



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO
PROGRAMA DE MAESTRÍA Y DOCTORADO EN CIENCIAS MÉDICAS, ODONTOLÓGICAS
Y DE LA SALUD
INSTITUTO NACIONAL DE NEUROLOGÍA Y NEUROCIRUGÍA
"MANUEL VELASCO SUÁREZ"

"CONCENTRACIÓN DE ALFA SINUCLEÍNA OLIGOMÉRICA EN LÁGRIMA Y
ALTERACIONES ESTRUCTURALES RETINIANAS COMO BIOMARCADORES EN
ENFERMEDAD DE PARKINSON"

TESIS

QUE PARA OPTAR POR EL GRADO DE MAESTRO EN CIENCIAS EN EL
PROGRAMA DE CIENCIAS MÉDICAS, ODONTOLÓGICAS Y DE LA SALUD

PRESENTA:

AZYADEH CAMACHO ORDOÑEZ

TUTOR DE TESIS:

DRA. MAYELA RODRÍGUEZ VIOLANTE

Instituto Nacional de Neurología y Neurocirugía Manuel Velasco Suárez

Ciudad de México, marzo de 2021.



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas

Tesis Digitales

Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©

PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

**CONCENTRACIÓN DE ALFA SINUCLEÍNA OLIGOMÉRICA EN LÁGRIMA Y
ALTERACIONES ESTRUCTURALES RETINIANAS COMO BIOMARCADORES EN
ENFERMEDAD DE PARKINSON**

Índice

I.	Lista de abreviaturas	3
II.	Resumen.....	4
III.	Antecedentes.....	6
IV.	Planteamiento del problema.....	12
V.	Pregunta de investigación.....	13
VI.	Justificación.....	13
VII.	Hipótesis.....	14
VIII.	Objetivos.....	14
IX.	Metodología	14
X.	Resultados.....	24
XI.	Discusión.....	29
XII.	Conclusión	32
XIII.	Referencias	33
XIV.	Anexos	41

LISTA DE ABREVIATURAS

EP: Enfermedad de Parkinson.

EA: Enfermedad de Alzheimer.

DCL: Demencia por cuerpos de Lewy.

MSA: Atrofia de sistemas múltiples.

PSP: Parálisis supranuclear progresiva.

LCR: Líquido cefalorraquídeo.

CCG: Capa de células ganglionares.

CNI: Capa nuclear interna.

CPI: Capa plexiforme interna.

CFN: Capa de fibras nerviosas.

CNE: Capa nuclear externa.

CPE: Capa plexiforme externa.

RI: Retina interna.

RE: Retina externa.

OCT: Tomografía de coherencia óptica.

MDS-UPDRS: Escala Unificada de la Enfermedad de Parkinson modificada por la Sociedad de Trastornos del Movimiento

RESUMEN

ANTECEDENTES. La enfermedad de Parkinson (EP) es una enfermedad neurodegenerativa caracterizada por manifestaciones motoras y no motoras. La α -sinucleína ha sido estudiada ampliamente como un posible biomarcador debido a que es un componente de los cuerpos de Lewy, el distintivo patológico de la EP. En los últimos años, la evidencia demuestra que la α -sinucleína se puede detectar en fluidos biológicos, como líquido cefalorraquídeo, suero/plasma, saliva y lágrima. La forma oligomérica de α -sinucleína genera neurotoxicidad, y esta forma es el blanco para la evaluación de α -sinucleína en los fluidos biológicos como biomarcador para EP. Así mismo, en estudios histopatológicos se ha detectado en la retina depósitos de α -sinucleína, la retina al ser un tejido que se puede estudiar *in vivo* puede ser un biomarcador en EP.

OBJETIVO. Comparar los niveles de α -sinucleína oligomérica en lágrima en EP y determinar si se relacionan con el grosor de las capas de retina y grosor macular en comparación con controles.

MÉTODO. Estudio transversal y comparativo entre pacientes con EP y controles. Se analizaron lágrimas reflejas de 25 pacientes y 38 controles, se midió α -sinucleína oligomérica. Se realizó una tomografía de coherencia óptica para medir las capas de la retina y el grosor macular total. Para el análisis se utilizó la U-Mann Whitney para muestras independientes y la correlación de Spearman para determinar la relación entre las variables numéricas. Se consideró estadísticamente significativo una $p < 0.05$.

RESULTADOS. Los niveles de α -sinucleína oligomérica fueron mayores en EP en comparación a los controles (1.78 ± 0.06 vs 1.73 ± 0.08 , $p < 0.001$). Existe adelgazamiento de la capa de fibras nerviosas, células ganglionares, plexiforme interna, nuclear interna, nuclear externa y epitelio pigmentario de la retina; y engrosamiento de la capa plexiforme externa en EP al compararlo con controles ($p < 0.05$). Existe una correlación leve entre α -sinucleína oligomérica y el volumen central de la capa nuclear interna ($r = 0.404$, $p = 0.04$).

CONCLUSIÓN. Existe una diferencia significativa en la concentración de α -sinucleína oligomérica en lágrima refleja, lo que facilita la diferenciación entre EP y controles. Además, existe adelgazamiento de las capas internas de la retina y engrosamiento de las capas externas

de la retina en EP al compararlas con controles. También, existe una correlación leve entre los niveles de α -sinucleína oligomérica en lágrima refleja y el volumen central de la capa nuclear interna en EP en comparación con controles. La combinación de estos biomarcadores podrían ser una herramienta diagnóstica en los pacientes con EP. Sin embargo, se requiere una muestra mayor y que incluya diferentes estadios de la enfermedad para confirmar el valor significativo de este estudio.

1) ANTECEDENTES

1.1 Enfermedad de Parkinson

La enfermedad de Parkinson (EP) es una de las enfermedades neurodegenerativas más comunes de inicio en el adulto, siendo la segunda causa más frecuente de enfermedad degenerativa después de la demencia de Alzheimer. Se ha estimado que la incidencia de esta enfermedad en mayores de 60 años es de 13.4 por 100000 habitantes/año en Estados Unidos.¹ En México no se tienen estudios epidemiológicos para prevalencia e incidencia de la enfermedad. Se ha calculado que en el mundo debido al aumento de la tasa de sobrevivencia y con esto al aumento de enfermedades degenerativas, la EP afecta actualmente a 4.1 a 4.6 millones de personas mayores de 50 años calculándose que para el año 2030 esta cifra será duplicada por lo que conlleva a un problema de salud pública. La enfermedad de Parkinson es progresiva con una edad media de inicio de 55 años de edad.^{2,3}

La EP se caracteriza principalmente por la muerte de las células dopaminérgicas de la sustancia negra de la *pars compacta* con la presencia de inclusiones intraneuronales llamadas cuerpos de Lewy, los cuales están formados principalmente por α -sinucleína; lo que conlleva a disminución de los niveles de dopamina en las terminales estriatales, responsables de las alteraciones motoras características de esta enfermedad, entre las que destacan temblor, rigidez, bradicinesia e inestabilidad postural.⁴

El inicio de las manifestaciones motoras de la EP es por lo general de tipo unilateral; lo cual se explica desde el punto de vista histopatológico por una degeneración nigroestriatal asimétrica. Se ha reportado que entre un 46 a 85% de los sujetos con EP muestran una presentación asimétrica, siendo más frecuente el inicio derecho. En lo que se refiere a la severidad, se ha reportado una discreta tendencia a relacionarse con el lado dominante del paciente, sin embargo, esta dominancia no parece tener ningún efecto en la asimetría del inicio de la enfermedad.⁵

La evidencia clínica, neuropatológica y de imagen sugiere un inicio temprano de la EP, previo al inicio de los síntomas motores cardinales. Esta fase prodrómica es de interés para el diagnóstico temprano y tratamiento oportuno. A esta fase se le conoce como premotora y se caracteriza por síntomas no motores, entre los que destacan: reducción del olfato, alteraciones visuales, alteraciones en el sueño, cambios en el estado de ánimo, alteraciones en tracto gastrointestinal, urinario, función sexual, olfato y gusto.⁶

La estadificación de Hoehn y Yahr es probablemente la evaluación más conocida de las personas con EP y se describió por primera vez en 1967. Es una estadificación de 0 a 5 de las manifestaciones motoras de la EP, que refleja el grado de progresión y severidad, y combina

características de discapacidad motora. La mayor fortaleza de esta escala es que es bien conocida y las pruebas se realizan fácilmente.⁷

1.6 Manifestaciones oculares en enfermedad de Parkinson

Los síntomas visuales son comunes en la enfermedad de Parkinson. Se estima que el 80% de los pacientes con diagnóstico de EP reportan al menos una alteración relacionada a la visión.⁸ Algunas de las alteraciones oculares son producto del proceso neurodegenerativo de la enfermedad, y a menudo responden a los medicamentos dopaminérgicos. Por otro lado, las alteraciones oculares pueden ser secundarias a los medicamentos dopaminérgicos, colinérgicos o noradrenérgicos, intervenciones quirúrgicas como estimulación cerebral profunda y palidotomía.⁹

Entre las principales manifestaciones oculares destacan defectos en agudeza visual, sensibilidad al contraste, y visión al color. Una de las alteraciones más frecuentes es la alteración de la visión al color, la cual se manifiesta años antes del diagnóstico y se relaciona con la progresión de la enfermedad. Uno de cada tres pacientes tiene problemas en ver pequeños detalles debido a la reducción de la agudeza visual y procesamiento visuoespacial. El reconocimiento de los colores con pobre visión en condiciones de luz tenue y la incapacidad de percibir pequeños incrementos de luz contra oscuridad, son manifestaciones de disminución de la sensibilidad al contraste.¹⁰

Estas manifestaciones oculares son resultado del daño producido a nivel de la retina en los pacientes con EP. Estudios previos sugieren que la deficiencia de dopamina asociada a EP puede contribuir a la disfunción visual y causar daño estructural en la retina.¹¹

1.2 Características de α -sinucleína

La α -sinucleína se identificó en el órgano de *Torpedo californica* usando un anticuerpo para purificar vesículas colinérgicas. Su localización es presináptica, y también en la membrana nuclear, por lo que su nombre proviene de vesícula sináptica (“sin”) y membrana nuclear (nucleína).¹²

La α -sinucleína se expresa predominantemente en el cerebro, en neocorteza, hipocampo, estriado, tálamo y cerebelo. También se ha detectado en otros órganos como el músculo, riñón, hígado, pulmón, corazón, vasos sanguíneos, y fluidos como líquido cefalorraquídeo, plasma sanguíneo, y recientemente saliva y lágrima.^{13–20}

La α -sinucleína se puede encontrar en cuatro isoformas, α -sinucleína 90, α -sinucleína 112, α -sinucleína 126 y α -sinucleína 140, basada en el emparejamiento del exón 3 y 5. La

isoforma más larga y más frecuente en el sistema nervioso central es la 140.^{15,16} Además, a la α -sinucleína se le puede identificar en monómeros, oligómeros y fibrillas amiloides maduras ricas en láminas β .^{21,22}

La α -sinucleína oligomérica se refiere a los agregados de α -sinucleína que no han adquirido una conformación fibrilar. Varios hallazgos sugieren que la α -sinucleína oligomérica es neurotóxica. No solo porque está presente en las regiones degenerativas de los pacientes con EP, sino que la evidencia experimental directa muestra sus propiedades tóxicas. Winner et al. mostraron que la expresión de E57K y E35K α -sinucleína dio lugar a oligómeros atrapados conformacionalmente que no pudieron fibrilarse e indujo la neurodegeneración de neuronas dopaminérgicas en la sustancia negra pars compacta (SNc) de ratas. En contraste, α -sinucleína 30-110 que forma fibrillas a gran velocidad, no mostró toxicidad, lo que indica que los oligómeros son las especies tóxicas que conducen a la pérdida de la neurona in vivo.²³

1.3 α -sinucleína y enfermedad de Parkinson

Uno de los cambios degenerativos en la EP es la pérdida de terminales nerviosas en el estriado y la acumulación de proteínas en las neuronas de la sustancia negra conocidos como cuerpos de Lewy. Su componente estructural primario es la α -sinucleína, pero también contiene otras proteínas como parkina, ubiquitina y neurofilamentos.²⁴

Los cuerpos de Lewy son inclusiones eosinófilas que se encuentran en los somas y axones de las neuronas de la sustancia negra. Se les puede encontrar en otras enfermedades como en la demencia por cuerpos de Lewy y enfermedad de Alzheimer principalmente.²⁵ Para la formación de los cuerpos de Lewy primero aparecen monómeros de α -sinucleína en disposición β -helicoidal o protofibrillas, y después se forman oligómeros de las protofibrillas y al final las fibrillas amiloides.

La α -sinucleína es una proteína neuronal presináptica que se asocia genéticamente y neuropatológicamente a la EP. La α -sinucleína contribuye a la patogénesis en varias maneras, la forma oligomérica y las protofibrillas son tóxicas, pueden causar disrupción de la homeostasis celular y muerte neuronal. La falla en el plegamiento de esta proteína causa agregación anormal que forma los cuerpos de Lewy en las neuronas dopaminérgicas. Estas proteínas pueden trasladarse desde células afectadas hacia las sanas, produciendo destrucción de las mismas.^{24,26}

1.4 α -sinucleína como biomarcador

La α -sinucleína ha sido estudiada ampliamente como un posible biomarcador debido a que es un componente de los cuerpos de Lewy, el distintivo patológico de la EP. En los últimos años, la evidencia demuestra que la α -sinucleína se puede detectar en fluidos biológicos, como líquido cefalorraquídeo, suero/plasma, saliva y lágrima. Sin embargo, los estudios centrados en el LCR y suero muestran resultados contradictorios, esto se debe a los diferentes métodos y anticuerpos utilizados, así como a la contaminación de las muestras con sangre. Existen pruebas que indican que la conversión de α -sinucleína de monómeros solubles en formas agregadas e insolubles en el cerebro es un evento clave en la patogénesis de la EP. El LCR, suero, saliva y lágrima de los sujetos con EP contienen niveles elevados de oligómeros de α -sinucleína.^{27–30} En la tabla 1 se describen estudios donde se analiza la presencia de α -sinucleína en fluidos biológicos y su concentración.

La lágrima es un fluido biológico, tiene la virtud de ser accesible y homogéneo, sin contaminación con la sangre. En un estudio se analizó la lágrima de los sujetos con EP y se describe que los niveles de α -sinucleína estaban disminuidos en pacientes con EP en comparación con controles (423.12 ± 52.6 versus 703.61 ± 136.4 pg/mg, $p=0.05$). Además, la α -sinucleína oligomérica estaba elevada al compararse con controles (1.45 ± 0.31 versus 0.27 ± 0.07 ng/mg, $p=0.0007$). Sin embargo, estos resultados se obtuvieron al analizar la lágrima de ambos ojos en conjunto.³¹

A nivel de retina, se identificó en cortes histopatológicos de sujetos con EP la presencia de α -sinucleína en todas las capas y células de la retina cuando se compararon con sanos.³²

Tabla 1. Concentración de α -sinucleína en fluidos biológicos

	Sujetos	Fluido biológico	Concentración
Hamm-Alvarez SF et al.	84EP, 84C	α -sinucleína total y oligomérica, lágrima basal	Total EP: 254.54 (151.05–479.69) C: 361.16 (234.31–731.39) Oligomérica EP: 1.68 (0.32–3.82) C: 0.44 (0.05–1.17)
Feigenbaum D et al. ³¹	55EP, 55C	α -sinucleína oligomérica, lágrima	EP: 1.45 ± 0.31 C: 0.27 ± 0.07

Ali Shalash et al. ³³	27EA, 46EP, 20C	α -sinucleína total, suero	EP: 4.23 (3.3–5.63) EA: 2.9 (1.2–3.3) C: 0.46 (0.07–0.93)
Oskar Hansson et al. ³⁴	30EP, 48EA, 71DCL, 98C	α -sinucleína oligomérica, líquido cefalorraquídeo	EP: 73.309 (36.361–326.297) EA: 26.441 (21.548–44.332) DCL: 40440 (22.235– 137.845) C: 37.882 (21.763–136.685)
Wenyan Kang et al. ³⁵	201 EP C 67	α -sinucleína total, saliva	EP: 128.66 $\pm$ 99.21 C: 131.31 $\pm$ 104.21
Giorgio Vivacqua et al. ³⁶	40 EP 40 C	α -sinucleína oligomérica, saliva	EP: 1.062 $\pm$ 0.266 ng/ml C: 0.498 $\pm$ 0.203

Abreviaciones: EP: enfermedad de Parkinson, EA: enfermedad de Alzheimer, C: controles, DCL: demencia por cuerpos de Lewy.

1.5 La retina como biomarcador en enfermedad de Parkinson

La retina comprende un complejo de neuronas que transmiten información para alcanzar las células ganglionares retinianas, los axones que formarán el nervio óptico. Los axones comunican la información al cuerpo geniculado lateral y el cóliculo superior. La retina tiene células amacrinas A18 dopaminérgicas en la capa nuclear interna.³⁷ La dopamina en la retina actúa como un mensajero químico para la adaptación de la luz, tiene impacto en el ciclo circadiano, supervivencia de células y crecimiento ocular. En retinas postmortem la dopamina estaba disminuida especialmente en la región de la fovea. La fovea tiene el mayor contenido de fotorreceptores produciendo la mayor agudeza visual y sensibilidad al contraste, así como la visión al color.

La tomografía de coherencia óptica (OCT) es una técnica de imagen que permite el estudio in vivo de la retina, identificando los cambios estructurales en pacientes con EP. Se caracteriza por la realización de cortes transversales micrométricos mediante la luz sobre el tejido a estudiar. Utiliza interferometría de baja coherencia para obtener las imágenes de la arquitectura de retina. El mapa rápido macular de esta técnica usa 6 líneas de rastreo de 6 mm que pasan a través del centro macular y mide el grosor retiniano en 768 puntos.³⁸

Debido a que la visión esta alterada en EP, el estudio de los cambios maculares a nivel de la fovea son de importancia. Existen estudios que han realizado exploraciones maculares, aunque se han utilizado diferentes métodos. Al medir el volumen macular en algunos estudios no se reportaron diferencias al compararlo con los controles,^{39–43} mientras que en otros estudios reportaron reducción del volumen macular en EP.^{44,45}

Hay estudios donde se realizó una medición del grosor de las capas de la retina. En cuatro estudios segmentaron las capas de la retina en dos partes (retina interna y retina externa), pero los resultados fueron inconsistentes. Dos reportaron adelgazamiento de la retina interna y uno de los estudios no reportó diferencia entre los pacientes con EP y controles. Ma LJ et al,⁴⁶ reportaron disminución de la capa de fibras nerviosas y del volumen macular en pacientes con EP en comparación con controles.

Actualmente, no existe un consenso en cuanto a los cambios estructurales en retina debido a los diferentes métodos utilizados y también por las diferencias en la segmentación de las capas de retina en los diferentes estudios. En las tablas 2 y 3 se muestran los estudios en cuanto a grosores maculares y capas de retina.

Tabla 2. Capas de retina afectadas en EP

	Sujetos	Capas	Resultados
Lee JY, et al. ³⁹	61EP, 30C	5 capas (CFN, CCG/CPI, CNI, CPE, CNE/EPR) manual	Adelgazamiento de nuclear interna en EP
Albrecht P et al. ⁴⁷	40EP, 35C, 15PSP, 19MSA	5 capas (CFN, CCG/CPI, CNI, CPE, CNE) manual	Mayor grosor de CNI en EP comparado con HC, y MSA y PSP.
Schneider M ⁴⁸	65EP, 41C, 16PSP, 19 MSA	5 capas (CFN, CCG/CNE, CNI, CNE, CNI) semiautomático	No existe diferencia entre EP y HC. CNE adelgazamiento en MSA, Alto en CNE/CPE en MSA en comparación con EP.
Shrier E ⁴⁹	23EP, 18C	2 capas interna y externa. Automático	Diferencia interocular perifoveal en EP
Aaker GD, et al. ⁴¹	9EP, 16C	2 capas interna y externa. Manual	No diferencia
Hajee ME et al. ⁵⁰	24EP, 17C	2 capas interna y externa. Automático RI: CFN+CCG+CPI	Adelgazamiento de capa interna paramacular en EP
Adam CR ⁵¹	14EP, 14C	Capas internas en región foveal	Adelgazamiento perifoveal en EP
Spund B, et al. ⁵²	30EP, 27C	Capas internas en la fóvea	La fóvea es más delgado en EP

Abreviaciones: CCG= capa de células ganglionares, C controles sanos, CNI=capa nuclear interna, CPI=capa plexiforme interna, RI= retina interna, MSA=atrofia de sistemas múltiples, CNE=capa nuclear externa, CPE=capa plexiforme externa, EP=enfermedad de Parkinson, PSP= parálisis supranuclear progresiva, CFN=capa de fibras nerviosas.

Tabla 3. Grosor macular en EP

	Sujetos	Resultados
Lee JY, et al. ³⁹	61EP, 30C	No diferencia en volumen total macular, volumen del cuadrante superior externo reducido en EP
Albrecht P et al. ⁴⁷	40EP, 35C	No diferencia en volumen total macular
Schneider M ⁴⁸	23EP, 18C	Reducción en el volumen macular total en EP
Altintas et al. ⁴⁴	17EP, 11C	Reducción del volumen macular total, regiones externas e internas superiores y temporales en EP
Garcia-Martin E ⁴⁵	60EP, 100C	Adelgazamiento de todas las regiones, excepto en fóvea
Satue M et al. ⁵³	100EP, 100C	Adelgazamiento de sector superior interno, temporal externo, nasal e inferior
Aaker GD, et al. ⁴¹	9EP, 16C	Disminución del cuadrante superior externo, aumento del nasal externo e inferior interno en EP
Archibald et al. ⁴²	31EP, 19C	No diferencias entre EP y controles
Cubo E, et al. ⁴³	30EP, 30C	No diferencias entre EP y controles

Abreviaciones: C=controles sanos, EP=enfermedad de Parkinson

2) PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

La enfermedad de Parkinson es una de las enfermedades neurodegenerativas más comunes de inicio en el adulto, siendo la segunda causa más frecuente de enfermedad degenerativa después de la demencia de Alzheimer. Se estima de forma mundial que la enfermedad de Parkinson se presenta entre el 1 y 2% de la población mayor de 60 años de edad. De acuerdo al conteo de población y vivienda realizado en 2005; por parte del Instituto Nacional de Estadística y Geografía (INEGI) el 8.1% de la población en México se encuentra en este grupo de edad, lo que implicaría una prevalencia aproximada de 83,000 y 166,600 personas con EP en México.⁵⁴

Las manifestaciones no motoras se presentan años antes que las manifestaciones motoras, entre las que destacan las manifestaciones oculares en un 80% de los pacientes con la enfermedad, esto es resultado de los cambios a nivel de retina. Sin embargo, no existe un consenso de los resultados en cuanto al grosor de las capas y a nivel de mácula. Tampoco se describen los resultados en cuanto al impacto en la duración, severidad y lateralidad de la enfermedad. Así mismo en lágrima se ha estudiado la presencia de α -sinucleína oligomérica pero no su relación con el grosor de las capas de la retina.

3) PREGUNTA DE INVESTIGACIÓN

¿Cuál es la diferencia en los niveles de α -sinucleína oligomérica en lágrima de los pacientes con enfermedad de Parkinson en comparación con controles y evaluar si estos niveles se relacionan con el grosor de las capas de retina y grosor macular en enfermedad de Parkinson en comparación con controles?

4) JUSTIFICACIÓN

A pesar de décadas de investigación, el diagnóstico de la EP sigue siendo un desafío. El diagnóstico es clínico, por lo que su precisión puede estar limitada, particularmente en las etapas tempranas de la enfermedad. Se estima que la precisión en el diagnóstico es del 46 a 90%, esta precisión depende de la observación clínica prolongada y la respuesta clínica a levodopa. Por esta razón es necesario contar con nuevos biomarcadores para tener un diagnóstico más preciso. Desde que la α -sinucleína total y oligomérica en tejidos periféricos y en fluidos biológicos son potenciales biomarcadores en EP, la detección de esta proteína en lágrima y su relación con los cambios estructurales en retina podría ofrecer un significado prometedor en el pronóstico de la enfermedad. La obtención de muestra de lágrima y el estudio de retina son métodos no invasivos que nos permiten estudiar in vivo a los pacientes con EP.

La lágrima a diferencia de otros fluidos biológicos se considera accesible, no invasivo, tiene la virtud de no contaminarse con la sangre y es sencilla su obtención.

A la retina se le considera un marcador tisular en enfermedades neurodegenerativas. En algunos estudios se ha descrito disminución del grosor de las capas de retina y en mácula en pacientes con EP. Sin embargo, no existe un consenso en estos resultados, ya que algunos estudios no muestran diferencia. La alteración de la retina genera alteraciones visuales desde etapas tempranas de la enfermedad.

Esta información permitirá diseñar estrategias efectivas que conduzcan a detección de las alteraciones en lágrima y retina con impacto en la duración, lateralidad y severidad de la EP. De identificarse las capas de la retina alteradas, se deberán realizar más estudios para el manejo terapéutico que se deberá de implementar en este grupo particular de pacientes ya que la afección retiniana se ha asociado a la disfunción visual.

5) HIPÓTESIS

Hipótesis nula: Los niveles de α -sinucleína oligomérica en lágrima en cada ojo en pacientes con EP no tendrán diferencias respecto a los controles. Así mismo, no habrá relación con el grosor de las capas de retina ni grosor macular.

Hipótesis alterna: Los niveles de α -sinucleína oligomérica en lágrima serán mayores en EP al compararlo con los controles. Los niveles de α -sinucleína oligomérica en lágrima será mayor entre menor grosor de las capas de retina y grosor macular en comparación con controles.

6) OBJETIVOS

Objetivo general

- Comparar los niveles de α -sinucleína oligomérica en lágrima en EP y determinar si se relacionan con el grosor de las capas de retina y grosor macular en comparación con controles.

Objetivos secundarios

- Determinar si existe relación entre los niveles de α -sinucleína oligomérica en lágrima y el subtipo motor en EP.
- Determinar si existe relación entre los niveles de α -sinucleína oligomérica en lágrima y la severidad de la enfermedad según la escala de Hoehn y Yahr en EP.
- Determinar si existe relación entre los niveles de α -sinucleína oligomérica en lágrima y la duración de la enfermedad en EP.
- Determinar si existe relación entre los niveles de α -sinucleína oligomérica en lágrima y la lateralidad de inicio de los síntomas la enfermedad de Parkinson.

7) METODOLOGÍA

- a) Diseño
Estudio transversal y comparativo de pacientes con enfermedad de Parkinson.

- b) Población y muestra

Población

Es un estudio que incluye pacientes con enfermedad de Parkinson.

- Población blanco: Pacientes de cualquier género con diagnóstico establecido de enfermedad de Parkinson sin enfermedades oftalmológicas conocidas no relacionadas con la EP o cirugías oculares previas.
- Población elegible: Pacientes de cualquier género con diagnóstico establecido de enfermedad de Parkinson que acudan al centro hospitalario participante.
- Población participante: Pacientes de cualquier género y edad con diagnóstico establecido de enfermedad de Parkinson que acudan al centro hospitalario participante y que cumplan con los criterios de inclusión.

Tamaño de muestra

Se realizó el cálculo del tamaño de la muestra para comparar muestras pareadas con la siguiente fórmula:

$$nP = \left(\frac{(Z_{\alpha/2} + Z_{\beta}) Sd}{\bar{D}} \right)^2$$

Donde:

- nP: número de pares
- $Z_{\alpha/2}$: valor de error alfa
- Z_{β} : valor de error beta
- Sd: desviación estándar de la diferencia entre pares
- $\bar{D}$: media de la diferencia entre pares

Para este cálculo se tomó en cuenta como parámetros un nivel α 0.05, un poder del 80%, diferencia de medias de 2.65, y diferencia de desviación estándar promedio de 6.0, con base al estudio de Wenyan Kang et al.³⁵ con media de α -sinucleína total en saliva de 128.66 ± 99.21 ng/ml para los pacientes con EP y de 131.31 ± 104.21 ng/ml para la muestra de controles; obteniéndose una muestra final de 43 pacientes con enfermedad de Parkinson y 86 controles, considerando 2 controles por cada paciente con EP.

Se obtuvo un total de 25 pacientes con EP y 38 controles, no fue posible parearlos por falta de reactivo de α -sinucleína oligomérica debido a reasignación de recursos destinados al protocolo en el contexto de la pandemia por COVID-19.

c) Criterios de selección del estudio

Criterios para sujetos con EP

Criterios de inclusión

- Pacientes mayores de 40 años de edad.
- Cualquier sexo.
- Diagnóstico clínico de enfermedad de Parkinson según los criterios de la Sociedad Internacional de Parkinson y Movimientos Anormales.
- Consentimiento informado firmado.

Criterios de exclusión:

- Diagnóstico de enfermedades oculares como glaucoma, alteraciones retinianas que modifiquen el estudio de imagen.
- Diagnóstico de alteraciones corneales o catarata que impida la realización del estudio de imagen.
- Cirugías oculares previas.
- Uso de cualquier medicamento tópico ocular durante el mes previo.
- Consumo de medicamentos anticolinérgicos.
- Comorbilidad médica severa (a criterio del investigador) que impida su adecuada evaluación para los fines del estudio.
- No proporcionar consentimiento informado.

Criterios de eliminación:

- Retiro de consentimiento informado.
- Muestra de lágrima insuficiente.
- Estudios de imagen no valorables.

Criterios para controles

Criterios de inclusión

- Personas mayores de 40 años de edad.
- Cualquier sexo.
- Sin antecedentes familiares de enfermedad de Parkinson, parkinsonismo, temblor, demencias por cuerpos de Lewy, enfermedad de Alzheimer y alfa sinucleinopatías.

- Sin enfermedad de Parkinson, parkinsonismo, temblor, demencias por cuerpos de Lewy, enfermedad de Alzheimer y alfa sinucleinopatías.
- Consentimiento informado firmado.

Criterios de exclusión:

- Diagnóstico de enfermedades oculares como glaucoma, alteraciones retinianas que modifiquen el estudio de imagen.
- Opacidad de medios que impidan la realización del estudio de imagen.
- Cirugías oculares previas.
- Uso de cualquier medicamento tópico ocular durante el mes previo.
- Comorbilidad médica severa (a criterio del investigador) que impida su adecuada evaluación para los fines del estudio.
- No proporcionar consentimiento informado

Criterios de eliminación:

- Retiro de consentimiento informado.
- Muestra de lágrima insuficiente.
- Estudios de imagen no valorables.

d) Variables

Operacionalización de las variables de estudio

Variable	Definición conceptual	Definición operacional	Instrumento	Escala de la medición	Tipo de variable
Nivel de α -sinucleína oligomérica en lágrima	Cantidad de α -sinucleína oligomérica presente en lágrima	Valor de α -sinucleína oligomérica en lágrima	ELISA	ng/mg	Cuantitativa continua
Grosor de capas de retina	Dimensión de las capas de retina	Dimensión de las capas de retina a nivel macular	OCT Macular dominio espectral	Micras	Cuantitativa continua
Lateralidad de inicio de los síntomas	Lado de inicio de los síntomas de la enfermedad	Lado de inicio de síntomas motores de la enfermedad	Registro de datos del paciente	Derecho/ Izquierdo	Cualitativa discreta

Estadio de la EP	Grado de afección de la EP	Estadio de la enfermedad de Parkinson	Hoehn y Yahr	Grado 0-5	Cualitativa ordinal
Fenotipo motor de EP	Característica motora de la EP	Característica motora predominante de la EP	MDS-UPDRS	Rigidez, bradiscinesia, temblor o inestabilidad postural	Cuantitativa discreta

Operacionalización de las variables sociodemográficas

Variable	Definición conceptual	Definición operacional	Instrumento	Escala de la medición	Tipo de variable
Edad	Tiempo de vida desde el nacimiento	Años transcurridos desde el nacimiento hasta la evaluación	Registro de datos de paciente	Número de años	Cuantitativa discreta
Sexo	Genero asignado al nacimiento	Sexo masculino o femenino	Registro de datos de paciente	Femenino/ Masculino	Cualitativa discreta
Tratamiento antiparkinsonico	Consumo de medicamentos antiparkinsonicos	Consumo de medicamentos antiparkinsonicos	Registro de datos del paciente	1. Precursor de dopamina 2. Agonistas dopaminérgicos 3. Inhibidores de MAO 4. Inhibidores de COMT	Cualitativa nominal

Reclutamiento de pacientes con enfermedad de Parkinson

Los investigadores identificaron a los candidatos potenciales en sus bases de datos de pacientes y en la consulta de la Clínica de Trastornos del Movimiento en turno matutino. Se obtuvieron sus consentimientos bajo información firmados (se les explicó el estudio y firmaron el consentimiento antes de iniciar cualquiera de las evaluaciones/procedimientos requeridos por el protocolo). Los pacientes incluidos eran tanto de primera vez como subsecuentes. El área médica donde se reclutaron fue la consulta externa y el Laboratorio Clínico de Enfermedades Neurodegenerativas.

Reclutamiento de controles

Los investigadores identificaron a los candidatos potenciales en la sala de espera del departamento de Segmento Anterior del ojo de la Fundación Hospital “Nuestra Señora de la Luz”

I.A.P., quienes eran familiares de los pacientes que acudieron a valoración oftalmológica. Se obtuvieron sus consentimientos bajo información firmados (se les explicó el estudio y firmaron el consentimiento antes de iniciar cualquiera de las evaluaciones/procedimientos requeridos por el protocolo). Se les realizó un cuestionario para valorar si cumplían con los criterios de inclusión y no cumplían con los criterios de exclusión. Se les realizó la misma evaluación oftalmológica que a los pacientes con EP.

Procedimiento de visita en Neurología

En la visita se evaluaron los criterios de inclusión y exclusión. Se invitó al paciente a participar previa explicación del proyecto y lectura del consentimiento informado; en caso de aceptar se recabó la firma de paciente, dos testigos y el médico entrevistador. Se registraron en una hoja de captura (Case Report File o CRF) las siguientes variables demográficas: Número de expediente, nombre (el cual se registró como acrónimo), género, fecha de nacimiento, edad en años cumplidos, duración de la enfermedad, lado de inicio de la enfermedad y tratamiento actual. Se aplicaron las escalas: Hoehn y Yahr y MDS-UPDRS. Posterior a la evaluación de Neurología, se enviaron a la Fundación Hospital “Nuestra Señora de la Luz” I.A.P. para la valoración oftalmológica.

Procedimiento de visita en Oftalmología

En la visita se evaluaron los criterios de inclusión y exclusión. Se le preguntó al paciente si aún deseaba continuar en el estudio, y también se le explicó nuevamente el proyecto; en caso de aceptar continuar en el estudio se le realizó la evaluación oftalmológica que consiste en biomicroscopía de segmento anterior y segmento posterior del ojo. Una vez corroborado que el paciente cumple con criterios de inclusión y no cumple criterios de exclusión se le invitó a acudir al Centro de Investigación Biomédica de la misma Institución para la toma de muestra de lágrima de ambos ojos. Posteriormente, se realizaron los estudios de imagen de retina.

Las evaluaciones se dividen en dos grupos:

Escalas clínicas aplicadas por el neurólogo:

Escala Unificada de la Enfermedad de Parkinson modificada por la Sociedad de Trastornos del Movimiento (MDS-UPDRS)

Los cuatro dominios son: Parte I: Experiencias no motoras de la vida diaria; Parte II: Experiencias motoras de la vida diaria; Parte III: Examen motor; y Parte IV: Complicaciones motoras. Todos los ítems poseen cinco opciones de respuesta: 0 = normal, 1 = leve, 2 = leve, 3 = moderado, y 4

= severo. Un número considerable de preguntas pertenecientes a la Parte I y Parte II se reestructuraron como un cuestionario para el paciente o cuidador, por lo que el tiempo total para el evaluador debe permanecer unos 30 minutos. Las instrucciones detalladas para la prueba y de adquisición de datos acompañan al MDS-UPDRS con el fin de aumentar el uso de uniforme. La MDS-UPDRS se ha propuesto como instrumento de referencia para la evaluación de los pacientes con enfermedad de Parkinson, tanto en la práctica clínica como en el ámbito de la investigación.

Como se mencionó previamente, la MDS-UPDRS está conformada por cuatro partes. En total se evalúan 65 ítems (10 más que en el UPDRS), de los cuales 48 se puntúa de 0 a 4 y siete con respuestas dicotómicas de “sí” o “no”. La MDS-UPDRS tiene un rango de puntuación de 0 a 192. La parte I evalúa los aspectos no motores de las experiencias de la vida diaria. Esta parte se divide en dos secciones; la parte IA y la parte IB. La parte IA consta de seis preguntas aplicadas por el evaluador; las respuestas se refieren a un periodo de tiempo que abarca los siete días anteriores a la evaluación. En las instrucciones de la sección se especifica que no deben leerse las opciones de respuesta, más bien deben realizarse las preguntas que sean necesarias para determinar qué respuesta debe codificarse. Al inicio de la parte IA debe especificarse la fuente principal de información (paciente, cuidador o ambos en la misma proporción).

La parte IB está conformada por un cuestionario auto-administrado de siete preguntas. Las respuestas deben describir el sentir del paciente durante la mayor parte del tiempo. Esta parte también puede ser respondida por el paciente, el cuidador o ambos.

La parte II cubre los aspectos motores de las experiencias de la vida diaria. Al igual que la parte IB, se trata de un cuestionario auto-administrado por el paciente y consiste de 13 preguntas.

La parte III de la MDS-UPDRS es propiamente la exploración motora y esta compuesta por 33 puntuaciones basadas en 18 ítems. Se debe registrar si el paciente se encuentra tomando medicamentos antiparkinsonianos, y en el caso de la levodopa, especificar el tiempo transcurrido desde la última toma. Adicionalmente se requiere indicar si el paciente se encuentra en estado clínico de ON o de OFF. Bajo la premisa de “evaluar lo que se ve” es necesario puntuar la ejecución de cada tarea tal como la realice el paciente en el contexto de sus comorbilidades. En situaciones en las que no sea posible llevar a cabo la tarea o evaluación se debe indicar como “no valorable”. El evaluador debe mostrar y describir al paciente las maniobras a realizar, para luego evaluar y puntuar de forma inmediata; solo en el caso de los ítems de espontaneidad global del movimiento (ítem 3.14) y de temblor de reposo (ítem 3.17), la evaluación corresponde a lo observado durante la exploración completa. Se debe recordar que en la mayoría de las tareas motores se deben puntuar las extremidades derechas e izquierdas (superiores, inferiores o

ambas, según corresponda al ítem). La rigidez es evaluada (ítem 3.2) en las cuatro extremidades y cuello. En el caso de la amplitud de temblor en reposo también se incluye la valoración del temblor de labio o mandíbula (ítem 3.17). Al término de la parte motora, se debe mencionar la presencia de discinesias y si estas interfirieron con la exploración. El estadio de Hoehn y Yahr se registra en esta sección.

Finalmente, la parte IV consta de seis preguntas relacionadas con las complicaciones motoras como lo son discinesias, fluctuaciones y distonía dolorosa. En esta sección se debe complementar lo referido por el paciente con lo observado por el evaluador. Las instrucciones de la parte IV están dirigidas tanto al evaluador como al paciente (y cuidador).

El tiempo estimado para la aplicación de la MDS-UPDRS por el evaluador es de 30 minutos. La parte IA requiere aproximadamente 10 minutos, la parte III alrededor de 15 minutos y la parte IV cerca de 5 minutos. Las partes IB y II pueden ser respondidas por el paciente y su cuidador mientras esperan recibir la atención. El rango de puntuación es de 0 a 24 para la parte IA, de 0 a 28 para la parte IB, de 0 a 52 para la parte II, 0 a 132 para la parte III y de 0 a 24 para la parte IV. El rango global de la MDS-UPDRS es de 0 a 260 puntos.^{48,49}

Los niveles de severidad serán directamente determinados del puntaje de las subescalas del MDS-UPDRS, se tomarán como referencia los puntos de corte publicados.

Escala de Hoehn y Yahr

El estadiaje de la Enfermedad de Parkinson se realiza de forma rutinaria mediante los estadios de Hoehn y Yahr.⁵⁰ El estadio se determina de acuerdo a las características de los síntomas, extensión de la afección y discapacidad física ocasionada. El rango del instrumento es de 0 a 5. La versión modificada, con incrementos de 0.5, no es recomendada debido a que carece de validación clinimétrica. Los estadios de Hoehn y Yahr poseen diversas limitaciones dentro de las cuales destacan la falta de linealidad y el mayor peso otorgado a la inestabilidad postural sobre las demás manifestaciones motoras.⁵¹

Evaluación oftalmológica

Biomicroscopía de segmento anterior y posterior del ojo

Se evaluó al paciente en la lámpara de hendidura, primero se revisaron los párpados y anexos, conjuntiva y esclera, córnea, cámara anterior, iris y cristalino. Con apoyo de una lupa de no contacto super field, se apreció el segmento posterior del ojo evaluando papila, emergencia de vasos, mácula y retina, con un campo de visión de 95°/116°.

Toma de muestra de lágrima

El oftalmólogo realizó la toma de muestra de lágrima, se uso una tira de Schirmer la cual se colocó gentilmente en el margen palpebral inferior de cada ojo. Las tiras se retiraron a los 5 minutos, se colocaron en tubos de Eppendorf y se congelaron a -80 hasta su análisis. Las tiras se colocaron en 280ul de solución salina fosfatada para la elución de la proteína y se centrifugaron a 10, 000 x g por 10 segundos en una centrifuga. La cuantificación de α -sinucleína oligomérica se realizó por la técnica ELISA de acuerdo a las indicaciones del fabricante. El kit fue el de α -sinucleína oligomérica (MBS043824, MyBiosource.com, CA, USA), sensibilidad 1.0ng/mL, prueba específica para detección de α -sinucleína oligomérica en fluidos humanos. Este kit se uso previamente para determinación de α -sinucleína oligomérica en saliva y también en lágrima. Los datos del ELISA fueron adquiridos y validados en el sistema Bio-Plex. Suspensión Array 200 system (MAP™ Technology; TX, USA), software gen 5.1. Las mediciones se realizaron de acuerdo al protocolo del fabricante. Todas las medidas se realizaron por duplicado y se promediaron.

Tomografía de coherencia óptica (OCT)

El oftalmólogo realizó los estudios de OCT Spectralis (Heidelberg Engineering, Heidelberg, Germany) de retina de ambos ojos. Las mediciones se realizaron a 1mm, 3mm y 6mm según la división del EDRTS (Tratamiento Precoz de la Retinopatía Diabética). Después se analizaron las imágenes y se segmentaron para obtener el grosor de cada una de las capas de la retina.

Las capas de retina que se analizaron son las siguientes: capa de fibras nerviosas (CFN), capa de células ganglionares (CCG), capa plexiforme interna (CPI), capa nuclear interna (CNI), capa plexiforme externa (CPE), capa nuclear externa (CNE), epitelio pigmentario de la retina (EPR), capas de retina interna (CRI), que incluyen CFN, CCG, CPI y CNI; las capas de retina externa (CRE), que incluyen CPE, CNE y EPR; y grosor macular total.

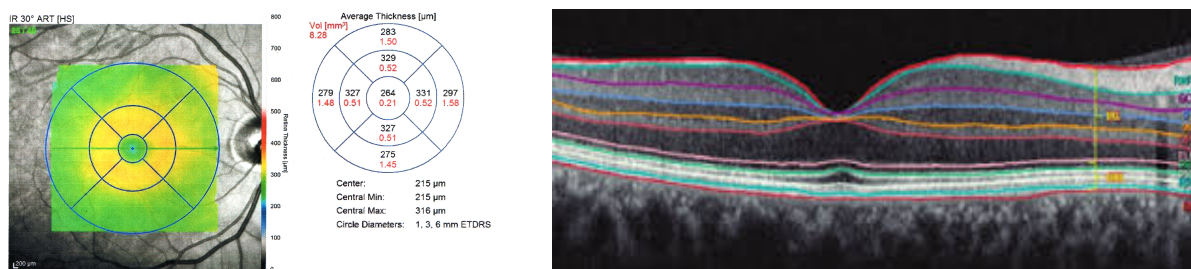


Imagen 1. Tomografía de coherencia óptica de mácula.

e) Análisis Estadístico

- Análisis univariado para evaluar la calidad de los datos recolectados incluyendo datos faltantes, datos completos y estadística descriptiva con medidas de tendencia central y de dispersión; en términos de porcentajes para variables nominales, mediana y rango para variables ordinales, y media y desviación estándar para variables dimensionales.
- Pruebas de normalidad (Kolmogorov Smirnov) para determinar si la distribución de las variables numéricas es normal o no-normal. Adicionalmente dado el tamaño de muestra seleccionado se evaluó la normalidad mediante la Prueba de Schapiro-Wilk.
- Análisis bivariado con prueba de U de Mann Whitney para variables numéricas.
- Coeficiente de correlación de Spearman entre los niveles de α -sinucleína oligomérica, grosores de las capas de retina y macular.
- Se consideró significancia estadística una $p < 0.05$

8) CONSIDERACIONES ÉTICAS

Todos los pacientes participantes otorgaron su consentimiento y firmaron el formulario de Consentimiento Informado. El protocolo de investigación se sometió y se autorizó por los comités locales de investigación y ética de cada centro. Dicho procedimiento se llevó a cabo previo al inicio del reclutamiento.

El estudio garantiza los aspectos bioéticos inherentes a los estudios de investigación clínica como son confidencialidad de la información obtenida, principio de autonomía de los sujetos participantes, principio de beneficencia y consentimiento informado, sin tener conflicto de intereses y permitiendo el acceso a documentos fuente en caso de ser solicitado por autoridades normativas.

El estudio se considera de investigación con riesgo mínimo de acuerdo al artículo del reglamento de la Ley General de Salud en Materia de Investigación para la Salud tratándose de procedimientos comunes en exámenes físicos o psicológicos de diagnósticos o tratamiento rutinarios. Así mismo se apega a las pautas establecidas en la Declaración de Helsinki.

Se observaron los requerimientos éticos y regulatorios para cumplir con los Principios de Buena Práctica Clínica (GCP, Good Clinical Practices) de la Conferencia Internacional de Armonización (ICH, International Conference on Harmonisation) para la conducción y supervisión de investigaciones clínicas. Al firmar este protocolo el investigador se adhiere y está de acuerdo con estos requerimientos.

9) CONSIDERACIONES FINANCIERAS

a) Recursos

- Recursos materiales: Área física de Laboratorio Clínico de Enfermedades Neurodegenerativas en el Instituto Nacional de Neurología y Neurocirugía. Área física del departamento de Segmento Anterior del ojo y Centro de Investigación Biomédica de la Fundación Hospital "Nuestra Señora de la Luz" I.A.P.
- Recursos humanos: Equipo integrado por un neurólogo en movimientos anormales y oftalmólogo.

b) Recursos solicitados

- Kits para método de ELISA para la determinación de α -sinucleína oligomérica en lágrima.
- Estudios de tomografía de coherencia óptica.
- El estudio fue financiado por la Fundación Hospital "Nuestra Señora de la Luz" I.A.P.

10) RESULTADOS

Se analizaron un total de 50 ojos de 25 pacientes con enfermedad de Parkinson (8 mujeres [32%] y 17 hombres [68%]; edad media 62.84 ± 8.55 años) y 76 ojos de 38 controles (9 mujeres [24%] y 29 hombres [76%]; edad media 62.65 ± 8.60 años). A pesar de no estar pareados, no existió diferencia estadística significativa en cuanto sexo y edad entre los dos grupos. En la Tabla 4 se describen las características clínicas de los participantes.

Tabla 4. Características clínicas de los sujetos

Variable	EP	Control	p
Número de individuos	25	38	
Sexo: M/F	17/8	29/9	0.467
Edad, años media (DE)	62.84 ± 8.55	62.65 ± 8.60	0.910
Lateralidad de inicio, izquierdo n(%)	14 (56%)		
Duración de la enfermedad, años media (DE)	9.66 ± 9.02		

Estadio Hoehn & Yahr n(%)

1	2 (8)
2	14(56)
3	8 (32)
4	1 (4)

MDS-UPDRS, media (DE)

Parte I	9.86± 7.16
Parte II	11.04±10.44
Parte III	34.08±13.44
Parte IV	2.23±3.97
Total	55.09±21.89

Fenotipo motor, n(%)

Tremorígeno	12 (48)
Inestabilidad postural y alteración de la marcha	7 (28)
Indeterminado	6 (24)

Tratamiento n(%)

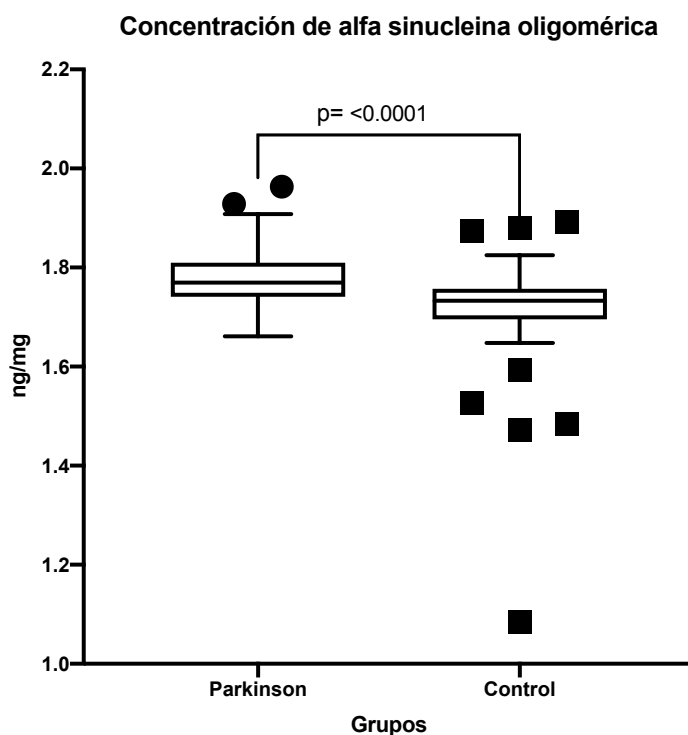
Precursor de dopamina	21(84)
Agonista dopaminérgico	16 64)
Inhibidores MAO	6 (24)
Inhibidores COMT	0

Abreviaturas: DE: desviación estándar

Evaluación de α -sinucleína oligomérica en lágrima

La concentración de α -sinucleína oligomérica en lágrima es mayor en EP al compararla con controles (1.78 ± 0.06 vs 1.73 ± 0.08 , $p<0.001$). Gráfica 1.

Gráfica 1. Concentración de α -sinucleína oligomérica en lágrima en EP en comparación con controles.



No existe correlación entre α -sinucleína oligomérica en lágrima y las variables clínicas, incluyendo subtipo motor ($p=0.976$), duración de la enfermedad años ($p=0.389$), estadio H&Y ($p=0.349$) y puntaje MDS-UPDRS III ($p=0.199$).

No existe relación entre los niveles de α -sinucleína oligomérica en lágrima y la lateralidad de inicio de los síntomas de la EP ($p=0.222$).

Evaluación de grosor y volumen de capas de retina

Al comparar con controles, la CFN presentó reducción en el volumen central (0.01 ± 0.01 vs 0.01 ± 0.01 , $p=0.030$), a los 3 mm (0.30 ± 0.40 vs 0.31 ± 0.04 , $p=0.029$) y a los 6 mm (0.83 ± 0.10 vs 0.87 ± 0.01 , $p=0.031$) en EP. Existe disminución del volumen a los 6 mm en la CCG (1.02 ± 0.12 vs 1.05 ± 0.16 , $p=0.050$) y CPI (0.87 ± 0.07 vs 0.90 ± 0.08 , $p=0.010$) al comparar con controles.

Así mismo, la CNI en EP mostró menor volumen a los 3 mm (0.26 ± 0.02 vs 0.31 ± 0.31 , $p=0.010$) y a los 6 mm (0.95 ± 0.07 vs 0.99 ± 0.07 , $p=0.005$). El volumen a los 3 mm de la CPI fue mayor en EP al compararlo con controles (0.23 ± 0.03 vs 0.22 ± 0.03 , $p=0.025$).

En la CNE el grosor central, volumen central, volumen a los 3 y 6 mm fueron más delgados en EP que los controles. Este adelgazamiento fue estadísticamente significativo ($p=0.001$).

Al evaluar las capas internas de la retina, existe menor grosor y volumen en EP que los controles ($p<0.05$). En contraste con las capas externas de la retina que presentaron mayor grosor y volumen en EP en comparación a los controles ($p<0.05$).

El grosor macular central en EP fue menor que los controles (258.56 ± 25.37 vs $263.39\pm21.31\mu\text{m}$, $p=0.149$). El volumen macular del grupo de EP fue menor que los controles en todas las regiones. La reducción en el volumen macular no fue estadísticamente significativo en el centro, solo a los 3 y 6 mm de la mácula.

Tabla 5. Grosor y volumen de capas de retina en EP y controles

Capa de retina	EP (n=25)	Control (n=38)	p*
	Media (DE)	Media (DE)	
Capa de fibras nerviosas			
Grosor central (μm)	10.65 $\pm$ 2.93	10.71 $\pm$ 2.22	0.610
Volumen central (mm)	0.01 $\pm$ 0.01	0.01 $\pm$ 0.01	0.030
Volumen 3 mm	0.14 $\pm$ 0.02	0.15 $\pm$ 0.01	0.029
Volumen 6 mm	0.83 $\pm$ 0.10	0.87 $\pm$ 0.01	0.031
Capa de células ganglionares			
Grosor central (μm)	11.86 $\pm$ 3.51	11.86 $\pm$ 2.75	0.671
Volumen central	0.01 $\pm$ 0.01	0.01 $\pm$ 0.01	0.218
Volumen 3 mm	0.30 $\pm$ 0.40	0.31 $\pm$ 0.04	0.137
Volumen 6 mm	1.02 $\pm$ 0.12	1.05 $\pm$ 0.16	0.050
Capa plexiforme interna			
Grosor central (μm)	18.14 $\pm$ 3.63	18.07 $\pm$ 2.99	0.781
Volumen central	0.01 $\pm$ 0.01	0.01 $\pm$ 0.01	0.167
Volumen 3 mm	0.26 $\pm$ 0.03	0.26 $\pm$ 0.03	0.307
Volumen 6 mm	0.87 $\pm$ 0.07	0.90 $\pm$ 0.08	0.010
Capa nuclear interna			
Grosor central (μm)	18.30 $\pm$ 6.47	19.32 $\pm$ 5.52	0.123
Volumen central	0.01 $\pm$ 0.01	0.02 $\pm$ 0.01	0.065
Volumen 3 mm	0.26 $\pm$ 0.02	0.31 $\pm$ 0.31	0.010
Volumen 6 mm	0.95 $\pm$ 0.07	0.99 $\pm$ 0.07	0.005

Capa plexiforme externa			
Grosor central (µm)	24.80±6.08	23.05±5.48	0.169
Volumen central	0.02±0.01	0.02±0.01	0.146
Volumen 3 mm	0.23±0.03	0.22±0.03	0.025
Volumen 6 mm	0.83±0.06	0.82±0.75	0.344
Capa nuclear externa			
Grosor central (µm)	86.72±13.0	95.50±10.99	<0.001
Volumen central	0.07±0.01	0.08±0.01	<0.001
Volumen 3 mm	0.48±0.07	0.52±0.06	0.001
Volumen 6 mm	1.63±0.18	1.73±0.19	0.001
Epitelio pigmentario			
Grosor central (µm)	15.74±1.72	17.14±4.77	0.009
Volumen central	0.01±0.01	0.01±0.01	0.324
Volumen 3 mm	0.11±0.02	0.11±0.09	0.108
Volumen 6 mm	0.39±0.03	0.41±0.04	0.005
Capas internas de la retina			
Grosor central (µm)	170.20±25.87	177.42±21.39	0.046
Volumen central	0.13±0.02	0.29±1.26	0.020
Volumen 3 mm	1.68±0.12	1.74±0.12	0.007
Volumen 6 mm	6.14±0.36	6.29±0.82	0.002
Capas externas de la retina			
Grosor central (µm)	88.32±5.19	85.76±4.04	0.004
Volumen central	0.07±0.01	0.07±0.01	0.013
Volumen 3 mm	0.59±0.03	0.58±0.07	0.002
Volumen 6 mm	2.26±0.08	2.22±0.06	0.003
Mácula			
Grosor central (µm)	258.56±25.37	263.39±21.31	0.149
Volumen central	0.20±0.02	0.21±0.02	0.139
Volumen 3 mm	2.27±0.11	2.31±0.12	0.032
Volumen 6 mm	8.40±0.36	8.60±0.44	0.003

*U de Mann-Whitney

DE: desviación estándar

Relación entre α -sinucleína oligomérica en lágrima y capas de retina

Existe una correlación leve entre α -sinucleína oligomérica y el grosor central de la capa de fibras nerviosas ($r=0.238$, $p=0.04$), y con el volumen central de la capa nuclear interna ($r=0.350$, $p=0.01$). En el resto de las capas de retina no hay correlación con la α -sinucleína oligomérica en lágrima.

11) DISCUSIÓN

La α -sinucleína oligomérica es una proteína que se encuentra elevada en la lágrima refleja de los pacientes con EP al compararlos con los controles. Similar a lo reportado en la literatura por Hamm-Alvarez et al. (2.85[1.14-5.37]).⁵⁵ En el presente estudio se utilizaron tiras de Schirmer para coleccionar la lágrima refleja debido a sus ventajas como sencillez, seguridad y adecuada tolerancia por los pacientes.⁵⁶ La cuantificación se realizó mediante la técnica ELISA por duplicado en cada sujeto. Se ha reportado la cuantificación de α -sinucleína total y oligomérica en fluidos biológicos por la técnica de ELISA o por el sistema de matriz de molécula única ultrasensible (SIMOA).⁵⁷

La α -sinucleína oligomérica es una proteína que forma parte de la lágrima refleja. A las lágrimas se les clasifica en cuatro tipos: basales, reflejas, emocionales y de ojo cerrados. En la superficie ocular se encuentran nociceptores polimodales que tienen la capacidad de regular a las lágrimas reflejas. El cuerpo de las neuronas sensoriales se localiza a nivel del ganglio del nervio trigémino y se proyecta al núcleo salivatorio superior que regula la secreción lagrimal y el parpadeo. Las terminales trigeminales frías mueren con el paso de los años, en consecuencia, también las fibras aferentes frías, y, como resultado existe un incremento en la incidencia de ojo seco por la edad. Las lágrimas reflejas no se alteran por la edad, debido a que este lagrimeo es independiente de los termorreceptores fríos. La EP es una patología que se presenta principalmente en edad avanzada, por lo que, es conveniente estudiar la lágrima refleja que no se ve afectada por la edad.

La glándula lagrimal tiene influencia directa por el sistema nervioso autónomo y recibe inervación de neuronas colinérgicas y dopaminérgicas, cambios en esta vía neural tiene impacto en la composición de las proteínas secretadas en las lágrimas.^{58,59} Además, el epitelio corneal es uno de los tejidos más inervados en el cuerpo, su parte externa interactúa directamente con la

lágrima.^{60,61} Debido a que la producción de la lágrima refleja se basa en sentir el estímulo en la superficie ocular, cualquier alteración en los nervios corneales, como en la EP,⁶² podría afectar la señalización de la vía aferente para estimular a la lágrima.

En el presente estudio, la concentración de α -sinucleína oligomérica en lágrima fue mayor en EP que en los controles (1.78 ± 0.06 vs 1.73 ± 0.08 , $p < 0.001$). Similar a lo reportado en otros estudios de lágrima refleja⁵⁵ [3.65 (1.14 – 7.38) vs 0.66 (0.27 – 1.18), $p < 0.001$] y lágrima basal⁶³ [1.68 (0.32 – 3.82) vs 0.44 (0.05 – 1.17), $p < 0.001$].

No existió correlación significativa entre α -sinucleína oligomérica en lágrima y el puntaje de MDS-UPDRS III o del estadio H&Y. Estos resultados pueden indicar que la α -sinucleína oligomérica en lágrima no se relaciona con los síntomas motores de la EP, y no refleja la severidad de la enfermedad. Así mismo, otros estudios no han mostrado relación con estas variables.^{55,57} Nuestra población al igual que estudios previos estaba formada principalmente por estadios H&Y 2 y 3. Es necesario tener una población con diferentes estadios de severidad para determinar si los niveles de α -sinucleína oligomérica en lágrima refleja tienen impacto en dichas características clínicas.

Una de las características de la enfermedad es que sus síntomas motores inician de manera asimétrica. En nuestro estudio, los niveles de α -sinucleína oligomérica en lágrima no se relacionan con la lateralidad de inicio de los síntomas de la EP. En estudios similares, pero realizados a nivel del grosor foveal, Young et al.⁶⁴ reportó que la fovea conservaba su simetría interocular, a diferencia de lo reportado por Shrier et al.⁶⁵ en donde existía asimetría interocular en el grosor foveal.

Al segmentar las capas de la retina, el volumen a los 6mm de la CFN estaba más delgada en pacientes con EP en comparación con controles. Algunos estudios reportan un adelgazamiento significativo en esta capa de la retina.^{66,67} También, existe disminución del volumen de CCG, CPI, CNI, CNE y EPR en EP. Estos resultados son consistentes con la literatura, donde se reporta adelgazamiento de estas capas. García Martín et al.⁶⁶ describieron una disminución de volumen en CCG, CPI, CPE (3.19%, 2.93%, 1.92%) y en la CFN en un estudio realizado en 129 pacientes con EP comparados con controles; hallazgos similares a los de Chorostecki et al.⁶⁸ con 101 pacientes con EP reportando disminución de volumen en CPI y CNI (5.68% y 3.09%). Polo et al.⁶⁹ reportó en 37 pacientes con EP pareados con controles; una disminución de 2.75% en CCG y CPI, sin diferencia en espesores maculares.

Algunos autores sugieren que el adelgazamiento de las capas internas de la retina es secundario a la pérdida de células dopaminérgicas, pero la fracción de los cuerpos de células dopaminérgicas en la capa nuclear interna es limitada y, por lo tanto, es poco probable que explique el adelgazamiento de la CNI. Sin embargo, cuando existe pérdida de los procesos dopaminérgicos en la CPI, puede explicar el adelgazamiento de la retina interna.⁷⁰⁻⁷²

Por otra parte, la CPE mostro un incremento en el grosor y volumen a los 3 y 6mm, pero solo el volumen a los 3mm fue estadísticamente significativo. Chorostecki J. et al. también describieron un engrosamiento de la CPE. Estudios de histopatología demuestran la agregación de alfa-sinucleína en la retina. Se ha descrito la inmunoreactividad de alfa-sinucleína en la CPE de la retina. Una de las hipótesis es que la agregación de alfa-sinucleína en la CPE puede contribuir al incremento del grosor de esta capa.⁶⁸

Al realizar la segmentación dividiendo a las capas de retina en interna y externa, las capas de retina interna se encontraron con un volumen menor en EP, al contrario de las capas externas que presentaron un volumen mayor en EP al compararlas con los controles. Al igual que Adam CR 51 reportó en 14 pacientes con EP y 14 controles, adelgazamiento perifoveal en las capas internas en EP.

En cuanto al grosor macular, todos los valores fueron menores en EP, pero solo el volumen a los 3 mm y 6 mm fueron significativos. Varios estudios han reportado adelgazamiento en el volumen macular.^{44,45,48} y otros no describen diferencias.^{43,47,73}

El cerebro, el ojo y la lágrima están relacionados ya que comparten un origen embrionario en común, el ectodermo. En nuestro estudio, hubo una correlación leve entre α -sinucleína oligomérica y el grosor central de la capa de fibras nerviosas ($r=0.238$, $p=0.04$), y con el volumen central de la capa nuclear interna ($r=0.350$, $p=0.01$). En un estudio postmortem estudiaron 4 ojos de 3 sujetos con EP y 12 ojos de 8 controles, demostraron el acúmulo de α -sinucleína en las capas internas de la retina tanto en el centro como en la periferia (CCG, CPI y CNI).⁷⁴ En estudios histopatológicos, se ha demostrado que la alfa-sinucleína en retinas de controles es abundante en los segmentos externos de los fotorreceptores, en la CPE, CNI y CPI. En EP, los estudios son heterogéneos, pero en general reportan α -sinucleína fosforilada en la CFN, CCG y CPI.^{75,76}

Este estudio tiene varias limitaciones, la muestra no fue pareada y además fue una muestra homogénea. Se requiere ampliar el tamaño de la muestra para que sea más heterogénea e incluya pacientes en diferentes estadios de la enfermedad, esto podría mostrar una correlación mas fuerte entre α -sinucleína oligomérica en lágrima y el volumen de la capa nuclear interna de la retina. Además, no se realizó la comparación entre los niveles de α -sinucleína oligomérica en lagrima y suero. Como se menciono previamente, la muestra de pacientes no reflejó los diferentes estadios de la enfermedad.

12) CONCLUSIÓN

Existe una diferencia significativa en la concentración de α -sinucleína oligomérica en lágrima refleja, lo que facilita la diferenciación entre EP y controles. Además, existe adelgazamiento de las capas internas de la retina y engrosamiento de las capas externas de la retina en EP al compararlas con controles. Existe una correlación leve entre de α -sinucleína oligomérica en lágrima refleja y el volumen central de la capa nuclear interna en EP en comparación con controles. La combinación de estos biomarcadores podrían ser una herramienta diagnóstica en los pacientes con EP. Sin embargo, se requiere una muestra mayor y que incluya diferentes estadios de la enfermedad para confirmar el valor significativo de este estudio.

13) REFERENCIAS

1. Van Den Eeden SK, Tanner CM, Bernstein AL, et al. Incidence of Parkinson's disease: variation by age, gender, and race/ethnicity. *Am J Epidemiol*. 2003;157(11):1015-1022. Accessed February 1, 2017. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12777365>
2. Dorsey ER, Constantinescu R, Thompson JP, et al. Projected number of people with Parkinson disease in the most populous nations, 2005 through 2030. *Neurology*. 2007;68(5):384-386. doi:10.1212/01.wnl.0000247740.47667.03
3. Klein C, Schlossmacher MG. Parkinson disease, 10 years after its genetic revolution: multiple clues to a complex disorder. *Neurology*. 2007;69(22):2093-2104. doi:10.1212/01.wnl.0000271880.27321.a7
4. Raza C, Anjum R, Shakeel N ul A. Parkinson's disease: Mechanisms, translational models and management strategies. *Life Sci*. 2019;226:77-90. doi:10.1016/j.lfs.2019.03.057
5. Rodríguez-Violante M, Cervantes-Arriaga A, Villar-Velarde A, Corona T. Relación entre el tipo y lado de inicio de la sintomatología motora con la frecuencia de síntomas no motores en la enfermedad de Parkinson. *Neurología*. 2011;26(6):319-324. doi:10.1016/J.NRL.2010.12.008
6. Rodríguez-Violante M, Cervantes-Arriaga A. Detección y manejo de síntomas no motores en la enfermedad de Parkinson: impacto en su prevalencia. *Rev Med Chil*. 2011;139(8):1032-1038. doi:10.4067/S0034-98872011000800008
7. Hoehn MM, Yahr MD. Parkinsonism: onset, progression and mortality. *Neurology*. 1967;17(5):427-442. Accessed May 12, 2019. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/6067254>
8. Urwyler P, Nef T, Killen A, et al. Visual complaints and visual hallucinations in Parkinson's disease. *Parkinsonism Relat Disord*. 2014;20(3):318-322. doi:10.1016/j.parkreldis.2013.12.009
9. Ekker MS, Janssen S, Seppi K, et al. Ocular and visual disorders in Parkinson's disease: Common but frequently overlooked. *Park Relat Disord*. 2017;40:1-10. doi:10.1016/j.parkreldis.2017.02.014
10. Veys L, Vandenabeele M, Ortuño-Lizarán I, et al. Retinal α -synuclein deposits in Parkinson's disease patients and animal models. *Acta Neuropathol*. 2019;137(3):379-395. doi:10.1007/s00401-018-01956-z
11. Weil RS, Schrag AE, Warren JD, Crutch SJ, Lees AJ, Morris HR. Visual dysfunction in Parkinson's disease. *Brain*. 2016;139(11):2827-2843. doi:10.1093/brain/aww175

12. Maroteaux L, Campanelli JT, Scheller RH. Synuclein: a neuron-specific protein localized to the nucleus and presynaptic nerve terminal. *J Neurosci*. 1988;8(8):2804-2815. Accessed February 6, 2017. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/3411354>
13. Jakes R, Spillantini MG, Goedert M. Identification of two distinct synucleins from human brain. *FEBS Lett*. 1994;345(1):27-32. Accessed February 6, 2017. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/8194594>
14. Hashimoto M, Yoshimoto M, Sisk A, et al. NACP, a Synaptic Protein Involved in Alzheimer's Disease, Is Differentially Regulated during Megakaryocyte Differentiation. *Biochem Biophys Res Commun*. 1997;237(3):611-616. doi:10.1006/bbrc.1997.6978
15. Askanas V, Engel WK, Alvarez RB, McFerrin J, Broccolini A. Novel immunolocalization of alpha-synuclein in human muscle of inclusion-body myositis, regenerating and necrotic muscle fibers, and at neuromuscular junctions. *J Neuropathol Exp Neurol*. 2000;59(7):592-598. Accessed February 6, 2017. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10901230>
16. Shin EC, Cho SE, Lee DK, et al. Expression patterns of alpha-synuclein in human hematopoietic cells and in *Drosophila* at different developmental stages. *Mol Cells*. 2000;10(1):65-70. Accessed February 6, 2017. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10774749>
17. Tamo W, Imaizumi T, Tanji K, et al. Expression of alpha-synuclein, the precursor of non-amyloid beta component of Alzheimer's disease amyloid, in human cerebral blood vessels. *Neurosci Lett*. 2002;326(1):5-8. Accessed February 6, 2017. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12052525>
18. Kim S, Jeon BS, Heo C, et al. Alpha-synuclein induces apoptosis by altered expression in human peripheral lymphocyte in Parkinson's disease. *FASEB J*. 2004;18(13):1615-1617. doi:10.1096/fj.04-1917fje
19. Ltic S, Perovic M, Mladenovic A, et al. Alpha-synuclein is expressed in different tissues during human fetal development. *J Mol Neurosci*. 2004;22(3):199-204. Accessed February 6, 2017. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/14997013>
20. Nakai M, Fujita M, Waragai M, et al. Expression of alpha-synuclein, a presynaptic protein implicated in Parkinson's disease, in erythropoietic lineage. *Biochem Biophys Res Commun*. 2007;358(1):104-110. doi:10.1016/j.bbrc.2007.04.108
21. Ueda K, Saitoh T, Mori H. Tissue-Dependent Alternative Splicing of mRNA for NACP, the Precursor of Non-A β Component of Alzheimer's Disease Amyloid. *Biochem Biophys Res Commun*. 1994;205(2):1366-1372. doi:10.1006/bbrc.1994.2816
22. Campion D, Martin C, Heilig R, et al. The NACP/synuclein gene: chromosomal assignment

- and screening for alterations in Alzheimer disease. *Genomics*. 1995;26(2):254-257. doi:10.1016/0888-7543(95)80208-4
23. Bengoa-Vergniory N, Roberts RF, Wade-Martins R, Alegre-Abarrategui J. Alpha-synuclein oligomers: a new hope. *Acta Neuropathol*. 2017;134(6):819-838. doi:10.1007/s00401-017-1755-1
 24. Desplats P, Lee H-J, Bae E-J, et al. Inclusion formation and neuronal cell death through neuron-to-neuron transmission of α -synuclein. *Proc Natl Acad Sci*. 2009;106(31):13010-13015. doi:10.1073/pnas.0903691106
 25. Kordower JH, Chu Y, Hauser RA, Freeman TB, Olanow CW. Lewy body–like pathology in long-term embryonic nigral transplants in Parkinson’s disease. *Nat Med*. 2008;14(5):504-506. doi:10.1038/nm1747
 26. Li J-Y, Englund E, Holton JL, et al. Lewy bodies in grafted neurons in subjects with Parkinson’s disease suggest host-to-graft disease propagation. *Nat Med*. 2008;14(5):501-503. doi:10.1038/nm1746
 27. Hatano T, Kubo S, Sato S, Hattori N. Pathogenesis of familial Parkinson’s disease: new insights based on monogenic forms of Parkinson’s disease. *J Neurochem*. 2009;111(5):1075-1093. doi:10.1111/j.1471-4159.2009.06403.x
 28. Borghi R, Marchese R, Negro A, et al. Full length alpha-synuclein is present in cerebrospinal fluid from Parkinson’s disease and normal subjects. *Neurosci Lett*. 2000;287(1):65-67. Accessed February 14, 2017. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10841992>
 29. Öhrfelt A, Grognet P, Andreasen N, et al. Cerebrospinal fluid α -synuclein in neurodegenerative disorders—A marker of synapse loss? *Neurosci Lett*. 2009;450(3):332-335. doi:10.1016/j.neulet.2008.11.015
 30. Tokuda T, Qureshi MM, Ardah MT, et al. Detection of elevated levels of α -synuclein oligomers in CSF from patients with Parkinson disease. *Neurology*. 2010;75(20):1766-1770. doi:10.1212/WNL.0b013e3181fd613b
 31. Feigenbaum D, Lew M, Janga S, et al. Tear Proteins as Possible Biomarkers for Parkinson’s Disease (S3.006). *Neurology*. 2018;90(15 Supplement).
 32. Ortuño-Lizarán I, Beach TG, Serrano GE, Walker DG, Adler CH, Cuenca N. Phosphorylated α -synuclein in the retina is a biomarker of Parkinson’s disease pathology severity. *Mov Disord*. Published online May 8, 2018. doi:10.1002/mds.27392
 33. Shalash A, Salama M, Makar M, et al. Elevated Serum α -Synuclein Autoantibodies in Patients with Parkinson’s Disease Relative to Alzheimer’s Disease and Controls. *Front*

- Neurol.* 2017;8:720. doi:10.3389/fneur.2017.00720
34. Hansson O, Hall S, Ohrfelt A, et al. Levels of cerebrospinal fluid α -synuclein oligomers are increased in Parkinson's disease with dementia and dementia with Lewy bodies compared to Alzheimer's disease. *Alzheimers Res Ther.* 2014;6(3):25. doi:10.1186/alzrt255
 35. Kang W, Chen W, Yang Q, et al. Salivary total α -synuclein, oligomeric α -synuclein and SNCA variants in Parkinson's disease patients. *Sci Rep.* 2016;6(1):28143. doi:10.1038/srep28143
 36. Vivacqua G, Latorre A, Suppa A, et al. Abnormal Salivary Total and Oligomeric Alpha-Synuclein in Parkinson's Disease. Kahle PJ, ed. *PLoS One.* 2016;11(3):e0151156. doi:10.1371/journal.pone.0151156
 37. Korshunov KS, Blakemore LJ, Trombley PQ. Dopamine: A Modulator of Circadian Rhythms in the Central Nervous System. *Front Cell Neurosci.* 2017;11(April):1-17. doi:10.3389/fncel.2017.00091
 38. Al-Mujaini A, Wali UK, Azeem S. Optical coherence tomography: clinical applications in medical practice. *Oman Med J.* 2013;28(2):86-91. doi:10.5001/omj.2013.24
 39. Lee J-Y, Kim JM, Ahn J, Kim H-J, Jeon BS, Kim TW. Retinal nerve fiber layer thickness and visual hallucinations in Parkinson's Disease. *Mov Disord.* 2014;29(1):61-67. doi:10.1002/mds.25543
 40. Albrecht P, Müller A-K, Südmeyer M, et al. Optical Coherence Tomography in Parkinsonian Syndromes. Paul F, ed. *PLoS One.* 2012;7(4):e34891. doi:10.1371/journal.pone.0034891
 41. Kiss S, Jane S, Myung JS, Grant D, Aaker JR, Henchcliffe C, Mujtaba Mohammed C, Kiss S. Detection of retinal changes in Parkinson's disease with spectral-domain optical coherence tomography. *Clin Ophthalmol.* 2010;4:1427. doi:10.2147/OPTH.S15136
 42. Archibald NK, Clarke MP, Mosimann UP, Burn DJ. Retinal thickness in Parkinson's disease. *Parkinsonism Relat Disord.* 2011;17(6):431-436. doi:10.1016/j.parkreldis.2011.03.004
 43. Cubo E, López Peña MJ, Diez-Feijo Varela E, et al. Lack of association of morphologic and functional retinal changes with motor and non-motor symptoms severity in Parkinson's disease. *J Neural Transm.* 2014;121(2):139-145. doi:10.1007/s00702-013-1093-y
 44. Altıntaş Ö, Işeri P, Özkan B, Çağlar Y. Correlation between retinal morphological and functional findings and clinical severity in Parkinson's disease. *Doc Ophthalmol.* 2008;116(2):137-146. doi:10.1007/s10633-007-9091-8
 45. Garcia-Martin E, Satue M, Otin S, et al. RETINA MEASUREMENTS FOR DIAGNOSIS OF PARKINSON DISEASE. *Retina.* 2014;34(5):971-980.

doi:10.1097/IAE.0000000000000028

46. Ma L-J, Xu L-L, Mao C, et al. Progressive Changes in the Retinal Structure of Patients with Parkinson's Disease. *J Parkinsons Dis*. 2018;8(1):85-92. doi:10.3233/JPD-171184
47. Albrecht P, Ringelstein M, Müller A, et al. Degeneration of retinal layers in multiple sclerosis subtypes quantified by optical coherence tomography. *Mult Scler J*. 2012;18(10):1422-1429. doi:10.1177/1352458512439237
48. Schneider M, Müller H-P, Lauda F, et al. Retinal single-layer analysis in Parkinsonian syndromes: an optical coherence tomography study. *J Neural Transm*. 2014;121(1):41-47. doi:10.1007/s00702-013-1072-3
49. Shrier EM, Adam CR, Spund B, Glazman S, Bodis-Wollner I. Interocular Asymmetry of Foveal Thickness in Parkinson Disease. *J Ophthalmol*. 2012;2012:1-6. doi:10.1155/2012/728457
50. Hajee ME, March WF, Lazzaro DR, et al. Inner retinal layer thinning in Parkinson disease. *Arch Ophthalmol (Chicago, Ill 1960)*. 2009;127(6):737-741. doi:10.1001/archophthalmol.2009.106
51. Adam CR, Shrier E, Ding Y, Glazman S, Bodis-Wollner I. Correlation of Inner Retinal Thickness Evaluated by Spectral-Domain Optical Coherence Tomography and Contrast Sensitivity in Parkinson disease. *J Neuro-Ophthalmology*. 2013;33(2):137-142. doi:10.1097/WNO.0b013e31828c4e1a
52. Spund B, Ding Y, Liu T, et al. Remodeling of the fovea in Parkinson disease. *J Neural Transm*. 2013;120(5):745-753. doi:10.1007/s00702-012-0909-5
53. Satue M, Garcia-Martin E, Fuertes I, et al. Use of Fourier-domain OCT to detect retinal nerve fiber layer degeneration in Parkinson's disease patients. *Eye*. 2013;27(4):507-514. doi:10.1038/eye.2013.4
54. Rodríguez-Violante M, Villar-Velarde A, Valencia-Ramos C, Cervantes-Arriaga A. *Abril-Junio 2011 | Características Epidemiológicas de Pacientes Con Enfermedad de Parkinson Arch Neurocién (Mex) INNN*. Vol 64.; 2011. Accessed May 12, 2019. <https://www.medigraphic.com/pdfs/arcneu/ane-2011/ane112d.pdf>
55. Hamm-Alvarez SF, Janga SR, Edman MC, et al. Levels of oligomeric α -Synuclein in reflex tears distinguish Parkinson's disease patients from healthy controls. *Biomark Med*. 2019;13(17):1447-1457. doi:10.2217/bmm-2019-0315
56. Posa A, Bräuer L, Schicht M, Garreis F, Beileke S, Paulsen F. Schirmer strip vs. capillary tube method: Non-invasive methods of obtaining proteins from tear fluid. *Ann Anat*. 2013;195(2):137-142. doi:10.1016/j.aanat.2012.10.001

57. Maass F, Rikker S, Dambeck V, et al. Increased alpha-synuclein tear fluid levels in patients with Parkinson's disease. *Sci Rep.* 2020;10(1):1-5. doi:10.1038/s41598-020-65503-1
58. Tamer C, Melek IM, Duman T, Öksüz H. Tear Film Tests in Parkinson's Disease Patients. *Ophthalmology.* 2005;112(10):1795.e1-1795.e8. doi:10.1016/j.ophtha.2005.04.025
59. Bohnen NI, Kanel P, Zhou Z, et al. Cholinergic system changes of falls and freezing of gait in Parkinson's disease. *Ann Neurol.* 2019;85(4):538-549. doi:10.1002/ana.25430
60. Bonini S, Rama P, Olzi D, Lambiase A. Neurotrophic keratitis. *Eye.* 2003;17(8):989-995. doi:10.1038/sj.eye.6700616
61. Hodges RR, Dartt DA. Regulatory Pathways in Lacrimal Gland Epithelium. *Int Rev Cytol.* 2003;231:129-196. doi:10.1016/S0074-7696(03)31004-6
62. Che NN, Yang HQ. Potential use of corneal confocal microscopy in the diagnosis of Parkinson's disease associated neuropathy. *Transl Neurodegener.* 2020;9(1). doi:10.1186/s40035-020-00204-3
63. Hamm-Alvarez SF, Okamoto CT, Janga SR, et al. Oligomeric α -synuclein is increased in basal tears of Parkinson's patients. *Biomark Med.* 2019;13(11):941-952. doi:10.2217/bmm-2019-0167
64. Young JB, Godara P, Williams V, et al. Assessing Retinal Structure in Patients with Parkinson's Disease. *J Neurol Neurophysiol.* 2019;10(1):485. doi:10.4172/2155-9562.1000485
65. Shrier EM, Adam CR, Spund B, Glazman S, Bodis-Wollner I. Interocular Asymmetry of Foveal Thickness in Parkinson Disease. *J Ophthalmol.* 2012;2012:1-6. doi:10.1155/2012/728457
66. Garcia-Martin E, Satue M, Fuertes I, et al. Ability and reproducibility of Fourier-domain optical coherence tomography to detect retinal nerve fiber layer atrophy in Parkinson's disease. *Ophthalmology.* 2012;119(10):2161-2167. doi:10.1016/j.ophtha.2012.05.003
67. Yu JG, Feng YF, Xiang Y, et al. Retinal nerve fiber layer thickness changes in Parkinson disease: A meta-analysis. *PLoS One.* 2014;9(1). doi:10.1371/journal.pone.0085718
68. Chorostecki J, Seraji-Bozorgzad N, Shah A, et al. Characterization of retinal architecture in Parkinson's disease. *J Neurol Sci.* 2015;355(1-2):44-48. doi:10.1016/j.jns.2015.05.007
69. Polo V, Satue M, Rodrigo MJ, et al. Visual dysfunction and its correlation with retinal changes in patients with Parkinson's disease: an observational cross-sectional study. *BMJ Open.* 2016;6(5):e009658. doi:10.1136/bmjopen-2015-009658
70. Cuenca N, Herrero MT, Angulo A, et al. Morphological impairments in retinal neurons of the scotopic visual pathway in a monkey model of Parkinson's disease. *J Comp Neurol.*

2005;493(2):261-273. doi:10.1002/cne.20761

71. Miri S, Shrier EM, Glazman S, et al. The avascular zone and neuronal remodeling of the fovea in Parkinson disease. *Ann Clin Transl Neurol.* 2015;2(2):196-201. doi:10.1002/acn3.146
72. Ucak T, Alagoz A, Cakir B, Celik E, Bozkurt E, Alagoz G. Analysis of the retinal nerve fiber and ganglion cell – Inner plexiform layer by optical coherence tomography in Parkinson's patients. *Park Relat Disord.* 2016;31:59-64. doi:10.1016/j.parkreldis.2016.07.004
73. Archibald NK, Clarke MP, Mosimann UP, Burn DJ. Visual symptoms in Parkinson's disease and Parkinson's disease dementia. *Mov Disord.* 2011;26(13):2387-2395. doi:10.1002/mds.23891
74. Bodis-Wollner I, Kozlowski PB, Glazman S, Miri S. α -synuclein in the inner retina in parkinson disease. *Ann Neurol.* 2014;75(6):964-966. doi:10.1002/ana.24182
75. Matlach J, Wagner M, Malzahn U, et al. Retinal changes in Parkinson's disease and glaucoma. *Park Relat Disord.* 2018;(June):0-1. doi:10.1016/j.parkreldis.2018.06.016
76. London A, Benhar I, Schwartz M. The retina as a window to the brain - From eye research to CNS disorders. *Nat Rev Neurol.* 2013;9(1):44-53. doi:10.1038/nrneurol.2012.227

14) ANEXO 1: CARTA DE CONSENTIMIENTO INFORMADO

CARTA DE CONSENTIMIENTO INFORMADO

CONSENTIMIENTO INFORMADO ESCRITO PARA PARTICIPAR EN EL ESTUDIO El protocolo titulado "Concentración de alfa sinucleína oligomérica en lágrima y alteraciones estructurales retinianas como biomarcadores en enfermedad de Parkinson".

Esta es una invitación para que usted participe voluntariamente en un estudio clínico. Por favor, lea la siguiente información cuidadosamente antes de dar su opinión sobre si desea o no participar.

NOMBRE DEL ESTUDIO:

Concentración de alfa sinucleína oligomérica en lágrima y alteraciones estructurales retinianas como biomarcadores en enfermedad de Parkinson.

PROTOCOLO

OBJETIVOS DEL ESTUDIO.

El propósito de este estudio es evaluar si usted presenta alguna alteración en la lágrima y retina asociada a la enfermedad de Parkinson distinto a los problemas de temblor, rigidez y lentitud de movimiento.

Si usted participa en el estudio, inicialmente se realizará o actualizará la historia clínica y NO recibirá ningún medicamento "experimental" ni ningún otro medicamento no aprobado.

Se le practicarán una serie de estudios con el fin de evaluar la presencia de alfa sinucleína en lágrima, una proteína presente en la enfermedad de Parkinson, así como estudios de imagen en retina, además de la evaluación neurológica para determinar la afección motora de la enfermedad; los resultados serán totalmente confidenciales. Se dará el tratamiento que se considere adecuado para sus síntomas.

PROCEDIMIENTO DEL ESTUDIO

Las evaluaciones clínicas serán efectuadas durante el estudio, así como en cualquier momento del mismo cuando su médico considere necesario para el mejor control de su salud.

PARTICIPACIÓN VOLUNTARIA

Su participación en este estudio es voluntaria. Aún si decide participar, es libre para abandonar el estudio, en cualquier momento, sin incurrir en ningún tipo de penalidad. No habrá ningún cambio en la atención médica convencional proporcionada por la institución, si decide no participar o si decide dejar el estudio después de haber comenzado. Su médico puede también decidir interrumpir su participación en el estudio en cualquier momento respetando el beneficio para usted.

RESPONSABILIDAD DEL PACIENTE

Si usted participa en el estudio, sus responsabilidades más importantes serán:

1. Seguir estrictamente las instrucciones de su médico;
2. Acudir a las consultas con su médico, regularmente y en las fechas que se le indique.
Este estudio consiste en dos evaluaciones, la primera, la evaluación neurológica en el Instituto Nacional de Neurología y Neurocirugía, y la segunda, la evaluación oftalmológica en la Fundación Hospital “Nuestra Señora de la Luz” I.A.P.
3. Reportar a su médico todas las experiencias adversas que pudiera percibir, no importando la índole de que fueren estas.

RESOLUCIÓN DE DUDAS

Puede usted preguntar a su médico todo lo que considere necesario antes de acordar su participación en este estudio, así como en cualquier momento durante el curso del mismo. Su médico le informará detalladamente todo lo concerniente a su salud, sus derechos, obligaciones, así como los riesgos y beneficios relacionados con su participación en el estudio.

En caso necesario, y para cualquier duda, podrá ponerse en contacto con:

Teléfono: _____

IDENTIFICACIÓN

Su identificación será conservada como información confidencial. Los resultados de este estudio serán publicados sin descubrir su identidad. Su expediente médico, sin embargo, estará disponible para revisión por el personal involucrado en el estudio, el comité de Ética del Instituto Nacional de Neurología y Neurocirugía, y los funcionarios de la Secretaría de Salud.

CONSENTIMIENTO:

Yo: _____

El (la) abajo firmante, estoy de acuerdo en participar voluntariamente en este estudio clínico.

Confirmando de esta manera que he leído y entendido toda la información relacionada con este estudio clínico y que el médico ha contestado apropiadamente todas mis preguntas.

NOMBRE DEL PACIENTE	FIRMA	FECHA Y LUGAR
NOMBRE DEL MEDICO	FIRMA	FECHA Y LUGAR
TESTIGO DE LA PRESENTACIÓN ORAL	FIRMA	FECHA Y LUGAR
TESTIGO	FIRMA	FECHA Y LUGAR