**Índice**

[1. Origen del Electrorretinograma 3](#_Toc457470406)

[1.1. Introducción 3](#_Toc457470407)

[1.1.1. Principios Generales 4](#_Toc457470408)

[1.1.2. Enfoques para determinar los orígenes del electrorretinograma 6](#_Toc457470409)

[1.1.3. Visión de conjunto 8](#_Toc457470410)

[1.2. Componentes que se plantean en la retina distal: PIII lenta, *onda c*, canal de oscilación rápida y pico luminoso 8](#_Toc457470411)

[1.2.1. Onda “c” 9](#_Toc457470412)

[1.2.2. Canal de Oscilación Rápida (FOT) 12](#_Toc457470413)

[1.2.3. El Pico Luminoso 13](#_Toc457470414)

[1.2.4. Interacción entre componentes electrorretinográficos distales 14](#_Toc457470415)

[1.3. Orígenes de la onda *“a”* 14](#_Toc457470416)

[1.3.1. Estudios cercanos muestran que la onda “a” refleja la fotocorriente de conos y bastones receptores 15](#_Toc457470417)

[1.3.2. Estudios de disección farmacológica revelan contribuciones pos receptoras a la onda “a” 16](#_Toc457470418)

[1.4. Orígenes de la *onda b* 19](#_Toc457470419)

[1.4.1. Hipótesis de la células de Müller 19](#_Toc457470420)

[1.4.2. La célula bipolar ON como generador de la onda “b” 21](#_Toc457470421)

[1.4.3. Adaptación a la oscuridad, onda “b” conducida por bastones 22](#_Toc457470422)

[1.4.4. Onda “b” conducida por conos 23](#_Toc457470423)

[1.4.5. Componente de corriente directa de la onda “b” 23](#_Toc457470424)

[1.5. Orígenes de la onda “d” 24](#_Toc457470425)

[1.6. Orígenes del ERG fotópico de parpadeo rápido 26](#_Toc457470426)

[1.7. Orígenes de la onda *“e”* 26](#_Toc457470427)

[1.8. Respuesta proximal negativa 27](#_Toc457470428)

[1.9. Orígenes de la onda *“M”* 28](#_Toc457470429)

[1.10. Orígenes de la respuesta fotópica negativa 29](#_Toc457470430)

[1.10.1. Relación con el ERG patrón (PERG) 29](#_Toc457470431)

[1.10.2. El PhNR en humanos y roedores 30](#_Toc457470432)

[1.10.3. Longitud de onda del estímulo 30](#_Toc457470433)

[1.11. Orígenes del umbral de respuesta escotópica 30](#_Toc457470434)

[1.11.1. Establecimiento del “STR” como una respuesta separada de la retina proximal 32](#_Toc457470435)

[1.11.2. Un mecanismo de K+ en células de Müller para generación del “STR” 33](#_Toc457470436)

[1.11.3. Orígenes neuronales del “STR” 33](#_Toc457470437)

[1.12. Orígenes de los potenciales oscilatorios 34](#_Toc457470438)

[1.12.1. Resumen 37](#_Toc457470439)

[1.13. Respuesta potencial extracelular retinal no evocada por luz 37](#_Toc457470440)

[1.13.1. Potenciales evocados por estimulación del nervio óptico 37](#_Toc457470441)

[1.13.2. Propagación de la depresión 38](#_Toc457470442)

[2. Adquisición de Datos 39](#_Toc457470443)

[2.1. Introducción a los ISCEV Standards (*VER ULTIMAS CONSIDERACIONES EN LA PAGINA DE ISCEV*) 39](#_Toc457470444)

[2.2. El estándar EOG (*VER EN PAGINA ULTIMA ACTUALIZACION*) 41](#_Toc457470445)

[2.3. Estándar para Electrorretinografía Clínica (*2003, REVISAR CONDICIÓN ACTUAL*) 42](#_Toc457470446)

[2.3.1. Introducción 43](#_Toc457470447)

[2.3.2. Tecnología básica 44](#_Toc457470448)

[2.3.3. Protocolo clínico 47](#_Toc457470449)

[2.3.4. ERG específicos 48](#_Toc457470450)

[2.3.5. Registro de ERG pediátrico 51](#_Toc457470451)

[2.4. Estándar para electrorretinografía patrón 52](#_Toc457470452)

[2.4.1. Introducción 52](#_Toc457470453)

[2.4.2. Nomenclatura de forma de onda y la medición 53](#_Toc457470454)

[2.4.3. Tecnología básica 54](#_Toc457470455)

[2.4.4. Protocolo clínico 57](#_Toc457470456)

[2.5. Directrices para el electrorretinograma multifocal básico (mfERG) 58](#_Toc457470457)

[2.5.1. Introducción 58](#_Toc457470458)

[2.5.2. Descripción del electrorretinograma multifocal 58](#_Toc457470459)

[2.5.3. Tecnología básica 60](#_Toc457470460)

[2.5.4. Protocolo clínico 63](#_Toc457470461)

[2.5.5. Apéndice: Reconocimiento de artefacto 66](#_Toc457470462)

[3. Protocolo 71](#_Toc457470463)

[3.1. Introducción 71](#_Toc457470464)

[3.2. Tecnología básica 72](#_Toc457470465)

[3.2.1. Los electrodos 72](#_Toc457470466)

[3.2.2. Estimulación 73](#_Toc457470467)

[3.2.3. Aparatos electrónicos de control 75](#_Toc457470468)

[3.3. Protocolo clínico 77](#_Toc457470469)

[3.3.1. Preparación del paciente 77](#_Toc457470470)

[3.3.2. ERG análisis y presentación de informes 79](#_Toc457470471)

# Origen del Electrorretinograma

## Introducción

La respuesta eléctrica del ojo a una luz flash que puede registrarse en la córnea es generada por corrientes radiales provocadas directamente desde las neuronas retinales o como resultado de cambios en la concentración extracelular de potasio ([K+]o) sobre las células gliales de la retina. Esta respuesta, el *electrocardiograma* (ERG) (figura 1.1), es una excelente herramienta para estudiar la función retinal tanto en la clínica como en el laboratorio porque puede ser registrado de forma fácil y no invasiva con un electrodo corneal en sujetos bajo condiciones fisiológicas o casi fisiológicas (anestesiados). Sin embargo, este es un potencial “grueso” que refleja la actividad de todas las células de la retina. Para que el ERG sea una herramienta efectiva en la evaluación de la actividad normal y patológica de la retina, es importante que las contribuciones de las diversas células de la retina sean bien caracterizadas.

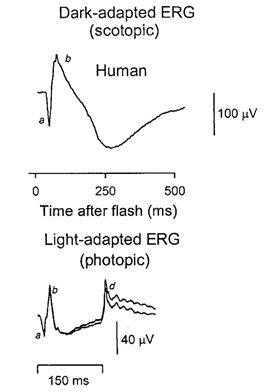


Figura 1.1. ERGs por estímulo flash en adaptación de sujetos humanos y monos macacos a la luz y la oscuridad. Arriba, adaptación a la oscuridad (ERG escotópico) en respuesta a breves destellos de alta energía desde la oscuridad que ocurren en el tiempo cero para un sujeto humano normal. La energía de estímulo fue ~400sc td.s. Parte inferior, ERG con flash en situación de adaptación a la luz (respuesta fotópica) en respuesta a los destellos de larga duración sobre un fondo de saturación de bastones para un sujeto humano normal. Los estímulos de flash ganzfeld blanco fueron de 150 ms ganzfeld blanco destellos de 4,0 log ph td presentado sobre un fondo constante de 3,3 log.sc.td.

En este capítulo se dará a conocer el estado actual de conocimiento en relación a los orígenes más conocidos y recientes que describen las ondas del ERG. Cabe aclarar al lector la necesidad de tener una noción mínima respecto a la terminología anatómico-fisiológica.

### Principios Generales

Los potenciales extracelulares como el ERG (o los potenciales visuales evocados [VEP] de la corteza) surgen debido a los cambios de conductancia localizados en las membranas de células activadas que dan lugar a corrientes interiores o exteriores que también fluyen en el espacio extracelular (ECS) y dan lugar a gradientes de potenciales extracelulares. La corriente extracelular a través del medio conductivo circundante de la célula cuya activación ha dado lugar a una fuente local o sumidero es dirigida principalmente hacia las partes relativamente menos activadas de la célula. Así, si las neuronas están organizadas de un modo ordenado tal que las corrientes extracelulares de algunas células activadas fluyen sincrónicamente en la misma dirección, los cambios del potencial extracelular resultante, llamado ***potenciales de campo***, quizás lo suficientemente grande para ser registrado a distancia. En la retina, todas las neuronas generan corrientes evocadas por luz, y en principio, todas deben contribuir para el potencial de campo retinal. Sin embargo, dependiendo de varios factores, la contribución de un cierto tipo de célula podría ser indetectable o dominaría el registro.

#### Orientación de células y patrones de flujo extracelular

Un factor que afecta la contribución celular al ERG es la orientación de la retina. Debido a esto el componente radial de la corriente extracelular que da lugar a diferentes potenciales radiales que son sensados en el registro común de ERG transretinal, neuronas retinales radialmente orientadas (fotorreceptores, células bipolares) y células gliales (células de Müller y células del epitelio pigmentario de la retina [RPE]) debería hacer mayores contribuciones al ERG que las células que están orientadas más irregularmente o tangencialmente (por ejemplo, células horizontales y amacrinas). La corriente entra del ECS en la profundidad de la retina (la fuente de corriente), y retorna dentro de la célula para otra profundidad (el sumidero de corriente), creando un dipolo de corriente. La mayoría de las corrientes extracelulares fluyen desde la fuente al sumidero atravesando el ECS dentro de la retina, pero una pequeña fracción viaja hacia el exterior de la retina, a través del humor vítreo, tejido extraocular, esclerótica, coroide, la alta resistencia del epitelio pigmentado, y retorna dentro de la retina neural. La polaridad y amplitud del ERG son críticamente dependientes de donde se colocan el electrodo activo y de referencia en este circuito. Una colocación común para el electrodo activo en estudios no invasivos de córnea, pero para el estudio del origen de las ondas, el electrodo puede posicionarse en cualquier parte del camino, en particular en diferentes profundidades en la retina. El electrodo de referencia puede también posicionarse en cualquier parte del camino pero es muchas veces retrobulbar (en estudios no invasivos) o remoto del ojo (ejemplo, en la sien) en aplicaciones clínicas. Si el electrodo de referencia remoto es usado, su posición exacta es de poca importancia excepto para la posibilidad de contaminación del registro de la señal retinal por otras fuentes.

#### Factores determinan la magnitud relativa de las señales eléctricas en el ERG

Otros factores que son importantes en la determinación de la magnitud de la contribución para el ERG de tipos particulares de células incluye condiciones de estímulo tales como energía del estímulo, longitud de onda (espectro), retroiluminación (esto determina el nivel de adaptación de la retina), duración y extensión espacial del estímulo, y la localización del estímulo dentro del campo visual, como estos parámetros del estímulo tienen diferentes efectos sobre la respuesta de diferentes células. Por ejemplo, las contribuciones relativas de varios tipos neuronales son bastantes diferentes bajo condiciones de adaptación a la oscuridad (escotópica) y adaptación a la luz (fotópica) cuando las vías de bastones y conos, respectivamente, están implicados en la generación de la respuesta (figura 12.1). Los estímulos difusos espacialmente extendidos, esto es, flashes de campo completo que cubren la retina, son comúnmente usados para obtener las mayores ondas del ERG de fotorreceptores y células bipolares. Las contribuciones del ERG de estas células generalmente aumentan con el área estimulada de la retina como el número de células, y por lo tanto la corriente total extracelular se incrementa. Por otra parte, las contribuciones de las células ganglionares (y otras células pos receptoras con regiones antagonistas dentro de sus campos receptivos) al ERG de campo completo estará limitado por la resistencia antagonista envolvente, particularmente en la demora de la respuesta y por estimulación de larga duración. Para ERGs fotópicos, particularmente desde tricrómatas tales como el mono macaco y el humano, la longitud de *onda d*el estímulo también afecta las contribuciones de las células cuyas respuestas son dependientes sobre el antagonismo espectral.

#### Amortiguamiento espacial de [K+]o

Las contribuciones de las células de Müller y del epitelio pigmentario al ERG están más retrasadas que la respuesta neuronal porque la respuesta de estas células depende de cambios relativamente lentos en [K+]o. Estas células integran el estímulo por duraciones más largas que las neuronas de la retina; por consiguiente, la amplitud de sus respuestas crecerá más que las de las neuronas cuando la duración del estímulo se prolongue.

Como se indicó arriba, las células de Müller y del RPE están radialmente orientadas en la retina. El amortiguamiento espacial de [K+]o por las células gliales es un importante mecanismo para la generación de corrientes radiales que están por debajo de los componentes o subcomponentes del ER, tales como la *onda c* y lenta PIII, el umbral del respuesta escotópica (STR), *onda M*, la respuesta fotópica negativa (PhNR), la cola de la *onda b*. Una visión general del amortiguamiento espacial de [K+]o in las células de Müller será presentado aquí. (Detalles del movimiento del K+ a través de las células del RPE puede encontrarse en el capítulo 5 y en la sección de ese capítulo sobre componentes de la retina distal.)

La función de amortiguamiento espacial de [K+]o es minimizar los cambios en la concentración local que ocurre como una consecuencia de la actividad neuronal, por lo que los gradientes electroquímicos a través de las membranas celulares que son necesarios para la actividad normal se mantienen. La despolarización de la membrana conduce a la liberación (fuga) de K+ desde neuronas, causando que se eleve la [K+]o, particularmente en las capas sinápticas de la retina (figura 12.2); la hiperpolarización de membrana conduce a una reducción en [K+]o mientras la conductancia de fuga se reduce, pero la Na+-K+ ATPasa en la membrana continúa bombeando K+ dentro de la célula. El K+ del espacio extracelular entra en las células de Müller y es radialmente transportado como una corriente intracelular (buffer espacial) a regiones de baja [K+]o. En consecuencia, la corriente de lazo es seteada: la corriente interior de la célula de Müller es transportada por K+, y para completar el circuito, la corriente extracelular de retorno es conducida por los iones extracelulares dominantes, Na+ y Cl-. El ritmo de flujo de la corriente de K+ a través de la glia es dependiente en el establecimiento del gradiente de concentración de K+. Debido a los cambios en [K+]o son dependientes en la totalidad del ritmo del flujo de K+ dentro del espacio extracelular, los componentes del ERG que reflejan esta corriente glial será más lenta en relación a los ERG que reflejan las corrientes (K+) alrededor de las neuronas. Este enlentecimiento sería equivalente a un filtrado pasa bajo de la señal neuronal.

Las propiedades eléctricas de la membrana de las células de Müller son importantes para la creación de las corrientes de amortiguamiento espacial. La membrana celular es selectivamente permeable al K+, pero la conductancia de K+ no se distribuye uniformemente sobre la superficie celular. En su lugar, está muy concentrado en la vecindad del sumidero extracelular (es decir, el cuerpo vítreo, espacio subretinal y los vasos sanguíneos). La distribución regional creada “sifón K+” desde las áreas sinápticas donde [K+]o es más alta a estos sumideros donde la conductancia K es alta. Un trabajo reciente en ratones ha mostrado una distribución regional diferencial de los canales de K+ de rectificación interna (Kir) que están implicados en el amortiguamiento espacial. Como está indicado en la figura 12.2, estos canales Kir 2.1 están fuertemente presentes en las capas sinápticas (flechas pequeñas en la izquierda) donde el K+ es removido por el ECS, mientras los canales Kir 4.1 débiles en los sumideros son conductancias bidireccionales (flechas bidireccionales), permitiendo entonces al K+ dejar la célula de Müller.

### Enfoques para determinar los orígenes del electrorretinograma

Diferentes y variados enfoques, descriptos brevemente antes, han sido usados a través de los años para determinar los orígenes de los mecanismos neuronales y celulares de generación del ERG.

#### Registros profundos intraretinales

Un microelectrodo posicionado en algún lugar en el espacio extracelular retinal registra un potencial de campo denominado ERG local o intraretinal. Cuando es activado por un estímulo local, el registro del potencial reflejará la actividad eléctrica de las células que están en la vecindad inmediata del microelectrodo. Sin embargo, cuando se usan flashes difusos de campo completo, las corrientes pueden ser suficientemente grandes respecto al ERG corneal que ocurrirá simultáneamente con el ERG local. Grandes potenciales de similar curso temporal a los componentes del ERG corneal en una profundidad retiniana particular pueden ser usados para inferir las células de origen.

A pesar de que los estudios intrarretinianos han sido útiles, existen algunos problemas asociados con este tipo de análisis: Primero, los potenciales de campo pueden extenderse largas distancias y superponerse en espacio y tiempo, haciéndolo dificultoso para determinar si un cambio en amplitud de un potencial registrado a nivel local es intrínseco a dicho componente o es debido a algún otro componente. Segundo, la resistividad retiniana varía entre y dentro de las capas retinianas. Entonces, el pasaje de corrientes a través de las capas de diferente resistencia configurará distribuciones de voltaje complejas. Ambos problemas ocurrirán en el ojo entero cuando se usa la referencia escleral: La señal local registrada con un microelectrodo estará contaminada con el ERG difuso, debido a la alta resistencia de la esclerótica y el epitelio pigmentario retiniano (RPE).

El análisis de la densidad de fuente de corriente (CSD) o fuente sumidero provee una solución a estas dificultades; los gradientes de potencial son medidos y analizados, teniendo en cuenta la resistencia radial para obtener estimaciones directas de la corriente radial. El resultado es un perfil espaciotemporal de fuentes y sumideros de corriente relativamente bien localizados, y este perfil puede ser comparado con características conocidas de la estructura y fisiología retiniana. Si se realiza correctamente, el análisis de CSD puede proveer evidencia convincente respecto al origen de los componentes del ERG (por ejemplo, para el origen de la *onda b* en células bipolares).

Cuando un componente ERG se cree que depende de corrientes espaciales amortiguadoras de K+ en las células gliales, los registros profundos intrarretinianos con microelectrodos de ión selectivo pueden ser usados para localizar la/s capas retinianas donde los cambios neuronales inducidos de [K+]o son más grandes y más similares en el curso temporal al componente de interés. La aplicación de Bario (Ba2+) al bloque de canales Kir en las células gliales ha mostrado que los componentes del ERG que dependen de las corrientes desaparecen pero los cambios neuronalmente inducidos de [K+]o permanecen, al menos en el corto plazo, después que el bloqueo es aplicado.

#### Correlación con registros unicelulares

La correlación con electrofisiología unicelular también puede ser útil en determinar los orígenes de los componentes particulares del ERG. Las correlaciones son más sencillas cuando las corrientes evocadas por luz desde un tipo singular de celular son el determinante primario de un componente del ERG, como es el caso para bastones fotorreceptores y las fotocorrientes que generan la *onda a* escotópica o las células bipolares y la *onda b* escotópica en mamíferos. La correlación además es útil si una propiedad de respuesta específica se evidencia, tal como los registros de oscilaciones evocadas por luz en células amácrinas como una fuente posible de potenciales oscilatorios en el ERG. Sin embargo, cuando las corrientes de varios tipos celulares contribuyen al potencial de campo, la relación exacta entre la forma de *onda d*el potencial de campo y la respuesta celular puede ser compleja.

#### Disección farmacológica

El uso de agentes farmacológicos que tienen efectos específicos en las funciones celulares ha sido particularmente productivos en determinar los orígenes de componentes del ERG. En el estudio de disección farmacológica clásica de Grant del ERG de gato adaptado a la oscuridad, encontró que diversos componentes desaparecieron de forma secuencial durante la inducción de la anestesia con éter. Él llamó a los componentes *procesos* y los numeró en el orden en cual iban apareciendo: PI, la *onda c* positiva, fue la primera en salir; entonces PII, la *onda b* positiva, desaparece; y finalmente, la *onda a* negativa PIII desaparece. Estos procesos corresponden aproximadamente al RPE, bipolar, y contribuciones de fotorreceptor celular al ERG, respectivamente. Los términos PII y PIII son comúnmente usados aún hoy.

En años recientes, muchos se ha aprendido sobre microcircuitería retiniana y a nivel celular y molecular sobre neurotransmisores (su identidad, mecanismos de liberación y receptores), cascadas de señales de transducción, canales iónicos y otras proteínas celulares. Este conocimiento ha permitido un mejor uso de herramientas farmacológicas en aislación los componentes del ERG y en interpretación de observaciones experimentales. Por ejemplo, conocimiento específico sobre transmisión glutamatérgica en la retina y la aplicación de agonistas y antagonistas ha proveído algunas de las ideas que ahora tenemos dentro de los orígenes de las grandes ondas del ERG primate. EL uso del bloqueador tetrodotoxina (TTX) en canales de Na+ voltaje dependientes ha hecho posible identificar componentes del ERG resultante del enclavamiento activo dependiente de Na+ de células de la retina.

#### Lesiones patológicas escíficas o mutaciones dirigidas

La eliminación de un tipo/s de células o circuitos permite valorar el rol de sus contribuciones al ERG. Un tipo específico de célula puede estar lesionado (por ejemplo, células ganglionares retinianas como una consecuencia de la sección del nervio óptico) o perdido debido a cambios patológicos (por ejemplo, células ganglionares en glaucoma) o degeneraciones genéticamente determinadas (por ejemplo, la distrofia de conos). Las funciones celulares, tales como respuestas lumínicas o transmisiones sinápticas, pueden estar eliminadas o anormales debido a condiciones inherentes o adquiridas o específicamente alteradas por manipulación genética, más comúnmente en modelos de murina.

#### Modelizado de respuestas celulares y componentes del ERG

Como nuestro conocimiento de la función de tipos particulares de células retinianas ha mejorado, ha sido posible desarrollar modelos cuantitativos que predicen exactamente la respuesta lumínica de esas células y para aplicar esos modelos para el análisis del ERG. Por ejemplo, modelos basados en electrodos de registro por succión desde segmentos externos de un fotorreceptor individual pueden ser usados para predecir el borde inicial de la *onda a*, y ampliado para predecir el borde inicial de la *onda b* escotópica. La respuesta de modelos de estímulos de fotorreceptores y células en etapas más próximas de procesamiento también puede ser usada para analizar curvas de amplitud vs. energía obtenidas de registros de ERG a un rango de intensidad de estímulos dentro de los componentes relacionados a diferentes tipos celulares.

### Visión de conjunto

Este capítulo revisará el conocimiento actual de los orígenes y mecanismos celulares de generación de los componentes varios del ERG, progresando desde la retina distal a proximal: desde el RPE a la cabeza del nervio óptico. En el fin del capítulo, serán descriptos algunos potenciales retinianos extracelulares que no son generados por luz.

## Componentes que se plantean en la retina distal: PIII lenta, *onda c*, canal de oscilación rápida y pico luminoso

Después de un comienzo de iluminación estable, las ondas *a* y *b* relativamente rápidas son seguidas por la *onda c* y luego por una serie de respuestas lentas uniformes que incluyen una deflexión negativa (el canal de oscilación rápida FOT) y una gran deflexión positiva lenta (el pico luminoso). Clínicamente, estas respuestas lentas son usualmente registradas por electrooculografía (EOG), pero la electrorretinografía de corriente directa (d.c.-ERG) ha sido usada experimentalmente en humanos y preparaciones animales.

Los orígenes de la *onda c*, el FOT, y el pico luminoso de la d.c.-ERG involucra cambios en la concentración iónica en el espacio subretiniano que a su vez producen respuestas de membrana en las células que rodean este espacio, particularmente las células de Müller y células RPE. Estas respuestas son relativamente lentas y superpuestas en el tiempo, por lo tanto la suma de los voltajes de los subcomponentes de Müller y/o RPE producen el registro de componentes de d.c.-ERG. Estos voltajes subcomponentes pueden ser registrados en modelos animales posicionando un microelectrodo en el espacio subretiniano (figura 12.3).

### Onda *“c”*

La *onda c*, un potencial positivo corneal que sigue a la *onda b*, es la suma de dos grandes voltajes subcomponentes. Estos voltajes han sido examinados en mamíferos, aves, reptiles y anfibios, y los mecanismos de origen son bien conocidos. El modelo aceptado es que un subcomponente negativo corneal es generado por la retina neural y un subcomponente corneal positivo con una latencia y curso de tiempo similar es generado por el RPE. En más especies, el subcomponente RPE es mayor, entonces la *onda c* resultante corneal es positiva. La amplitud de la *onda c* refleja primariamente la *diferencia* en las amplitudes de los dos subcomponentes, y si los subcomponentes son iguales, la *onda c* estará ausente, como lo es el registro en retina de macacos mostrado en la figura 12.6B. Este es probablemente el caso en esas especies (y, posiblemente, para algunos individuos dentro de una especie) en el cual la *onda c* es pequeña, un ejemplo sería la dominancia retiniana de conos de la tortuga.

La evidencia para dos subcomponentes de *onda c* viene de varios tipos de experimentos. Usando un abordaje farmacológico en el conejo, Noell mostró que la inyección intravenosa de yodato de sodio, la cual envenena primero el RPE, abolió la *onda c* positiva corneal y a la izquierda un potencial negativo corneal. En preparaciones in vitro, una *onda c* puede ser registrado solo si el RPE está intacto; si el RPE es removido (retina aislada), se registra una respuesta corneal negativa con un curso temporal similar. Los registros con microelectrodos intrarretinianos en gato, conejo, mono, polluelo, geco y rana han confirmado la existencia de los dos subcomponentes intactos en ambos y en preparaciones in vitro. Un ejemplo de cada registro se muestra en la figura 12.4. El componente de la retina neural es comúnmente llamado *PIII lento*.

Allí hay una fuerte evidencia de que ambos subcomponentes de la *onda c* responden a la disminución en la concentración extracelular de potasio [K+]o evocada por luz que ocurre en el espacio subretiniano. Mediciones de [K+]o en el espacio subretiniano ([K+]o distal o subretinal) han sido hechos en preparaciones enteras e in vitro de varias especies; la disminución del curso de tiempo de [K+]o se encontró que era similar a la *onda c* y a cada uno de sus subcomponentes. Bloqueando la conductancia de K+ con agentes varios se eliminan ambas, la PIII lenta y la *onda c* corneal positiva del RPE.

#### Contribución de célula de Müller (PIII lenta)

El componente corneal PIII negativo de Granit puede ser separado dentro de un componente rápido (la fotocorriente receptora como se refleja por el borde inicial de la *onda a*) y un componente lento: PIII lento. Un registro intrarretiniano en distintas profundidades y análisis de densidad de fuentes de corriente sugieren que PIII lento se generó por una célula que abarca la retina neural. La persistencia del PIII lento después del tratamiento con aspartato para bloquear la respuesta neuronal postreceptora sugiere un origen en célula de Müller. Un soporte adicional para un origen celular de Müller es la integración temporal larga, por ejemplo, hasta los 40 años en el pez carpa.

La comprensión actual del origen del PIII lento es que la reducción de [K+]o subretiniana evocada por luz disminuye pasivamente hiperpolarizando el fin distal de las células de Müller, y este setea una corriente de amortiguamiento de K+ espacial transretiniana debido a la geometría alargada de las células (revisión por Newman) y la distribución de canales de rectificación interna de K+ (Kir). La caída de la corriente a través de la resistencia extracelular produce el voltaje PIII lento. En apoyo a la hipótesis celular de Müller, Karwoski y Proenza registraron una hiperpolarización en células *Necturus* de Müller; luego, Dick et al. demostraron en retina de salamandra tigre y conejo (figura 12.5) que el curso de tiempo de la hiperpolarización de las células de Müller era similar tanto a la disminución de [K+]o como a PIII lento. Además es consistente con la hipótesis celular de Müller la supresión de PIII lento por Ba2+ porque el Ba2+ bloquea todas las conductancias de K+ de las células de Müller teniendo a su vez un pequeño efecto sobre la disminución de K+ evocado por luz. Quizás más convincente es el reciente trabajo mostrando que la inactivación genética de los canales dominantes Kir en ratones (subunidad 4.1 Kir) en células de Müller remueve el PIII lento.

La hipótesis de amortiguamiento espacial presentada arriba predice que la corriente amortiguadora espacial de K+ debería llevar a una reacumulación de [K+]o subretiniano. Shimazaki y Oakley describen una reacumulación de [K+]o que ocurre con iluminación mantenida en detalle, pero concluyen que es causado primariamente por un enlentecimiento de la bomba Na+-K+ del fotorreceptor. Sin embargo, [K+]o retiniana durante la iluminación mantenida estará eventualmente sujeta a otros factores; con una duración de iluminación de al menos 38 segundos en gatos u 85 segundos en rana, [K+]o retiniana será reducida por hidratación dependiente de la luz (incremento de volumen) del espacio subretiniano.

#### PIII proximal versus distal

Los registros profundos intrarretinianos en preparaciones de retina aislada de un número de especies han identificado un componente PIII cuyo origen es más proximal que el del PIII lento; eso se observó en retinas de rana y tortuga, tanto como en pez, gato, rata y conejo. En retina de conejo, se encontró que al ser sensible al aspartato, separándola del PIII lento generado distalmente e indicando un origen posreceptor. Este componente, demonimado *PIII proximal*, ha sido difícil estudiarlo en aislación de otros potenciales de campo proximales, y sus orígenes han sido atribuidos a varias neuronas de la INL (capa nuclear interna) tanto como a las corrientes amortiguadoras espaciales en células de Müller. Estas corrientes espaciales amortiguadoras parecerían corrientes PIII lentas pero sería debido más bien a un incremento neuronalmente inducido en retina proximal de [K+]o que un decremento dependiente del fotorreceptor en retina distal (ver figura 12.2). El término no es comúnmente usado ahora que las respuestas mediadas por las células de Müller reflejan cambios de [K+]o en retina proximal, tal como la *onda M* y STR (umbral de respuesta escotópica), han sido descriptas.

#### Componente epitelial pigmentario

La *onda c* del epitelio pigmentario retiniano, un potencial positivo corneal registrado a través del RPE, resulta de un incremento en el potencial transepitelial (TEP) del RPE. El RPE posee dos membranas, apical y basal, y existe un potencial transepitelial porque las membranas están eléctricamente separadas por una alta resistencia de junturas estrechas que envuelven las células RPE (la membrana R). Los potenciales a través de las membranas apical (*Vap*) y basal (*Vba*) difieren, y esta diferencia es igual al TEP. En cualquier especie que ha sido estudiada, la membrana apical es más hiperpolarizada que la membrana basal, entonces el TEP en la oscuridad es corneal positivo. Por ejemplo, si Vap = -90 mV y Vba = -75 mV, el TEP será Vba – Vap o +15 mV. El TEP es el mayor componente del potencial permanente del ojo.

Durante la *onda c*, el TEP aumenta (se vuelve más positiva). Los registros RPE intracelulares de preparaciones enteras e in vitro han mostrado que el incremento en TEP es generado por una hiperpolarización de la membrana apical RPE. La amplitud de la *onda c* RPE, sin embargo, no es igual a la hiperpolarización apical porque hay alguna derivación de la corriente pasiva entre las caras apical y basal (las dos membranas son solo separadas parcialmente). Este voltaje basal resta del voltaje apical y produce un registro TEP pequeño. Entonces, la amplitud de la *onda c* RPE depende de las respuestas de ambas membranas apical y basal. Trabajo experimental (y predicciones teóricas) muestran, por ejemplo, que un decremento en la resistencia de la membrana basal (ver la sección posterior de interacciones entre componentes del ERG distal) disminuye la respuesta basal pasiva y por lo tanto incrementa la *onda c* RPE (y corneal).

Registros con microelectrodos selectivos de K+ de dos puntas, donde una punta mide voltajes intrarretinianos y la otra mide [K+], muestran que la *onda c* RPE y la hiperpolarización tienen un curso de tiempo similar que del evocado por luz, disminuyendo la [K+]o subretiniano. La membrana apical posee una gran conductancia de potasio relativa. En la rana, Oakley comparó respuestas evocadas por luz de una preparación de retina RPE con respuestas de K+ evocado de una preparación aislada de RPE (donde solo el K+ en el baño apical en solución fue alterado). Él mostró que la *onda c* RPE se debía solamente al decremento de [K+]o. Experimentos usando Ba2+ y ouabaína, un inhibidor de bomba Na+-K+, han mostrado que una disminución en [K+]o, sumado al incremento del potencial de equilibrio de K+ y la hiperpolarización de membrana apical, también enlentece la bomba Na+-K+ electrógena apical y produce una pequeña despolarización apical en células RPE de una serie de especies, incluyendo retinas de humanos, rana y bovinos. Esto indica que al menos dos mecanismos apicales contribuyen a la *onda c* RPE.

Los descubrimientos presentados arriba muestran que las respuestas de ambas células de Müller y RPE reflejan una disminución de la concentración [K+]o evocada por luz. Como la amplitud de la *onda c* vítrea es la diferencia entre estos dos componentes, un cambio en la respuesta [K+]o debería alterar ambos componentes, y quizás modificar un poco la amplitud de la *onda c*. Por otra parte, si solo un de los componentes es alterado, el cambio porcentual en la amplitud de la *onda c* vítrea será mayor que el cambio porcentual en aquel componente.

Con períodos largos de iluminación, el K+ comienza a reacumularse, y esto causa que tanto la *onda c* RPE y el PIII lento recuperen sus picos. En la rana, el curso de tiempo de esta recuperación es bastante similar a la reacumulación de K+. En respuesta a la iluminación mantenida, [K+]o cae a un valor mínimo y entonces comienza a recuperarse, alcanzando un estado estable aproximadamente 10 minutos después del estímulo lumínico. En la rana, el TEP del RPE TEP sigue [K+]o durante este período entero de tiempo, mientras que en otras especies, la recuperación hacia la línea de base adaptada a la oscuridad es mayor que la predecida por la reacumulación de K+ (ver a continuación).

### Canal de Oscilación Rápida (FOT)

El FOT (usualmente medido por EOG) es un cambio en el potencial corneoretinal, disminuyendo en luz e aumentando en oscuridad en sincronía con un estímulo alternado de luz y oscuridad. En esta sección, examinaremos las respuestas evocadas por iluminación sostenida que corresponden a la disminución de EOG (canal) que Van Norren y Heynen llamaron *FOT*. Esta disminución de potencial es seguida del pico de la *onda c* (figura 12.6B), y si un pico de luz es evocado por el estímulo (ver la próxima sección), el FOT aparece como una depresión entre la *onda c* y el pico de luz (figura 12.4).

El FOT tiene subcomponentes que se originan en la retina neural y el RPE. Un subcomponente implica la recuperación de los picos de polarizaciones de células de Müller y RPE como reacumulación de [K+]o. Sin embargo, en algunas especies, incluyendo mamíferos, aves y reptiles, la recuperación de ambos picos del PIII lento y la *onda c* RPE (TEP) es mayor que lo que se predijo por la reacumulación de [K+]o subretiniana (figura 12.6ª). La desviación es mayor por el componente RPE tal que recupera más el nivel de adaptación a la oscuridad que el PIII lento transretinal (figura 12.6B). Como discutieron Steinberg et al., este decremento extra en TEP produce más del potencial negativo corneal durante el FOT.

Los registros RPE intracelulares en gato, geco, polluelo y RPE bovino muestra que este decremento TEP extra es generado por una hiperpolarización que se origina en la membrana basal RPE. Esta hiperpolarización basal se deriva pasivamente a la membrana apical, donde anula la despolarización generada apicalmente que debería ocurrir como reacumulación de [K+]o. Así, la luz produce, primero, una hiperpolarización generada en la membrana apical que *incrementa* el TEP y, segundo, una hiperpolarización generada en la membrana basal que *disminuye* el TEP. Desde ese momento la hiperpolarización basal seguida de la hiperpolarización apical, ha sido llamada *hiperpolarización basal retrasada*. Experimentos en preparaciones RPE aisladas sugieren que la disminución de [K+]o evocada por luz en el espacio subretiniano de una retina intacta es suficiente para producir la *onda c* y el FOT. Un decremento mantenido en [K+]o en el baño apical primero hiperpolariza la membrana apical de forma que el TEP aumenta (análogo a la *onda c* RPE) y subsecuentemente hiperpolariza la membrana basal de forma que el TEP disminuye de nuevo hacia la línea de base. En estos experimentos, el único “estímulo” era un aumento de paso en [K+]o sin reacumulación.

Los mecanismos iónicos que subyacen a la hiperpolarización de la membrana basal han sido aclarados por Miller y sus colegas, quienes describieron el importante papel de la actividad intracelular del cloruro (y la conductancia basolateral de Cl-) en la generación de esta respuesta. Sobre la base de estudios realizados en las preparaciones de la coroide RPE aislada de la especie bovina (para una revisión, ver Gallemore et al.), que propusieron que una disminución de la [K+]o subretiniana evocada por luz retarda la absorción de Cl- por el transportador de Na+, K+, 2Cl- en la membrana apical RPE, lo que reduce la actividad intracelular Cl-. A su vez, la reducción de actividad de Cl- altera el equilibrio de Cl- a través de los canales de Cl- de la membrana basolateral, que produjo una hiperpolarización basal. Es importante destacar que, ellos observaron que la hiperpolarización de la membrana basolateral retrasada se redujo en gran medida ya sea por bumetanida apical, un bloqueador del transporte de Na+, K+, 2Cl-, o por 4,4’-diisotiocianoestilbeno-2, 2’-disulfonato (DIDS) basal, un bloqueante de canales de Cl-. La importancia del Cl- en la actividad y la conductancia para la generación de la oscilación rápida in situ se confirmó en registros en la preparación de coroide RPE de retina de polluelo como se ilustra en la figura 12.7.

Más recientemente, los estudios de Miller y colaboradores en láminas intactas de coroide RPE de los ojos del feto humano han distinguido dos tipos diferentes de canales de Cl- en la membrana basal (ver figura 12.7): un canal de Cl- sensible al Ca2+ inhibido por DIDS y un canal dependiente de cAMP que es inhibido por DIDS y por 5-nitro-2-(3)fenilpropilamino benzoato (NPPB), que lo identifica como un canal regulador transmembrana de la fibrosis quística (CFTR) (ver Quinn et al. para una revisión). En pacientes con fibrosis quística, el FOT pero no el pico de la luz (ver a continuación) se redujo, implicando un CFTR en la generación del FOT.

### El Pico Luminoso

En los mamíferos, aves y reptiles, la iluminación mantenida provoca un lento aumento en el potencial permanente que se llama el *pico luminoso*, y esto también puede ser registrado como una oscilación lenta del EOG. Registros intrarretinianos en el gato, mono, polluelo y geco muestran que este potencial corneal positivo proviene exclusivamente del RPE como un aumento en el TEP (ver figura 12.4). Registros intracelulares del RPE muestran que el aumento del TEP es generado por una despolarización lenta de la membrana basal RPE, con fuerte evidencia de que la despolarización es debida a un aumento en la conductancia de cloruro (TCL) de la membrana basal. En polluelo, este incremento en la conductancia de Cl- durante el pico luminoso era en promedio del 55%, y el pico luminoso fue suprimido por DIDS. Por otra parte, el potencial inverso para el aumento de la conductancia durante el pico luminoso era igual al potencial de equilibrio del Cl-. Un trabajo más reciente en láminas de células RPE fetales humanas (figura 12.8) es consistente con los canales implicados en la generación del pico luminoso siendo los canales de Cl- sensibles al Ca2+ inhibidos por DIDS en la membrana basal.

A pesar de que el voltaje del pico luminoso proviene de la membrana basal del RPE, un evento inicial ocurre en la retina neural que dispara, primero, un cambio en la concentración de la hasta ahora identificada “sustancia de pico luminoso”, que luego afecta la membrana basal vía un sistema mensajero secundario. Desde que el pico luminoso persiste después de los tratamientos para bloquear la transmisión sináptica de las células pos receptoras, la única actividad de los fotorreceptores probablemente modula la concentración de la sustancia de pico luminoso. La sensibilidad del pico luminoso a los niveles de hipoxia que no afectan a la *onda b* del ERG también sugiere un origen fotorreceptor. Mientras que los estudios experimentales y clínicos han sugerido que la retina interna puede contribuir también, las perturbaciones utilizadas en estos estudios también podrían haber afectado a los fotorreceptores y/o el RPE directamente.

La identidad de la “sustancia pico luminoso” y el segundo mensajero(s) intracelular involucrado en la producción del pico de la luz han sido objeto de muchas investigaciones. Aunque la dopamina suprime el pico luminoso en el ojo de gato perfundido, estudios cuidadosos en polluelo han indicado que no puede ser la “sustancia pico luminoso”. La epinefrina a través de su unión a los receptores adrenérgicos en la membrana apical también ha sido propuesta como candidato y ha sido cuestionado. Un trabajo más reciente indica que el papel de los agentes adrenérgicos que se unen a los receptores alfa-1-adrenérgicos, es posible. En RPE fetal humano, la actividad de Ca2+ intracelular elevada por la activación de los receptores alfa-1 afecta a una conductancia de Cl- sensible al DIDS en la membrana basal que probablemente subyace la despolarización de pico luminoso. El papel de pH en la regulación de los canales de Cl- también es posible.

Como un candidato de mensajero secundario, el cAMP (adenosín monofosfato cíclico), se ha estudiado a fondo, pero se han observado efectos opuestos sobre la conductancia de cloruro en la membrana basal en diferentes especies (ver Gallemore et al. para una revisión), y como se ha descrito anteriormente y se ilustra en la figura 12.7, el cAMP es el posible segundo mensajero que participa en el FOT en lugar del pico luminoso.

### Interacción entre componentes electrorretinográficos distales

La amplitud de la *onda c* sufre variaciones significativas durante el ascenso y la caída del pico luminoso. Cuando se utilizan flashes repetitivos que provocan la *onda c* y el pico luminoso, los registros intrarretinianos han mostrado que el aumento de la *onda c* durante el pico de luz se origina a partir del componente RPE. Los registros intracelulares revelan que la *onda c* RPE aumenta como resultado de una disminución en la resistencia de la membrana basal RPE. Un incremento similar en la amplitud de la *onda c* también se ha observado con la hipoxia sistémica leve e inyecciones intravenosas de azida, ambos de los cuales también disminuyen la resistencia de la membrana basal RPE. No sería sorpresa encontrar un efecto similar en las enfermedades que afectan el RPE.

Nikara et al. describen una *onda e*RG en el gato que se llama la *segunda onda c*. Esta consiste en un desnivel en la fase ascendente del pico luminoso (ver figura 12.4). El análisis detallado de los subcomponentes que se plantean en la retina neural y RPE muestran que este desnivel probablemente no representa un subcomponente discreto. Más bien, resulta de la interacción entre el fin de la hiperpolarización basal retrasada, el inicio del pico luminoso, y la hiperpolarización mantenida dependiente de K+ de la membrana apical.

## Orígenes de la onda *“a”*

La respuesta del ERG a un destello de luz medida en la córnea es la suma de los potenciales positivos y negativos de componentes que se originan en las diferentes etapas de procesamiento de la retina y se superponen en el tiempo. Esta sección se centrará en los orígenes de la *onda a* negativa corneal, la cual se asocia principalmente con los fotorreceptores, pero también tiene contribuciones pos receptoras, principalmente de la vía OFF. La figura 12.9 muestra los ERG obtenidos por flash en adaptación a la oscuridad y a la luz de mono macaco, que es un buen modelo animal para el estudio de los orígenes de la respuesta humana, como se ilustra en la figura 12.1.

La *onda a* adaptada a la oscuridad es la onda negativa inicial que se produce en respuesta a estímulos fuertes en la oscuridad (figura 12.9, arriba a la izquierda), y es principalmente impulsada por bastones (es decir, escotópica). La *onda a* adaptada a la luz es la onda negativa inicial en respuesta a un estímulo presentado en una adaptación de fondo (a la derecha), y cuando el fondo está saturado de bastones, la *onda a* es impulsada por conos (fotópica). En ambas condiciones de adaptación a oscuridad y luz, la *onda a* es truncada por el ascenso de la *onda b*, el componente con pendiente positiva prominente del ERG, que se origina principalmente a partir de las células bipolares ON. La onda negativa lenta en el ERG adaptado a la oscuridad en respuesta a los estímulos más débiles (parte inferior de la figura 12.9) es un componente relativamente pequeño, llamado el *umbral de respuesta escotópica* (STR), que se puede distinguir farmacológicamente de la *onda a* y se relaciona con la retina interna (amácrinas y/o actividad de células ganglionares). Bajo condiciones de adaptación a la luz, para los estímulos de mayor duración, otro potencial positivo, la *onda d*, se produce en el desplazamiento de luz. La *onda d* refleja la despolarización transitoria de la hiperpolarización de las células bipolares conos en combinación con la terminación de la respuesta positiva continua de los conos fotorreceptores (ver el recuadro en la figura 12.9, que muestra un diagrama esquemático de la retina de mamíferos). Los orígenes de estos componentes post receptores se describirán con más detalle en secciones posteriores.

### Estudios cercanos muestran que la onda *“a”* refleja la fotocorriente de conos y bastones receptores

La *onda a* (PIII de Granit) que se produce en respuesta a un estímulo larga duración ha sido asociada con los fotorreceptores. En estudios tempranos intrarretinianos utilizando microelectrodos, se observó la *onda a* en preparaciones aisladas de retina anfibia en las que el RPE estaba ausente, y esto estableció su origen en la parte neural de la retina. En estudios intrarretinianos profundos en gato, se encontró que era más grande en las proximidades de los fotorreceptores.

El caso de un origen receptorial para PIII se vio reforzada por los registros de microelectrodos en la retina de mono macaco con la circulación retiniana interna fijada para suprimir la actividad de la retina proximal de los fotorreceptores. La sujeción de la circulación retira la *onda b* y se revela más tarde, recuperando más lentamente una parte de PIII. Este potencial lento fue nombrado el *potencial receptor tardío*, bastón o cono, dependiendo de las condiciones de estímulo. El potencial receptor tardío, más lento para los bastones que para los conos, ahora es considerado para reflejar la etapa de recuperación de la foto respuesta receptora y para ser una parte (rápida) de PIII. Los orígenes de un potencial negativo incluso más lento relacionado al fotorreceptor, PIII lento, se abordaron en la sección anterior.

En la densidad de la fuente de corriente (CSD) los análisis de la retina aislada de rata, Penn y Hagins demostraron el efecto de supresión de la luz sobre la corriente que circula (oscura) de los fotorreceptores y propusieron que esta supresión se observó en el ERG como la *onda a* (PIII de Granit). La figura 12.10 proporciona un esquema de la corriente de capa de fotorreceptores que se reproduce a partir de una revisión por Pugh et al. El gráfico muestra que en la oscuridad, los canales de cationes (Na+, Ca2+ y Mg2+) en el segmento externo del receptor (ROS) son abiertos, la corriente fluye dentro del ROS (un sumidero de corriente con respecto al espacio extracelular), y el K+ se escapa del segmento interior (una fuente de corriente), creando un dipolo de corriente. Este dipolo de corriente produce un potencial corneal (y vítreo) que es positivo con respecto a la parte escleral de la retina. La supresión de la corriente oscura reduce el potencial positivo de la córnea, creando la *onda a* con pendiente negativa. De acuerdo con este punto de vista, como se ilustra en la figura 12.11, registros intrarretinianos y análisis CSD en la retina intacta de macaco han localizado las fuentes y sumideros de corriente para un potencial local, correspondiente a la *onda a*, al tercer distal de la retina.

Hood y Birch trataron de relacionar directamente el curso temporal del borde inicial de la *onda a* del ERG con el borde inicial de la respuesta a la luz de los fotorreceptores. De este modo, ellos esperaron mejorar la utilidad de la *onda a* del ERG para estudiar la función de los fotorreceptores en la retina de humanos normales y enfermas. Ellos demostraron que tanto el comportamiento lineal y no lineal (es decir, saturando) del borde inicial de la *onda a* en el ERG humano pueden predecirse por un modelo de la función de los fotorreceptores derivado de registros de corriente con electrodos de succión in vitro alrededor de los segmentos exteriores de bastones fotorreceptores de primate. Posteriormente, fue desarrollado por Lamb y Pugh un modelo cinético simplificado del borde inicial de la respuesta de los fotorreceptores (registros de corrientes in vitro) teniendo en cuenta las etapas de la cascada de la fototransducción bioquímica. Este modelo ha demostrado predecir el borde inicial de la *onda a* humana generada por estímulos fuertes, y se ha utilizado ampliamente en estudios de la función de los fotorreceptores humanos. Una descripción detallada del uso de tales modelos en el análisis del comportamiento de los fotorreceptores aparece en el capítulo 35.

### Estudios de disección farmacológica revelan contribuciones pos receptoras a la onda *“a”*

En su ahora clásico estudio de disección farmacológica del ERG, Granit aisló un potencial que llamó *PIII* por inducción de anestesia con éter in vivo en gato. PIII era más resistente a los efectos del éter que las contribuciones al ERG que vienen ya sea desde el RPE o neuronas pos receptoras. En estudios subsecuentes in vitro de la retina aislada de retina, se encontró aspartato de sodio (L) en el perfundido para eliminar todas las respuestas pos receptoras, y para aislar PIII. Aspartato, en la forma L-isómero, ahora se sabe que es un agonista para glutamato, el neurotransmisor que se libera tanto por fotorreceptores y células bipolares en todas las retinas de vertebrados. En altas concentraciones (por ejemplo, más de ≈40mM), el aspartato hace ineficaz la liberación de glutamato evocado por luz de los fotorreceptores (y células bipolares) en la transferencia sináptica de las señales. Transmisión de fotorreceptores a células bipolares, y por lo tanto la *onda b*, también puede ser bloqueada con el isómero D de aspartato. D-aspartato bloquea los transportadores de glutamato, causando la transferencia de señal a las neuronas pos receptoras a ser bloqueadas debido a la acumulación de exceso de glutamato en el espacio extracelular.

Nuestra comprensión de los orígenes de la *onda a* en la adaptación a la luz (fotópica), así como otras ondas del ERG fotópico de macaco, avanzaron en gran medida por los estudios de Sieving y colegas en el que se utilizan los agonistas y antagonistas de glutamato más específicos antes que aspartato para diseccionar los circuitos de la retina. Ellos hicieron inyecciones intravítreas de L-2-amino-4-fosfonobutírico ácido (denominado APB o AP4), un agonista del receptor mGluR6, para bloquear la transmisión metabotrópica y por consiguiente, para eliminar las respuestas evocadas por luz de despolarización de células bipolares (ON) y así como también contribuciones sobre las vías ON más proximales. Se inyectó Cis-2,3-piperidina de ácido dicarboxílico (PDA) o ácido quinurénico (KYN) para bloquear los receptores de glutamato ionotrópicos principales en la retina (receptores de a-amino-3-hidroxi-5-metil-4-isoxazolpropiónico [AMPA] y kainato [KA]). El bloqueo completo de estos receptores elimina la transmisión de señal a la hiperpolarización de las células bipolares (OFF) y de células horizontales, así como a las células amácrinas y ganglionares en ambas rutas ON y OFF. Los resultados de tales experimentos se ilustran en la figura 12.12A para las respuestas a estímulos bastante débiles presentados sobre un fondo suprimido de bastones; funciones relacionadas con la amplitud de la *onda a* y la intensidad del estímulo a través de una gama más amplia de los puntos fuertes de estímulo en el mismo estudio se muestran en la figura 12.12B. La *onda a* se redujo en amplitud por PDA (y KYN, que no se muestra), pero no por APB solo. La figura 12.12A también muestra que PDA tuvo un efecto similar al aspartato o cobalto (Co2+). El CO2+ bloquea los canales de Ca2+ dependientes de voltaje que son esenciales para que se produzca la liberación vesicular de glutamato en la sinapsis, y por lo tanto la neurotransmisión en las neuronas pos receptoras.

Cuando se evaluaron los efectos de la PDA frente APB en la amplitud de la *onda a* fotópica en un amplio intervalo de estímulos fuertes, las neuronas pos receptoras sensibles al PDA, en lugar de los conos fotorreceptores o contribuciones sensibles a APB de la bipolar ON y neuronas de vía ON, se encontraron para generar el borde inicial de la *onda a* de las primeras 1,5 unidades logarítmicas de la intensidad del flash que generaron una respuesta medible (figura 12.12B). Las contribuciones pos receptoras contribuyeron 10-15µV a la respuesta en la mayor parte de su rango, causando que la proporción de la respuesta que era de origen post receptora disminuya desde alrededor de 50% cuando la respuesta era 20 µV, un tamaño común en registros clínicos, a aproximadamente 25% cuando la *onda a* saturaba.

Estudios más recientes indican que bajo condiciones de estímulo similares a los utilizados por Sieving y colegas, la *onda a* fotópica se reducirá también en el macaco, casi tanto como por PDA, por inyección del agonista de glutamato NMDA (N-metil-D-aspartato) (Frishman, observaciones no publicadas). El NMDA activa selectivamente los receptores NMDA, que son los receptores de glutamato ionotrópicos encontrados en las células amacrinas y ganglionares de la retina, y al hacerlo, despolariza las células de modo que su actividad no se ve alterada por la estimulación de luz. Bajo algunas condiciones de estímulo, el bloqueo de potenciales de acción dependientes de Na+ de las neuronas de la retina interna (células amacrinas y ganglionares) por tetrodotoxina (TTX) también reducirá la *onda a* fotópica.

Las contribuciones pos receptoras a la *onda a* por adaptación a la oscuridad también se han demostrado en mono así como en los ERG de humanos y gatos. Los estímulos que son sólo lo suficientemente fuerte como para provocar una *onda a* estarán dominadas por las señales de bastones, pero un fuerte destello desde la oscuridad provocarán un ERG mixto de conos y bastones como el que se ilustra en la figura 12.13 para un mono. Por lo tanto, es necesario separar las contribuciones de bastones y conos impulsadas para las respuestas a los estímulos fuertes de la oscuridad en la investigación de las contribuciones relativas de los diferentes sistemas de receptores y sus vías pos receptoras al ERG.

La respuesta del impulso de bastones puede ser extraída restando la respuesta de los impulsos de conos aislados al mismo estímulo de la respuesta mixta de conos y bastones. Las respuestas de aisladas de los impulsos de conos en la figura 12.13 (triángulos) se obtuvieron mediante la rápida supresión de la respuesta de bastones con una adaptación al flash y midiendo luego la respuesta al estímulo de prueba original presente unos pocos cientos de milisegundos (300ms) después de la compensación a la adaptación del flash. La respuesta de los impulsos de conos en primates se recuperará a su amplitud total dentro de aproximadamente 300 ms, mientras que las respuestas de bastones tendrán al menos un segundo, haciendo posible aislar la respuesta de los impulsos de los conos.

El efecto del PDA intravítreo en la *onda a* de bastón aislado del macaco se muestra en la figura 12.14 para una serie de fuertes estímulos. La mayor parte del borde inicial de la *onda a* en respuesta al estímulo más débil fue eliminado (trazo superior de la figura 12.14), y gran parte de la *onda a* que ocurre después de aproximadamente 15 ms después de que el flash se eliminó en respuesta a estímulos más fuertes (trazos bajos); esto era cierto para los estímulos más fuertes que saturan la respuesta (por ejemplo, la figura 12.13B). Es importante señalar que bloques de PDA transmisores de señal no sólo hiperpolarizan a las células bipolares y horizontales, sino también a las células amacrinas y ganglionares de la retina interna. Resultados en presencia de NMDA, que se utiliza para suprimir selectivamente respuestas de la retina interna, fueron similares al ERG en adaptación a la oscuridad en mono y gato para aquellos después de PDA, lo que indica un origen retiniano interno para la mayoría de las contribuciones de impulso baston (datos no mostrados). El APB no redujo la *onda a*, lo que indica que los efectos de NMDA en la *onda a* eran debido a la supresión de circuitería retiniana OFF interna, en lugar de ON.

Para la comparación, los efectos de la PDA sobre las respuestas de impulso de cono aislado adaptado a la oscuridad se muestran en la figura 12.15. Como se ha encontrado en estudios previamente descritos por Bush y Sieving, para el ERG de cono aislado adaptado a oscuridad, el PDA reduce también la amplitud de la *onda a* de la respuesta de los impulsos de conos adaptados a la oscuridad. (El ERG de impulso de cono adaptado a la oscuridad para el mismo animal fue similar a la respuesta de adaptación a la oscuridad, pero la porción sensible al PDA era ligeramente más pequeño pequeña en la respuesta de adaptación a la oscuridad). La figura 12.15 muestra también que las contribuciones pos receptoras sensibles al PDA estaban presentes en tiempos muy anteriores (comenzando alrededor de 5ms después que el flash) para la respuesta de los impulsos de conos que para las respuestas de impulsos de bastones que aparecieron alrededor de 15 ms después del flash (véase la figura 12.14).

#### El curso de tiempo de la respuesta de fotorreceptor

El borde inicial de la *onda a* es la única parte visible de la respuesta del fotorreceptor en el ERG normal. Para ver directamente la totalidad del transcurso temporal de la respuesta del fotorreceptor, es necesario eliminar las contribuciones pos receptoras, como fue hecho por Bush y Sieving para el ERG fotópico en la figura 12.12A, por ejemplo. Sin embargo, tal manipulación es invasiva y no eliminará la dependencia del fotorreceptor, PIII lento o la *onda c* mediado por la glía, en caso que estén presentes. Otro enfoque a usar es la técnica de flash apareado desarrollada por Pepperberg y colegas para obtener, in vivo, la respuesta del fotorreceptor. El enfoque es descripto en detalle en el capítulo 37. El curso de tiempo completo de la respuesta de los fotorreceptores derivados se muestra para tres diferentes concentraciones de estímulo para un mono macaco en la figura 12.16. La respuesta de los fotorreceptores derivada es similar en curso temporal de las grabaciones actuales de aislados de bastón fotorreceptores segmentos externos en el macaco, aunque alcanza su pico un poco antes en vivo que in vitro. Esta figura muestra que la respuesta de los fotorreceptores es bastante grande en su tiempo de pico, incluso cuando el borde de ataque no puede ser visto. Más en general, la figura ilustra muy bien la naturaleza de superposición de los componentes del ERG de diferentes etapas de procesamiento de la retina.

## Orígenes de la *onda b*

El mayor componente del ERG de flash difuso es la *onda b* positivo corneal, inicialmente identificado en el ERG adaptado a la oscuridad del gato como PII por Granit. Existe un consenso general de que la *onda b* se relaciona principalmente con la actividad de despolarización de células bipolares (ON). A pesar de las influencias en la *onda b* de las neuronas de tercer orden que se han reportado tanto en animales y mamíferos de sangre fría, esta sección se centrará en el principal generador(s). Hasta hace poco, las contribuciones relativas de las corrientes transmembrana de las células bipolares frente a las corrientes de amortiguamiento espaciales de las células de Müller (causadas por flujo de salida de K+ de las células bipolares) han quedado sin resolver. Aunque no hay soporte experimental para una contribución de células de Müller (tal como fue revisado más adelante), ahora existe una fuerte evidencia de que la *onda b* (al menos en ERG escotópico de las retinas de mamíferos) en gran medida refleja directamente las corrientes de células bipolares, la contribución de las células de Müller son más pequeñas de lo que se pensaba anteriormente.

La cuestión de cómo se genera la *onda b* ocupa desde hace tiempo los esfuerzos de los fisiólogos de la retina. Los primeros trabajos determinaron que la *onda b* se ha generado por la retina neural, proximal a los fotorreceptores. La aplicación de los compuestos que bloquean la transmisión sináptica, por ejemplo, Mg2+, Co2+ y aspartato de Na2+, abolió la *onda b* pero dejaron las respuestas de fotorreceptor intactas. La oclusión de la arteria central de la retina en primates, que suministra oxígeno a la retina neural proximal para los fotorreceptores, también abolió la *onda b*, y libró respuestas fotorreceptoras.

La identificación de la/s célula/s exacta/s en la retina neural postreceptoral que generan la *onda b* ha sido una tarea más difícil. Las primeras evidencias de los registros intrarretinianos profundos de los ERG locales hechos con microelectrodos (figura 12.17) demostraron que la *onda b* intrarretiniana era de pendiente negativa con una amplitud de pico negativo en la retina distal cerca de la capa plexiforme externa (OPL), y el cambio más grande en su amplitud producido a través de la capa nuclear interna (INL). Estos resultados sugieren que la *onda b* se ha generado por la corriente que fluye a través de una célula de orientación radial que actuó como un dipolo. Las células bipolares, que son las neuronas solamente orientados radialmente que abarcan la INL, fueron entonces implicadas. Sin embargo, se observó pronto que las células de Müller también están orientadas radialmente, y que abarcan todo el ancho de la retina neural, desde la membrana limitante interna (ILM) hasta la membrana limitante externa (OLM). Sobre la base de los estudios descritos a continuación, se sugirió que las células de Müller son un probable generador de la *onda b* (revisado por Newman) (figura 12.18).

### Hipótesis de la células de Müller

#### Análisis de la densidad fuente de corriente y registros intracelulares

Faber calculó perfiles CSD para la *onda b* de registros de ERG intrarretiniano en la retina de conejo y encontró un sumidero de corriente cerca de la OPL y una fuente de corriente que se extiende desde el sumidero hasta el final a la superficie vítrea. Llegó a la conclusión de que este patrón fuente-sumidero debe surgir de un flujo de corriente a través de las células de Müller. Un análisis CSD de la *onda b* (y la *onda a*; véase la figura 12.11) en el ojo del mono intacto dio resultados similares a los de los conejos. En los análisis de la CSD Newman proporcionó mayor detalle de la generación de la *onda b* en la retina de rana. Él encontró que la *onda b* de rana se generó principalmente por dos sumideros de corriente situados cerca de la IPL y OPL y por una gran fuente de corriente en la ILM (figura 12.17). Se estima que el 65% de la respuesta de la *onda b* transretinal en la rana se generó por el sumidero de corriente OPL, que tenía un curso de tiempo más transitorios que el sumidero IPL.

La hipótesis de las células de Müller también recibió el apoyo del trabajo de Miller y Dowling, que supervisa las respuestas intracelulares de las células de Müller de la retina de mudpuppy (tipo de salamandra) durante la generación de la *onda b* (figura 12.19). Ellos encontraron que las respuestas de las células de Müller tenían latencias, cursos de tiempo (bajo ciertas condiciones) y respuestas a los estímulos oscilantes similares. Ambos tenían un rango dinámico de aproximadamente cinco décadas, mucho mayor que una y media a dos décadas de rango dinámico de algunas neuronas de la retina.

Tanto Faber, Miller y Dowling sugirió que el flujo de corriente a través de las células de Müller fue generado por las variaciones de concentración extracelular de K+ evocado por luz ([K+]o). Propusieron que un incremento de [K+]o evocado por luz en la retina neural distal daría lugar a una afluencia de K+ en las células de Müller en esta región de la retina. Esta afluencia de K+ despolarizaría las células de Müller y conduciría una cantidad igual de K+ a partir de las regiones más proximales de la célula. La corriente de retorno que fluye a través del espacio extracelular de retina proximal a distal generaría un potencial vítreo transretinal (y corneal) positivo: la *onda b* (véase la figura 12.18 y la introducción de este capítulo).

#### Las mediciones de los cambios en la luz evocado [K+]o

Las mediciones de [K+]o evocadas por luz hechas con microelectrodos selectivos de K+ dan soporte al modelo de células de Müller. Oakley y Green y Karwoski y compañeros de trabajo (figura 12.20) demostraron grandes incrementos sostenidos de [K+]o en la IPL de la retina de anfibios en el inicio y final de un estímulo luminoso. Las mediciones [K+]o en las retinas de raya, anfibios y conejo identificaron un segundo, más transitorio, aumento de [K+]o en la OPL al inicio de la iluminación (figura 12.20).

Se creía que el origen del incremento de [K+]o evocado por luz despolarizaba las células bipolares, que son las únicas células con las dendritas de la OPL que despolarizan y liberan en consecuencia K+ bajo estimulación lumínica. L-APB (o AP4), análogo de glutamato que se une a receptores de glutamato (mGluR6) en células bipolares (ON) despolarizantes, suprime la *onda b* en retinas de anfibios y mamíferos, incluyendo las de primates, así como la respuesta ON de las células de Müller. (Para las retinas de teleósteos, sin embargo, al menos algunos células bipolares ON tienen otro mecanismo para la despolarización en respuesta a la luz).

El más grande, más prolongado incremento de [K+]o en IPL que se cree resulta de despolarización de células amacrinas y ganglionares, puede contribuir a pesar de las células bipolares. Este aumento proximal de [K+]o es ahora comprendido principalmente para contribuir a los componentes del ERG mediadas por células de Müller de origen proximal de la retina, es decir, la *onda M* y *STR* (ver secciones posteriores de este capítulo).

Como se ha descrito en la introducción a este capítulo, la permeabilidad selectiva de la membrana de las células de Müller a K+ y la distribución no uniforme de las conductancias de K+ (ver figura 12.2), crea la oportunidad para el desvío de K+ de capas sinápticas de la retina a las regiones de menor [ K+]o. En especies con retinas avasculares, incluyendo peces, anfibios y conejos, el botón terminal de la célula de Müller adyacente al humor vítreo tiene una conductancia de K+ mucho mayor que otras regiones de la célula, como se muestra en el estudio de Newman de las células de Müller enzimáticamente aisladas sometidas a bocanadas de K+ (figura 12.21). Debido a que gran parte de la conductancia del botón terminal sólo se está rectificando débilmente (esencialmente bidireccional; véase la figura 12.2), el K+ entrante en la célula de Müller vía canales fuertemente rectificados interiormente en las regiones sinápticas saldrá predominantemente desde el botón terminal. En especies con retinas avasculares, un aumento de [K+]o de la OPL establecerá un bucle de corriente que se extiende todo el camino a la superficie vítrea (véase la figura 12.18). Un incremento de [K+]o de la IPL contribuirá al mismo bucle de corriente, creando un potencial vítreo positivo generado proximalmente (*onda M*), además de la *onda b* dependiente de célula bipolar.

En especies con retinas vascularizadas tales como el ratón y mono, la conductancia de K+ es alta en el botón terminal pero es mayor en el INL, cerca de los capilares. En la retina de gato, la conductancia de K+ es mayor en sentido distal cerca del espacio subretiniano (figura 12.21). En estas especies, es probable que la corriente de la célula de Müller que surge como consecuencia de un aumento proximal de K+ contribuya a un bucle de corriente dirigida distalmente y para producir un potencial corneal negativo (por ejemplo, el STR negativo).

Newman y Odette produjeron un modelo de ordenador y simulaciones cuantitativas para la *onda b* de rana que apoya la hipótesis del K+ en la célula de Müller. Sin embargo, el modelo y el análisis de la CDS en que se basaron (figura 12.18), predijo un incremento distal de [K+]o sustancialmente mayor que la observada en las mediciones con el electrodo selectivo de iones. Esto planteó la posibilidad de que la *onda b* no es del todo generada por el K+ distal que afecta las células de Müller. Otra evidencia descripta a continuación proporciona una evidencia más fuerte de que gran parte de la *onda b* es directamente debida a las corrientes de células bipolares.

### La célula bipolar ON como generador de la onda *“b”*

Los experimentos utilizando Ba2+ apuntaban a una célula bipolar generadora de la *onda b*. El Ba2+ bloquea eficazmente los canales rectificadores internos de K+ (Kir) en las células de Müller y por lo tanto deben abolir los componentes del ERG generados por flujo de corriente de K+ a través de las células de Müller. Se ha demostrado que el Ba2+ bloquea el *PIII lento*, así como otras respuestas asociadas con las corrientes de células de Müller: la *onda M* y el *STR*. Sin embargo, el Ba2+ fue mucho menos eficaz en el bloqueo de la *onda b*.

Incluso la evidencia más definitiva vino de la utilización de Ba2+ en combinación con estudios de CSD en ranas y más tarde en conejos. Como se ilustra en la figura 12.22A, Xu y Karwoski midieron la profundidad del perfil de los ERG antes y después de la aplicación de Ba2+. El Ba2+ elimina las respuestas proximales de pendiente negativa en el inicio de la iluminación y el desplazamiento correspondiente a la *onda M*, pero las respuestas de pendiente negativa en la retina más distal que formaron la *onda b* se mantuvo. Xu y Karwoski también hicieron mediciones de resistencia de los tejidos locales bajo ambas condiciones por lo que podrían calcular fuentes y sumideros para la *onda b* de rana basado en registros con microelectrodo. Como se muestra en la figura 12.22B, en presencia de Ba2+, se retuvo al menos dos tercios del sumidero OPL, y se mejoró la fuente IPL involucrada en la generación de la *onda b*. Sólo se eliminó la actividad sumidero-fuente proximal asociada con la *onda M*. Estos resultados indicaron que el generador principal de la *onda b* es la célula bipolar por sí misma en lugar de la célula de Müller.

### Adaptación a la oscuridad, onda *“b”* conducida por bastones

Los experimentos en los que el componente PII del ERG escotópico fue farmacológicamente aislado de otros componentes del ERG también han prestado su apoyo a la idea de que la corriente de la célula bipolar contribuye directamente a la *onda b*. En la retina de mamíferos, la respuesta escotópica del ERG a estímulos débiles reflejará la actividad de los elementos del circuito de bastones sensibles, como el STR (véase la figura 12.9). Con la contribución de la retina interna de las células amacrinas y ganglionares farmacológicamente suprimidas, el *onda b* aislada (PII) debería reflejar la contribución de la célula bastón bipolar, ya sea directamente como la célula bipolar actual o por medio de corrientes de K+ en las células de Müller que resulta en la despolarización de la celula bipolar y la liberación de K+. La figura 12.23A muestra el PII aislado farmacológicamente a partir de cuatro retinas normales de ratón en respuesta a un estímulo muy débil; una inyección intravítrea del neurotransmisor inhibidor ácido γ-aminobutírico (GABA) se utilizó para suprimir la actividad retinal interna. La respuesta PII aislada ha sido superpuesta sobre el promedio de varios registros de corriente obtenidas de electrodos superficiales en una preparación de una rebanada de retina de ratón de las respuestas de los bastones bipolares retinales a un estímulo de similar efecto en los bastones. Los cursos de tiempo del ERG y la corriente de una sola célula son notablemente similares. La similitud de la evolución temporal apoya la opinión de que el PII aislado refleja la actividad de las células de bastones bipolares. Si las corrientes de células de Müller generan la respuesta PII a este estímulo en la retina del ratón, se esperaría que la señal se retrase, debido al tiempo necesario para la acumulación de iones K+ en el espacio extracelular. Una similitud en la evolución temporal de los registros intracelulares y extracelulares fue mostrado aún más directamente por Sheills y Falk, quienes compararon registros intracelulares a partir de células de tipo bastón bipolar y registros extracelulares de la *onda b* del ERG en la retina de cazón.

El PII aislado farmacológicamente en el gato (figura 12.23B) (en este caso, el uso de NMDA para suprimir las respuestas de la retina interna, véase la leyenda de la figura) reveló una respuesta similar a la de ratón en su fase ascendente, pero la respuesta mostró una recuperación más lenta de la línea de base. El gato respuesta PII a un breve destello puede ser analizada en un componente rápido y un componente lento que es una versión de bajo filtrada-pass del componente rápido, y estos se muestra por las líneas en la figura. Intravítrea Ba2 + se utilizó para probar la hipótesis de que el componente rápido es la contribución de células bipolar directa y el componente lento es la corriente de K + en la célula Müller. El recuadro de la figura muestra que Ba2 + elimina una porción lento de la respuesta que fue muy similar en curso de tiempo para el componente lento modelado. Esto sugiere que la corriente de la célula bipolar domina el borde de ataque del PII en el gato ERG y que la corriente de la célula Müller contribuye a veces más tarde. Aislamiento farmacológico de la PII macaco mostró una forma de onda similar a la de gato (no se muestra). Es interesante observar que, aunque la amplitud de la componente más lento (en respuesta a un breve destello) fue menor que la del más rápido, el área bajo las dos curvas fue similar. Con las duraciones de estímulo más largos, como los utilizados en los primeros estudios de los orígenes de la *onda b*, la contribución a la ERG de las dos fuentes serían aproximadamente igual.

### Onda *“b”* conducida por conos

La respuesta escotópica ERG a estímulos débil es predominantemente bastón de guiado. Cuando los estímulos se presentan fuertes de la oscuridad, las señales de cono también contribuyen a la respuesta (por ejemplo, la figura 12.12). Esta *onda b* cono bastón mixta se describió como por primera vez por Motokawa y Mita para el ERG humano. Se observó un pico positivo fuerte que se produzca antes de la parte principal más prolongada de la BWAVE en respuesta a intensos destellos de oscuridad. El pico agudo debido a las señales de cono, llamado de *onda x* (o b1), podría distinguirse de la respuesta más lenta bastón (b2) por su sensibilidad a los estímulos de longitud de onda larga.

El ERG fotópica se mide más comúnmente en la presencia de un fondo bastón de supresión. El perfil de profundidad de la *onda b* bastón medido en condiciones adaptadas a la oscuridad y la *onda b* cono medidos bajo condiciones de luz adaptadas son similares en cat y mono retinas, que sugiere un origen similar para las dos respuestas, pero en el caso de la fotópica ERG, despolarizante de cono en lugar de la barra células bipolares estarían implicados en la generación de la respuesta.

Los orígenes de la *onda b* fotópica de la retina macacos se estudiaron mediante tamizado y colaboradores utilizando análogos de glutamato en la misma serie de experimentos como los descritos en la sección anterior, en el que se examinó la *onda a*. Figura 12.24 (de Bush y Sieving) muestra, a la derecha, la respuesta del ERG fotópica macaco de longduration parpadea, antes y después de la APB fue inyectada por vía intravítrea (ojo 1, izquierda). APB retira la *onda b* transitoria, apoyando un origen de esta respuesta en despolarizar las células bipolares. Sin embargo, cuando PDA se inyectó por primera vez en otro ojo (ojo 2, derecha), para eliminar la vía OFF (y células horizontales retroalimentación inhibitoria), se reveló una *onda b* mucho mayor y más sostenida. Estos hallazgos indican que la naturaleza transitoria del pico de la *onda b* por cono en registros de control se debió al truncamiento de una respuesta de células bipolar de despolarización más prolongado. El truncamiento en condiciones de control era ya sea para la adición de respuesta OFF sensible a PDA de polaridad opuesta en el ERG (un efecto push-pull) o para la inhibición de retroalimentación celular, a través de la vía horizontal sensible al PDA en los conos, de señales de las células bipolares ON. La respuesta del fotorreceptor aislada que se mantuvo después de toda la actividad post receptora fue eliminada por APB seguido de PDA (o PDA seguido de APB) fue similar para los dos ojos.

### Componente de corriente directa de la onda “b”

La *onda b* es sólo uno de los dos componentes positivos ERG que Granit llama PII. El otro, que se ha estudiado sólo en los mamíferos, es un potencial constante sensible denominado *componente de corriente directa*. El componente de corriente directa continúa en amplitud reducida después de la respuesta transitoria (la *onda b*) y luego decae en el desplazamiento del estímulo. Como se muestra en una serie de registros de ERG del ojo completo de gato (figura 12.25), el componente de corriente directa es el componente positivo más sensible en la figura. Es sólo alrededor de 1.5 unidades logarítmicas menos sensible que la respuesta negativa más sensible, la respuesta umbral escotópica (STR). Para los estímulos más fuertes, PII domina el ERG, y 7.1 log q deg-2s-1 por encima, alcanza el máximo para formar la *onda b*. El componente de corriente directa tiene una distribución profunda similar a la *onda b* en gatos y monos, y en un análisis de la CSD realizado en monos, que también tenía una distribución fuente-sumidero similar a la de la *onda b* (véase la figura 12.3). Sin embargo, los experimentos en los gatos mostraron que el componente de corriente directa era separable de la *onda b* debido a que: (1) no fue afectado por bajas dosis de lidocaína intravítrea mientras que la *onda b* fue eliminada, (2) el componente de corriente directa sumaba sobre un área más pequeña que la de la *onda b*, y (3) el componente de corriente directa fue relativamente menos suprimido por la adaptación a la luz que la *onda b*. De hecho, en el mono, el componente de corriente directa se detectó más fácilmente en la retina adaptada a la luz, y fue bajo condiciones de adaptación a la luz que se realizaron los análisis de CSD y profundidad (que se muestra en la figura 12.3). Todavía no está resuelto si la *onda b* y los componentes de corriente directa tienen orígenes neuronales separados.

## Orígenes de la onda “d”

La *onda d* es una desviación con pendiente positiva en el ERG en el desplazamiento de luz que es una característica del ERG fotópico. La *onda d* del ERG fotópico primate (humano y macaco) se puede ver en la figura 12.1 y de nuevo para el macaco en las figuras 12.9, 12.12A, y 12.24. Aunque las *ondas d* positivas se han descrito en el ERG escotópico de algunas especies, probablemente no son “verdaderas” *ondas d* que, tal como se describe a continuación, incluyen una fuerte contribución de la respuesta de despolarización en el desplazamiento de luz de hiperpolarización de conos bipolares celulares. Por ejemplo, en los anfibios, Tomita et al. argumentaron que la "*onda d*" positiva específica del bastón tiene una larga latencia y es, probablemente, la *onda e* en lugar de la *onda d* (véase la sección posterior de la *onda e*). En los gatos, Granit describe una *onda d* en el ERG predominantemente impulsada por bastones, pero un análisis de Brown mostró que esta "*onda d*" se produjo sólo en respuesta a la compensación de los estímulos muy intensos y de larga duración. Para estos estímulos, el decaimiento del potencial receptor de bastón apareció como una pequeña deflexión positiva que siguió, en desplazamiento de luz, el desplazamiento dependiente negativa de PII.

A pesar de que la *onda d* está presente en las respuestas de los vertebrados desde los anfibios hasta los mamíferos, ha sido menos estudiado que los componentes prominentes de inicio de la iluminación (*ondas a* y *b*). En parte, esto puede deberse a que la *onda d* es pequeña en las retinas mixtas que tienen más bastones que conos. En los animales en los que la *onda d* es prominente, los investigadores han presentado tradicionalmente destellos de luz en lugar de destellos oscuros, y para ver *onda d* como un evento separado, la duración del flash debe ser extendida. No obstante, no hay información sobre su origen, natural de las especies de sangre fría y, más recientemente, a partir de experimentos de disección farmacológicas en macacos.

En las especies de sangre fría, la *onda d* es de pendiente positiva cuando se registra en la córnea o en el humor vítreo y de pendiente negativa cuando se registra intraretinalmente en la mitad distal de la retina (figura 12.26), lo cual es consistente con la *onda d* incluyendo una respuesta OFF prominente de fotorreceptor. La respuesta OFF positiva de los fotorreceptores también ha estado presente en los registros transretinales en la rana y salamandra después del bloqueo farmacológico de la actividad neuronal post receptora. Sin embargo, los resultados de estos estudios posteriores, así como otros en los anfibios, están de acuerdo en que las células que son post sinápticas a los fotorreceptores también hacen una importante contribución a la *onda d*.

Los análisis CSD por Xu y Karwoski usando destellos oscuros para evocar los perfiles espacio-temporales de la *onda d* en la retina de rana demostraron claramente una fuerte contribución de las células bipolares OFF a la *onda d*. En este estudio, la mayor corriente de la *onda d* fue similar a la corriente de la *onda b* encontrada en el trabajo previo de los mismos investigadores (véase figura 12.22A). La *onda d* tenía un sumidero en la capa plexiforme externa (sumidero OPL) y una fuente en la capa plexiforme interna (fuente IPL). Como se encontró para la *onda b*, la corriente de *onda d* era relativamente insensible a Ba2+ sugiriendo que esto surgió directamente de las células bipolares OFF en lugar de las corrientes de amortiguamiento de K+ en las células de Müller. Ha sido sugerida una contribución a la *onda d* de las corrientes de amortiguamiento de K+ en anfibios, así como los informes de las contribuciones a la *onda d* de las neuronas retinales internas, células amacrinas o células ganglionares.

En los mamíferos, la *onda d* es muy prominente en la retina de todos los conos de la ardilla de tierra (figura 12.27); en la retina del mono con su mezcla de conos y bastones, la *onda d* no es tan importante, pero todavía es fácilmente identificable (por ejemplo, la figura 12.24). El análisis intrarretiniano de la *onda d* de mono indicó que esto representa una combinación de la rápida compensación del potencial tardío del cono receptor (que es de pendiente positiva), seguido por la compensación dependiente negativa del componente PII. El distintivo rápido desplazamiento del potencial de cono receptor fue visto claramente mediante el uso de estímulos de longitud de onda larga en condiciones fotópicas en el mono después de la fijación de la circulación de la retina para aislar los fotorreceptores y se observó en la retina humana extirpada en presencia de aspartato.

Aunque los primeros trabajos sobre ERG de primates antes citados no permitieron identificar la hiperpolarización de célula bipolar (OFF) como un importante contribuyente a la *onda d*, trabajos más recientes de Sieving y colegas han demostrado claramente que es un elemento importante de la respuesta. En los experimentos descriptos en los apartados anteriores (por ejemplo, la figura 12.24), PDA, el cual bloquea las respuestas de las células bipolares OFF, reduce o, cuando una gran *onda b* estaba presente, elimina la *onda d* en desplazamiento de luz. El efecto de la PDA no fue replicado por el bloqueo de las células de la retina interna por NMDA, las cuales también se han visto afectadas por el PDA, lo que confirma el papel de las propias células bipolares OFF. El PDA también eliminará una pequeña *onda P*ositiva que se produce en la fase descendente de la *onda b*, o justo después, en el ERG de destello breve en monos y seres humanos, llamada la *onda i*. Esta onda tampoco se elimina por el bloqueo de las células de la retina interna.

En resumen, la *onda d* corneal en los primates se produce en gran medida por la despolarización de las células bipolares OFF y el continuo desplazamiento positivo del potencial receptor tardío. Esto además es conformado por el desplazamiento negativo de PII. En contraste con las especies de sangre fría, para los primates (y otros mamíferos no presentados aquí), hay poca evidencia de un componente de *onda d* de pendiente positiva que se origina en la retina proximal, ya sea directamente por las neuronas o indirectamente por amortiguamiento espacial de K+.

## Orígenes del ERG fotópico de parpadeo rápido

Tradicionalmente, la respuesta fotópica del ERG del humano (o macaco) a estímulos parpadeantes rápidos (nominalmente parpadeo a 30 Hz) se cree que reflejan principalmente la respuesta de los conos fotorreceptores. Sin embargo, los estudios farmacológicos de disección por Bush y Sieving han demostrado que la mayor parte de la respuesta que se observa clínicamente con un estímulo de campo completo se genera post receptoralmente. La evidencia de la hipótesis de los fotorreceptores en los primates se debió principalmente a los estudios de registros intrarretinianos en fóvea de mono por Baron y Boynton, y Baron et al. Baron y Boynton encontraron que el aislamiento farmacológico de la respuesta de los conos fotorreceptores por aspartato de Na+ no alteró la fase de la respuesta de parpadeo rápido fotópica registrada localmente. A partir de esta observación, propusieron que la respuesta de parpadeo rápido refleja los potenciales de los conos fotorreceptores. Esta propuesta fue apoyada por un análisis de componentes posterior que indicó la independencia de la respuesta de parpadeo de las contribuciones de la retina interna.

Bush y Sieving utilizaron los análogos de glutamato APB y PDA para eliminar selectivamente la respuesta post receptora de la vía ON y OFF como se había hecho en los estudios sobre los orígenes de las *ondas a, b* y *d* descriptas anteriormente en este capítulo (véanse las figuras 12.12 y 12.24). La figura 12.28A ilustra las contribuciones de la vía OFF después de la vía ON y por lo tanto como se eliminó la *onda b* por APB. El parpadeo todavía estaba presente, pero el pico se retrasó, lo que refleja la contribución residual de la *onda d*. Cuando se utilizaron tanto APB y PDA (figura 12.28B), la respuesta de parpadeo prácticamente se elimina, similar al efecto de aspartato en sus manos (no mostrado). A partir de experimentos de este tipo, Bush y Sieving llegaron a la conclusión de que las células pos receptoras que normalmente producen las *ondas b* y *d* son fuertes contribuyentes a la respuesta de parpadeo rápido fotópica. Otros experimentos en los macacos han investigado más a fondo la interacción de las vías de ON y OFF en las respuestas de parpadeo fotópicas en un amplio intervalo de frecuencias temporales y condiciones de estímulo y han demostrado pequeñas contribuciones de la retina interna a la respuesta, en particular a la segunda componente armónica.

## Orígenes de la onda *“e”*

La *onda e* es un potencial de campo retrasado producido en desplazamiento de luz (es decir, un retraso de la respuesta OFF) que se registró por primera vez en la retina de rana y ha sido observada en el renacuajo, salamandra (C. J. Karwoski, observaciones no publicadas) y la trucha. Esto ha sido observado en los registros retinianos proximales ocurridos en latencia larga en los anfibios (2 a 60 años de estímulo compensado seguidos) y ha sido registrado transretinalmente sólo en raras ocasiones, por ejemplo, en la retina de rana. Debido a que han sido reportadas en gato respuestas neuronales OFF retrasadas, se concluye que la *onda e* también puede estar presente en los mamíferos.

La *onda e* está presente sólo en retinas adaptadas a la oscuridad, indicando que es un impulso de baston; de hecho, Tomita et al. han argumentado que la *onda e* es esencialmente la versión escotópica de la *onda d*. En respuesta al parpadeo de luz muy intensa, los bastones fotorreceptores generan una gran hiperpolarización que vuelve de nuevo a la línea de base muy lentamente (efecto posterior de bastón). Karwoski y Newman propusieron que este decaimiento retrasado de la respuesta del bastón provoca respuestas tardías en células proximales de la retina que están involucradas en la generación de la *onda e*. Además, han presentado pruebas de que la *onda e* surge, al menos en parte, de las corrientes de amortiguamiento espaciales de células de Müller inducidas por K+ liberado por neuronas proximales de la retina.

## Respuesta proximal negativa

La respuesta proximal negativa (PNR) es un potencial de campo evocado por luz que puede ser registrado en la retina interna. Fue nombrado y completamente descripto por Burkhardt, aunque los registros similares al PNR habían sido reportados por algunos grupos desde los estudios pioneros de Tomita y colegas en el "potencial de acción intrarretiniano". El PNR consiste de un fuerte pero transitoria pendiente negativa en el inicio y otra vez en el desplazamiento de un pequeño punto luminoso (figura 12.29). El punto debe estar centrado precisamente sobre la punta del microelectrodo. La iluminación anular y difusa provoca formas de onda complejas que a veces no están dominadas por potenciales de pendiente positiva. El PNR se puede registrar en todas las retinas de vertebrados, incluyendo el gato y los primates.

Los estudios de marcación con tinta en las aves y anfibios mostraron que el PNR es máximo en los IPL. Varias líneas de evidencia sugieren que el PNR en anfibios surge de neuronas ON/OFF, probablemente células amacrinas en lugar de células ganglionares. Esta propuesta está apoyada por la presencia de un PNR normal de conejo en el que la degeneración de las células ganglionares había sido inducida por la sección del nervio óptico (R. F. Miller, D. A. Burkhardt, y R. Dacheux, observaciones no publicadas). El PNR en primates y gatos puede surgir de células ON y OFF (amacrinas), debido a que estas retinas contienen relativamente pocas neuronas ON/OFF.

En retinas en las que una *onda M* (véase la sección posterior de la *onda M*) se pueden registrar en la retina proximal (por ejemplo, anfibios y gatos), el PNR se piensa que es la parte rápida de la respuesta generada neuronalmente, mientras que la *onda M* es el resultado de las corrientes de amortiguamiento espaciales en las células de Müller debido a la liberación en el espacio extracelular de K+ por las neuronas proximal (ver figura 12.2).

Una contribución PNR al ERG registrado transretinalmente es incierto y necesariamente pequeño porque el PNR, que se desarrolla mejor intraretinalmente en respuesta a un pequeño punto, se desviará a través de regiones de baja resistencia adyacentes de la retina que no se activan por la luz, resultando en una pequeña caída de potencial en el vítreo.

## Orígenes de la onda *“M”*

Al igual que la respuesta proximal negativa (PNR), la *onda M* es un potencial de campo evocado por luz que puede ser registrado en la retina proximal. Fue nombrado y descripta más completamente en los estudios de anfibios por Karwoski y Proenza, aunque las respuestas posiblemente relacionadas han sido reportadas por varios grupos desde los estudios de Arden, Brown y Byzov. La *onda M* consiste de una respuesta lenta negativa tanto para la luz centrada o descentrada de un spot pequeño y bien centrado (figura 12.29). La iluminación anular y difusa provoca formas de onda complejas en los registros intrarretinianos, a veces dominadas por la *onda M*. La *onda M* también ha sido descripta en el gato, como se muestra en las figuras 12.30 y 12.31, y puede ser una característica general en la retina de vertebrados.

Debido a que la *onda M* tiene la máxima amplitud a la misma profundidad que el PNR, es probable que se origina a partir de los acontecimientos en el IPL. En los anfibios, el curso temporal y la dependencia de estímulo de la *onda M* son similares a esas respuestas intracelulares de células de Müller, así como a los aumentos en [K+]o evocada por luz en el IPL. Estas similitudes se resumen en la generación del modelo de la *onda M* que se esquematiza en la figura 12.29: Luz evoca respuestas en las neuronas proximales, las neuronas liberan K+, y este aumento de [K+]o genera corrientes de amortiguamiento espaciales en las células de Müller. El modelo explica la mayoría de las características intrarretinianas de la *onda M*, incluyendo su polaridad negativa. La figura 12.30 muestra que ciertas características clave de este modelo también se sostienen para la *onda M* en el gato. El modelo recibe soporte adicional de experimentos en los anfibios con el bloqueador de canales de K+, el Ba2+. Eso tiene solo efectos menores sobre la actividad neuronal evocada por luz. El aumento en [K+]o evocado por luz en la retina proximal también ha cambiado muy poco por Ba2+, pero bloquea la conductancia de K+ de las células de Müller, amortiguamiento espacial por células de Müller y la *onda M*. En la retina de gato en la figura 12.31, Ba2+ puede ser visto para eliminar la *onda M* pero los incrementos de [K+]o evocados por luz en la retina proximal todavía están presentes, lo que indica que la actividad neuronal por luz evocada también estaba presente. Los aumentos proximales de [K+]o eran más grandes en presencia de Ba2+, pero los aumentos más distales estaban ausentes, en consonancia con el bloqueo por Ba2+ de las corrientes de amortiguamiento espaciales que normalmente llevaría el K+ lejos desde retina proximal a retina distal donde [K+]o era menor.

La contribución de la *onda M* al ERG normal transretinal en los anfibios es positiva ya que, como se explicó en la sección sobre la *onda b* (véase la figura 12.21), en la retina avascular de anfibios, las corrientes de amortiguamiento espaciales en las células de Müller fluyen principalmente hacia el botón terminal vítreo, que produce una *onda P*ositiva en el vítreo. En el gato, con su retina vascular, la respuesta de *onda M* a puntos pequeños puede contribuir con un pequeño potencial negativo para el flash ERG, pero cualquier contribución es pequeña debido a que la respuesta local a un punto haría que sólo una pequeña contribución al ERG.

La contribución de la *onda M* al ERG puede ser mayor cuando se utilizan estímulos periódicos tales como los patrones de rejilla que estimulan grandes regiones de retina. Sieving y Steinberg mostraron que la *onda M* se sintoniza en un diámetro de punto similar al ancho de la barra de la frecuencia espacial óptima para el patrón de ERG intrarretiniano en el gato y sugirieron que la *onda M* también puede contribuir al patrón ERG registrado en el córnea.

En contraste al PNR (y *onda M*), las respuestas negativas de la retina proximal a la estimulación de campo completo están presentes en el ERG corneal por adaptación a la luz y adaptación a la oscuridad de varias especies, incluyendo gatos, monos y humanos. Estas respuestas, llamadas la *respuesta fotópica negativa* (PhNR), y el *umbral de respuesta escotópica* (STR), respectivamente, se describirán en las siguientes secciones.

## Orígenes de la respuesta fotópica negativa

La respuesta fotópica negativa (PhNR) es una onda con pendiente negativa que se produce después de la *onda b* y de nuevo después de la *onda d* en respuesta a un largo flash. Es particularmente fácil de ver en las respuestas a destellos rojos sobre fondos azules en monos, seres humanos y cats. El PhNR del ERG normal de macaco se muestra en las figuras 12.32 y 12.33 en la columna de la izquierda para destellos de larga duración (arriba) y breves (abajo).

Varias líneas de evidencia experimental indican que el PhNR se origina a partir de la actividad spiking de las células ganglionares de la retina y sus axones en estas especies. Como se muestra en la figura 12.32, en monos (y gatos), la respuesta es eliminada por TTX intravítrea, que bloquea los potenciales de acción dependientes de Na+ que se producen en todas las células ganglionares y algunas células amacrinas. En los monos con glaucoma experimental inducido por láser, una condición patológica que destruye las células ganglionares, el PhNR se reduce o elimina, implicando fuertemente la actividad spiking de células ganglionares en su generación (figura 12.33). En los registros de microelectrodos intrarretinianos en los gatos, las señales locales de la misma evolución temporal como el PhNR eran más grandes en y alrededor de la cabeza del nervio óptico. El PhNR fue interrumpido en los gatos por Ba2+, indicando la participación de la glía (tal vez astrocitos en la cabeza del nervio) en la mediación de generación de la respuesta.

### Relación con el ERG patrón (PERG)

El ERG patrón (PERG) ha sido la medida no invasiva más común de la actividad de las células ganglionares. La onda negativa N95 en el PERG transitorio que es máxima aproximadamente 95ms después de cada inversión de contraste del estímulo patrón, se reduce a menudo en los ojos glaucomatosos. Debido a que el PhNR tiene un tiempo implícito similar al de la N95 y es probable que se origine a partir de células ganglionares, Viswanathan et al. compararon los efectos del glaucoma experimental y la TTX en las dos respuestas en macacos y encontraron efectos similares en ambos, lo que indica orígenes comunes de la retina. Además, la forma de onda del PERG para una frecuencia de estimulación dada (por ejemplo, 2 o 8 Hz) podría ser simulada adecuadamente mediante la adición de los ERG en el inicio y fin de un campo uniforme, debido principalmente a la presencia del PhNR. Teniendo en cuenta que las dos respuestas tienen un origen similar, el PhNR tiene algunas ventajas sobre el PERG como un indicador clínico de la disfunción de las células ganglionares. Con las condiciones adecuadas de estímulo, el PhNR es una respuesta más amplia, no requiere la corrección refractiva, y será menos afectada por las opacidades de los medios oculares que el PERG.

### El PhNR en humanos y roedores

El PhNR se reduce significativamente en pacientes humanos con glaucoma primario de ángulo abierto, neuropatía óptica isquémica anterior, y otras neuropatías del nervio óptico, compatible con un origen en las células ganglionares o sus axones en los seres humanos. En ratas y ratones, sin embargo, la respuesta puede que no esté completamente relacionada con las células ganglionares, aunque depende de la actividad spiking sensible a la TTX de las neuronas de la retina interna.

### Longitud de onda del estímulo

La mayoría de los estudios del PhNR en monos han utilizado un destello de color rojo sobre un fondo azul saturado de bastones. Sin embargo, en los seres humanos, además del destello rojo, los estímulos tienen un campo blanco de 12° X 12° en un monitor de ordenador, destellos blancos de campo completo sobre un fondo blanco, y el uso de una técnica de sustitución muda para aislar cono S del ERG. Los estímulos monocromáticos de campo completo (rojo o azul) producirán un PhNR más distinguible que será un estímulo de banda ancha debido a que la respuesta al estímulo de banda ancha incluye otra onda larga negativa (compárese con la figura 12.09, panel derecho, con las figuras 12.32 o 12.33) además del PhNR (N. Rangaswamy, B. Dingle y L. Frishman, observaciones no publicadas).

## Orígenes del umbral de respuesta escotópica

Para destellos muy débiles de oscuridad, cerca del umbral psicofísico en los seres humanos, un pequeño potencial post receptor de polaridad opuesta al de *onda b* domina el ERG. Esto se ha observado en el ERG de varios mamíferos, incluyendo tanto humanos como gatos, monos, ratas, ratones y probablemente ovejas. Esta respuesta con pendiente negativa, la cual es más sensible que PII (o PIII) y saturada en un nivel de luz más bajo que cualquiera de los componentes, fue nombrada *umbral de respuesta escotópica* (STR) por Sieving et al., debido a su sensibilidad en los estudios de registros intrarretinianos. Como se muestra en la figura 12.25 para el gato, el STR negativo en el inicio del estímulo domina el ERG de flash difuso adaptado a la oscuridad en intensidades de 3.1 a 4.6logqdeg-2s-1. Crece en la amplitud de las primeras 1.5log unidades de fuerza del estímulo, y luego emerge el componente (corriente directa) de PII. Para los estímulos más fuertes (por ejemplo, 7.6logqdeg-2s-1) la *onda b* domina la respuesta. El STR negativo es distinto de la *onda a* escotópica, aunque puede aparecer como una pseudo *onda a* en el ERG (por ejemplo, la flecha en 5.6 en la figura 12.25). El aspartato, que aísla respuestas fotorreceptoras, elimina este STR pero no la *onda a* dominada por el fotorreceptor, mostrando que el STR se origina post receptor. El STR aparece en el ERG en respuesta a estímulos que son mucho más débiles que aquellos que provocan la *onda a* (o la *onda b*; véase más adelante), ya que la convergencia de la señal del bastón en el circuito de la retina aumenta la ganancia de la respuesta generada por las neuronas en la retina interna.

Se demostró inicialmente que el STR se genera más proximal que PII, en el análisis en profundidad intrarretiniano descripto con más detalle a continuación, y posteriormente, usando agentes farmacológicos para suprimir las respuestas retinianas internas proximales a las células bipolares (GABA, glicina o NMDA). Estos agentes remueven el STR pero no la *onda b*. Por el contrario, el APB elimina tanto la *onda b* como el *STR*. Debido a que la generación de la *onda b* escotópica depende de la transmisión glutamatérgica de bastones para despolarizar las células bipolares de bastón que está bloqueado por APB, indica que el STR debe depender de la activación de las células bastones bipolares. Debido a que se genera más proximalmente que la *onda b* escotópica, se cree para reflejar la actividad de la porción de células amacrina (tal vez células amacrinas AII) y ganglionares del circuito bastón sensible que es especializado para la manipulación de eventos cuánticos (véase el esquema de la retina en el recuadro en la figura 12.9).

Desde la descripción inicial del STR con pendiente negativa, ha quedado claro que hay un potencial positivo igualmente sensible en el ERG escotópico de las especies para las que se ha descripto la respuesta con pendiente negativa. Esta onda se ha llamado *STR positivo* (pSTR). Debido a que el pSTR es pequeño y de polaridad opuesta a la nSTR, fácilmente se puede cancelar en el ERG. Una instancia de este tipo puede verse en el ERG adaptado a la oscuridad del macaco mostrado en la figura 12.9. El retraso de la aparición de la nSTR para el estímulo más débil es debido a la presencia de una *onda P*ositiva sensible que es ligeramente mayor que la onda negativa en los primeros tiempos. En respuesta a un estímulo sobre una unidad de 1log más intensa (justo por encima), el pSTR monta sobre la PII que emerge como un potencial positivo temprano.

Un modelo lineal de las contribuciones de pSTR, nSTR, y PII para la respuesta del ERG de adaptación a la oscuridad en el gato a estímulos débiles que tiene una pequeña pSTR se muestra en la figura 12.34. Se supone que cada componente del ERG crece inicialmente en proporción a la fuerza del estímulo y luego se satura de una manera característica, como se ha demostrado en los registros de una sola célula en retinas de mamíferos. Sólo con la inclusión de un pequeño pSTR que hace que el modelo aproximado prediga el ERG completo en un momento dado en la respuesta ante un estímulo débil. El modelo se ajustó en la figura 12.34 para las respuestas medidas en 140ms después de un breve destello de campo completo (<5ms), que fue el pico de la nSTR en el ERG escotópico en el gato. Un modelado similar ha sido publicado para ERG humano y de ratón. Los orígenes de la pSTR no han sido investigados intraretinalmente, pero los estudios han demostrado que los agentes farmacológicos mencionados anteriormente que suprimen las respuestas de la retina interna y el nSTR eliminarán también el pSTR. Por ejemplo, el NMDA eliminó la nSTR y pSTR para respuestas tales como las observadas para los dos estímulos más débiles en la figura 12.9.

### Establecimiento del “STR” como una respuesta separada de la retina proximal

#### La distribución en profundidad

Un análisis intrarretiniano en profundidad en el gato mostró al principio que el nSTR se origina en la retina proximal. Las respuestas registradas en profundidades crecientes de la retina para lugares de estímulos de muy baja intensidad o estímulos difusos fueron máximas en alrededor del 17% de profundidad de la retina en la frontera entre la capa de células ganglionares y el IPL. Como se muestra en la figura 12.35, la respuesta de la retina registrada en la retina proximal fue de pendiente negativa para la duración del estímulo cuando los estímulos de duraciones de menos de 300 ms fueron utilizados y volvieron lentamente a la línea de base después de compensar la luz.

El STR registrado en retina proximal puede ser distinguido de la *onda M* de la retina adaptada a la luz de las siguientes maneras: (1) Es bastón, en lugar de cono dominante, (2) carece de la prominente respuesta OFF de la *onda M*, y (3) se resume en una gran área de la retina y no muestra la selectividad para pequeños puntos que es característica de la *onda M*. Ya que se resume a través de un gran ERG retinal, a diferencia de la *onda M*, el STR se puede registrar en el ERG vítreo (y corneal). La similitud de tiempos de inicio y curso de tiempo del STR retinal proximal y el potencial negativo en el ERG del gato se muestra en la figura 12.35. Esto era posible para que coincida con la respuesta umbral negativa en el ERG por escalada del STR de retina proximal (fuera de línea en el ordenador) en su registro de polaridad negativa.

Para los estímulos más fuertes, PII (el componente de corriente directa y la *onda b*) fue máxima cerca de 50% de profundidad de la retina alrededor de la INL, como se encuentra bien documentado. Para los estímulos que son demasiado débiles para obtener PII, el STR invierte la polaridad en la retina media (figura 12.35) y se convierte en una señal con pendiente positiva en la retina media y la retina distal. Esta inversión sugiere una fuente próxima, y un fregadero distal, para el punto de inversión, el cual fue confirmado por el análisis de la densidad de fuente de corriente. Para estímulos más fuertes, las señales STR invertidas en la retina media y la retina distal fueron reemplazadas por PII, que luego domina el ERG.

#### La sensibilidad del STR

El gráfico en la figura 12.36 muestra amplitudes de pico, como una función de la intensidad del estímulo, de las respuestas negativas en la retina proximal, donde el STR era máximo, y ​​en la retina media, donde PII fue máximo. El gráfico muestra que la primera respuesta medida para el STR (símbolos sólidos) ocurrió para los estímulos sobre 1.5log unidades más débil que la primera respuesta medida para PII (símbolos abiertos) en los mismos cuatro gatos. El STR también saturado en una intensidad menor, en torno a 5.8logqdeg-2s-1 en el gráfico, que era alrededor de 2.4log unidades menores que la saturación de bastones en la *onda b* en el gato. Los estudios de las sensibilidades relativas del STR y del PII en base a los ERG corneales de otras especies muestran que la sensibilidad del STR es similar en todas las especies en términos de la luminancia (alrededor de 6.6log sc cd.sr.m-2), aunque el tamaño de sus ojos y pupilas, y sus distribuciones fotorreceptoras de la retina difieren. En todas las especies estudiadas, el nSTR fue más sensible que el PII.

### Un mecanismo de K+ en células de Müller para generación del “STR”

El STR, como la *onda M*, está asociada con respuestas de las células de Müller a [K+]o liberado por las neuronas de la retina proximal. Frishman y Steinberg midieron los cambios dependientes de luz en [K+]o en retina de gato e identificaron un aumento proximal en [K+]o con similitudes funcionales obvias para el STR: El rango dinámico de "umbral" para saturación del aumento de [K+]o en la retina proximal era similar al de los potenciales de campo (figura 12.37), y los máximos de la profundidad de la retina para los aumentos en [K+]o coincidieron con los de los potenciales de campo STR. Las comparaciones de la latencia y el tiempo de subida de la [K+]o incrementados con la cinética de los potenciales de campo fueron limitados por el tiempo de subida lento del electrodo de K+. Por lo tanto, no fue posible determinar si una porción inicial de la respuesta fue directamente de origen neuronal, correspondiente al PNR. En tiempos tardíos en la respuesta, el aumento de [K+]o en la retina proximal fue más sostenido que los potenciales de campo locales, y el ERG vítreo contenía una respuesta negativa lenta que coincidía con la duración del aumento proximal de [K+]o.

Un papel causante para el incremento de [K+]o en la generación del STR negativo fue apoyado por el hallazgo de que el Ba2+, un bloqueador de canal de conductancia Kir, elimina el potencial del campo proximal en el gato y los potenciales negativos en el ERG, pero no eliminó inicialmente el aumento de [K+]o evocado por luz. La polaridad negativa del STR en el vítreo sugiere una fuerte corriente de K+ dirigida hacia la retina distal en la célula Müller de gato (similar a la de la *onda M* y PIII actual; ver figura 12.2). La distribución de conductividad de K+ en la célula Müller de gato es consistente con una corriente distalmente dirigida porque el gato, con su retina vascularizada, tiene una célula de Müller con altas conductancias de K+ en ambos extremos (figura 12.21), siendo mayor en el extremo distal que en el extremo proximal. Como se ilustra por los efectos de Ba2+ en la *onda M* del gato en la figura 12.31, el tratamiento de la retina adaptada a la oscuridad con Ba2+ también apareció para bloquear el sifón de K+ por las células de Müller. Considerando que el aumento proximal de [K+]o permaneció intacto, el incremento distal de [K+]o fue eliminado por Ba2+, apoyando la idea que la liberación de K+ en la retina proximal fue acarreada (por sifón) normalmente a la retina distal vía la célula de Müller.

### Orígenes neuronales del “STR”

Aunque no se saben las neuronas exactas que están involucradas en la generación del nSTR y pSTR, se tienen algunas ideas. Si la contribución neuronal (a través de la glía en el caso del nSTR) está dominada por las células amacrinas o ganglionares puede ser dependiente de cada especie. En los monos, es probable que el nSTR surja principalmente de las células ganglionares. Fue eliminado en ojos en los que se eliminaron todas las células ganglionares como consecuencia de hipertensión ocular inducida por láser, así como por TTX intravitrealmente inyectada para bloquear la actividad spiking de esas neuronas. Por el contrario, en gatos y humanos así como en ratones y ratas, la respuesta puede estar basada en más células amacrinas y no totalmente dependiente de la actividad spiking de cualquiera de las células ganglionares o amacrinas. A raíz de la degeneración de las células ganglionares debido a la sección o atrofia del nervio óptico, el nSTR fue reducido, no eliminado. La TTX fue parcialmente eficaz en la eliminación en los estudios con animales.

En contraste al nSTR, el pSTR, que es bastante prominente en ratas y ratones, parece que se origina a partir de células ganglionares. Se eliminó tanto por la degeneración de las células ganglionares y por el bloqueo de actividad spiking.

Una característica de las respuestas mediadas por Müller/glía en el ERG es su evolución en el temporal lenta. La mediación glial del STR sólo se ha demostrado en gato, pero el curso temporal del STR es lento en otras especies. La mediación glial del nSTR puede explicar la similitud de su evolución en el tiempo y la amplitud a través de especies independientemente de que las clases particulares de neuronas locales produce los cambios en [K+]o evocado por luz que generan la respuesta en retina proximal. La contribución relativa de diferentes clases neuronales podría depender de la densidad de la población de las clases particulares, así como su relación local con la glía retinal. Por ejemplo, la retina de ratón tiene una baja densidad pico de células ganglionares que la retina de mono, y esto podría causar que el ERG generado proximalmente este más relacionado con células amacrinas.

## Orígenes de los potenciales oscilatorios

Los potenciales oscilatorios (PO) del ERG consisten en una serie de ondas de alta frecuencia y baja amplitud superpuestas sobre la *onda b* que se producen en respuesta a un estímulo fuerte. Los PO están presentes en condiciones de adaptación a la oscuridad y a la luz, con contribuciones de ambos sistemas de bastones y conos. El número de los PO que son inducidos por un destello de luz varía entre cuatro y diez, dependiendo de la especie y las condiciones de estímulo; la frecuencia de los PO resultante también varía. La figura 12.38 muestra el ERG fotópico por flash de un mono macaco (arriba); al menos cinco PO en frecuencia de aproximadamente 150 Hz se pueden ver mediante la filtración de la respuesta para extraer las señales de alta frecuencia. Por el contrario, la frecuencia de los PO en registros intrarretinianos en la retina de rana era sólo alrededor de 20 Hz en la figura 12.39. Existe un consenso a partir de experimentos en los anfibios y mamíferos, revisado brevemente a continuación, que los PO se generan en la retina proximal. Se plantean entonces tres grandes preguntas con respecto a sus orígenes son las siguientes:

*1. ¿Tienen todos los PO el mismo origen?*

*2. ¿Qué células generan los PO?*

*3. ¿Qué mecanismos están implicados en la generación de los PO?*

#### ¿Tienen todos los PO el mismo origen?

En los anfibios, los diferentes PO no tienen el mismo origen todos. Los perfiles de profundidad como el que se ilustra en la figura 12.39 de retina de rana aislada, han demostrado que los PO anteriores en la respuesta surgen cerca de la IPL, mientras que los PO posteriores surgen más distalmente, tal vez dentro de la INL. El hallazgo de que los diferentes PO son diferencialmente sensibles a los agentes farmacológicos también es compatible con diferentes orígenes para los potenciales. Los estudios realizados por Wachmeister y colegas en la retina de la salamandra, donde los PO se encuentran a aproximadamente 15-30Hz, encontraron que los PO anteriores están deprimidos por los antagonistas de GABA, el antagonista de la dopamina *haloperidol*, β-alanina y la sustancia P. Los PO posteriores se deprimen por la glicina estricnina antagonista y por etanol.

En los primates, los primeros estudios intrarretinianos utilizando estímulos que provocarían respuestas tanto de conos como bastones no encontraron diferencias en los perfiles de profundidad de los diversos PO. Sin embargo, estos estudios no se combinaron con el uso de agentes farmacológicos (distintos que TTX, que no bloquean OPs). Sin embargo, teniendo en cuenta la complejidad de los circuitos internos de la retina, la similitud en los perfiles de profundidad no necesariamente significa que las mismas neuronas estaban involucradas en todos los casos. Por ejemplo, en el ERG fotópico por respuesta a estímulos flash breves, los principales PO son sensibles al APB, que indica un origen en vías ON, pero los posteriores, en particular cuando se aumenta la duración del estímulo, no lo son, lo que indica un origen en la vía OFF. Tal diferencia podría aparecer como una diferencia en la profundidad de la respuesta máxima en los registros en la IPL, como las sinapsis vía ON que ocurren más proximalmente que la vía sinapsis OFF.

#### ¿Qué células generan los PO?

Las observaciones descriptas anteriormente indican que las neuronas proximales son importantes para la generación de PO. La evidencia clínica y experimental temprana mostró que los PO son post receptores en origen. Ellos se suprimen en los casos de oclusión de la arteria central de la retina y la oclusión experimental de la arteria central de la retina en mono. Los PO (pero no señales receptoras) también se suprimieron en retina humana extirpada mediante la aplicación de aspartato o glutamato para bloquear la transmisión sináptica del fotorreceptor. Las células epiteliales pigmentarias también pueden ser excluidas como generadores de los PO. Se observaron ondas no rítmicas en las respuestas evocadas por luz de estas células, y los PO están claramente observados en la retina aislada separada del RPE (véase la figura 12.39).

La mayoría del trabajo indica que los PO se originan en las proximidades de la IPL. En todas estas especies, los perfiles de profundidad que se han medido proporcionan evidencia de esta capa de origen, y un análisis de la densidad de corriente de la fuente en primates también apunta a la IPL. Como se ha descripto anteriormente para los anfibios, la aplicación de agentes farmacológicos que bloquean la actividad interna de la retina quitan también PO en los mamíferos. Por ejemplo, la glicina, un neurotransmisor inhibidor que se localiza en la IPL, suprime selectivamente PO in vivo (rabbit) e in vitro (conejo, humano), y esta supresión es antagonizada por la estricnina. El GABA (así como la glicina) también elimina PO en el ERG fotópico de monos, como lo hace el PDA. Por otra parte, la eliminación genética del principal receptor de GABA en el IPL, el receptor GABAC, mejora los PO en GABAC (--/--) de ratones en comparación con ratones de tipo salvaje.

El papel de las células ganglionares de la retina en la generación de PO ha sido polémica. Bajo algunas condiciones de estímulo, los PO se mantienen normales en casos de atrofia antigua del nervio óptico y después de la sección del nervio óptico en el conejo, las condiciones que deberían resultar en la degeneración de las células ganglionares. Por otro lado, en estudios de Ogden, la sección del nervio óptico en primates resultó en la degeneración de las células ganglionares y la desaparición de los PO, y la estimulación antidrómica del nervio óptico primate resultó en una reducción en la amplitud de los OP. Además, en el ERG fotópico primate que se obtuvo mediante el uso de un paradigma multifocal de secuencia lenta, tanto la TTX como el glaucoma experimental eliminaron o redujeron los PO. Es posible en primates que los PO de alta frecuencia en condiciones totalmente fotópicas reflejen la actividad en los axones de células ganglionares y la manifestación de un componente de la cabeza del nervio óptico del ERG, mientras que en condiciones en las que las señales de bastón también están involucrados, la contribución de las células ganglionares es menos prominente.

#### ¿Qué mecanismos están involucrados en la generación de PO?

##### Circuitos de retroalimentación neuronal de interacción/inhibición

Se piensa que dos mecanismos están involucrados en la generación de PO: interacciones circuitos de retroalimentación/interacciones neuronales y las propiedades intrínsecas de membrana de las células. El caso para el mecanismo de retroalimentación inhibidor es apoyado por la participación de receptores de neurotransmisores para GABA y glicina, que son prominentes en los circuitos de retroalimentación de la retina interna. Las uniones comunicantes entre las neuronas de la retina interna también están involucrados. Cuando la Conexina 36, ​​que forma uniones comunicantes entre células amacrinas y células ganglionares de la retina interna, está noqueada, los PO están reducidos. Recientemente se ha propuesto un modelo de retroalimentación para dar cuenta de la actividad de alta frecuencia oscilatoria, o "rítmica", que se ha observado en registros de células ganglionares de mamíferos. Sobre la base de los patrones de acoplamiento de trazador en estudios anatómicos, Kenyon et al. propusieron un circuito que incluye retroalimentación negativa procedente de células amacrinas de axones transportadores que son excitados a través de las sinapsis eléctricas con las células ganglionares vecinas. Estos autores también permiten que las propiedades de la membrana de células amacrinas de campo amplio (spiking) podrían estar involucradas.

##### PO en las respuestas intracelulares de las neuronas

En registros intracelulares de la retina a partir de muchas especies diferentes, las oscilaciones de alta frecuencia raramente se han observado en las respuestas de las neuronas más distales: bastones, conos, células horizontales y células bipolares. Las oscilaciones oscuras se han descripto en bastones y células horizontales, pero estos son abolidos por el inicio de la iluminación. Un ligero "zumbido" a veces se observa en el pico de las respuestas ON de estas células, pero tenía sólo dos o tres ciclos a lo sumo, su duración era corta y su amplitud pequeña. Para una despolarización y una hiperpolarización de una célula bipolar en la retina de tortuga, Marchiafava y Torre mostraron una a dos oscilaciones en alrededor de 20 Hz.

Las oscilaciones en las respuestas registradas de forma intracelular de las células interplexiformes que están orientadas radialmente y retroalimentadas desde IPL a OPL se han reportado en sólo dos estudios. Hashimoto et al. mostraron una respuesta de una despolarización celular con tres a cuatro oscilaciones producidas en alrededor de 40 Hz en la retina de dace (pez pequeño). En la salamandra, R. F. Miller (comunicación personal) encontró las respuestas para ser mucho más lentas.

En contraste con los otros tipos de células, hay numerosas cuentas de oscilaciones en las respuestas de células amacrinas, en particular de los estudios en retina de tortugas y peces. Las oscilaciones de despolarización de las células amacrinas ON sostenidas fueron estudiadas intensivamente por el laboratorio de Naka (véase la figura 12.40). Las oscilaciones en estas células podrían contar más de diez, y ellos surgieron en una frecuencia de 30-50Hz, que es similar a la frecuencia de PO en el ERG de carpa (40 Hz). Las células amacrinas ON/OFF despolarizadas muestran oscilaciones en la misma frecuencia, pero su apariencia es menos fiable. Por último, las células amacrinas hiperpolarizadas no muestran oscilaciones en el inicio de la iluminación, pero pueden contribuir a los PO en el desplazamiento luminoso.

Recientemente, los estudios de células amacrinas de campo amplio aisladas de la retina blanca baja han proporcionado una fuerte evidencia de la implicación de los mecanismos intrínsecos de membrana en la generación de los PO de alta frecuencia. Las células amacrinas de campo amplio GABAérgicas simples fueron mostradas para generar potenciales de membrana oscilatorios (OMP) en respuesta a la despolarización extrínseca. Los OMP aumentaban en frecuencia a medida que la despolarización era aumentada, llegando a más de 100 Hz para una fuerte despolarización (véase la figura 12.41). El análisis del mecanismo de generación de los OMP en estas células aisladas indicó que las oscilaciones surgieron de "una compleja interacción entre las corrientes y voltajes de calcio dependientes de voltaje y corrientes de potasio dependientes de calcio". Estas oscilaciones pueden ser la fuente de las oscilaciones que han sido reportadas en algunas células ganglionares.

### Resumen

Hay consenso en que los PO de alta frecuencia se originan en la retina interna y la evidencia, principalmente de anfibios, que todos los PO de una misma serie no siempre surgen de las mismas células. El origen celular exacto y el mecanismo de generación pueden depender de la especie y las condiciones de estímulo. Hay evidencia de la implicación de los circuitos de retroalimentación, así como los mecanismos de membrana intrínsecas de las células amacrinas.

## Respuesta potencial extracelular retinal no evocada por luz

### Potenciales evocados por estimulación del nervio óptico

La contribución de las células ganglionares y de la retina interna al ERG ha sido explorada por la activación de las células a través de la estimulación eléctrica del nervio óptico. Ogden y Brown estimularon el nervio óptico en primates y encontraron un potencial retinal de campo con una amplitud máxima positiva en el IPL y una negatividad menor en la capa de células ganglionares. Esta respuesta, denominada *onda P*, también fue observada por Gouras en los primates, pero se encontró con un punto de inversión en el IPL y el mayor positividad en el INL. Un perfil de respuesta similar fue encontrado por Miller et al. en la salamandra.

El origen de la *onda P* intrarretiniana es incierto. Gouras sugirió que la *onda P* en el mono surge directamente de los picos de las células ganglionares antidrómicamente activadas. Otra posibilidad es que es el resultado de la activación de las neuronas de la retina interna a través de fibras eferentes en el nervio óptico, pero esto ocurriría sólo en las especies en las que la inervación eferente retinal haya sido demostrada claramente. Otros investigadores han sugerido un papel de las células de Müller para el amortiguamiento espacial de K+ liberado por células ganglionares o una actividad de las neuronas de la retina que son pos sinápticas a las células ganglionares. Pueden existir también otros mecanismos por los que la actividad en los axones de células ganglionares puede inducir respuestas en otras partes de la retina, tales como "arcos azules". Es posible que múltiples mecanismos contribuyan a la *onda P*, y el tamaño de la contribución de cualquier mecanismo particular puede depender de la especie y la metodología experimental. Hay también desacuerdo en cuanto a si la *onda P* puede ser registrada transretinalmente. Los primeros estudios en primates no pudieron encontrar tal contribución, pero una negatividad sustancial en el vítreo se observó en la salamandra. Teniendo en cuenta la reciente asociación de la PhNR y el STR con las células ganglionares en los primates, es posible que estos potenciales y la *onda P* tengan orígenes comunes.

### Propagación de la depresión

El fenómeno de propagación de la depresión (SD), descripta por primera vez por Leaõ en la corteza cerebral, se compone de una depresión de propagación lenta y transitoria de la actividad neuronal, y se asocia con una serie de eventos fisiológicos, incluyendo un potencial de campo local grande. Gouras describe la SD en las retinas de anfibios, y desde entonces se ha observado en las retinas de muchas especies, incluyendo mamíferos. La retina en la que SD ha sido más ampliamente estudiado es la retina de pollo (para una revisión, véase Martins-Ferreira et al.), en el que el fenómeno es pronunciado y señales ópticas intrínsecas prominentes acompañan a la SD.

El potencial del campo asociado con SD de retina tiene una amplitud máxima en la retina proximal, posiblemente en los membrana limitante interna. Dentro de la retina proximal, este potencial es de pendiente negativa, pero el potencial de SD registrado transretinalmente puede ser predominantemente negativo o positivo, dependiendo de la especie. La SD también está asociada con un gran aumento de [K+]o en el IPL, y no hay evidencia para sugerir que los potenciales SD están relacionados con el almacenamiento en búfer espacial de este aumento de [K+]o por células gliales. La propagación de SD también depende del acoplamiento intercelular a través de uniones gap; las ondas SD en retina de pollo fueron bloqueadas por los inhibidores comunes de las uniones gap en la retina.

La frecuencia de ocurrencia de SD de la retina se puede aumentar por una lesión en una región de la retina, la estimulación mecánica de la retina, la anoxia, la aplicación de altas concentraciones de iones K+ o bajas concentraciones de iones Cl-, la aplicación de los aminoácidos excitadores glutamato o aspartato, compensación luminosa y la estimulación antidrómica del nervio óptico.

Debido al gran número de condiciones patológicas que facilitan o inician SDs, parece razonable suponer que la SD estará a veces asociada con trastornos del ojo o de la retina en los seres humanos. Dos dificultades para observar las SDs en los seres humanos son que (1) la SD de la retina puede ser un evento transitorio, por lo que el clínico debe ser registrado en un ERG o mirando en el ojo por el cambio de color de la retina asociada con la SD en el momento adecuado y (2) no es seguro si una SD de la retina local podría ser detectada por el electrorretinograma no invasivo.

En el cerebro, existe evidencia de que la SD está implicada en la migraña y otros trastornos neurológicos, y puede ocurrir en conjunción con cirugía estereotáctica. Somjen y Aitkin han sugerido que la SD se considera un tipo transitorio y propagada de la depresión cortical que se inicia en un punto, mientras que otro tipo de depresión es difusa y no propagada. El último tipo incluiría posiblemente depresiones que surgen durante la hipoxia cerebral transitoria (por asfixia o para indicar insuficiencia de circulación cerebral) y durante las conmociones cerebrales. Los eventos relacionados con cualquiera de las categorías de depresiones corticales (propagada y difusa) también podrían ocurrir en la retina.

###### RECONOCIMIENTO

Agradezco a Chester Karwoski, Ed Griff, y Eric Newman para la primera edición de este capítulo, que forma la base de la actual, y para John G. Robson útil para los debates y sugerencias.

# Adquisición de Datos

## Introducción a los ISCEV Standards (*VER ULTIMAS CONSIDERACIONES EN LA PAGINA DE ISCEV*)

Los clínicos electrofisiólogos deben ser conscientes de que existen normas o directrices internacionales para la mayor respuesta clínica electrofisiológica. Estas normas, establecidas y sancionadas por la Sociedad Internacional de Electrofisiología Clínica de la Visión (ISCEV), describen un conjunto de estímulos básicos que dan lugar a respuestas estándar que deben ser registrados cuando se realizan clínicamente pruebas electrofisiológicas. Otras respuestas o protocolos se pueden añadir libremente a discreción del examinador, pero las respuestas estándar siempre deben ser incluidas. Esto asegura que las pruebas electrofisiológicas siempre producirán un núcleo de datos que son reconocibles y comparables en todas partes, ya sea con fines clínicos o de investigación. Este programa de normalización ha tenido un gran éxito. La mayoría de las publicaciones sobre la electrofisiología clínica en los últimos años muestra o hace referencia a las respuestas generales, y los principales fabricantes de equipos electrorretinográficos clínicos han incorporado las normas en sus protocolos de estímulo. También hay un conjunto de directrices útiles de calibración, que dan consejos sobre la evaluación y calibración de equipos para pruebas electrofisiológicas.

Las pruebas electrofisiológicas clínicas se volvieron prácticas en el medio del siglo XX, pero una amplia variedad de procedimientos fueron utilizados por diferentes laboratorios para obtener respuestas. Parte de esta variabilidad relacionada con cambios en la tecnología, como amplificadores y equipos de grabación mejorado con la llegada de los transistores y los ordenadores posteriores. Por los años 1970 y 1980, se establecieron los procedimientos para las principales pruebas electrofisiológicas (ERG, EOG, VEP), pero la lectura de la literatura electrofisiológica clínica seguía siendo un reto importante debido a que las pruebas se realizaron bajo condiciones muy diferentes. El ERG, por ejemplo, fue registrado en diferentes unidades después de diferentes períodos de adaptación a la oscuridad, con diferentes tipos de lentes, con diferentes ajustes de filtración eléctrica, con diferentes intensidades y duraciones de destellos de luz, y con diferentes colores de luz. Comparar los datos entre los informes de investigación o clínicos era muy difícil, y esto impidió tanto la atención clínica y la interpretación de la investigación clínica.

La ISCEV había reconocido la necesidad de la normalización en su fundación en 1961, pero discusiones serias de normalización no tuvieron lugar hasta 1987, cuando la Fundación Nacional de la Retinitis Pigmentosa (ahora llamada Fundación de Lucha contra la Ceguera) se unió con ISCEV para formar un comité internacional que recopiló puntos de vista y prácticas de todo el mundo y escribió el primer estándar, para electrofisiología clínica (ERG), en 1989.

Una vez publicada, la norma ERG tuvo un impacto inmediato. En pocos años, la mayoría de los papers de electrofisiología clínica incorporaron las pruebas del estándar ERG o describieron las variaciones en la técnica en relación con las normas ISCEV. Los datos de los diferentes pacientes y de los procedimientos de todo el mundo se convirtieron inmediatamente comprensibles y comparables. Este éxito inspiró a la ISCEV para desarrollar normas para el EOG y VEP y luego a escribir directrices para los procedimientos más nuevos, el patrón ERG (PERG) y multifocal ERG (mfERG). Debido a que todas las normas se basan en una calibración precisa de los estímulos de luz y del aparato de control, ISCEV formuló un conjunto de directrices de calibración para resumir las mejores técnicas disponibles.

Es importante reconocer tanto el poder y la limitación de estas normas ISCEV. Las normas proporcionan un núcleo básico de pruebas que se pueden realizar con la instrumentación de fácil acceso y que son relevantes para las indicaciones clínicas más comunes para cada prueba. Sin embargo, las normas no pueden cubrir todas las posibles situaciones clínicas, todas las variantes del procedimiento de prueba, o todas las opciones dentro de la tecnología de las pruebas. La introducción a cada una de las normas o directrices reconoce que hay muchas otras pruebas, o pruebas más especializadas, que podrían llevarse a cabo, y de hecho que deberían realizarse en determinadas situaciones clínicas. Las respuestas de normalización deben obtenerse como parte de prácticamente todas las sesiones de pruebas electrofisiológicas, pero no para la exclusión de otros procedimientos que los médicos o laboratorios individuales pueden optar por hacer, ya sea de forma rutinaria o como un complemento para pacientes específicos. Por otra parte, la existencia de normas no debe obstaculizar la innovación con respecto al desarrollo de nuevos procedimientos que pueden llegar a convertirse en normas.

El estándar ERG fue el primero en ser escrito, y define cinco formas de *onda b*ásicas: respuesta de bastón adaptada a la oscuridad, máxima respuesta adaptada a la oscuridad, la respuesta oscilatoria, respuesta de los conos adaptados a la luz, y la respuesta parpadeante de conos. Estos sirven para separar las funciones de bastón y cono, para documentar interior contra la función de la retina externa, y para permitir la evaluación de la sincronización de forma de onda. El estándar ERG sólo utiliza los estímulos de luz blanca, aunque algunos laboratorios utilizan estímulos de colores también. Los procedimientos adicionales de ERG, tales como seguir las respuestas durante la adaptación a la oscuridad o las respuestas de registro para destellos de alta intensidad para mostrar la actividad de los fotorreceptores con mayor exactitud, no se incluyen en la actualidad y queda a discreción de los laboratorios individuales. En la práctica clínica, las cinco respuestas estándar se satisfarán para responder más preguntas diagnósticas, pero serán enmendadas como muestra la investigación que las respuestas adicionales o modificadas son clínicamente importantes.

El estándar EOG muestra la técnica básica para registrar el potencial permanente a través de la RPE indirectamente, como los cambios de voltaje entre los electrodos de párpado cuando el ojo mira alternativamente a la izquierda y a la derecha. La respuesta de EOG, o respuesta a la luz, representa el aumento en este voltaje a la luz relativa a la oscuridad. Debido a que ha habido dos formas establecidas de ajustar una línea de base oscura, el estándar permite ya sea para el registro de un canal oscuro (después de la iluminación de la habitación) o para la adaptación a la oscuridad a través de una duración temporal para un nivel de línea de base estable.

El establecimiento de un estándar VEP efectivo ha sido un reto debido a la amplia variedad de condiciones de registro clínico que son utilizadas por diferentes laboratorios para diferentes cuestiones clínicas. Debido a que es poco práctico para una norma tener demasiadas variaciones, ISCEV se instaló en una configuración básica de electrodos en el cuero cabelludo (inion central) y tres configuraciones de estímulos comunes (flash, patrón alternado, patrones ON/OFF). En función de las indicaciones clínicas, al menos una de estas respuestas estándar debe ser incluida como una parte de cada examen VEP, aunque también se utilizan otras localizaciones de los electrodos u otros estímulos.

A medida que el PERG fue desarrollado y su uso aumentó, ISCEV eligió publicar un conjunto de directrices que representaban las buenas prácticas establecidas por los laboratorios. Después de varios años de experiencia, las expectativas clínicas fueron suficientemente codificadas que las normas podrían ser escritas. En este mismo espíritu, las directrices han sido preparadas para el mfERG, que es un procedimiento aún más reciente que está ganando aceptación rápidamente y está demostrando tener muchas aplicaciones en oftalmología clínica. Estas directrices proporcionan información sobre cómo registrar un mfERG básico de buena calidad y evitar artefactos. Reflejan los procedimientos que son seguidos por muchos de los principales laboratorios de todo el mundo, aunque todavía es demasiado pronto para establecer normas vinculantes.

Las directrices de calibración que ha preparado ISCEV están destinadas a ayudar a los electrofisiólogos en los aspectos prácticos de la normalización de estímulo y equipos de registro. Estas incluyen recomendaciones sobre cómo medir la luminancia del estímulo, comprobar electrodos, calibrar los amplificadores, y así sucesivamente. Dichos procedimientos son necesarios para todos los tipos de registros electrofisiológicos, ya que una pantalla de respuestas estándar tiene poco significado a menos que las condiciones de estímulo y de registro fueran realmente lo que estaban destinadas a ser.

## El estándar EOG (*VER EN PAGINA ULTIMA ACTUALIZACION*)

Normas de metodología y presentación de informes en electrofisiología clínica son importantes para que las medidas clínicas de la función visual se puedan obtener con precisión, y se comparen con precisión, en cualquier parte del mundo. En 1989 la ISCEV desarrolló un Estándar Internacional para el Electrorretinograma (ERG) (revisada en 1994) y sobre la década siguiente, normas o directrices se publicaron para electrooculograma (EOG), electrorretinograma patrón (PERG), potencial evocado de corteza visual (VECP) y la calibración de equipamiento electrofisiológico. Estas normas y directrices muestran cómo llevar a cabo los procedimientos básicos fundamentales para cada tipo de investigación electrofisiológica, de una manera que dará resultados reproducibles y reconocibles en cualquier lugar. Sin embargo, los laboratorios individuales pueden optar por complementar las respuestas estándar con procedimientos especializados adicionales, o modificar un protocolo para satisfacer las necesidades especiales de un paciente en particular.

El EOG es una prueba ampliamente utilizada que mide la respuesta a la luz del epitelio pigmentario de la retina (RPE), un cambio lento en la tensión de la membrana basal RPE. Esta señal requiere recepción de luz por la retina, y está mediada por un mensajero químico que probablemente proviene de los fotorreceptores. El EOG requiere integridad de las membranas del RPE, pero no es una prueba pura de la función del RPE dado que se requiere fotorrecepción retinal y dado que la respuesta a la luz no se sabe que se correlaciona con cualquier RPE específico o función de la retina (incluido el transporte de agua RPE, la regeneración pigmento visual y la visión). El EOG es más específico como marcador para la distrofia viteliforme de Best, una distrofia macular de herencia dominante, donde se ha encontrado una severa respuesta a la depresión luminosa más consistente con la anormalidad genética que con lesiones en el fondo de ojo. El valor medido del EOG (la relación de amplitud de pico lumínico ya sea a través de la oscuridad o la amplitud de la línea de base oscura) puede variar según las condiciones de luz y oscuridad, y el estándar EOG define una gama de condiciones de estímulo que hará los resultados lo más consistentes posible. Debido a que las características esenciales de una respuesta EOG pueden ser obtenidas de diversas maneras, el estándar permite el uso de cualquiera de las pupilas dilatadas o no dilatadas, y la medición o del canal oscuro o de la línea de base oscura. Cada laboratorio debe elegir una de estas metodologías y establecer un conjunto de valores normales bajo sus propias condiciones de registro.

Los estándares para las pruebas electrofisiológicas ISCEV han tenido un gran éxito en la mejora de la calidad y la comparabilidad de la información de datos en la literatura clínica y el EOG no es una excepción. Sin embargo, todos estos estándares están sujetos a revisión cada cuatro años para asegurar que están clínicamente actualizadas y relevantes. Una cuidadosa revisión del estándar EOG fue realizado por ISCEV en 1996-7, pero no se recomienda ningún cambio, y el estándar fue aprobado de nuevo en la reunión de ISCEV en Asilomar, California, el 24 de julio de 1997.

Por lo tanto, el estándar EOG ISCEV para Electrooculografía clínica permanece activo tal como está escrito por otros cuatro años.

## Estándar para Electrorretinografía Clínica (*2003, REVISAR CONDICIÓN ACTUAL*)

### Introducción

El electrorretinograma de campo completo (ERG) es un examen electrofisiológico ocular ampliamente utilizado. En 1989 se estandarizó un protocolo básico para que los ERG se puedan registrar comparativamente en todo el mundo. Esta norma se actualizó por última vez en 1999 (*CORREGIR AÑO*). Fueron presentados cinco estándares de ERGs obtenidos comúnmente:

1. ERG a un destello débil (que surge de los bastones) en el ojo adaptado a la oscuridad.
2. ERG a un destello fuerte en el ojo adaptado a la oscuridad.
3. Los potenciales oscilatorios.
4. ERG a un destello fuerte (que surge de los conos) en el ojo adaptado a la luz.
5. Los ERG a un estímulo repetido rápidamente (parpadeo).

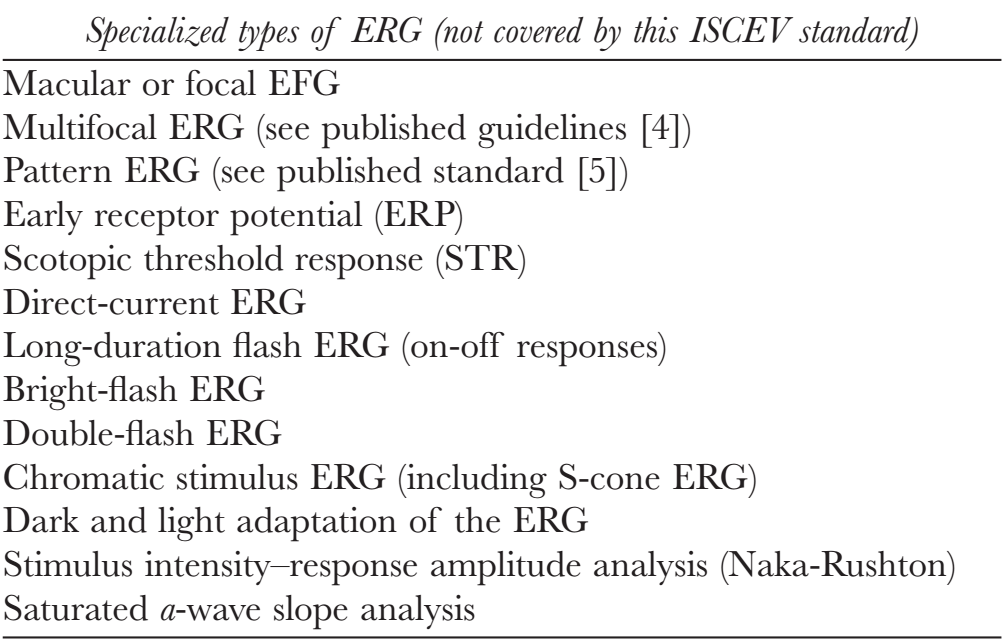
Este documento es una versión actualizada del estándar. No hay grandes cambios en los ERG básicos, pero los lectores deben tener en cuenta el rango de intensidad del "flash estándar (SF)" que había sido impreso de manera diferente en la versión de 1999. También se sugiere a los usuarios un ERG adicional adaptado a la oscuridad para un estímulo de mayor intensidad, ya que ahora está siendo utilizado ampliamente y tiene valor diagnóstico. Sin embargo, aún no se ha caracterizado suficientemente para ser considerado una parte requerida del estándar. Debido a que el estímulo para este ERG adicional es más brillante que el SF, ya no usamos el término "máximo" para el ERG adaptado a la oscuridad a una SF.

Esta norma pretende ser una guía para practicar y asistir en la interpretación de los ERG. Los cinco ERG básicos representan el mínimo de lo que una evaluación de ERG debe incluir. El estándar describe los procedimientos técnicos simples que permiten a los ERG reproducibles ser registrados bajo algunas condiciones definidas, a partir de pacientes de todas las edades (incluyendo niños). Diferentes procedimientos pueden proporcionar ERG equivalentes. Es responsabilidad de los usuarios de técnicas alternativas demostrar que sus procedimientos, de hecho, producen señales que son equivalentes en *forma de onda b*ásica, la *amplitud* y la *importancia fisiológica* del estándar.

Lo que se busca es que el método estándar y ERG estándar se utilicen ampliamente, pero no a la exclusión de otros ERG o pruebas adicionales que los laboratorios individuales pueden elegir o seguir utilizando. También hay tipos especializados de ERG, que pueden proporcionar información adicional sobre la función retiniana (ver tabla 2.3.1), que no están cubiertos por este estándar. Además han sido publicadas por la ISCEV otras directrices para la calibración de los equipos electrofisiológicos, directrices para la grabación del ERG multifocal, y las normas para la ERG patrón, electrooculograma y potenciales evocados visuales.

Debido al rápido ritmo de cambio de las técnicas de ERG, este estándar se revisa cada cuatro años. Las recomendaciones encontradas en la bibliografía (*REFERENCIA AL APARTADO DE ESTANDAR ERG EN EL LIBRO*), apuntan a que un equipo de registro comercial debe tener la capacidad de registrar los ERG en condiciones que están fuera del estándar actual (*REVISAR EL ESTÁNDAR ACTUAL A VER SI ES ASI O NO*) pero que sin embargo son ampliamente utilizados o pueden ser necesarios en el futuro. La descripción del estándar actual y recomendado, se desglosará de la siguiente forma:

* Tecnología básica
* Difusión de la luz
* Electrodos
* Fuentes de luz
* Ajuste de luz y calibración
* Aparatos electrónicos de control
* Protocolo clínico
* Preparación del paciente
* ERG específicos
* ERG de bastón
* ERG estándar combinado
* Potencial oscilatorio
* ERG de cono con flash simple
* ERG con parpadeo 30Hz
* ERG medición y presentación de informes
* Registro de ERG pediátrico



*Tabla 2.3.1.* Tipos especializados de ERG

### Tecnología básica

#### Difusión de la luz

Debe ser utilizada la estimulación de campo completo (Ganzfeld). Con destellos locales, el área de la iluminación de la retina no es uniforme, y su extensión es desconocida (aunque destellos focales pueden ser utilizados para ciertas pruebas de ERG especializadas). Los estimuladores de cúpula de campo completo son generalmente preferibles para los difusores oculares (por ejemplo, 100 dioptrías o lentes de contacto opalescentes) ya que es difícil con este último para medir el grado y la intensidad de la iluminación de la retina. Es responsabilidad de los fabricantes y usuarios de lentes difusoras para verificar la verdadera estimulación de campo completo de la fuerza determinable.

#### Electrodos

##### Electrodos de registro

Los electrodos que están en contacto con la córnea o la conjuntiva bulbar inmediata son muy recomendables para el registro básico de campo completo. Estos incluyen electrodos lentes de contacto, fibras y láminas conductoras, electrodos de bucle conjuntivales y mechas corneales. Para la mayoría de los usuarios, los electrodos de lentes de contacto proporcionarán la mayor amplitud y registros más estables; tales electrodos deben ser transparentes en el centro con una abertura óptica lo más grande posible, e incorporar un dispositivo para sostener los párpados separados. La superficie de la córnea debe ser protegida durante el uso con una solución no irritante y no alergénico conductiva iónica que es relativamente no viscosa (por ejemplo, no más viscoso que el 0,5% de celulosa de metilo). Las soluciones más viscosas pueden atenuar la amplitud de la señal. Otros tipos de electrodos corneales y conjuntivales requieren más habilidad de uso pero pueden tener ciertas ventajas. Los usuarios deben ser conscientes de que la amplitud de la señal se reduce a medida que el punto de contacto ocular se aleja desde el vértice de la córnea. La anestesia tópica (*AGREGAR REFERENCIA AL TIPO DE ANESTESIA Y ALGÚN EJEMPLO*) es necesaria para los electrodos de lentes de contacto, pero puede no ser necesario para otros tipos de electrodos corneales y conjuntivales. A su vez, es indispensable conocer y dominar los requisitos técnicos del electrodo elegido, para asegurar un buen contacto ocular, impedancia de electrodo adecuada, formas de onda comparables a los ERG estándar, y para definir tanto los valores normales y la variabilidad (que puede ser diferente con diferentes electrodos) para cada sitio en el cual se utilice el equipo. Los electrodos de piel no se recomiendan generalmente como electrodos de registro activos.

##### Electrodos de referencia

Los electrodos de referencia se pueden incorporar en el conjunto lente de contacto-espéculo para hacer contacto con la conjuntiva (“electrodos bipolares"). Esta es la configuración más estable eléctricamente. Alternativamente, los electrodos se pueden colocar cerca de cada borde orbital temporalmente como una referencia para el ojo correspondiente. La frente también se ha utilizado como un sitio para el electrodo de referencia, aunque existe un riesgo teórico de contaminación de la señal por efecto ocular cruzado o por potenciales corticales evocados.

##### Electrodos de tierra

Un electrodo de piel separado debe estar unido a un punto indiferente y conectado a tierra. Las ubicaciones típicas son en la frente o el oído.

##### Características de los electrodos de referencia de piel

La piel debe ser preparada por limpieza y utilizar una pasta o gel conductor adecuado para asegurar una buena conexión eléctrica. Los electrodos de piel utilizados como referencia o tierra deben tener una impedancia de 5 kΩ o menos medida entre 10 y 100Hz. Si se utiliza más de un electrodo de la piel (por ejemplo, para la referencia y tierra) todos ellos deben tener una impedancia similar.

##### Estabilidad del electrodo

El voltaje de la línea de base en la ausencia de estimulación de la luz debe ser estable, cualquiera sea el sistema de electrodo de referencia y corneal que se use. Puede ser necesario que algunos sistemas de electrodos de referencia sean hechos de material no polarizable para lograr dicha estabilidad.

##### Limpieza del electrodo

El registro del ERG consiste en la exposición de electrodos corneales a las lágrimas y la exposición de los electrodos de piel a la sangre si no ha habido ninguna abrasión de la superficie de la piel. Se aconseja que los electrodos (si no son desechable) sean adecuadamente limpiados y esterilizados después de cada uso para evitar la transmisión de agentes infecciosos. El protocolo de limpieza debe seguir las recomendaciones del fabricante y las normas nacionales vigentes para los dispositivos que entran en contacto con la piel y las lágrimas.

#### Fuentes lumínicas

##### Duración del estímulo

El estándar se basa en estímulos de duración considerablemente más cortos que el tiempo de integración de cualquier fotorreceptor. Por lo tanto, el estímulo de luz debe consistir de destellos que tienen una duración máxima de alrededor de 5 ms.

##### Longitud de onda estímulo

La mayoría de los estímulos en el uso de flash tienen una temperatura de color cerca de 7000 °K, y se deben usar con domos o difusores que son visiblemente blancos. Los filtros de color se pueden utilizar para mejorar la separación de los ERG de conos y ERG de bastones, pero esto no es parte del estándar [Nota 1].

##### La fuerza de estímulo de flash estándar

*Un flash estándar (SF)* se define como un estímulo cuya fuerza (en energía luminosa por metro cuadrado) en la superficie de un estimulador Ganzfeld es de 1,5-3,0 cd·s·m-2 (candelas-segundo por metro cuadrado) [Nota 2]. Esto es equivalente a la luminancia·tiempo, medido como cd·m-2·s. Se debe tener en cuenta que estas son unidades fotométricas y que 3,43 cd·m-2 = 1fL (pie-Lambert).

##### Iluminación de fondo

Además de producir destellos, el estimulador debe ser capaz de producir una luminancia constante y uniforme de fondo de 17-34 cd·m-2 (5 a 10 fL) a través del campo completo. Para este estándar se utiliza un fondo blanco, aunque también pueden ser utilizados fondos de color para propósitos especiales.

#### Calibración y ajuste de luz

##### Ajuste de la intensidad del estímulo y del fondo

Se deben proporcionar métodos para modificar tanto la intensidad del estímulo y del fondo. Se recomienda que un sistema de registro sea capaz de atenuar la fuerza del flash del SF en un intervalo de al menos 3 log (unidades), de forma continua o en pasos de no más de 0,3 log. El método de atenuación no debe cambiar la composición de la longitud de onda ya sea del flash o de la luminancia de fondo. Esto concluye en que los requisitos de estímulo y fondo para una amplia gama de otras pruebas ERG serán más extensos y más rigurosos, tratando de mantener siempre el mínimo estándar [Nota 3].

##### Calibración del estímulo y del fondo

La fuerza del estímulo (en luminancia·tiempo) producida por cada destello dentro de la cavidad de estímulo de campo completo debe ser documentada por el usuario o fabricante, a ser posible con un fotómetro de integración (medidor de luminancia) que se coloca en el lugar del ojo. La salida de luz por destello de la mayoría de los estroboscopios varía con la frecuencia de repetición del destello; por lo tanto, para los estímulos individuales y repetitivos tendrán que hacerse calibraciones separadas. El fotómetro también debe registrar la luminancia de fondo de la superficie de la cavidad del estímulo, en un modo no-integración. El fotómetro debe cumplir con las normas internacionales para las mediciones fotométricas en base a la función de eficiencia luminosa fotópica (curva de luminosidad fotópica), y debe ser capaz de registrar la salida total de destellos muy breves. Los usuarios deben consultar las directrices ISCEV para la calibración de los equipos electrofisiológicos para un tratamiento más detallado de los procedimientos de calibración. Es recomendable entonces que los fabricantes de estimuladores suministren un fotómetro adecuado con sus equipos.

##### Recalibración

(*Ver las directrices ISCEV para la calibración*) La salida de luz de la cúpula varía con el tiempo de los cambios en el tubo de flash, la fuente de alimentación del tubo, la tensión de línea, las bombillas de luz de fondo, los sistemas de atenuación o la pintura en la cúpula. Esto puede ser especialmente crítico para la iluminación de fondo proporcionada por las fuentes incandescentes. La responsabilidad de la estabilidad electrónica y advertencias sobre las fuentes de inestabilidad debe recaer en los fabricantes de los equipos; sin embargo, en la actualidad esto no puede presumirse. Un transformador estabilizador reducirá al mínimo las variaciones de voltaje de línea si son un problema. La frecuencia con la que se requiere una recalibración de destellos y fondos variará de un sistema a otro, y podría ser tan alta como semanal para algunas unidades. Se recomienda el uso de unidades de calibración automáticas.

#### Equipo de grabación de electrodos

##### Amplificación

Se recomienda que el pasabanda del amplificador y preamplificadores incluya al menos el rango de 0,3 a 300 Hz y sea ajustable para registro de potenciales oscilatorios y requisitos especiales. Además, se recomienda que la impedancia de entrada de los preamplificadores de ser al menos de 10 MΩ. Los amplificadores deben ser generalmente de CA (corriente alterna) acoplada (es decir, acoplamiento capacitivo) y capaz de manejar los potenciales de compensación que pueden ser producidos por los electrodos [Nota 4].

##### Aislamiento del paciente

Se recomienda que el paciente este aislado eléctricamente de acuerdo con las normas vigentes en materia de seguridad de los sistemas de registro biológicos clínicos en el país del usuario.

##### Visualización de los datos y de promedio

Es muy recomendable que el equipo que proporciona el registro final sea capaz de representar, sin atenuación, la banda pasante del amplificador completo. Una buena resolución se puede lograr con los osciloscopios o sistemas asistidos por computadora (digitalización), pero no con dispositivos de almacenamiento móviles directos. Para evitar una pérdida de información, los digitalizadores deben muestrear el ERG a una velocidad de 1 kHz o superior por canal. Con los sistemas asistidos por computadora, es importante que las formas de onda del ERG se muestren inmediatamente de modo que el operador pueda supervisar continuamente la estabilidad y hacer ajustes durante el procedimiento de prueba. Las unidades de registro que digitalizan las señales ERG pueden promediarlas usualmente, las cuales pueden a veces ser útiles.

### Protocolo clínico

#### Preparación del paciente

##### Dilatación de la pupila

Es recomendable que los alumnos se dilatan al máximo para todas las grabaciones ERG en esta norma y que tamaño de la pupila ser observadas.

##### Adaptación previa a la luz o la oscuridad

Las condiciones de grabación se describen a continuación especifican 20 minutos de adaptación a la oscuridad antes de la grabación de la barra ERG, y 10 minutos de adaptación a la luz antes de grabar cono ERG. La elección de si para empezar escotópica o condiciones fotópicas es de hasta el usuario, siempre y cuando se cumplan estos requisitos de adaptación. Si se usan electrodos de lentes de contacto, el tiempo de uso puede ser minimizado mediante la adaptación oscura primero, y la inserción de los electrodos bajo luz roja tenue al final del período de adaptación. Sin embargo, se debe tener cuidado para evitar demasiado brillante una luz roja, y un 5 minutos adicionales de adaptación a la oscuridad puede ser necesaria para la recuperación después de la inserción de la lente.

##### Pre-exposición a la luz

Aconsejamos que la angiografía con fluoresceína o la fotografía del fondo evitarse antes de la prueba ERG, pero si se han realizado estos exámenes, es necesario un período de adaptación a la oscuridad de por lo menos una hora. Por lo general es preferible registrar los ERG escotópica a débiles destellos antes de que los mixtos y cono ERG a más intensos destellos, para minimizar la adaptación a la luz, y para reducir el tiempo que el paciente lleva un electrodo.

##### Fijación

Un punto de fijación debe ser incorporado en las cúpulas de estímulo. Un ojo estable es importante por lo que los movimientos oculares no alteran la posición del electrodo corneal óptimo, producen artefactos eléctricos, o permitir el bloqueo de la luz por el electrodo o el párpado. Los pacientes que no pueden ver un blanco de fijación pueden ser instruidos para mirar hacia adelante y mantener sus ojos fijos. Los pacientes deben ser monitorizados para evaluar el cumplimiento, y representan dificultades en la apertura de los ojos o la fijación.

### ERG específicos

#### ERG de bastones

Se recomienda que el paciente se adapte a la oscuridad durante al menos 20 minutos antes de registrar el ERG del sistema de bastones (y más si el paciente había estado expuesto a la luz inusualmente brillante). El ERG de bastones debe ser la primera señal de medida después de adaptación a la oscuridad, ya que es el más sensible a la adaptación a la luz. El estímulo recomendado es un destello blanco tenue de fuerza 2.5 unidades log por debajo del SF blanco (véase más arriba); se recomienda un intervalo mínimo de 2 segundos entre los parpadeos. Un estímulo azul es igualmente apropiado si se equipara con el estándar blanco [Nota 1].

#### ERG estándar combinado

El estándar ERG de los sistemas de conos y bastones combinados se produce por el SF blanco en el ojo adaptado a la oscuridad. Se recomienda en este caso, un intervalo de al menos 10 segundos entre los estímulos. Este ERG se produce normalmente por una combinación de sistemas de conos y bastones.

#### ERG de mayor intensidad (sólo sugerido)

Desde la publicación de la última versión del estándar ERG, los orígenes de los componentes del ERG se entienden mejor. Se ha hecho evidente que sólo los primeros 10-20 mSeg de la *onda a* reflejan la actividad de los fotorreceptores. Varios laboratorios han encontrado que la *onda a* en la adaptación a la oscuridad se muestra más claramente con el uso de un estímulo más brillante que el SF (aproximadamente 10 cd·s/m2). La medición tanto de la amplitud de la *onda a* como del tiempo implícito es más sencillo ya que no es generalmente un solo pico muy bien definido. No existe aún la suficiente experiencia o universalidad de uso para ordenar este ERG como una parte necesaria del estándar ERG, pero los usuarios deben ser conscientes de su creciente aceptación y valor, y considerar adicionarlo a sus protocolos después del estándar del ERG combinado. Se recomienda un intervalo de 20 segundos entre destellos de esta intensidad.

#### Potenciales oscilatorios

Los potenciales oscilatorios se obtienen generalmente de ojo adaptado a la oscuridad, usando el mismo blanco SF. También se pueden registrar desde el ojo adaptado a la luz. El filtro pasa alto debe ser reseteado a 75/100 Hz, de modo que un pasa banda global de 75 a 100 Hz en el extremo inferior y 300 Hz o superior al que se alcanza el extremo superior. Los filtros deben atenuar lo suficiente para lograr este resultado. Los usuarios deben ser conscientes de que hay varios tipos de filtros electrónicos y digitales, que pueden tener diferentes efectos sobre las señales fisiológicas (por ejemplo, cambios de fase o de timbre). Más información sobre la selección y el uso del filtro se presenta en las directrices ISCEV para la calibración.

Los potenciales oscilatorios varían con la tasa de repetición del estímulo y el cambio después del primer estímulo. Para estandarizar los potenciales oscilatorios, se recomienda que los estímulos blancos SF se den 15 segundos aparte de los ojos adaptados a la oscuridad (1,5 segundos aparte de los ojos adaptados a la luz), y que se sólo las segundas o posteriores formas de onda son conservadas o promediadas. Deben informarse las condiciones de adaptación.

#### ERG de cono por flash simple

Se propone el SF blanco como el estímulo, y se recomienda que para lograr los ERG del sistema de cono estable y reproducible, los bastones son suprimidos por un fondo con una luminancia de 17 a 34 cd·m-2 (5 a 10 fL) medida en la superficie del estimulador de campo completo. Se recomienda que el valor más alto del fondo sea elegido si el estímulo flash está en el extremo más superior del rango de SF admisible y el valor más bajo del fondo escogido si el estímulo flash está en el extremo más inferior del rango. Se recomienda que los pacientes adaptados a la luz para la luminancia de fondo por al menos 10 minutos antes de registrar el ERG de cono, ya que los ERG de conos pueden aumentar durante este período. Los estímulos no deben repetirse en intervalos menores de 0,5 segundos. Tener en cuenta que el término "ERG de cono por flash simple" se utiliza para distinguir esta señal de los ERG por parpadeo; esto no imposibilita promediar (si es necesario) para mejorar la relación señal-ruido.

#### ERGs por parpadeo de 30 Hz

Los ERG por parpadeo también representan el sistema de conos, y se obtienen aplicando estímulos SF, en las mismas condiciones de adaptación a la luz como el ERG de cono por flash simple. El registro del ERG por parpadeo en el estado de adaptación a la luz reduce la incomodidad y permite a la adaptación fotópica normalizarse. Es muy recomendable que los flashes se presenten a una velocidad de aproximadamente 30 estímulos por segundo, y la tasa que se elija debe ser constante para el laboratorio. El primer ERG para el estímulo parpadeante será una forma de onda de estímulo flash; por lo tanto, las primeras pocas formas de onda deben desecharse de manera que se alcancen las condiciones estables. Algunos tubos de flash no producen salida completa mientras parpadean, y la calibración separada o un cambio en la filtración de densidad neutra puede ser necesaria para mantener lo más cerca posible al estándar.

#### Mediciones y registro del ERG

##### La medición del ERG

En general, la amplitud de la *onda b* y el tiempo de pico (tiempo implícito) deben medirse para todos los ERG (excepto potenciales oscilatorios), y la *onda a* también debe medirse cuando es reconocible como un componente distinto. De acuerdo con la convención actual, la amplitud de la *onda a* se mide desde la línea de base al canal de *onda a*, la amplitud de la *onda b* se mide desde el canal de *onda a* al pico de *onda b*, y el tiempo de pico de la *onda b* es medido desde el momento del flash hasta el pico de la onda (véase la figura 20.3.1).

##### Potenciales oscilatorios

Existe un considerable debate en la literatura acerca de cómo medir y describir los potenciales oscilatorios [Nota 5]. Su apariencia es altamente dependiente de las condiciones de estímulo, la adaptación y las características del filtro amplificador, pero la mayoría de los autores describen tres picos principales a menudo seguidos por un cuarto más pequeño. Simplemente observar la presencia de estos picos, y su relativa normalidad a los estándares de laboratorio, puede ser adecuado para muchos propósitos clínicos actualmente.

##### Promediado

El promediado no es normalmente requerido para registrar los ERG cuantificables con los tipos recomendados de electrodos. Con un promedio de un número limitado de ERG puede disminuir la variabilidad y ayudar a reducir el ruido de fondo si está presente. El promediado también se puede usar para identificar y medir los ERG patológicos muy débiles. El rechazo de artefactos debe ser una parte de cualquier sistema de promediación. Las tasas de repetición de señal no deben exceder las recomendaciones del estándar para cada tipo de ERG.

##### Valores normales

Es recomendable que cada laboratorio establezca o confirme los valores normales para su propio equipamiento y población de pacientes prestando atención a un tamaño de muestra adecuado. Todos los informes ERG (ya sea por los registros locales, publicación, o incluso para los ERG no estándar) deben incluir los valores normales y los *límites de la normalidad*. Algunos fabricantes distribuyen sus normas para protocolos estándar, y varias series que dan datos normativos han sido publicadas recientemente. Sin embargo, las normas para la amplitud ERG pueden tener que ser escaladas arriba o hacia abajo dependiendo en donde descansa el electrodo del usuario, si en la córnea o la conjuntiva. Se debe tener en cuenta además que los parámetros ERG cambian rápidamente durante la infancia y modestamente con la edad a partir de entonces. Debido a que algunos parámetros ERG (tales como la amplitud de la *onda b*) no están necesariamente distribuidos en forma normal, los cálculos de desviación estándar pueden ser engañosos. Para describir los límites de la normalidad, se recomienda listar el valor de la mediana (no la media), y los valores reales de cada lado de la mediana que enmarquen 95% de los ERG normales (en otras palabras, los límites de confianza del 95% determinadas por directa tabulación de los ERG). A pesar de que las variaciones circadianas del ERG parecen ser pequeñas en condiciones ordinarias de registro, se recomienda que el tiempo de registro del ERG se observe en todos los registros, ya que podría ser relevante para ciertas enfermedades o mediciones repetidas.

##### Informando el ERG

La estandarización de los informes de ERG es fundamental para el objetivo de contar con datos comparables en todo el mundo. Por ello es recomendable que los informes o comunicaciones de datos ERG incluyan formas de onda representativas de cada uno de los ERG estándar representados con amplitud y calibraciones de tiempo y etiquetados con respecto a las variables de estímulo y el estado de adaptación a la luz o a la oscuridad. Además, se sugiere que cuando se utilizan estímulos individuales de flash sin promediado, se muestren dos formas de onda de cada ERG para demostrar el grado de consistencia o variabilidad. La fuerza de la estimulación (cd·s·m-2) y el nivel de adaptación a la luz (cd·m-2) se debe dar en valores absolutos. *Las formas de presentación de informes deben indicar si las técnicas de registro cumplen con el estándar internacional*. Se recomienda que las mediciones de los pacientes se enumeren junto con los valores normales y sus varianzas (que se facilitará en todos los informes). Por último, los informes deben tener en cuenta el momento de la prueba, el diámetro pupilar, y cualquier condición que no está especificada por el estándar, incluyendo el tipo y la posición del electrodo, sedación o anestesia, y el nivel de cumplimiento.

### Registro de ERG pediátrico

El ERG puede ser registrado de infantes y chicos jóvenes pero se deben tener en cuenta algunos cuidados puesto que se trata con ojos inmaduros y cooperación limitada.

#### Sedación o anestesia

La mayoría de los sujetos pediátricos pueden ser estudiados sin sedación o anestesia general (anestesia tópica es necesaria para los electrodos de lentes de contacto). Los bebés pequeños pueden ser restringidos si es necesario. Los niños no obedientes (especialmente los de edades comprendidas entre 2-6 años para los cuales puede ser difícil la contención) pueden llegar a cumplir con sedación oral o ansiolítico. Las directrices médicas se deben seguir con respecto a las indicaciones, riesgos, requisitos de control médico y la elección de un sedante/relajante versus anestesia general. Teniendo en cuenta la variabilidad de los registros pediátricos, existirá por lo general poco efecto sobre la amplitud ERG o la forma de onda con sedación o anestesia breve muy ligera, a pesar de la anestesia completa pueden modificar el ERG.

#### Electrodos

Electrodos de lentes de contacto son aplicables a los bebés y niños pequeños, pero se requerirán tamaños pediátricos con modelos que contienen espéculo[[1]](#footnote-1) y se debe tener cuidado para minimizar el trauma corneal y psicológico. Lentes sin contacto y electrodos de piel varían en su aplicabilidad a los niños, y su mayor comodidad a menudo compensado ​​por un mayor movimiento o pequeñas señales que crean dificultades con ruido eléctrico o artefactos. Se requiere especial cuidado con los niños para controlar la posición del electrodo y el cumplimiento con el fin de evitar registros de artefactos.

#### Valores normales y de medición

El ERG madura durante la infancia, y las señales de recién nacidos y lactantes se debe interpretar con mucha cautela. Más tarde los ERG de infantes y jóvenes se acercan a la forma de onda y el tamaño adulto. Los ERG pediátricos idealmente deben ser comparados con los de sujetos normales de la misma edad, a pesar de que puede haber pocos datos normales disponibles. Debido a que el movimiento y la mala fijación pueden generar registros pediátricos variable en amplitud y forma de onda, se recomienda que se registren varias repeticiones de cada ERG a fin de reconocer las formas de onda reproducibles y elegir los mejores ejemplos. Los protocolos estándar pueden necesitar de vez en cuando ser abreviados a fin de obtener los ERG más críticos a la pregunta diagnóstica bajo investigación. Los estímulos más intensos a veces pueden ayudar a revelar ERG poco desarrollados. Los informes deben tener en cuenta el grado de cooperación y de los medicamentos que se usan.

#### Notas

1. Los estímulos cromáticos ofrecen ciertas ventajas en la separación de los ERG de cono y de bastón, pero la calibración de los estímulos de color y la relación de los ERG producidos por ellos para el estándar ERG requiere procedimientos especiales. Se recomienda que los destellos blancos se utilicen para los ERG estándar, ya sea que además se usen o no otros estímulos.

2. Los estímulos blanco producidos por una combinación de fuentes de banda angosta, tales como diodos emisores de luz (LEDs) rojos, verdes y azules, pueden no ser equivalentes a la luz blanca de banda ancha como un estímulo para los bastones y conos. Los fabricantes deben garantizar que los filtros fotópicos y escotópicos apropiados están incorporados en sus sistemas de estimulación y de calibración de manera que la salida del estímulo sea de una intensidad equivalente al estándar para todas las condiciones. La calibración escotópica separada puede ser necesario para estos sistemas LED, y así entonces el estímulo adecuado para provocar ERG de bastón será 2.5 unidades log por debajo de un flash estándar calibrado escotópicamente.

3. Se recomienda que la fuente flash de los instrumentos comerciales sea capaz de generaciones fuertes de al menos 2 unidades log por encima del SF y sea atenuable a través de 6 unidades log por debajo del SF. Independientemente de si la atenuación se logra mediante filtros o medios electrónicos, se recomienda fuertemente que las unidades comerciales incorporen una media adicional de inserción de filtros de densidad neutral y color. Estas capacidades permitirán a los electrofisiólogos llevar a cabo una variedad de protocolos útil más allá de la norma, y ​​conocer los posibles cambios futuros en la misma. También se sugiere que la luminancia de fondo sea ajustable para realizar electrooculografía con el mismo equipo. Las unidades comerciales también deben permitir la inserción de filtros de colores y neutros en el sistema de iluminación de fondo para satisfacer una variedad de necesidades.

4. La amplificación de DC (corriente continua) puede producir señales idénticas a las de la amplificación de CA, pero es extremadamente difícil de usar debido a la deriva en la línea de base y al desplazamiento de potenciales; se recomienda encarecidamente el registro de CA a excepción de los laboratorios con requisitos especiales y experiencia.

5. Un índice general de la amplitud del potencial oscilatorio se puede obtener mediante la suma de las mediciones de los tres picos principales, preferentemente de líneas que abarcan las bases de los canales adyacentes, pero alternativamente desde los canales adyacentes directamente (para permitir el uso de cursores medidores con sistemas digitalizados). Algunos autores aconsejan la medición de los diferentes picos.

## 2.4. Estándar para electrorretinografía patrón

### 2.4.1. Introducción

El electrorretinograma patrón (PERG) es un biopotencial de la retina que es evocado cuando un estímulo patrón temporal modulado de luminancia total constante (tablero de ajedrez o rejilla) es visto. El PERG es evocado más a menudo por la inversión alternada de un patrón tipo tablero de ajedrez. Puede ser alterado selectivamente en la disfunción de la mácula o de la retina interna, que no afectan de manera significativa el ERG convencional de campo completo. El PERG recibe la atención clínica y de investigación tanto en la práctica neurológica y oftalmológica. Sin embargo, el PERG es una señal muy pequeña, típicamente en la región de 0.5 – 8 µV dependiendo de las características de estímulo, y el registro de PERG es técnicamente más exigente que el ERG convencional. Los registros publicados en la literatura varían considerablemente en la calidad técnica así como la técnica, y los nuevos usuarios pueden tener dificultades para elegir qué técnica utilizar.

La Sociedad Internacional de Electrofisiología Clínica de la Visión (ISCEV) siente que ahora hay un cuerpo suficiente de conocimiento y experiencia clínica para proponer un estándar para la realización de un PERG básico. En este documento se evolucionó a partir de las "Directrices PERG" y pretende ser una guía para practicar y asistir en la interpretación de los PERG. El PERG transitorio como se describe a continuación representa el mínimo de lo que debe incluir una evaluación de PERG. La norma describe los procedimientos técnicos sencillos que permiten PERGs reproducibles que deben registrarse bajo algunas condiciones definidas. Diferentes procedimientos pueden dar respuestas PERG equivalentes. Es responsabilidad de los usuarios de técnicas alternativas demostrar que sus procedimientos, de hecho, producen señales que son equivalentes en forma de *onda b*ásica, amplitud y la importancia fisiológica de la norma.

El estándar se basa en equipos analíticos y capacidades que se encuentran actualmente en la mayoría de las clínicas oftalmológicas o neurofisiológicas de electrodiagnóstico. Entonces, se abordarán a continuación las condiciones de registro y la tecnología específica para el PERG, suponiendo se poseen conocimientos básicos y habilidades en electrofisiología clínica. Aunque gran parte de estas condiciones se aplicarán por igual a adultos y niños, el estándar no es necesariamente apropiado para aplicaciones pediátricas. Así mismo, el mismo deberá ser revisado por la ISCEV cada cuatro años.

### 2.4.2. Nomenclatura de forma de onda y la medición

La forma de onda del PERG evocado por estímulos patrón invertidos depende de la frecuencia temporal de los estímulos. Por convención, la positividad se muestra arriba.

#### PERG transitorio

A bajas frecuencias temporales (6 inversiones por segundo o menos, equivalente a 3 Hz o menos) se obtiene un PERG transitorio (figura 20.4.1). La forma de onda se caracteriza por un pequeño componente negativo inicial (N), en aproximadamente 35 ms, que se refiere como N35. Esto es seguido por un componente positivo más tardío y más grande (P) (45 – 60 ms) que normalmente se denota como P50. Esta porción positiva de la forma de onda es seguida por un gran componente negativo de aproximadamente 90 – 100 ms (N95).

Para el PERG transitorio, las mediciones de amplitud se realizan entre picos y valles: la amplitud P50 se mide desde el punto más bajo del N35 a la cima de P50. En algunos pacientes, el N35 no está bien definido; en estos casos el N35 se sustituye por el promedio entre el tiempo cero y la aparición del P50. La amplitud N95 se mide desde el pico de P50 a la depresión del N95. Se debe reconocer que medida de esta manera, el N95 incluye la amplitud P50.

Las mediciones de latencia se deben tomar desde la aparición del estímulo al pico del componente de interés; los trabajadores sin experiencia deben tener en cuenta que el punto más alto de amplitud absoluta de una forma de onda no siempre será apropiado para la definición del pico si hay contaminación de la actividad muscular u otros artefactos. El pico debe ser designado donde aparecería en una forma de onda suavizada o idealizada.

#### Estado estacionario del PERG

A frecuencias temporales más altas, es decir, por encima de 10 inv/s (5 Hz), las formas de onda sucesivas se superponen y se evoca un PERG "estado estacionario". La forma de onda se convierte en más o menos sinusoidal, y se requiere el análisis de Fourier para determinar la amplitud y desplazamiento de fase temporal (con relación al estímulo).

### 2.4.3. Tecnología básica

#### Electrodos

##### Electrodos de registro

En la mayoría de los casos se recomienda la utilización de electrodos que están en contacto con la córnea o cercanos a la conjuntiva bulbar. Esto no incluye los electrodos de lentes de contacto o cualquier otro electrodo que degradan la calidad de imagen en la retina. Finas fibras conductoras, láminas y lazos se pueden colocar por lo general sin anestesia tópica. Quienes realicen la prueba deben ser conscientes de las posibles causas del artefacto. La integridad del electrodo debe ser revisada antes de la inserción, para cumplir las directrices para cada tipo de electrodo. *Nota*: Algunos instrumentos pueden causar daño al paciente cuando la impedancia se mide *in situ*. Los electrodos deben ser cuidadosamente posicionados para minimizar la inestabilidad (una fuente importante de artefacto o interferencia).

* Electrodos de fibra deben ser colocados en el fondo de saco inferior. Cubriendo el electrodo a través de las pestañas inferiores en el canto medial, o cinta adhesiva a la mejilla, puede ayudar a estabilizarlo.
* Electrodos de láminas deben colocarse directamente bajo el centro de la pupila de modo que haya un mínimo o ningún movimiento del electrodo cuando el paciente parpadea. Esto se logra mejor por tener la lámina curva sobre las pestañas inferiores sin hacer contacto con ellas, y a continuación inmovilizar el cable a la mejilla. La unión del electrodo y el cable debe formar una línea lo más recta posible y no debe tocar la piel.
* Electrodos de lazo deben estar conectados en el fondo de saco inferior. Los lazos se deben doblar por lo que las ventanas de contacto en un cable con aislamiento se sitúan por otra parte en la conjuntiva bulbar, unos 5 mm bajo el limbo. Electrodos de lazo no deben tocar la córnea. Para lograr esto, las extremidades del lazo deben divergir ampliamente (15 – 20 mm) antes de entrar en el fondo de saco. El cable luego se pega en la mejilla.

Las técnicas apropiadas para tipos de electrodos individuales son muy importantes para lograr registros estables y reproducibles de PERG. Las fuentes adicionales deben ser consultadas en relación con el electrodo específico utilizado.

##### Electrodos de referencia

Electrodos de referencia de superficie deben ser colocados en la parte exterior del ojo ipsilateral (del mismo lado). Mastoides, lóbulo de la oreja o en la frente pueden resultar en la contaminación del PERG de potenciales corticales o el otro ojo. Si se realiza el registro de PERG monocular, el electrodo en el ojo ocluido puede ser usado como una referencia.

##### Electrodos de tierra

Un electrodo de superficie separado debe estar unido y conectado al amplificador de "entrada de tierra"; la frente sería una ubicación típica.

##### Características de los electrodos de superficie

La impedancia entre los electrodos de la piel usados ​​para referencia y tierra, medidos sobre el sujeto, debe ser inferior a 5 kΩ. La piel debe estar preparada con un agente de limpieza adecuado, y una pasta conductora adecuada que se debe utilizar para asegurar una buena conexión eléctrica. Dado que el electrodo en el ojo tendrá una impedancia muy baja, la baja impedancia del electrodo de referencia es especialmente importante para el rechazo óptimo de interferencias eléctricas (modo común).

##### Limpieza y esterilización del electrodo

*Ver el estándar de campo completo de flash ERG de la ISCEV.*

#### Parámetros del estímulo

Este estándar describe solamente un protocolo básico para el registro de PERG. Los laboratorios pueden optar por probar más condiciones o parámetros que se describen en este documento.

##### Dimensiones de campo y verificación

Para el "PERG básico", se recomienda utilizar un tablero de ajedrez reversible en blanco y negro con un tamaño de campo de estímulo entre 10° y 16°, y un tamaño de comprobación de aproximadamente 0.8°. Para algunas aplicaciones, tales como la evaluación de glaucoma, puede ser más apropiada una mayor extensión de 30°.

##### Contraste

Para el "PERG básico" el contraste entre los cuadrados blancos y negros debe ser máxima (cerca del 100%) y no menos del 80%.

##### Luminancia

Los PERG son difíciles de registrar con baja luminancia del estímulo, y se recomienda un nivel de luminancia fotópica de las áreas blancas mayor que 80 c.d.m-2. Luminancia de la pantalla en general no debe variar durante la inversión del tablero de ajedrez.

##### Cuadros por segundo

Los CRT (tubos de rayos catódicos) de trama base se utilizan normalmente para presentar los estímulos patrones. La velocidad de fotogramas del CRT es un parámetro de estímulo significativo para PERUs (*averiguar que es esto*), y se recomienda una frecuencia de 75 Hz o superior.

##### Iluminación de fondo

La luminancia del fondo más allá del campo del tablero de ajedrez no es crítica cuando se utiliza la técnica de PERG sugerida, siempre y cuando se utilice la iluminación de la habitación oscura o corriente; iluminación ambiental debe ser la misma para todos los registros. Se debe tener cuidado para mantener las luces brillantes fuera de la vista directa de los sujetos.

##### Registro transitorio y en estado estacionario

Como protocolo "PERG básico", se recomienda que los laboratorios registren el PERG transitorio, ya que permite la separación de los componentes P50 y N95.

También hay situaciones en las que es útil el estado estacionario PERG; algunos laboratorios lo favorecen para estudios de glaucoma. Dado que se requiere poco más de tiempo, los laboratorios deben considerar también el registro. Tenga en cuenta, sin embargo, que la interpretación correcta de los PERG de estado estable requiere la medición de la amplitud y el desplazamiento de fase (en relación con el estímulo) del segundo armónico mediante el análisis de Fourier. Una primera armónica significativa indica problemas técnicos. No se recomienda el registro de PERG en estado estacionario sin instrumentación para dicho análisis, y advertimos que la estimulación de estado estable en las tasas de inversión por debajo de nuestra recomendación (16inv/s) requiere un equipo especial para modular contraste sinusoidal.

##### Tasa de reversión

Para PERG transitoria recomendamos 2 – 6 inversiones por segundo (1 – 3 Hz); para el estado estacionario PERG, recomendamos 16 inversiones por segundo (8 Hz).

##### Recalibración

Se aconseja recalibración regular del estímulo.

#### Equipamiento de registro

##### Sistemas de amplificación

Se recomiendan amplificadores de CA acoplada con una impedancia de entrada mínima de 10 MΩ. Los sistemas de amplificación deben estar aislados eléctricamente del paciente de acuerdo con las normas actuales para la seguridad de los sistemas de registro biológicos utilizados clínicamente. Además, se recomienda que la respuesta en frecuencia de los amplificadores pasa banda debe incluir el rango de 1 – 100 Hz, y que los filtros tipo “notch” (que suprimen las señales en la frecuencia de la línea de corriente alterna) no se utilizarán.

Algunos usuarios pueden encontrar interferencias electromagnéticas graves que hacen que sea difícil obtener respuestas con estas recomendaciones de filtros. Idealmente, cada interferencia debe ser eliminada mediante el blindaje o la modificación del equipamiento; el reordenamiento de los cables del electrodo puede resultar beneficioso.

Los laboratorios que utilizan el filtrado más fuerte o un filtro “notch” deben reconocer que sus respuestas pueden no ser comparables con los de otros laboratorios, y tener en cuenta en los informes el filtrado adicional que se aplicó.

##### Promediación y análisis de señal

Debido a la pequeña amplitud del PERG, promediar la señal es siempre necesario. Para PERG transitorios el período de análisis (tiempo de barrido) debe ser de 150 ms o mayor. Será necesario un programa de análisis de Fourier si los PERG en estado estacionario son registrados, y el período de análisis debe ser un múltiplo del intervalo de estímulo (por ejemplo 8).

##### Rechazo de artefactos

El rechazo computarizado de artefactos es esencial, y se recomienda fijarlo en no más de 100 mV pico a pico, y preferiblemente menos. Los amplificadores deben regresar a la línea de base rápidamente tras señales de artefactos para evitar el almacenamiento inadvertido de datos no fisiológicos.

##### Sistemas de visualización de datos

Los sistemas de visualización deben tener una resolución adecuada para representar con precisión las características de esta señal de pequeña amplitud. Las condiciones óptimas permiten la visualización simultánea de la señal de entrada y la media. En ausencia de una visualización simultánea, el sistema debe permitir una rápida alternancia entre la visualización de la señal de entrada y la visualización normal. Por lo tanto la calidad de la señal de entrada se puede controlar adecuadamente. Incluso con un sistema de rechazo de artefactos computarizado, es importante la señal de entrada sea monitoreada para la estabilidad de línea de base y la ausencia de bloqueo amplificador.

### Protocolo clínico

#### Preparación del paciente

##### Posicionamiento

El paciente debe colocarse lo más cómodo posible y apoyado contra un posacabeza.

##### Pupilas

El PERG debe registrarse sin dilatación de las pupilas, para preservar el acomodamiento y la calidad de imagen retinal.

##### Fijación

Un punto de fijación en el centro de la pantalla es esencial. Si hay alguna duda sobre la calidad de la fijación en un paciente individual, un método eficaz es dar al paciente un puntero y hacerlos apuntar al centro de la pantalla en todo momento.

El parpadeo excesivo durante el registro debe ser rechazado, dando lugar a pausas que pueden ser ventajosas.

##### Refracción

Debido a la naturaleza del estímulo, el examen PERG se debe realizar con la agudeza visual óptima a la distancia de prueba. Los pacientes deben usar la corrección óptica adecuada para las distancias de prueba.

##### Registros monocular y binocular

La correcta posición de electrodos de registro y de referencia permitirá el registro monocular o binocular del PERG. El registro binocular del PERG se recomienda para el "PERG básico" porque en general es más estable, se reduce el tiempo de examen y permite la fijación por el mejor ojo en los casos de pérdida de visión asimétrica. La estimulación monocular se requiere para registrar simultáneamente el PERG y la VEP.

##### Registro

Por lo general, deben promediarse 150 respuestas, y pueden ser necesarias más con un caso “ruidoso”. Se deben obtener al menos dos grabaciones completas de cada condición de estímulo para confirmar las respuestas (es decir, una replicación).

#### Informes PERG

##### Informes

Se recomienda que todos los informes contengan las mediciones de amplitud del P50 y N95 (véase más arriba), y la latencia del P50 (el pico del N95 es a menudo bastante amplio excluyendo la medición precisa de la latencia de este componente). Si se llevan a cabo PERGs de estado estacionario, deberá declararse el desplazamiento de amplitud y fase de la segunda armónica. Todos los informes deben contener también los parámetros del estímulo y los valores normales para el laboratorio en cuestión. Siempre que sea posible, los registros de resultados de PERG deben incluir las formas de onda representativas con las calibraciones de amplitud y tiempo apropiadas.

##### Normas clínicas

Cada laboratorio debe establecer los valores normales para su propio equipo y población de pacientes. Debe tenerse en cuenta que hay cambios en el PERG con la edad.

## Directrices para el electrorretinograma multifocal básico (mfERG)

### Introducción

El electrorretinograma de campo completo (ERG) es un ensayo clínico estándar para evaluar la función de la retina en su conjunto. El electrorretinograma multifocal (mfERG) es una nueva técnica que permite el análisis de la función de la retina local. Si bien la tecnología de estos registros y el conocimiento de la fisiología de estas respuestas están evolucionando, hay suficiente experiencia para proponer directrices básicas para el uso de este procedimiento. De esta forma se buscaron elaborar un conjunto de directrices para el registro del mfERG que ayuden en la obtención de registros estables e interpretables, y reducir así al mínimo los artefactos. Para ello fue necesario realizar muchas pruebas e investigaciones con el fin de obtener resultados que permitieran validar de alguna manera dichas directrices. Así mismo, se continúa con la investigación constante sobre las aplicaciones y la tecnología de esta nueva técnica manteniéndola siempre actualizada en base a pruebas, las cuales deberán ser revisadas ​​cada cuatro (4) años en consonancia con las recomendaciones de práctica de la ISCEV.

### Descripción del electrorretinograma multifocal

El mfERG es una técnica para la evaluación de ERG locales de diferentes regiones de la retina posterior. Las respuestas eléctricas del ojo se registran con un electrodo de la córnea al igual que en el registro del ERG convencional, pero la naturaleza especial del estímulo y el análisis producen un mapa topográfico de las respuestas ERG. Para la rutina mfERG, la retina se estimula con un monitor de ordenador u otro dispositivo que genera un patrón de elementos (por lo general hexágonos), cada uno de los cuales tiene una probabilidad del 50% de ser iluminada cada vez que cambia el cuadro (figura 2.5.1). El patrón parece parpadear al azar, pero cada elemento sigue una secuencia fija, predeterminada (actualmente un "m secuencia") de manera que la luminancia global de la imagen en el tiempo es relativamente estable (equiluminant). Mediante la correlación de la señal de ERG continuo con el encendido o apagado fases de cada elemento de estímulo, la señal de ERG focal asociada con cada elemento se calcula. Los datos se pueden mostrar de diversas maneras, tales como una matriz topográfico o una trama tridimensional. Las interacciones entre las respuestas como resultado de la adaptación o no lineales propiedades de respuesta también se pueden analizar. Los diferentes patrones de estímulo y secuencias de parpadeo se pueden utilizar para aplicaciones especializadas.

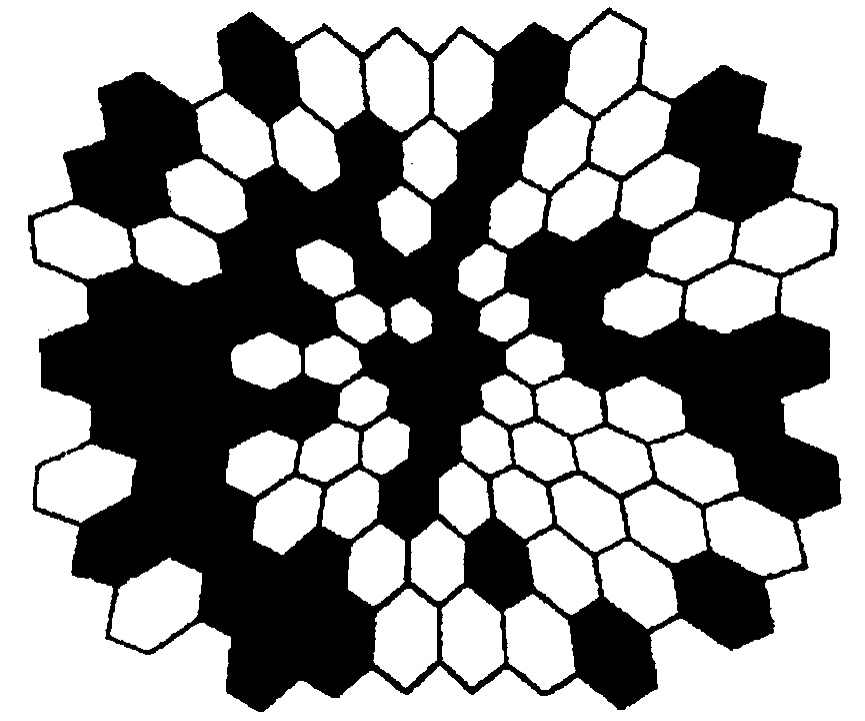


Figura 2.5.1. Estímulo patrón representativo hexagonal con 103 elementos del mfERG, de los cuales solo la mitad son iluminados cada vez.

Es importante tener en cuenta que los trazados de la mfERG no son "respuestas" en el sentido de las respuestas eléctricas directas de una región local de la retina. Las formas de onda de mfERG son una extracción matemática de las señales que se correlacionan con el tiempo en que una porción de la pantalla de estímulo se ilumina. Por lo tanto, las señales de mfERG pueden estar influenciadas por efectos de adaptación (de los estímulos anteriores) y por los efectos de la luz dispersa en otras zonas del fondo del ojo.

#### Las formas de onda

##### Nomenclatura de picos

La forma de onda típica de la respuesta mfERG primaria (también llamada respuesta de primer orden o kernel de primer orden *K1*) es una *onda b*ifásica, con una deflexión negativa inicial seguida de un pico positivo (figura 2.5.2). Puede haber una segunda desviación negativa después del pico. La designación preferida es etiquetar estos tres picos, respectivamente N1, P1 y N2. Hay algo de homología entre esta forma de onda y el ERG convencional, pero son probablemente no idénticos (véase más adelante). Por lo tanto no se recomiendan las designaciones "*onda a*" y "*onda b*".

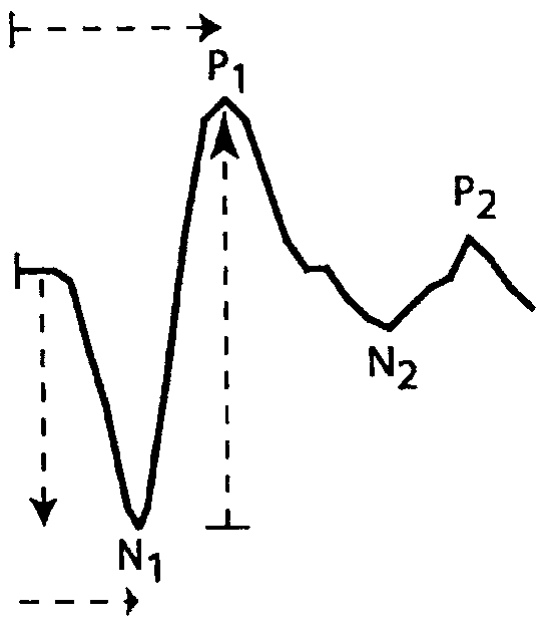


Figura 2.5.2. Diagrama de una respuesta mfERG que muestra la designación de las mayores formas de onda y el método recomendado para medir amplitud y tiempo implícito (tiempo de pico).

##### Origen celular

Los estudios en humanos han demostrado que la respuesta N1 incluye contribuciones celulares de los mismos componentes que la *onda a* del campo completo del ERG de cono, y la respuesta P1 incluye contribuciones de los componentes de la *onda b* de cono y potenciales oscilatorios. Sin embargo, este conjunto de conocimientos es aún incompleto, y sería prematuro asumir alguna simple correlación entre la forma de onda mfERG y clases particulares de células de la retina.

### Tecnología básica

#### Electrodos

##### Electrodos de registro

Los electrodos que están en contacto con la córnea o en las inmediaciones de la conjuntiva bulbar son muy recomendables para el registro de mfERG al igual que para el ERG de campo completo. Las mismas recomendaciones que en el estándar ERG suficiente, con la condición de que la abertura óptica o lente corneal deben ser claros para permitir una buena agudeza visual y refracción.

##### Electrodos de referencia y de tierra

La aplicación correcta de los electrodos conductivos adecuadamente es esencial para el registro de mfERG estable. En este caso es recomendable seguir las indicaciones de la ISCEV para el registro de ERG de campo completo y/o PERG.

##### Características de los electrodos, la estabilidad y la limpieza

Dependiendo de la técnica utilizada y el protocolo diseñado, esto será abordado más adelante al momento de escoger los electrodos adecuados para tal fin.

#### Estímulo

##### Fuente de estímulo

El estímulo es generalmente entregado por un tubo de rayos catódicos (CRT), es decir, un monitor. También se utilizan otros dispositivos como proyectores LCD, matrices de LED y oftalmoscopios láser de barrido. Estos modos alternativos de estimulación pueden producir diferentes formas de onda pero muchos de los principios de la estimulación se describen a continuación.

##### Propiedades de la pantalla

###### Frecuencia de imágenes

Se ha usado ampliamente una frecuencia de cuadro para CRT de 75 Hz. Debe tenerse en cuenta que el uso de una frecuencia diferente requiere un ajuste del protocolo de estímulo y puede alterar las señales registradas. La frecuencia de imagen nunca debe ser la frecuencia de la corriente de línea (50 o 60 Hz), la cual puede causar artefactos de interferencia.

###### Luminancia.

La luminancia de los elementos de estímulo en la pantalla CRT debe ser 100 – 200 cd/m2 en el estado iluminado y <1 cd/m2 en el estado oscuro. Esto significa que la luminancia media de la pantalla durante el ensayo será 50 – 100 cd/m2.

###### Calibración.

La luminancia de los elementos claros y oscuros del estímulo, se debe medir con un calibrador apropiado o medidor de punto. Muchas pantallas de los monitores no son de un brillo uniforme en toda la pantalla, por lo que variaciones de hasta el 15% se consideran aceptables. Si se presenta una mayor variación, puede que sea necesario ajustar el tamaño del estímulo para asegurar efectos equivalentes en diferentes regiones de la retina. Las técnicas para la calibración del estímulo y el registro de parámetros se describen en las directrices de la ISCEV para tal fin. Por lo tanto, al momento de elaborar el protocolo básico será tenido en cuenta este punto.

##### Parámetros del estímulo

###### Patrón de estímulo

El patrón por defecto de estímulo hexagonal fue diseñado para compensar las diferencias locales en la densidad de la señal (y la densidad de cono) a través de la retina. Por lo tanto, los hexágonos centrales son más pequeños que los más periféricos. Los diferentes patrones (por ejemplo, hexágonos de igual tamaño) se pueden generar y pueden ser útiles en casos especiales, tales como pacientes con fijación excéntrica o cuando se utilizan secuencias de parpadeo especializadas.

###### Secuencia de parpadeo

Instrumentos comerciales de mfERG utilizan una secuencia “m” para controlar el orden de parpadeo de los elementos de estímulo (entre claro y oscuro). Esta secuencia se recomienda para las rutina de testeo. Existen de esta manera, diferentes secuencias, con inclusión de cuadros claros u oscuros, que son útiles en aplicaciones especializadas.

###### Tamaño del estímulo

El patrón general de estímulo debe abarcar un ángulo visual de 20 – 30 grados a cada lado de la fijación. La región de estímulo se puede dividir en un número diferente de hexágonos, y la elección depende de equilibrar la necesidad de resolución espacial, la relación señal-ruido, la duración del registro, etc. (véase la discusión debajo en *Protocolo Clínico*). Los patrones estándar de uso más frecuente en la actualidad incorporan 61, 103 o 241 elementos de estímulo.

###### El contraste y el fondo

Contraste entre los elementos iluminados y oscuros del estímulo debe ser 90% o mayor. La región de fondo del CRT (más allá del área de hexágonos del estímulo) debe tener una luminancia igual a la luminancia media de la matriz de estímulo.

###### Objetivos de fijación

La fijación estable es esencial para obtener registros de mfERG fiables. Los puntos o cruces de fijación centrales están disponibles con la mayoría de los programas de estímulo. Deben cubrir lo menos posible del elemento central de estímulo para evitar la disminución de la respuesta (pero puede ser necesario ampliarlo para los pacientes con baja visión).

#### El equipo de grabación

##### Amplificadores y filtros

Los amplificadores deben acoplar la corriente alterna (AC) y deben ser capaces de ajustar ganancia y filtros. Una ganancia de 100.000 o 200.000 es la más utilizada; la ganancia debe producir señales reconocibles sin saturar los amplificadores. El filtro pasa banda elimina el ruido eléctrico extraño preservando al mismo tiempo las formas de onda de interés. Para uso general, la gama de filtros más adecuada es de 3 – 300 Hz o 10 – 300 Hz. Los usuarios deben ser conscientes de que los ajustes del filtro pueden influir en las formas de onda que contienen componentes cerca de los extremos de corte del mismo. La configuración del filtro debe ser la misma para todos los sujetos estudiados por un laboratorio para que las formas de onda sean comparables. Los filtros “notch” de frecuencia de línea deben evitarse. Un cono de enmascaramiento (proporcionado por algunos fabricantes) puede reducir la interferencia eléctrica.

##### Análisis de señal

###### Rechazo de artefactos

Ya que el parpadeo y otros movimientos pueden distorsionar las formas de onda registradas, hay programas de "rechazo de artefactos" para eliminar algunos de los picos o derivas obvias siendo añadidas al registro acumulativo. El rechazo de artefactos a menudo se utiliza para "limpiar" un registro, pero en general no debe ser aplicado varias veces.

###### Promediado con vecinos

Con el fin de suavizar las formas de onda y reducir el ruido, los programas comerciales pueden promediar la respuesta de cada elemento del estímulo con un porcentaje de señal de cada uno de los elementos adyacentes. Esto puede ser útil con los registros ruidosos, pero difuminará los bordes de las regiones pequeñas o críticas de disfunción, por lo que debe utilizarse con cuidado. Con el sistema VERIS se puede ajustar el porcentaje de respuestas de los vecinos para ser promediados. Una configuración del 16% significa que el 50% de cada traza proviene de elementos de estímulo adyacentes, por lo que es recomendado el uso de no más del 16% de manera que no más del 50% de cada traza provenga de las zonas adyacentes. El sistema de Roland suaviza digitalmente los datos almacenados, y se debe utilizar con similar precaución.

##### Opciones de pantalla

###### Matrices de rastreo

Todos los programas comerciales pueden producir un arreglo de trazas mfERG de diferentes regiones de la retina (figura 2.5.3). Esta es la pantalla básica mfERG y debe ser una parte de todos los protocolos de pantalla estándar. Es útil para observar áreas de variación y anormalidad.

###### Promedios de grupo

Los programas de análisis pueden promediar juntos las respuestas de cualquier número designado de trazas. Esto puede ser útil para comparar cuadrantes, áreas hemiretinales o anillos sucesivos desde el centro hacia la periferia. Este último puede ser útil para los pacientes que tienen una enfermedad que es radialmente simétrica o difusa. Las respuestas de los elementos del estímulo relativas a un área local de interés también se pueden promediar juntas para compararlas con una superficie similar en las normales.

###### Gráficos de la densidad de respuesta topográfica (3D)

Estos gráficos muestran la intensidad de señal total por unidad de superficie de la retina (la combinación de los componentes N y P) en una figura de 3 dimensiones. Esto a veces es útil como un resumen o la demostración de ciertos tipos de patología, pero hay grandes peligros que necesitan ser entendidos. Estos gráficos 3D suelen incorporar ambas desviaciones negativas y positivas, por lo que la información de forma de onda se pierde y los componentes irrelevantes (ruido) pueden mejorarse (véase el Apéndice: ejemplos de reconocimiento de artefactos de ruido eléctrico y señales débiles). La generación de los gráficos 3-D por lo general implica la interpolación de las respuestas para crear la apariencia de una superficie continua, y como resultado la resolución espacial puede ser modificada. Finalmente, la aparición de la trama 3D a partir de un registro dado depende de si las plantillas de escalamiento fueron obtenidas usando un promedio de los datos del sujeto o de los controles, y de la duración de las formas de onda mostradas. Una comparación de gráficos a escala entre pacientes puede inducir a error a menos que los parámetros y datos de referencia sean consistentes para todos los sujetos. Es por esto que se recomienda que los gráficos 3D no sean utilizados por sí mismos para mostrar los datos de mfERG; siempre deben ir acompañados de una matriz de rastreo correspondiente.

### Protocolo clínico

#### Preparación del paciente

##### Alumnos

Las pupilas deben estar completamente dilatadas.

##### Electrodos

Estos deben ser aplicados cuidadosamente de acuerdo con las instrucciones del estándar para registro de ERG de campo completo o PERG. Un contacto pobre o inestable del electrodo es una causa importante de registros de mala calidad.

##### Colocación del paciente

Los sujetos deben sentarse cómodamente delante de la pantalla o instrumento. La distancia de visualización variará con el tamaño de pantalla, con el fin de controlar el área (ángulo visual) de la retina a estimular. Es recomendable revisar las directrices de la ISCEV para la medición del ángulo visual y la distancia de visualización.

##### Monitoreo de fijación

Ya que una buena fijación es esencial, la misma debe controlarse de alguna manera, ya sea por observación directa del paciente o por el uso de la monitorización de instrumentación disponible en algunas unidades.

##### Refracción

Los fabricantes recomiendan actualmente la refracción por agudeza óptima. Las lentes se colocan típicamente en un soporte situado en frente del ojo. Debido a que las lentes alteran la magnificación relativa del estímulo, la distancia de visión debe ser ajustada para compensar, de acuerdo con la escala o las directrices proporcionadas por el fabricante. También debe tenerse cuidado para evitar la inducción de un escotoma anular con una lente más. Existe cierta controversia sobre si la agudeza es fundamental para el mfERG, al menos dentro de un rango de ±6D de emetropía, por lo que algunos expertos consideran innecesaria la refracción dentro de estos límites. No está claro si estos datos de ojos normales se aplican a todos los ojos patológicos ya que una pequeña lesión de la retina podría estar menos definida en el mfERG si los límites del elemento del estímulo fueron borrados erróneamente.

##### Registro monocular vs. binocular

El registro monocular o binocular es posible, pero es obligatorio en aquellos registrados binocularmente para asegurarse de que las señales no se ven alteradas por el descentramiento de uno de los ojos o por los efectos asimétricos de las lentes refractivas o de registro.

#### Adaptación

##### Adaptación previa (antes del ensayo)

Los sujetos deben estar en un ambiente de luz ordinaria durante 15 minutos antes de la prueba, suponiendo que no hay exposición previa a sol brillante o fotografía de fondo, de lo contrario puede ser necesaria una adaptación más larga después de dicha exposición. Un ERG de campo completo previo con registros fotópicos es aceptable siempre y cuando la exposición (en especial el parpadeo) no fue inusualmente prolongado.

##### Iluminación de la sala

Las luces de la habitación deben estar encendidas, y producir idealmente la iluminación en el sujeto cercano a la pantalla de estímulo. Un cono de enmascaramiento (proporcionado por algunos fabricantes) puede reducir la luz parásita.

#### Secuencia de grabación

##### Estímulo

###### Tamaño

20 – 30 grados de ángulo visual a cada lado de la fijación.

###### Número de elementos

Más a menudo son 61 o 103 para uso rutinario; 241 elementos para localización más crítica.

###### Duración del registro

El tiempo total es típicamente de unos 4 minutos para 61 elementos, o de 8 minutos para 103 elementos (aunque estos tiempos pueden ser ajustados por laboratorios con experiencia de acuerdo a las necesidades clínicas). El tiempo de registro total se divide en segmentos más cortos (por ejemplo, 15 – 30 segundos) de manera que los sujetos pueden descansar entre cada serie del registro si es necesario, y también para que un registro pobre (de ruido, movimiento u otros artefactos) pueda ser desechado y realizar una nueva corrida sin perder datos anteriores. Estos tiempos de grabación pueden ser alargados de acuerdo con la estabilidad del paciente y la cantidad de interferencia eléctrica (ruido).

##### Elecciones

La elección de la matriz de estímulo y tiempo de grabación es un compromiso entre la estabilidad de la grabación y la resolución topográfica de los datos. Los elementos de estímulo grandes (por ejemplo 61) proporcionan señales con menos ruido, pero son menos sensibles a pequeñas zonas de disfunción retiniana. En cambio, elementos de estímulo más pequeños (por ejemplo 103) mostrarán con mayor precisión el contorno de las áreas disfuncionales, pero requieren más tiempo de grabación para obtener una relación señal-ruido aceptable. Elementos de grandes dimensiones con un tiempo de grabación corto son más fáciles para los pacientes y adecuados para una visión general de la función macular. Algunas veces pueden ser necesarios elementos pequeños (como una matriz de 241 hexágonos) para enfermedades con efectos pequeños o irregulares dentro de la mácula, o para un seguimiento preciso de los defectos funcionales. Para tener en cuenta la variabilidad ensayo a ensayo, se recomienda repetir la grabación para confirmar anomalías pequeñas o sutiles.

#### Presentación de datos

##### Modo de pantalla

###### Matrices de rastreo

Esto es esencial para mostrar la matriz de rastreo cuando se informa sobre el mfERG (véase la figura 2.5.3). Estas matrices no sólo muestran variaciones topográficas, sino que también demuestran la calidad de los registros, lo cual es importante para juzgar la validez de cualquier variación sospechosa fuera de lo normal.

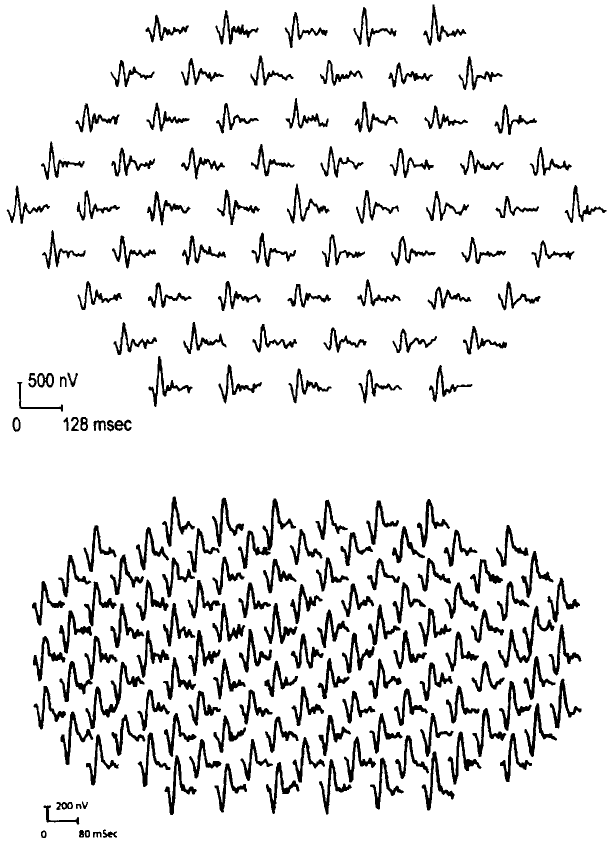


Figura 2.5.3. Ejemplo de matrices de rastreo de mfERG con 61 elementos y 103 elementos.

###### Promedios de grupos

La organización de las respuestas de los grupos puede ser una forma útil para resumir los datos. Anillos concéntricos de trazas, desde el centro hacia fuera, son los más utilizados. Las regiones con la patología del fondo de ojo se pueden promediar juntos si se desea.

###### Gráficos tridimensionales a escala

Estas son opcionales, y deben usarse con precaución (véase la discusión anterior). Los gráficos escalares nunca deben ser usados como el único método de visualización.

##### Mediciones

###### Marcas de calibración

Debe acompañar a todas las trazas o gráficos. Es importante también para cada laboratorio establecer el rango típico de valores para los diversos modos de pantalla, de forma que la mayoría de los datos del laboratorio puedan trazarse a la misma escala para facilitar la comparación entre los pacientes.

###### Respuestas

La amplitud de la respuesta N1 se mide desde el inicio de la línea de base a la base de la depresión de N1; la amplitud de la respuesta P1 se mide desde la depresión de N1 al pico P1 (véase la figura 2.5.2). Las latencias de pico (tiempos implícitos) de N1 y P1 se miden desde el inicio del estímulo. Las mediciones de promedios de grupos deben incluir rutinariamente las amplitudes N1 y P1 y latencias de pico.

###### Escalas de color

Si es necesario, el usuario debe tener la posibilidad de configurar una escala de colores para representar cada hexágono según las características relevantes escogidas previamente a la visualización (amplitud, latencia o ambas).

##### Valores normales

Cada laboratorio tiene que desarrollar datos normativos, ya que las variaciones en el equipamiento de registro y los parámetros hacen uso de los datos de otras fuentes inadecuadas. Puesto que los datos electrofisiológicos no necesariamente siguen una distribución normal alrededor de una media, los laboratorios deben informar el valor de la mediana en lugar de la media, y determinar 5 y 95% de los valores como límites de la normalidad. El mfERG, al igual que el ERG de campo completo, disminuye un poco con la edad y se muestran los valores más bajos en los ojos miopes. Aunque estos efectos generalmente no son grandes pueden ser relevantes en algunos pacientes.

##### Informes de artefactos y su resolución

Los informes deben indicar explícitamente cualquier procedimiento de reducción de artefactos o maniobras de pos procesado utilizadas para preparar los datos. Esto debe incluir el tipo y el número o pasos de rechazo de artefactos, el promedio de los resultados con los vecinos (teniendo en cuenta el alcance y el número de iteraciones), y cualquier otro suavizado o procedimientos de promediado. Cualquier causa inusual de artefacto debe tenerse en cuenta.

#### Agradecimientos

Este documento fue aprobado por ISCEV en Montreal-Mont Orford, Canadá, el 21 de junio de 2001.

### Apéndice: Reconocimiento de artefacto

Existen un número de artefactos que pueden complicar el registro o interpretación del mfERG. A continuación se listan e ilustran algunos de los más usuales, con las correspondientes sugerencias para evitarlos o corregirlos.

#### Tipos comunes de artefactos

##### Ruido eléctrico (figura 2.5.4)

Un contacto pobre del electrodo, mala conexión de tierra o fuentes de ambiente pueden causar interferencia de corriente de línea (50/60 Hz) que altera los patrones fisiológicos de respuesta. El ruido es usualmente evidente en matrices de señales pero puede producir gráficos topográficos (3-D) que parecen ser fisiológicos incluso cuando no hay respuesta retinal. Por esta razón, gráficos 3-D no se recomiendan como el único o principal de la pantalla mfERG. *Solución*: Mejor contacto de electrodo, conexión de tierra o blindaje.

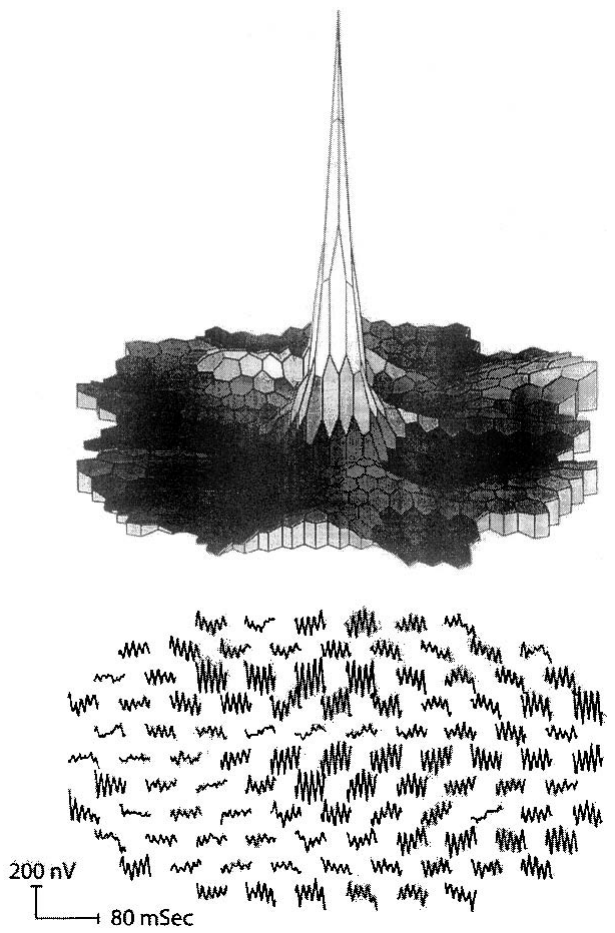


Figura 2.5.4. El ruido eléctrico. La matriz de seguimiento muestra señales de 60 Hz predominantemente, que varían en amplitud del hexágono a hexágono porque las correlaciones del ordenador están aleatoriamente en o fuera de fase. El (3-D) diagrama de densidad topográfico muestra un pico central de altura engañosa que representa el ruido total, pero que podría confundirse con una señal de la fóvea, si no se visualiza también la matriz de rastreo.

##### Errores de movimiento

Movimientos de ojos al azar y fijación incoherente pueden producir señales irregulares con espigas, saturación de los amplificadores y la deriva aberrante o fluctuaciones en las formas de onda. Grados más leves de movimiento de los ojos, o la fijación inestable, causan manchas de las respuestas entre los diferentes loci[[2]](#footnote-2), y por lo tanto reduce la resolución de las lesiones pequeñas. Si el punto ciego no es visible en una grabación, puede ser un indicio de mala fijación. *Solución*: Observar la cantidad de ruido durante la grabación. Corridas o segmentos contaminados deben ser descartados y re-grabados. Mejorar el seguimiento y control de la fijación.

##### Fijación excéntrica (figura 2.5.5)

Esto puede provocar que las matrices de rastreo y los gráficos topográficos escalares estén deprimidos en el centro, o muestren un aspecto de "pendiente" con señales débiles en un lado y altas en el otro. *Solución*: Comprobar la fijación o utilizar un objetivo especial de baja visión.

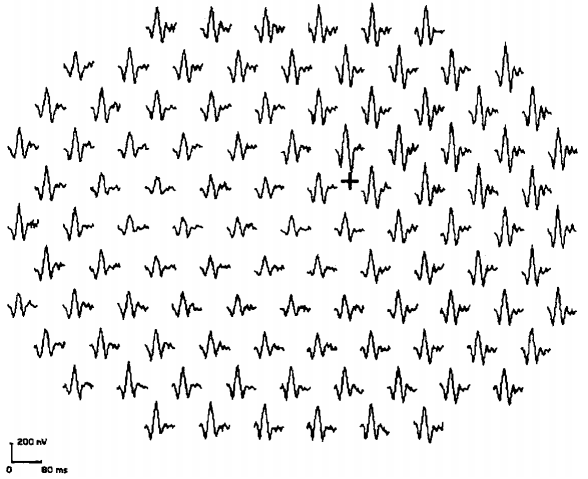


Figura 2.5.5. La fijación excéntrica. El sujeto fijado en el + en vez del centro. Como resultado, las magnitudes de respuesta calculados se alteran, y hay una falsa apariencia de la disfunción de la retina central.

##### Errores de orientación/sombreado (figura 2.5.6)

Estos aparecen cuando un sujeto está centrado erróneamente o existe sombreado desde el borde en la lente de refracción o la lente de contacto de grabación. Las matrices de trazas y gráficos topográficos muestran la depresión en una parte de la matriz y a veces elevación en el lado opuesto. Estos errores deben distinguirse de los patrones de la enfermedad, y desde la pequeña variación nasal-temporal normal. *Solución*: Centrar las lentes, el sujeto y la posición de los ojos en el monitor.

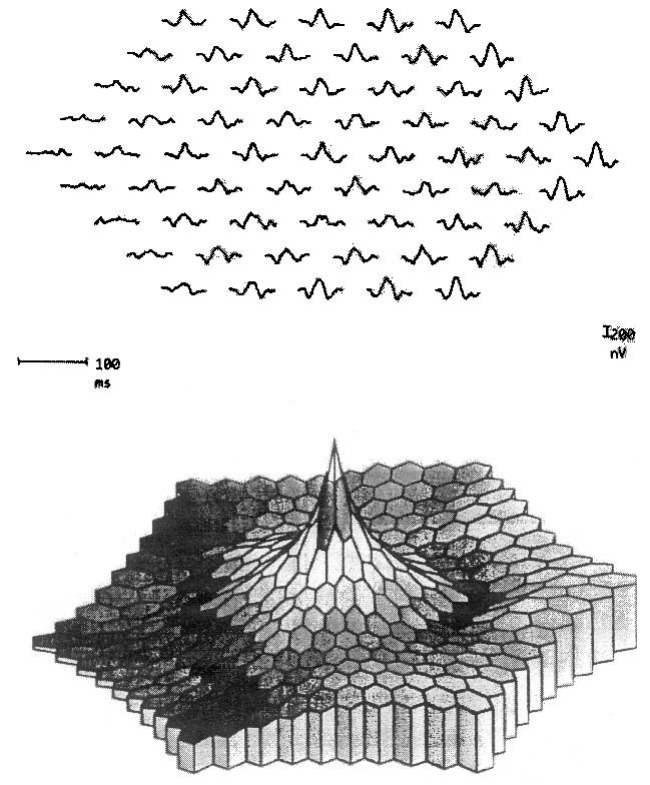


Figura 2.5.6. Error de sombreado. El punto de vista del sujeto fue oscurecido de un lado por el borde de una lente de refracción. Como resultado, tanto la matriz de trazas y la trama 3-D muestran una falsa reducción de la amplitud en un lado.

##### Pico central erróneo (artefacto de señal débil) (figura 2.5.7)

Artifactually grandes "respuestas" pueden aparecer promediadas en el centro del anillo si hay una señal aberrante o espuria que se promedió a cabo en las zonas más periféricas. Los gráficos topográficos escalares a menudo muestran un pico central de artefactos, incluso cuando las señales son débiles, porque registran la fuerza del ruido así como señales fisiológicas. Los efectos del ruido se alisan en las zonas periféricas, pero se vuelven amplificados en el centro donde la amplitud global de ruido se divide por un área pequeña. *Solución*: Observar la matriz de seguimiento para determinar si cualquier forma de onda reconocible está presente en áreas de interés.

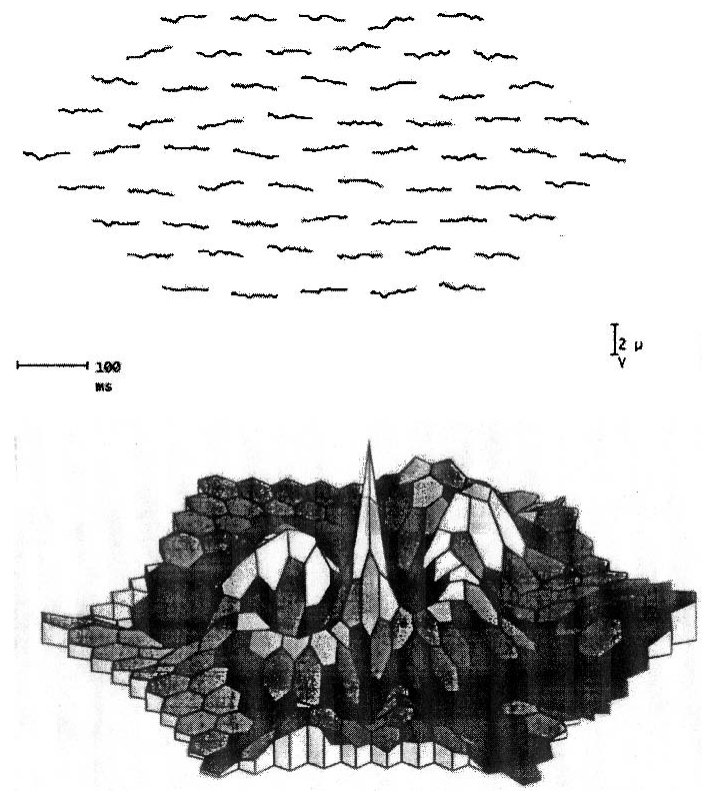


Figura 2.5.7. Señales débiles y pico central erróneo. Paciente con distrofia de conos y respuestas mfERG mínimas, como se desprende de la matriz de rastreo. Sin embargo, la trama 3-D muestra un pico central de artefactos que se genera por el ruido de fondo (similar al ejemplo de la figura 2.5.4) y no representa una señal fisiológica.

##### Promediando y suavizando los artefactos

Un promediado excesivo o suavización de las señales pueden reducir artifactually resolución espacial. Los registros severamente suavizados no pueden revelar lesiones pequeñas, o mostrar bordes marcados de lesión. *Solución*: Evitar suavizado innecesario, y evitar el exceso de promedio con las respuestas de los vecinos.

##### Punto ciego

No es un artefacto que el punto ciego este intensamente menos definido en el mfERG de lo que uno podría esperar. El nervio óptico puede no cubrir completamente cualquier parche de un estímulo, por lo que siempre se obtiene alguna respuesta. Además, se ha planteado la hipótesis de que debido a que la cabeza del nervio refleja la luz más que otras áreas de la retina, hay una respuesta a esta dispersión desde otras partes de la retina (que se atribuye en gráficos mfERG a la mancha ciega).

# Protocolo

## 3.1. Introducción

El electrorretinograma de campo completo (ERG) es un examen electrofisiológico de la función retinal ampliamente utilizado. En 1989, los protocolos estandarizados de la ISCEV en ERG clínicos básicos para que los ERG comparables puedan ser registrados en todo el mundo [1]. Debido a los avances en conocimiento y técnicas, esta estándar ISCEV es revisado periódicamente. Este documento sustituye a la versión de 2008 [2]. En esta revisión, las fuentes y la composición espectral de los estímulos flash y de la luz de fondo en adaptación a la luz se redefinen para incluir estímulos generados por diodos emisores de luz (LEDs) u otras fuentes. Este cambio reconoce formalmente el uso actual generalizado de los estímulos LED, al tiempo que conserva la opción de la estimulación con lámparas de descarga de gas xenón dentro del estándar para todos los estímulos ERG. Esta norma actualizada incluye coordenadas CIE para los estímulos y las definiciones tanto de la fuerza fotópica y escotópica de los estímulos estándar.

La serie del estándar ERG de la ISCEV incluye seis protocolos. Estos se denominan de acuerdo con el estímulo (fuerza de flash en cd.sr.m-2) y el estado de adaptación.

1. ERG por adaptación a la oscuridad 0,01 (una respuesta conducida por bastones de células bipolares ON).
2. ERG por adaptación a la oscuridad 3 (respuestas combinadas derivadas de fotorreceptores y células bipolares, tanto de sistemas de conos como bastones, dominadas por bastones).
3. ERG por adaptación a la oscuridad 10 (respuesta combinada con ondas *a* mejoradas que reflejan la función de los fotorreceptores).
4. Potenciales oscilatorios adaptados a la oscuridad (respuestas principalmente a partir de células amacrinas).
5. ERG por adaptación a la luz 3 (respuestas del sistema de conos; ondas *a* surgidas de conos fotorreceptores y células bipolares OFF de tipo conos; la *onda b* proviene de células bipolares tipo cono ON y OFF).
6. ERG por parpadeo adaptado a la luz de 30 Hz (una respuesta sensible impulsada por la vía de conos).

En esta norma de la ISCEV se describen los procedimientos básicos que permiten registros reproducibles que sean comparables entre laboratorios. Las pruebas ERG estándar se pueden seleccionar como se indica para los pacientes específicos. En ausencia de información clínica suficiente o de experiencia para guiar pruebas selectivas, se recomienda registrar los seis ERG estándar. Se pretende que los protocolos estándar ISCEV ERG sean utilizados ampliamente, pero no para la exclusión de otras pruebas o protocolos que no están cubiertos por esta norma. Se anima a los electrofisiólogos a extender los protocolos de prueba según sea necesario, cuando sea clínicamente relevante para maximizar el valor diagnóstico del ERG para sus pacientes y para los ensayos clínicos. Las pruebas ERG adicionales que se listan en el “Apéndice” se utilizan ampliamente en los laboratorios de electrofisiología clínica. ISCEV publica y mantiene otras normas para pruebas electrofisiológicas clínica: en concreto, los ERG multifocales [3], ERG patrón [4], electrooculogramas [5] y potenciales evocados visuales [6], así como las directrices técnicas y de calibración para las pruebas de electrodiagnóstico clínico [7]. Además, siempre se debe visitar la página web de la ISCEV para observar si no se han generado actualizaciones de dichos estándares (www.ISCEV.org/standards). Por otra parte, la ISCEV recomienda que el equipo de grabación comercial tenga la capacidad de permitir protocolos extendidos para dar lugar a pruebas exhaustivas y especiales además de los protocolos estándar ERG. Este documento no es una norma de seguridad, y no rigen procedimientos particulares para los pacientes individuales ni se definen las calificaciones de las personas que administran o interpretan las pruebas.

## 3.2. Tecnología básica

### 3.2.1. Los electrodos

#### Electrodos de registro

Los electrodos que están en contacto con la córnea, la conjuntiva bulbar o la piel en los párpados inferiores se utilizan como electrodos activos conectados a la entrada positiva para el registro del ERG estándar de campo completo. La superficie de la córnea debe ser protegida durante el uso con una solución conductora iónica no irritante y no alergénico (es decir, lentes de contacto soluciones o lágrimas artificiales que contienen cloruro de sodio y no más viscoso que el 0,5% de celulosa de metilo humectante). La anestesia tópica es necesario para los electrodos de lentes de contacto, pero puede no ser necesario para otros tipos de electrodos corneales y conjuntivales. La amplitud de la señal ERG es inferior con electrodos de lentes sin contacto. Para los ERG grabado con el electrodo activo en el párpado inferior cerca del ojo, el promedio de señal puede ser necesaria para obtener respuestas fiables en los ojos típicos. Los electrodos de la piel en el párpado inferior pueden no ser adecuados para evaluar los ERG patológicos atenuados. Esos registros de ERG deben dominar los requisitos técnicos de su electrodo de elección para obtener un buen contacto, el posicionamiento del electrodo constante, la impedancia del electrodo aceptable y para asegurarse de que las formas de onda sean comparables a los ERG estándar de la ISCEV. Los rangos de amplitud de referencia para los ERG estándar son específicos del electrodo. Re escalar datos para los diferentes tipos de electrodo es aceptable para casos ocasionales pero no debe ser utilizado de forma rutinaria en lugar de los datos específicos del electrodo.

#### Los electrodos de referencia

Los electrodos de referencia (conectados a la entrada negativa del sistema de grabación) se pueden incorporar en el conjunto de lente-espéculo de contacto en contacto con la conjuntiva. Estos ''electrodos bipolares” son la configuración más estable aunque los electrodos eléctricamente “monopolares” de lentes de contacto con una referencia separada generalmente producen mayores amplitudes. Alternativamente, los electrodos de la piel colocados cerca de cada borde orbital temporal del ojo se utilizan como electrodo de referencia para el ojo correspondiente. Evitar la colocación de electrodos de referencia sobre las masas musculares (para minimizar la interferencia de electromiograma). Otras posiciones de referencia se apartan de esta norma.

#### Electrodo común

Un electrodo separado debe ser conectado a un punto indiferente y conectado a la entrada común del sistema de grabación. Las ubicaciones típicas son el lóbulo de la oreja, mastoides o la frente.

#### Características de los electrodos de piel

La impedancia de los electrodos de piel medidos entre 10 y 100 Hz deberá ser normalmente de 5 kΩ o menos [7]. Idealmente, los electrodos de registro y de referencia deben tener niveles de impedancia similares. Para los electrodos de piel, la piel debe ser preparada por limpieza, colocando luego una pasta conductora adecuada o gel (si no es parte del electrodo) aplicada para asegurar buenas conexiones eléctricas.

#### Estabilidad del electrodo

En ausencia de estimulación de la luz y el movimiento ocular, la tensión de la línea de base debe ser estable. Los electrodos de referencia deberían ser preferentemente no polarizables para lograr dicha estabilidad.

#### Limpieza del electrodo

La grabación de ERG implica la exposición de los electrodos corneales a las lágrimas, y existe la posibilidad de una exposición de los electrodos de piel a la sangre si hay alguna rotura en la superficie de la piel. Los electrodos (si no son desechables) deben ser adecuadamente limpiados y esterilizados después de cada uso para evitar la transmisión de agentes infecciosos. El protocolo de limpieza debe seguir las recomendaciones del fabricante y cumplir con las normas locales vigentes para los dispositivos que entran en contacto con la piel y las lágrimas.

### 3.2.2. Estimulación

#### Difusión de la luz

La estimulación de campo completo (ganzfeld) debe ser utilizada para proporcionar una luminancia uniforme en todo el campo visual del sujeto de prueba. Esto se consigue normalmente utilizando una cúpula o esfera de integración. Se debe proporcionar un lugar de fijación, y los estimuladores deben permitir la observación del ojo para controlar la fijación. Es responsabilidad de los fabricantes y usuarios verificar la estimulación que cumpla con el requisito de campo completo de esta norma.

#### Duración del estímulo

Esta norma ISCEV se basa en estímulos flash con duraciones que son más cortas que el tiempo de integración de cualquier fotorreceptor. La duración máxima aceptable de cualquier flash de estímulo es de 5 ms.

#### Longitud de onda del estímulo

Para lograr la estimulación estandarizada de la retina, el espectro del estímulo flash debe tener en cuenta la diferente sensibilidad espectral de los conos y bastones. El flash estándar y el fondo se definen como visiblemente blancos, con coordenadas CIE cerca de x = 0.31, y = 0.32 (Nota 1). Ambos niveles de luminancia fotópica y escotópica se especifican para cada estímulo, aunque la convención establecida de nombrar el estímulo de acuerdo con su luminancia fotópica se ha mantenido en esta norma. Es importante cumplir con los niveles escotópicos para los ERG bastón-dominantes (es decir, condiciones de adaptación a la oscuridad). Los filtros de color o LED de colores se pueden utilizar para mejorar la separación de los ERG de conos y bastones, pero estos no son parte del estándar ISCEV ERG (Nota 2).

#### Fuerza del estímulo

Los estímulos flash se cuantificaron por su luminosidad integrada en el tiempo, medido en la posición del ojo (Nota 3). Esta es una medida de la energía luminosa por unidad de ángulo sólido (estereorradián) por unidad de área. Las unidades son candelas-segundos por metro cuadrado (cd.sr.m-2). Las fortalezas del estímulo que caen dentro de los rangos especificados en la Tabla 1 son compatibles con el estándar ISCEV.

Los estímulos flash y la luz de fondo adaptar-se utilizan para los ERG estándar ISCEV describen a continuación son los siguientes:

* El estímulo flash débil es de 0,010 cd.sr.m-2 fotópicas con una fuerza de 0.025 cd.sr.m-2 escotópicas.
* El estímulo flash estándar es de 3,0 cd.sr.m-2 fotópicas con una fuerza de 7,5 cd.sr.m-2 escotópicas.
* El estímulo flash estándar fuerte es 10 cd.sr.m-2 fotópicas con una fuerza escotópica de 25 cd.sr.m-2.
* La adaptación a la luz y la luminancia de fondo son de 30 cd.sr.m-2 fotópicas con una fuerza de 75 cd.sr.m-2 escotópica.

#### Nomenclatura

Los nombres del estímulo (y la respuesta) son descritos por el estado de adaptación a la luz y la fuerza del flash en cd.sr.m-2 fotópicas con el entendimiento de que la fuerza en cd.sr.m-2 escotópicas será 2,5 veces superior. Por ejemplo, la respuesta adaptada a la oscuridad para 3,0 cd.sr.m-2 se llama “ERG 3 por adaptación a la oscuridad”. Además, los términos descriptivos (como “respuesta de bastón”, “respuesta mixta de conos-bastones”, etc) pueden utilizarse cuando no hay ambigüedad. Este esquema de nombres también debe aplicarse a los estímulos no estándar, que se utiliza en los protocolos extendidos o debido a las limitaciones del equipo (por ejemplo, si los flashes de 15 cd.sr.m-2 se utilizan en condiciones de adaptación a la oscuridad se debe especificar como “ERG 15 por adaptación a la oscuridad”).

Ajuste de la fuerza del estímulo y luminancia de fondo: se requieren métodos para modificar tanto el estímulo como la luminancia de fondo. Los sistemas de estimulación deben ser capaces de producir flashes por encima de un intervalo de al menos 3 unidades logarítmicas en la fuerza en pasos de no más de 0,3 unidades logarítmicas. Cambiar la fuerza del estímulo o la luminancia de fondo no debe cambiar la composición espectral del flash o de la luz de fondo. Los requisitos de estímulo y de fondo para una serie de otras pruebas de ERG serán más extensos, por lo que la ISCEV recomienda que los fabricantes de equipos superen este nivel mínimo.

#### Calibración del estímulo y el fondo

El usuario o fabricante debe documentar la fuerza de cada estímulo flash basado en las mediciones realizadas con un fotómetro de integración capaz de grabar la salida total de destellos muy breves y ubicarla en la localización del ojo. El fotómetro debe cumplir con las normas internacionales para las mediciones fotométricas y tener filtros apropiados para las mediciones basadas tanto en las funciones de rendimiento de luminosidad fotópica y escotópica (curvas de luminosidad). Si se decide utilizar estimuladores estroboscópicos que utilizan lámparas de descarga, la salida de luz por destello puede variar con la frecuencia de repetición de destello; por lo tanto, pueden ser necesarias calibraciones separadas para un solo flash y para los estímulos de parpadeo rápido. En el caso de estimuladores LED, la salida no varía significativamente con la tasa de repetición. La luminancia de fondo se calibra en la posición del ojo con un fotómetro en modo no-integración. Los usuarios pueden consultar las directrices técnicas actuales de la ISCEV para más detalles [7]. Los fabricantes de estimuladores deben suministrar o especificar un fotómetro adecuado y/o dispositivos para verificar las calibraciones de sus equipos.

La salida del estímulo y la luz de fondo pueden cambiar con el tiempo debido al envejecimiento u otros cambios en las fuentes de luz, en el suministro de energía, sistemas de atenuación o en la reflectancia o transmisión de la cúpula Ganzfeld. La responsabilidad de la estabilidad electrónica y advertencias acerca de las fuentes de inestabilidad corresponde a los fabricantes de los equipos; la responsabilidad de verificar la calibración recae en los usuarios. La frecuencia con la que debe ser verificada la calibración de los flashes y fondos varía de un sistema a otro. La calibración correcta sólo puede suponer entre períodos de mediciones estables.

### 3.2.3. Aparatos electrónicos de control

#### Aislamiento del paciente

El paciente debe ser aislado eléctricamente de acuerdo con las normas vigentes en materia de seguridad de los sistemas de grabación biológicos clínicos en el país del usuario. En ausencia de requisitos nacionales más estrictos, el equipo debe cumplir con las especificaciones definidas en la norma general para equipos electromédicos IEC 60601-1.

#### Características de las entradas

El sistema de registro debe tener una impedancia de entrada mínima de 10 MΩ (preferiblemente mucho más alto) y ser capaz de manejar la gran constante de desplazamiento de tensiones que pueden ser introducidos por los electrodos. Idealmente, el sistema de grabación permitirá que los electrodos se conecten mediante cables blindados.

#### Ancho de banda y frecuencia de muestreo

El sistema debe registrar frecuencias que incluyan al menos el intervalo de 0,3 a 300 Hz. Para evitar una pérdida de información, el ERG debe digitalizarse a una velocidad de 1 kHz o superior en cada canal después del filtrado antialiasing apropiado. El digitalizador debe tener una resolución efectiva de 1 µV o menos (es decir, un conversor A/D de al menos 22 bits para VREFH = 3,3 V).

#### Otros filtrados

El sistema de grabación debe ser capaz de filtrar las señales ERG para fines tales como la extracción de potenciales oscilatorios ya sea antes de la grabación de ellos o en repetición. El filtro pasa banda para las grabaciones estándar de ERG según la ISCEV, excepto los potenciales oscilatorios, es amplio. Las frecuencias de corte (3 dB de atenuación) se especifican en un rango de <0,3 a >300 Hz. Las características de roll-off de los filtros no están estandarizados por ISCEV, pero los usuarios deben ser conscientes de que cualquier cambio en las características o la frecuencia de corte de cualquiera de los filtros pasa alto o pasa bajo cambiarán los tiempos de amplitud y de picos de los ERG. Idealmente, las comparaciones entre los ERG deben realizarse con señales filtradas exactamente de la misma manera o mediante correcciones post hoc para las diferencias en las características del filtro.

Los filtros “notch” que eliminan una banda relativamente estrecha de frecuencias se han utilizado en ocasiones para mejorar la apariencia de los registros estropeados por el corte de la red eléctrica u otras señales periódicas de interferencia. Tales filtros distorsionan la forma de onda y no deben utilizarse. Por ello, para la eliminación de interferencias de este tipo, son más adecuados los métodos post hoc.

#### Visualización del ERG en tiempo real

Es importante que las formas de onda ERG se muestren durante la prueba de modo que el operador pueda supervisar continuamente la estabilidad y hacer ajustes durante el procedimiento de prueba si fuera necesario.

#### Calibración/recalibración del equipo de grabación

La sincronización básica de la estimulación y grabación del equipo se ajusta a través de los relojes del sistema, los cuales deben tener una precisión de ± 0,01%. La tensión para la conversión digital de las señales registradas debe tener una precisión de ± 2%. Estas características inicialmente deben ser garantizadas por el fabricante del equipo y es poco probable que cambie a menos que haya un fallo electrónico. Como tales defectos pueden no ser inmediatamente obvios, la sensibilidad y la sincronización de tensión se debe comprobar de vez en cuando de acuerdo con el asesoramiento del fabricante.

#### Almacenamiento de datos ERG

Los registros digitales de todos los ERG se deben almacenar. Siempre que sea posible, estos deben ser registrados de forma individual en lugar de sólo promediados, ya que pueden estar distorsionados por el artefacto. La duración de cada registro almacenado debe ser de al menos 300 ms (incluyendo una línea de base pre-estímulo de 50 ms) para facilitar la extracción post hoc de la interferencia, aunque los rastros más cortos se pueden mostrar en los informes. Cada estándar ERG debe ser replicado al menos una vez, y cada repetición debe ser almacenada.

#### Promediado

El promediado no se requiere normalmente para grabar los ERG cuantificables con electrodos de ERG estándar en ojos típicos. Sin embargo, un promedio de un pequeño número de ERG reduce la variabilidad y el ruido de fondo y facilita la estimación de la variabilidad. El promediado puede ser esencial para identificar y medir los ERG patológicos de baja amplitud. El rechazo de artefactos debe ser parte de cualquier sistema de promediado.

## 3.3. Protocolo clínico

### 3.3.1. Preparación del paciente

#### Dilatación pupilar

Las pupilas deben tener una dilatación máxima, cuyo tamaño se señaló antes y al final de la grabación de los ERG en este estándar.

#### Adaptación previa a la luz o la oscuridad

Las condiciones de grabación descritas a continuación especifican 20 minutos de adaptación a la oscuridad antes de la grabación del ERG 10 adaptado a la oscuridad, y 10 minutos de adaptación a la luz antes de grabar los ERG adaptados a la luz. La elección de comenzar o no el estudio bajo condiciones de adaptación a la oscuridad o a la luz es aprobada por el usuario, siempre que se cumplan estos requisitos de adaptación. Después de la adaptación a la oscuridad, débiles destellos deben ser presentados antes de los estímulos más fuertes del flash para minimizar los efectos de la adaptación parcial a la luz de exposición a destellos durante la secuencia de prueba. Si se usan electrodos tipo lentes de contacto, el tiempo de uso puede ser minimizado por la adaptación a la oscuridad antes de insertar los electrodos bajo luz roja tenue al final del período de adaptación. Esta luz roja debe ser usada con cuidado y en un breve período adicional de adaptación a la oscuridad (aproximadamente 5 minutos) recomendado para la recuperación luego de la inserción de la lente.

#### Pre-exposición a la luz

La angiografía con fluoresceína, fotografía de fondo y otras técnicas de imagen utilizando sistemas de iluminación fuertes deben evitarse directamente antes de la prueba de ERG. Si se han realizado estos exámenes, se recomienda por lo menos un tiempo de recuperación de 30 minutos en iluminación ambiente normal antes de comenzar las pruebas de ERG.

#### Fijación

Los pacientes deben ser instruidos para mirar a un punto de fijación incluido en la cúpula de estímulo. Una mirada estable es importante de modo que los movimientos oculares no alteren la posición del electrodo en el ojo, produciendo artefactos eléctricos, o permitiendo el bloqueo de la luz por el electrodo o el párpado. Los puntos de fijación no deben interferir con la adaptación a la oscuridad (por ejemplo, un LED rojo débil con una longitud de onda de 625 nm o más para las grabaciones adaptadas a la oscuridad) y debe ser visible en condiciones de adaptación a la luz (por ejemplo, por ajuste a una luz de fijación más fuerte o usando un punto de fijación oscuro). Los pacientes que no pueden ver el blanco de fijación pueden ser instruidos para mirar hacia adelante y mantener sus ojos fijos. Los pacientes deben ser monitorizados para evaluar el cumplimiento y debe tenerse en cuenta cualquier dificultad que puedan presentar en la apertura de los ojos o en la fijación.

#### ERG 0,01 por adaptación a la oscuridad (respuesta del sistema de bastones)

Adaptar al paciente a la oscuridad durante un mínimo de 20 minutos (o más si el paciente había estado expuesto a luz inusualmente brillante) antes de la grabación del ERG adaptado a la oscuridad. El ERG 0,01 es normalmente la primera señal a medir después de la adaptación a la oscuridad, ya que es la más afectada por la adaptación a la luz. El estímulo es un destello blanco débil de 0,010 cd.sr.m-2 fotópicas con una fuerza de 0,025 cd.sr.m-2 escotópicas. El intervalo mínimo entre destellos es de 2 segundos.

#### ERG 3 por adaptación a la oscuridad (respuestas combinadas del sistema cono-bastón)

Este es típicamente registrado directamente después de la grabación del ERG 0,01 anterior, ya que la adaptación de luz por el estímulo más débil no es clínicamente significativa. La fuerza del flash estándar es de 3,0 cd.sr.m-2 fotópicas con una fuerza de 7,5 cd.sr.m-2 escotópicas. Debe haber un intervalo de al menos 10 segundos entre los estímulos de flash.

#### ERG 10 por adaptación a la oscuridad (respuestas combinadas para estímulo fuerte)

El fuerte flash estándar es de 10 cd.sr.m-2 fotopicas, con una fuerza escotópica de 25 cd.sr.m-2 escotopicas. En comparación con el ERG 3, este se caracteriza por una mayor *onda a* con una mejor definición del tiempo de pico, mayor distinción de formas de onda negativas del ERG (para el reconocimiento de las enfermedades con reducción de la *onda b* relativa) y amplitudes mejoradas de los potenciales oscilatorios. Además, este ERG puede dar respuestas más fiables en pacientes con medios opacos o retina inmadura. El estímulo 10 de adaptación a la oscuridad no satura el ERG pudiendo ser útiles flashes aún más fuertes (Nota 4).

El ERG 10 por adaptación a la oscuridad debe registrarse después del ERG 3.0 por adaptación a la oscuridad, con un intervalo de al menos 20 segundos entre los estímulos de flash fuertes.

Los potenciales oscilatorios 3 por adaptación a la oscuridad: los potenciales oscilatorios estándar por adaptación a la oscuridad se registraron a partir de los ojos adaptados a la oscuridad, usando un estímulo flash estándar de 3.0 cd.sr.m-2 y pueden registrarse por separado o derivados desde formas de onda ERG por filtrado post hoc. Las formas de onda de los potenciales oscilatorios se obtienen utilizando un filtro pasa alto para eliminar las frecuencias de 75 Hz hacia abajo de la forma de onda del ERG. El ajuste del filtro pasa bajo de 300 Hz o superior es el mismo que para otras pruebas ERG. Hay varios tipos de filtros pasa altos analógicos y digitales, que influyen en la forma de onda del potencial oscilatorio (por ejemplo, la introducción de cambios de fase o de oscilaciones *‘ringing’*). El método más simple de filtrado digital es eliminar todos los componentes de Fourier del ERG con frecuencias <75 Hz. Otros filtros pasa altos con una frecuencia de corte entre 75 y 100 Hz se pueden usar si sus características se encuentran documentadas en el informe. Más información sobre la selección y el uso del filtro se presenta en las directrices técnicas de la ISCEV [7].

Las características de los potenciales oscilatorios cambian después del primer estímulo y las amplitudes aumentan con intervalos interestímulo más largos. Sólo los PO para el segundo flash y los siguientes deben conservarse o promediarse. Para potenciales oscilatorios estándar adaptados a la oscuridad, debe haber un mínimo de 10 segundos entre los estímulos flash.

#### ERG 3.0 por adaptación a la luz (respuesta de conos por flash simple)

Se requiere un mínimo de adaptación a la luz de 10 minutos en los pacientes adaptados a la oscuridad para lograr ERGs (por adaptación a la luz) estables y reproducibles y para maximizar la respuesta del sistema de conos y minimizar la entrada de bastones. La fuerza de la luminancia de fondo de campo completo para la adaptación estándar a la luz es de 30 cd.sr.m-2 fotópicas (con una fuerza escotópica de 75 cd.sr.m-2 escotópicas) medida en la posición del ojo. Después de la adaptación a la luz, los flashes estimulantes estándar de 3.0 cd.sr.m-2 fotópicas se aplican en el fondo adaptado a la luz con al menos 0,5 segundos entre flashes.

#### ERG por adaptación a la luz con estímulo parpadeante de 30 Hz

Los ERG generados por estímulos parpadeantes reflejan selectivamente la actividad del sistema de conos, ya que los bastones no responden a esta tasa de estímulos. Estos deben ser obtenidos en las mismas condiciones de adaptación a la luz como el ERG 3 por adaptación a la luz, usando un tren de estímulos flash breves de campo completo (<5 ms), de 3,0 cd.sr.m-2. Los flashes deben presentarse a una velocidad de aproximadamente 30 estímulos por segundo (rango aceptable 28 – 33 Hz). Es conveniente elegir una frecuencia constante, evitando múltiplos exactos de la frecuencia de línea (50 Hz) o de los instrumentos locales; además se debe poder escoger una frecuencia para facilitar el análisis en el dominio de la frecuencia (Nota 5). La respuesta a la aparición inicial de un estímulo parpadeante incluye una respuesta transitoria de los bastones adaptados a la luz; por lo tanto, las primeras ondas de la respuesta deben ser desechadas de manera que se alcancen las condiciones estables. Además, se pueden incorporar pausas ≥300 mS entre ráfagas cortas de parpadeo para que esta forma de onda inicial pueda ser identificada.

Algunas lámparas de descarga de xenón no producen una salida completa mientras parpadean a estas altas frecuencias y la separación del ajuste o calibración del estímulo fuerte puede necesitarse para conformar el estándar.

### 3.3.2. ERG análisis y presentación de informes

#### ERG por flash simple

La amplitud de la *onda a* y *onda b*, y el tiempo de pico (también llamado tiempo implícito) se miden cuando se presentan para todos los ERG de flash simple excepto los potenciales oscilatorios. De acuerdo con la convención actual, la amplitud de la *onda a* se mide a partir de la media, pre-estímulo de línea de base para el canal de la *onda a*. La amplitud de la *onda b* se mide desde la depresión de la *onda a* hasta el pico de la *onda b*; los tiempos de pico de la *onda a* y la *onda b* se miden desde el momento que se aplica el flash hasta el pico de la onda (ver Fig. 1). El tiempo de pico de ondas *a* y *b* dependerá de la duración del flash si se mide desde el comienzo del flash estímulo. Este efecto es suficientemente pequeño para que pueda ser ignorado cuando la duración del estímulo es menos de 1 mS, por ejemplo cuando los estímulos son generados por un tubo de flash de xenón. Para flashes más largos de hasta 5 mS, tales como los generados por los LED, el tiempo hasta el pico debe ser medido desde el punto medio del flash para compensar el efecto de la duración del estímulo en los tiempos de pico (Nota 6).

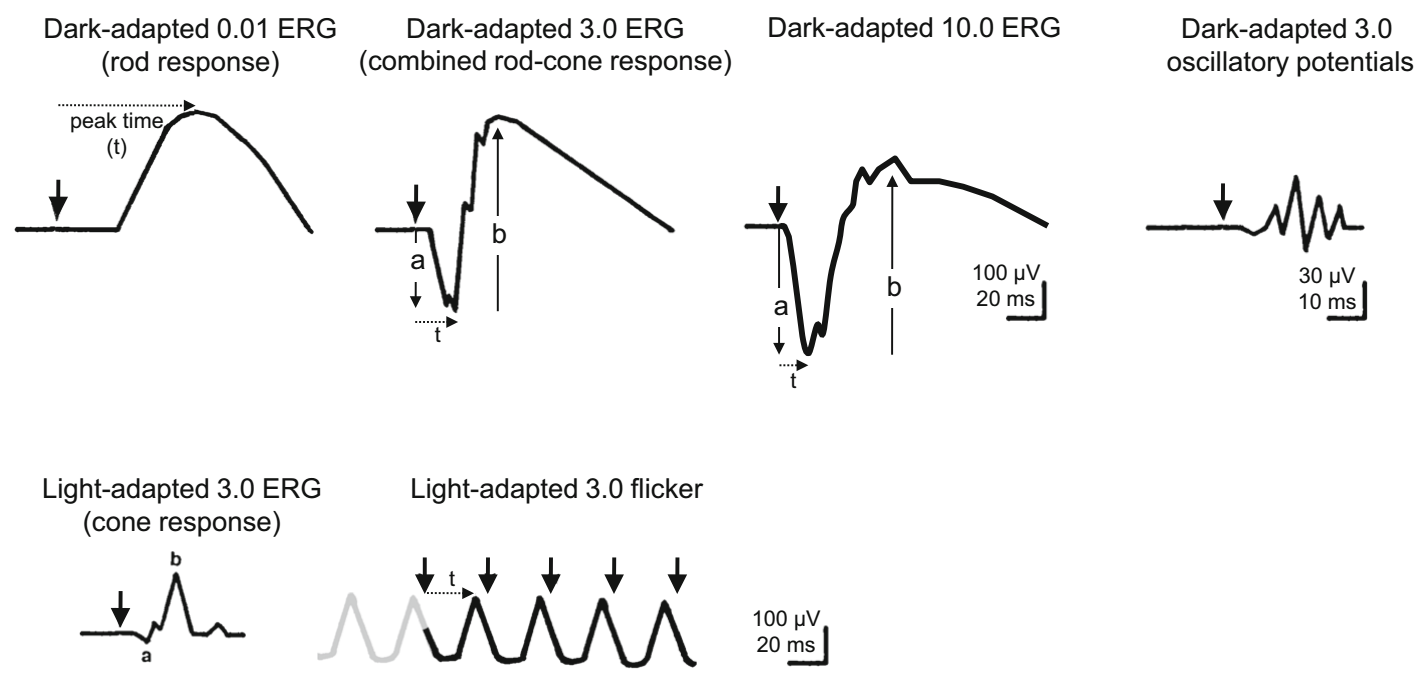


Figura 3.3.1. Diagrama de los seis ERG básicos definidos por el estándar ISCEV. Estas formas de onda son solamente ejemplos y no pretenden indicar valores típicos, mínimos o máximo. Puntas de flecha negritas indican los estímulos flash; flechas sólidas ilustran las amplitudes de onda a y la onda b, flechas de puntos ejemplifican cómo medir el tiempo de pico (t, tiempo implícito o tiempo de pico).

#### Potenciales oscilatorios

Existe un considerable debate acerca de cómo medir y describir los potenciales oscilatorios (Nota 7). Su apariencia es altamente dependiente del estado de adaptación y las características del filtro pasa alto utilizado para separarlos del ERG. Por lo general hay tres picos principales positivos a menudo seguidos de un cuarto pico más pequeño. Simplemente observando la presencia y la forma de onda de los picos de POs y su relativa normalidad a los datos de referencia del laboratorio puede ser adecuada para la mayoría de aplicaciones clínicas.

#### ERG por estimulación parpadeante

La amplitud de un ERG por estimulación parpadeante se mide desde el valle hasta el pico de una onda típica. Se debe tener cuidado para evitar la amplitud más grande o más pequeña pico-valle. La respuesta a la aparición inicial del parpadeo, que puede parecerse a un solo flash ERG, siempre debe ser excluida. El tiempo de pico del ERG por estímulo parpadeante se mide desde el punto medio del estímulo flash al siguiente pico (evitando la forma de onda inicial). Es útil para varias mediciones típicas promedio para determinar el momento de pico y amplitud de este ERG. Como alternativa, estos ERG pueden ser examinados en el dominio de la frecuencia (Nota 5).

#### Los valores de referencia (rangos normales)

Cada laboratorio debe establecer o confirmar los valores típicos de referencia para sus propios equipos, protocolos de grabación y la población de pacientes prestando atención a los tamaños de muestra apropiados. Debido a que algunos parámetros ERG (tales como la amplitud de la *onda b*) no se distribuyen normalmente, las interpretaciones basadas en la desviación estándar pueden ser engañosas. El valor de la mediana (no la media) se debe utilizar para definir los valores de referencia, y los valores reales de cada lado de la mediana que enmarquen 90 por ciento del rango de referencia de ERG (en otras palabras, el 5to y 95vo % debe ser determinado por tabulación directa de los ERG).

Se debe tener en cuenta que las amplitudes del ERG aumentan rápidamente en la primera infancia y disminuyen con la edad en los adultos, la mayoría en forma sustancial en las poblaciones de edad avanzada. Por lo tanto, los valores de referencia deben ser ajustados por edad. La pigmentación ocular y los altos errores refractivos también pueden afectar a las amplitudes del ERG y los pacientes con características que difieren de los datos de referencia deben tenerse en cuenta. A pesar que la miopía por sí sola no compromete gravemente los ERG, los pacientes con alta miopía a menudo tienen amplitudes ERG por debajo de los límites inferiores del típico rango de referencia. Aunque la variación circadiana del ERG es pequeña en condiciones ordinarias de grabación, el tiempo de grabación de ERG debe tenerse en cuenta en todos los registros.

Todos los informes ERG, incluidos los informes de las técnicas de ERG no estándar (ya sea para registros locales o para su publicación) deben incluir valores de referencia que muestren el rango de la normalidad. Algunos fabricantes distribuyen los valores de referencia para los protocolos que proporcionan, y han sido publicadas varias series que dan datos normativos. Estos pueden ser útiles para la evaluación de los ERG registrados de poblaciones similares usando técnicas similares coincidentes con los parámetros del estímulo y de grabación.

#### Informes de ERG estándar ISCEV

La estandarización de los informes ERG es fundamental para el objetivo de contar con datos comparables en todo el mundo. Los informes ERG deben incluir formas de onda reproducibles representativas de cada uno de los ERG estándar mostrados con calibraciones de amplitud y tiempo y etiquetados con variables de estímulo y el estado de adaptación a la luz o la oscuridad. A su vez, los ERG trazados deben incluir por lo menos 20 mSeg anteriores de línea de base al estímulo para los ERG de flash simple y, cuando sea posible, debe indicar el tiempo de estímulo para cada flash con una marca o línea (tanto para parpadeo como para ERG de flash simple). Al menos, se deben mostrar dos respuestas de cada condición de estímulo para demostrar el grado de consistencia o variabilidad. La luminancia integrada en el tiempo (cd.sr.m-2 fotópica) de los destellos estímulo y la luminancia de fondo (cd.sr.m-2 fotópica) se debe dar en valores absolutos. En general, los valores de luminancia escotópica integrada en el tiempo (cd.sr.m-2 escotópica) se presume que caen dentro de los estándares ISCEV. Idealmente, los valores escotópicos también deben especificarse al informar los ERG por adaptación a la oscuridad.

Los informes deben indicar explícitamente si hubo cualquier desviación de corriente del estándar ISCEV en las técnicas o los parámetros de grabación. Todos los informes deben dar los resultados del paciente enumerados junto con los valores de referencia y los rangos. Por último, los informes deben tener en cuenta el momento de la prueba, diámetros de pupilas y el tipo y posición del electrodo corneal. Las condiciones no especificadas por la norma como la sedación o anestesia, y el nivel de cumplimiento también deben ser documentadas.

#### Grabación de ERG pediátrico

Los ERG se pueden grabar de bebés y niños pequeños. Los ERG maduran durante la infancia, y las señales de los niños muy pequeños, deben interpretarse con precaución. Los niños muy pequeños o prematuros requieren protocolos y normas de grabación especiales fuera de esta norma ISCEV. Más tarde en la infancia y la niñez, los ERG se acercan a las formas de onda y amplitudes de adultos. En concreto, ERG de amplitudes algo más bajas y tiempos de pico más largos se aplican generalmente por debajo de 6-12 meses de edad en condiciones de adaptación a la oscuridad, y por debajo de los 2-3 meses de edad en condiciones de adaptación a la luz. Por debajo de 6 meses de edad, el ERG 3 por adaptación a la oscuridad puede estar mal definido en lactantes sanos; los ERG 10 por adaptación a la oscuridad están bien definidos en los lactantes sin enfermedad de la retina en todas las edades.

Muchos pacientes pediátricos pueden ser estudiados sin sedación o anestesia general. Los bebés pequeños pueden ser envueltos si es necesario. En niños que no colaboran (en especial las edades de 2-6 años para los que la contención puede ser difícil) puede ser necesario utilizar sedación oral. Las directrices médicas se deben seguir con respecto a las indicaciones, riesgos, requisitos de control médico y la elección de un sedante/relajante versus anestesia general. Teniendo en cuenta la variabilidad de los registros pediátricos, existirá por lo general poco efecto sobre la amplitud o la forma de onda del ERG con sedación o anestesia ligera, aunque la anestesia completa puede afectar los ERG.

Electrodos de lentes de contacto con espéculos de párpados son adecuados para los bebés y los niños pequeños, y se requerirán tamaños pediátricos. Otros tipos de electrodos corneales y de piel varían en su aplicabilidad a los niños; mayor comodidad puede ser compensada por un mayor movimiento de los electrodos o amplitudes ERG más pequeñas. Para reducir al mínimo el artefacto, se requiere un cuidado especial con los niños para controlar la posición del electrodo y el cumplimiento.

Los ERG pediátricos idealmente deben ser comparados con los de sujetos típicos de la misma edad, aunque puede haber pequeños datos de referencia disponibles. Debido a que el movimiento y la mala fijación pueden generar registros pediátricos variables, deben registrarse varias repeticiones de cada ERG para reconocer formas de onda reproducibles y elegir los mejores ejemplos. Los protocolos estándar pueden necesitar de vez en cuando ser abreviados para obtener ERG más críticos para la pregunta diagnóstica bajo investigación. Además, destellos más fuertes pueden ayudar a revelar los ERG poco desarrollados. Los informes deben tener en cuenta el grado de cooperación y los medicamentos que se usan.

#### Notas

1. Los estímulos estándar históricos de la ISCEV tomaron en cuenta las sensibilidades espectrales de los conos y bastones estipulando que los estímulos estándar deben ser proporcionados por tubos de flash de xenón definiendo así (con la suficiente precisión) el espectro del patrón de banda ancha de los destellos. Más recientemente, las normas ISCEV especifican los flashes estándar visiblemente blancos, de amplio espectro, como estímulos flash con una temperatura de color cerca de 7000 K. Los LED tienen varias ventajas sobre las lámparas de descarga: una salida más consistente entre los flashes (incluyendo destellos presentados en frecuencias altas), menores requisitos de energía, menor generación de calor, no ultravioleta o salida de infrarrojos, y la salida más estable a largo plazo (es decir, evitar el deterioro común a otros tipos de fuentes de luz). Sin embargo, los LED están disponibles para producir luz con una amplia gama de distribuciones espectrales y pueden diferir sustancialmente en dicho aspecto de las lámparas de descarga típicas. Esto significa que los destellos producidos por los LED y lámparas de xenón que son de la misma fuerza para los conos pueden ser muy diferentes para los bastones y se debe tener cuidado para asegurar que se alcanzan los valores de luminancia escotópica apropiados cuando se utilizan LEDs como fuente de luz. Las luminancias generadas por LED de 0,01, 3,0 y 10,0 cd.sr.m-2 fotópicas puede no producir equivalentes escotópicas dentro del rango estándar (Tabla 1) bajo condiciones de adaptación a la oscuridad.

La nueva definición especifica coordenadas CIE, las cuales reconocen que el espectro real de la luz generada por el LED será muy diferente de un radiador de cuerpo negro. La relación escotópica/fotópica de un radiador de cuerpo negro con una temperatura de color de 7000 K es 2,5. Esta proporción de 2,5 (intervalo aceptable 2,25 – 2,75) se debe aplicar a la definición basada en coordenadas CIE. Para medir la relación escotópica/fotópica de los flashes, se pueden hacer mediciones separadas usando un fotómetro de integración con filtros fotópicos y escotópicos o proporcionar dicha información a través del sistema de calibración de los fabricantes. En general, los flashes compatibles con la definición histórica cumplen plenamente con esta revisión del estándar de la ISCEV a menos que sus espectros de longitud de onda sean inusuales. El flash ISCEV estándar (x = 0,31 – y = 0,32) es similar al iluminante C estándar CIE que se describe como “luz solar indirecta”.

1. Los estímulos cromáticos ofrecen ciertas ventajas en la separación de cono y bastones del ERG. La calibración y la descripción de los ERG para los estímulos de color están más allá del ISCEV estándar básico.
2. La palabra “intensidad” es ampliamente utilizada para describir la fuerza de los flashes utilizados para el ERG. Sin embargo, en la fotometría, la “intensidad” cuantifica la potencia direccional por unidad de superficie, generalmente a partir de una fuente puntual. La luminancia es el término apropiado para estado estacionario (por ejemplo, la luz de fondo) de superficies (por ejemplo, puertos de salida ganzfeld) usado para los ERG. La luminancia integrada en el tiempo es el término apropiado para flashes breves, que es la integral de la luminancia sobre la duración del flash; por simplicidad, usamos “fuerza” aquí.
3. Fuertes destellos adicionales de hasta 200 cd.sr.m-2 incrementan la amplitud de una *onda a* acercándola a la saturación. Aunque no se definen como ERGs estándar ISCEV, los destellos fuertes se pueden utilizar para los ojos con amplitudes ERG atenuadas y para aquellos con *ondas a* pobremente definidas.
4. El análisis de dominio en frecuencia del ERG *flicker* es útil para detectar señales ERG atenuadas y proporciona información que puede ser fisiológicamente relevante acerca de la magnitud y fase de los componentes armónicos de la respuesta. La magnitud y fase de los componentes armónicos individuales no se relacionan directamente con la amplitud y los tiempos de pico del ERG *flicker* (a menos que la magnitud y la fase de todos los componentes armónicos se tenga en cuenta).
5. Como regla general, los componentes con tiempos de pico menores que tres veces la duración del flash difieren de la información generada por un estímulo de microsegundos de duración. El supuesto de la equivalencia de los tiempos de pico evocados por estímulos en milisegundos y microsegundos se basa en la coincidencia del flash breve con el punto medio del estímulo de flash más largo. Mediante el disparo en el punto medio del flash o restando la mitad de la longitud del flash de los tiempos de pico, el efecto de la duración del estímulo sobre el tiempo de pico puede ser cancelado. No todos los efectos de la duración del estímulo se eliminan usando un disparador (trigger) de punto medio; la pendiente del borde de subida del pico (leading edge) de la *onda a* varía con la duración del estímulo y el punto medio de activación no se aplica a los ERG *flicker* donde son necesarios datos de referencia separados para estímulos de milisegundos y microsegundos.
6. Un índice general de la amplitud del potencial oscilatorio se puede obtener sumando las mediciones de amplitud de los tres picos principales, preferentemente de líneas que abarcan las bases de los canales adyacentes, pero de forma alternativa de canales adyacentes directamente (para permitir el uso de cursores de medición con los sistemas digitalizados). Algunos autores aconsejan la medición de los diferentes picos.

MEJORAS/IDEAS FUTURAS

Para conocer y probar los protocolos de pruebas ampliadas y nuevas pruebas para maximizar el valor diagnóstico del ERG por sus pacientes.

1. *PONER REFERENCIA PARA DEFINICIÓN DE ESPÉCULO OCULAR* [↑](#footnote-ref-1)
2. Conjunto de todos los puntos, líneas o superficies que satisfacen una necesidad determinada. [↑](#footnote-ref-2)