopetálicos surge no hipotálamo posterior e utiliza histamina, e o outro surge no núcleo dorsal e utiliza serotonina. A contribuição destes axônios retinopetálicos para a visão pode ser prevista a partir dos efeitos conhecidos da serotonina e da histamina nos neurônios da retina e consequentemente na etiologia das doenças da retina.¹⁷

As fibras retinopetálicas ramificam-se amplamente no olho, cobrindo mais de um quarto da superfície da retina¹⁷ e, dependendo do tipo de fibra, terminam nas camadas plexiformes interna e externa, camada nuclear interna, e camada das células ganglionares.²⁰⁻²³ Assim, pode haver poucas fibras retinopetálicas na retina em mamíferos adultos, mas a ativação de apenas uma pode ter uma ampla influência no processamento de informação visual.

Existem estudos utilizando técnicas de electroretinograma (ERG) que provam a existência destas fibras.^{24,25} Em gatos, foi observado que, a estimulação luminosa de um olho evocava um pequeno sinal

semelhante ao ERG no olho contralateral.²⁶ Estudos com humanos reportaram diferenças na amplitude da onda -b do ERG registada em condições monoculares e binoculares²⁷ e uma diminuição da amplitude do ERG do olho contralateral ao olho estimulado que é dependente da frequência de estimulação.²⁸ Para alguns autores, os achados com a alteração do ERG²⁹ sugerem que a resposta da retina parece ser regulada por vias eferentes e assume-se que os efeitos inibidores conduzem a excitabilidade da retina através de um mecanismo de feedback.

1.3 Evidências Anatômicas e Fisiológicas de Conexões Eferentes na Retina

1.3.1 Evidências Anatômicas em Animais

Em 1941, *Polyak* (1941)³⁰ encontrou fibras de origem desconhecida na retina de um chimpanzé, descreveu as características destas fibras e traçou o seu trajeto, chegando à conclusão de que são de origem extrarretiniana. As fibras retinopéticas são diferenciadas com base, por exemplo, no seu diâmetro axonal, ramificações sucessivas à medida que avançam periféricamente na retina, resultando na atenuação das fibras, e pela sua trajetória descendente da camada de fibras nervosas para a camada nuclear interna.¹⁶ O trajeto das fibras retinopéticas em primatas têm origem na região tectal e passam pelo mesencéfalo, trato ótico, quiasma e nervo ótico antes de terminarem na retina.^{31,32}

Reperant et al. (2006) publicaram uma análise comparativa abrangente da organização funcional e anatômica do sistema visual centrífugo em vertebrados, confirmando ainda que o sistema visual centrífugo constitui um componente universal do sistema nervoso central (SNC) dos vertebrados, mas apresenta um elevado grau de variação entre espécies.¹⁴

A descoberta de axónios retinopéticos imunorreativos à histamina e à serotonina na retina do macaco^{33,34} tem provavelmente significado fisiológico, pois a histamina pode aumentar seletivamente as correntes de potássio dependentes da voltagem das células bipolares ON na retina³⁵ e ter um efeito direto na onda -b do ERG. Recentemente, foram também detetados recetores de histamina nas células horizontais, nas células amácrinas e nos cones na retina do macaco³⁶, ampliando o número de possíveis influências na função da retina. As mesmas observações anteriores podem-se aplicar, aos axónios retinopéticos imunorreativos à serotonina, uma vez que, na retina humana foram identificados seis dos oito recetores de serotonina.³⁷

Apesar da natureza mais específica e conclusiva das descobertas recentes, ainda existe alguma incerteza sobre a importância quantitativa e funcional das vias envolvidas devido à incerteza do número de fibras existentes e da sua origem exata.

1.3.2 Evidências Fisiológicas em Animais

Nos mamíferos, a existência de axônios retinopetálicos foi estudada e explicada por alterações na eletrofisiologia da retina em resposta ao bloqueio ou secção do nervo ótico (coelhos e gatos)^{29,38,39}, à inatividade cortical e ao sono (em ratos).^{40,41} Pensa-se que os axônios retinopetálicos têm um efeito inibitório na função retiniana; assim, registrando a atividade bioelétrica induzida pela luz na retina através do ERG e observando alterações específicas, é possível confirmar a existência de fibras retinopetálicas.

Num estudo em gatos e macacos⁴², utilizando depressores do SNC mostraram um aumento na amplitude do ERG de um olho intacto, enquanto nenhuma alteração foi observada no olho com secção do nervo ótico cortado. A evidência desta inibição central foi posteriormente demonstrada em gatos, quando o estímulo luminoso apresentado num olho inibiu uma resposta ao nível do quiasma.^{43,44} Além disso, outro estudo mostrou um aumento na amplitude da onda -b do ERG em coelhos como resultado direto da secção do nervo ótico.⁴⁵ Efeitos semelhantes no ERG *full-field* (ffERG) do macaco foram observados por outros três estudos.⁴⁶⁻⁴⁸

Mirsky et al. (1973) investigaram a possível relação do efeito da secção do nervo ótico na circulação da retina e realizaram uma experiência em macacos para estudar o impacto da secção do nervo ótico na alteração do ffERG. Realizaram-na de duas formas diferentes: i) por secção do nervo ótico infraorbitário (que danifica a artéria central da retina) e ii) por secção do nervo ótico intracraniano (que poupa a artéria). Demonstraram que, quando a secção poupa a artéria esta não influencia a forma da onda do ERG desse olho porque a retina está funcional, no entanto, o ERG medido no olho contralateral (registado com o nervo ótico intacto) diminui de amplitude.⁴⁶ Isto quer dizer, que de facto o corte destes nervos intracranianos (que vão para o cérebro) provoca alteração no olho contralateral, ou seja, existe uma comunicação entre os dois olhos.

1.3.3 Evidências Anatômicas em Humanos

Todas as evidências anatômicas da existência de fibras retinopetálicas em humanos foram geradas a partir de casos de autópsia ou de olhos removidos em cirurgia. A primeira sugestão da existência destas fibras no nervo ótico humano foi publicada em 1900.⁴⁹ Os autores sugeriram que algumas fibras de pequeno diâmetro observadas no nervo ótico de um paciente, submetido a cirurgia para remoção do olho direito após atrofia unilateral do nervo ótico, eram de origem centrífuga.⁴⁹

Uma das formas da comprovação da existência destas fibras, é pela presença de axônios não degenerados no nervo ótico, desde que tenha passado tempo suficiente para que todas as fibras

aferentes (provenientes da retina e que terminam no cérebro) tenham degenerado até ao momento dessa avaliação. O período da degeneração neural retrógrada foi estabelecido nos nervos aferentes do sistema retiniano, tipicamente, começa horas após a lesão e degenera completamente em algumas semanas.⁵⁰ As fibras retinopéticas também podem sofrer degeneração, mas sendo muito mais lenta, permite a sua visualização durante algum período de tempo.

Estudos morfológicos de um olho enucleado 10 dias após a oclusão completa da artéria central da retina mostraram que todas as células ganglionares e centrípetas (aferentes) tinham degenerado, enquanto todos os presumíveis nervos retinopéticos (eferentes) com os seus corpos celulares no cérebro ainda estavam presentes no disco ótico. Isto permitiu uma estimativa quantitativa das presumíveis fibras retinopéticas restantes, que foi definida em cerca de 10% de todas as fibras no nervo ótico humano.⁵¹ No entanto, este número provavelmente sobrestima o número real de fibras. Verificou-se ainda que estas fibras na retina humana e noutros mamíferos (cães, gatos e porquinhos-da-índia), emergem do disco ótico e direcionam-se para a periferia da retina antes de terminarem na camada plexiforme interna.⁵²

1.3.4 Evidências Fisiológicas em Humanos

A modulação do ERG por estimulação não visual e/ou contralateral do olho, tem servido como suporte direto para a evidência da presença deste sistema eferente na retina em humanos. Quando um ERG registado binocularmente é de menor amplitude em comparação com um ERG registado monocularmente, implica uma influência eferente na resposta do ERG, quer pela atuação direta do olho contralateral, quer através de um feedback envolvendo estruturas cerebrais.⁵³ A partir do início da década de 1950 foram realizados alguns estudos alguns dos quais apoiam essas evidências^{27,53,54}, no entanto, alguns estudos não encontraram tais evidências.^{55,56} As diferentes condições na realização bem como obtenção do sinal ERG entre os diferentes estudos, foram apontados como fatores explicativos desses achados contraditórios. O efeito destas fibras pode também não ser muito acentuado o que poderá levar também a resultados e conclusões contraditórias.

Alguns estudos registaram um sinal ERG no olho contralateral não iluminado⁵⁷, no entanto estes estudos não foram replicados posteriormente e permanecem controversos até aos dias de hoje. Esses estudos sugerem que o sinal ERG do olho contralateral provem de neurónios corticais ou subcorticais no cérebro que são ativados pela informação induzida pelo olho estimulado (iluminado). No entanto, os resultados fisiológicos obtidos em ratos, indicam que nestas formas de estimulação contralateral, comunicação direta retino-retiniana entre os dois olhos, também pode estar envolvida.⁵⁸ Esse estudo mostrou que a estimulação elétrica do nervo ótico pode evocar um potencial de ação/sinal

ERG semelhante no nervo ótico contralateral. Para além disso, os tratamentos experimentais que eliminaram esse sinal ERG no olho não estimulado, também alteraram o sinal ERG do olho estimulado, diminuindo a amplitude e aumentando o tempo implícito da onda -b.⁵⁸

Ao longo do tempo têm sido utilizadas diversas técnicas experimentais para a investigação das fibras retinopetálicas. Num estudo utilizando influência sensorial não visual e resposta do ERG, verificaram que a estimulação ERG em simultâneo com um estímulo sonoro (um som emparelhado com um flash), provocava um aumento da onda -b do sinal ERG. Este efeito foi observado apenas quando o som e o flash foram apresentados em simultâneo, o que sugere que o efeito do som na alteração da atividade da retina pode ser mediado através de uma via neural, e provavelmente através de fibras retinopetálicas do SNC para a retina humana.⁵⁹ Outros estudos demonstraram a dependência da resposta do ERG num olho em relação à manipulação (sensorial ou física) do olho contralateral. Em 1964, um estudo demonstrou uma diminuição significativa da amplitude da onda -b do ERG num olho, dependendo da frequência de uma estimulação flicker simultânea do olho contralateral.²⁸ Mais recentemente, outros estudos demonstraram uma diminuição do padrão da onda ERG em ambos os olhos após uma diminuição unilateral da pressão de perfusão ocular em voluntários saudáveis⁶⁰ e uma diminuição da amplitude do sinal ffERG em ambos os olhos após depressão escleral num dos olhos. Uma possível explicação para estes resultados é uma influência da via eferente na resposta ERG.⁶¹

A presença de vias eferentes no SNC e especialmente de fibras retinopetálicas levou vários autores a sugerir que estas podem ser importantes no controlo da atenção, através da filtragem ou da passagem da informação sensorial.⁶²⁻⁶⁵ Embora seja geralmente considerado que os processos centrífugos modulam a sensação e são importantes em algumas circunstâncias na modulação da atenção, o papel dos axónios retinopetálicos todavia permanece incerto.⁶⁶

No olho humano, a maioria das evidências fisiológicas da existência destas fibras provêm de estudos de natureza clínica. Apesar dos poucos detalhes experimentais fornecidos para a avaliação dos resultados, alguns estudos descreveram ERG's normais nos olhos contralaterais de pacientes com neurite ótica unilateral. No entanto, poucos detalhes experimentais foram fornecidos para avaliar os resultados.⁶⁷ No entanto, em 1959, num caso clínico mais completo relataram que o sinal ERG com adaptação ao escuro de um paciente com lesão traumática do nervo ótico no olho esquerdo (sem percepção de luz, e palidez do disco ótico), era maior comparando com o sinal ERG do olho direito sessenta e seis dias após a lesão.⁶⁸ Quando o efeito do traumatismo unilateral do nervo ótico é avaliado através de técnicas ERG, a maioria dos estudos reporta um aumento da amplitude do ffERG no olho ipsilateral após a lesão ou dano unilateral do nervo ótico.⁶⁸⁻⁷³

1.4 Electroretinograma (ERG)

O electroretinograma é um potencial elétrico gerado pela retina do olho em resposta à luz. Pode ser registado de forma não invasiva, utilizando elétrodos colocados na córnea, e reflete a resposta combinada de todas as células da retina. O ERG resulta de correntes extracelulares que fluem no tecido da retina (Figura 7) em consequência da sinalização neuronal e, em certos casos, das alterações de concentração do potássio pelas células gliais da retina. Com estímulos e análises adequadamente aplicados, o ERG pode fornecer informações úteis e objetivas sobre a integridade funcional das células e dos circuitos retinianos. Esta informação pode ser utilizada para diagnosticar e aclarar doenças da retina, para monitorizar a eficácia de tratamentos neuroprotetores e de terapias genéticas em humanos e em modelos animais, e para estudar o processamento retiniano normal e a função alterada em retinas geneticamente manipuladas, entre outras.⁷⁴

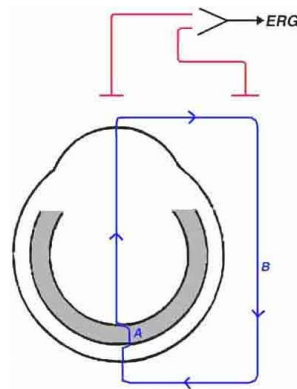


Figura 7. Uma representação esquemática das correntes extracelulares que se formam após a estimulação luminosa. A via A representa as correntes locais no interior da retina, enquanto a via B mostra as correntes que saem da retina através do vítreo e da córnea e regressam à retina através da coróide e do epitélio pigmentar. O registo do ERG em humanos é feito ao longo da via B.⁷⁵

Atualmente, para o exame eletrofisiológico do sistema visual existem uma variedade de exames não invasivos ou minimamente invasivos que fornecem informação acerca da função celular das diversas estruturas da retina e em diferentes localizações do sistema visual. Para a prática clínica, a maioria destes exames estão protocolados pelos standards da Sociedade Internacional para a Eletrofisiologia Clínica da Visão (ISCEV).⁷⁶ Nestes tipos de exame – de entre os quais se destacam o electroretinograma padrão (PERG), *full-field* (ffERG), multifocal (mfERG) e os potenciais evocados visuais (VEP).

2. HIPÓTESES E OBJETIVOS DO ESTUDO

2.1 Hipóteses do Estudo

H0: O electroretinograma não é sensível para detecção da atividade das fibras retinopetálicas nas diferentes estruturas celulares da retina.

H1: O electroretinograma é sensível para detecção da atividade das fibras retinopetálicas nas diferentes estruturas celulares da retina.

2.2 Objetivos

Os objetivos principais deste trabalho são:

1. Avaliar a sensibilidade das técnicas de eletrofisiologia para avaliar a presença do sistema feedback na retina;
2. Avaliar a resposta eletrofisiológica da retina no olho contralateral ao olho sujeito a diferentes protocolos de estimulação ERG:
 - 2.1. Utilizando Electroretinograma Padrão (PERG): Para avaliar a atividade das células ganglionares;
 - 2.2. Utilizando Electroretinograma ON-OFF: Para avaliar o sistema de fotorreceptores e células bipolares (sistema On-Off);
 - 2.3. Utilizando Resposta Negativa Fotópica (PhNR) do Electroretinograma adaptado à luz: Para avaliar as células ganglionares de forma mais específica.

3. MATERIAL E MÉTODOS

3.1 Desenho do estudo

Este estudo é um estudo piloto experimental e prospetivo com o objetivo de avaliar a presença do mecanismo feedback avaliando a resposta eletrofisiológica da retina no olho contralateral ao olho sujeito a diferentes protocolos de estimulação ERG. As medidas foram realizadas em duas visitas, a primeira para a obtenção valores gerais das funções visuais e a segunda para o registo das medidas eletrofisiológicas da retina. Para este estudo, as variáveis em análise são: as componentes da onda/sinal ERG das diferentes técnicas que utilizamos.

Todos os dados foram recolhidos no Laboratório de Investigação em Optometria Clínica e Experimental (CEORLab) do Centro de Física da Universidade do Minho, com posterior anotação dos resultados num formulário específico de recolha de dados. Foi concedido o consentimento informado por escrito a todos os participantes antes da sua participação e o estudo foi realizado de acordo com os princípios da Declaração de Helsinquia. Este estudo foi aprovado pela Comissão de Ética para a Investigação em Ciências da Vida e da Saúde da Universidade do Minho (CEICVS) que analisou os aspetos éticos deste estudo para ajudar a proteger os direitos e o bem-estar dos participantes (CEICVS 034/2023).

3.2 Participantes e tamanho da amostra

A dimensão da amostra necessária para realizar este estudo foi calculada utilizando (http://hedwig.mgh.harvard.edu/sample_size/js/js_crossover_quant.html).

Em que uma amostra composta de 15 sujeitos, permite detetar diferenças de amplitude no sinal ERG de $1,0 \pm 0,5$ microvolt (μV) entre medidas com um poder estatístico de 80% do estudo com um nível de significância de 0,05%.

3.3 Critérios de elegibilidade

Todos os participantes incluídos neste estudo cumpriram os seguintes critérios de elegibilidade.

3.3.1 Critérios de inclusão

- Sem patologias oculares;
- Sem patologia geral que possa interferir com a eletrorretinografia;
- Sem histórico de intervenções cirúrgicas oculares;
- Erro refrativo compreendido entre -6,00 Dioptrias (D) e +6,00D;
- Astigmatismo igual ou inferior a 1,00D;
- AVcc mínima 0,0 logMAR;

- Sem ambliopia.

3.4 Procedimento experimental

3.4.1 Avaliação Clínica

Antes de qualquer participante ser submetido aos exames clínicos, foi-lhes entregue o consentimento informado e assinado por cada um deles. A avaliação clínica consistiu numa visita de trinta minutos para cada participante, em que os critérios de elegibilidade foram considerados para incluir ou não os participantes.

3.4.1.1 Refração

Para determinar o erro refrativo de cada participante foi utilizado o Autorefratômetro de campo aberto (Grand-Seiko WAM 5500) e, de seguida foi realizado o exame subjetivo para visão de longe. Todos os dados foram registados no formulário de recolha de dados. Os dados da refração, obtidos na forma clínica (esfera – cilindro x eixo), foram decompostos em componentes vetoriais: M (equivalente esférico), J0 (componente astigmática no meridiano horizontal) e J45 (componente astigmática oblíqua).⁷⁷

3.4.1.2 Acuidade Visual

Após o exame subjetivo, com o participante adaptado à melhor correção, foi registada a acuidade visual à distância de alto contraste (100%) e de baixo contraste (10%) (HCDVA e LCDVA, respetivamente) com o optotipo de Acuidade Visual Logarítmica EDTRS (Precision Vision. IL) a 4 metros. Este optotipo é composto por 14 linhas com 5 letras cada e mede a acuidade visual (AV) entre 1,00 unidades LogMAR e -0,30 unidades LogMAR (o equivalente a 0,10 e 2,00, respetivamente, em escala decimal). A linha de 0,00 (zero) na escala LogMAR é equivalente a 20/20 (ou 1,0 na escala decimal). Cada letra tem o valor de -0,02 unidades LogMAR, neste sentido a AV é melhor quanto mais negativo for o seu valor.

3.4.1.3 Comprimento Axial

O comprimento axial foi medido com um IOL Master (Carl Zeiss Meditec, Inc, Dublin, CA) retirando-se a média de cinco medidas consecutivas.

3.4.2 Eletroretinografia

A segunda visita consistiu na realização dos exames ERG no RETI-port/scan21 (Roland Consult, Wiesbaden, Germany), que foram executados em três condições diferentes (sem oclusão

monocular (baseline), oclusão total do olho contralateral (opaco) e oclusão parcial do olho contralateral (translúcido).

3.4.2.1 Caraterização da iluminação (espaço + estímulo)

A Tabela 1 mostra a caraterização de iluminância do espaço e das condições de registo de medida do ERG, utilizando um iluminânciômetro (Figura 8). Para a iluminância do espaço foram obtidas três medidas e calculada a média e, de igual modo, para cada uma das condições de estimulação ERG foram obtidas três medidas consecutivas colocando o iluminânciômetro na posição atrás do oclutor e posteriormente calculada a média.



Figura 8. Iluminânciômetro Konica Minolta T-10.

Tabela 1. Caraterização da iluminância (em lux) do espaço e para cada uma das situações.

Exame	PERG	ON-OFF ERG	PhNR ERG
Iluminação (lux)			
Sala	428 ± 1,00		
Sem Oclutor	232,37 ± 0,80	1292,33 ± 96,52	103,77 ± 1,76
Oclutor Opaco	0,11 ± 0,02	0,57 ± 0,08	1,44 ± 0,03
Oclutor Translúcido	180,63 ± 1,36	798,33 ± 90,12	84,20 ± 1,75

No caso do oclutor translúcido existe uma redução de $\approx 30\%$ que se mantém em todas as condições.

No caso do oclutor opaco, os valores deviam ser muito mais pequenos. Basta haver um fotão para provocar uma resposta, neste caso, a resposta não será dos fotorrecetores, mas talvez dos bastonetes. Estes valores são aproximados para termos uma noção da ordem de grandeza do corte porque com o oclutor opaco esperaríamos um valor mais próximo de 0 em todas as condições. Existe uma redução de 90% quando colocamos o oclutor opaco, mas há 10% de luz que podem passar e gerar uma resposta, ou seja, pode não ser o sistema eferente que estamos a medir, mas sim umas células estimuladas por este valor.

Os valores de iluminância sem nenhum tipo de oclusão são muito diferentes, principalmente no ON-OFF ERG, isto deve-se ao facto dos estímulos terem características diferentes. Como o estímulo On-Off é muito mais intenso, o valor da iluminância será muito superior, enquanto, na PhNR e no PERG é muito mais baixo.

3.4.2.2 Posição dos Eléttodos

O RETI-port/scan21 (Roland Consult, Wiesbaden, Alemanha) foi utilizado para os registos eletrofisiológicos, seguindo as diretrizes do ISCEV.⁷⁸⁻⁸⁰ Antes da colocação dos eléctrodos, a pele foi limpa com um gel abrasivo. Em seguida, foram colocados eléctrodos cápsula de ouro de referência e de terra e os eléctrodos ativos DTL-plus (Dawson-Trick-Litzkow) (Figura 9). A impedância foi verificada antes de cada medição e os registos só foram efetuados quando esta era inferior a 5 k Ω (kilohms). Todas as medições de ERG foram registadas monocularmente em condições de estimulação binocular.

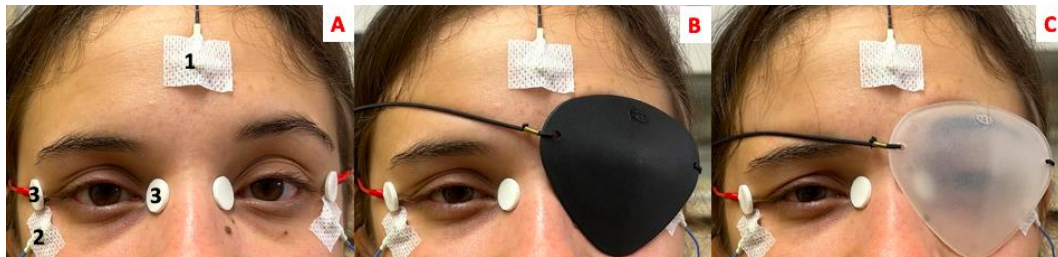


Figura 9. Posição ilustrativa dos eléctrodos para medições ERG e dos oclusores nas três condições de medida (A: Baseline; B: Opaco; C: Translúcido). (1) Eléttrodo de terra Gold-cup; (2) Eléttrodo de referência Gold-cup; (3) Eléttrodo ativo DTL.

3.4.2.3 Cronograma de medições

A Figura 10 mostra a ordem pela qual foram feitas as medidas, para as condições opaco e translúcido a ordem dos exames foi randomizada pelo website <https://www.random.org> para cada participante. Os três exames realizados foram PERG, ON-OFF ERG e PhNR, entre cada medida houve um intervalo de pausa de cinco minutos sem qualquer tipo de estimulação como período *wash-out*.

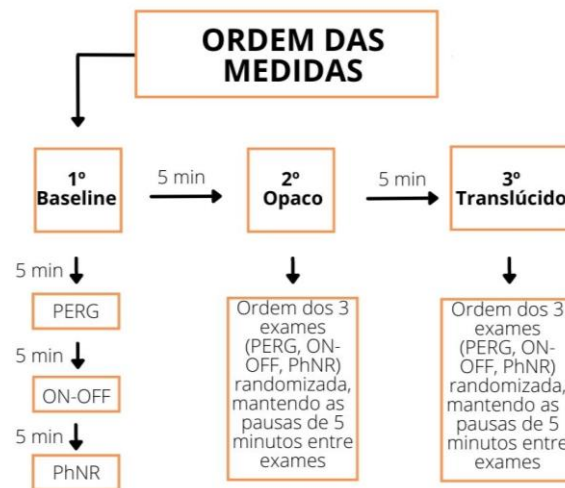


Figura 10. Representação esquemática da ordem das medidas com as três condições utilizadas.

Os exames foram feitos com a melhor correção de cada sujeito colocando o valor do equivalente esférico numa armação de prova, e no caso dos sujeitos emetropes foi colocada uma lente neutra para manter todos os sujeitos nas mesmas condições. Foi sempre colocado o oclisor no olho mais negativo, de modo a manter o critério para todos os participantes.

3.4.2.4 Caracterização do estímulo PERG

O PERG é uma resposta baseada no contraste, impulsionada por fotorreceptores maculares e células ganglionares provenientes da retina.⁷⁶ Mede tanto a função central da retina como a função das células ganglionares da retina.⁸¹ Clinicamente, a resposta transitória PERG tem dois componentes principais: P50 (pico positivo a 50 milissegundos (ms) do início do estímulo) é um componente interno da retina conduzido por cones, situados na mácula, e células ganglionares e N95 (pico negativo a 95ms do início do estímulo) é o segundo componente que está relacionado com o contraste e é gerado pelas células ganglionares da retina (Figura 11).⁷⁸

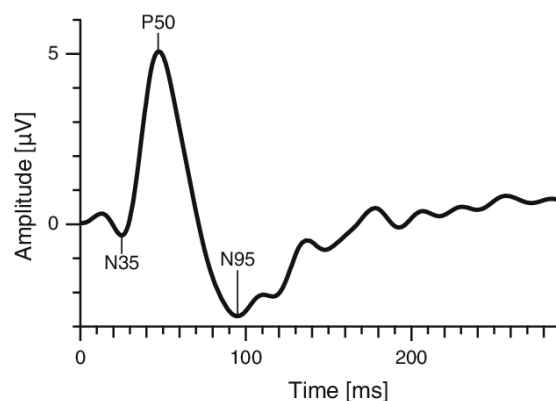


Figura 11. PERG padrão típico. A amplitude do P50 está tipicamente entre 2,0 e 8,0 μV .⁷⁸

Neste estudo o estímulo do PERG utilizado é constituído por um estímulo no ecrã idêntico a um tabuleiro de xadrez (Figura 12a), reversível de quadrados pretos e brancos (tamanho angular de $1^\circ 25$ segundos(s)) com uma taxa de reversão com frequência de 1,5Hz (hertz), tempo de ciclo de 0,65s. A onda da resposta PERG é composta por 3 componentes principais (Figura 12b) uma onda negativa (N35) seguida de uma onda positiva (P50) e outra negativa (N95) do qual se extraíram os valores de amplitude e tempo dos picos dessas componentes.

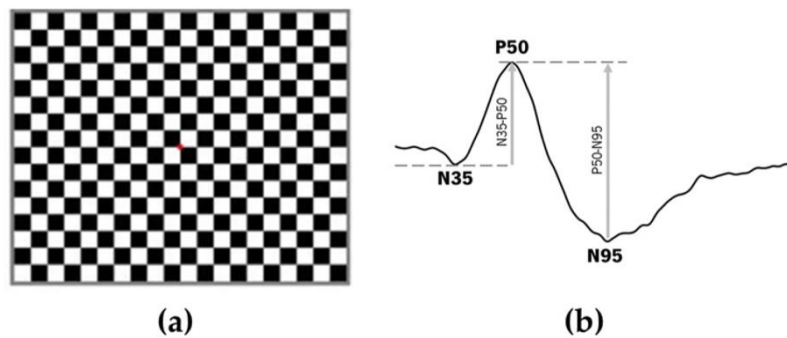


Figura 12. (a) Representação do estímulo PERG. Devido aos padrões de inversão do mesmo, permite obter uma resposta curva semelhante à de **(b)**.⁸²

3.4.2.5 Caracterização do estímulo ON-OFF ERG

A onda -b padrão do ERG 3.0 adaptado à luz (*full-field*) é evocada com flashes de curta duração (< 5 ms) num fundo saturado e reflete, em grande parte, as contribuições de sobreposição das vias das células bipolares On e Off. A resposta fotópica On-Off é obtida com um estímulo laranja (620nm) na presença de um fundo verde (560nm) na cápsula de Ganzfeld com uma taxa de estímulo ≤ 2 por s (intervalo entre estímulos 0,5 s). O estímulo tem as seguintes propriedades: 2,5Hz de frequência e 0,4s de tempo de ciclo.

O ON-OFF ERG tem dois componentes principais, a resposta On e a resposta Off (Figura 13). A resposta On ocorre após o início do estímulo e consiste em duas ondas proeminentes, a onda -a de polaridade negativa e a onda -b positiva. A resposta Off, ou onda -d, é um componente de polaridade positiva em resposta à extinção do estímulo luminoso.⁸³⁻⁸⁵

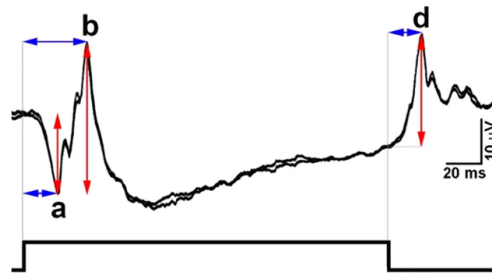


Figura 13. Diagrama dos três componentes principais do ON-OFF ERG e da sua medição. A duração do estímulo está indicada na parte inferior da figura; as setas vermelhas (verticais) indicam a medição da amplitude e as setas azuis (horizontais) indicam a medição do tempo de pico. Dois traços são sobrepostos para demonstrar a reprodutibilidade.⁸⁰

3.4.2.6 Caracterização do estímulo PhNR do ERG adaptado à luz

A resposta fotópica negativa do ERG adaptado à luz é uma onda negativa que ocorre após a onda -b em resposta a um breve flash (Figura 14).⁷⁹ É obtida com um estímulo vermelho (630-660 nm) (200 cd/m²) na presença de um fundo azul (450-485 nm) (25 cd/m²) com um tempo de flash de 2000 microssegundos (µs).

A PhNR reflete a atividade generalizada das células ganglionares da retina e dos seus axónios⁸⁶, e a sua amplitude pode ser reduzida precocemente em doenças que afetam a retina mais interna.

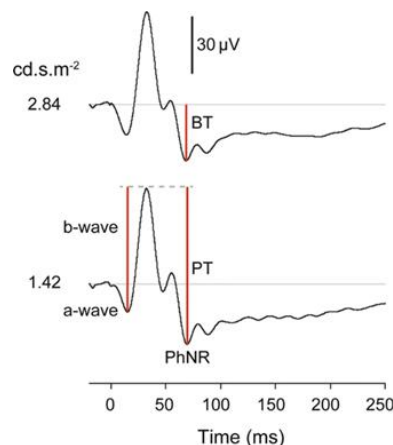


Figura 14. Exemplo de medição da amplitude da PhNR desde a linha de base até ao valor mínimo da PhNR (BT) e desde o pico da onda -b até ao valor mínimo da PhNR (PT).⁷⁹

3.4.3 Diâmetro Pupilar

Durante a realização dos exames ERG foram registadas três medidas consecutivas do diâmetro pupilar antes e depois de cada exame ERG, e posteriormente calculada a média. As medidas foram retiradas através do pupilómetro de infravermelhos (AlgiScan - IDmed, França).

3.5 Análise estatística

A análise estatística foi realizada com recurso ao software *SPSS Statistics version 28.0.1.0(142)* (SPSS Inc, Chicago, IL). Foi feita uma análise descritiva para cada variável analisada e apresentada em forma de média $\pm$ desvio padrão.

O teste *Shapiro-Wilk Test* foi aplicado para avaliar a normalidade da distribuição dos dados. Os testes de análise de variância foram utilizados para comparar as diferenças nos diferentes componentes das ondas (quer em tempo quer em amplitude) entre os grupos (baseline vs opaco vs translúcido) para as variáveis com distribuição normal ou não. Para aqueles que o valor da significância estatística (p) foi considerado estatisticamente significativo, foi utilizado o teste *post hoc (Bonferroni)* para avaliar as diferenças entre vários grupos. Para fins estatísticos, um valor de p menor que 0,05 foi considerado estatisticamente significativo.

4. RESULTADOS

Neste capítulo apresentam-se os resultados obtidos no estudo e a sua análise estatística.

4.1 Caracterização da amostra

As características da amostra estão representadas na Tabela 2.

Tabela 2. Dados da amostra em estudo.

n(total)	15
Idade (anos) $\pm$ DP	25,60 $\pm$ 5,28
Sexo	Feminino: 73,3%
	Masculino: 26,7%

4.2 Funções Visuais

4.2.1 Dados refrativos

Os dados da refração de cada participante foram decompostos em componentes vetoriais e estão representados na Tabela 3 na forma de média $\pm$ desvio-padrão. No olho direito (OD) o valor médio é -1,20D, com valor máximo de 0,88D e mínimo de -4,63D. No olho esquerdo (OE) o valor médio é de -1,36D, com valor máximo de 0,75D e mínimo de -5,63D.

Tabela 3. Médias e desvios padrões das componentes vetoriais M, J0, J45 para o OD e OE em D.

	M	J0	J45
OD	-1,20 $\pm$ 1,74	0,09 $\pm$ 0,18	-0,05 $\pm$ 0,05
OE	-1,36 $\pm$ 1,85	0,16 $\pm$ 0,29	-0,01 $\pm$ 0,08

Com base no valor do equivalente esférico, do total dos participantes, 60% eram míopes ($< -0,25D$), 26,67% eram emetropes ($-0,25D \geq x \geq +0,25D$) e 13,33% eram hipermetropes ($> +0,25D$).

4.2.2 Acuidade visual em alto e baixo contraste

Na Tabela 4 encontram-se os valores médios e respetivos desvios padrões da acuidade visual à distância de alto contraste (100%) e de baixo contraste (100%) para cada olho e para ambos os olhos (AO). No OD o valor médio de HCDVA é de -0,12, com valor máximo de 0,02 e mínimo de -0,30, o valor médio de LCDVA é de 0,12, com valor máximo de 0,36 e mínimo de 0,00. No OE o valor médio de HCDVA é de -0,07, com valor máximo de 0,62 e mínimo de -0,30, o valor médio de LCDVA é de 0,17, com valor máximo de 0,62 e mínimo de 0,02. Para AO o valor médio de HCDVA é de -0,15, com valor máximo de 0,10 e mínimo de -0,30, o valor médio de LCDVA é de 0,05, com valor máximo de 0,30 e mínimo de -0,10.

Tabela 4. Média e desvio padrão da acuidade visual de alto e baixo contraste (HCDVA e LCDVA, respectivamente) na escala LogMAR.

	OD	OE	AO
HCDVA	-0,12 ± 0,08	-0,07 ± 0,21	-0,15 ± 0,10
LCDVA	0,12 ± 0,11	0,17 ± 0,18	0,05 ± 0,10

4.2.3 Comprimento Axial

Na Tabela 5 estão representados os valores médios e os desvios padrões do comprimento axial para cada olho em milímetros (mm). O comprimento axial médio para o OD é de 24,22mm, com valor máximo de 25,98mm e mínimo de 22,41mm. Para o OE o valor médio é de 24,24mm, com valor máximo de 26,07mm e mínimo de 22,36mm. Era de esperar valores médios altos porque a maioria dos participantes são míopes.

Tabela 5. Média e desvios padrões do comprimento axial em mm.

	OD	OE
Média ± DP	24,22 ± 1,01	24,24 ± 1,09

4.2.4 Diâmetro pupilar

Na Tabela 6 estão representados os valores médios, respetivos desvios padrões do diâmetro pupilar (Ø) medido nas diferentes condições antes e depois da realização de cada teste ERG.

Tabela 6. Médias, desvios padrões e significância estatística (Test T a associado para cada condição na medição do diâmetro pupilar antes e depois de cada exame (PERG: ERG padrão; ON-OFF ERG; PhNR: Resposta Fotópica Negativa).

	BASELINE			OPACO			TRANSLÚCIDO		
Teste	Ø_Antes ± DP	Ø_Depois ± DP	p	Ø_Antes ± DP	Ø_Depois ± DP	p	Ø_Antes ± DP	Ø_Depois ± DP	p
PERG	5,5±1,2	5,1±1,1	<,001	5,5±0,9	5,0±1,4	<,001	5,3±0,9	5,4±0,9	0,267
ON-OFF ERG	5,4±1,2	5,4±1,2	0,707	5,3±1,1	5,2±1,0	0,038	5,5±1,0	5,5±1,0	0,678
PhNR	5,5±1,1	5,4±1,1	0,053	5,4±1,0	5,0±1,1	<,001	5,4±1,0	5,3±1,0	0,133

O ERG é um teste que depende muito do diâmetro pupilar, e o PERG é o mais sensível. De acordo com a Tabela 6, foram encontradas diferenças significativas no caso do PERG no diâmetro pupilar antes e depois do exame, em todas as condições. Como a pupila antes é maior do que a pupila depois temos uma diferença média positiva, isto é normal acontecer porque no PERG o participante está a olhar para o estímulo durante dois minutos, ou seja, é normal a pupila antes ser maior do que a medida imediatamente depois da realização do exame.

Nos outros dois exames, com exceção da condição opaco, isto não acontece porque como o estímulo é um flash, apenas existe diminuição da pupila no momento da estimulação, depois há uma dilatação da pupila muito mais rápida comparado com o PERG.

4.3 Resposta ERG

Neste subcapítulo reúnem-se os resultados divididos por exame. Para cada um deles expomos os resultados por tempo implícito (ms) e amplitude (μV), apresentando primeiro o gráfico relativo aos valores médios e desvios padrões assinalando aqueles que têm diferenças estatisticamente significativas e em seguida, a tabela das diferenças entre condições que incluem a diferença média, erro padrão e significância estatística.

4.3.1 PERG – ERG padrão:

Na Figura 15 está representado um exemplo de uma das medições da onda PERG no mesmo indivíduo nas três condições. Estão representadas linhas a tracejado em cada uma das componentes da onda para que consigamos fazer uma análise qualitativa dos seus tempos implícitos. Para visualizar melhor o perfil da onda do olho contralateral na condição opaco, a escala foi aumentada, e por essa razão, a onda do olho estimulado nesta condição parece muito maior em relação à das outras duas condições, mas na realidade não é.

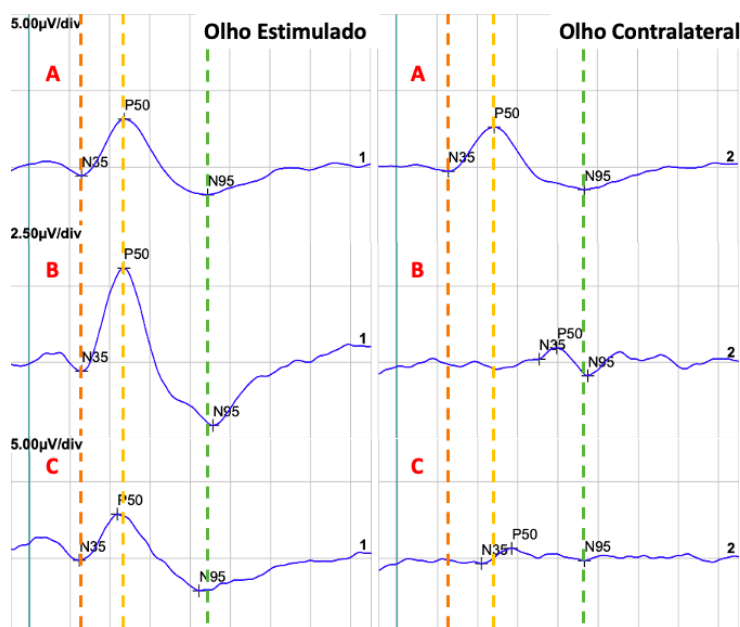


Figura 15. Exemplo de uma das medições da onda PERG no mesmo indivíduo nas três condições (A: Baseline; B: Opaco; C: Translúcido).

4.3.1.1 Tempo implícito

Na Figura 16 está representado graficamente os valores médios e respectivos desvios padrões para cada uma das componentes da onda (N35, P50, N95) no tempo implícito e assinalado aqueles em que o valor foi significativo. A Tabela 7 mostra as diferenças entre as condições e o valor da significância estatística.

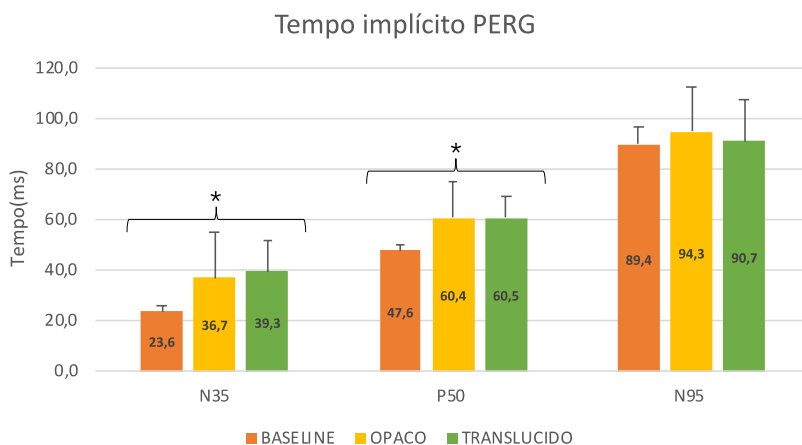


Figura 16. Valores médios e desvios padrões dos componentes N35, P50 e N95 no tempo implícito. (*teste de significância ANOVA).

No caso do tempo implícito, observa-se um aumento do tempo implícito nas componentes N35 e P50 (>12ms) nas condições opaco e translúcido, quando comparado com o valor de baseline. Sendo que esse aumento do tempo é estatisticamente significativo para essas duas componentes da onda PERG (Tabela 7).

No caso da componente da onda N95, não se observaram diferenças significativas quando comparada às diferentes condições. Verificou-se apenas um aumento na condição opaco, porém não é significativo.

Tabela 7. Diferenças médias entre condições, erro padrão e significâncias estatísticas associadas entre os tempos implícitos da onda PERG.

Onda PERG	Condição	Diferença média	Erro Padrão	p
N35 [ms]	Baseline vs Opaco	-12,95*	4,60	0,023
	Baseline vs Translúcido	-16,59*	4,69	0,003
	Opaco vs Translucido	-3,64	4,77	> 0,05
P50 [ms]	Baseline vs Opaco	-13,04*	3,56	0,002
	Baseline vs Translucido	-13,69*	3,63	0,002
	Opaco vs Translucido	-0,66	3,69	> 0,05
N95 [ms]	Baseline vs Opaco	-4,67	5,30	> 0,05
	Baseline vs Translucido	-0,09	5,41	> 0,05
	Opaco vs Translucido	4,57	5,50	> 0,05

4.3.1.2 Amplitude

Na Figura 17 está representado graficamente os valores médios e respectivos desvios padrões para cada uma das componentes da onda (N35-P50, P50-N95) e assinalado aqueles em que o valor foi significativo. A Tabela 8 mostra as diferenças entre as condições e o valor da significância estatística.

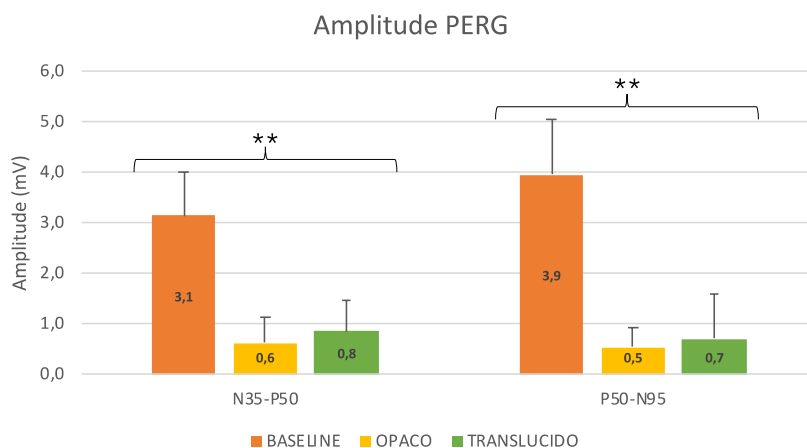


Figura 17. Valores médios e desvios padrões dos componentes N35-P50 e P50-N95. (**teste de significância Kruskal-Wallis).

Como era esperado, houve uma alteração muito significativa no valor da amplitude. Nas duas componentes da onda, N35-P50 e P50-N95, há uma diminuição acentuada do valor da amplitude ($>2 \mu V$) da onda quando comparada com a baseline (Tabela 8). Como o PERG é sensível às alterações de contraste, e na condição translúcido existe uma redução drástica do contraste, faz sentido haver uma redução mesmo que a intensidade da luz seja suficiente para provocar uma resposta.

Tabela 8. Diferenças médias entre condições, erro padrão e significâncias estatísticas associadas entre as amplitudes das componentes da onda PERG.

Onda PERG	Condição	Diferença média	Erro Padrão	p
N35-P50 [μV]	Baseline vs Opaco	2,55*	0,23	<,001
	Baseline vs Translucido	2,41*	0,23	<,001
	Opaco vs Translucido	-0,15	0,23	> 0,05
P50-N95 [μV]	Baseline vs Opaco	3,37*	0,29	<,001
	Baseline vs Translucido	3,35*	0,29	<,001
	Opaco vs Translucido	-0,02	0,29	> 0,05

4.3.2 ON-OFF ERG:

Na Figura 18 está representado um exemplo de uma das medições da onda ON-OFF ERG no mesmo indivíduo nas três condições. Estão representadas linhas a tracejado em cada uma das componentes da onda para que consigamos fazer uma análise qualitativa dos seus tempos implícitos.

Para visualizar melhor o perfil da onda do olho contralateral, na condição opaco, a escala foi aumentada, e por essa razão, a onda do olho estimulado nesta condição parece muito maior em relação às outras duas condições, mas na realidade não é.

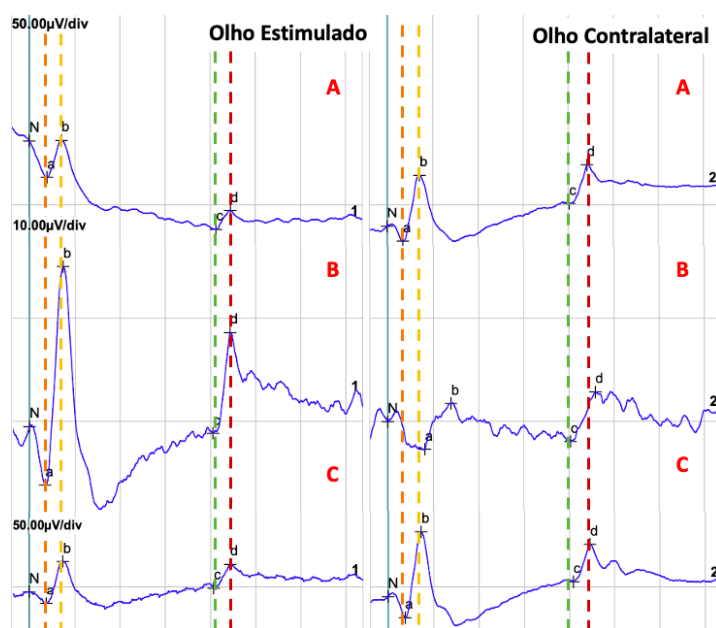


Figura 18. Exemplo de uma das medições da onda ON-OFF ERG no mesmo indivíduo nas três condições (A: Baseline; B: Opaco; C: Translúcido).

4.3.2.1 Tempo implícito

Na Figura 19 está representado graficamente os valores médios e respectivos desvios padrões para cada uma das componentes da onda (-a, -b, -d) no tempo implícito e assinalado aqueles em que o valor foi significativo. A Tabela 9 mostra as diferenças entre as condições e o valor da significância estatística.

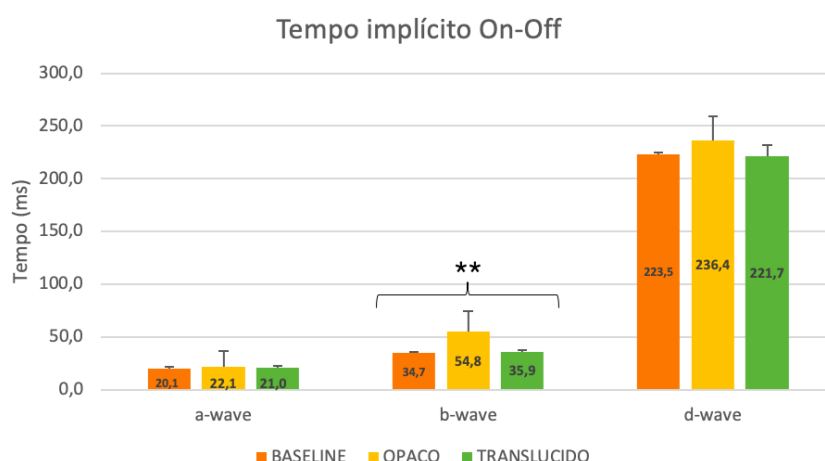


Figura 19. Valores médios e desvios padrões dos componentes da onda -a, -b e -d no tempo implícito. (**teste de significância Kruskal-Wallis).

No caso das componentes da onda -a e -d, não se observou nenhuma tendência, mantendo-se mais ou menos constantes nas três condições.

Com este tipo de estimulação, apenas se encontram diferenças significativas na onda -b, com um ligeiro aumento do tempo implícito ($>18\text{ms}$) na condição opaco comparando com as outras duas condições. Comparando as condições baseline e translúcido, não se verifica nenhuma alteração significativa.

Tabela 9. Diferenças médias entre condições, erro padrão e significâncias estatísticas associadas entre os tempos implícitos da onda ON-OFF ERG.

Onda ERG	Condição	Diferença média	Erro Padrão	p
a [ms]	Baseline vs Opaco	-1,99	2,94	$> 0,05$
	Baseline vs Translucido	-0,90	2,68	$> 0,05$
	Opaco vs Translucido	1,10	2,98	$> 0,05$
b [ms]	Baseline vs Opaco	-20,10*	4,13	$<,001$
	Baseline vs Translucido	-1,21	3,76	$> 0,05$
	Opaco vs Translucido	18,89*	4,19	$<,001$
d [ms]	Baseline vs Opaco	-12,91	5,35	0,063
	Baseline vs Translucido	1,81	4,87	$> 0,05$
	Opaco vs Translucido	14,72	5,43	0,031

4.3.2.2 Amplitude

Na Figura 20 está representado graficamente os valores médios e respetivos desvios padrões para cada uma das componentes (a-wave, b-wave e d-wave) e assinalado aqueles em que o valor foi significativo. A Tabela 10 mostra as diferenças entre as condições e o valor da significância estatística.

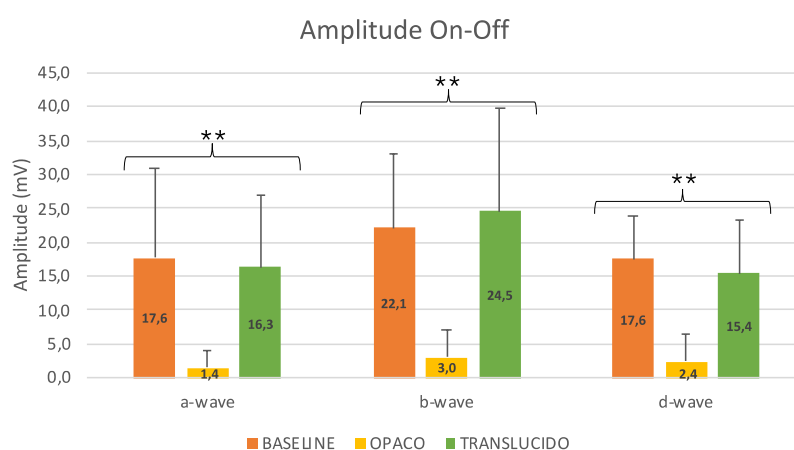


Figura 20. Valores médios e desvios padrões dos componentes a-wave, b-wave e d-wave. (**teste de significância Kruskal-Wallis).

Em todas as ondas verificou-se uma diminuição acentuada da amplitude ($>12\mu\text{V}$) na condição opaco. De modo que, essa diminuição é estatisticamente significativa para todas as ondas.

Comparando a condição baseline com a condição translúcido, há uma diminuição da amplitude, exceto na onda -b, no entanto, nenhuma não é significativa. Quando comparamos a condição baseline com a condição opaco, observou-se um decréscimo acentuado ($>15\mu\text{V}$) da amplitude nas três ondas (Tabela 10).

No caso específico deste parâmetro de estimulação, como o estímulo é do tipo flash, não há alterações de contraste. Assim como esperado, os valores da condição translúcido são ligeiramente menores, porque a intensidade é menor e por consequência a resposta também é menor, quando comparado com a condição baseline, exceto na onda -b, mas muito maiores do que a condição opaco.

Tabela 10. Diferenças médias entre condições, erro padrão e significâncias estatísticas associadas entre as amplitudes da onda ON-OFF ERG.

Onda ERG	Condição	Diferença média	Erro Padrão	p
a-wave$[\mu\text{V}]$	Baseline vs Opaco	16,19*	3,65	$<,001$
	Baseline vs Translucido	1,36	3,65	$> 0,05$
	Opaco vs Translucido	-14,83*	3,65	$<,001$
b-wave$[\mu\text{V}]$	Baseline vs Opaco	19,09*	4,07	$<,001$
	Baseline vs Translucido	-2,38	4,07	$> 0,05$
	Opaco vs Translucido	-21,47*	4,07	$<,001$
d-wave$[\mu\text{V}]$	Baseline vs Opaco	15,13*	2,33	$<,001$
	Baseline vs Translucido	2,15	2,33	$> 0,05$
	Opaco vs Translucido	-12,98*	2,33	$<,001$

4.3.3 ERG PhNR:

Na Figura 21 está representado um exemplo de uma das medições da onda da Resposta Negativa Fotópica (PhNR) no mesmo indivíduo nas três condições. Estão representadas linhas a tracejado em cada uma das componentes da onda para que consigamos fazer uma análise qualitativa dos seus tempos implícitos. Para visualizar melhor o perfil da onda do olho contralateral, na condição opaco, a escala foi aumentada, e por essa razão, a onda do olho estimulado nesta condição parece muito maior em relação às outras duas condições, mas na realidade não é.

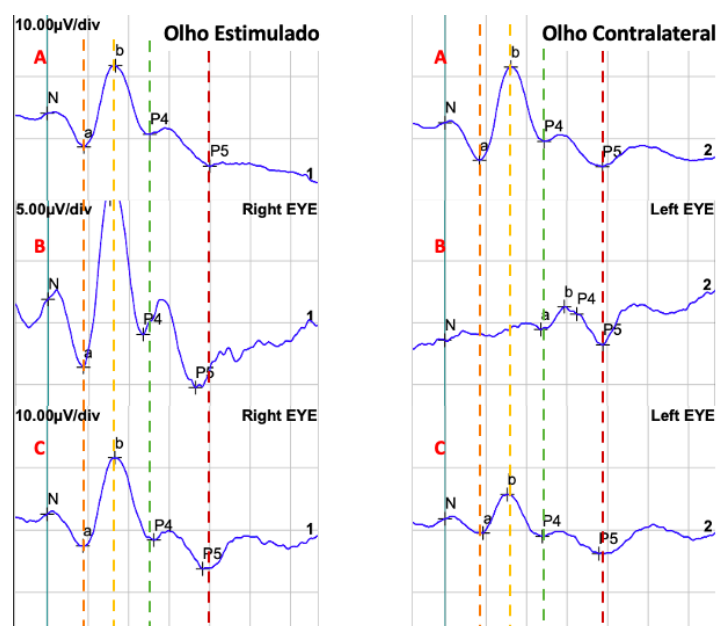


Figura 21. Exemplo de uma das medições da onda da Resposta Fotópica Negativa (PhNR) do ERG adaptado à luz no mesmo indivíduo nas três condições (A: Baseline; B: Opaco; C: Translúcido).

4.3.3.1 Tempo implícito

Na Figura 22 está representado graficamente os valores médios e respectivos desvios padrões para cada uma das componentes (-a, -b, -BT, -PT) no tempo implícito e assinalado aqueles em que o valor foi significativo. A Tabela 11 mostra as diferenças entre as condições e o valor da significância.

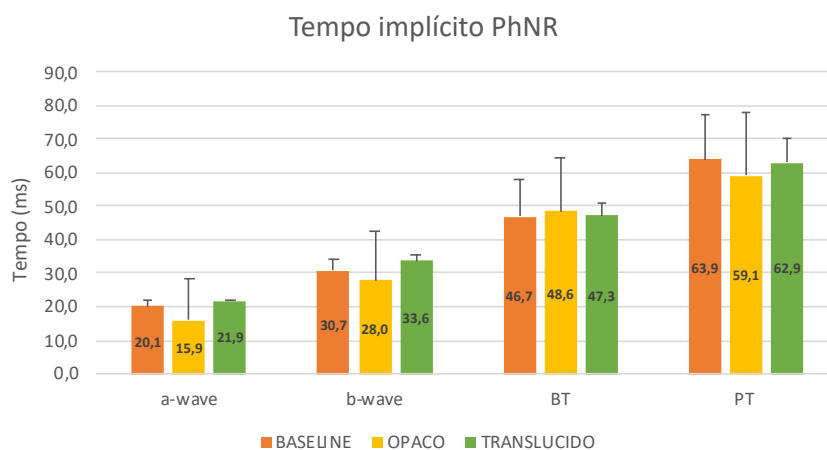


Figura 22. Valores médios e desvios padrões dos componentes -a, -b, -BT e -PT no tempo implícito.

Na condição translúcido, observou-se um ligeiro aumento do tempo implícito ($> 0,5\text{ms}$) em todas as componentes da onda, exceto na componente -PT, quando comparamos com a baseline, contudo não é estatisticamente significativo. Sendo esse aumento mais evidente na componente da onda -b ($> 2,5\text{ms}$).

Na condição opaco, observou-se uma diminuição dos tempos implícitos em todas as componentes da onda quando comparamos com as outras condições, exceto na componente -BT que aumenta (Tabela 11).

Pela análise das ondas, não foi possível encontrar diferenças significativas comparando todas as condições, no entanto, a dificuldade de marcação exata das componentes da onda devido à variabilidade do sinal, pode ser uma justificativa.

Tabela 11. Diferenças médias entre condições, erro padrão e significâncias estatísticas associadas entre os tempos implícitos da onda ERG PhNR.

Onda ERG	Condição	Diferença média	Erro Padrão	p
a [ms]	Baseline vs Opaco	4,27	2,80	0,408
	Baseline vs Translucido	-1,73	2,70	> 0,05
	Opaco vs Translucido	-6,01	2,75	0,107
b [ms]	Baseline vs Opaco	2,69	3,46	> 0,05
	Baseline vs Translucido	-2,92	3,33	> 0,05
	Opaco vs Translucido	-5,61	3,40	0,323
BT [ms]	Baseline vs Opaco	-1,90	4,70	> 0,05
	Baseline vs Translucido	-0,55	4,52	> 0,05
	Opaco vs Translucido	1,35	4,62	> 0,05
PT [ms]	Baseline vs Opaco	4,80	5,66	> 0,05
	Baseline vs Translucido	0,97	5,45	> 0,05
	Opaco vs Translucido	-3,84	5,57	> 0,05

4.3.3.2 Amplitude

Na Figura 23 está representado graficamente os valores médios e respectivos desvios padrões para cada uma das componentes (a-wave, b-wave, -BT e -PT).

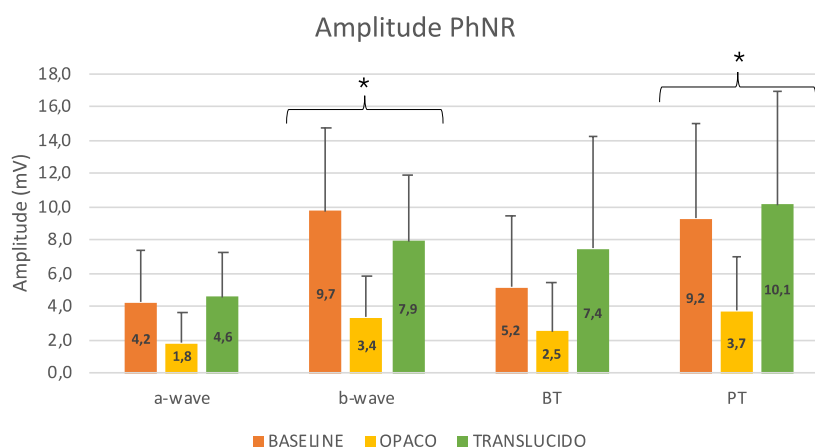


Figura 23. Valores médios e desvios padrões dos componentes a-wave, b-wave, -BT e -PT (*teste de significância ANOVA).

No caso do valor de amplitude das ondas, verificou-se uma diminuição acentuada em todas as ondas ($>2\mu\text{V}$) na condição opaco, quando a comparamos com as outras condições. Esta diminuição é estatisticamente significativa somente nas ondas -b e -PT.

Tal como na técnica ON-OFF ERG, o estímulo é um flash, portanto não há alterações de contraste. Seria de esperar que os valores da condição translúcido fossem ligeiramente menores do que a condição baseline, porque a intensidade é menor. Como isto não se verificou, uma justificação para estes valores serem maiores do que o esperado é a dificuldade de marcação exata dos picos das componentes da onda devido à variabilidade do sinal.

Tabela 12. Diferenças médias entre condições, erro padrão e significâncias estatísticas associadas entre as amplitudes da onda ERG PhNR.

Onda ERG	Condição	Diferença média	Erro Padrão	p
a-wave[μV]	Baseline vs Opaco	2,12	1,02	0,135
	Baseline vs Translucido	-0,36	0,96	$> 0,05$
	Opaco vs Translucido	-2,48	1,02	0,06
b-wave[μV]	Baseline vs Opaco	5,79*	1,55	0,002
	Baseline vs Translucido	1,79	1,46	0,687
	Opaco vs Translucido	-4,00*	1,55	0,041
BT [μV]	Baseline vs Opaco	2,21	1,96	0,794
	Baseline vs Translucido	-2,27	1,85	0,681
	Opaco vs Translucido	-4,48	1,96	0,083
PT [μV]	Baseline vs Opaco	5,54*	1,98	0,023
	Baseline vs Translucido	-0,87	1,98	$> 0,05$
	Opaco vs Translucido	-6,41	1,98	0,007

5. DISCUSSÃO

Neste estudo piloto pretendeu-se avaliar se é possível verificar a atividade das fibras retinopetálicas da retina recorrendo a estratégias de medição da atividade bioelétrica da retina com diferentes protocolos ERG. Para isso medimos a resposta ERG do olho contralateral, em diferentes condições (sem oclusão, com oclusão total e com oclusão parcial com oclusor translúcido), com estimulação do outro olho.

Observamos que, em todas as estratégias de eletrofisiologia utilizadas, ao estimular apenas um dos olhos, conseguimos medir resposta ERG no olho contralateral ocluído. De forma geral, com a oclusão total a amplitude dos diferentes componentes da onda no olho contralateral é significativamente menor e com tempos implícitos maiores comparando com o olho desocluído. Observamos isto nas três técnicas ERG utilizadas que avaliam diferentes estruturas celulares da retina (células ganglionares, celulares bipolares e fotorreceptores).

A existência de axónios eferentes no nervo ótico dos mamíferos tornou-se um tópico de interesse à medida que a inervação eferente da retina começou a ser bastante documentada em alguns animais, como por exemplo em roedores e pássaros, entre outros.⁸⁷

Em 1960, Ogden e Brown^{88,89} registaram pela primeira vez, em macacos, a onda P, que é um potencial intraretiniano, detetada por um microeléctrodo inserido na retina entre a camada plexiforme interna e a membrana de Bruch, e que reflete uma resposta pós-sináptica da retina à estimulação elétrica do nervo ótico. Reportaram que a amplitude máxima da onda P foi localizada na camada plexiforme interna, e as fibras que a iniciaram estavam delimitadas à metade dorsal do trato ótico e ao LGN. Sugeriram que o sinal resulta de um feedback eferente na retina do macaco. Desde a sua descoberta inicial, este potencial foi comprovado em estudos posteriores que mediram as velocidades de condução intraretiniana e os sinais por estimulação direta do LGN.^{90,91} Acredita-se que as fibras eferentes têm um efeito inibitório na retina, mas o seu papel funcional em mamíferos ainda é desconhecido e apenas hipotético. É possível que tal inibição tenha implicações para uma compreensão mais completa dos mecanismos por de trás de vários fenómenos já estabelecidos, como por exemplo a visão binocular, principalmente onde a dependência interocular está implícita.⁴⁹

A fim de testar se o ERG em humanos pode ser influenciado pela existência desta via eferente, foram utilizadas três técnicas ERG que avaliam diferentes percursos celulares da retina.

No presente estudo, e com a técnica PERG, vemos nitidamente que há uma diferença na condição translúcido, onde há uma diminuição acentuada das componentes da onda e, na condição opaco onde se verifica uma diminuição da amplitude e um aumento do tempo implícito da onda (Figura

15). Na condição opaco, o que seria de esperar era uma onda quase invisível, mas, apesar de ser mais difícil de definir as componentes da onda, nota-se de facto uma semelhança na forma entre as componentes da onda (N35, P50, N95) entre esta condição e a baseline apesar de terem amplitudes e tempos implícitos diferentes (Figura 15). Na condição translúcido, nota-se que as componentes da onda (N35, P50, N95) estão muito próximas do valor da baseline em termos de tempo, mas a onda é quase inexistente e com algum atraso. Isto deve-se ao facto de, apesar do oclusor translúcido reduzir $\approx 30\%$ da intensidade, provoca um desfocado muito acentuado e por isso, a amplitude da onda é menor (Figura 15).

Observou-se um aumento do tempo implícito nas componentes N35 e P50 ($>12\text{ms}$ em ambos os picos, $p \leq 0.023$), quando comparamos a baseline com as outras condições (Tabela 7). No entanto, podemos observar que na Figura 16, não se encontram diferenças significativas para a componente N95, devido a uma maior variabilidade dos dados e por conseguinte a componente da onda onde foi mais difícil registar o pico da onda, no entanto, o ideal seria realizar mais investigação com este tipo de estimulação e com um número maior de participantes. Relativamente às alterações da amplitude (Figura 17), como seria de esperar, houve uma alteração significativa nas duas componentes da onda N35-P50 e P50-N95 ($>2\mu\text{V}$, $p < .001$ para ambas), na condição opaco e na condição translúcido quando comparadas com a baseline (Tabela 8). Como o PERG é sensível às alterações de contraste, e na condição translúcido existe uma redução drástica do contraste, mesmo que a intensidade da luz seja suficiente para provocar uma resposta, faz sentido haver uma redução da amplitude da onda.

Um estudo, utilizando a técnica PERG para avaliar as células ganglionares, tentou caracterizar os efeitos que a hipoperfusão transitória na alteração da pressão intraocular. Um aumento transitório da pressão intraocular (PIO) e uma diminuição da PIO no olho de teste induziram alterações vasculares quantificáveis na cabeça do nervo ótico do olho contralateral. Exploraram este fenómeno contralateral analisando a função das células ganglionares em ambos os olhos durante a elevação da PIO e a diminuição da pressão de perfusão ocular (OPP) apenas no olho de teste. A PIO foi alterada através da aplicação de uma ventosa na face temporal da esclera, apenas no OD. Observaram que, a diminuição unilateral da OPP reduziu diferencialmente a resposta PERG no olho de teste e no olho contralateral. A resposta PERG do olho de teste voltou aos valores da amplitude da baseline dois minutos após a remoção da ventosa. Já a do olho contralateral permaneceu abaixo dos valores baseline durante todo o intervalo de recuperação de 8 minutos.⁶⁰

A rápida recuperação no olho teste após a remoção da ventosa pode ser atribuído à súbita normalização de uma elevação aguda da PIO e à redução da OPP. Os autores sugerem que a

persistência da resposta PERG contralateral com valores inferiores ao da baseline, mesmo após a remoção da ventosa do olho de teste, se deve a outros fatores, para além do fluxo sanguíneo, sendo apontado como uma das explicações para estes efeitos contralaterais, a existência de vias de comunicação interoculares neurais ou vasculares diretas.^{60,92} Uma explicação para o fenómeno contralateral aqui relatado é a existência de um mecanismo central de modulação através de fibras retinopetálicas inibitórias. Ou seja, quando o sinal aferente de um olho é reduzido como resultado de um stress fisiológico transitório (diminuição da OPP), podem ser emitidos sinais inibitórios eferentes para o olho contralateral, numa tentativa de manter equilibrados os sinais aferentes bilaterais para o sistema visual central.⁶⁰ No presente estudo, apesar do procedimento experimental ser muito diferente, encontramos alterações da resposta PERG muito semelhantes ao estudo acima descrito. Com a técnica PERG, foi possível registar o sinal no olho contralateral ocluído com a estimulação do outro olho, o que pode sugerir a existência de comunicação entre os dois olhos feita através das fibras retinopetálicas.

Existem alguns estudos que, utilizando a técnica ERG, mostraram a diferença entre ERG's registados em condições monoculares e binoculares, nomeadamente uma alteração no tempo e uma diminuição da amplitude da onda -b do ERG num dos olhos, dependendo da frequência de estimulação *flicker* simultânea do olho contralateral.^{27,28}

No presente estudo, utilizou-se técnica ON-OFF ERG porque permite avaliar diferentes percursos da condução do sinal na retina, nomeadamente o percurso ON e o percurso OFF. As origens celulares das respostas ON e OFF foram elucidadas por estudos farmacológicos experimentais em primatas, cujos ERG's são muito semelhantes aos dos humanos. Estes estudos mostraram que a onda -a da resposta ON tem origem nos cones, com uma contribuição significativa das células bipolares OFF (hiperpolarizantes).⁹³ A onda -b da resposta ON reflete a função das células bipolares ON (despolarizantes), embora a sua amplitude e forma possam ser influenciadas pelas células bipolares OFF e horizontais.⁸⁵ A onda -d é uma resposta complexa; a fase rápida inicial tem origem na atividade das células bipolares OFF, mas os cones contribuem para a fase lenta posterior e as células bipolares ON atuam numa direção de polaridade oposta.^{94,95}

Com a resposta ON-OFF ERG, na Figura 18 vemos, mais uma vez, que comparando todas as condições, onde se verifica uma alteração significativa do perfil da onda é na condição opaco.

Não se observou nenhuma tendência, no caso do tempo implícito das componentes -a e -d, mantiveram-se assim mais ou menos constantes nas três condições (Figura 19). Com este tipo de estimulação, apenas se encontram diferenças significativas na onda -b, com um ligeiro aumento do tempo implícito (>18ms, $p<,001$) na condição opaco comparando com as outras duas condições

(Tabela 9). Em relação à amplitude (Figura 20), observou-se, em todas as componentes da onda, uma diminuição da acentuada ($>12\mu V$, $p<,001$) quando comparamos a condição opaco com as outras duas condições. Ao comparar a condição baseline com a condição opaco, observou-se um decréscimo acentuado ($>15\mu V$, $p<,001$) da amplitude nas três ondas (Tabela 10). Observa-se uma diminuição da amplitude das componentes da onda na condição baseline quando comparada com a condição translúcido, exceto na onda -b, no entanto, nenhuma não é significativa. No caso específico deste parâmetro de estimulação, como o estímulo é do tipo flash, não há alterações de contraste. Tal como esperado, os valores na condição translúcido são ligeiramente menores comparando com a baseline, porque a intensidade é menor, portanto é de esperar uma resposta menor. Por consequente, são muito maiores do que na condição opaco.

Um estudo utilizou métodos eletrofisiológicos e histológicos para investigar a existência de fibras retinopetálicas na retina dos macacos. Foi utilizado o ERG como parâmetro eletrofisiológico antes e depois da secção intracraniana unilateral do nervo ótico. A amplitude da onda -b diminuiu significativamente em ambos os olhos imediatamente após a cirurgia e durante os dois dias seguintes.⁴⁷ A onda -b reflete a função das células bipolares On e no presente estudo, utilizamos a técnica ON-OFF ERG que avalia os percursos celulares das células bipolares On e Off e observou-se um aumento do tempo implícito nesta componente da onda. Neste estudo, com esta técnica ON-OFF ERG observamos que ao estimular um dos olhos, avaliando também o olho contralateral ocluído, foi possível obter um sinal no olho ocluído. Uma das justificações para esta diminuição da onda -b e o registo de sinal ERG no olho contralateral, poderá ser a existência de comunicação entre os dois olhos por ação das fibras retinopetálicas.

Outra das técnicas utilizadas no presente trabalho foi a Resposta Negativa Fotópica, PhNR, que é um componente negativo lento do ffERG que tem demonstrado fornecer informações específicas sobre a camada interna da retina, da atividade das células ganglionares e das vias parvocelulares.⁹⁶

Neste trabalho, na condição translúcido, observou-se uma diminuição acentuada de todos componentes da onda e na condição opaco um atraso na onda (Figura 21). Na condição translúcido, observou-se um ligeiro aumento do tempo implícito ($> 0,5ms$) em todas as componentes da onda, exceto na componente -PT, quando comparamos com a baseline, contudo, não é estatisticamente significativo (Figura 22). Sendo este aumento mais evidente ($> 2,5ms$) na componente da onda -b (Tabela 11). Na condição opaco, observou-se uma diminuição dos tempos implícitos em todas as componentes da onda quando comparamos com as outras condições, exceto na componente -BT que aumenta ($> 1ms$). Pela análise das componentes das ondas, não foi possível encontrar diferenças

significativas comparando todas as condições, no entanto, a dificuldade de marcação exata dos picos das componentes da onda devido à variabilidade do sinal, pode ser uma justificação. No caso do valor de amplitude das ondas (Figura 23), verificou-se uma diminuição acentuada em todas as ondas ($>2\mu\text{V}$) na condição opaco, quando a comparamos com as outras condições (Tabela 12). Esta diminuição é estatisticamente significativa somente nas ondas -b e -PT ($p\leq 0,041$). Tal como na técnica ON-OFF ERG, o estímulo é um flash, logo não há alterações de contraste. Seria de esperar que os valores na condição translúcido fossem ligeiramente menores do que a condição baseline, porque a intensidade é menor. Mais uma vez, a dificuldade de marcação exata dos picos das componentes da onda e a variabilidade do sinal, pode ser uma justificação para estes valores serem maiores do que o esperado.

Existem outros estudos, utilizando outras técnicas ERG para avaliar as fibras retinopéticas, entre as quais a mfERG.^{97,98} A resposta do ERG multifocal é gerada por interações complexas entre os fotorreceptores, as células bipolares (ON e OFF) com uma contribuição mínima das células ganglionares da retina.⁹⁷ Num estudo avaliaram as alterações das respostas mfERG e VEP's, em macacos de espécies diferentes após secção do nervo ótico. Foi detetado um aumento no olho seccionado das componentes N1/P1/N2 da onda mfERG, após a secção do nervo ótico, em comparação com o olho contralateral nas duas espécies. Este aumento uniforme da amplitude do mfERG⁹⁸ indica uma influência para além da simples remoção da entrada das células ganglionares da retina no sinal do mfERG. O aumento da amplitude está de acordo com a remoção de supostas influências inibitórias centrífugas no mfERG. É possível que tais influências sejam geradas por fibras retinopéticas com terminais na camada plexiforme externa, como descrito anteriormente em macacos noutro estudo.⁹⁹

No presente trabalho não foi utilizada a técnica mfERG e não se podem relacionar os resultados com estes estudos anteriores. No entanto a técnica ON-OFF ERG fornece informação de percursos celulares muito semelhantes ao mfERG.

A comunicação interocular também desempenha um papel na visão humana. Há alguns processos e fenómenos fisiológicos que ainda aguardam compreensão detalhada para os quais as fibras retino-retinianas podem oferecer um mecanismo viável. Estes fenómenos incluem interações binoculares na adaptação ao escuro¹⁰⁰, transferência interocular de adaptação ao escuro e ao claro^{101,102}, transferência interocular de efeitos secundários do movimento¹⁰³, supressão interocular e controlo do ganho de contraste¹⁰⁴⁻¹⁰⁸, captura binocular¹⁰⁹, alterações bilaterais do ERG após a elevação monocular da PIO⁶⁰ e manipulação dos olhos.⁶¹ Além disso, foi demonstrada a dependência interocular para efeitos de alterações unilaterais induzidas por pressão intraocular aguda^{60,110} e depressão escleral unilateral⁶¹

sobre o electroretinograma em ambos os olhos. Uma melhor compreensão destes fenómenos iria também além dos mecanismos fisiológicos e poderia revelar um papel potencial em várias condições clínicas (por exemplo, neuropatia ótica traumática e ambliopia).⁴⁹

Em resumo, os resultados deste estudo sugerem que o electroretinograma pode ser sensível para detetar a atividade das fibras eferentes nas diferentes estruturas celulares da retina. Embora a onda não tenha exatamente as mesmas características, tem semelhanças nos momentos em que os componentes da onda aparecem no olho estimulado que também aparecem no olho ocluído contralateral, o que pode sugerir que estas semelhanças podem ser uma resposta olho-cérebro-olho contralateral. Apesar das limitações, nomeadamente o controlo total da intensidade do estímulo, são necessárias mais investigações para confirmar a existência de algumas fibras no nervo ótico que conduzem informação *top-down* (do cérebro para o olho), que pode influenciar a atividade bioelétrica da retina.

6. CONCLUSÕES

Considerando os resultados obtidos no presente estudo, é possível concluir que:

- Foi possível obter resposta ERG do olho contralateral ocluído com estimulação do outro olho;
- No olho ocluído (sem estimulação) é possível observar uma onda com as mesmas características da onda do olho estimulado;
- A onda observada no olho contralateral apresenta uma diminuição significativa de amplitude, e aumento do tempo implícito em todas as técnicas ERG;
- O PERG é mais sensível ao desfocado, no entanto, com a oclusão total é possível verificar a existência da onda P50 no olho ocluído, que corresponde à função das células ganglionares.
- Com a técnica ON-OFF ERG observa-se também atividade da onda -b que corresponde às células bipolares ON e também onda -d que corresponde à atividade das células bipolares OFF, o que permite diferenciar diferentes percursos da resposta de camadas mais internas da retina;
- A PhNR apesar de dar informação sobre as células ganglionares e percurso Parvocelular, é uma técnica mais sensível e onde é possível verificar mais variabilidade na resposta.

7. TRABALHO FUTURO

- Utilizar outras técnicas de estimulação com estímulos de diferentes intensidades para perceber a influência da intensidade do estímulo para obtenção de uma resposta;
- Realizar a estimulação do ERG com o participante sob influência da adaptação ao escuro para explorar os caminhos visuais associados aos bastonetes;
- Avaliar o efeito do contraste na atividade destas células, por exemplo utilizando PERG;
- Verificar a possível extensão das fibras retinopetálicas na retina, utilizando técnicas de eletrofisiologia multifocal;
- Avaliar a resposta cortical, utilizando a técnica de estimulação VEP, e perceber se as fibras retinopetálicas têm influência na resposta do córtex visual;
- Verificar a influência da dominância ocular na obtenção de resposta contralateral;
- Verificar o efeito da via eferente no aparecimento e progressão do erro refrativo. A existência do sistema eferente pode ser importante, por exemplo, na questão do aparecimento e controle da miopia. Pode ajudar a justificar, por exemplo, porque é que em alguns casos a miopia não aumenta igualmente nos dois olhos ou então porque é que aumenta num olho e no outro não, ou ainda trazer novo conhecimento sobre a influência e eficácia de alguns tratamentos atuais. Algumas suposições são, por exemplo, avaliar o efeito do desfocado central e periférico, uma vez que, no desfocado periférico podemos ativar outro tipo de fibras que não centrais, ou avaliar a relação com o efeito da luz, visto que pode ser possível, ou não, estimular mais a via eferente, entre outras.

8. BIBLIOGRAFIA

1. Kolb H. Much of the construction of an image takes place in the retina itself through the use of specialized neural circuits. Published online 2003.
2. The structure of human retina. | Download Scientific Diagram. ResearchGate. Accessed October 9, 2023. https://www.researchgate.net/figure/The-structure-of-human-retina_fig2_364459349
3. Dacheux RF. Chapter 1 Morphology and physiology of the retina. In: *Handbook of Clinical Neurophysiology*. Vol 5. Elsevier; 2005:3-43. doi:10.1016/S1567-4231(09)70198-4
4. Dacey DM, Lee BB, Stafford DK, Pokorny J, Smith VC. Horizontal Cells of the Primate Retina: Cone Specificity Without Spectral Opponency. *Science*. 1996;271(5249):656-659. doi:10.1126/science.271.5249.656
5. Ganglion Cell Physiology by Ralph Nelson – Webvision. Accessed September 26, 2023. <https://webvision.med.utah.edu/book/part-ii-anatomy-and-physiology-of-the-retina/ganglion-cell-physiology/>
6. Frishman LJ. Basic Visual Processes. In: *Blackwell Handbook of Sensation and Perception*. John Wiley & Sons, Ltd; :53-91. doi:10.1002/9780470753477.ch3
7. Perry VH, Oehler R, Cowey A. Retinal ganglion cells that project to the dorsal lateral geniculate nucleus in the macaque monkey. *Neuroscience*. 1984;12(4):1101-1123. doi:10.1016/0306-4522(84)90006-X
8. Tovee MJ. *An Introduction to the Visual System*. Cambridge University Press; 1996. Accessed October 19, 2023. <https://eprints.lincoln.ac.uk/id/eprint/28068/>
9. Krauskopf J, Williams DR, Heeley DW. Cardinal directions of color space. *Vision Research*. 1982;22(9):1123-1131. doi:10.1016/0042-6989(82)90077-3
10. Hendry SHC, Calkins DJ. Neuronal chemistry and functional organization in the primate visual system. *Trends in Neurosciences*. 1998;21(8):344-349. doi:10.1016/S0166-2236(98)01245-4
11. Hendry SH, Reid RC. The koniocellular pathway in primate vision. *Annu Rev Neurosci*.

2000;23:127-153. doi:10.1146/annurev.neuro.23.1.127

12. Michael CR. Retinal afferent arborization patterns, dendritic field orientations, and the segregation of function in the lateral geniculate nucleus of the monkey. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 1988;85(13):4914-4918.
13. Celesia GG. Chapter 2 Anatomy and physiology of the visual pathways and cortex. In: *Handbook of Clinical Neurophysiology*. Vol 5. Elsevier; 2005:45-63. doi:10.1016/S1567-4231(09)70199-6
14. Repérant J, Ward R, Miceli D, et al. The centrifugal visual system of vertebrates: A comparative analysis of its functional anatomical organization. *Brain Research Reviews*. 2006;52(1):1-57. doi:10.1016/j.brainresrev.2005.11.008
15. Gutiérrez-Ibáñez C, Iwaniuk AN, Lisney TJ, Faunes M, Marin GJ, Wylie DR. Functional Implications of Species Differences in the Size and Morphology of the Isthmo Optic Nucleus (ION) in Birds. *PLOS ONE*. 2012;7(5):e37816. doi:10.1371/journal.pone.0037816
16. Honrubia FM, Elliott JH. Efferent innervation of the retina. I. Morphologic study of the human retina. *Arch Ophthalmol*. 1968;80(1):98-103. doi:10.1001/archopht.1968.00980050100017
17. Gastinger MJ, Tian N, Horvath T, Marshak DW. Retinopetal Axons in Mammals: Emphasis on Histamine and Serotonin. *Current Eye Research*. 2006;31(7-8):655. doi:10.1080/02713680600776119
18. Labandeira-Garcia JL, Guerra-Seijas MJ, Gonzalez F, Perez R, Acuña C. Location of neurons projecting to the retina in mammals. *Neurosci Res*. 1990;8(4):291-302. doi:10.1016/0168-0102(90)90035-d
19. Terubayashi H, Fujisawa H, Itoi M, Ibata Y. Hypothalamo-retinal centrifugal projection in the dog. *Neuroscience Letters*. 1983;40(1):1-6. doi:10.1016/0304-3940(83)90082-4
20. Gastinger MJ, Barber AJ, Khin SA, McRill CS, Gardner TW, Marshak DW. Abnormal Centrifugal Axons in Streptozotocin- Diabetic Rat Retinas. *Investigative Ophthalmology & Visual Science*. 2001;42(11):2679-2685.
21. Honrubia FM, Elliott JH. Efferent innervation of the retina. II. Morphologic study of the monkey retina. *Invest Ophthalmol*. 1970;9(12):971-976.

22. Schütte M. Centrifugal innervation of the rat retina. *Visual Neuroscience*. 1995;12(6):1083-1092. doi:10.1017/S0952523800006738
23. Usai C, Ratto GM, Bisti S. Two systems of branching axons in monkey's retina. *Journal of Comparative Neurology*. 1991;308(2):149-161. doi:10.1002/cne.903080202
24. Dodt E. Centrifugal impulses in rabbit's retina. *Journal of Neurophysiology*. 1956;19(4):301-307. doi:10.1152/jn.1956.19.4.301
25. Granit R. Centrifugal and antidromic effects on ganglion cells of retina. *Journal of Neurophysiology*. 1955;18(4):388-411. doi:10.1152/jn.1955.18.4.388
26. Auerbach E, Feinsod M. Centrifugal effects on the cat electroretinogram after section of one optic nerve. *Doc Ophthalmol*. 1973;34(1):47-55. doi:10.1007/BF00151795
27. Motokawa K, Nakagawa D, Kohata T. Electrophysiological studies of binocular stereoscopic vision. *Journal of Comparative and Physiological Psychology*. 1956;49:398-403. doi:10.1037/h0088036
28. Hellner KA. Efferent inhibition of single ERG-responses by flicker-stimulation of the contralateral eye in man. *Doc Ophthalmol*. 1964;18(1):431-439. doi:10.1007/BF00160594
29. JACOBSON JH, SUZUKI TA. Effects of Optic Nerve Section on the ERG. *Archives of Ophthalmology*. 1962;67(6):791-801. doi:10.1001/archopht.1962.00960020791015
30. Polyak SL. *The Retina: The Anatomy and the Histology of the Retina in Man, Ape, and Monkey, Including the Consideration of Visual Functions, the History of Physiological Optics, and the Histological Laboratory Technique*. Chicago; 1941.
31. Noback CR, Mettler F. Centrifugal Fibers to the Retina in the Rhesus Monkey. *Brain Behavior and Evolution*. 2008;7(5):382-399. doi:10.1159/000124424
32. Brooke RNL, Downer J de C, Powell TPS. Centrifugal Fibres to the Retina in the Monkey and Cat. *Nature*. 1965;207(5004):1365-1367. doi:10.1038/2071365a0
33. Gastinger MJ, O'Brien JJ, Larsen NB, Marshak DW. Histamine immunoreactive axons in the macaque retina. *Investigative Ophthalmology & Visual Science*. 1999;40(2):487-495.

34. Gastinger MJ, Bordt AS, Bernal MP, Marshak DW. Serotonergic Retinopetal Axons in the Monkey Retina. *Current Eye Research*. 2005;30(12):1089-1095. doi:10.1080/02713680500371532
35. Yu YC, Satoh H, Wu SM, Marshak DW. Histamine Enhances Voltage-Gated Potassium Currents of ON Bipolar Cells in Macaque Retina. *Investigative Ophthalmology & Visual Science*. 2009;50(2):959-965. doi:10.1167/iovs.08-2746
36. Vila A, Satoh H, Rangel C, et al. Histamine receptors of cones and horizontal cells in Old World monkey retinas. *Journal of Comparative Neurology*. 2012;520(3):528-543. doi:10.1002/cne.22731
37. Sharif NA, Senchyna M. Serotonin receptor subtype mRNA expression in human ocular tissues, determined by RT-PCR. *Mol Vis*. 2006;12:1040-1047.
38. Molotchnikoff S, Lachapelle P, Casanova C. Optic nerve blockade influences the retinal responses to flash in rabbits. *Vision Research*. 1989;29(8):957-963. doi:10.1016/0042-6989(89)90110-7
39. Borg E, Knave B. Long-Term Changes in the ERG Following Transection of the Optic Nerve in the Rabbit. *Acta Physiologica Scandinavica*. 1971;82(2):277-281. doi:10.1111/j.1748-1716.1971.tb04968.x
40. Galambos R, Juhász G, Kékesi AK, Nyitrai G, Szilágyi N. Natural sleep modifies the rat electroretinogram. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 1994;91(11):5153-5157. doi:10.1073/pnas.91.11.5153
41. Molotchnikoff S, Tremblay F. Influence of the visual cortex on responses of retinal ganglion cells in the rat. *Journal of Neuroscience Research*. 1983;10(4):397-409. doi:10.1002/jnr.490100407
42. JACOBSON JH, GESTRING GF. Centrifugal Influence upon the Electroretinogram. *AMA Archives of Ophthalmology*. 1958;60(2):295-302. doi:10.1001/archophth.1958.00940080311018
43. Haft JS, Harman(dec.) PJ. Evidence for central inhibition of retinal function. *Vision Research*. 1967;7(5):499-501. doi:10.1016/0042-6989(67)90057-0
44. Haft JS. Further remarks on evidence for central inhibition of retinal function. *Vision Research*. 1968;8(3):319-323. doi:10.1016/0042-6989(68)90020-5

45. Abe N. Effect of Section and Compression of the Optic Nerve on the ERG in the Rabbit. *The Tohoku Journal of Experimental Medicine*. 1962;78(3):223-227. doi:10.1620/tjem.78.223
46. Mirsky AF, Bloch S, Tecce JJ, Lessell S, Marcus E. Visual evoked potentials during experimentally induced spike-wave activity in monkeys. *Electroencephalography and Clinical Neurophysiology*. 1973;35(1):25-37. doi:10.1016/0013-4694(73)90128-4
47. Khosla PK, Saini JS, Gahlot DK, Ratnakar KS. Effect of optic nerve sectioning on E.R.M. *Indian Journal of Ophthalmology*. 1981;29(3):263.
48. Maffei L, Fiorentini A, Bisti S, Holländer H. Pattern ERG in the monkey after section of the optic nerve. *Exp Brain Res*. 1985;59(2):423-425. doi:10.1007/BF00230925
49. Ortiz G, Odom JV, Passaglia CL, Tzekov RT. Efferent influences on the bioelectrical activity of the retina in primates. *Doc Ophthalmol*. 2017;134(1):57-73. doi:10.1007/s10633-016-9567-5
50. Knöferle J, Koch JC, Ostendorf T, et al. Mechanisms of acute axonal degeneration in the optic nerve in vivo. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 2010;107(13):6064-6069. doi:10.1073/pnas.0909794107
51. Wolter JR. The centrifugal nerves in the human optic tract, chiasm, optic nerve, and retina. *Trans Am Ophthalmol Soc*. 1965;63:678-707.
52. VENTURA J, MATHIEU M. Silver Impregnation of Whole Retinas. *Archives of Ophthalmology*. 1960;64(4):528-535. doi:10.1001/archopht.1960.01840010530008
53. Steindler P, Cardin P, Perrone S. The electric consensual response of the non-stimulated eye in normal subjects and patients with optic atrophy. *Albrecht von Graefes Arch Klin Ophthalmol*. 1981;216(2):121-127. doi:10.1007/BF00414579
54. Wirth A. [Note on the mechanism of inter-retinal reflexes]. *Boll Ocul*. 1951;30(8):499-504.
55. Uchermann A. The Electroretinogram on Binocular and Monocular Light Stimulation. *Acta Ophthalmologica*. 1955;33(5):517-522. doi:10.1111/j.1755-3768.1955.tb03326.x
56. Bagolini B. [The electroretinogram during monocular and binocular stimulations]. *Boll Ocul*. 1959;38:605-615.

57. Marg E, Colonel L. THE EFFECT OF STIMULUS SIZE AND RETINAL ILLUMINANCE ON THE HUMAN ELECTRORETINOGRAM*. *Optometry and Vision Science*. 1953;30(8):417.
58. Tang X, Tzekov R, Passaglia CL. Retinal cross talk in the mammalian visual system. *J Neurophysiol*. 2016;115(6):3018-3029. doi:10.1152/jn.01137.2015
59. Nikitopoulou-Maratou G, Vassiliou GA, Kepetzi M, Molyvdas PA. ERG alterations induced by sound. *Neurochemistry International*. 1980;1:355-365. doi:10.1016/0197-0186(80)90072-8
60. Lovasik JV, Kergoat H, Gagnon M. Experimentally Reduced Perfusion of One Eye Impairs Retinal Function in Both Eyes. *Optometry and Vision Science*. 2005;82(9):850. doi:10.1097/01.opx.0000177810.58122.57
61. Francis JH, Abramson DH, Marr BP, Brodie SE. Ocular manipulation reduces both ipsilateral and contralateral electroretinograms. *Doc Ophthalmol*. 2013;127(2):113-122. doi:10.1007/s10633-013-9391-0
62. Lindsley DB. Attention, consciousness, sleep, and wakefulness. Published 1960. Accessed September 1, 2023. <https://philpapers.org/rec/LINACS>
63. Modification of Electric Activity in Cochlear Nucleus during “Attention” in Unanesthetized Cats | Science. Accessed September 1, 2023. <https://www.science.org/doi/10.1126/science.123.3191.331>
64. Spinelli DN, Weingarten M. Afferent and efferent activity in single units of the cat’s optic nerve. *Experimental Neurology*. 1966;15(3):347-362. doi:10.1016/0014-4886(66)90057-4
65. Van Hasselt P. The Centrifugal Control of Retinal Function: A Review. *Ophthalmic Research*. 2009;4(5):298-320. doi:10.1159/000265997
66. Luck SJ, Woodman GF, Vogel EK. Event-related potential studies of attention. *Trends in Cognitive Sciences*. 2000;4(11):432-440. doi:10.1016/S1364-6613(00)01545-X
67. G K. The basis of clinical electroretinography. *Acta Ophthalmol*. 1945;(0):1-118.
68. SUZUKI TA. ERG of Congenital Totally Color-Weak Eye Accompanied by Lesion of Optic Nerve. *AMA Archives of Ophthalmology*. 1959;62(3):386-395. doi:10.1001/archopht.1959.04220030042007
69. Dawson WW, Maida TM, Rubin ML. Human pattern-evoked retinal responses are altered by

optic atrophy. *Investigative Ophthalmology & Visual Science*. 1982;22(6):796-803.

70. Feinsod M, Auerbach E. Electrophysiological Examinations of the Visual System in the Acute Phase after Head Injury. *European Neurology*. 2008;9(1):56-64. doi:10.1159/000114201

71. Gills JP. The Electroretinogram after Section of the Optic Nerve in Man. *American Journal of Ophthalmology*. 1966;62(2):287-291. doi:10.1016/0002-9394(66)91487-5

72. Hillman JS, Myska V, Nissim S. Complete avulsion of the optic nerve. A clinical, angiographic, and electrodiagnostic study. *British Journal of Ophthalmology*. 1975;59(9):503-509. doi:10.1136/bjo.59.9.503

73. Müller W, Schmöger E. Postoperative Electrophysiological Findings in Patients with Pituitary Adenoma. In: Spekrijse H, Apkarian PA, eds. *Visual Pathways: Electrophysiology and Pathology*. Documenta Ophthalmologica Proceedings Series. Springer Netherlands; 1981:203-211. doi:10.1007/978-94-009-8656-5_21

74. Frishman LJ. Electroretinography☆. In: *Reference Module in Neuroscience and Biobehavioral Psychology*. Elsevier; 2017. doi:10.1016/B978-0-12-809324-5.02454-8

75. Kolb H, Fernandez E, Nelson R, eds. *Webvision: The Organization of the Retina and Visual System*. University of Utah Health Sciences Center; 1995. Accessed March 27, 2023. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK11530/>

76. Robson AG, Nilsson J, Li S, et al. ISCEV guide to visual electrodiagnostic procedures. *Doc Ophthalmol*. 2018;136(1):1-26. doi:10.1007/s10633-017-9621-y

77. Thibos LN, Horner D. Power vector analysis of the optical outcome of refractive surgery. *Journal of Cataract & Refractive Surgery*. 2001;27(1):80. doi:10.1016/S0886-3350(00)00797-5

78. Bach M, Brigell MG, Hawlina M, et al. ISCEV standard for clinical pattern electroretinography (PERG): 2012 update. *Doc Ophthalmol*. 2013;126(1):1-7. doi:10.1007/s10633-012-9353-y

79. Frishman L, Sustar M, Kremers J, et al. ISCEV extended protocol for the photopic negative response (PhNR) of the full-field electroretinogram. *Doc Ophthalmol*. 2018;136(3):207-211. doi:10.1007/s10633-018-9638-x

80. Sustar M, Holder GE, Kremers J, et al. ISCEV extended protocol for the photopic On–Off ERG. *Doc Ophthalmol*. 2018;136(3):199-206. doi:10.1007/s10633-018-9645-y
81. Hull BM, Thompson DA. A review of the clinical applications of the pattern electroretinogram. *Ophthalmic and Physiological Optics*. 1989;9(2):143-152. doi:10.1111/j.1475-1313.1989.tb00834.x
82. Amorim-de-Sousa A, Fernandes P, López-Gil N, Queirós A, González-Méijome JM. Assessment of the Human Retinal Neural Selectivity to Square Gratings' Orientation with the Multifocal and Pattern Electroretinograms. *Photonics*. 2023;10(5):526. doi:10.3390/photonics10050526
83. Alexander KR, Fishman GA, Peachey NS, Marchese AL, Tso MO. “On” response defect in paraneoplastic night blindness with cutaneous malignant melanoma. *Investigative Ophthalmology & Visual Science*. 1992;33(3):477-483.
84. Miyake Y, Yagasaki K, Horiguchi M, Kawase Y. On- and off-responses in photopic electroretinogram in complete and incomplete types of congenital stationary night blindness. *Jpn J Ophthalmol*. 1987;31(1):81-87.
85. Sieving PA, Murayama K, Naarendorp F. Push–pull model of the primate photopic electroretinogram: A role for hyperpolarizing neurons in shaping the b-wave. *Visual Neuroscience*. 1994;11(3):519-532. doi:10.1017/S0952523800002431
86. Viswanathan S, Frishman LJ, Robson JG, Harwerth RS, Smith EL 3rd. The photopic negative response of the macaque electroretinogram: reduction by experimental glaucoma. *Investigative Ophthalmology & Visual Science*. 1999;40(6):1124-1136.
87. Miceli D, Repérant J, Bertrand C, Rio JP. Functional anatomy of the avian centrifugal visual system. *Behavioural Brain Research*. 1999;98(2):203-210. doi:10.1016/S0166-4328(98)00085-0
88. Ogden TE, Brown KT. Intraretinal responses of the cynomolgus monkey to electrical stimulation of the optic nerve and retina. *Journal of Neurophysiology*. 1964;27(4):682-705. doi:10.1152/jn.1964.27.4.682
89. Ogden TE. Intraretinal slow potentials evoked by brain stimulation in the primate. *Journal of Neurophysiology*. 1966;29(5):898-908. doi:10.1152/jn.1966.29.5.898
90. Fukuda Y, Watanabe M, Wakakuwa K, Sawai H, Morigiwa K. Intraretinal axons of ganglion cells

in the Japanese monkey (*Macaca fuscata*): conduction velocity and diameter distribution. *Neuroscience Research*. 1988;6(1):53-71. doi:10.1016/0168-0102(88)90006-5

91. Fukuda Y, Sawai H, Watanabe M, Wakakuwa K, Morigiwa K. Nasotemporal overlap of crossed and uncrossed retinal ganglion cell projections in the Japanese monkey (*Macaca fuscata*). *J Neurosci*. 1989;9(7):2353-2373. doi:10.1523/JNEUROSCI.09-07-02353.1989

92. Repérant J, Miceli D, Vesselkin NP, Molotchnikoff S. The Centrifugal Visual System of Vertebrates: A Century-Old Search Reviewed. In: Bourne GH, Jeon KW, Friedlander M, eds. *International Review of Cytology*. Vol 118. Academic Press; 1989:115-171. doi:10.1016/S0074-7696(08)60874-8

93. Bush RA, Sieving PA. A proximal retinal component in the primate photopic ERG a-wave. *Investigative Ophthalmology & Visual Science*. 1994;35(2):635-645.

94. Khan NW, Kondo M, Hiriyantha KT, Jamison JA, Bush RA, Sieving PA. Primate Retinal Signaling Pathways: Suppressing on-Pathway Activity in Monkey With Glutamate Analogues Mimics Human CSNB1-NYX Genetic Night Blindness. *Journal of Neurophysiology*. 2005;93(1):481-492. doi:10.1152/jn.00365.2004

95. Ueno S, Kondo M, Ueno M, Miyata K, Terasaki H, Miyake Y. Contribution of retinal neurons to d-wave of primate photopic electroretinograms. *Vision Research*. 2006;46(5):658-664. doi:10.1016/j.visres.2005.05.026

96. Prencipe M, Perossini T, Brancoli G, Perossini M. The photopic negative response (PhNR): measurement approaches and utility in glaucoma. *Int Ophthalmol*. 2020;40(12):3565-3576. doi:10.1007/s10792-020-01515-0

97. Hood DC, Frishman LJ, Saszik S, Viswanathan S. Retinal Origins of the Primate Multifocal ERG: Implications for the Human Response. *Investigative Ophthalmology & Visual Science*. 2002;43(5):1673-1685.

98. Maertz NA, Kim CBY, Nork TM, et al. Multifocal Visual Evoked Potentials in the Anesthetized Non-human Primate. *Current Eye Research*. 2006;31(10):885-893. doi:10.1080/02713680600899648

99. Gastinger MJ, Barber AJ, Vardi N, Marshak DW. Histamine receptors in mammalian retinas.

Journal of Comparative Neurology. 2006;495(6):658-667. doi:10.1002/cne.20902

100. Makous W, Teller D, Boothe R. Binocular interaction in the dark. *Vision Research*. 1976;16(5):473-476. doi:10.1016/0042-6989(76)90024-9

101. Auerbach E, Dörrenhaus A, Cavonius CR. Changes in sensitivity of the dark-adapted eye during concurrent light adaptation of the other eye. *Visual Neuroscience*. 1992;8(4):359-363. doi:10.1017/S0952523800005095

102. Auerbach E, Peachey NS. Interocular transfer and dark adaptation to long-wave test lights. *Vision Research*. 1984;24(9):1043-1048. doi:10.1016/0042-6989(84)90081-6

103. Wade NJ, Swanston MT, de Weert CMM. On Interocular Transfer of Motion Aftereffects. *Perception*. 1993;22(11):1365-1380. doi:10.1068/p221365

104. Baker DH, Meese TS, Georgeson MA. Binocular interaction: contrast matching and contrast discrimination are predicted by the same model. *Spat Vis*. 2007;20(5):397-413. doi:10.1163/156856807781503622

105. Baker DH, Meese TS, Summers RJ. Psychophysical evidence for two routes to suppression before binocular summation of signals in human vision. *Neuroscience*. 2007;146(1):435-448. doi:10.1016/j.neuroscience.2007.01.030

106. Baker DH, Meese TS. Binocular contrast interactions: Dichoptic masking is not a single process. *Vision Research*. 2007;47(24):3096-3107. doi:10.1016/j.visres.2007.08.013

107. Denny N, Frumkes TE, Barris MC, Eysteinsson T. Tonic interocular suppression and binocular summation in human vision. *The Journal of Physiology*. 1991;437(1):449-460. doi:10.1113/jphysiol.1991.sp018605

108. Eysteinsson T, Barris MC, Denny N, Frumkes TE. Tonic interocular suppression, binocular summation, and the visual evoked potential. *Investigative Ophthalmology & Visual Science*. 1993;34(8):2443-2448.

109. Raghunandan A. Binocular capture: The effects of spatial frequency and contrast polarity of the monocular target. *Vision Research*. 2011;51(23):2369-2377. doi:10.1016/j.visres.2011.09.011

110. Kergoat H, Lovastk JV. Unilateral ocular vascular stress in man and retinal responsivity in the contralateral eye. *Ophthalmic and Physiological Optics*. 1994;14(4):401-407. doi:10.1111/j.1475-1313.1994.tb00132.x

9. ANEXOS

9.1 Consentimento Informado

A cada participante foi apresentado o consentimento informado para o presente estudo.

CONSENTIMENTO INFORMADO, LIVRE E ESCLARECIDO PARA PARTICIPAÇÃO EM INVESTIGAÇÃO

de acordo com a Declaração de Helsínquia¹ e a Convenção de Oviedo²

Por favor, leia com atenção a seguinte informação. O presente documento visa informá-lo acerca dos objetivos, métodos e potenciais riscos inerentes ao estudo para o qual se está a voluntariar. Se achar que algo está incorreto ou que não está claro, não hesite em solicitar mais informações. Se concorda com a proposta que lhe foi feita, queira assinar este documento.

O presente documento e os procedimentos a que diz respeito, respeitam a “Declaração de Helsínquia” da Associação Médica Mundial (Helsínquia 1964; Tóquio 1975; Veneza 1983; Hong Kong 1989; Somerset West 1996 e Edimburgo 2000, Seul 2008).

Título do estudo:

- “Efeito feedback na atividade bioelétrica da retina”

Enquadramento:

O conhecimento presente do sistema e função visual sugerem que, em algumas espécies de animais e mesmo no caso dos seres humanos, existem fibras nervosas na retina que conduzem informações do cérebro para o olho, podendo desta forma influenciar a atividade bioelétrica da retina. No entanto, a existência e a função de um sistema eferente em seres humanos não está completamente identificada.

O objetivo deste estudo consiste em estudar este mecanismo de feedback avaliando a resposta eletrofisiológica da retina no olho contralateral ao olho sujeito a diferentes protocolos de estimulação ERG de forma a identificar se essa alteração da resposta ERG se a) uma influência da atividade da retina contralateral; b) ou a resposta procedente do córtex visual que influencia a retina contralateral; c) ou uma conjugação desses dois fatores.

Local: Os estudos serão realizados no âmbito de uma tese de Mestrado de Optometria Avançada, em desenvolvimento no Laboratório de Investigação em Optometria Clínica e Experimental do Centro de Física da Universidade do Minho, Campus de Gualtar, 4710-057, Braga, sob a orientação do Professor Doutor Paulo Rodrigues Botelho Fernandes.

Recolha de dados: Cada voluntário que aceite participar no estudo será convidado a fazer duas visitas para a obtenção valores gerais das funções visuais e para o registo das medidas eletrofisiológicas da retina.

Riscos do estudo: Todo o procedimento tem a duração média de 1 hora e todos os exames são completamente indolores e não invasivos, pelo que não está previsto nenhum malefício inerente aos exames realizados.

Caráter voluntário: A participação neste estudo é de carácter voluntário. Após a leitura desta ficha informativa, terá tempo para ponderar se quer participar neste estudo. Se concordar em participar, receberá uma cópia desta ficha informativa. Será também solicitado que assine o Formulário de Consentimento anexo após ter tido a oportunidade de ler todas as instruções e informações fornecidas, e depois de receber respostas satisfatórias para quaisquer dúvidas que possa ter. Tem o direito a retirar-se do estudo a qualquer momento, sem qualquer penalização, bastando para tal que informe o investigador do estudo.

¹ http://portal.arsnorte.min-saude.pt/portal/page/portal/ARSNorte/Comiss%C3%A3o%20de%20C3%89tica/Ficheiros/Declaracao_Helsinquia_2008.pdf

² <http://dre.pt/pdf1sdipl/2001/01/002A00/00140036.pdf>

Comissão de Ética: Este estudo foi analisado e aprovado por um comité independente de ética. O comité é designado por Comissão de Ética para a Investigação em Ciências da Vida e da Saúde da Universidade do Minho (CEICVS) e analisou os aspetos éticos deste estudo para ajudar a proteger os direitos e o bem-estar dos participantes no estudo.

Confidencialidade: Os documentos onde constam o seu nome, incluindo os registos do estudo, ou quaisquer formulários que preencha, serão mantidos estritamente confidenciais. Os dados serão tratados de forma confidencial e nenhuma informação que identifique os participantes sairá do laboratório Clinical and Experimental Optometry Research Lab (CEORLab) do Centro de Física onde o estudo se desenvolve. Para garantir a exatidão dos dados, o patrocinador (ou o seu representante), ou o CEICVS poderão analisar os registos do estudo ficando igualmente comprometidos com os princípios de confidencialidade. Se tiver um problema de saúde associado ao estudo, isto será relatado ao Comité de Ética em Investigação e ao patrocinador do estudo. Os dados provenientes do estudo poderão ser partilhados com o patrocinador do mesmo, ou os seus representantes; A identificação dos participantes nunca será tornada pública; será garantida a confidencialidade e uso exclusivo dos dados recolhidos para o presente estudo.

Se quiser transmitir algum problema ou dúvida relativamente à Proteção dos seus dados, pode fazê-lo através do Serviço de Proteção de Dados da Universidade do Minho, nos seguintes contactos:

E-mail: protecaodados@uminho.pt; Telefone: +351 253 510 006

Proteção de Dados

Universidade do Minho

Edifício 5, Gabinete 1.56

Campus de Gualtar, 4710 - 057 Braga, Portugal

Contacto da pessoa que pede o consentimento: Carla Sofia Pereira Antunes (Investigadora)

Morada: Universidade do Minho, Largo do Paço, 4704-553 Braga, Portugal

Email: carla.16.ca@gmail.com; Telemóvel: (351) 918 975 796

Assinatura/s:

.....

Declaro ter lido e compreendido este documento, bem como as informações verbais que me foram fornecidas pela investigadora responsável, assim como declaro que me foi dada a oportunidade de colocar qualquer questão, tendo sido respondida de modo satisfatório. Foi-me garantida a possibilidade de, em qualquer altura, recusar participar neste estudo sem qualquer tipo de consequências. Desta forma, aceito participar neste estudo e permito a utilização dos dados que de forma voluntária forneço, confiando em que apenas serão utilizados para esta investigação e nas garantias de confidencialidade e anonimato que me são dadas pela investigadora.

Nome: _____

Assinatura: _____ Data: ____/____/____

9.2 Formulário de recolha de dados

Data: _____

Nome: _____ ID: _____

Sexo: _____ Data de Nascimento: _____ Idade: _____ anos

E-mail: _____

CRITÉRIOS DE EXCLUSÃO: ☐

ERRO REFRACTIVO -6.00D; + 6.00D

ASTIGMATISMO INFERIOR -1.00D

ÓCULOS? SIM: _____ **NÃO** ☐

ACUIDADE VISUAL (s/ correção / óculos) ☐

ALTO CONTRASTE

OD: _____

AO: _____

OE: _____

BAIXO CONTRASTE

OD: _____

AO: _____

OE: _____

AUTOREFRAÇÃO (AR - Campo Aberto): ☐

OD: _____

OE: _____

SUBJETIVO ☐

OD: _____

OE: _____

ACUIDADE VISUAL (c/correção) ☐

OD: _____

OE: _____

AO: _____

COMPRIMENTO AXIAL (IOL MASTER) ☐

OD: _____ (mm)

OE: _____ (mm)

ELETRORETINOGRAFIA ☐

PERG (BASELINE) ☐

PHNR (BASELINE)☐

ON-OFF (BASELINE) ☐

PERG (OP) ☐

PHNR (OP)☐

ON-OFF (OP)☐

PERG (TRA) ☐

PHNR (TRA)☐

ON-OFF (TRA) ☐

DIÂMETRO PUPILAR ☐

Ø PUPILAR (fotopico)		BASELINE			OCLUSOR OPACO			OCLUSOR TRANSLÚCIDO		
		PERG	ON-OFF	PhNR	PERG	ON-OFF	PhNR	PERG	ON-OFF	PhNR
ANTES	OE									
	μ									
	OD									
	μ									
DEPOIS	OE									
	μ									
	OD									
	μ									