

Capítulo 10

Electrorretinografía multifocal y potenciales evocados visuales multifocales: técnica, indicaciones clínicas e investigación aplicada

Román Blanco Velasco, J. M. Miguel Jimenez, Consuelo Perez-Rico, Isabel Pinilla, Inmaculada Puertas, Maribel Roldán, Sergio Ortega, Luciano Boquete, Pedro de la Villa

INTRODUCCIÓN

Las pruebas de electrodiagnóstico complementan la información obtenida por las medidas subjetivas de la función visual. En general, la electrofisiología proporciona información global sobre un determinado nivel o capa de la vía visual.

Este capítulo tiene como objetivo revisar y profundizar en la tecnología de registro electrofisiológico multifocal: la electroretinografía multifocal (mfERG) y los potenciales evocados visuales multifocales (mfPEV) y la experiencia en el desarrollo de ambas tecnologías por el grupo de Neurofisiología Visual y Bioingeniería de la Universidad de Alcalá.

ELECTRORRETINOGRAFÍA MULTIFOCAL

En el ERG fotópico un complejo número de mecanismos y células contribuyen a su forma de onda. Además, la población de conos en la retina es espacialmente muy heterogénea, y el número y naturaleza de células cambia dramáticamente con la excentricidad en la misma, desde la fovea a la periferia. Como resultado de esto, el ERG de campo completo es una mezcla de respuestas procedente de un número diverso de células y de diferentes regiones retinianas. Por otra parte, no podemos aplicar estímulos consecutivos mientras la respuesta no retorne a la línea base. Así, en el ERG fotópico de campo completo se deja al menos un tiempo de un segundo entre flashes para que el sistema de conos se recupere y podamos promediar las respuestas individuales, limitando la velocidad a un estímulo por segundo aproximadamente. Todo ello presenta un problema a la hora de estudiar muchas enfermedades del sistema de conos que sólo afectan a regiones locales en la retina. Si tratásemos de obtener registros ERG a partir de pequeñas áreas locales de la retina serían del orden de unos pocos nanovoltios, resultando impracticable el uso del promediado serie

para reducir el ruido ya que el tiempo que invertiríamos sería excesivo hasta completar la superficie necesaria de la retina.

La electroretinografía multifocal (mfERG) fue desarrollada por Sutter y Tran para tratar este tipo de problemas (Sutter, 1991, Sutter and D Tran, 1992) (1,2). Incrementando la velocidad de estimulación y usando para el estímulo un tipo especial de secuencia binaria pseudo-aleatoria, llamada secuencia-m, es posible aumentar la relación señal/ruido y reducir los tiempos de registro (Srebro and Wright, 1998) (3). Además, las propiedades matemáticas de estas secuencias permiten trabajar con muchas de ellas de forma simultánea e independiente, posibilitando el registro de señales ERG desde más de cien regiones simultáneamente. Incluso, podemos estudiar los mecanismos de adaptación no lineal presentes en la retina si presentamos los estímulos antes de que las respuestas retornen a la línea base. El mfERG es una técnica electrofisiológica avanzada relativamente nueva, aparecida en los años 90 y aún en constante evolución. Permite obtener una evaluación topográfica objetiva de la función retiniana, dividiendo la retina en un gran número de pequeñas áreas y obteniendo el registro simultáneo de cada una de ellas de forma rápida. Podemos encontrar información adicional sobre mfERG en (Sutter, 2001, Hood et al., 2003, 2007) (4-6). Además, Hood (2000) (7) hizo una revisión comprensiva de esta técnica y de sus aplicaciones.

Al igual que sucede en el ERG de campo completo, las células ganglionares contribuyen relativamente poco a la respuesta multifocal y ésta se origina fundamentalmente en la capa externa de la retina. Tanto el ERG como el mfERG, resultan especialmente útiles en casos en los que el fondo del ojo presenta un aspecto normal y es necesario distinguir entre enfermedades que afectan a las capas externas de la retina (fotorreceptores y/o células bipolares) y las que afectan a las capas internas (células ganglionares) y nervio óptico. El mfERG también puede ayudar a

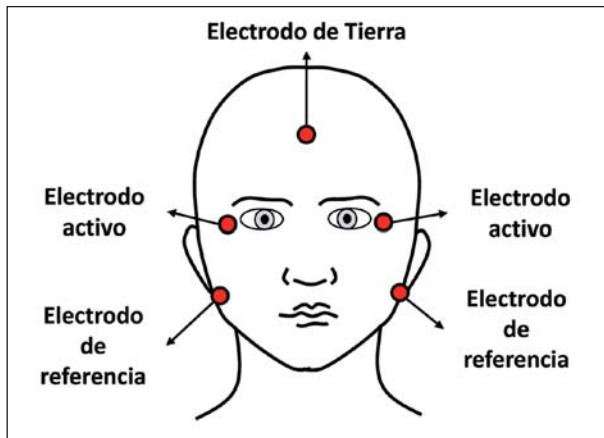


Fig. 1: Colocación de los electrodos en el ERG y en el mfERG.

seguir el progreso de ciertas enfermedades de la retina cuando son tratadas médicamente. Sin embargo, debido a que el ERG es la suma de toda la actividad retinal, este no puede detectar lesiones locales en la retina. Aunque el pattern ERG puede proporcionar información sobre pérdidas de visión causadas por lesiones en la fovea, no obtiene información topográfica ni detecta lesiones fuera de la fovea.

La Sociedad Internacional de Electrofisiología Clínica para la Visión (ISCEV) no ha establecido todavía un patrón estándar para realizar la prueba del mfERG, sin embargo, ha publicado unas recomendaciones generales (Hood et al., 2007) (5) con el objetivo de obtener resultados reproducibles e interpreta-

bles y para minimizar los artefactos. La figura 1 muestra la disposición de los electrodos, idéntica para ERG y mfERG. En el capítulo siguiente estudiaremos en más detalle la técnica multifocal estándar y los subtipos más importantes de paradigmas de estimulación derivados de la misma, que han ido surgiendo con idea de aumentar las respuestas evocadas de las capas más internas de la retina.

Para hacernos una idea global y esquemática sobre un sistema de registro mfERG, en la figura 2 se ha representado una simplificación del mismo. El tipo de electrodo usado en electroretinografía multifocal suele ser una lente de contacto bipolar, que alberga dos electrodos en forma de anillos concéntricos para registrar la señal de forma diferencial (fig. 3) sobre la cornea, colocando un electrodo adicional de referencia cerca de la sien y el de tierra sobre la frente. Los electrodos del tipo lente de contacto resultan algo molestos, pero permiten registrar niveles de señal superiores a otros tipos existentes.

La naturaleza del estímulo y la forma de analizar la señal registrada difieren mucho de lo que se hace en la ERG convencional. Estas diferencias nos van a permitir construir un mapa topográfico de sensibilidades de la retina. El estímulo se presenta en una pantalla de luminancia constante dividida en 61, 103 ó 241 hexágonos que alternan de blanco a negro de manera pseudoaleatoria, y que subtienden aproximadamente 25° en cualquier dirección desde el punto de fijación central cuando este se mira a una distancia de 32 cm, en el caso del equipo comercial

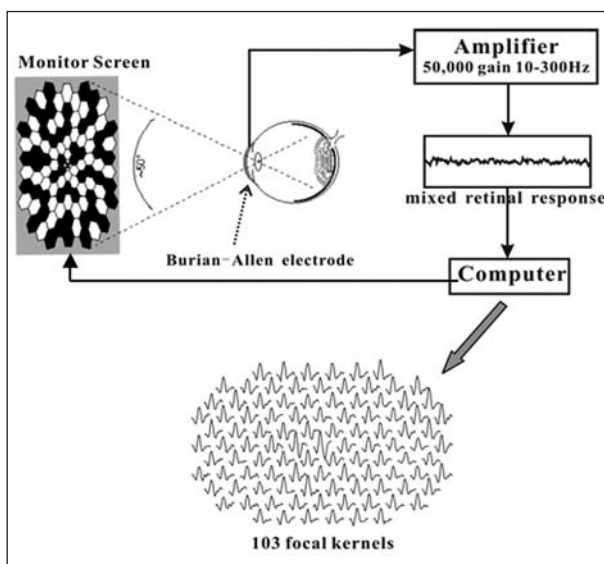


Fig. 2: Diagrama esquemático de un sistema de electroretinografía multifocal.



Fig. 3: Electrodo de lente de contacto.

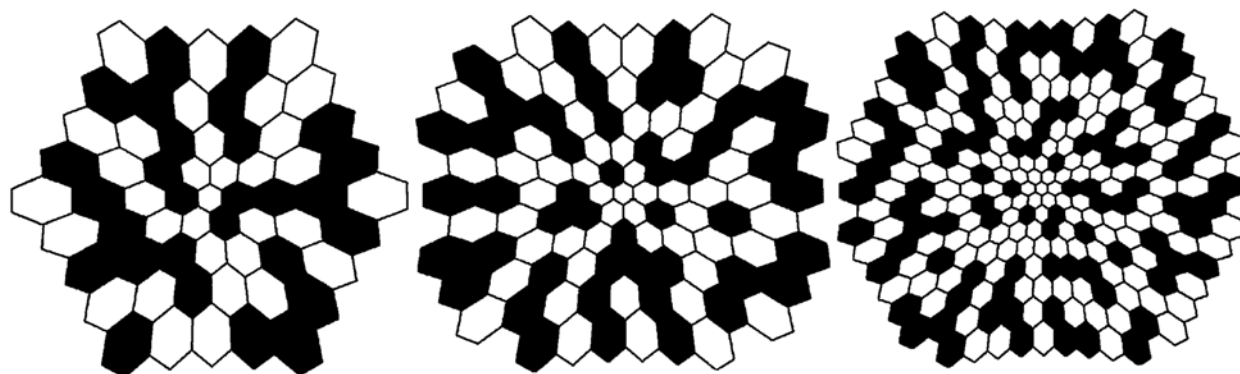


Fig. 4: Estímulos mfERG de 61 (izda.), 103 (centro) y 241 (dcha.) hexágonos.

que nosotros hemos utilizado (VERIS software, EDI, San Mateo, CA).

Según los datos anatómicos de Curcio *et al.* (8), estos 25° contienen en torno al 23% del total de los conos en humanos. Normalmente, el tamaño de los hexágonos es escalado, guardando una relación inversamente proporcional al gradiente de la densidad de conos, siendo de mayor superficie los hexágonos cuanto más excéntricos, y se selecciona para producir respuestas aproximadamente de la misma amplitud en todos ellos (Sutter and Tran, 1992) (2) (fig. 4). Cuanto mayor sea el número de hexágonos utilizados, mayor resolución espacial de la retina obtendremos, pero menor será la relación señal/ruido de las señales focales y mayor será el tiempo utilizado para el registro.

La ISCEV (Hood *et al.*, 2007) (5) sugiere que la luminancia de los hexágonos encendidos se fije entre 100 y 200 cd/m² y en los apagados sea lo suficientemente baja como para lograr un contraste mínimo del 90%. Como cada hexágono tiene una probabilidad del 50% de estar iluminado cada vez que aparece un nuevo cuadro de imagen, la luminancia media de todo el conjunto de hexágonos está entre 50 y 100 cd/m², según el nivel de luminancia elegido para los hexágonos encendidos (aproximadamente la mitad de los hexágonos están encendidos en cada cuadro). En cualquier caso, el resto del área de la pantalla que rodea a los hexágonos debe tener una luminancia constante igual a la mencionada luminancia media del array de estímulos.

Al igual que en la prueba de ERG, se suele utilizar un fármaco para dilatar la pupila, aunque no siempre es obligatorio (Hood, 2000) (7), así como otro adicional para anestesiar la cornea. Además, es aconsejable corregir los errores de refracción del ojo del paciente (miopía e hipermetropía), para conse-

guir que el estímulo proyectado sobre la retina quede correctamente enfocado. La frecuencia de cuadro suele ser de 75 Hz, lo que quiere decir que cada estímulo individual dura 13,33 ms. En la práctica, es importante tener en cuenta que si un hexágono es activado durante dos frames consecutivos, no significa que dicho hexágono permanecerá encendido durante 2x13 ms; en su lugar, en cada frame permanecerá encendido durante un corto período de 1 a 2 ms, dependiendo del fósforo del monitor, seguido por un período más largo de apagado (unos 11,33 ms). Esto se debe a la naturaleza del barrido y al efecto de persistencia del fósforo del monitor.

La señal registrada por los electrodos se amplifica entre 50.000 y 200.000 veces normalmente y se filtra. La frecuencia de corte inferior suele ajustarse entre 3-10 Hz, mientras que la superior puede configurarse entre 100-300 Hz, aunque algunos autores han sugerido usar una banda de paso de 10-100 Hz para aumentar significativamente la relación señal/ruido y reducir la variabilidad inter-sujeto, permitiendo así identificar mejor las disfunciones retinales (Han *et al.*, 2004) (9). Se recomienda encarecidamente no utilizar filtros notch para atenuar la interferencia de la red eléctrica (50 ó 60 Hz), ya que estos pueden eliminar información importante de los registros mfERG. En su lugar, se usarán otro tipo de técnicas bien conocidas para corregir ese problema: cables apantallados, amplificadores diferenciales, guardas activas, equilibrar impedancias, etc. Además, algunos equipos comerciales permiten el promediado ponderado de señales de hexágonos vecinos para reducir ruido y suavizar las formas de onda.

La forma de onda típica de una respuesta básica mfERG, también llamada respuesta de primer orden o kernel de primer orden, es una onda bifásica con una deflexión negativa inicial, seguida de un pico

positivo y de un segundo valle. Estos tres picos se llaman N1, P1 y N2, respectivamente. En la figura 5 se muestra la morfología de esta señal y el origen retiniano de sus componentes (Hood et al., 2003) (6). Existe evidencia que N1 incluye contribuciones de las mismas células que contribuyen a la onda *a* del ERG fotópico de campo completo (principalmente, por los fotorreceptores), y que la P1 incluye contribuciones de las mismas células que originan la onda *b* y los potenciales oscilatorios (Sutter, 2001, Hood et al., 2003, 2007) (4-6). (básicamente, por las células bipolares) junto a otros efectos no lineales que no aparecen en el ERG de flash global. No obstante, a pesar de estas homologías, las respuestas ERG locales no son potenciales eléctricos directamente evocados de las zonas locales de la retina, sino extracciones matemáticas obtenidas a partir de la señal bruta registrada por los electrodos.

Además, debido a la rápida velocidad de estimulación y a los niveles de luminancia utilizados, la forma de onda de las respuestas locales puede estar influenciada tanto por los estímulos precedentes («efectos de adaptación»), como por los posteriores («efectos inducidos»), así como por las respuestas que la dispersión de luz provoca en las zonas vecinas de la retina.

Los principales parámetros que se miden en el análisis de los registros del mfERG son las amplitudes de las respuestas y los tiempos implícitos de los picos. Para la respuesta de primer orden, la amplitud de N1 se mide desde la línea base hasta el valle N1, mientras que la amplitud de P1 se mide desde el valle N1 hasta el pico P1. Los tiempos implícitos se miden desde el comienzo del estímulo hasta los picos o valles de la forma de onda.

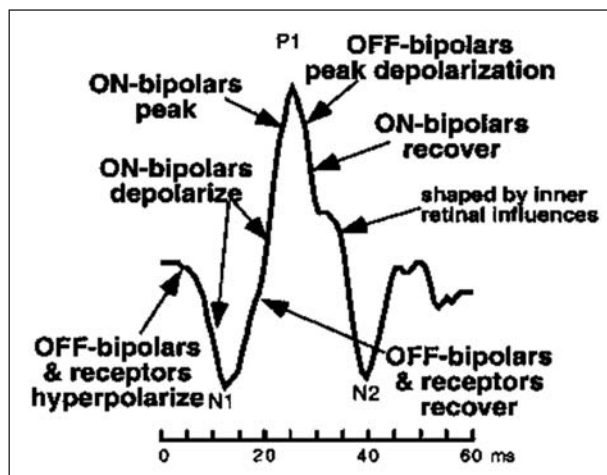


Fig. 5: Forma de onda típica de una respuesta mfERG de primer orden y sus orígenes.

Los programas comerciales normalmente muestran los resultados en forma de array de trazos y como gráficas de densidades de respuesta topográfica 3D (fig. 6). El array de trazos resulta muy adecuado para visualizar áreas con anomalías y para comparar los resultados mfERG con los de los campos visuales obtenidos a partir de las técnicas de perimetría. Las densidades de respuesta 3D muestran la amplitud por unidad de área en la retina y se obtienen dividiendo la amplitud de cada señal ERG individual entre la superficie del elemento hexagonal al que pertenecen. Como cabe esperar, la respuesta por unidad de área es más elevada en la fóvea al ser de menor superficie los hexágonos sobre la misma, apreciándose también la depresión existente en la zona del nervio óptico por la ausencia de respuesta. Este tipo de visualización puede ser útil para ilustrar cierto tipo de patologías y resulta muy cómodo. Sin embargo, presenta varios inconvenientes, como perder información acerca de la forma de onda, retardos de la misma, existencia de ruido, etc.

Otras formas comunes de presentar los resultados son mediante un conjunto de varias señales resultantes de agrupar y promediar los registros por anillos de sectores, por cuadrantes, por grupos de sectores, etc. El uso de los anillos concéntricos es recomendado por la ISCEV como una herramienta útil para el resumen de los registros obtenidos. Las principales ventajas consisten en la reducción de la influencia de los ruidos (artefactos) a la señal del ERG y en la mayor uniformidad de las ondas. Sin embargo, puede provocar menor resolución espacial en la detección de anomalías locales, especialmente en los anillos periféricos. Así, incluso una anomalía pronunciada en el anillo externo contribuirá solamente con el 2,4% de la respuesta total promedio y puede quedar inadvertida sin la cuidadosa inspección visual del mapa.

Entre los sistemas de registros del mfERG, el VERIS, inicialmente diseñado por Sutter, (Electro-Diagnostic Imaging (EDI), San Mateo, CA) domina el mercado en Estados Unidos, pero fuera de EE.UU. se comercializan unidades electrofisiológicas como el sistema RETIsca de la firma Roland Consult, (Alemania) y el sistema Metrovision (Francia) entre otros.

ADQUISICIÓN DE LAS SEÑALES ERG MULTIFOCALES

El estímulo se visualiza a través de las pupilas dilatadas farmacológicamente (diámetro mínimo

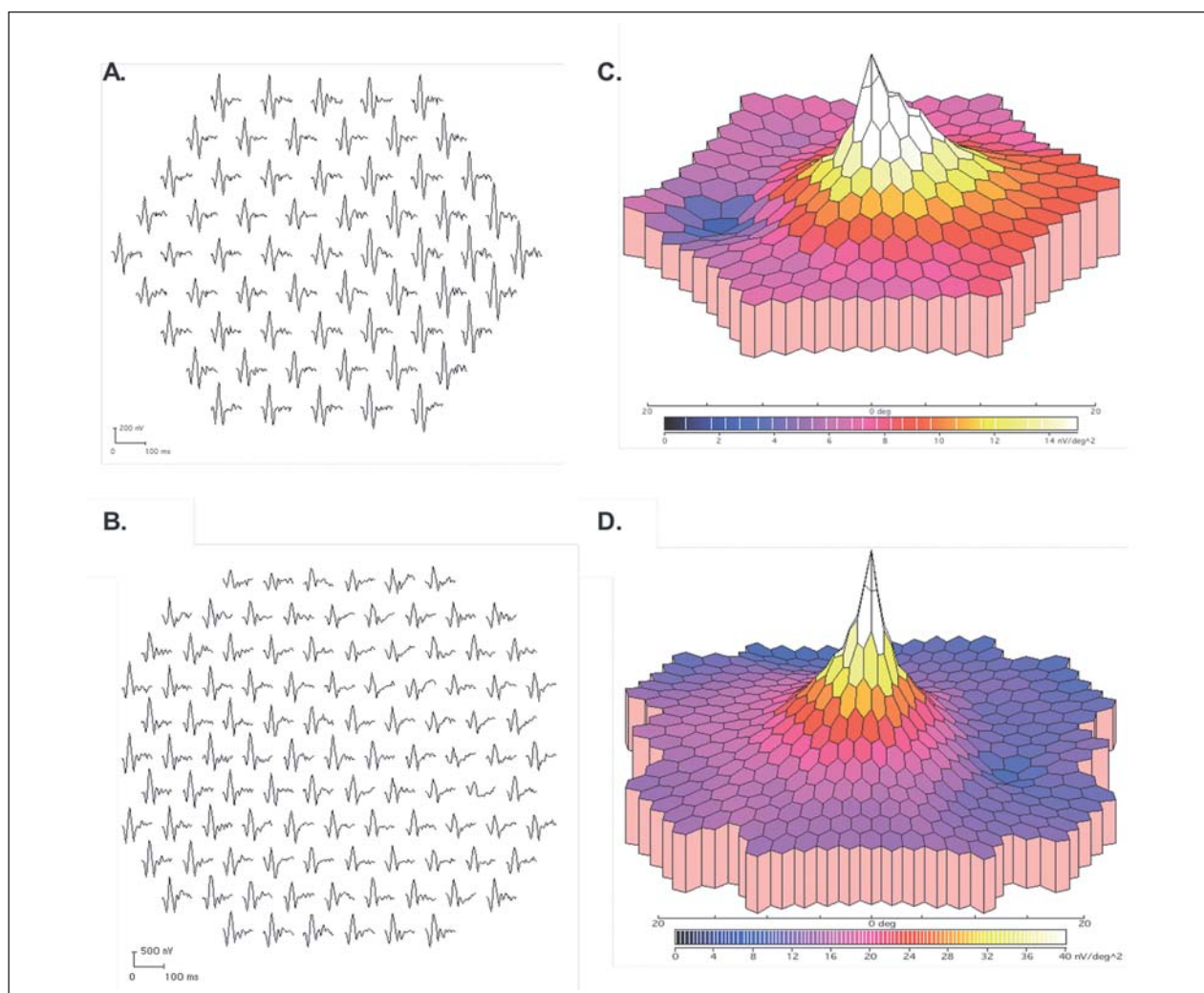


Fig. 6: Ejemplos de arrays de trazos con 61 elementos (A) y con 103 elementos (B), así como sus densidades de respuesta 3D asociadas (C y D).

de 7 milímetros) con tropicamida (1%) y felinefrina (2,5%). Se utiliza una lente de contacto bipolar Burian-Allen (Hansen ophthalmics, Iowa City, IA) (fig. 3) o similar. La adaptación de la lente de contacto se facilita instilando una gota de anestésico tópico (0,5% proparacaína). El error residual esférico refractivo se corrige con el autorrefractómetro (fig. 7). El alineamiento de la pupila del paciente con la óptica del monitor y la estabilidad de fijación se controla con una cámara de infrarrojos anexa.

Las señales se amplifican con un sistema de amplificación *Grass Neurodata Model 15ST* (Grass Telefactor, NH), con una ganancia de 50.000, filtros con ancho de banda 10-300 Hz y un intervalo de muestreo de 0,83 ms (1.200 Hz).

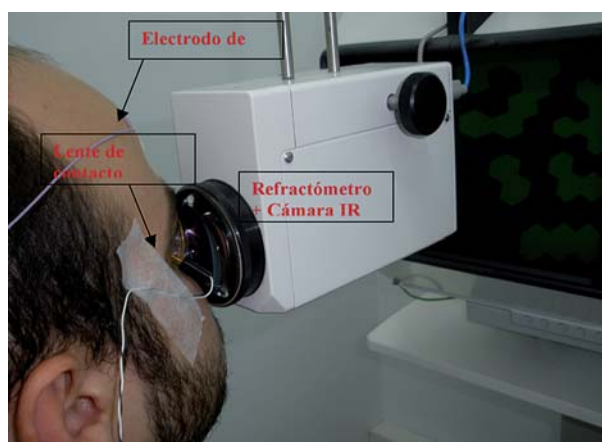


Fig. 7: Configuración típica que muestra varios componentes del equipo multifocal.

OBTENCIÓN DEL KERNEL DE PRIMER ORDEN

Aunque los hexágonos que forman el patrón del estímulo parecen parpadear aleatoriamente, cada uno de ellos sigue la misma serie de parpadeos que conforman la secuencia pseudo-aleatoria, llamada secuencia-m, pero la secuencia de cada hexágono comienza en un punto diferente en la serie respecto al resto de hexágonos. Este punto de arranque o desplazamiento se determina como la longitud de la secuencia dividida entre el número de elementos hexagonales, de modo que el desplazamiento en la secuencia es equidistante para todos los elementos. Las señales ERG locales se calculan correlando la única señal ERG continua que capturan los electrodos con la secuencia-m específica de cada elemento. Técnicamente, estas respuestas son los kernels de primer orden resultantes de la correlación cruzada entre la secuencia de estimulación y la señal ERG continua registrada (Hood et al., 1997, Keating et al., 2000) (10,11).

La estimulación multifocal de la retina hace que esta respuesta de una forma no lineal. El kernel de primer orden o respuesta impulsiva contiene componentes lineales y no lineales, recuperando de forma selectiva por elementos de superficie cómo responde el ojo a un flash de luz, mientras que la respuesta de segundo orden recupera selectivamente la interacción entre flashes. La respuesta ERG está contenida únicamente en los primeros 200 ms y, por tanto, este es el único intervalo de tiempo que resulta de interés. La figura 8 presenta un diagrama esquemático sobre

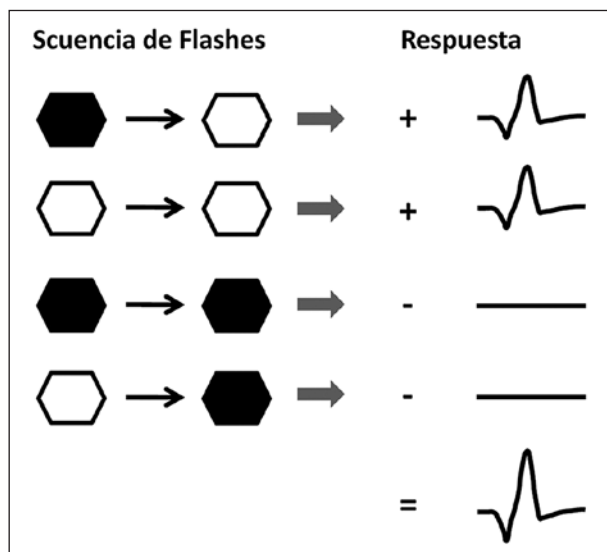


Fig. 8: Obtención de los kernels de primer orden.

la forma de obtener el kernel de primer orden para un hexágono determinado (Sutter & Bearnse, 1999) (12). Matemáticamente, se puede obtener sumando todos los registros que siguen a la presentación de un flash en ese hexágono (hexágono blanco) y restando todos los registros que siguen a ese hexágono oscuro. El estímulo es actualizado de acuerdo a la secuencia-m a un ritmo de 75 Hz, por tanto, cada 13,33 ms aparece un paso de secuencia-m, mientras que la ventana de tiempo del ERG es típicamente de 200 ms. Si la secuencia-m para ese hexágono es «1», entonces tomamos un segmento de señal de 200 ms desde ese instante para ser sumado (independientemente de que sea influenciado por los siguientes estímulos). Si la secuencia-m es «0», entonces el segmento de señal de 200 ms se resta.

En un sentido, sumando los registros que siguen inmediatamente a la visualización de un flash en un hexágono dado y restando los registros que siguen inmediatamente al hexágono oscuro, se construye la respuesta de ese hexágono, al tiempo que se eliminan las respuestas asociadas al resto de hexágonos. Para ilustrar esto con un ejemplo sencillo, supongamos que dividimos la retina en siete segmentos utilizando un estímulo de siete hexágonos. En este caso, utilizaríamos una secuencia-m compuesta de siete pasos (fig. 9). El primer hexágono h_1 es estimulado por todos los pasos (frames F_i) de la secuencia S_1 marcados con «+» lo cual genera respuestas evocadas locales (R_1) después de cada estímulo (E_1). Para evaluar el resultado $mfERG_1$, correspondiente a la respuesta extraída por correlación del mencionado primer hexágono h_1 , sumamos y restamos los potenciales evocados de acuerdo a la secuencia S_1 .

Las secuencias S_2, S_3, \dots, S_7 , están desplazadas un paso cíclicamente en el tiempo. De este modo, la evaluación de $mfERG_2, mfERG_3, \dots, mfERG_7$, no contienen contribución alguna del estímulo usado para el hexágono h_1 , ya que cada una de las respuestas locales R_1 se suma y resta el mismo número de veces. Así, por ejemplo, la contribución de las respuestas que componen R_1 es nula para R_7 :

$$mfERG_7(R_1) = -R_1(F_1) - R_1(F_2) + R_1(F_3) + R_1(F_4) = 0$$

Del mismo modo, si la respuesta global obtenida por el electrodo en este ejemplo se correla con la secuencia S_2 , el resultado sería diferente de cero sólo para $mfERG_2$, correspondiente al hexágono h_2 , mientras que el resto de respuestas $mfERG_1, mfERG_3, \dots, mfERG_7$ valdrían cero. En la práctica, se hace uso de la Transformada Walsh rápida para reducir la carga

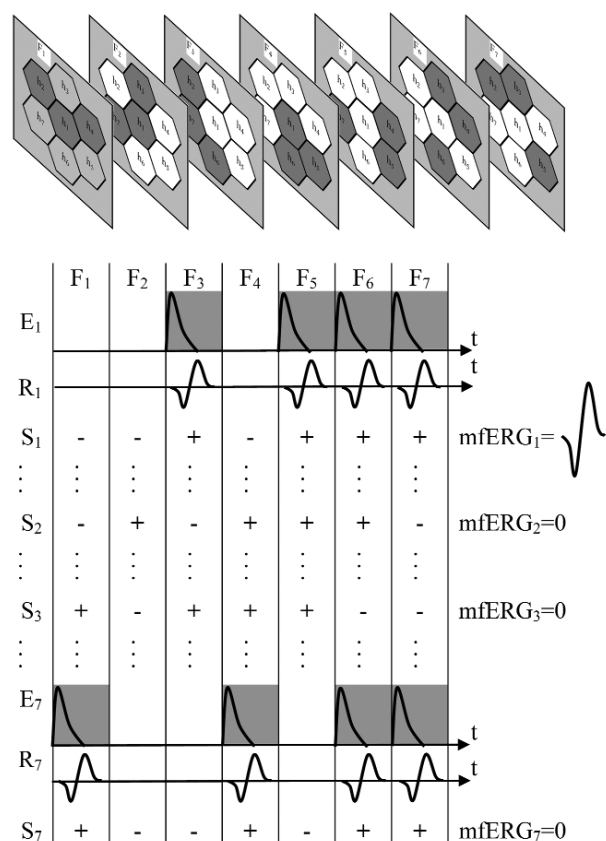


Fig. 9: Ejemplo de extracción de la respuesta local de un hexágono (kernel k_1). Estímulos visualizados en siete frames consecutivos (arriba). Extracción de la respuesta del primer área hexagonal por correlación.

computacional requerida para calcular la correlación cruzada entre la secuencia- m y la señal registrada (Sutter, 1991) (1).

Debe considerarse que cada segmento de área produce una señal con una amplitud tan pequeña que la señal registrada en la córnea tiene una amplitud mucho menor que la del ruido presente en la cadena de amplificación. Para aumentar la relación señal/ruido, debe usarse un promediado sumando múltiples respuestas. Como el ruido puede ser descrito como una señal estocástica, crece con la raíz cuadrada del número de respuestas sumadas, mientras que la señal de interés, al ser siempre la misma, lo hace linealmente con el número de respuestas sumadas.

Es de interés comentar que en todos estos ejemplos no se solapan las respuestas, quedando las formas de onda perfectamente separables. Sin embargo, en realidad, las respuestas de cada frame se extienden hasta varios de los frames siguientes, con lo que

el kernel de primer orden está también influenciado por los mecanismos de adaptación de la retina (mecanismos no lineales).

Hay dos malentendidos acerca del kernel de primer orden muy comunes en muchas publicaciones. Primero, debido a que su amplitud varía aproximadamente con la densidad de conos (Sutter & Tran, 1992) (2), se suele creer que se trata de la respuesta de los propios conos de la retina. Sin embargo, la densidad de otras células retinianas, en particular de las células bipolares, también es aproximadamente igual a la densidad de conos. De hecho, muy poca de la respuesta mfERG es generada por los propios conos, sino que es dominada por la respuesta de las células bipolares (Hood, 2000; Horiguchi et al., 1998) (7,13). Segundo, esta respuesta de primer orden es a veces erróneamente descrita como la respuesta impulsiva de la retina en un segmento de área determinado de la misma. Técnicamente, la respuesta de primer orden es la *respuesta impulsiva* sólo si el sistema es lineal. Sin embargo existen no linealidades y representan la diferencia entre la apariencia del mfERG y el ERG de campo completo. En otras palabras, estas diferencias se deben a que el kernel de primer orden se obtiene a partir de diferentes formas de onda que difieren en función de la historia de flashes inmediatamente precedentes.

OBTENCIÓN DEL KERNEL DE SEGUNDO ORDEN

Aunque en esta tesis se trabaja únicamente con los kernels de primer orden, vamos a hacer una introducción a los kernels de segundo orden, ya que muchos autores atribuyen ciertos cambios morfológicos de estos kernels a las capas internas de la retina y, por tanto, a las células ganglionares, implicadas en el glaucoma y otras enfermedades oftalmológicas importantes, y cuya respuesta no es posible obtener mediante ERG ni pERG. En Sutter, 2000 (14) se hace una descripción más completa sobre los kernels de segundo orden.

El kernel de segundo orden es una medida de cómo la respuesta mfERG está influenciada por los procesos de adaptación de la retina a los flashes sucesivos. La amplitud del kernel de segundo orden es comparablemente menor que la de primer orden y, por tanto, más difícil de medir debido a la pobre relación señal/ruido. Comienza con un pico positivo al que sigue uno negativo, llamados P1 y N1, respectivamente. El primer corte del kernel de segundo orden mide el efecto de un flash inmediatamente

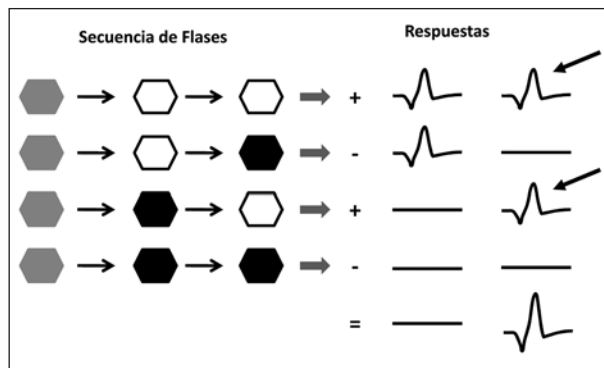


Fig. 10: Obtención del primer corte del kernel de segundo orden.

anterior, el segundo corte del kernel de segundo orden mide el efecto del flash que se produjo dos frames anteriores al actual, y así sucesivamente. La figura 3.9 esquematiza cómo obtener el primer corte del kernel de segundo orden (las formas de onda no son las reales). La clave para entender este kernel es comparar las dos respuestas marcadas por las flechas. La flecha superior en la figura 9 indica la respuesta a un flash que es precedido por otro flash, mientras que la flecha inferior indica la respuesta a un flash que no es precedido por otro (precedido por un hexágono oscuro). Si estas dos respuestas no son idénticas, entonces hay un kernel de segundo orden (primer corte) y se calcula restando ambas respuestas. Concretamente, según se indica en la figura 9, el kernel de segundo orden se obtiene sumando todos los registros que siguen a un cambio, ya sea de blanco a negro o de negro a blanco, y restando todos los registros que no siguen cambios. En esta figura se ha supuesto que el flash precedente ha reducido la respuesta del siguiente en un factor multiplicativo.

LA SECUENCIA-M

Los sistemas lineales se pueden describir completamente por su respuesta a una función de impulso. El sistema visual sin embargo, no es lineal. Las secuencias-m binarias son una clase especial de secuencias binarias pseudoaleatorias y sus propiedades estadísticas se parecen a las de las secuencias largas derivadas de procesos aleatorios (ruido binario), resultando útiles para el análisis de sistemas no lineales. Cuando se generan en la forma apropiada, podemos obtener un conjunto de secuencias-m ortogonales entre sí con las que estimular cada región de la retina, y esta propiedad permite seleccionar la respuesta de una región

particular del estímulo entre la señal registrada, al tiempo que las diversas respuestas obtenidas de cada región no se interfieran mutuamente. En (Keating & Parks, 2004) (15) podemos encontrar información más detallada sobre secuencias-m y en (Al Yousuf et al., 2000) (16) se analiza con detalle cómo hacer una selección apropiada de secuencias-m.

Cada segmento de la retina se estimula con la misma secuencia, pero desplazada en el tiempo. Así mismo, cada una de las secuencias representa ruido blanco con distribución binaria de amplitud. Si la longitud de las secuencias es $2^m - 1$, el desplazamiento entre cada secuencia es $2^{m/n}$ y $(2^m/n) - 1$ entre la primera y última secuencia, donde n es el número de secuencias. La secuencia original y todas las secuencias desplazadas en el tiempo son ortogonales entre sí.

Las secuencias-m tienen las siguientes propiedades (Keating & Parks, 2004) (15), (Al Yousuf et al., 2000) (16).

- El período de la secuencia es $2^m - 1$, donde m es el orden del polinomio que la genera.
- Un ciclo de secuencia-m tiene un 1 más que ceros.
- Una secuencia-m puede ser decimada en 2^n columnas ($n \in \mathbb{Z}$). Cada columna contiene entonces una versión desplazada de la secuencia inicial. Este desplazamiento actúa como un retardo de tiempo que hace que las respuestas focales (de cada hexágono) aparezcan no correladas. La decimación de secuencias será tratada más adelante.
- Tienen la propiedad de desplazamiento y suma: la suma de dos versiones desplazadas cualquiera de una secuencia-m es otra secuencia-m desplazada.
- Una secuencia-m tiene la propiedad de ventana: cada una de las palabras de m bits que la forman aparece sólo una vez.

Una característica especial de las secuencias-m generadas por desplazamiento de la secuencia original es que la correlación entre ellas es muy baja. Dadas dos secuencias binarias, S_1 y S_2 , se define su correlación como $C = (\text{n.º de posiciones donde } S_1 \text{ y } S_2 \text{ coinciden}) - (\text{n.º de posiciones donde } S_1 \text{ y } S_2 \text{ no coinciden})$.

En principio, podríamos usar otro tipo de secuencias de estimulación en mfERG, pero deberían ser seleccionadas cuidadosamente, ya que si tienen peores propiedades de autocorrelación podrían comprometer la ortogonalidad de las secuencias entre los diversos hexágonos, propiciando el solapamiento de kernels o contaminación cruzada. De hecho, no es posible evitar este problema, aunque haciendo una selección apropiada de las secuencias sí es posible

asegurarse que esta contaminación se produzca fuera de las ventanas de tiempo de interés, usualmente 200 ms. En (Keating & Parks, 2004) (15) se explica detalladamente cómo hacer uso de la propiedad de desplazamiento y suma para obtener las respuestas de segundo orden y cómo las respuestas de primer y segundo orden procedentes de diferentes regiones pueden llegar a solaparse.

Existen diversos factores a considerar cuando se decide usar una secuencia pseudoaleatoria binaria de estimulación, como la secuencia-m. Cuando decidamos la secuencia para obtener un conjunto de secuencias ortogonales, obtenemos siempre la misma secuencia original pero desplazada en el tiempo. Para obtener una separación clara de las respuestas obtenidas mediante correlación cruzada con estas secuencias, el desplazamiento entre secuencias debe de ser mayor que la ventana de tiempo de la respuesta evocada. Así, si suponemos que realizamos un mfERG con una secuencia-m de 15 bits, o sea, una secuencia de $2^{15}-1 = 32.767$ bits, usando una frecuencia de cuadro de 75 Hz y considerando una ventana de tiempo suficiente para una respuesta evocada de 200 ms, entonces el desplazamiento entre secuencias debe ser mayor que la siguiente relación:

$$\frac{\text{Ventana de tiempo}}{\text{Período base del estímulo}} = \frac{200 \text{ ms}}{13,33 \text{ ms}} =$$

= 16 pasos de secuencia (redondeado al superior) (3.1)

Debe asegurarse que las secuencias utilizadas para estimular las áreas individuales no se solapan en el tiempo. La probabilidad de crear secuencias defectuosas se incrementa a medida que crece el número de áreas estimuladas, o cuanto mayor es la longitud de la ventana de tiempo, así como a medida que la longitud de la secuencia-m es menor. Aunque escapa de nuestro propósito, el lector podrá encontrar información matemática más detallada en Al Yousuf et al., 2000) (16) sobre la identificación apropiada de polinomios primitivos para evitar la contaminación cruzada en las respuestas mfERG. Todos estos factores son críticos para obtener una separación limpia de las respuestas multifocales y los diseñadores deberían tenerlas siempre en cuenta. Desafortunadamente, los fabricantes de sistemas multifocales no proporcionan información sobre sus secuencias, y los usuarios no tienen más remedio que confiar en los equipos que compran. Una secuencia-m de longitud 2^m-1 se obtiene mediante un polinomio primitivo de orden m (Al Yousuf et al., 2000) (16). En la práctica, estas secuencias se pueden obtener con ayuda de un regis-

tro de desplazamiento con realimentación lineal (LFSR, linear-feedback shift register), consistente en un registro de desplazamiento cuyo bit de entrada es una función lineal de su estado previo. Como la única función lineal que opera con bits elementales es la XOR, el LFSR se construye con un registro de desplazamiento cuya entrada es la operación XOR de algunos bits de las etapas que lo componen. Las posiciones o etapas a realimentar son determinadas por los términos del polinomio. Los bits de salida de estas posiciones se combinan mediante una operación OR exclusiva o suma módulo 2, obteniendo un bit resultado que se realimenta a la entrada del registro de desplazamiento.

El bit que previamente estaba en la m-ésima posición (el de más a la derecha) se desplaza y sale del registro para formar el primer término de la secuencia-m. La figura 11 muestra cómo generar una secuencia-m de longitud $2^4-1 = 15$ ($m=4$) haciendo

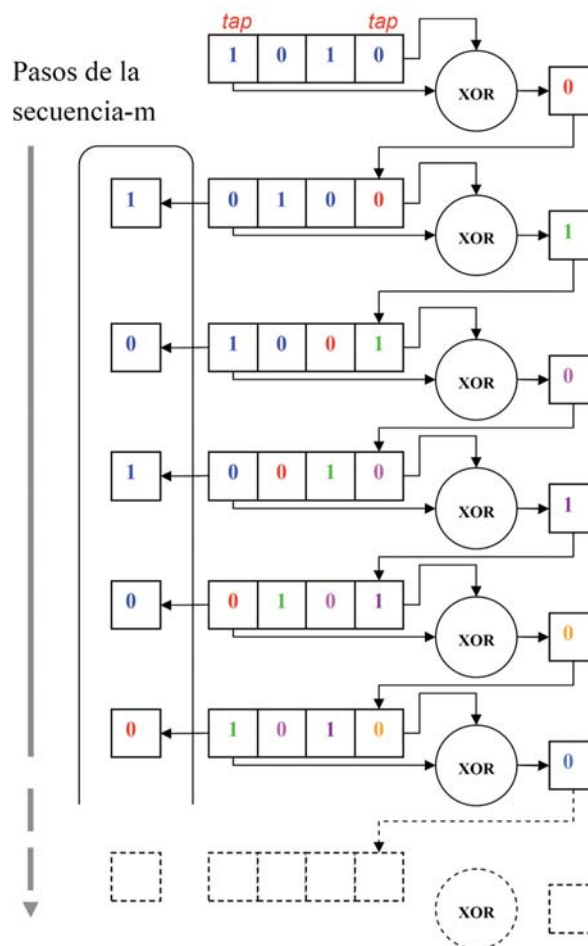


Fig. 11: Generación de una secuencia-m de 15 bits a partir del polinomio x^4+x+1 .

Secuencia 101011001000111			
Col1	Col2	Col3	Col4
1	0	1	0
1	1	0	0
1	0	0	0
1	1	1	

Col1	Col2	Col3	Col4
1	0	1	0
1	1	0	0
1	0	0	0
0	1	0	1
1	0	0	1
0	0	0	1
1	1	1	0
1	0	1	1
0	0	1	0
0	0	1	1
1	1	0	1
0	1	1	0
0	1	0	0
0	1	1	1

Fig. 12: Decimación de la secuencia- m de 4 bits generada en la Figura 10, 101011001000111. La secuencia va rellenando las filas de izquierda a derecha, como muestra la primera iteración del panel izquierdo.

uso del polinomio primitivo x^4+x+1 . Las etapas que se usan para realimentar, determinadas por el polinomio, son la cuarta (x^4) y la primera (x). El registro se carga inicialmente con cualquier semilla distinta de cero, en nuestro ejemplo con 1010. El bit de mayor peso se usa para generar la secuencia- m y se necesitan 15 pasos para completar la secuencia. En la práctica, se usan polinomios de mayor grado para generar secuencias- m , comúnmente de 15 bits con un polinomio primitivo de grado 15 del tipo $x^{15}+x^{13}+x^{12}+x^{11}+x^6+x^3+x+1$. Esto crea una secuencia- m de longitud $2^{15}-1 = 32.767$ pasos mediante un registro de desplazamiento de 15 bits, realimentando con una XOR las salidas de las etapas 15, 13, 12, 11, 6, 3 y 1.

Una vez tengamos la secuencia original, necesitamos crear a partir de ella un conjunto de secuencias ortogonales entre sí que se usarán para estimular las distintas áreas o hexágonos en los que vamos a dividir la retina. Este proceso se llama decimación, y usa la secuencia- m original para ir rellenando ordenadamente, de izquierda a derecha, todas las filas de 2^n columnas ($n \in \mathbb{Z}$ y $n>0$). En la figura 12 se muestra este proceso, que se repite hasta que cada columna tenga una longitud de 2^m-1 bits ($2^m = 2^{(2^n)}$). El '1' en rojo indica el comienzo de la secuencia. Tras rellenar toda la tabla, es fácil observar cómo cada columna acaba conteniendo una versión desplazada diferente de la misma secuencia original. Las 2^n nuevas secuencias- m desplazadas forman un conjunto ortogonal y podrían ser usadas para controlar hasta un máximo de 2^n segmentos de forma independiente.

OTROS PARADIGMAS DE ESTIMULACIÓN

En el caso de la mfERG estándar estudiada anteriormente, las componentes no lineales en la respuesta retiniana como consecuencia de la interacción entre respuestas a los flashes sucesivos, se extraen calculando los kernels de orden superior (Sutter, 2003) (14). Aunque muchos estudios ya han demostrado que estas respuestas se ven afectadas por enfermedades de la retina que afectan a sus capas internas (Chan & Brown, 1999,2000) (18,19), los kernels de orden superior tienen un uso muy limitado, debido a la pobre relación señal/ruido y a las contribuciones de neuronas de capas tanto internas como externas. Con objeto de obtener ciertos componentes electrofisiológicos específicos de las capas más internas de la retina sin necesidad de tener que hacer uso de los kernels de orden superior, han ido surgiendo nuevos paradigmas de estimulación (Chu et al., 2008) (20), registro e incluso análisis de señales. Estos nuevos tipos de estimulación refuerzan las contribuciones de las células ganglionares y de la cabeza del nervio óptico, que suelen ser afectadas por el glaucoma. Para reforzar la contribución de la respuesta retiniana interna, estos nuevos paradigmas de estimulación usan flashes globales que se interponen en el tiempo para evocar una componente no lineal más grande (Chen et al., 2006, Fortune et al., 2002) (21,22). Entre este tipo de técnicas que refuerzan estas componentes está el mfERG de flash global (Shimada et al., 2005) (23), el mfERG de doble flash global (Palmowsky et al., 2007) (24), los mfERG multiflash, como los que insertan tres flashes globales entre cada frame multifocal (Palmowsky et al., 2005) (25), el mfERG de secuencia lenta (Rangaswamy et al., 2007) (26), mfERG de flash global con modulación de luminancia (Chu et al., 2006) (27), etc.

Sutter y Bearse (12) llegaron a la hipótesis de que el mfERG está formado por la suma de dos componentes, una componente retiniana y una generada por el nervio óptico. La componente retiniana tiene la misma forma para cualquier distancia dada desde la fovea. La componente del nervio óptico también tiene la misma forma para cualquier distancia dada desde la fovea, pero aparece desplazada en el tiempo en función de la distancia a la cabeza del nervio óptico. Se piensa que la componente de la cabeza del nervio óptico (ONHC, optic nerve head component) se produce por los potenciales de acción de los axones de las células ganglionares y se genera en la vecindad de la cabeza del nervio óptico. El tiempo de propagación de la ONHC tiene una elevada

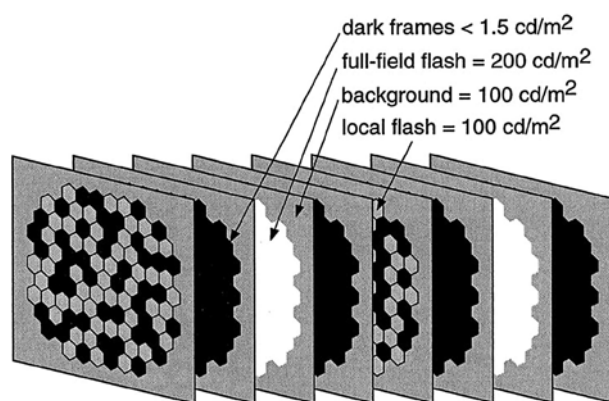


Fig. 13: Secuencia de estimulación mfERG de flash global. Los valores de luminancia que aparecen sólo representan un ejemplo típico.

correlación con la longitud de las fibras nerviosas ganglionares y, por tanto, parece depender de la capa de fibras nerviosas (Sutter & Bearnse, 1999) (12). La existencia de la ONHC ha sido ampliamente estudiada (Sutter & Bearnse, 1999) (12) (Hood et al., 2001) (28) y existe evidencia de que el glaucoma puede atenuarla o eliminarla (Sutter & Bearnse, 1999) (21), (Bearnse et al., 1996) (29). El mfERG de flash global se diseñó para acentuar esta componente ONHC. La figura 13 muestra la secuencia de estimulación del mfERG, donde se aprecia que cada frame multifocal es seguido por tres frames: oscuro, flash global y oscuro. Así, podemos describir un ciclo completo con las iniciales M-O-F-O (multifocal-oscuro-flash-oscuro).

En el mfERG de flash global aparecen dos componentes en la respuesta (fig. 14): la componente directa (DC) y la componente inducida (IC). La componente inducida representa el cambio que un flash local origina sobre la respuesta de un flash global. Parece ser una respuesta no lineal que se origina principalmente en las capas internas de la retina (Sutter et al., 1999) (30).

En la figura 15 aparece un ejemplo de estimulación mfERG de doble flash global, junto a la respuesta evocada, particularizado para un hexágono determinado (Palmowsky et al., 2007) (25). El primer frame que aparece es el multifocal (M), donde el hexágono puede aparecer encendido (símbolo «+» en la figura) o apagado (símbolo «-»), dependiendo de la secuencia-m. Independientemente de ello, le siguen dos flashes globales precedidos y seguidos por frames oscuros. Aparecen tres ventanas de tiempo diferentes en la respuesta evocada: la respuesta al flash focal entre 10-40 ms (componente directa, DC)

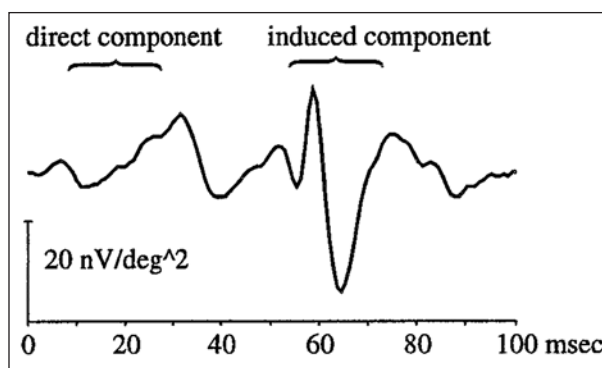


Fig. 14: Respuesta típica obtenida para una estimulación mfERG de flash global.

y las dos componentes inducidas por los flashes globales entre 40-70 ms (IC-1) y 70-100 ms (IC-2).

En este caso, el intervalo base del estímulo lo forman seis frames: M-B-F-B-F-B. La respuesta de primer orden se calcula de forma similar a como ya se explicó en el apartado anteriormente. Así, para calcular la respuesta focal de un hexágono determinado sumamos las respuestas de todos los intervalos base que comiencen con el estímulo focal de dicho hexágono encendido, y restamos las que comiencen con el estímulo apagado. Por tanto, en un hexágono determinado aparecerán respuestas a flashes globales sólo si estos son influenciados de forma diferente por la respuesta al flash focal que les precede, que es el único frame que no es constante en los intervalos base individuales. De este modo, la presencia de una respuesta a un flash global demuestra a su vez la

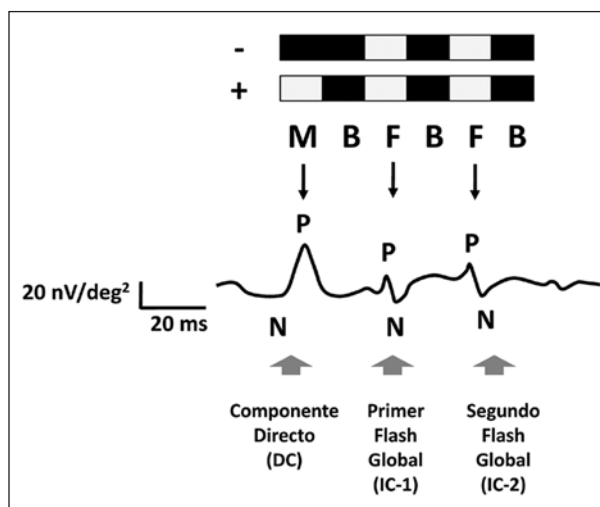


Fig. 15: Secuencia de estimulación mfERG de doble flash global (arriba) para un hexágono determinado y la respuesta evocada (abajo).

existencia de la adaptación retiniana, presumiblemente con origen en las capas internas de la retina.

Palmowski *et al.* (25) utilizaron un paradigma de estimulación similar, llamado mutiflash, pero usando tres flashes globales. En el caso de pacientes con glaucoma de ángulo abierto, encontraron cambios en la respuesta al segundo flash global que parecen indicativos de efectos de adaptación anómalos, presumiblemente debido a daños a la retina interna.

Otro paradigma de estimulación, el mfERG de flash global con modulación de luminancia, utiliza un flash global como en el caso del mfERG de flash global, pero el registro de datos se divide en varias sesiones en las que el paciente se somete a la prueba usando diferentes niveles de luminancia en los frames multifocales para cada sesión (fig. 16a). Luego se estudian los registros de cada sesión por separado. Así, Chu *et al.* (20) concluyeron que en sujetos sanos la amplitud de la componente inducida (IC) de la retina periférica mostraba una dependencia lineal con la luminancia utilizada en los frames multifocales, mientras que la componente directa (DC) de la retina periférica se saturaba con los niveles más altos de luminancia. Esta saturación era menos obvia en el caso de sujetos afectados por glaucoma.

La estimulación multifocal puede ser ralentizada para eliminar las componentes no lineales en las respuestas evocadas y que se asimile más al ERG de campo completo, introduciendo varios frames oscu-

ros de relleno entre cada frame multifocal. Esto da lugar a otro paradigma de estimulación conocido como mfERG de secuencia lenta. Wu y Sutter (31) insertaron tres flashes de relleno para evocar potenciales oscilatorios (OPs) en la respuesta retiniana y Hood *et al.* (28) modificaron el mfERG introduciendo siete flashes de relleno. En este caso, es común referirse a una estimulación mfERG de secuencia lenta con tres flashes de relleno como «mfERG 3F», a una que inserta siete flashes de relleno como «mfERG 7F», etc, y a una mfERG estándar como «mfERG 0F» o mfERG de secuencia rápida. A medida que se introducen más flashes de relleno la morfología de la señal obtenida en cada hexágono cambia y se va pareciendo más a la del ERG de campo completo (Hood, 2000) (32). Así, los cambios más significativos aparecen en el pico P1 que es simple en el caso de 0F, transformándose en una onda de múltiples picos, similar a la «onda b» y los «OPs» del ERG de campo completo, en el caso de introducir siete flashes de relleno.

Los potenciales oscilatorios aparecen como una serie de pequeñas oscilaciones (3-5 o más) de alta frecuencia en la pendiente de subida entre las ondas N1 y P1. En un ojo sano, aparece una variación en la actividad de los OPs con la excentricidad de la retina Wu y Sutter (1999) (31), (Miyake, 1990) (33), apareciendo con más amplitud en las regiones parafoveales. Además, los OPs son más prominentes en la retina temporal que en la nasal. En cambio, en ojos con ciertas patologías en las capas internas de la retina que atenúan o eliminan los OPs, como la retinopatía diabética y el glaucoma, se obtienen registros con apariencia más simétrica como consecuencia de ello.

Debe tenerse en cuenta que cuando un frame es activo para un hexágono éste sólo aparece encendido entre 1 y 2 ms, permaneciendo apagado la mayor parte del tiempo. Por otra parte, la probabilidad que tiene cada hexágono de encenderse en cada frame es de 0,5, de acuerdo al carácter aleatorio de la secuencia-m. Así, si utilizamos siete frames de relleno (mfERG 7F), los flashes locales no podrán aparecer más próximos que unos 106 ms ($13,33 \text{ ms} \times 8$) y aparecerán separados una media de 212 ms.

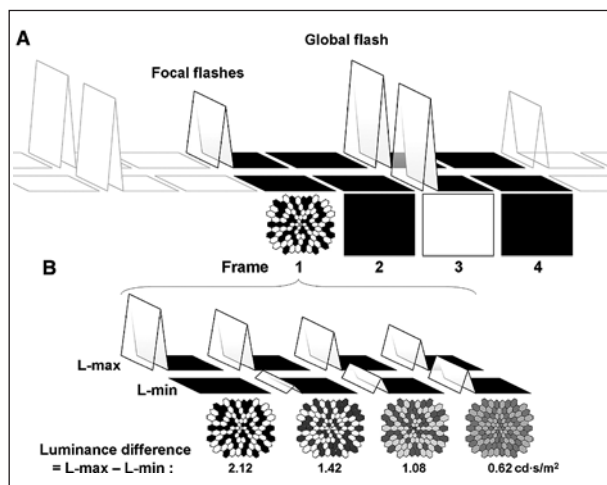


Fig. 16a: (A) Secuencia de estimulación de flash global, donde la diferencia de energía lumínica (B) entre los hexágonos encendidos y apagados del frame multifocal ($L_{\max} - L_{\min}$), en cuatro sesiones de registro diferentes con el mismo paciente, se configuraron con distintos valores (figura modificada de Fortune *et al.*, 2001).

APLICACIONES CLÍNICAS DEL ERG MULTIFOCAL

En este apartado haremos un resumen actualizado de las aplicaciones clínicas y limitaciones de la electrorretinografía multifocal. Como ya se ha comentado, la mfERG estándar mide fundamentalmente las

funciones del sistema de conos, estando la respuesta de primer orden dominada principalmente por células de las capas retinianas externas, tal como los fotorreceptores y las células bipolares *on* y *off* (Hood et al., 2002) (34). Por otra parte, se sugirió que la respuesta de segundo orden reflejaba la actividad retiniana interna de las células ganglionares. Sin embargo, posteriormente se ha demostrado que existe una correlación pobre entre las distribuciones espaciales de las respuestas de segundo orden y las células ganglionares retinianas (Yoshii et al., 2001) (35). Por tanto, en contraste con la respuesta de primer orden, el kernel de segundo orden no es una respuesta generada por células retinianas específicas, sino una medida de cómo un flash precedente afecta a la respuesta multifocal debido a los mecanismos de adaptación no lineales de la retina.

Aparte de usar el mfERG para registrar las respuestas procedentes del sistema de conos, también se puede hacer un registro mfERG mediado por bastones a través de la adaptación a la oscuridad e insertando frames oscuros entre los flashes multifocales, con objeto de estudiar la función topográfica del sistema de bastones.

Existen factores importantes que pueden afectar a las respuestas mfERG, incluso de sujetos sanos, como la edad, cataratas, errores refractivos del ojo, etc. Existen varios estudios que han investigado los efectos de la edad en los registros mfERG (Fortune & Johnson, 2002) (36). En general, la mayoría de ellos encontraron reducciones en las amplitudes y retardos que se incrementaban con la edad. También se encontró que el efecto de la edad era más marcado en la zona central de la retina que en su periferia. Estos resultados marcaron la importancia de desarrollar una normativa y darla a conocer a los usuarios por parte de los laboratorios fabricantes de equipos.

En cuanto a la existencia de cataratas, éstas pueden producir una dispersión de la luz y existen estudios que demuestran cómo pueden modificar asimismo las respuestas multifocales (Tam et al., 2005) (37). Básicamente, se encontró que las amplitudes de las ondas N1 y P1 de la mácula central se veían significativamente reducidas a medida que el grado de severidad de las cataratas era mayor.

Por su parte, la longitud axial del ojo o longitud del eje óptico y los errores de refracción, como la miopía, también pueden influir en los resultados de los registros y existen varios estudios que lo confirman (Chen et al., 2006) (38). En este caso, se encontró que las amplitudes se veían reducidas y los tiempos implícitos más retardados a medida que se incre-

mentaban los errores refractivos. En cambio, el aumento de la longitud axial afectaba básicamente en la reducción de las amplitudes y no tanto en los retardos.

Las aplicaciones clínicas del mfERG son múltiples, unas con mayor y otras con menor éxito, y crecen a medida que se sigue investigando en este campo. Pasaremos a comentar brevemente algunas de ellas. Para un estudio en mayor profundidad sobre el amplio uso de esta técnica en distintas patologías, así como el estudio de los efectos que ciertos fármacos provocan en la retina, se recomienda consultar (83).

Degeneración Macular Asociada a la Edad (DMAE)

La degeneración macular asociada a la edad (AMD, en inglés) es una causa común de incapacidad visual en la población de edad más avanzada y la mfERG ya se ha usado para valorar la extensión de los daños retinianos en este tipo de enfermedad (Palmowsky et al., 1999) (39), Feigl et al., 2005 (40). En pacientes que padecían AMD en etapas precoces se apreció una reducción significativa en la amplitud de la onda P1 foveal y un retardo en el tiempo implícito de la onda N1, comparados con los obtenidos en sujetos de control de la misma edad. Palmowski *et al* obtuvieron una buena correspondencia topográfica entre los resultados del mfERG y los cambios anatómicos detectados en la retina con otras técnicas (Palmowsky et al., 1999) (39). Sin embargo, sólo estudiaron tres pacientes y otros autores en estudios posteriores han demostrado que las anomalías detectadas con mfERG aparecen más difuminadas, comparadas con los cambios morfológicos.

Feigl *et al* compararon el uso del mfERG con varias técnicas subjetivas de medida de la función visual en AMD precoz, como la visión del color y la sensibilidad al contraste (Feigl et al., 2004) (40). El resultado es que con el mfERG no fue posible discriminar entre sujetos de control y pacientes precoces afectados por AMD, mientras que sí fue posible discriminarlos mediante las técnicas subjetivas. Posteriormente, los mismos autores demostraron que usando una estimulación mfERG de flash global mejoraba el diagnóstico de AMD precoz, comparada con la mfERG convencional Feigl et al., 2005 (41).

Aunque la mfERG parece resultar útil en el diagnóstico de la degeneración macular asociada a la edad, se debe avanzar más en su estudio para optimizar su uso en el diagnóstico de esta enfermedad (Lai et al., 2007) (42).

Retinopatía Diabética

La retinopatía diabética es una complicación importante de la diabetes mellitus y puede conducir a una incapacidad visual importante. Existe un gran número de estudios donde la mfERG también se ha usado para evaluar la función retiniana en este tipo de enfermedad. En casi todos los casos se ha demostrado que las medidas de tiempos implícitos son más sensibles, comparadas con los cambios en las amplitudes, a la hora de detectar la disfunción retiniana (Han et al., 2004a, 2004b) (90,91). Existen otros estudios donde la aplicación de la mfERG ha ayudado a entender mejor los cambios funcionales que sufre la retina en enfermos precoces con diabetes. Incluso, se ha utilizado esta técnica en estudios longitudinales para la predicción de la aparición futura del glaucoma (Han et al., 2004a, 2004b) (43,44).

Retinosis Pigmentosa

La retinosis pigmentosa (RP) engloba un grupo de afecciones hereditarias y esporádicas de la retina, caracterizadas por ciertas disfunciones de los fotorreceptores y del epitelio pigmentario retiniano. El ERG de campo completo ha venido usándose tradicionalmente, pero como éste sólo mide la respuesta de masa de toda la retina, resulta imposible valorar de forma específica la respuesta central de la retina. El mfERG, en cambio, ha sido ampliamente utilizado en RP para evaluar las variaciones en las disfunciones retinianas tanto centrales como de otras pequeñas áreas (Chan & Brown, 1998, (45).

Según estos estudios previos, el mfERG resulta útil a la hora de diferenciar áreas afectadas de las no afectadas por RP (fig. 16b). En Hood et al., 1998 (46) se muestra que tanto la amplitud como el tiempo

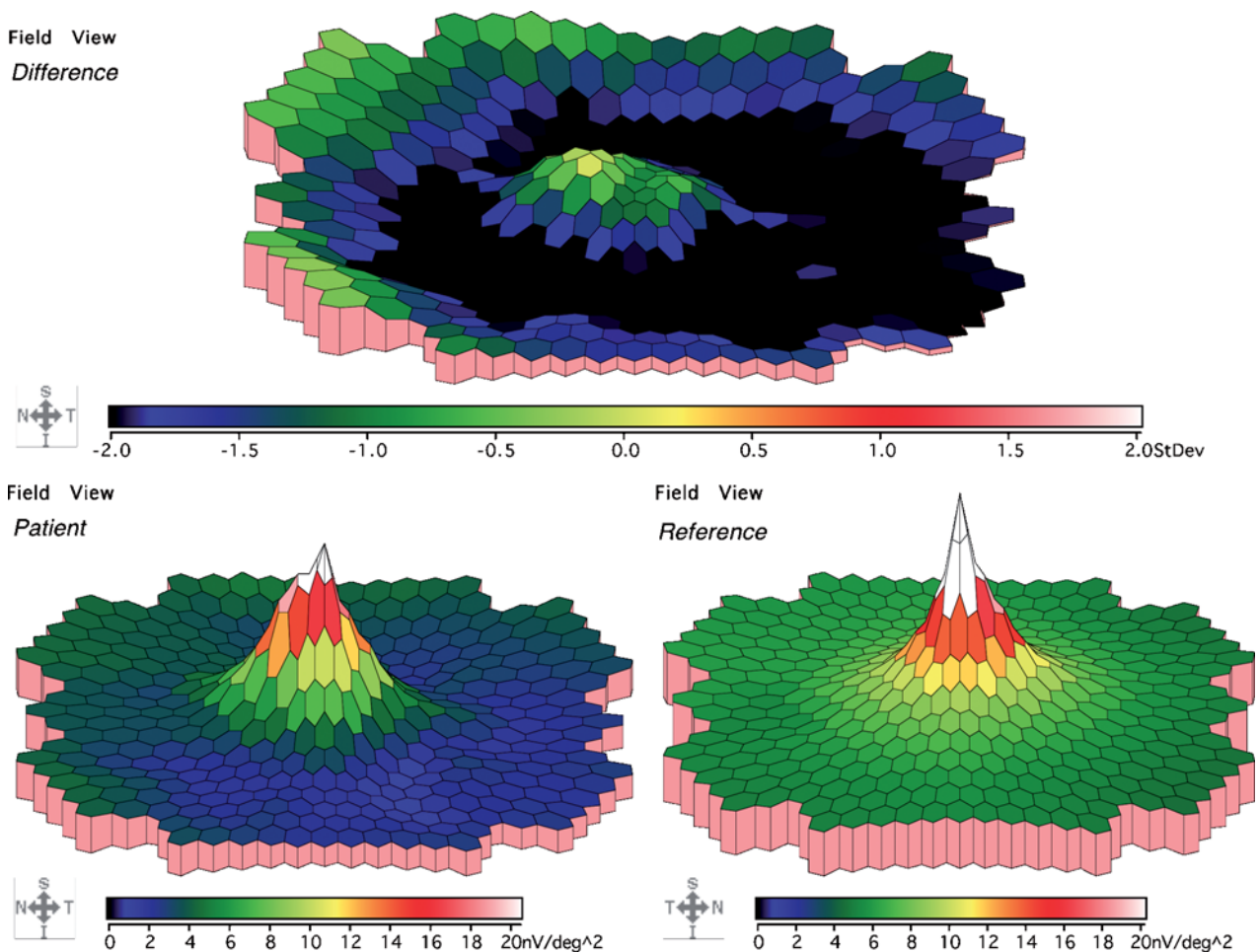


Fig. 16b: Representación en 3D de los resultados de una prueba de mfERG en una distrofia de conos-bastones.

implícito se ven alterados y son dependientes del grado de excentricidad en la retina que tiene la zona afectada. En este mismo estudio se observó que los pacientes afectados por RP presentaban reducciones significativas en las amplitudes de respuesta para cualquier excentricidad en la retina, mientras que los tiempos implícitos se encontraban dentro de lo normal en zonas centrales y aparecían significativamente retardados en la retina periférica.

Holopigian *et al* (47) utilizaron parámetros especiales en el mfERG y estudiaron tanto el mfERG mediado por conos como el mfERG mediado por bastones en pacientes con RP. Los resultados mostraron que mientras que en el mfERG mediado por conos las amplitudes de respuesta y los tiempos implícitos presentaban correlaciones significativas con la extensión de pérdida de campo visual, en el mfERG mediado por bastones no se apreciaba correlación alguna.

Por otra parte, en otro estudio por Hood *et al* (46) se observó que sólo el tiempo implícito, y no la amplitud de respuesta, presentaba correlación con las posiciones de pérdida de sensibilidad visual. Parece ser que las medidas de tiempos implícitos son más importantes que las de amplitudes, a la hora de valorar las posiciones de las áreas afectadas en pacientes con RP en etapas tempranas.

Glaucoma Primario de Ángulo Abierto

El glaucoma primario de ángulo abierto (POAG, Primary Open Angle Glaucoma) es la forma más corriente de glaucoma, responsable del 60-70% de todos los casos. El calificativo de *primario* hace referencia a que no existe otra enfermedad que lo cause, mientras que *ángulo abierto* significa que el ángulo iridocorneal es normal. La evolución es lenta, no existen síntomas aparentes pero se deteriora progresivamente la visión, por ello se le ha llamado «el ladrón de la vista».

La perimetría es el método más comúnmente utilizado en la diagnosis y monitorización del daño producido por el glaucoma, pero una sus principales limitaciones es la naturaleza subjetiva de su evaluación y, por tanto, son corrientes los falsos positivos y negativos. En vista de la capacidad de la mfERG en la medida objetiva de las respuestas topográficas de la retina, han ido apareciendo múltiples estudios donde se aplica esta técnica para evaluar los cambios funcionales producidos por el glaucoma (Chan & Brown, 1999) (Chu *et al.*, 2008) (Fortune *et al.*,

2001) (Bears *et al.*, 1996) (20,29,45,51,). Chan y Brown (1999) (45) observaron que los pacientes con glaucoma presentaban reducciones significativas en las amplitudes de las respuestas de primer y segundo orden, comparadas con las de los sujetos de control. Sin embargo, no dejaron claro si esas variaciones en el mfERG eran representativas de los defectos del campo visual, ya que no realizaron un análisis de correlación con las anomalías en el campo visual. Hasegawa *et al* (2000) (48) evaluaron la relación entre los cambios en el kernel de primer orden y la pérdida de campo visual en pacientes con glaucoma, concluyendo que en pacientes con POAG aparecían cambios pequeños, pero significativos, en los tiempos implícitos de las ondas P1 y N2, comparados con los de control. Sin embargo, no apreciaron diferencias significativas en las amplitudes de respuesta entre los grupos POAG y de control, lo cual contradice al estudio comentado anteriormente. También observaron que los tiempos implícitos, y no las amplitudes de respuesta, correlaban exitosamente con los valores de sensibilidad obtenidos mediante perimetría estática. Similarmente, Hood *et al* (2000) (49) encontraron valores medios significativamente más altos en los tiempos implícitos de la onda P1 para los pacientes con glaucoma, aunque algunos pacientes exhibían tiempos implícitos normales, a pesar de su pérdida de campo visual severa. Chan (2005) (50) redujo el contraste de la estimulación al 50%, en lugar de utilizar el mfERG con estimulación convencional, y observó que los potenciales oscilatorios del kernel de primer orden se veían reducidos en dos pacientes con POAG. La reducción de estos componentes oscilatorios también se correlaba con el cuadrante que presentaba pérdida de campo visual ocasionada por el glaucoma. En otro estudio por Fortune *et al* (2001) (51) no se apreciaron diferencias significativas entre las densidades de respuesta de los hemisferios afectados y no afectados, con lo que este hallazgo puso de manifiesto una falta de correspondencia espacial entre el mfERG y las sensibilidades obtenidas mediante campimetría. En otro estudio, Palmowski *et al* (2000) (39), observaron que a pesar de los retardos significativos encontrados en los tiempos implícitos en el grupo de glaucoma, existían solapes en los parámetros entre los pacientes POAG y los controles. Todos estos resultados demostraron que la mfERG no es muy fiable en la detección y monitorización de la pérdida funcional causada por glaucoma.

También se ha estudiado la utilidad del kernel de segundo orden para hacer valoraciones en glauco-

ma. Hood *et al* (2000) (49) encontraron que no había una diferencia significativa en la relación de amplitudes entre los kernels de primero y segundo orden en los pacientes de glaucoma, cuando se comparaban con los de control. En otro estudio por Sakemi *et al* (2002) (52) se demostró que ninguno de los dos kernels apreciaba cambios que reflejara de manera precoz los defectos del campo visual producidos por glaucoma. Palmowski *et al* (2000) (39) también observaron que, aunque existía una correlación significativa entre la respuesta de segundo orden y los campos visuales, los cambios que se producían en el tiempo eran tan pequeños que la mfERG no resultaba suficientemente sensible para hacer una valoración de cambios funcionales en POAG. Todos estos resultados sugirieron que aunque los cambios en las respuestas de segundo orden se deben a las anomalías en los mecanismos de adaptación de la retina interna, no significa necesariamente que estas anomalías reflejen daños en las células ganglionares, por lo que esto no resulta útil en la investigación del daño causado por el glaucoma (Hood, 2000) (49).

POTENCIALES EVOCADOS VISUALES MULTIFOCALES

Los potenciales evocados visuales corticales (PEV o PEVc) fueron descubiertos poco después de la electroencefalografía (EEG) humana. Se generan en la corteza occipital y representan el final del procesamiento visual básico provocado por una estimulación apropiada de la retina. Los electrodos de superficie colocados sobre la corteza occipital pueden ser utilizados para detectar pequeñas señales eléctricas cuando el ojo es estimulado con un destello de luz u otro tipo de estímulo. La amplitud de los VEP corticales es muy baja (3-25 μ V) y un registro de una única respuesta puede quedar enmascarado por el ruido eléctrico superpuesto. El filtrado convencional puede eliminar parte de este ruido pero no todo. En su lugar, se utilizan filtrados de media móvil para mejorar la calidad de la señal. La adquisición de datos se sincroniza con la presentación repetida del estímulo visual y se realiza un promedio de múltiples (64 o más) registros de señal.

Los primeros estudios de PEV utilizaban un flash como estímulo, pero se observó que existía una gran variabilidad de la forma de onda registrada entre diferentes sujetos. Los paradigmas de estimulación evolucionaron y aparecieron diferentes tipos, como

el PEV de inversión de patrón donde el estímulo es una imagen en damero (en tablero de ajedrez), con una serie de cuadros blancos y negros, que van alternándose. De este modo, se elimina la componente flash al no cambiar la luminancia global del estímulo, mejorándose la variabilidad inter e intra-sujeto.

La limitación más importante del PEVc es que no tiene capacidad para localizar las lesiones ni da una imagen topográfica de la vía visual. Esta técnica no es capaz de proporcionar información topográfica sobre las diferentes partes de la retina, la vía geniculocortical ni el córtex visual. (Baseler & Sutter, 1997, Baseler *et al.*, 1994) (53,54).

Las respuestas que se obtienen de este potencial son mixtas, ya que en una misma respuesta contribuyen regiones normales y anormales del campo visual y están dominadas por las regiones que provocan las respuestas más grandes. Por lo tanto, los defectos focales se pierden (Fortune & Hood, 2003) (55). No se pueden detectar defectos focales del campo visual, sobretudo los localizados en el campo superior. Esta pérdida de información limita el uso de esta técnica (Fortune & Hood, 2003) (55). Múltiples estudios han demostrado que los PEVc anormales no aportan información adicional diagnóstica ni pronóstica para el desarrollo de diferentes patologías neurodegenerativas del sistema visual, ya que tienen una baja sensibilidad y especificidad y analizan exclusivamente pocos grados centrales del campo visual, sin cubrir las regiones periféricas del nervio óptico.

Técnica de registro de los PEV multifocales

La técnica combina la técnica de los PEV convencionales, subdividiendo por sectores el campo visual. Cada uno de ellos tiene un estímulo independiente controlado por un software especial, de forma que mediante una señal continua simple de EEG, con algoritmos matemáticos sofisticados se obtiene una respuesta de PEV de cada región independiente. Actualmente, se registran simultáneamente 60 regiones con una radio de 20-25° desde el centro del campo visual (Hood *et al.*, 2000) (56).

Los PEVmf pueden obtenerse con el mismo equipo usado para los ERGmf y aunque algunos centros poseen estos equipos, sin embargo, son muy pocos los que realizan el estudio de los PEVmf, ya que el software necesario para identificar defectos focales no está suficientemente bien desarrollado. En este momento, muy pocos grupos de estudio en todo el mundo están desarrollando esta técnica. Sin embargo se está desarro-

lloando rápidamente y se espera que se comercialice el software en un futuro próximo. El software más utilizado es el VERIS software desarrollado por Sutter (Electro? Diagnostic Imaging (EDI), San Mateo, CA). Otras compañías han desarrollado otros equipos: Roland Instruments in German. AccuMap system (ObjectiVision Pty,Ltd,Sydney,Australia), es un sistema diseñado para registrar exclusivamente PEVmf, basado en el trabajo de Graham et al. ,2009 (57).

El trazado que se obtiene es similar al original descrito por Baseler et al, (1994) (54). El campo visual se divide en 60 sectores, cada uno contiene 16 casillas (8 blancas y 8 negras), escalados según la magnificación cortical, similar a la estimulación cortical.

Se utilizan los mismos electrodos y amplificadores que en los PEV convencionales, la diferencia entre ambos es el método de estimulación y el análisis por sectores, lo que hace que se obtengan resultados diferentes. Se coloca un electrodo activo 4cm por encima del inion, electrodo de referencia en el inion y un electrodo de tierra en la frente. Dos electrodos activos 1 cm superior y 4 cm lateral al inion (Klistoner et al., 1998) (58).

Este método fue el desarrollado por Klistorner & Graham, 1998 (58) y permite obtener mejores respuestas de algunas partes del campo, especialmente las situadas por debajo de la línea media. Meigen & Krämer en 2007 (59) realizaron un estudio para optimizar la localización de los electrodos en el cuero cabelludo y concluyeron que el uso de dos derivaciones perpendiculares tomando como referencia el inion era el método de registro más efectivo. El aumento de derivaciones no incrementaba el área bajo la curva de los potenciales (Meigen & Krämer, 2007) (59). Mediante el análisis en el software de MATLAB de los registros obtenidos, se puede combinar la información de los distintos electrodos Sutter (1999) (1). En resumen, con una señal única, continua de PEV, el software extrae 60 PEVmf respuestas,

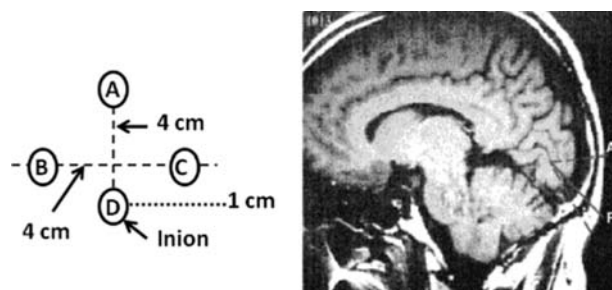


Fig. 17: Colocación de los electrodos sobre el cuero cabelludo. Representación de los electrodos sobre la corteza cerebral.



Fig. 18: Sistema VERIS para registro de los PEVmf.

cada una asociada con uno de los sectores en los que se divide el campo visual.

Estímulo. El estímulo de los PEVmf consiste en una diana dividida en 60 sectores a modo de damero (fig. 18), adaptados a la topografía cortical y con un patrón de estimulación con contraste reversible. Cada sector contiene 16 cuadros, 8 negros de luminancia $<3 \text{ cd/m}^2$ y 8 blancos de luminancia igual a 200 cd/m^2 , con un contraste de Michelson de $\sim 99\%$. (Baseler & Sutter, 1997) (53). Este estímulo se expone en un monitor a una distancia de 32 cm del paciente y el diámetro del estímulo subtiende un ángulo de $44,5^\circ$. Los sectores y los cuadros están escalados sobre factores de magnificación cortical, con excentricidad para estimular aproximadamente las mismas áreas de la corteza visual. Los sectores más internos miden $1,2^\circ$ de ancho, mientras que los más externos superan los 7° de anchura. El estímulo revierte siguiendo una secuencia m pseudorandomizada con una frecuencia de 75 Hz y una probabilidad de 0,5. Sutter (1999) (1).

Localización de los electrodos. Tres canales de registro se conectan a unos electrodos de copa dorada (Astro?Med Inc, West Warwick, USA). Para el canal medio los electrodos se sitúan a 4 cm por encima del inion (electrodo activo), en el inion (electrodo de referencia) y en la frente (electrodo de tierra). Para los otros dos canales activos, se utilizan los mismos electrodos de tierra y de referencia, pero los electrodos activos se sitúan 1cm por encima y 4cm lateralmente a ambos lados del inion (fig. 17). A partir de los 3 canales de registro se obtienen 3 canales de derivación adicionales, con un total de 6 canales efectivos que representan las 6 posibles combinaciones pareadas de los 4 electrodos (Hood et al., 2000) (56) (fig. 19).

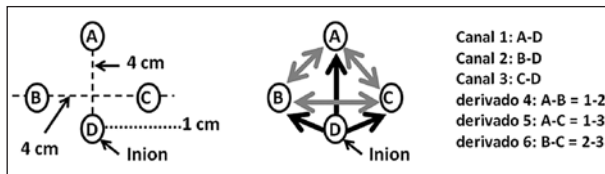


Fig. 19: (A) Localización de los electrodos. (B) Los 3 canales registrados (flechas negras) y los 3 canales adicionales derivados con el software.

Se chequea la correcta colocación de los electrodos antes de comenzar el registro mediante una unidad de medida de la impedancia de los electrodos (por ejemplo, GRASS F-EZM5, electrode impedance meter, West Warwick USA) (fig. 20).

Registros. Los registros son monoculares, sin dilatación pupilar, con una duración total de 14 minutos divididos en dos segmentos de 7 minutos y pueden ser realizados por un técnico. Las señales se filtran y amplifican en unos límites de frecuencia de 3 a 100 Hz (Grass Instrument preamplifier P511J, Quincy, MA), y son muestreadas a 1200 Hz (cada 0,83 ms). La secuencia de estimulación visual tiene 215-1 elementos (Hood & Greenstein, 2003) (60).

Cada 13,3 msec durante la estimulación, el marco del monitor cambia, de forma que cada sector varía (se invierte) o puede no variar nada, obteniendo de esta forma una secuencia de cada uno de los sectores cuyas latencias se analizan comparadas con normales. Si sumamos todos los registros en el momento en que un sector en concreto se invierte, el resultado obtenido es la respuesta R. La suma de todos los registros obtenidos en el momento en que dicho sector no se invierte es la respuesta NR. La respuesta R contiene las respuestas de todos los sectores invertidos, incluido el sector estudiado. Sin embargo, la respuesta NR contiene las res-



Fig. 20: Medida de la impedancia de los electrodos mediante GRASS F-EZM5 electrode impedance meter, West Warwick USA.

puestas de todos los sectores excepto el estudiado. Esta información de los 60 sectores, se analiza mediante una secuencia pseudo-randomizada y mediante un algoritmo obtenemos las respuestas de todos los sectores (fig. 21).

El registro PEVmf del canal 1 resulta de las señales emitidas entre los electrodos A-D, el registro del canal 2 recoge las señales emitidas entre los electrodos B-D y el registro del canal 3, las señales emitidas entre los electrodos C-D. El registro del canal de derivación 4 recoge las señales emitidas entre los electrodos A-B, los del canal de derivación 5 recoge las señales emitidas entre los electrodos A-C y por último, los del canal de derivación 6 las señales emitidas entre los electrodos B-C (fig. 22). El canal que provee el mejor registro por sector, con relación señal/ruido mayor, fue seleccionado durante el análisis como el mejor canal de respuesta o best channel response (Hood & Greenstein, 2003) (60).

Cada registro es una abstracción matemática, resultado de una correlación entre la secuencia reversible de cada sector y el registro continuo. Las respuestas obtenidas son técnicamente kernels de segundo orden. La relación señal-ruido está amplificada al combinar los kernels de segundo orden más dominantes. El ruido en cada registro se determina a partir de secciones de la función de correlación cruzada que no contengan ninguna señal apreciable (fig. 21). En cada sector, la amplitud de la señal (RMS), a partir de la combinación de los kernels, se prueba ante la DE del ruido de la señal. Para incluir una localización en el análisis, la respuesta de uno de los ojos debe medir al menos 1,7 DE por encima del nivel de ruido. Se monitorizó en todo momento

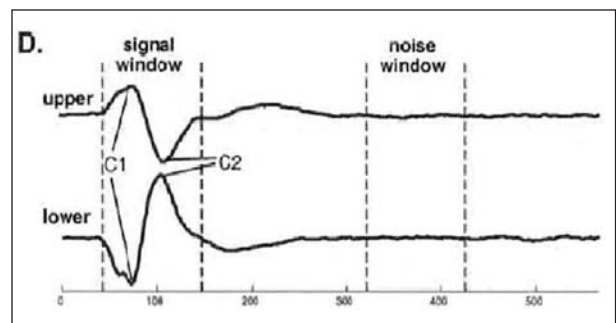


Fig. 21: Las ventanas de señal y ruido usadas para el análisis. El potencial es la suma de respuestas de todos los sectores de los campos superior e inferior. C1 y C2 son las respuestas iniciales negativas y positivas del PEVmf. Las líneas discontinuas representan la «ventana de señal» (45-100ms) y la «ventana de ruido» (325-430ms). (Figura modificada de Hood et al., 2001).

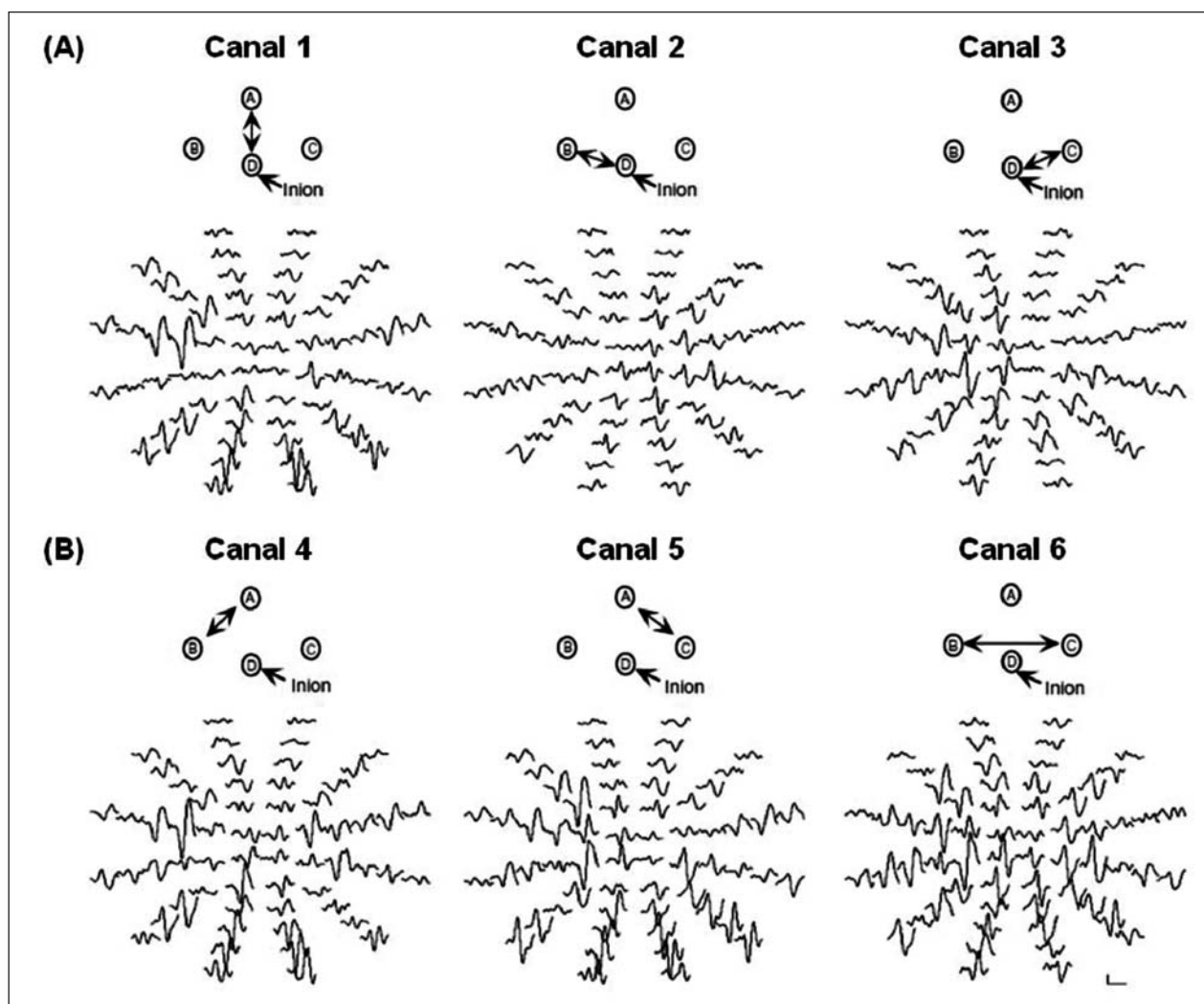


Fig. 22: Respuestas PEVmf en un sujeto control, (A) en los 3 canales registrados y (B) en los 3 canales derivados.

la fijación del paciente y los segmentos inadecuados fueron de nuevo registrados.

Las estimaciones y análisis de los registros se realizan con programas específicamente desarrollados por nuestro laboratorio en MATLAB (MATLAB software; The Mathworks, Natick, Massachusetts, USA). Los registros se filtran mediante la técnica de transformación de Fourier. El filtrado a 35 Hz maximiza la señal del ruido y minimiza los falsos positivos del ruido de ventana. Los análisis se realizan a partir de las respuestas «best channel» en los 6 canales disponibles por ojo. Una base normativa de datos nuestra se utiliza para el análisis, integrada por 100 sujetos controles en edades comprendidas entre 21 y 92 años (media de edad $49 \pm 13,6$ años) con AV LogMAR $\leq 0,1$ en ambos ojos, CV normales y sin co-morbididades oculares y/o sistémicas. La amplitud de res-

puesta se calcula obteniendo la media de la raíz cuadrada (RMS) de la amplitud de cada respuesta de PEVmf en intervalos de tiempo de 45 a 150 ms. (Hood et al., 2000) (61).

El ratio señal/ruido se obtiene para cada respuesta local, la RMS de la amplitud de la señal de ventana (intervalo de 45-150 ms) se divide por la RMS de la amplitud de ventana de ruido (325-430 ms). La RMS de la amplitud de ventana de ruido se calcula como un promedio de los valores de las ventanas de ruido de los 60 registros/ojo (Zhang et al., 2002) (62) (fig. 23).

Cada uno de estos valores se compara con una base normativa de datos descrita por Fortune et al (2004) (63) y se obtiene un gráfico monocular de probabilidades (monocular probability plot). También se calcularon las diferencias de amplitud intero-

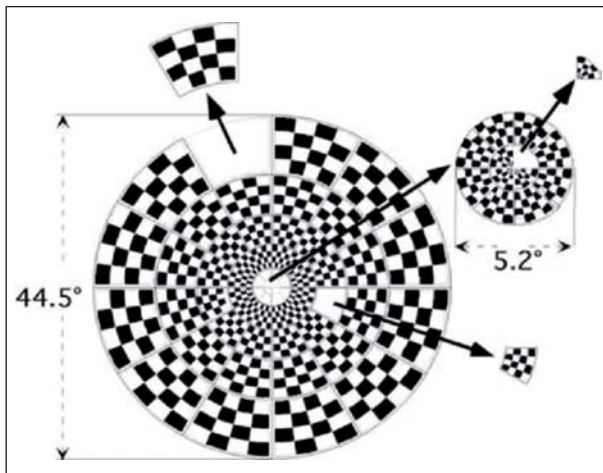


Fig. 23: División en 60 sectores del campo visual.

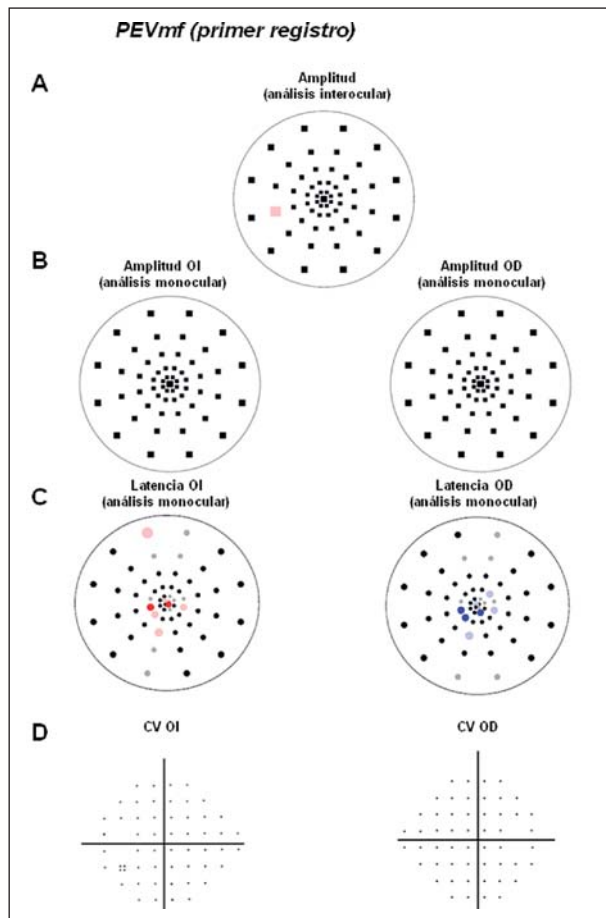


Fig. 24: Ejemplo de un registro de PEVmf. A) Análisis interocular de amplitudes normal; B) Análisis monocular de amplitudes normal en ambos ojos; C) Análisis monocular de latencias mostrando defectos de conducción paracentrales en ambos ojos; D) Gráficas de probabilidad de la desviación total en la perimetría Humphrey (24-2) normales en ambos ojos.

cular para cada paciente mediante el logaritmo del ratio interocular de cada localización y se obtiene un gráfico interocular de probabilidades (interocular probability plot). El gráfico de probabilidades de las amplitudes, utiliza un código de color con cuadrados saturados en rojo para el ojo izquierdo y saturados en azul para el ojo derecho, indicando una diferencia estadísticamente significativa para un valor de $P \leq 0,01$ y colores desaturados para un valor de $P \leq 0,05$. Los cuadrados negros indican que no hay diferencias estadísticamente significativas y los cuadrados grises que la señal es demasiado baja para ser comparada (figs. 24 y 25).

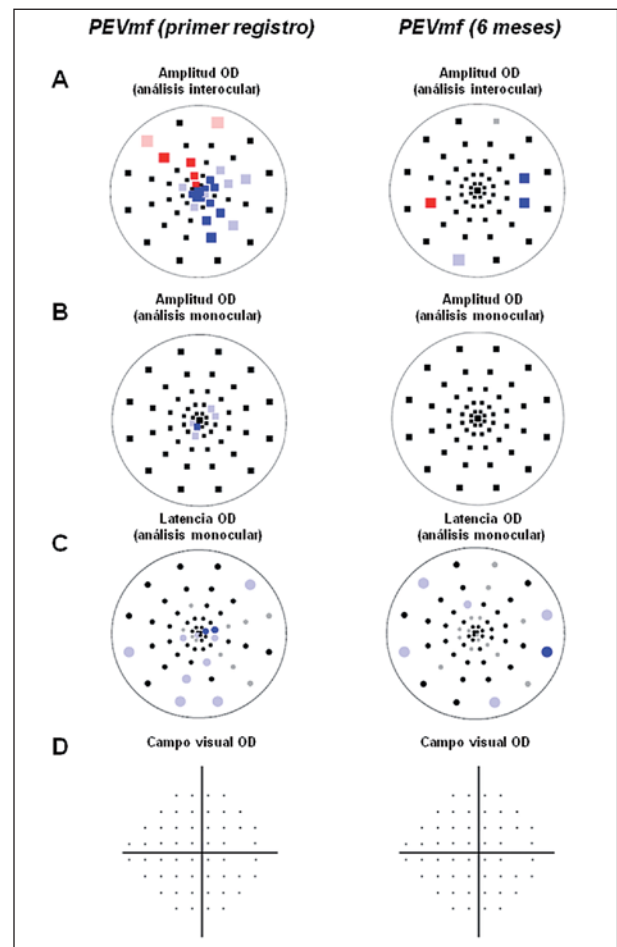


Fig. 25: Ejemplo de un registro de PEVmf basal y a 6 meses en una EM establecida y NO subclínica. A) Análisis interocular de amplitudes basal y a 6 meses anormal (OD, azul); B) Análisis monocular de amplitudes basal y a 6 meses en OD normal; C) Análisis monocular de latencias en OD mostrando defectos de conducción centrales en la primera exploración y normalización a los 6 meses; D) Gráficas de probabilidad de la desviación total en la perimetría Humphrey (24-2) normal OD.

Las latencias monoculares e interoculares se obtienen como un desfase temporal de la mejor intercorrelación entre las respuestas del ojo del paciente y las respuestas de la base normativa (análisis monocular) o bien de las respuestas de ambos ojos del paciente (análisis interocular), (Zhang et al., 2002) (62) usando la función de intercorrelación estándar del MATLAB. Los El ratio señal/ruido fue $<1,7$. El gráfico de probabilidades de las latencias utiliza el mismo código de color que el de las amplitudes, pero con círculos en lugar de cuadrados. Se considera un ojo como anormal cuando contenía criterios cluster anormales. Un cluster anormal contiene 2 o más puntos contiguos con un valor de $P < 0,01$ (azul intenso para ojo derecho y rojo intenso para ojo izquierdo), o bien 3 o más puntos contiguos con un valor de $P < 0,05$ (azul claro para ojo derecho y rojo claro para ojo izquierdo), con al menos 1 punto con un valor de $P < 0,01$ (Hood et al., 2000) (56).

Valores de normalidad y reproducibilidad

Todos los estudios sobre PEVmf realizados se han relacionado con sujetos normales, sin embargo, estos resultados no son extrapolables a otros investigadores. La versión actual de los equipos de registro multifocal en el mercado no incorporan valores de normalidad. Por lo tanto, cada clínico deberá establecer sus propios valores de normalidad relacionados con la edad, ya que el ruido de la exploración hace que varíen los resultados. Es importante comprobar la reproducibilidad de la técnica. Chen et al, (2003) (65) publicaron en un estudio sobre 15 sujetos controles sanos y 10 pacientes con glaucoma, unos valores de reproducibilidad mejores que en la campimetría visual de Humphrey (VHF), sin embargo, observaron importante variabilidad intersujeto para que esta técnica fuera válida para estudios clínicos. La mayor variabilidad depende de la anatomía cortical de cada sujeto y su relación con las estructuras anatómicas de referencia como el inion. Estas diferencias pueden producir marcada variabilidad en los PEVmf (Steinmetz et al., 1989) (64).

Para evitar la variación interindividual, se estudia el PEVmf de ambos ojos en un mismo sujeto. Aunque las respuestas entre dos individuos son diferentes, las respuestas de los PEVmf de ambos ojos sanos del mismo individuo deberían ser iguales. Esto es debido a las conocidas bases anatómicas. Cualquier punto del campo visual cae sobre la retina temporal de un ojo y sobre la retina nasal del contralateral. Este par

de respuestas proyecta sobre prácticamente la misma zona cortical del córtex occipital. Por ejemplo, un punto en el campo visual izquierdo cae sobre la retina temporal del ojo derecho y sobre la retina nasal del ojo izquierdo (Steinmetz et al., 1989) (64). Por lo tanto, si el nervio óptico, la retina y las vías visuales no están alteradas en ningún ojo, el PEVmf obtenido de un estímulo del mismo punto del campo visual, debería ser el mismo de ambos ojos. Por lo tanto, si las respuestas monoculares PEVmf obtenidas de ambos ojos de sujetos sanos son similares, la comparación entre los registros monoculares de un paciente podría permitir la detección temprana y localización lesional de las células ganglionares o de la vía óptica (fig. 24). Hood et al, (2004) (66) demostraron en un estudio una mínima diferencia interocular dentro de un mismo individuo, que no interfiere con la validez de la técnica. Se han establecido unas normas «Normas de Portland» descritas por Hood et al. para el análisis del software (Fortune et al., 2004) (63).

Aplicaciones clínicas de los PEV multifocales

En nuestra experiencia clínica, éstas son las indicaciones más frecuentes de los PEV multifocales:

- Estudio de posibles defectos funcionales: el PEVmf tiene la ventaja de la representación topográfica, lo que permite compararlo con la campimetría visual.
- Estudio de alteraciones visuales no detectadas por otras técnicas (campimetría visual standard, PEVc).
- Diagnóstico etiológico del tipo de neuropatía óptica (isquémica, compresiva, inflamatoria).
- Diagnóstico y seguimiento de la afectación de las vías visuales en la esclerosis múltiple.
- Confirmación de campos visuales dudosos o en pacientes que no lo realizan correctamente, falsos positivos, falsos negativos.
- El PEVmf puede establecer el origen orgánico de los defectos de la campimetría visual y puede sugerir la etiopatogenia subyacente. Esta prueba, asociada al ERG multifocal, ofrece un análisis potente de toda la vía visual.

Limitaciones clínicas de los PEV multifocales

- Resolución espacial: es más limitada en la periferia del campo.
- Dificultades en la realización de la prueba: somnolencia o enfermedades neurológicas (Parkinson etc.).

- Fijación excéntrica y defectos de refracción mayores de 7D.

- Variabilidad en la distribución cortical y colocación de los electrodos: *Bengtsson et al* demostraron una buena reproducibilidad con el montaje de los electrodos verticales y horizontales, sin que afecte la variante anatómica o el pequeño desplazamiento de los electrodos.

El Optic Neuritis Treatment Trial (ONTT) (ONTT group, 1991) (67) mostró que más del 50% de los casos de neuritis óptica tienen un escotoma periférico en el campo visual. Como los PEVc representan principalmente las respuestas maculares, no es posible la detección de dichos defectos con esta técnica. Hood et al (2004) (66) obtuvieron registros de PEVmf de pacientes con neuritis óptica y esclerosis múltiple y propusieron que los PEVmf eran mejores que los PEVc para detectar el daño de lesiones focales en el nervio óptico y la retina, (Fortune & Hood, 2003) (55) ya que la técnica de los PEVmf permite registros simultáneos de respuestas de muchas regiones del campo visual, a diferencia de los PEVc, que están dominados por la región macular. *Hood et al*, han apuntado dos razones por las que los PEVmf son superiores a los PEVc:

- Los PEVc suman respuestas de una amplia región del campo visual, por lo que retrasos locales en el potencial pueden no detectarse. Los PEVc no proporcionan información topográfica sobre las diferentes partes de la retina, la vía genículo-cortical ni el córtex visual. Finalmente, los PEVc pueden detectar amplias zonas de desmielinización, pero no son capaces de localizar las lesiones.

- El campo inferior contribuye más que el campo superior a la señal de los potenciales por lo que los PEVc detectan peor los defectos del campo superior.

Múltiples estudios posteriores han confirmado que los PEVmf son superiores a los PEVc para detectar defectos focales del campo visual en pacientes con neuritis óptica. Klistorner et al, (2008) (68) realizaron PEVc y PEVmf a pacientes con neuritis óptica unilateral. Los PEVmf demostraron mayor sensibilidad (89%) para identificar los ojos afectados que los PEVc (73%). Al analizar casos individuales, los PEVmf permitían detectar pequeños defectos del campo visual y defectos periféricos no detectables por la otra técnica, por lo que reflejan mejor el estado del nervio óptico. Grover et al, (2008) (69) realizaron un estudio en 19 pacientes con neuritis óptica y esclerosis múltiple y en 40 controles, todos ellos se les realizó PEVc y PEVmf. Publicaron una especificidad del 90% y una sensibilidad del 94,7% para los

PEVmf, demostrando superioridad con respecto a los PEVc para detectar daño subclínico y defectos focales en el nervio óptico.

Los potenciales evocados visuales multifocales y su utilidad en el diagnóstico y seguimiento de las neuritis óptica desmielinizantes

Ya hemos ido comentando que con los PEVmf, es posible estimular un área limitada de la retina y obtener respuestas de las diferentes zonas del campo visual. Así permiten monitorizar la recuperación del nervio óptico. Los PEVmf permiten un estudio topográfico-funcional de la vía visual con la medida de la amplitud y latencia de respuestas en un campo de 24° lo que permite identificar defectos focales del nervio óptico con una elevada sensibilidad y especificidad (Graham et al., 2000) (57).

Fraser et al, 2006 (70) realizaron un estudio con 64 pacientes que habían padecido neuritis óptica aguda y pasada. Un tercio de ellos estaban diagnosticados de esclerosis múltiple, otro tercio eran síndrome clínico aislado y el resto eran posibles esclerosis múltiple. Detectaron alteración en los PEVmf en 97,3% de los ojos con neuritis óptica y posteriormente el mismo grupo publicó una sensibilidad de los PEVmf del 89% en un estudio de 26 pacientes con neuritis óptica unilateral. Grover et al, (2008) (69) han publicado una especificidad del 90% y una sensibilidad del 94,7%, tanto para el análisis monocular como el análisis interocular de los PEV multifocales, demostrando superioridad con respecto a los PEVc y Pakrou et al, (2006) (74) han identificado 96% de los ojos con neuritis óptica como anormales.

Un estudio reciente realizado por Laron et al. (2009) (2005) (73) en 74 pacientes con esclerosis múltiples en los cuales la mitad habían padecido neuritis óptica, obtuvieron una sensibilidad del 91% en los ojos afectados de neuritis óptica con una especificidad del 95%. Sin embargo, esta sensibilidad disminuía en los casos de neuritis óptica bilateral. Este estudio concluye que los PEVmf son una técnica de elevada sensibilidad y especificidad para detectar alteraciones en la vía visual en pacientes con esclerosis múltiple y neuritis óptica, e incluso sirve para detectar lesiones subclínicas. Al estudiar áreas externas a los 10° centrales del campo visual, permite detectar defectos focales. Se postula como potencial prueba para monitorizar la recuperación y la progresión de la enfermedad.

Existe un factor limitante que es la variación interindividual de las respuestas debido principalmente a

la variabilidad de la anatomía del córtex visual y también en la posición de los electrodos. Para evitar el problema anterior, Hood et al, (2000) (61) utilizaron una técnica en la que se realiza una comparación interocular. Se conoce que un punto en el campo visual activa células ganglionares que corresponden a áreas de las dos retinas y proyectan en la misma área cortical, por lo que la respuesta de los dos ojos a la estimulación debería ser idéntica. Este método incrementa la sensibilidad y fiabilidad de la técnica de los PEVmf, aunque es sólo aplicable a lesiones unilaterales anteriores al quiasma óptico. Para el estudio de lesiones posteriores al quiasma en las que se afectan fibras de ambos ojos o lesiones que afectan a toda la vía visual, es necesario tests monoculares. Por lo tanto, es necesario establecer valores normales

Ruseckaite et al, (2005) (71) describieron una mejora de esta técnica mediante el paradigma de los estímulos aislados. Estos estímulos alternan señal-ruido y el tiempo de grabación puede disminuir hasta el 75% comparado con la técnica convencional, para que pueda ser aplicable en la clínica. Con esta técnica, Ruseckaite et al (2005) (71) describieron una sensibilidad del 92% y una especificidad del 100% usando los PEVmf más dispersos con sólo 3 minutos de registro. La reproducibilidad de los PEVmf estándar es ya muy buena, por lo que puede ser una prueba útil y con mejor coste-eficacia que la resonancia magnética nuclear para la monitorización y el seguimiento de los pacientes.

En el estudio de Laron et al, (2009) (73) se identificaron alteraciones en los PEVmf en el 25% de los ojos de pacientes con esclerosis múltiple no afectos de neuritis óptica, lo que confirma la posibilidad de esta técnica de detectar lesiones subclínicas. Estos resultados son similares a los publicados mediante la tomografía óptica computerizada (Noval et al., 2006) (72). En otros estudios recientes (Fraser et al, 2006) (70) también se ha demostrado que los PEVmf no solo representan una técnica sensible para diagnosticar las neuritis óptica, sino que sirve como potencial marcador para pronóstico de la enfermedad y valoración del desarrollo posterior de esclerosis múltiple en pacientes con neuritis óptica como síndrome clínico aislado (SCI).

Klistorner et al, (2008) (75) realizaron un estudio en cincuenta pacientes con neuritis óptica, entre seis meses y tres años después. A todos ellos les realizaron pruebas de tomografía de coherencia óptica y PEVmf para estudiar la relación entre la medida estructural y funcional del nervio óptico. Confirmaron como otros estudios que existe disminución del

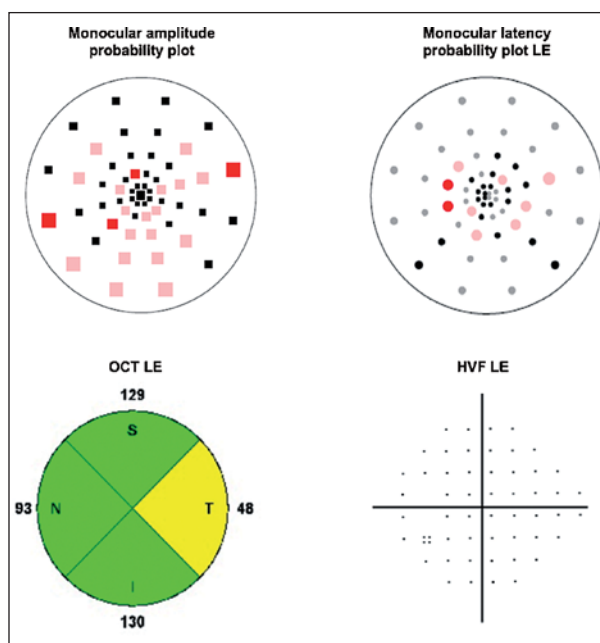


Fig. 26: Ejemplo de un registro de PEVmf y OCT. A) Análisis interocular de amplitudes (OD, azul); B) Análisis monocular de amplitudes basal normal; C) Análisis monocular de latencias en OD mostrando defectos de conducción centrales en la primera exploración; D) Gráficas de probabilidad de la desviación total en la perimetría Humphrey (24-2) normal OI.

grosor de la capa de fibras nerviosas de la retina (CFNR) en el estado post-agudo de la neuritis óptica. El mayor adelgazamiento se observa en el sector temporal, al igual que estudios previos. También se encontró reducción de la amplitud del PEVmf en los ojos con neuritis óptica en todas las áreas del campo visual, aunque la mayor reducción se observó en la parte central que se corresponde con el sector temporal de la tomografía de coherencia óptica. La reducción de la amplitud de los PEVmf fue mayor que el adelgazamiento de la CFNR (ver ejemplo, figura 26) y podría ser explicado por dos razones:

- Una mayor sensibilidad de los PEVmf para la pérdida axonal comparado con la tomografía de coherencia óptica.
- Los PEVmf están registrando también el proceso inflamatorio de toda la vía visual, que puede ser subclínica. Esto justificaría la reducción de la amplitud de los PEVmf debido al bloqueo en algunas fibras no correspondientes a la CFNR, por lo tanto no identificada por la tomografía de coherencia óptica.

En otro estudio reciente, Laron et al, (2009) (73) comparan los resultados de la campimetría visual, los PEVmf y la tomografía de coherencia óptica en

cuarenta y siete pacientes con esclerosis múltiple y neuritis óptica. Este estudio demostró una mayor sensibilidad de los PEVmf (89%) para detectar alteraciones en los ojos con neuritis óptica con respecto a la tomografía de coherencia óptica (62%) y a la campimetría visual (72%). Los PEVmf también fueron superiores para detectar el daño subclínico en ojos sin neuritis óptica. Finalmente, Klistorner et al, (2009) (76) han publicado otro estudio con veinticinco pacientes con neuritis óptica y esclerosis múltiple a los que se les realizó tomografía de coherencia óptica y PEVmf en fase aguda y a los seis, y doce meses. Se observó que la amplitud de los PEVmf mejoró a los seis y a los doce meses, aunque la CFNR seguía adelgazada. La explicación a este fenómeno podría estar relacionada con el proceso de remielinización que comienza ya desde fases iniciales y a la reorganización funcional del córtex occipital que hace que aumente la amplitud de los potenciales incluso en casos en los que existe atrofia óptica y la CFNR está muy reducida.

En conclusión, podemos afirmar que todos estos estudios en los que se ha evaluado los potenciales evocados visuales multifocales nos sugieren que esta tecnología pueden ser una herramienta especialmente útil en la clínica para estudiar el grado de lesión del nervio óptico de forma global, ya sea daño axonal y/o desmielinización, en pacientes con patología neurodegenerativa de la vía visual (isquémica, glaucoma o desmielinizante). En estudios a más largo plazo, los potenciales evocados multifocales nos pueden servir como herramienta de diagnóstico precoz de la esclerosis múltiple y otras patologías neurodegenerativas para detectar la evolución a formas más avanzadas, cuando se supera el umbral de pérdida axonal.

AGRADECIMIENTOS

Este trabajo ha sido realizado con la ayuda de la financiación recibida del Fiscam PI-2008/9, Fundación Lain Entralgo, Biogen Idec, Ministerio Español de Ciencia e Innovación SAF2007-66175, SAF2010-21879 y Retics RD07/0062/0008.

BIBLIOGRAFÍA

1. Sutter, EE. 1991. The fast m-transform: a fast computation of cross-correlations with binary m-sequences. *SIAM J. Comput.* 20, 4 (Aug. 1991), 686-694. DOI=<http://dx.doi.org/10.1137/0220043>.
2. Sutter EE and D Tran, «The field topography of ERG components in man-I. The photopic luminance response», *Vision Research*, Vol. 32, pp. 433-466, 1992.
3. SREBRO, R., and WRIGHT, W. W. (1998): 'Visually evoked potentials to pseudorandom binary sequence stimulation. Preliminary clinical trials', *Arch Ophthalmol.*, 2, pp. 296-298.
4. Sutter EE, Imaging visual function with the multifocal m-sequence technique, *Vision Research*, Volume 41, Issues 10-11, May 2001, Pages 1241-1255, ISSN 0042-6989, DOI: 10.1016/S0042-6989(01)00078-5.
5. Hood DC, Bach M, Brigell M, Keating D, Kondo M, Lyons JS, et al. ISCEV guidelines for clinical multifocal electroretinography (2007 edition). *Doc Ophthalmol* 2008; 116(1): 1-11.
6. Hood DC, Odel JG, Chen CS, Winn BJ. The multifocal electroretinogram. *J Neuro-Ophthalmol* 2003; 23: 225-35.
7. Hood DC, Assessing retinal function with the multifocal technique, *Progress in Retinal and Eye Research*, Volume 19, Issue 5, 1 September 2000, Pages 607-646, ISSN 1350-9462, DOI: 10.1016/S1350-9462(00)00013-6.
8. Curcio, C. A.; Sloan, K. R.; Kalina, R. E. & Hendrickson, A. E. Human photoreceptor topography, *Journal of Comparative Neurology*, 1990, 292, 497-523.
9. Han Y, MA Bearse Jr, ME Schneck, S Barez, C Jacobsen, and A J Adams Towards optimal filtering of «standard» multifocal electroretinogram (mfERG) recordings: findings in normal and diabetic subjects *Br J Ophthalmol*, April 1, 2004; 88(4): 543-5.
10. Hood, DC, Seiple, W, Holopigian, K, et al (1997) A comparison of the components of the multifocal and full-field ERGs *Vis Neurosci* 14, 533-544.
11. Keating D, Parks S, Evans A. Technical aspects of multifocal ERG recording. *Doc Ophthalmol* 2000; 100: 77-98.
12. Sutter EE, Bearse MA. The optic nerve head component of the human ERG. *Vision Res* 1999; 39: 419-436.
13. Horiguchi M, Suzuki S, Kondo M, Tanikaawa A, Miyake Y. Effect of glutamate analogues and inhibitory neurotransmitters on the electroretinograms elicited by random sequence stimuli in rabbits. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 1998; 39: 2171-2176.
14. Sutter E. The interpretation of multifocal binary kernels. *Doc Ophthalmol* 2000; 100: 49-75.
15. Keating D, Parks S. Multifocal Techniques. In: Heckenlively JR, Arden GB, Nisnowitz S, Holder GE, Bach M, editors. *Principles and Practice of Clinical Electrophysiology of Vision*. MIT Press, 2006.
16. Al Yousuf N, Parks S, Dhillon B, Keating D. Acute zonal occult outer retinopathy. *Br J Ophthalmol* 2000; 84(1): 118-119.
17. Sutter E. The interpretation of multifocal binary kernels. *Doc Ophthalmol* 2000; 100: 49-75.
18. Chan HL, Brown B. Multifocal ERG changes in glaucoma. *Ophthalmic Physiol Opt.* 1999 Jul; 19(4): 306-316.
19. Chan H and B. Brown. Pilot study of the multifocal electroretinogram in ocular hypertension. *Br J Ophthalmol*, October 1, 2000; 84(10): 1147-1153.

20. Chu PHW, Chan HHL, Ng Y, Brown B, Siu AW, Beale BA, et al. Porcine global flash multifocal electroretinogram: possible mechanisms for the glaucomatous changes in contrast response function. *Vision Res* 2008; 48: 1726-34.
21. Chen, Jennifer C. and Brown, Brian and Schmid, Katrina L. (2006) Retinal adaptation responses revealed by global flash multifocal electroretinogram are dependent on the degree of myopic refractive error. *Vision Research*, 46(20). pp. 3413-2.
22. Fortune B, Bearnse Jr MA, Cioffi GA, Johnson CA. Selective loss of an oscillatory component from temporal retinal multifocal ERG responses in glaucoma. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2002; 43: 2638-2647.
23. Shimada Y, Bearnse MA, Jr, Sutter EE. Multifocal electroretinograms combined with periodic flashes: direct responses and induced components. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol*. 2005; 243: 132-141.
24. Palmowski-Wolfe AM, Todorova MG, Orguel S, Flammer J, Brigell M. The «two global flash» mfERG in high and normal tension primary open angle glaucoma. *Doc Ophthalmol* 2007; 114: 9-19.
25. Palmowski AM, Allgayer R, Heinemann-Vernaleken B, et al. Multifocal electroretinogram with a multiflash stimulation technique in open-angle glaucoma. *Ophthalmic Res*. 2002; 34: 83-89.
26. Rangaswamy NV, Zhou W, Harwerth RS, Frishman LJ. Effect of experimental glaucoma in primates on oscillatory potentials of the slow-sequence mfERG. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 2006; 47: 753-767.
27. Chu W, H. H. L. Chan, and B. Brown. Glaucoma detection is facilitated by luminance modulation of the global flash multifocal electroretinogram. *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.*, March 1, 2006; 47(3): 929-937.
28. Hood DC, Bearnse MA Jr, Sutter EE, Viswanathan S & Frishman LJ (2001). The optic nerve head component of the monkey's (*Macaca mulatta*) multifocal electroretinogram (mERG). *Vision Res* 41, 2029-2041.
29. Bearnse, M.A., Sim, D., Sutter, E.E., Stamper, R. and Lieberman, M. (1996). Application of the multi-focal ERG to glaucoma. *Investigative Ophthalmol & Visual Sci* 37(3): S511.
30. Sutter, EE, Shimada, Y, Li, Y, Bearnse, MA. (1999) Mapping inner retinal function through enhancement of adaptive components in the M-ERG OSA Technical Digest Series 1,52-55 Optical Society of America Washington, DC. *Vision Science and Its Applications*. Vol. 1.
31. Wu S, Sutter EE. A topographic study of oscillatory potentials in man. *Vis Neurosci*. 1995; 12: 1013-1025.
32. Hood, L. J. Frishman, S. Saszik, and S. Viswanathan. Retinal Origins of the Primate Multifocal ERG: Implications for the Human Response. *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.*, May 1, 2002; 43(5): 1673-1685.
33. Miyake Y. Macular oscillatory potentials in humans. *Doc Ophthalmol*. 1990; 75: 111-124.
34. Hood, L. J. Frishman, S. Saszik, and S. Viswanathan. Retinal Origins of the Primate Multifocal ERG: Implications for the Human Response. *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.*, May 1, 2002; 43(5): 1673-1685.
35. Yoshii M, Yanashima K, Wada H, Sakemi F, Enoki T, Okisaka S. 2001. Analysis of second-order kernel response components of multifocal electroretinograms elicited from normal subjects. *Jpn J Ophthalmol*. 45(3): 247-251.
36. Fortune B, Johnson CA. Decline of photopic multifocal electroretinogram responses with age is due primarily to preretinal optical factors. *J Opt Soc Am A Opt Image Sci Vis* 19: 173-84, 2002.
37. Tam WK, Chan H, Brown B, et al. Comparing the multifocal electroretinogram topography before and after cataract surgery. *Curr Eye Res* 30: 593-9, 2005.
38. Chen JC, Brown B, Schmid KL, et al. Slow flash multifocal electroretinogram in myopia. *Vision Res* 10: 2869-76, 2006.
39. Palmowski AM, Sutter EE, Bearnse MA, et al. Multifocal electroretinogram (MF-ERG) in diagnosis of macular changes. Example: senile macular degeneration. *Ophthalmologie* 96: 166-73, 1999.
40. Feigl B, Brown B, Lovie-Kitchin J, et al. Adaptation responses in early age-related maculopathy. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 46: 4722-7, 2005.
41. Feigl B, Brown B, Lovie-Kitchin J, Swann P. Cone-mediated multifocal electroretinogram in early age-related maculopathy and its relationships with subjective macular function tests. *Curr Eye Res* 29: 327-36, 2004.
42. Lai T, Chan WM, Lai R, Ngai J, Li Haitao, Lam D. The clinical applications of multifocal electroretinography: a systematic review. *Survey of Ophthalmology*. 2007; 52(1): 61-96.
43. Han Y, Bearnse MA, Schneck ME, et al. Multifocal electroretinogram delays predict sites of subsequent diabetic retinopathy. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 45: 948-54, 2004.
44. Han Y, Schneck ME, Bearnse MA, et al. Formulation and evaluation of a predictive model to identify the sites of future diabetic retinopathy. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 45: 4106-12, 2004.
45. Chan HL, Brown B. Investigation of retinitis pigmentosa using the multifocal electroretinogram. *Ophthalmic Physiol Opt* 18: 335-50, 1998.
46. Hood DC, Holopigian K, Greenstein V, et al. Assessment of local retinal function in patients with retinitis pigmentosa using the multi-focal ERG technique. *Vision Res* 38:163-79, 1998.
47. Holopigian K, Seiple W, Greenstein VC, et al. Local cone and rod system function in patients with retinitis pigmentosa. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 42: 779-88, 2001.
48. Hasegawa S, Takagi M, Usui T, et al. Waveform changes of the first-order multifocal electroretinogram in patients with glaucoma. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 41: 1597-603, 2000.
49. Hood DC, Greenstein VC, Holopigian K, et al. An attempt to detect glaucomatous damage to the inner retina with the multifocal ERG. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 41: 1570-9, 2000.
50. Chan HH. Detection of glaucomatous damage using multifocal ERG. *Clin Exp Optom* 88: 410-4, 2005.
51. Fortune B, Johnson CA, Cioffi GA. The topographic relationship between multifocal electroretinographic

- and behavioral perimetric measures of function in glaucoma. *Optom Vis Sci* 78: 206-14, 2001.
52. Sakemi F, Yoshii M, Okisaka S. Multifocal electroretinograms in early primary open-angle glaucoma. *Jpn J Ophthalmol* 46: 443-50, 2002.
 53. Baseler HA, Sutter EE. M and P components of the VEP and their visual field distribution. *Vis Res* 1997; 37: 675-90.
 54. Baseler HA, Sutter EE, Klein SA, Carney T. The topography of visual evoked response properties across the visual field. *Electroencephalogr Clin Neurophysiol* 1994; 90: 65-81.
 55. Fortune B, Hood DC. Conventional pattern-reversal VEPs are not equivalent to summed multifocal VEPs. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2003; 44:1364-1375.
 56. Hood DC, Zhang X, Greenstein VC, et al. An interocular comparison of the multifocal VEP: a possible technique for detecting local damage to the optic nerve. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 2000; 41: 1580-1587.
 57. Graham SL, Klistorner AI, Grigg JR, et al. Objective VEP perimetry in glaucoma: asymmetry analysis to identify early deficits. *J Glaucoma*. 2000; 9: 10-19.
 58. Klistorner AI, Graham SL, Grigg JR, et al. Electrode position and the multi-focal visual-evoked potential: role in objective visual field assessment. *J Ophthalmol* 1998; 26: 91-94.
 59. Meigen T, Krämer M. Optimizing electrode positions and análisis strategies for multifocal VEP recordings by ROC análisis. *Vision Res*. 2007; 47: 1445-1454.
 60. Hood DC, Greenstein VC. Multifocal VEP and ganglion cell damage: applications and limitations for the study of glaucoma. *Prog Retin Eye Re* 2003; 22: 201-251.
 61. Hood DC, Odel JG, Zhang X. Tracking the recovery of local optic nerve function after optic neuritis: a multifocal VEP study. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2000; 41: 4032-4038.
 62. Zhang X, Hood DC, Chen CS, et al. A signal-to-noise analysis of multifocal VEP responses: an objective definition for poor records. *Doc Ophthalmol*. 2002; 104: 287-302.
 63. Fortune B, Zhang X, Hood DC, Demirel S, Johnson CA. Normative ranges and specificity of the multifocal VEP. *Doc Ophthalmol* 2004; 109: 87-100.
 64. Steinmetz H, Gunter F, Bernd-Ulrich M. Craniocerebral topography within the international 10-20 system. *Electroenceph Clin Neurophysiol*. 1989; 72: 499-6
 65. Chen CS, Hood DC, Zhang X, et al. Repeat reliability of the multifocal visual evoked potential in normal and glaucomatous eyes. *J Glaucoma*. 2003; 12: 399-408.
 66. Hood DC, Ohri N, Yang EB, et al. Determining abnormal latencies of multifocal visual evoked potentials: a monocular analysis. *Doc Ophthalmol* 2004; 109: 189-199.
 67. ONTT Group. The clinical profile of optic neuritis: experience of the optic neuritis treatment trial. *Arch Ophthalmol* 1991; 109: 1673-1678.
 68. Klistorner A, Fraser C, Garrick R, et al. Correlation between full-field and multifocal VEPs in optic neuritis. *Doc Ophthalmol* 2008; 116: 19-27.
 69. Grover L, Hood D, Ghadiali Q, et al. A comparison of multifocal and conventional visual evoked potential techniques in patients with optic neuritis/multiple sclerosis. *Doc Ophthalmol* 2008; 117: 121-128.
 70. Fraser C, Klistorner A, Graham SL et al. Multifocal visual evoked potential análisis of inflammatory or demyelinating optic neuritis. *Ophthalmol* 2006; 107: 2283-2299.
 71. James AC, Ruseckaite R, Maddess T, et al. Effect of temporal sparseness and dichoptic presentation on multifocal visual evoked potentials. *Vis Neurosci* 2005; 22: 45-54.
 72. Noval S, Contreras I, Rebolledo G, Muñoz-Negrete FJ. Optical coherence tomography versus automated perimetry for follow-up of optic neuritis. *Acta Ophthalmol Scand* 2006; 84: 790-794.
 73. Laron M, Ching H, Zhang B, et al. Assessing visual pathway function in multiple sclerosis patients with multifocal visual evoked potentials. *Multiple Sclerosis* 2009; 15(12): 1431-1441.
 74. Pakrou N, Casson R, Kaines A, Selva D. Multifocal objective perimetry compared with Humphrey full-threshold perimetry in patients with optic neuritis. *Clin Experiment Ophthalmol* 2006; 34: 562-567.
 75. Klistorner A, Arvind H, Nguyen T, et al. Multifocal VEP and OCT in optic neuritis: a topographical study of the structure-function relationship. *Doc Ophthalmol* 2008; 8: 9147-9154.
 76. Klistorner A, Arvind H, Garrick et al. Correlation of optical coherence tomography and multifocal visual-evoked potential after optic neuritis. 2009; 30: 21-28.