

**FACULTAD DE MEDICINA.
DEPARTAMENTO BIOLOGÍA DE SISTEMAS.**



Universidad de Alcalá

**Actualización de los
procedimientos de evaluación
funcional visual mediante técnicas
electrofisiológicas y su aplicación
al diagnóstico clínico**

TESIS DOCTORAL

HAITAO LIU

Alcalá de Henares, 2021

PROYECTOS DE FINANCIACIÓN

1. El Instituto de Salud Carlos III y cofundado con el Fondo Europeo de Desarrollo Regional (FEDER) dentro del “Plan Estatal de Investigación Científica y Técnica y de Innovación 2017-2020” (RD16 / 0008/0020; FIS / PI 18 -00754).

Un poco más de persistencia, un poco más de esfuerzo, y lo que parecía irremediamente un fracaso puede convertirse en un éxito glorioso. **-Elbert Hubbar**

AGRADECIMIENTOS

En primer lugar, quiero expresar mi profundo agradecimiento al Dr. Pedro De la Villa, mi tutor y director para el estudio de doctorado. No hubiera sido posible sin su minucioso trabajo y dedicación en la realización de esta tesis y los trabajos relacionados con ella (artículos, conferencias). Él siempre me guía, me anima y me da muchas ideas para mi trabajo. Además, me influyó mucho su actitud positiva para afrontar retos y su pasión por el trabajo. Quiero ser un investigador como él en el futuro. Estoy muy agradecido de poder estudiar con él.

En segundo lugar, quiero agradecer a mi cotutor Francisco Germain; él siempre me inspira con nuevas ideas y me ayuda a mejorar mis defectos tanto en artículos científicos como en aspectos gramaticales del español; he aprendido mucho con él. Gracias por su dedicación y paciencia.

También quiero agradecer a Román, Esperanza y Maribel por su ayuda en el estudio del mfVEP y los casos clínicos. Y a nuestro grupo de investigación, Fei, Laura, Mateo y Santiago por su ayuda y compañía de los momentos divertidos.

Finalmente agradezco a mi familia su apoyo y confianza, especialmente a mis padres, por todo lo que han hecho por mí, que nunca olvidaré.

RESUMEN

Objetivo: El objetivo de esta tesis doctoral es mejorar la aplicabilidad de técnicas electrofisiológicas visuales a la práctica clínica, mediante la optimización de los parámetros de estímulos para registros de Electrorretinografía de patrón (Electrorretinograma de patrón, pERG) y Electrooculografía (Electrooculograma, EOG). Asimismo, se pretende evaluar la precisión diagnóstica del Potencial Evocado Visual multifocal (*multifocal Visual Evoked Potential*, mfVEP) en pacientes con glaucoma, así como buscar su mejor indicador diagnóstico.

Métodos: Para la consecución de los objetivos se han llevado a cabo tres estudios diferentes. En el primer estudio de pERG, llevado a cabo en voluntarios sanos, se registraron las señales a través de electrodos corneales, al tiempo que se aplicaron estímulos de distinto contraste (99%, 60%), forma (damero o barra), color (rojo-verde, azul-amarillo y blanco-negro) y frecuencia espacial (0.08, 0.12, 0.17, 0.35 ciclos por grado, [cpd]). Se analizó la amplitud (μV) de las ondas P50 y N95 del pERG.

En el segundo estudio, también sobre voluntarios sanos, se colocaron electrodos de superficie desechables en la proximidad de ambos ojos. Se aplicaron estímulos de contraste blanco/negro en forma de barra de desplazamiento horizontal, vertical y rotacional, a diferentes frecuencias (0,2/0,3/1/2/3/10 Hz) bajo adaptación de luz y oscuridad. Los estímulos se aplicaron desde un monitor mediante un software visual de elaboración propia. Se analizó la amplitud (mV) de las ondas generadas.

En el tercer estudio se realizó una revisión sistemática con metanálisis de los estudios cuantitativos publicados hasta el 1 de junio de 2020 para evaluar el rendimiento diagnóstico de mfVEP en pacientes con glaucoma. Se evaluó la calidad metodológica de los artículos incluidos. Se realizó el análisis de sesgo de publicación y la prueba de heterogeneidad. Igualmente se calculó la sensibilidad, la especificidad y la *odds ratio* de diagnóstico (*Diagnostic Odds Ratio*, DOR). El área bajo la curva (*Area Under the Curve*, AUC) se calculó mediante la curva de resumen de la característica operativa del receptor (*summary of Receiver Operating Characteristics*, sROC).

Resultados: En el primer estudio, no encontramos diferencias significativas de las amplitudes de ondas P50 y N95 registradas ante estímulos con frecuencias espaciales de 0,08 a 0,35 cpd. Las respuestas de estímulos en dameros y en barras no mostraron diferencias estadísticamente significativas. Los estímulos en blanco-negro provocaban amplitudes significativamente mayores de las ondas P50 y N95 que los estímulos

cromáticos (rojo-verde y azul-amarillo). Sin embargo, los resultados obtenidos en respuesta a estímulos cromáticos no mostraron diferencias significativas. Asimismo, se demostró que los estímulos con mayor contraste podían provocar mayores amplitudes de ondas P50 y N95 en la prueba de pERG.

En el segundo estudio, las amplitudes de las señales EOG fueron mayores para los estímulos lumínicos de frecuencia temporal de 0,3 Hz. Las amplitudes de las señales EOG provocadas por estímulos horizontales y verticales fueron significativamente mayores que las provocadas por estímulos rotacionales. Asimismo, la amplitud de las respuestas EOG fueron estadísticamente y significativamente mayores en los movimientos verticales ($0,278 \pm 0,014$ mV) que en los horizontales ($0,211 \pm 0,012$ mV) ($p < 0,05$, prueba t de Student). Finalmente, las amplitudes de las respuestas EOG fueron mayores en condiciones fotópicas que escotópicas.

En el tercer estudio, se ha incluido 6 estudios con 241 individuos según los criterios de inclusión y exclusión. El área bajo la curva sROC fue 0,98. No hubo evidencia de sesgo de publicación, ni efecto umbral. La sensibilidad combinada y la especificidad combinada de la amplitud mfVEP para la detección de defectos del campo visual en todos los estudios fue de 0,93 y 0,89, respectivamente. Las razones de verosimilitud positiva y negativa de amplitud mfVEP fue de 6,56 y 0,08, respectivamente.

Conclusiones: Respecto a la prueba de pERG como indicador directo de la funcionalidad de las células ganglionares, proponemos utilizar estímulos consistentes en dameros o barras, con contraste blanco-negro del 99% a una frecuencia espacial entre 0.08-0.35 cpd.

Respecto al EOG, la frecuencia para la estimulación lineal debe ajustarse a 0,3 Hz para una mejor evaluación funcional de los movimientos oculares. Los estímulos de desplazamiento vertical son mejores que los estímulos horizontales o rotacionales.

La amplitud de mfVEP ha demostrado una buena precisión diagnóstica en la predicción de defectos del campo visual. El análisis de la amplitud de mfVEP interocular puede ser un buen indicador diagnóstico para el estudio de campo visual.

Palabras clave: Electrorretinografía de patrón, retina, células ganglionares, movimiento ocular, electrooculografía, mirada, mfVEP, glaucoma.

SUMMARY

Objective: The objective of this doctoral thesis is to improve the applicability of visual electrophysiological techniques to clinical practice, through optimizing stimulus parameters for recordings of pattern electroretinography (pattern Electroretinogram, pERG) and Electrooculography (EOG). Likewise, it is intended to evaluate the diagnostic precision of multifocal Visual Evoked Potential (mfVEP) in patients with glaucoma and to find its best diagnostic indicator.

Methods: To achieve the objectives, three different studies have been carried out. In the first pERG study, carried out in healthy volunteers, the signals were recorded through corneal electrodes, while stimuli of different contrast (99%, 60%), shape (checkerboard or grid), color (red-green, blue-yellow and white-black) and spatial frequency (0.08, 0.12, 0.17, 0.35 cycles per degree, [cpd]) were applied. The amplitude (μV) of the P50 and N95 waves of the pERG was analyzed.

In the second study, also on healthy volunteers, disposable surface electrodes were placed in the proximity of both eyes. White/black contrast stimuli were applied in the form of a horizontal, vertical and rotational scroll bar, at different frequencies (0.2/0.3/1/2/3/10 Hz) under light and dark adaptation. The stimuli were applied from a monitor using visual software of our own development. The amplitude (mV) of the generated waves was analyzed.

In the third study, a systematic review with meta-analysis of quantitative studies published until June 1st 2020, was performed to evaluate the diagnostic performance of mfVEP in patients with glaucoma. The methodological quality of the included articles was assessed. We have performed the analysis for publication bias and the test for heterogeneity. We have calculated the sensitivity, specificity and diagnostic odds ratio (DOR). The area under the curve (AUC) was calculated using the summary of receiver operating characteristics (sROC).

Results: In the first study, we did not find significant differences in the amplitudes of P50 and N95 waves registered before stimuli with spatial frequencies of 0.08 to 0.35 cpd. The checkerboard and grid stimulus responses did not show statistically significant differences. The white-black stimuli elicited significantly higher amplitudes of the P50 and N95 waves than the chromatic stimuli (red-green and blue-yellow), but the results obtained in response to chromatic stimuli did not show significant differences. Likewise, it was shown that stimuli with higher contrast can cause higher amplitudes of P50 and

N95 waves in the pERG test.

In the second study, the amplitudes of the EOG signals were higher for the light stimuli with a temporal frequency of 0.3 Hz. The amplitudes of the EOG signals caused by horizontal and vertical stimuli were significantly higher than those caused by rotational stimuli. Likewise, the amplitude of the EOG responses is statistically significantly greater in vertical movements (0.278 ± 0.014 mV) than horizontal (0.211 ± 0.012 mV) ($p < 0.05$, t-test). Finally, the amplitudes of the EOG responses are greater under photopic than scotopic conditions.

In the third study, 6 studies with 241 individuals were included according to the inclusion and exclusion criteria. The area under the sROC curve was 0.98. There was no evidence of publication bias, or threshold effect. The pooled sensitivity and pooled specificity of the mfVEP amplitude for the detection of visual field defects in all studies were 0.93 and 0.89, respectively. The positive and negative likelihood ratio of mfVEP amplitude were 6.56 and 0.08, respectively.

Conclusions: Regarding the pERG test as a direct indicator of ganglion cell functionality, we propose to use the stimuli consisting of checkers or grids, with 99% white-black contrast at a spatial frequency between 0.08-0.35 cpd.

Regarding EOG, the frequency for linear stimulation should be adjusted to 0.3 Hz for a better functional evaluation of eye movements. Vertical displacement stimuli are better than horizontal or rotational stimuli.

The amplitude of mfVEP has shown good diagnostic accuracy in predicting visual field defects, Interocular mfVEP amplitude analysis may be a good diagnostic indicator for visual field study.

Key words: pattern Electroretinogram, retina, ganglion cells, eye movement, electrooculography, gaze, mfVEP, glaucoma.

ÍNDICE

RESUMEN	I
SUMMARY	III
ÍNDICE.....	V
ABREVIATURAS	IX
ÍNDICE DE FIGURAS	XV
ÍNDICE DE TABLAS	XIX
1.INTRODUCCIÓN	1
1.1. ORGANIZACIÓN ESTRUCTURAL Y FUNCIONAL DEL SISTEMA VISUOMOTOR.....	3
1.1.1. ESTRUCTURA DEL GLOBO OCULAR.....	3
1.1.2. ESTRUCTURA DE LA RETINA.....	4
1.1.3. LAS CÉLULAS DE LA RETINA.....	7
1.1.4. FISIOLOGÍA DE LA RETINA.....	16
1.1.5. PROYECCIONES CENTRALES DE LA RETINA.....	22
1.1.6. MOVIMIENTOS OCULARES.....	22
1.2. TÉCNICAS DE ELECTROFISIOLOGÍA VISUAL.....	24
1.2.1. ELECTORRETINOGRAMA DE PATRÓN (pERG).....	26
1.2.2. TÉCNICAS QUE REFLEJAN LA FUNCIONALIDAD DE LAS CÉLULAS GANGLIONARES DE LA RETINA.....	31
1.2.3. ELECTROOCULOGAMA.....	32
1.2.4. POTENCIAL EVOCADO VISUAL MULTIFOCAL.....	40
2.HIPÓTESIS Y OBJETIVOS.....	49
2.1. HIPÓTESIS.....	51
2.2. OBJETIVOS.....	52
2.2.1. Objetivo general	52
2.2.2. Objetivos específicos	52
3.MATERIALES Y MÉTODOS.....	55
3.1. ELECTORRETINOGRAMA DE PATRÓN (pERG).....	57
3.1.1. Participantes.....	57
3.1.2. Estimulación lumínica.....	57
3.1.3. Electrodo y procedimiento para registrar las señales del pERG.....	59

3.1.4. Análisis cuantitativo y estadístico de señales del pERG.....	63
3.2. ELECTROOCULOGARMA.....	63
3.2.1. Participantes.....	63
3.2.2. Estimulación lumínica.....	64
3.2.3. Colocación de los Electroodos.....	67
3.2.4. Procedimiento para registrar señales electrooculográficas.....	68
3.2.5. Análisis cuantitativo y estadístico de señales de electrooculograma.	68
3.3. PROCEDIMIENTO DE REVISION SISTEMÁTICA Y METANÁLISIS EN EL ESTUDIO DE POTENCIALES EVOCADOS VISUALES MULTIFOCALES Y SU PRECISIÓN DIAGNÓSTICA.....	70
3.3.1. Estrategia de búsqueda.....	70
3.3.2. Criterios de inclusión.....	71
3.3.3. Criterio de exclusión.....	71
3.3.4. Selección de estudios.....	72
3.3.5. Extracción de datos.....	72
3.3.6. Evaluación del riesgo de sesgo.....	73
3.3.7. Síntesis de datos y análisis estadísticos.....	73
4.RESULTADOS.....	77
4.1. OPTIMIZACIÓN DE LOS PARÁMETROS DE ESTIMULACIÓN PARA EL REGISTRO DE ELECTRORETINOGRAMA DE PATRÓN (pERG). ...	79
4.1.1. Características descriptivas de los participantes incluidos en el estudio.	79
4.1.2. Efecto de la frecuencia espacial sobre la respuesta del electrorretinograma de patrón.....	79
4.1.3. Estudio comparativo entre los distintos estímulos blanco-negro, rojo- verde y azul-amarillo sobre la respuesta del electrorretinograma de patrón.	91
4.1.4. Estudio comparativo entre los distintos estímulos en damero, barras verticales y barras horizontales sobre la respuesta del electrorretinograma de patrón.....	94
4.1.5. Estudio comparativo entre los estímulos con distinto contraste, 60% y 99%, sobre la respuesta del electrorretinograma de patrón.....	98
4.2. RESULTADOS DEL ELECTROOCULOGARMA.....	100
4.2.1. Características descriptivas de los participantes incluidos en el estudio.	100

4.2.2. Efecto de la frecuencia temporal sobre la amplitud de la respuesta electrooculográfica, en desplazamiento lineal (horizontal y vertical) y rotacional.....	100
4.2.3. Efecto de la direccionalidad (vertical, horizontal y rotacional) y contraste de las barras sobre la amplitud de la respuesta electrooculográfica.	105
4.2.4. Efecto de la adaptación lumínica sobre la amplitud de la respuesta electrooculográfica.	106
4.3. EVALUACIÓN DE LA PRECISIÓN DIAGNÓSTICA DE POTENCIAL EVOCADO VISUAL MULTIFOCAL (mfVEP) EN PACIENTES CON GLAUCOMA. BÚSQUEDA DEL MEJOR INDICADOR DIAGNÓSTICO (Revisión Sistemática y Metanálisis).	109
4.3.1. Selección de estudios.	109
4.3.2. Características de los estudios incluidos.	110
4.3.3. Calidad metodológica de los estudios incluidos.....	112
4.3.4. Síntesis de datos diagnósticos.....	113
4.3.5. Heterogeneidad y efecto umbral.....	115
5.DISCUSIÓN	119
5.1 ELECTORRETINOGRAFÍA DE PATRÓN.	121
5.2 ELECTROOCULOGRAFÍA.	125
5.3. POTENCIAL EVOCADO VISUAL MULTIFOCAL.	129
6.CONCLUSIONES	133
7.BIBLIOGRAFÍA	137

ABREVIATURAS

AMPA: α -amino-3-hidroxi-5metilisoxazolil-4-propionato.

ANOVA: Análisis de la varianza.

ASI: Índice de severidad de Accumap.

AUC: Área bajo la curva (*Area Under the Curve*).

AV: Agudeza visual.

BMC: Biomicroscopia.

B/N: Blanco/Negro.

cd/m²: Candela por metro cuadrado.

CFN: Capa de fibras del nervio óptico.

CG: Capa de las células ganglionares.

CGR: Células ganglionares de la retina.

CNE: Capa nuclear externa.

CNI: Capa nuclear interna.

Cpd: Ciclo por grado.

CPE: Capa plexiforme externa.

CPI: Capa plexiforme interna.

CRT: Tubo de rayos catódicos.

CS: Colículo superior.

CV: Campo visual.

dB: Decibelio.

DM: Desviación media.

DOR: Odds ratio de diagnóstico (*Diagnostic Odds Ratio*).

DT: Valle de oscuridad.

DTL: Electrodo activo descrito por Dawson – Trick –Litzkow.

E: (Eyes) Ojos.

EC: *Electrode cream.*

EOG: Electrooculograma (o Electrooculografía).

EPR: Epitelio pigmentario de la retina.

ERG: Electrorretinograma.

FEM: Modelo de efectos fijos.

FN: Falso negativo.

FO: Fondo de ojo.

FP: Falso positivo.

GABA: ácido γ -aminobutírico.

GC: Guanilato Ciclasa.

GCAP: Proteína activadora de la Guanilato Ciclasa.

GMPc: Guanosina cíclica monofosfato.

GPAA: Glaucoma primario de ángulo abierto.

GTN: Glaucoma de tensión normal.

HVF: Perimetría del campo visual de Humphrey.

Hz: Hercios.

I²: Índice de inconsistencia.

IC: Intervalo de confianza.

ID: Identificación del estudio.

ISCEV: Sociedad Internacional para Electrofisiología Clínica de la Visión (*International Society for Clinical Electrophysiology of Vision*).

KHz: Kilohercio.

Kohm: kilohmio.

LP: Pico de luz.

ABREVIATURAS

mfVEP: Potencial evocado visual multifocal (*multifocal Visual Evoked Potential*).

MLE: Membrana limitante externa.

MLI: Membrana limitante interna.

MS: Milisegundos.

MSA: Enfermedad atrofia multisistémica.

mV: Milivoltio.

N35: Primera onda negativa del electroretinograma de patrón.

N95: Segunda onda negativa del electroretinograma de patrón.

NA: No disponible.

NGL: Núcleo geniculado lateral.

NLR: Razón de verosimilitud negativa.

NO: Nervio óptico.

OCT: Tomografía de coherencia óptica.

OD: Ojo derecho.

OI: Ojo izquierdo.

OS: Ojo izquierdo.

OKR: Reflejo optocinético.

P: Personas.

P50: Onda positiva del electroretinograma de patrón.

PDF: Perimetría de doble frecuencia.

PEDF: Factor de crecimiento derivado del epitelio pigmentario.

pERG: Electroretinograma (o Electroretinografía) de patrón.

PERGLA: El electroretinograma de patrón optimizado para el cribado de glaucoma.

PhNR: Respuesta negativa fotópica del electroretinograma.

PICO: Población, intervención, comparación y resultado.

PIO: Presión intraocular.

PLR: Razón de verosimilitud positiva.

PRISMA: Informe de elementos preferidos para revisiones sistemáticas y metanálisis.

pVEP: Potencial evocado visual de patrón.

QUADAS-2: Evaluación de la calidad para estudios de precisión diagnóstica, versión 2.

REM: Modelo de efectos aleatorios.

RMS: Media de la raíz cuadrada.

ROC: Curva de característica operativa del receptor (*Receiver Operating Characteristics*).

SAP: Perimetría automatizada estándar.

SD: Desviación estándar.

SEM: Error estándar de la media.

SF: Capa de segmentos externos de los fotorreceptores.

SNR: Ratio señal / ruido.

sROC: Curva de resumen de característica operativa del receptor (*summary of Receiver Operating Characteristics*).

SWAP: Perimetría de longitud de onda corta.

TEP: Potencial transeptelial.

TN: Verdadero negativo.

TP: Verdadero positivo.

Trans: Estudio transversal.

TRH: Tomografía retiniana de Heidelberg.

μV: Microvoltios.

VEGF: Factor de crecimiento del epitelio vascular.

VEP: Potencial evocado visual.

ABREVIATURAS

VOR: Reflejo vestibulo-ocular.

\bar{X} : Promedio.

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Las capas de la retina y las células correspondientes.....	6
Figura 2. Funciones del epitelio pigmentario de la retina.	8
Figura 3. Estructura de los fotorreceptores.....	9
Figura 4. Organización de las células ganglionares y proyecciones de sus vías sobre el núcleo geniculado lateral.....	14
Figura 5. Principales técnicas de electrofisiología visual correspondientes a las estructuras topográficamente analizadas en la vía visual.....	26
Figura 6. Estimulación y colocación de electrodos para ERG patrón.	27
Figura 7. Respuesta típica de pERG transitorio, que incluye las tres ondas y las mediciones de sus amplitudes y latencias.	29
Figura 8. Relación entre el ángulo de visión y la amplitud de respuesta EOG.	33
Figura 9. Procedimiento del registro de EOG para evaluar el epitelio pigmentario de la retina.....	35
Figura 10. Mecanismo de la oscilación rápida y del electrooculograma.....	37
Figura 11. Estímulo del mfVEP.	41
Figura 12. Colocación de electrodos formando los 6 canales en mfVEP.....	42
Figura 13. Amplitud monocular recogida desde el mejor canal en una persona sana....	44
Figura 14. Latencia monocular e interocular recogida del mejor canal registrado en una persona sana.	45
Figura 15. Patrones de estimulación utilizados en pERG.	59
Figura 16. Electrodo usado en el registro del pERG.....	60
Figura 17. Colocación de los electrodos para el registro de pERG.....	61
Figura 18. Fotografía de la pantalla de ordenador utilizada como estimulador para los experimentos de registro de pERG.....	61
Figura 19. Ejemplo de registros obtenidos mediante pERG.	62
Figura 20. Patrones de estimulación en EOG.....	66
Figura 21. Colocación de electrodos para el registro EOG.....	67
Figura 22. Ejemplo de registros de las señales electrooculográficas.	69
Figura 23. Registros de pERG ante estímulos en damero en blanco y negro y 99% de contraste.....	80
Figura 24. Amplitudes de respuesta de pERG al estímulo de damero blanco-negro con 99% de contraste en diferentes frecuencias espaciales.	80

Figura 25. Registros de pERG ante estímulos en damero en blanco y negro y 60% de contraste.....	81
Figura 26. Amplitudes de respuesta de pERG al estímulo de damero blanco-negro con 60% de contraste en diferentes frecuencias espaciales.	82
Figura 27. Registros de pERG ante estímulos en damero en rojo y verde y 99% de contraste.....	83
Figura 28. Amplitudes de respuesta de pERG al estímulo de damero rojo-verde con 99% de contraste en diferentes frecuencias espaciales.	83
Figura 29. Registros de pERG ante estímulos en damero en azul y amarillo, y 99% de contraste.....	85
Figura 30. Amplitudes de respuesta de pERG al estímulo de damero azul-amarillo con 99% de contraste en diferentes frecuencias espaciales.	85
Figura 31. Registros de pERG ante estímulos de barras verticales en blanco y negro, y 99% de contraste.	86
Figura 32. Amplitudes de respuesta de pERG al estímulo en barras verticales en blanco y negro con 99% de contraste en diferentes frecuencias espaciales.....	87
Figura 33. Registros de pERG ante estímulos de barras horizontales en blanco y negro, y 99% de contraste.	88
Figura 34. Amplitudes de respuesta de pERG al estímulo en barras horizontales en blanco y negro con 99% de contraste en diferentes frecuencias espaciales.....	88
Figura 35. Comparación entre los registros pERG con estímulos de damero blanco-negro y damero rojo-verde.	91
Figura 36. Comparación entre la respuesta pERG a estímulo de damero blanco-negro y de damero rojo-verde.....	92
Figura 37. Comparación entre la respuesta pERG al estímulo de damero blanco-negro y de damero azul-amarillo.....	93
Figura 38. Comparación entre la respuesta pERG al estímulo de damero rojo-verde y damero azul-amarillo.....	94
Figura 39. Comparaciones entre los registros pERG con estímulos de damero y barras verticales.....	95
Figura 40. Comparación entre la respuesta pERG al estímulo de damero blanco-negro y barras verticales blanco-negro.....	96
Figura 41. Comparación entre la respuesta pERG al estímulo de damero blanco-negro y la barra horizontal blanco-negro.....	97

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 42. Comparación entre la respuesta pERG al estímulo de la barra horizontal y la barra vertical.....	97
Figura 43. Comparación entre los registros pERG ante estímulos de damero blanco-negro de contraste del 99% y damero blanco-negro de contraste del 60%.....	98
Figura 44. Comparación entre la amplitud de las respuestas pERG al estímulo de damero blanco-negro de contraste del 99% y damero blanco-negro de contraste del 60%.....	99
Figura 45. Ejemplo de trazados de registro electrooculográfico obtenidos en un voluntario sano.	101
Figura 46. Efecto de la frecuencia temporal sobre la amplitud de la respuesta electrooculográfica.	102
Figura 47. Efecto de la direccionalidad sobre la amplitud de la respuesta electrooculográfica.	105
Figura 48. Efecto de los contrastes de barras sobre la amplitud de la respuesta electrooculográfica.	106
Figura 49. Efecto de la adaptación a la luz y a la oscuridad sobre la amplitud de la respuesta electrooculográfica.	107
Figura 50. Diagrama de flujo de estudios incluidos a través del proceso de revisión sistemática.	110
Figura 51. Calidad de los estudios incluidos según la herramienta de evaluación de la calidad de los estudios de precisión diagnóstica (QUADAS).....	113
Figura 52. Diagramas de bosque de sensibilidad y especificidad en el metanálisis.....	115
Figura 53. La curva de resumen de característica operativa del receptor (sROC) para los seis estudios incluidos.	117

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Resumen de los parámetros de estímulo aplicados en pERG.	58
Tabla 2. Resumen de los parámetros de estímulo aplicados en EOG.	65
Tabla 3. Amplitudes de las respuestas del pERG a diferentes estímulos	90
Tabla 4. Valores promediados de las amplitudes de las respuestas electrooculográficas de todos los experimentos realizados.	104
Tabla 5. Principales características de los estudios incluidos en el metanálisis.....	111
Tabla 6. Resumen estadístico de los parámetros de precisión diagnóstica en el metanálisis.	114

1.INTRODUCCIÓN

1.1. ORGANIZACIÓN ESTRUCTURAL Y FUNCIONAL DEL SISTEMA VISUOMOTOR.

La visión es uno de los sentidos sensoriales más importantes del ser humano. Antes de mostrar los datos de la presente tesis doctoral se va a describir la estructura del globo ocular y dentro de este, la de las células de la retina, así como su fisiología en relación a los movimientos oculares.

1.1.1. ESTRUCTURA DEL GLOBO OCULAR.

El globo ocular es el órgano en el cual se encuentran las células responsables de percibir la luz y realizar la fototransducción (fotorreceptores). Al menos el 70% de la información externa se obtiene mediante la visión, por lo que la visión es uno de los sentidos más importante para el ser humano (Masland, 2012). El globo ocular humano tiene una forma redonda o ligeramente ovalada, con un diámetro anteroposterior de 25-26 mm y un diámetro transversal de 23 mm. Se divide en zona anterior y zona posterior:

La zona anterior se subdivide en cámara anterior (desde la córnea hasta el iris) y cámara posterior (desde el iris hasta el cristalino), ambas bañadas por el humor acuoso, producido por el cuerpo ciliar. Dicho humor es un líquido con un 99,6% de agua y el resto cloro, sodio, glucosa, potasio, ácido hialurónico, etc.. Sus funciones son nutrir y oxigenar la córnea y el cristalino, así como mantener la presión intraocular.

La zona posterior se denomina cámara vítrea y abarca desde el cristalino hasta la retina en el polo posterior. Esta cámara está bañada por el humor vítreo. El cual está constituido por tres partes: la membrana hialoidea, el córtex y el vítreo central. A diferencia del humor acuoso, el humor vítreo no se renueva, y sirve para mantener la forma del ojo y lograr una superficie uniforme en la retina, asegurando así una imagen nítida. El cristalino está ubicado por delante del humor vítreo y por detrás del iris, sirve para enfocar objetos a diferentes distancias, mediante el aumento o disminución de su curvatura y espesor, este fenómeno se denomina acomodación.

El globo ocular humano está formado por 3 capas:

Capa Fibrosa: está situada en la parte más externa del ojo, formada por tejidos conjuntivos fibrosos, densos y avasculares, sirve para la protección mecánica del globo ocular, y proporciona un lugar de fijación para los músculos extraoculares. La esclera está

formada por delante por la córnea y por detrás por la esclerótica. La córnea ocupa el 1/6 anterior del ojo, es transparente para permitir el paso de la luz y tiene una forma convexa. La esclerótica cubre la parte lateral y posterior del ojo (los 5/6 posteriores del ojo), es blanca, opaca y muy gruesa para proteger el globo ocular.

Capa Vasculor o úvea: esta capa se sitúa entre las otras dos, y consta de tres partes, la coroides, el cuerpo ciliar y el iris. La coroides es la úvea posterior, tiene un color oscuro, puede mantener una temperatura constante, y como se encuentra vascularizada aporta oxígeno y sustancias nutritivas a la retina. El cuerpo ciliar es el que une el iris con la coroides, es donde se produce el humor acuoso y sus músculos son responsables de la acomodación del cristalino. El iris está pigmentado, separa la cámara anterior de la posterior, sus bordes internos forman el orificio de la pupila. Se encarga de regular la cantidad de entrada de luz mediante la contracción o relajación de los músculos radial y circular del iris. La contracción de la pupila se llama miosis y su dilatación midriasis.

Capa sensorial o retina: La retina se localiza más internamente y se extiende desde los músculos ciliares hasta el posterior del ojo. Su función es transformar la luz en impulso eléctrico y enviarlo por el nervio óptico al cerebro. La retina contiene varios tipos de células neuronales interconectadas por sinapsis. Hay tres zonas relevantes en la retina, la fovea donde hay más conos y mayor agudez visual, la papila o punto ciego donde los axones de las células ganglionares salen del globo ocular formando el nervio óptico y la *ora serrata* que es el límite anterior de la retina.

En la esclerótica se insertan 4 músculos extraoculares rectos (superior, inferior, nasal y temporal) y 2 músculos extraoculares oblicuos (superior e inferior). Dichos músculos son los responsables de los movimientos oculares. De la parte posterior del globo ocular nace el nervio óptico, compuesto por axones de las células ganglionares, la arteria y la vena centrales de la retina, y cubierto por la vaina de mielina.

1.1.2. ESTRUCTURA DE LA RETINA.

La percepción visual se inicia en la retina. Después de recibir la información luminosa que ha pasado por el medio ocular transparente, la retina la procesa. Finalmente, las células ganglionares transforman la información visual en potenciales de acción y la exportan al cerebro a través del nervio óptico (Schiller, 2010).

INTRODUCCIÓN

La retina humana es una estructura que tiene alrededor de 0,5 milímetro de espesor, es una estructura laminar, transparente y fina, desarrollada a partir de una evaginación e invaginación del diencéfalo, por lo que es considerada como parte del cerebro (Kolb, 2003). Anatómicamente, en casi todos vertebrados podemos dividir la retina en diez capas, de las cuales 3 capas nucleares son cuerpos neuronales y están separadas por 2 capas de sus conexiones de sinapsis.

Capas de la Retina:

1. El epitelio pigmentario de la retina (EPR) es una capa formada por células pigmentarias, las cuales tienen formas hexagonales. El EPR se ubica entre la coroides y la retina neuronal, y junto con la membrana Bruch forman la barrera hematoretiniana externa. Con las uniones estrechas entre las células del EPR, pueden controlar estrictamente las entradas y salidas de los líquidos, solutos, moléculas tóxicas y componentes del plasma, etc. El EPR participa en varios procesos como la fototransducción, fagocitosis, transporte de desechos y nutrientes, reducción de la dispersión de la luz, formación de la membrana basal (Erickson *et al.*, 2007).
2. Capa de segmentos externos de los fotorreceptores (SF), está formada por los segmentos exteriores de las células fotorreceptoras.
3. Membrana limitante externa (MLE), está formada por uniones intercelulares del tipo zónula adherente, donde se unen las células fotorreceptoras y las células de Müller.
4. Capa nuclear externa (CNE), donde se encuentran los cuerpos o somas de las células fotorreceptoras.
5. Capa plexiforme externa (CPE), formada por los axones de los fotorreceptores y las dendritas de las células bipolares y horizontales.
6. Capa nuclear interna (CNI), está formada por los somas de las células bipolares, horizontales, interplexiformes, amacrinas y de las células de Müller.
7. Capa plexiforme interna (CPI), formada por las conexiones sinápticas entre los axones de las células bipolares y las dendritas de las células ganglionares, amacrinas e interplexiformes. Esta capa se puede subdividir funcionalmente en sublámina on y sublámina off.

8. Capa de las células ganglionares (CG), está formada por los somas de las células ganglionares y de las células amacrinas desplazadas.
9. Capa de fibras del nervio óptico (CFN), está formada por los axones de las células ganglionares, que salen de la retina por la cabeza del nervio óptico, formando el propio nervio óptico (NO).
10. Membrana limitante interna (MLI), está formada por la lámina basal de las células de Müller, separando la retina del humor vítreo.

Finalmente, el nervio óptico transporta la información visual desde la retina a tres zonas subcorticales principales: el colículo superior (CS), el pretectum mesencefálico y el núcleo geniculado lateral del tálamo (NGL). La siguiente figura muestra algunas capas de la retina y las células correspondientes (figura 1).

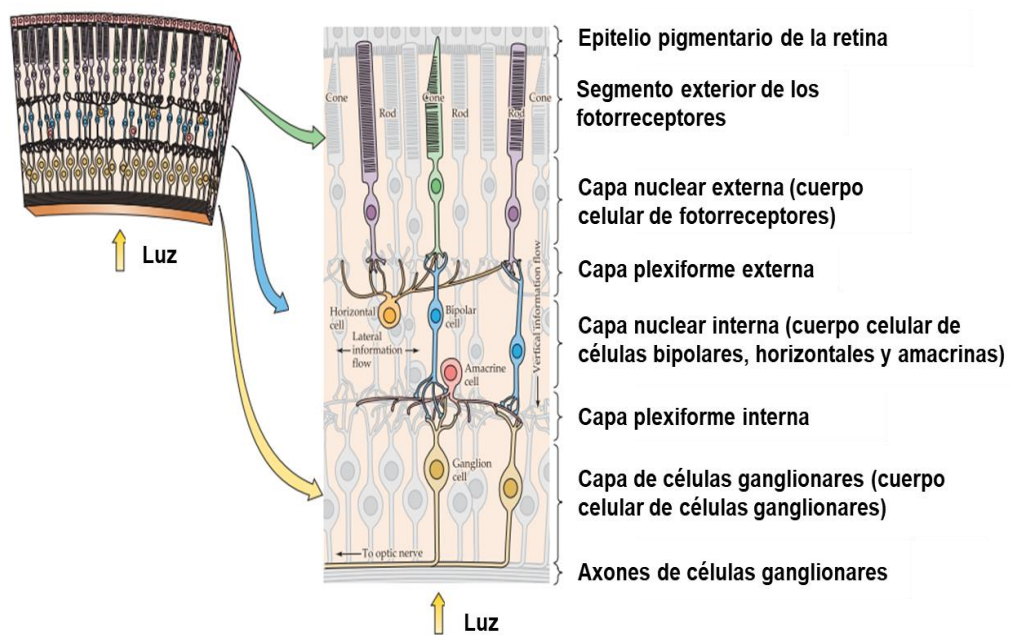


Figura 1. Las capas de la retina y las células correspondientes. El lado izquierdo indica cómo la luz llega y luego atraviesa todas las capas de la retina antes de estimular los fotorreceptores. En el lado derecho se muestran las diferentes capas de la retina y las células correspondientes (Modificado de Purves *et al.*, 2006).

1.1.3. LAS CÉLULAS DE LA RETINA.

1.1.3.1. Epitelio pigmentario de la retina.

Embriológicamente, el EPR no deriva de la retina neuronal. Las células del EPR tienen una membrana apical engranada con los segmentos externos de los fotorreceptores y una membrana basolateral unida a la membrana Bruch. Las células son pigmentarias, ya que contienen gránulos de melanina y lipofuscina, hay una mayor densidad de melanina en la mácula que en la periferia de la retina. La melanina puede capturar los radicales libres producidos por los fotorreceptores durante la irradiación de la luz, protegiendo así los fotorreceptores del daño que los fotones podrían causar (Strauss, 2005).

En resumen, el EPR tiene las siguientes funciones:

Transporta nutrientes como glucosa, retinol y ácidos grasos de la sangre hacia los fotorreceptores. Así como los desechos producidos por los fotorreceptores hacia el lado corioideo, por ejemplo iones, agua, productos metabólicos finales, etc. Debido a que dichos desechos generados en la retina son muchos y se producen de forma continua, el EPR los transporta constantemente a la coroides (Hamann, 2002).

El ciclo visual consiste en el proceso de fotolisis y regeneración. En el proceso de regeneración, el EPR transforma todo-trans-retinol en 11-cis-retinal para regenerar los pigmentos visuales. En el proceso de fotolisis, el EPR fagocita los discos desprendidos desde los segmentos exteriores de los fotorreceptores y recicla el retinal (Bok, 1993).

El EPR tiene como funciones absorber la luz, asegurando una imagen no borrosa; proteger a los fotorreceptores contra la fotooxidación; secretar factores de crecimiento para mantener la estructura de la retina y coroides, y factor inmunosupresor que sirve como factor inmunológico para los ojos (Witmer *et al.*, 2003). Estas funciones esenciales están representadas en la figura 2. Cualquier fallo en la función del EPR puede dar lugar a la degeneración de la retina, perdiendo así la visión (Strauss, 2005).

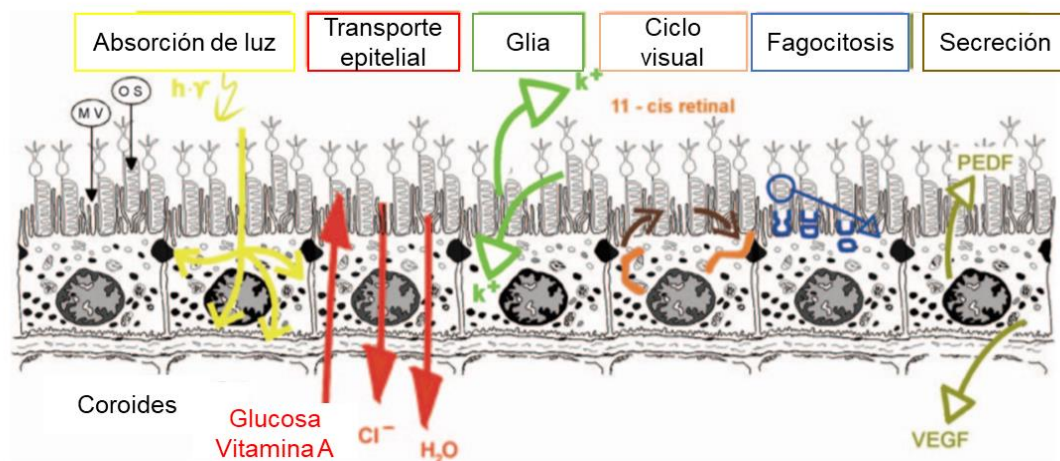


Figura 2. Funciones del epitelio pigmentario de la retina. Esta figura muestra varias funciones principales del epitelio pigmentario de la retina. VEGF: factor de crecimiento del epitelio vascular. PEDF: factor de crecimiento derivado del epitelio pigmentario. (Modificado de Strauss, 2005).

1.1.3.2. Tipos celulares neuronales.

1.1.3.2.1. Células fotorreceptoras.

En casi en todos los vertebrados, hay dos tipos de fotorreceptores en la retina: bastones y conos. Los bastones y conos están formados por un segmento externo, un segmento interno, un núcleo y la parte sináptica (ver figura 3).

El segmento externo de los bastones tiene forma cilíndrica, mientras que el de los conos tiene forma cónica. En los segmentos externos se acumulan los discos laminares, que son pliegues de la membrana plasmática, parecidos a pilas de monedas, y que tanto en conos como en bastones pueden llegar a un número de 1000. Estos discos contienen sustancias fotosensibles llamadas rodopsina para los bastones y pigmentos de color para los conos. Los segmentos externos de los fotorreceptores se engranan con la membrana apical del epitelio pigmentario de la retina, por lo que se regeneran constantemente (Walls, 1942; Germain *et al.*, 2010).

INTRODUCCIÓN

El segmento interno del cono o bastón contiene los orgánulos citoplásmicos. Pero la parte sináptica de bastones y conos es diferente. En los bastones, la parte sináptica se llama esférula, y es una invaginación en la que entran 2 prolongaciones de células horizontales y una o más dendritas de células bipolares. Mientras que en los conos la parte sináptica se llama pedículo, en la cual hay múltiples invaginaciones, cada una generalmente contiene dos prolongaciones de células horizontales y una sola dendrita de célula bipolar. Los bastones están encargados de la visión nocturna. Hay alrededor de 100 millones de bastones distribuidos en la periferia de la retina, que contiene moléculas de rodopsina, sensibles a la luz tenue.

Los conos se encargan de la visión diurna, luz brillante, colores, etc. Hay alrededor de 7 millones de conos distribuidos en los diez grados centrales de la fovea, donde corresponde el punto de mayor agudeza visual. Hay 3 tipos de conos, cada uno tiene un tipo de opsina. Cono L o rojo es sensible a la luz de longitud de onda larga (máxima sensibilidad a 560nm). Cono M o verde es sensible a la luz de longitud de onda media (máxima sensibilidad a 531nm), y el cono S o azul es sensible a la luz de longitud de onda corta (máxima sensibilidad a 420nm) (Masland, 2001; Guyton & Hall, 2006).

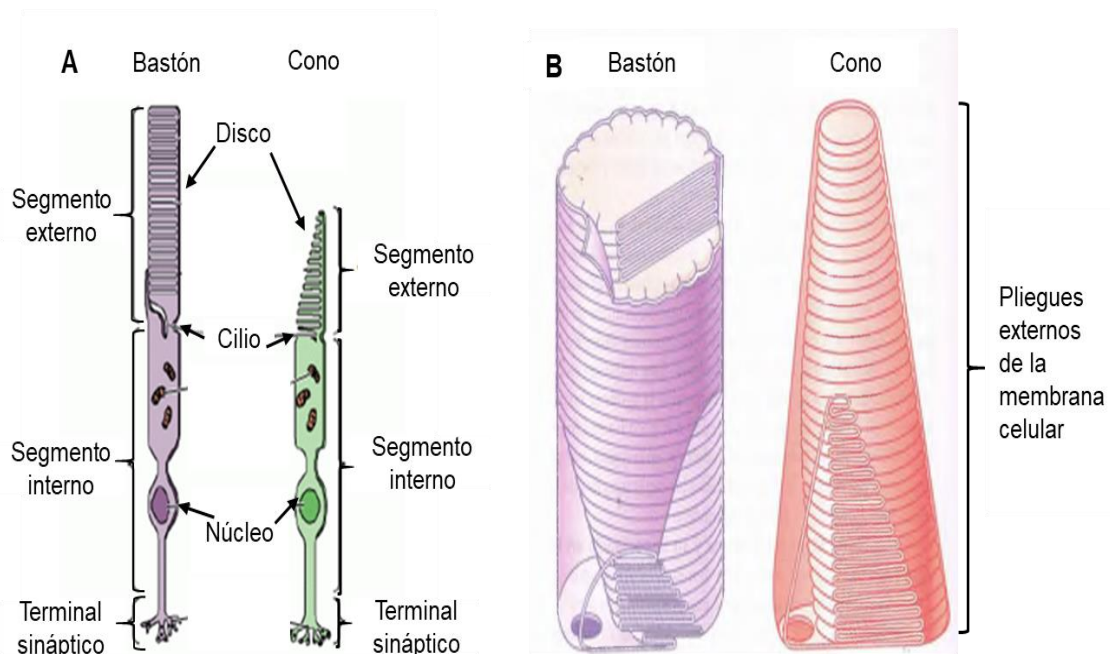


Figura 3. Estructura de los fotorreceptores. A, Los componentes del bastón y cono. B, El segmento externo del bastón y cono (Modificado de Guyton & Hall, 2006).

1.1.3.2.2. Células bipolares.

Las células bipolares están ubicadas verticalmente con respecto a las capas de la retina, sus dendritas están en la capa plexiforme externa donde hacen conexiones sinápticas con las células fotorreceptoras, y su cuerpo está en la capa nuclear interna, sus axones descienden hacia la capa plexiforme interna donde establecen conexiones sinápticas con las células ganglionares y las amacrinas.

Según la funcionalidad, las células bipolares se pueden subdividir en células ON y OFF dependiendo de su respuesta a la luz. Las células bipolares ON son aquellas que cuando los fotorreceptores son estimulados por la luz, dichas células bipolares conectadas a estos fotorreceptores se despolarizan, mientras que se hiperpolarizan cuando se suprime la luz. Por el contrario, las células bipolares OFF son aquellas que cuando los fotorreceptores son estimulados por la luz, dichas células bipolares se hiperpolarizan, mientras que se despolarizan cuando se suprime la luz (Nelson & Connaughton, 2007).

En 1893 Cajal había descubierto 2 tipos básicos de células bipolares, que son las bipolares de bastón y las bipolares de cono (Cajal, 1893). Las células bipolares de bastón son todas de tipo ON, mientras que las células bipolares de cono se pueden subdividir en ON y en OFF.

La información luminosa es transmitida de los conos a las bipolares de cono, y desde estas a las células ganglionares. Sin embargo, las bipolares de bastón transmiten el estímulo eléctrico a las células amacrinas AII, y desde estas se conduce a las células ganglionares. Hasta la fecha, se han encontrado más de 9 subtipos de células bipolares de cono (Wässle, 2004).

1.1.3.2.3. Células horizontales.

Las células horizontales tienen sus cuerpos ubicados en la capa nuclear interna y sus dendritas en la capa plexiforme externa, donde establecen conexiones sinápticas con los fotorreceptores. Las células horizontales de los vertebrados pueden presentarse con axón corto y delgado o sin axón (Cajal, 1893).

INTRODUCCIÓN

Las células horizontales disponen su árbol dendrítico de manera horizontal con respecto a las capas de la retina. Las células horizontales tienen un mecanismo de inhibición lateral, que regula la información que pasa de los fotorreceptores a las células bipolares. Las dendritas de las células horizontales establecen conexiones sinápticas con los axones de los conos, mientras que los axones de las células horizontales pueden establecer conexiones solo con los axones de los bastones (HI) o con las terminales de los conos (HII y HIII). Según la morfología, en los primates, las células horizontales se pueden clasificar en 3 subtipos: HI, HII y HIII (Kolb *et al.*, 1994).

1.1.3.2.4. Células amacrinas.

Las células amacrinas se pueden subclasificar en varios tipos en función de su morfología, función y tamaño. Se estima que en los mamíferos las células amacrinas pueden alcanzar hasta 20 o 30 tipos diferentes. Las células amacrinas, según los transmisores que liberan, se clasifican en: colinérgicas, glicinérgicas, dopaminérgicas, GABAérgicas, etc. (Masland, 2001).

Las células amacrinas se caracterizan por tener varias dendritas, pero carecer de axones. Sus cuerpos están ubicados en la capa nuclear interna y sus dendritas en la capa plexiforme interna. Las dendritas de las células amacrinas pueden estar conectadas entre sí, con los axones de las células bipolares o con las dendritas de las células ganglionares. Las células amacrinas están asociadas lateralmente y regulan la actividad eléctrica de sus células postsinápticas, bipolares y ganglionares. Las células amacrinas pueden despolarizarse e hiperpolarizarse según el tipo de estímulo luminoso y la ubicación del estímulo dentro de su campo receptor (Masland, 2001). La función principal de las células amacrinas es modular las características temporoespaciales de las señales provenientes de las células bipolares.

1.1.3.2.5. Células interplexiformes.

Las células interplexiformes proporcionan una vía centrífuga que puede transportar señales desde la capa plexiforme interna a la externa.

1.1.3.2.6. Células ganglionares.

En la retina, la energía luminosa es transformada en energía electroquímica en los conos y bastones. Los fotorreceptores liberan los neurotransmisores que provocan cambios en los potenciales de membrana de las células bipolares y horizontales. Finalmente, las células ganglionares procesan la información visual generando potenciales de acción que exportan dicha información al cerebro a través del nervio óptico.

De los fotorreceptores a las células ganglionares de la retina (CGR) se produce una convergencia de información, de manera que hay menos células ganglionares que de otro tipo de neuronas en la retina (Usrey & Reid, 1999). Podemos clasificar las células ganglionares de diferentes formas, en función de su morfología o de su fisiología. Según la morfología existen alrededor de 30 tipos de CGR. El estudio de Boycott ha clasificado CGR de gatos en α CGR, β CGR, γ CGR (Boycott & Wässle, 1974). El tipo α CGR se caracteriza por un cuerpo alargado y dendritas de arborizaciones monoestratificadas. El tipo β CGR se caracteriza por tener la arborización dendrítica con más ramas, mientras que el tipo γ CGR es un grupo mixto de células heterogéneas que se puede subclasificar en pequeños grupos (Germain *et al.*, 2010).

Según la fisiología, Kuffler descubrió que en los mamíferos las células ganglionares se pueden organizar en campo receptor concéntrico o campo receptor no concéntrico (Kuffler, 1953). En el campo receptor concéntrico existe un fenómeno de antagonismo entre el centro y la periferia. Un campo receptor es como el patrón gaussiano; tiene forma de sombrero mexicano (Kolb, 2003). Básicamente, podemos dividir la CGR en de centro ON y de centro OFF. La CGR de centro ON se puede activar cuando la luz cae en el centro e inactivar cuando la luz cae en su periferia. La CGR de centro OFF se puede activar cuando la luz estimula la periferia e inactivar cuando la luz estimula el centro. Las CGR que se organizan en campo receptor no concéntrico son responsables de las características específicas del estímulo visual, como el movimiento (Kolb, 2003; Germain *et al.*, 2010).

En la retina de los primates distinguimos principalmente tres grupos de CGR: enano, parasol y pequeño bistratificado (figura 4), los cuales dan lugar a 3 vías retino-geniculo-corticales para transmitir los diferentes tipos de estímulos visuales. Dichos tipos celulares son: parvocelular, magnocelular y koniocelular (Field & Chichilnisky, 2007).

INTRODUCCIÓN

Las CGR enanas constituyen aproximadamente el 80% de la población total de células ganglionares y se proyectan hacia las capas parvocelulares del núcleo geniculado lateral (NGL). Una CGR enana conecta con una sola célula bipolar enana, y se pueden clasificar en ON y OFF, su información proviene de células de cono-L y de cono-M. Sus funciones principales son la modulación de estímulos visuales de alto contraste, alta frecuencia espacial, baja frecuencia temporal, color rojo verde. La CGR enana se caracteriza por tener un pequeño campo receptor. Además, unas CGR enanas presentan una oposición rojo-verde, es decir que su campo receptor puede ser centro ON de rojo o verde (cuando estimula su centro con luz rojo o verde se activa), mientras que otro puede ser centro OFF de rojo o verde (cuando estimula su centro con luz rojo o verde se inactiva) (Purves *et al.*, 2006).

Las células ganglionares del tipo parasol constituyen aproximadamente el 10% de la población de células ganglionares, se conectan con varias células bipolares difusas, y proyectan hacia la capa magnocelular del NGL. Las células ganglionares parasol se pueden subclassificar en células ganglionares parasol-ON y parasol-OFF. Se caracterizan por tener un campo receptor grande, que responde principalmente a estímulos visuales de bajo contraste, baja frecuencia espacial, acromática y alta resolución temporal.

Las pequeñas células ganglionares bistratificadas son del tipo azul-ON y amarillo-OFF, es decir, se activan con luz azul e inactivan con luz amarilla (la luz amarilla resulta de una combinación de rojo y verde). Por tanto, su información proviene de los conos S, M y L. Sus dendritas se arborizan tanto en la subcapa On como en la subcapa Off de la capa plexiforme interna. Las células ganglionares bistratificadas se proyectan hacia la capa koniocelular del NGL. Su función principal es manejar el color amarillo azul (ver figura 4).

Recientemente se ha descubierto un nuevo tipo de CGR, la célula ganglionar de la retina intrínsecamente fotosensible, la cual también recibe información de conos y bastones para luego exportarla al nervio óptico (Feigl & Zele, 2014). La célula ganglionar de la retina intrínsecamente fotosensible, al igual que los fotorreceptores, responde ante la exposición a la luz, sólo que este tipo de células ganglionares lo hacen despolarizándose, ya que contiene melanopsinas sensibles a la misma. Las células ganglionares fotosensibles

constituyen aproximadamente del 1 al 3% de la población total de CCR, y sus axones se proyectan hacia el núcleo supraquiasmático, los centros visuales subcorticales y el pretectum (Berson, 2003). Su función principal es regular el ritmo circadiano y el reflejo pupilar (Bonmati-Carrion *et al.*, 2016).

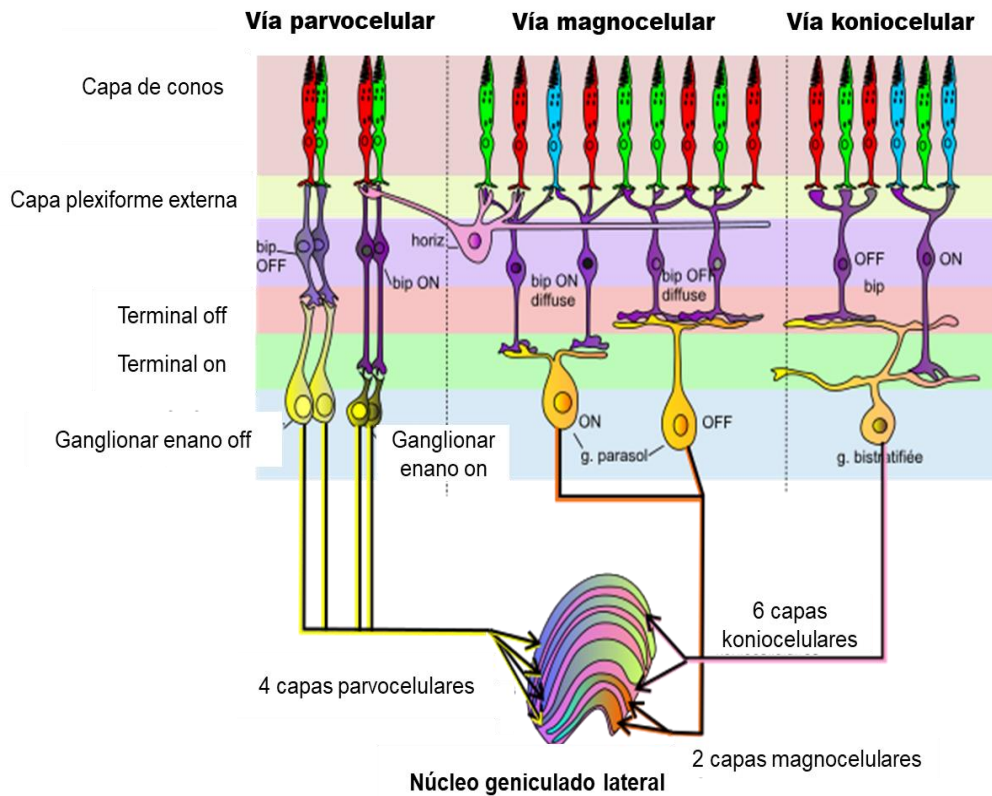


Figura 4. Organización de las células ganglionares y proyecciones de sus vías sobre el núcleo geniculado lateral. Conexiones de las células bipolares con los fotorreceptores y las células ganglionares, así como las proyecciones de estas últimas sobre el núcleo geniculado lateral de las vías parvocelular, magnocelular y koniocelular (Modificado de Pancrat, 2011).

1.1.3.3. Tipos celulares no neuronales.

En la retina humana, además de las células neuronales descritas anteriormente que sirven para transmitir y procesar la información de la luz, también hay células no neuronales que proporcionan el soporte, manutención y limpieza de la retina llamadas células gliales. Hay 3 tipos de células gliales: células de Müller, astrocitos y microglía (Vecino *et al.*, 2016).

1.1.3.3.1. Células de Müller.

Las células de Müller son de gran tamaño y se distribuyen por toda la retina. Su cuerpo celular está ubicado en la capa nuclear interna, pero sus prolongaciones se extienden entre la membrana limitante interna y la membrana limitante externa. Las células de Müller tienen como funciones: proporcionar soporte estructural y nutricional a las neuronas de la retina, limpiar los desechos metabólicos, controlar la homeostasis, proteger contra los cambios iónicos del entorno, reciclar los aminoácidos de los neurotransmisores, degradar neurotransmisores como el glutamato y el ácido γ -aminobutírico (GABA) y secretar factores de crecimiento (Bringmann *et al.*, 2013).

1.1.3.3.2. Astrocitos.

Los astrocitos son células en forma de estrella, sus cuerpos están ubicados en la capa de las células ganglionares y la capa nuclear externa. Los astrocitos rodean las fibras nerviosas y los vasos sanguíneos, de modo que sirven como soporte estructural y metabólico y participan en la detoxificación durante el proceso de envejecimiento (Matute *et al.*, 2001). Además, los astrocitos pueden aportar glucógeno como nutriente metabólico, regular los niveles extracelulares de K^+ , proporcionar antioxidantes enzimáticos y no enzimáticos (Newman *et al.*, 1984).

1.1.3.3.3. Células microgliales.

Las células microgliales tienen un origen mesodérmico, se encuentran en todas las capas de la retina y el nervio óptico, son células pequeñas y de forma variable con procesos cortos e irregulares. Las células microgliales tienen funciones fagocíticas que sirven como parte del sistema inmunológico. Cuando hay una lesión de las células de la retina, las células microgliales se activan y migran al sitio dañado para fagocitar los desechos generados (Carson *et al.*, 2006).

1.1.3.3.4. Oligodendrocitos.

Los oligodendrocitos son un tipo de células de la macroglía con pocas extensiones. Su origen embrionario se encuentra en las células del tubo neural del ectodermo. El nervio

óptico está formado por los axones de las células ganglionares de la retina y mielinizado por oligodendrocitos, a diferencia de los nervios periféricos, en los que la mielina es de las células de Schwann, que tienen origen embrionario en las células de la cresta neural (Butt *et al.*, 2004).

1.1.4. FISIOLÓGÍA DE LA RETINA.

1.1.4.1. Fototransducción.

La fototransducción es el proceso de conversión de la energía luminosa en información nerviosa. Primero, los fotones estimulan los fotorreceptores generando energía electroquímica, que provoca que se libere el neurotransmisor (glutamato) que da lugar a cambios en los potenciales de membrana de las células bipolares y horizontales. Finalmente, las células ganglionares procesan la información visual y mediante la generación de potenciales de acción la exportan a través del nervio óptico.

En la oscuridad, los fotorreceptores tienen un alto nivel de guanosina cíclica monofosfato (GMPc), lo que favorece la apertura de canales de GMPc dependientes y permite la entrada de los iones (principalmente Na^+ y Ca^{2+}) en el segmento exterior de los fotorreceptores. De esta forma, en la oscuridad se genera la corriente eléctrica y se mantiene un potencial de membrana de alrededor de -40 mV (Kandel *et al.*, 2000).

La fototransducción en los bastones comienza cuando la luz estimula su pigmento visual, la rodopsina. La luz provoca el cambio estructural del cromóforo con la isomerización del retinal desde 11-cis-retinal a todo-trans-retinal. La activación de la rodopsina se produce en sólo 10^{-3} segundos. Esta a su vez, activa a la transducina (la proteína G), que a su vez activa la enzima fosfodiesterasa del GMPc. La estimulación de los fotones disminuye la concentración de GMPc intracelular, lo que da lugar al cierre de los canales dependientes de GMPc. De esta forma se evita la entrada de los iones, lo que lleva a un cambio del potencial de membrana y la hiperpolarización de los fotorreceptores (Lamb & Pugh, 2006).

El proceso de transducción visual en los conos es muy similar al de los bastones, lo que diferencia es el pigmento visual. Los conos tienen pigmentos visuales, fotopsinas, que

INTRODUCCIÓN

son menos sensibles a luz, y requieren más fotones para iniciar el cambio estructural del cromóforo. Aunque la fototransducción en los conos es menos sensible, es más rápida y potente (Cibis *et al.*, 2008).

El proceso de transducción visual actúa como una cascada bioquímica de amplificación, lo que significa que la estimulación de un solo fotón provoca el cierre de cientos de canales iónicos en el segmento exterior de los fotorreceptores. Todos los elementos incluidos en la fototransducción deben recuperarse cuando el estímulo lumínico desaparece; cuanto más rápido se recuperen, más rápido podrán detectar de nuevo una nueva señal luminosa (Cibis *et al.*, 2008).

La recuperación de la rodopsina implica a la enzima recoverina, que puede fosforilar los residuos de serina y treonina de la rodopsina. La proteína arrestina puede unirse a la rodopsina fosforilada, evitando así que se une a la transducina y finalmente paralizando el proceso bioquímico de activación. Los discos de membrana de los bastones se desprenden continuamente, y son fagocitados por las células del epitelio pigmentario de la retina (Bok, 1993).

Para la recuperación de nucleótidos cíclicos en la oscuridad, los conos y bastones expresan la guanilato ciclasa (GC) que sintetiza GMPc. La actividad de la GC está regulada negativamente por la concentración de calcio intracelular; la estimulación luminosa cierra los canales de calcio dando como resultado una disminución del calcio intracelular. Cuando su concentración disminuye, el calcio se separa de la proteína activadora de la Guanilato Ciclasa (GCAP), lo cual estimula a la ciclasa que sintetiza GMPc (Fain, 2003). La nueva síntesis de GMPc provoca la apertura de canales iónicos en los segmentos exteriores de los fotorreceptores, recuperando así el potencial de membrana.

1.1.4.2. Adaptación a la luz y a la oscuridad.

Los fotorreceptores tienen cierta capacidad para adaptarse a los estímulos luminosos constantes. El calcio modula la actividad de la guanilato ciclasa (GC), por tanto, participa en la adaptación lumínica. Sin embargo, el mecanismo de participación del calcio en la adaptación es controvertido (Burns & Arshavsky, 2005). En la estimulación con luz, se

produce la hidrólisis de guanosina monofosfato cíclica (GMPc) y una disminución de la concentración de calcio intracelular. Con la disminución del calcio intracelular, la actividad de la GC aumenta, favoreciendo la síntesis de GMPc, hasta un equilibrio entre la síntesis y la hidrólisis de GMPc. Todo ello provoca la apertura de una fracción de los canales, evitando que el bastón se sature con la estimulación luminosa continua.

Los bastones son sensibles a la luz de baja intensidad y realizan su actividad en condiciones escotópicas ($<0,001 \text{ cd / m}^2$). Los conos realizan su actividad en condiciones fotópicas ($> 0,3 \text{ cd / m}^2$). Sin embargo, ambos tipos de fotorreceptores pueden ser estimulados en condiciones mesópicas ($> 0,001$ y $<0,3 \text{ cd / m}^2$) (Guyton & Hall, 2006).

La adaptación a la luz ocurre cuando los fotorreceptores han estado en condiciones fotópicas durante mucho tiempo, con lo que se ha reducido el número de pigmentos fotosensibles en los conos y bastones, quedando en los segmentos externos las opsinas y el retinal transformado, en gran parte, en vitamina A (todo-trans-retinol). La disminución de la concentración de fotopigmentos en los fotorreceptores disminuye también la sensibilidad del ojo a la luz.

La adaptación a la oscuridad ocurre cuando los fotorreceptores han quedado en condiciones escotópicas durante mucho tiempo. Esta situación da lugar a que el retinal y las opsinas de los fotorreceptores regeneran los fotopigmentos, así la vitamina A se transforma en retinal. La cantidad total de los fotopigmentos depende de la cantidad de opsina disponible para combinarse con el retinal. En este estado dispone de una gran cantidad de pigmento visual y máxima sensibilidad a la luz.

Cuando pasa del estado de adaptación a la luz al estado de oscuridad, la sensibilidad de la retina se recupera hasta 10 veces en el primer minuto y 6000 veces en 20 minutos. La adaptación a la oscuridad se puede subdividir en dos fases; la primera es muy rápida, pero con menor sensibilidad absoluta, se debe a los conos; la segunda fase es lenta, pero con mayor sensibilidad absoluta, y es debida a los bastones (Guyton & Hall, 2006; Lamb & Pugh, 2006).

La adaptación no sólo depende de la concentración de rodopsinas de bastones y fopsinas de conos, también hay otros dos mecanismos que regulan la adaptación. El primer

mecanismo es el cambio del diámetro pupilar, que puede regular la cantidad de luz que entra al ojo. El segundo mecanismo es la adaptación neuronal debida a las neuronas que forman la cadena visual en la retina y en el encéfalo. Estas neuronas permiten al ojo modificar su sensibilidad luminosa con corrección automática frente los cambios de iluminación (Fain, 2003).

1.1.4.3. Transmisión de la información a través de la retina.

Los fotorreceptores generan la señal eléctrica y procesan la información sensorial a través de las células retinianas y las conexiones establecidas entre ellas. Hay dos vías de procesamiento de información: la vía centrípeta y la vía transversal.

1.1.4.3.1. Vía centrípeta.

La vía centrípeta se basa en el neurotransmisor, que es el glutamato. La vía centrípeta atraviesa todas las capas de la retina, incluidas las células fotorreceptoras-células bipolares-amacrinas-células ganglionares. La vía centrípeta se puede subclasificar en 2 vías paralelas: una vía mediada por células bipolares de los conos y la otra vía mediada por células bipolares de los bastones (Guyton & Hall, 2006).

Desde los trabajos de Kuffler (1953), se conoce que la retina puede detectar la presencia de luz a través de la vía ON y su ausencia a través de la vía OFF (Kuffler, 1953). Las células bipolares de cono reciben la información de los conos. Debido a que en estas células donde se inician ambas vías se puede clasificar a las células bipolares en ON y OFF. Por otra parte, las células bipolares de bastón reciben la información de los bastones que son solo de tipo ON (de la Villa *et al.*, 1995). Respecto a las células ganglionares se ha visto que tienen una organización ON/OFF, que mantiene el signo de las células bipolares. Por tanto, las células bipolares y las ganglionares tienen un centro periférico antagonista, que puede ser centro ON y periferia OFF, o al revés.

Los fotorreceptores liberan glutamato como neurotransmisor y las células bipolares expresan receptores en sus dendritas para dicho neurotransmisor (Guyton & Hall, 2006). Las células bipolares ON se despolarizan ante el estímulo luminoso y las células bipolares OFF se hiperpolarizan ante el estímulo luminoso. Esto es debido a que ambos tipos de

células bipolares tienen diferentes receptores de membrana para glutamato. Las células bipolares de cono tipo OFF tienen sus dendritas con receptores ionotrópicos para glutamato de tipo AMPA/Kainato que abren canales para los cationes (Wassle & Boycott, 1991). De esta forma, en la oscuridad, con la liberación tónica de neurotransmisores por parte de los fotorreceptores, las células bipolares de tipo OFF se despolarizan. Cuando se produce un estímulo luminoso en los conos, estos dejan de liberar glutamato, con lo cual los receptores ionotrópicos no se estimulan y los canales se cierran, así las células bipolares de tipo OFF se hiperpolarizan (Wassle & Boycott, 1991). Las células bipolares de tipo ON tienen en sus dendritas receptores metabotrópicos para el glutamato, mGluR6 (Brandstätter *et al.*, 1998). En presencia de un estímulo luminoso, los fotorreceptores dejan de liberar el glutamato, que activaba al receptor metabotrópico, por lo que los canales catiónicos ya no se inhiben, provocando la entrada de iones y la despolarización de la célula bipolar tipo ON (de la Villa *et al.*, 1995).

Las células bipolares ON y OFF también difieren según la extensión de su axón. Las células bipolares ON establecen sus sinapsis en el sublámina ON de la capa plexiforme interna, mientras que las células bipolares OFF establecen sus sinapsis en el sublámina OFF de la capa plexiforme interna (ver figura 4).

Las células bipolares de bastón hacen conexiones sinápticas con las células amacrinas AII en la capa plexiforme interna, y no establecen conexiones sinápticas directas con las células ganglionares. Estas sinapsis son glutaminérgicas y excitatorias. Por lo tanto, las células amacrinas AII también se despolarizan cuando se estimulan los bastones.

Las células amacrinas AII establecen conexiones sinápticas con las células bipolares de cono tipo OFF en la capa plexiforme interna; son conexiones sinápticas glicinérgicas inhibitorias, por lo que inhiben las células bipolares bajo estímulo luminoso. Además, las células amacrinas AII hacen conexiones sinápticas eléctricas con las células bipolares de cono tipo ON, activándolas bajo el estímulo luminoso. En la vía visual de los bastones, las vías ON y OFF se deben a los dos tipos de sinapsis existentes entre las células amacrinas AII y las células bipolares de cono.

INTRODUCCIÓN

Las células bipolares ON dan lugar a la vía ON y son capaces de detectar una imagen clara sobre fondo oscuro, mientras que las células bipolares OFF dan lugar a la vía OFF y detectan una imagen oscura sobre fondo claro (Kolb, 2003).

Las células amacrinas y ganglionares mantienen el signo ON u OFF generado en las células bipolares. Las células ganglionares reciben inputs sinápticos (glutamatérgicos) desde las células bipolares de cono, que puede ser la estimulación directa de los conos (cono – bipolar de cono – ganglionar) o por la estimulación de los bastones (bastón – bipolar de bastón – amacrinas AII – bipolar de cono – ganglionar). Por tanto, las células ganglionares procesan distintas señales que envían fuera del ojo mediante la generación de potenciales de acción.

1.1.4.3.2. Vía transversal.

La vía transversal se basa en neurotransmisores como GABA y glicina. La vía transversal está ubicada en la capa plexiforme externa (mediada por células horizontales) y la capa plexiforme interna (mediada por células amacrinas).

Las vías transversales de la retina incluyen el mecanismo de inhibición lateral de las células horizontales sobre los fotorreceptores y las bipolares en la capa plexiforme externa (Guyton & Hall, 2006). Las dendritas de las células horizontales reciben información del pedículo de conos a través de sus receptores ionotrópicos de glutamato. Los axones de las células horizontales establecen conexiones sinápticas con la esférula de los bastones. Las células horizontales pueden liberar GABA, que actúa como un input sináptico sobre los axones de los bastones y las dendritas de las células bipolares de bastón (Cibis *et al.*, 2008).

Las vías transversales de la retina también incluyen el mecanismo de inhibición lateral de las células amacrinas en la capa plexiforme interna (Kolb, 2003). Las células amacrinas utilizan varios neurotransmisores como GABA, glicina, acetilcolina, serotonina, dopamina y ciertos neuropéptidos para ejercer este mecanismo. Las células amacrinas tienen la función de integrar y modular las características tempo-espaciales de las señales transmitidas por las células bipolares.

1.1.5. PROYECCIONES CENTRALES DE LA RETINA.

La vía visual comienza con la captura de información luminosa en la retina hasta el procesamiento final de la información en la corteza visual. Anatómicamente, la vía óptica incluye la retina, el nervio óptico, el quiasma óptico, las cintillas ópticas, el núcleo geniculado lateral, las radiaciones ópticas y la corteza visual.

Los axones de las células ganglionares salen de cada ojo formando el correspondiente nervio óptico. Los nervios ópticos de ambos ojos se unen en el quiasma óptico, donde se cruzan las fibras hemirretinianas nasales, pero manteniéndose ipsilaterales las fibras hemirretinianas temporales. Tras el quiasma, las fibras del lado temporal ipsilateral y las del lado nasal contralateral se unen para formar las cintillas o tractos ópticos. Posteriormente, los tractos ópticos proyectan hasta tres zonas subcorticales principales: el tubérculo cuadrigémino o colículo superior (CS), el pretectum mesencefálico y el núcleo geniculado lateral del tálamo (NGL).

El 90% de las cintillas ópticas se proyectan hasta el NGL, por lo que se considera que el NGL es la estación de relevo más importante para el transporte de la información visual a la corteza visual. Las neuronas del NGL envían sus axones en forma de radiaciones ópticas a la corteza visual primaria, que está situada en la superficie media de los polos posteriores de los hemisferios cerebrales. La corteza visual primaria renvía la información a centros superiores para el procesamiento visual. Dichos centros son encargados de la percepción del movimiento, el color, la forma y la profundidad (Guyton & Hall, 2006).

1.1.6. MOVIMIENTOS OCULARES.

1.1.6.1. Tipos de movimientos oculares.

Los movimientos oculares están controlados por los 3 pares de músculos oculares antagonistas. Los músculos rectos nasal y temporal permiten que los ojos se muevan horizontalmente. Los rectos superior e inferior controlan el movimiento vertical y medial de los ojos, mientras que los músculos oblicuos superior e inferior controlan el movimiento vertical y lateral de los ojos. Los nervios craneales tercero, cuarto y sexto, con sus núcleos ubicados en el mesencéfalo y la protuberancia, controlan la contracción de estos músculos (Gila *et al.*, 2009).

INTRODUCCIÓN

El estudio de los movimientos oculares ha sido objeto de múltiples investigaciones a lo largo de los años, ya que nos permite analizar las características cualitativas y cuantitativas del movimiento ocular. La calidad de los movimientos oculares nos da una idea del estado de los músculos, nervios y núcleos cerebrales responsables de su funcionalidad (Kimmig *et al.*, 2001). Por tanto, el análisis de los movimientos oculares puede aportar información útil para el diagnóstico de enfermedad o degeneración de esas estructuras (Takagi *et al.*, 1998; Quaia *et al.*, 1999). Más recientemente, el monitoreo de los movimientos oculares se ha utilizado para controlar dispositivos electrónicos a través de interfaces humano-computadora (Keegan *et al.*, 2011). El análisis de los movimientos oculares ha permitido además el estudio de las características psicofisiológicas y conductuales de algunos profesionales, como conductores o pilotos (Galley, 1993).

Los movimientos oculares se pueden clasificar en tres grandes grupos (Carpenter, 1988): El primer grupo se refiere a los movimientos necesarios para mantener la mirada, incluye el reflejo vestíbulo-ocular (VOR) y el reflejo optocinético (OKR). Son movimientos involuntarios, conocidos como nistagmo, consistentes en la rotación alterna del ojo, rápidos en una dirección y lentos en la dirección opuesta. Durante el VOR, los ojos compensan el movimiento de rotación de la cabeza. Este es un movimiento involuntario que se origina en el sistema vestibular. Consiste en una fase lenta de rotación del ojo en la dirección opuesta a la rotación de la cabeza, seguida de una fase rápida ($400^{\circ}/\text{sg}$) de rotación del ojo en la misma dirección de rotación de la cabeza; el movimiento puede oscilar en cualquiera de los tres ejes del ojo (vertical, horizontal, posterior-anterior). El OKR permite que los ojos compensen el desplazamiento del campo visual para mantener la mirada. También es un movimiento involuntario y reflejo. El globo ocular se mueve lentamente ($60^{\circ}/\text{sg}$) en la misma dirección de desplazamiento del campo visual y rápidamente en la dirección opuesta (Becker, 1991). El estímulo visual engloba todo el campo visual en movimiento rotacional y el observador no tiene un foco de atención o fijación clara. El ejemplo típico es ver como el paisaje observado desde la ventana de un transporte se mueve, el ojo busca un punto fijo al cual sigue en su desplazamiento y cuando sale del campo visual rápidamente busca otro nuevo.

Un segundo grupo de movimientos oculares permite el desplazamiento de la mirada con fines de búsqueda. Estos desplazamientos de los ojos pueden ser movimientos sacádicos,

movimientos de persecución y vergencias. El movimiento sacádico permite el cambio brusco de fijación sobre un objeto que aparece repentinamente en el campo visual. Es voluntario, con una amplitud máxima de 30°, alcanzando una velocidad de 700°/sg (Gila *et al.*, 2009). Se admite que hacemos un promedio de 1 a 4 sacadas por segundo. El movimiento de persecución o seguimiento también es de carácter voluntario, y permite la fijación simultánea de la fovea de cada ojo sobre un objeto que se mueve por el campo visual. Tiene una velocidad ideal de 15-30°/sg y una velocidad máxima de 100°/sg (Meyer *et al.*, 1985). Los movimientos sacádicos corrigen la desviación de los movimientos de persecución, compensándose entre sí (Lencer & Trillenber, 2008). El alcohol, la fatiga y la edad avanzada pueden disminuir la eficiencia del movimiento de persecución, apareciendo la persecución *sacadizada* (Kanayama *et al.*, 1994). En paciente con esquizofrenia, el estudio de movimiento de persecución sirve como indicador para investigar su aspecto genético y psicopatológico (Smyrnis, 2008).

El segundo grupo de movimientos oculares incluye vergencias (convergencia y divergencia). Estos movimientos voluntarios permiten cambiar el eje anteroposterior del globo ocular en el plano horizontal, con el fin de alinear la fovea en objetos cercanos o lejanos, disminuyendo (convergencia) o aumentando (divergencia) el ángulo formado por el eje de estos ojos.

Un tercer grupo son los “micromovimientos” que podrían describirse como nistagmo fisiológico (Martinez-Conde *et al.*, 2006). Cuando mantenemos la mirada fija en un punto, ambos ojos sufren un movimiento involuntario de pequeña amplitud (menos de 1°), lo que permite la estimulación continua de los fotorreceptores y evita el fenómeno de desvanecimiento por saturación de fotorreceptores (Tulunay-Keesey, 1982). Los micromovimientos oculares son: temblores (amplitud pequeña/frecuencia alta), fluctuaciones (amplitud media/frecuencia media) y microsacádicos (amplitud grande/frecuencia baja).

1.2. TÉCNICAS DE ELECTROFISIOLOGÍA VISUAL.

Las técnicas de electrofisiología visual son útiles para detectar y localizar un déficit de la estructura neuronal en la vía visual, como los conos, bastones, células bipolares, células

INTRODUCCIÓN

ganglionares y células diencefalo-corticales, etc. Son de gran valor en la clínica y en la investigación.

Las principales técnicas de electrofisiología visual incluyen: el electrooculograma (EOG) que se basa en la función del epitelio pigmentario de la retina (EPR) y los segmentos externos de los fotorreceptores (Constable *et al.*, 2017). El flash electrorretinograma (ERG) refleja una respuesta eléctrica global de la retina, específicamente las células fotorreceptoras, bipolares y amacrinas (McCulloch *et al.*, 2015). El multifocal ERG permite realizar un mapa de las respuestas de las mismas células que contribuyen al flash ERG (Hood *et al.*, 2012). El ERG patrón detecta principalmente las respuestas de células ganglionares, sus axones y células en la mácula retiniana (Bach *et al.*, 2013). El potencial evocado visual (VEP) recopila la respuesta eléctrica desde la retina hasta la corteza visual, lo que refleja la funcionalidad de toda la vía visual (Odom *et al.*, 2016).

La Sociedad Internacional para Electrofisiología Clínica de la Visión (ISCEV) ha propuesto protocolos para diferentes técnicas de electrofisiología visual, lo que ha facilitado su aplicación en la clínica y la investigación, en cuanto a sus estímulos, condiciones adecuadas, electrodos, registros y formas de analizar los resultados, etc. Desde 1994, la ISCEV ha propuesto el uso estandarizado de ERG, en 1995 un estándar para EOG y en 1997 el estándar para ERG patrón (Marmor & Zrenner, 1993; Marmor *et al.*, 1995; Marmor & Zrenner, 1995).

Las ventajas de las pruebas electrofisiológicas son la detección precoz de defectos en las estructuras neuronales de la vía visual; son técnicas objetivas que no se ven afectadas por los factores psicológicos del paciente, los resultados son cuantitativos, y tienen alta sensibilidad y especificidad a los cambios anatómicos. La combinación de pruebas electrofisiológicas con otras pruebas estructurales puede mejorar la precisión en su diagnóstico.

La existencia de varios tipos de técnicas de electrofisiología visual permite que, en cada etapa desde la entrada del estímulo visual en la retina hasta la corteza visual, hay una técnica de electrofisiología visual que puede evaluar los componentes neuronales de la vía visual, un déficit en la retina, en el nervio óptico o en el diencefalo-cortical, puede encontrar una técnica correspondiente (figura 5).

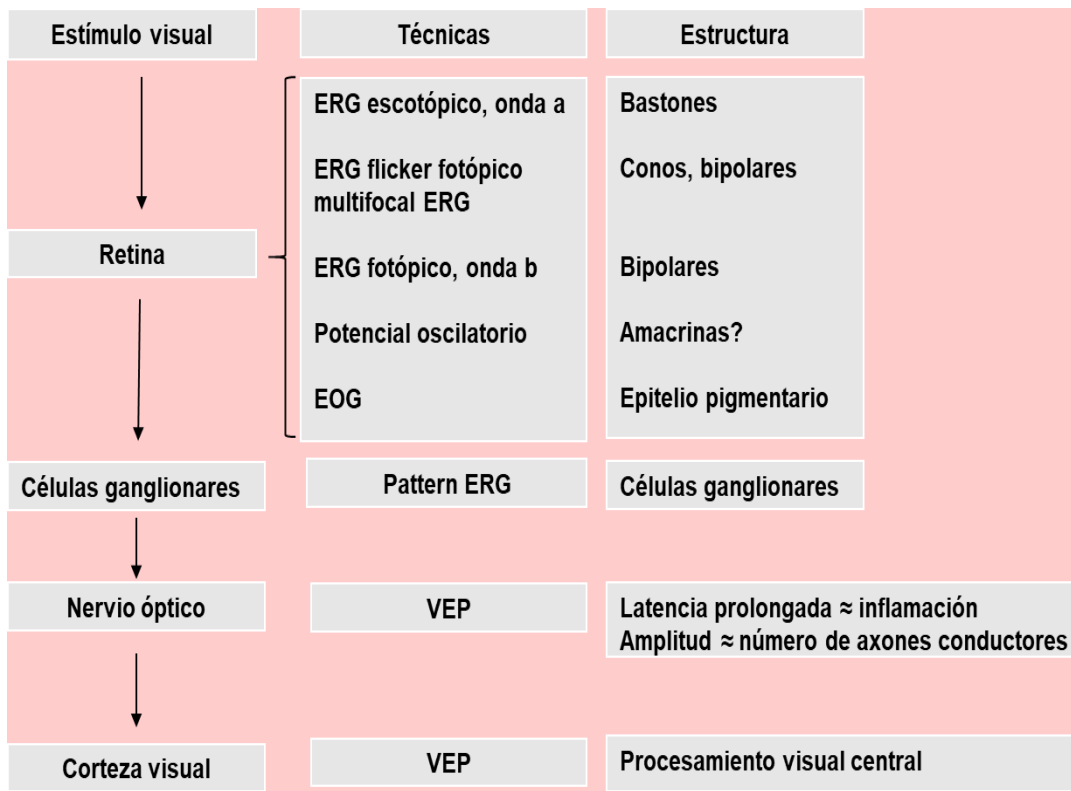


Figura 5. Principales técnicas de electrofisiología visual correspondientes a las estructuras topográficamente analizadas en la vía visual.

ERG: electroretinograma, EOG: electrooculograma, VEP: potencial evocado visual (Modificado de Bach, 2001).

1.2.1. ELECTORRETINOGRAMA DE PATRÓN (pERG).

1.2.1.1. Uso clínico estandarizado de pERG.

El Electroretinograma patrón (pERG) es una variedad de ERG del campo completo, introducido por Riggs para uso humano (Riggs *et al.*, 1964). Según el protocolo de la Sociedad Internacional para Electrofisiología Clínica de la Visión (ISCEV), se puede aplicar el pERG para detectar enfermedades relacionadas con la mácula y las células ganglionares (Bach *et al.*, 2013).

INTRODUCCIÓN

Estímulos: En el uso clínico estandarizado de pERG, el estímulo es un damero de ajedrez o barra que cambia alternativamente entre blanco y negro con una frecuencia temporal de $2,0 \pm 0,4$ Hz ($4,0 \pm 0,8$ reversiones por segundo), y un promedio de luminancia constante (ver figura 6). La anchura y altura de la pantalla debe estar entre 4:3 a 1:1, el tamaño del damero debe ser de 0,8 grado ($\pm 0,2$ grado), la luminancia fotópica en áreas blancas deber ser mayor de $80 \text{ cd} / \text{m}^2$, la pantalla debe ser estimulador de tubo de rayos catódicos (CRT). El contraste entre blanco y negro tiene una gran influencia en la respuesta de pERG, debería ser más de 80%. Esta prueba puede realizarse en una habitación con iluminación normal (Bach *et al.*, 2013). El participante debe usar una corrección óptica adecuada. Hay autores que proponen que para que se pueda interpretar adecuadamente esta prueba el participante debe tener una agudeza visual superior a 0,8 en la escala de Snellen (Bach & Mathieu, 2004).

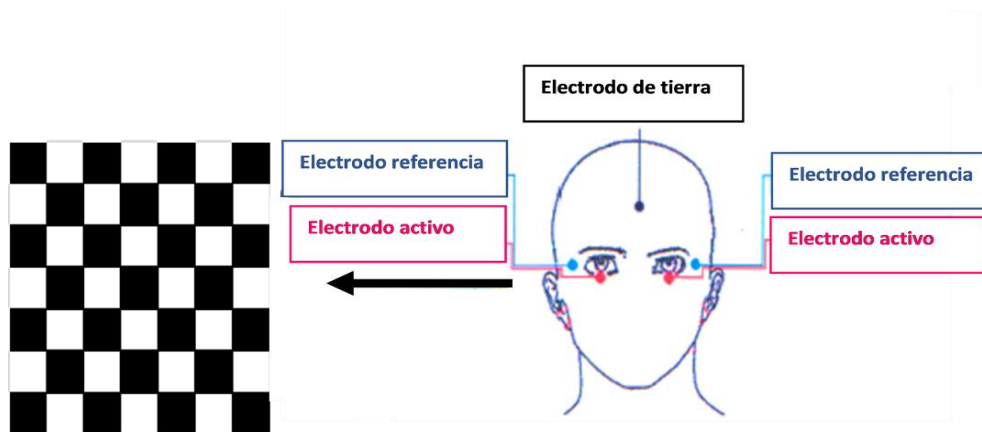


Figura 6. Estimulación y colocación de electrodos para ERG patrón. Estímulo de damero en blanco y negro (izquierda), colocación de electrodos (derecha), incluido el electrodo activo (rojo), el electrodo de referencia (azul) y el electrodo de tierra (negro).

Electrodos: Las señales se registran a través de un electrodo activo; hay 3 tipos de electrodo activo: electrodo activo de fibra, de lámina, de bucle. La colocación del electrodo activo debe estar por encima del margen del párpado inferior, por debajo del limbo corneal inferior; también se puede colocar en la zona conjuntival del fórnix inferior, pero de esta manera puede tener menor amplitud de respuesta, y la estabilidad de la colocación del electrodo es importante para obtener un buen resultado. Los electrodos de referencia y tierra son copas de cloruro de plata y oro (electrodos superficiales), generalmente colocamos el electrodo de referencia en el canto exterior del ojo examinado; si lo colocamos en el lóbulo de la oreja, la frente o la mastoides, puede haber

contaminación por potenciales corticales o del otro ojo (Bach *et al.*, 2013). El electrodo de tierra que se suele colocar en la frente o en el lóbulo de la oreja no muestra una influencia obvia en la respuesta (Bach *et al.*, 2013).

Subtipos del pERG: Hay 2 tipos de pERG, el transitorio y el estable. El pERG transitorio es cuando la reversión del damero en blanco y negro es menos de 6 veces por segundo, lo que equivale a menos de 3 Hercios, se usa más en la clínica y tiene una respuesta completa antes de la aparición del siguiente estímulo. El pERG estable es cuando la reversión es de más de 10 veces por segundo, es una respuesta de ondas sinusoidales y regulares, importante en la detección del glaucoma (Bach *et al.*, 2013).

Procedimientos: Durante la prueba, el paciente se sienta frente a la pantalla en un ángulo de visión de alrededor de 15 grados y debe fijar el centro de la estimulación con un marcador en cruz. Las estimulaciones se repiten más de 100 veces para mejorar la ratio señal/ruido. Los artefactos como los movimientos oculares, el parpadeo durante la prueba, la falta de transparencia del medio del globo ocular puede tener una influencia obvia en la respuesta de pERG (van den Berg *et al.*, 1986; Ver Hoeve *et al.*, 1999).

Respuesta típica: La respuesta típica de un pERG transitorio está formada por una onda negativa que se presenta alrededor de los 35 milisegundos, llamada N35, seguida de una onda positiva alrededor de los 45-60 ms llamada P50 (ver figura 7). Finalmente, se produce una onda negativa alrededor de los 90-100 ms llamada N95. El análisis de la amplitud P50 se mide desde el valle de N35 hasta el pico de P50, las medidas de la amplitud N95 desde el pico P50 hasta el valle N95 (Duncan, 2001; Bach *et al.*, 2013).

Origen del pERG: El primer estudio sobre el origen de la respuesta pERG fue realizado por Mafei, después de seccionar el nervio óptico en gatos, la respuesta pERG disminuyó progresivamente hasta desaparecer, pero la respuesta flash ERG se mantuvo normal (Mafei & Fiorentini, 1981). En el estudio de Arden de pacientes con enfermedades del nervio óptico, se descubrió que las respuestas de pERG disminuyeron, pero las respuestas ERG flash permanecieron normales (Arden *et al.*, 1982). La diferencia entre un ERG patrón y un ERG flash es que el estímulo de ERG flash es una luz con cambios de luminosidad, mientras que el estímulo de pERG es un damero que cambia entre blanco y negro alternativamente con un promedio de luminancia constante. La estimulación de las

INTRODUCCIÓN

células ganglionares por este método es debido al mecanismo de antagonismo centro periferia del campo receptor de las células ganglionares (Zrenner, 1990). Se considera que la onda P50 se genera en las células ganglionares, pero depende de otras células en la región de la mácula retiniana, como los fotorreceptores y bipolares; la onda N95 se origina en los axones de las células ganglionares y depende exclusivamente de la célula ganglionar (Holder, 2001; Bach *et al.*, 2013). El pERG es eficaz para detectar enfermedades relacionadas con la mácula y las células ganglionares. En la clínica, la combinación de patrón VEP y pERG puede distinguir entre una alteración de la mácula y del nervio óptico (Bach *et al.*, 2013). En la maculopatía se ven anomalías en la onda P50, mientras que en la neuropatía se nota más cambios en la onda N95 (Holder, 2001).

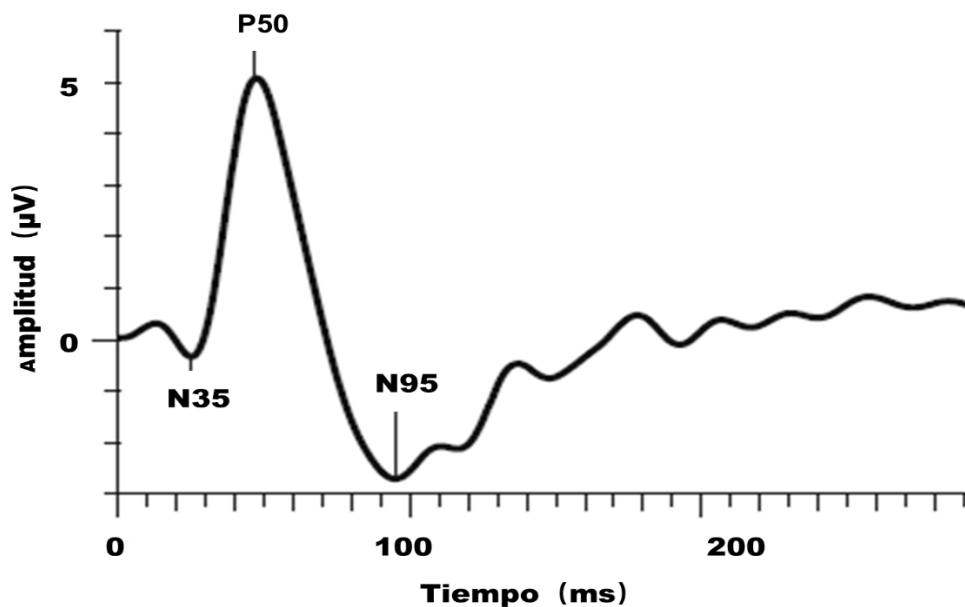


Figura 7. Respuesta típica de pERG transitorio, que incluye las tres ondas y las mediciones de sus amplitudes y latencias. La respuesta típica de un pERG transitorio está formada por tres ondas, una onda negativa (N35) que aparece alrededor de los 35 milisegundo (ms), una onda positiva (P50) alrededor de los 45-60 ms y una onda negativa (N95) alrededor de los 90-100 ms (Modificado de Bach *et al.*, 2013).

1.2.1.2. Factores que influyen en la respuesta del pERG.

La frecuencia temporal del estímulo, como hemos explicado, cuando la reversión es inferior a 8 veces por segundo genera una respuesta transitoria, y cuando es mayor de 8 veces la respuesta es estable, con la limitación de que la reversión no puede ser superior a 18 veces por segundo porque dificulta la discriminación de los daderos. El ERG patrón estable tiene ventajas como: estar menos influido por el parpadeo y los movimientos oculares. Ciertos estudios han mostrado que utilizar un número de reversiones de entre 10 y 18 veces por segundo es efectivo para distinguir entre pacientes con glaucoma y personas sanas (Bach, 2001; Bach & Hoffmann, 2008).

El estudio de la frecuencia espacial del estímulo mostró que, en la etapa precoz del glaucoma, no había cambios obvios en la respuesta de pERG ante un estímulo cuyo tamaño del damero fuera de 16 grados, pero sí encontró cambios significativos cuando dicho tamaño fuera de 0,8 grados. La ratio de pERG entre la respuesta obtenida con un estímulo de 0,8 y 16 grados es recomendable y eficaz para el diagnóstico del glaucoma precoz (Bach & Hoffmann, 2008).

Estímulos con contraste de color (azul-amarillo y rojo-verde) y contraste de luminancia han sido utilizados para evaluar la vía koniocelular, parvocelular y magnocelular independientemente. El estudio reveló que estos estímulos han sido eficaces para distinguir la enfermedad de Parkinson y la atrofia multisistémica (Korth & Rix, 1989; Sartucci *et al.*, 2006).

1.2.1.3. Glaucoma estudiado mediante el Electrorretinograma patrón.

La enfermedad más estudiada en relación con el ERG patrón probablemente sea el glaucoma, tanto en su diagnóstico precoz como en su progresión a diferentes etapas. Esto es debido a que el glaucoma daña principalmente las células ganglionares y el ERG patrón refleja la actividad de dichas células.

Existen discrepancias entre los diferentes estudios. Se ha visto que la reducción de amplitud en P50 y N95 eran similares en el glaucoma y que las latencias se mantuvieron normales (Trick, 1985; Korth *et al.*, 1989). De este modo, la eficacia diagnóstica de la amplitud del pERG fue similar a la de la perimetría automatizada estándar (Tafreshi *et*

al., 2010). Sin embargo, otro estudio destacó que el glaucoma se veía más afectado en la onda P50 que en la N95 (Viswanathan *et al.*, 2000). Por otro lado, en pacientes con hipertensión ocular, ciertos estudios han encontrado un ERG patrón anormal 2 años antes de la aparición de los defectos campimétricos (Maddess *et al.*, 2000; Ventura *et al.*, 2012). Se considera la ratio de ERG patrón (entre 0,8 y 16 grados de estímulo en el damero) como un biomarcador de la progresión de la hipertensión ocular al glaucoma (Bach, 2001; Bach *et al.*, 2006; Bach & Hoffmann, 2008). Por el contrario, en otro estudio se encontró que la ratio P50/N95 era estable respecto a los controles (Hood *et al.*, 2005).

En pacientes con sospecha de glaucoma, el ERG patrón también había sido eficaz en la predicción de la progresión a glaucoma (Bach *et al.*, 2006; Bode *et al.*, 2011). El electroretinograma de patrón optimizado para el cribado de glaucoma (PERGLA) es un nuevo tipo de pERG estable, el cual tiene ventajas como la colocación de los electrodos, que son de contacto cutáneo no corneal, resulta menos invasivo para el paciente y tiene una buena ratio señal/ruido. Algunos estudios han demostrado su eficacia en la detección del glaucoma (Porciatti & Ventura, 2004; Ventura & Porciatti, 2006; Bowd *et al.*, 2009).

1.2.2. TÉCNICAS QUE REFLEJAN LA FUNCIONALIDAD DE LAS CÉLULAS GANGLIONARES DE LA RETINA.

Existen varias técnicas que se basan en detectar la funcionalidad de diferentes tipos de células ganglionares y sus vías correspondientes.

1.2.2.1. La perimetría automatizada de longitud de onda corta.

La perimetría automatizada de longitud de onda corta (SWAP) es una prueba de perimetría que difiere de la perimetría automatizada estándar. Se realiza con un estímulo de color azul y un fondo de iluminación amarillo (Johnson *et al.*, 1993), lo que permite activar específicamente las células ganglionares bistratificadas y la vía koniocelular. Las células ganglionares bistratificadas constituyen alrededor del 10% de todas las células ganglionares. Se encuentran en menor cantidad y redundancia, de modo que son más sensibles al daño temprano en el glaucoma, lo que puede ayudar en su detección precoz (Polo *et al.*, 1998; Polo *et al.*, 2002).

1.2.2.2. La respuesta fotópica negativa.

La respuesta fotópica negativa (PhNR) es una onda que aparece después de la onda b en el flash electroretinograma (ERG) de campo completo. Algunos estudios han destacado que la respuesta fotópica negativa depende de la integridad funcional de las células ganglionares y sus axones (Viswanathan *et al.*, 2001; Frishman *et al.*, 2018). La aplicación de un estímulo con luz roja y fondo azul puede generar una mayor respuesta de las células ganglionares (Viswanathan *et al.*, 2001). Esta técnica es útil en la detección de glaucoma (Machida *et al.*, 2008) y neuropatía óptica (Gotoh *et al.*, 2004). También se ha observado que la PhNR se correlaciona con la disminución del pERG (Colotto *et al.*, 2000), y se cree que la onda N95 y la respuesta fotópica negativa (PhNR) tienen el mismo origen (North *et al.*, 2010).

1.2.2.3. La perimetría de doble frecuencia.

La perimetría de doble frecuencia (PDF) evalúa la sensibilidad de contraste del paciente con estímulos de diferentes contrastes en el campo visual dividido en varios sectores, basándose en el fenómeno de ilusión de doble frecuencia. La ilusión de doble frecuencia es un fenómeno presente en el sistema visual del humano, cuando hay un estímulo con alta frecuencia temporal y baja frecuencia espacial, se percibe doble número de estímulos (Burnstein *et al.*, 2000; Iester *et al.*, 2003). Se ha confirmado que este tipo de estímulos activan específicamente las células My (subtipo de células ganglionares magnocelulares). Debido a que se dañan en una etapa precoz del glaucoma, resulta eficaz para detectar el glaucoma en una etapa temprana (Cello *et al.*, 2000).

1.2.3. ELECTROOCULOGRAMA.

1.2.3.1. Definición del electrooculograma.

En el ojo humano existe una diferencia de potencial eléctrico entre el polo corneal anterior (carga positiva) y el polo retiniano posterior (carga negativa), lo que da como resultado un dipolo anteroposterior del globo ocular, llamado potencial permanente o reposo del ojo (Mowrer *et al.*, 1935). El dipolo eléctrico es una medida indirecta del potencial transepitelial (TEP) del epitelio pigmentario retiniano (EPR), que se determina por la

INTRODUCCIÓN

diferencia de potencial entre la membrana basolateral y la apical de las células epiteliales pigmentarias (Constable *et al.*, 2017). El electrooculograma (EOG) es una prueba electrofisiológica introducida por Marg (Marg, 1951) que registra los cambios del potencial eléctrico en el epitelio pigmentario de la retina (EPR) durante el periodo de adaptación a la luz y a la oscuridad. Es una medida indirecta del potencial transepitelial (TEP) del epitelio pigmentario de la retina (EPR), resulta igual a la diferencia de potencial entre membrana basolateral y apical (Constable *et al.*, 2017). La amplitud de este voltaje se altera mientras cambia la iluminación de la retina, localización del electrodo, magnitud, ángulo de visión, velocidad de excursión visual, prominencia del ojo, etc. Según aumenta el ángulo de visión aumenta la amplitud de la respuesta EOG (ver figura 8). Sin embargo, el ángulo de visión no tiene una relación lineal con la amplitud de EOG (Belov *et al.*, 2010). En la clínica, para evaluar el funcionamiento de la retina externa y el EPR, se registran las respuestas del EPR sometidas a un cambio de iluminación.

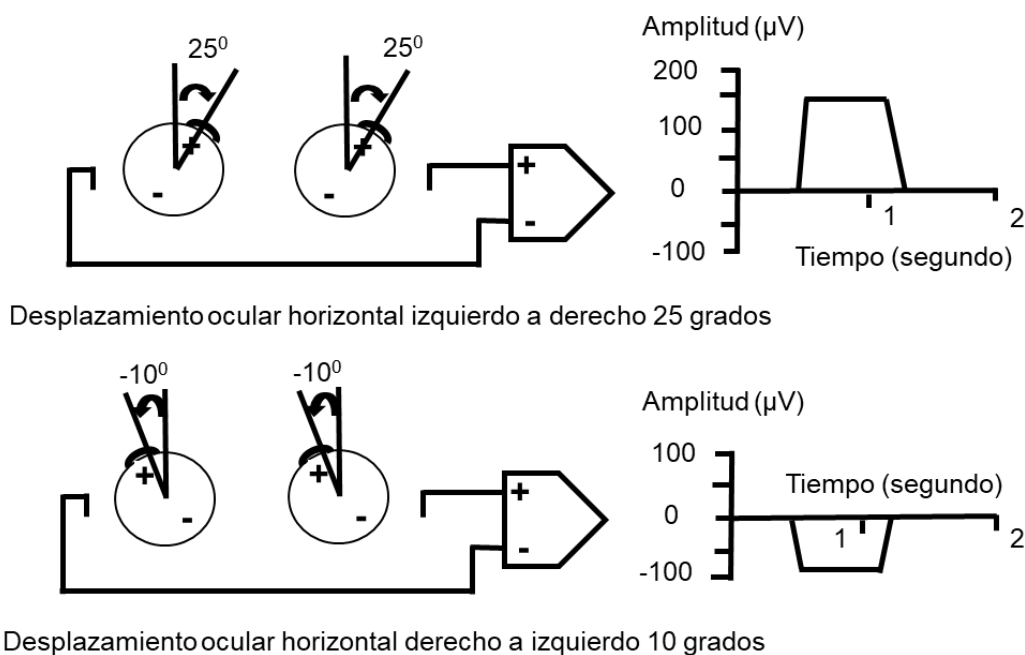


Figura 8. Relación entre el ángulo de visión y la amplitud de respuesta EOG. Un ejemplo del movimiento ocular horizontal: de izquierda a derecha 25 grados (esquema superior) y de derecha a izquierda 10 grados (esquema inferior), se produce respuesta del EOG positiva con mayor amplitud y negativa con menor amplitud, respectivamente (Modificado de Klaiman, 2004).

En 1954, Riggs informó de los valores anormales del EOG en la degeneración pigmentaria retiniana (Riggs, 1954). En 1962, Arden descubrió que la amplitud absoluta

del potencial de reposo (potencial del polo anteroposterior) no era tan valiosa como la comparación de amplitud existente entre las condiciones de luz y oscuridad a la hora de evaluar el funcionamiento de la retina externa y el EPR (Arden *et al.*, 1962). Además, se observó la reducción del potencial de reposo (potencial del polo anteroposterior) tras la inyección intravenosa de manitol y acetazolamida (Kawasaki *et al.*, 1984). En humanos y gatos, se ha observado como la hipoxia causa un aumento del potencial de reposo, mientras la restauración con oxígeno da lugar a la disminución del mismo. Por último, el EOG, además de para detectar enfermedades del epitelio pigmentario, se ha utilizado también para analizar las características del movimiento ocular durante la rehabilitación (Banerjee *et al.*, 2013).

1.2.3.2. Procedimiento de registro EOG para uso clínico estandarizado.

Según el protocolo de la Sociedad Internacional para Electrofisiología Clínica de la Visión (ISCEV), el EOG se puede aplicar para detectar enfermedades relacionadas con trastornos difusos del EPR y de la capa de los fotorreceptores en la retina (Constable *et al.*, 2017).

En la clínica usamos el electrodo de copa dorada o de oro cloruro plata o electrodo superficial desechable tipo electrocardiograma para el registro de EOG. Se colocan cuatro electrodos de registro en las zonas medial y lateral del canto, y el electrodo de tierra que se pone en la frente. El voluntario se sienta en la habitación con luz, mirando en una esfera difusa, 2 pequeñas luces de fijación rojas tenuemente iluminadas en la línea de visión del paciente. Las 2 luces de fijación permiten una excursión de 30 grados mientras el paciente mira desde el lado izquierdo hacia el derecho. La magnitud del movimiento ocular (en un ángulo fijo) es proporcional al potencial de reposo. Se recomienda la frecuencia temporal del cambio de la luz de fijación en 1 Hz, realizando 10 registros por minuto. Por otro lado, aunque en un proceso estándar se debe dilatar la pupila, cuando el diámetro pupilar es mayor de 3mm la respuesta clínica no permite observar variaciones significativas (Lam, 2005).

En el registro hay 3 etapas. En el periodo de pre-adaptación, el paciente se expone a la luz de la habitación aproximadamente durante 15 minutos, con una intensidad lumínica de entre 35-70 lux. En un segundo periodo se produce la adaptación a la oscuridad,

INTRODUCCIÓN

registrándose 15 minutos en la oscuridad. Por último, en el periodo de adaptación a la luz, bajo una luz con intensidad de 100 cd m^2 , se registra durante 15 minutos.

El uso del EOG clínico proporciona una medida indirecta del potencial transepitelial. Se busca la amplitud mínima del potencial de reposo en el valle de oscuridad (DT) y la amplitud máxima en el pico de luz (LP), después se calcula la ratio entre pico luz/valle de oscuridad (ratio LP/DT) en EOG (ver figura 9). La ISCEV para el electrooculograma estándar recomienda usar el término ratio LP/DT al comunicar el resultado (Constable *et al.*, 2017).

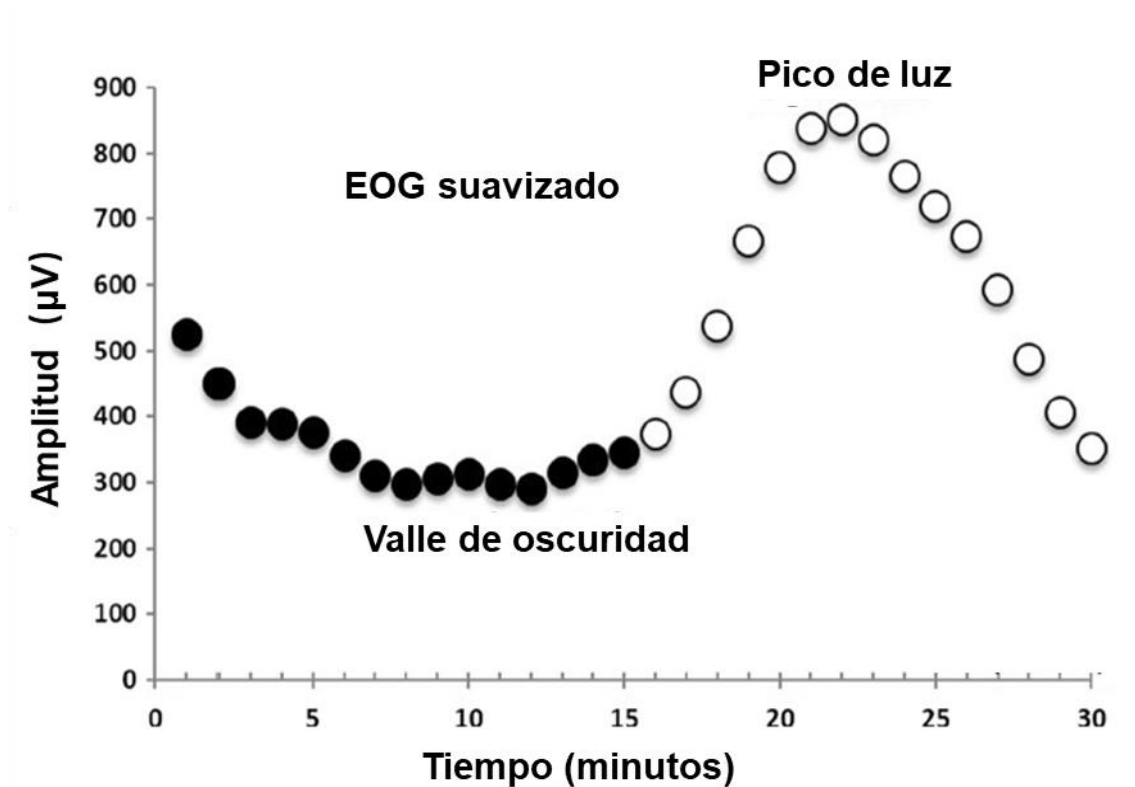


Figura 9. Procedimiento del registro de EOG para evaluar el epitelio pigmentario de la retina. Esta figura está suavizada a partir de los datos crudos registrados en los periodos de adaptación a la oscuridad y de adaptación a la luz, para buscar el valle de oscuridad y el pico de luz, se pueden utilizar algoritmos informáticos o ajustes con una regla de *spline* (Tomado de Constable *et al.*, 2017).

1.2.3.3. Mecanismo de cambio de potencial transepitelial en el EPR registrado por EOG.

En la evaluación del EPR, durante la adaptación a la luz, hay un aumento del potencial transepitelial (TEP) que normalmente alcanza el máximo a los 7 a 12 minutos y se conoce

como pico de luz (LP). El LP se vuelve progresivamente más pequeño durante la exposición continua a la luz hasta llegar a los 90 minutos (Constable *et al.*, 2017). El mecanismo de iniciación del pico de luz no se conoce de forma exacta, pero se sabe que el calcio libre intracelular del EPR aumenta, liberado por el retículo endoplásmico, mecanismo regulado por el canal de calcio en la membrana basolateral y la bestrofina del retículo endoplásmico en el EPR. El aumento de calcio intracelular favorece la apertura del canal de cloruro en la membrana basolateral, ya que es calcio-dependiente. Con la salida del cloruro, la membrana basolateral se despolariza, aumentando el potencial transepitelial, registrado como un aumento de potencial en el EOG (Constable, 2014; Constable *et al.*, 2017). En pacientes con distrofia viteliforme macular (o enfermedad de Best), debido al cambio genético de la bestrofina, hay un cambio relevante en los registros del EOG (Scholl & Zrenner, 2000).

Existe otra prueba similar al EOG para evaluar el EPR llamada oscilación rápida. En ella discurre 1 minuto en la luz y 1 minuto en la oscuridad de forma alternativa. La oscilación rápida y el EOG, aunque tienen las mismas especificaciones técnicas, muestran una polaridad opuesta, porque el mecanismo de oscilación rápida se debe a los cambios de los cotransportadores, bombas, canales iónicos en las membranas apical y basolateral y a los movimientos transepiteliales de agua e iones (ver figura 10).

INTRODUCCIÓN

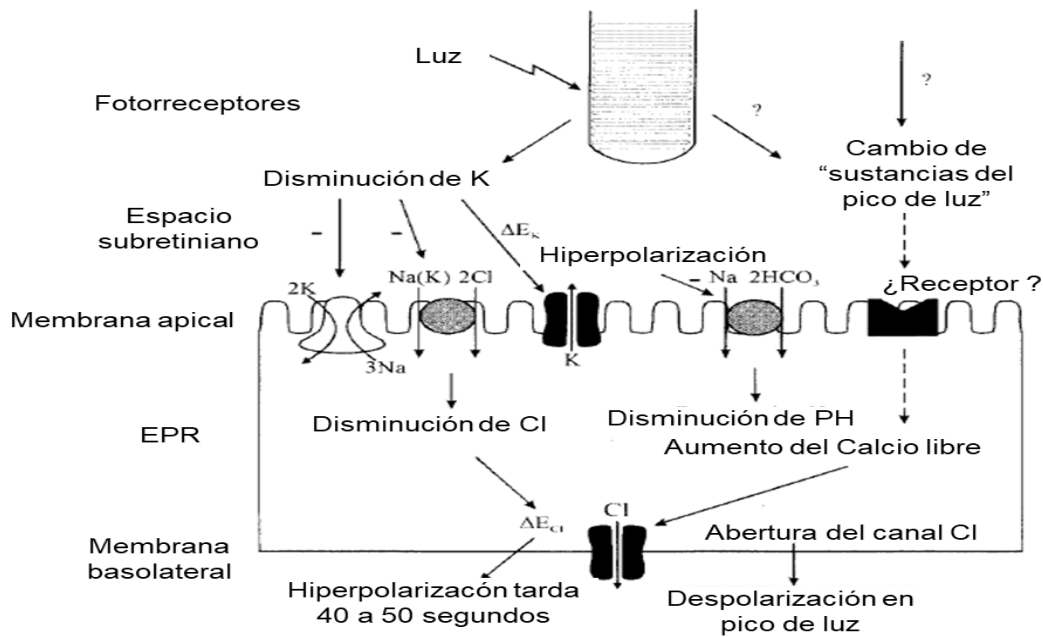


Figura 10. Mecanismo de la oscilación rápida y del electrooculograma. El lado izquierdo explica el mecanismo de la oscilación rápida: con la estimulación luminosa se producen cambios de los iones, cotransportadores y canales; al final, la membrana basolateral se hiperpolariza en 40-50 segundos y se registra como una disminución del potencial transepitelial a la exposición de luz. En el lado derecho se explica el mecanismo de EOG: en el periodo de adaptación a la luz durante 15 minutos aumenta el calcio intracelular, lo que favorece la apertura del canal de cloruro; finalmente, la membrana basolateral se despolariza, lo que se registra como un aumento del potencial transepitelial, llamado pico de luz (Modificado de Arden, 2006).

Las bombas que mantienen la corriente en los fotorreceptores durante la oscuridad disminuyen su velocidad durante la iluminación, con lo que la entrada de sodio a los fotorreceptores disminuye. Sin embargo, la entrada de potasio a los fotorreceptores aumenta, lo que da lugar a una disminución del potasio subretiniano. El potencial de membrana apical está regulado principalmente por la concentración de potasio (Steinberg, 1985). Con la disminución de la concentración subretiniana de potasio, se produce hiperpolarización de la membrana apical, de modo que disminuye la entrada de cloruro a las células del EPR. Después de 40-50 segundos, la membrana basolateral se hiperpolariza, lo que se registra como una disminución del potencial transepitelial tras la exposición a la luz. Cuando está en oscuridad, la homeostasis iónica tarda entre 40 y 50 segundos, registrándose un aumento del potencial transepitelial (Arden, 2006). El registro normal del EOG y de la oscilación rápida requiere que la interfaz entre fotorreceptores y EPR funcione normalmente (Nilsson & Wrigstad, 1997).

1.2.3.4. EOG en la evaluación del epitelio pigmentario de la retina.

La respuesta del EOG, es decir, la ratio LP/DT del EOG, se altera en los trastornos difusos del EPR y de la capa de los fotorreceptores en la retina, incluidas retinopatías adquiridas y distrofias retinianas con la disfunción consiguiente de bastones y conos. En pacientes con distrofia viteliforme macular (también llamada enfermedad de Best), debido al cambio genético de la bestrofina, la respuesta del ERG de campo completo suele ser normal, sin embargo, el EOG muestra una anomalía notable (Weleber, 1989).

Retinopatías tóxicas como las debidas al alcohol también pueden tener una reducción en la ratio LP/ DT de EOG (Arden, 2006). Así como en el desprendimiento de retina, en el cual se observan cambios en la respuesta del EOG (Lobes, 1978).

1.2.3.5. Técnicas para la estimación del movimiento ocular.

A lo largo de los años, se han desarrollado diferentes técnicas para el análisis y cuantificación de los movimientos oculares (Wade *et al.*, 2003). Actualmente, los movimientos oculares pueden medirse mediante técnicas de electrooculografía, dispositivos de reflexión de luz infrarroja, el uso de la bobina de seguimiento magnético o mediante videooculografía (Young & Sheena, 1975; Eggert, 2007). Los dispositivos de reflexión infrarroja se basan en la intensidad de la luz infrarroja que es reflejada por el ojo y medida por fotodiodos colocados en diferentes direcciones. Este método está prácticamente libre de ruido (Torok *et al.*, 1951), aunque la respuesta depende en gran parte de la ubicación de los fotodiodos y no mide los movimientos angulares. La bobina magnética, colocada en el globo ocular mediante una lente de contacto, es un método preciso pero invasivo que limita la detección de los movimientos muy rápidos. El contacto de la lente con la córnea también puede determinar una limitación en el tiempo de uso (Irving *et al.*, 2003). Por último, la videooculografía se basa en un sistema de vídeo de alta velocidad que permite grabar los movimientos oculares, para su posterior análisis informático.

1.2.3.6. La EOG en la monitorización de los movimientos oculares.

De todos los métodos utilizados para monitorizar los movimientos oculares, quizás el más utilizado sea el EOG. El cual consiste en una prueba electrofisiológica que permite registrar los cambios de potencial eléctrico entre la córnea y la retina. La amplitud del potencial cambia con la magnitud y la velocidad de la excursión visual (Belov *et al.*, 2010). A través de la grabación del EOG, es posible medir el movimiento de los ojos en más de dos direcciones simultáneamente. El EOG es el sistema de análisis del movimiento ocular más utilizado, ya que es un método objetivo que permite la detección del movimiento ocular de alta amplitud de hasta ± 70 grados con una precisión de 1,5 a 2 grados (Smyrnis, 2008). También permite evaluar el movimiento de los ojos con los ojos cerrados. El principal inconveniente es que el movimiento de la cabeza y los campos eléctricos circundantes pueden afectar la calidad de la grabación, por lo que cuando se utiliza esta técnica, es necesario aislar el entorno de los campos eléctricos circundantes (Calkins *et al.*, 2001).

1.2.4. POTENCIAL EVOCADO VISUAL MULTIFOCAL.

1.2.4.1. Definición del VEP multifocal.

El potencial evocado visual (VEP) es una técnica que refleja la integridad funcional de la vía visual en su totalidad. Se registra la respuesta en la corteza visual, con un estímulo de luz intensa o un patrón en la retina. El defecto de VEP en la respuesta no ofrece información topográfica, de modo que no permite localizar los daños locales (Odom *et al.*, 2016). En 1994, Baseler aplicó estímulos multifocales, consistente en utilizar 60 sectores con dameros blanco-negro, y realizar el VEP (Baseler *et al.*, 1994) con una secuencia m-binaria pseudorandomizada, lo que le permitió analizar topográficamente la respuesta desde la retina hasta la corteza visual, a lo que se ha llamado potencial evocado visual multifocal (mfVEP). Es una técnica objetiva y sensible para medir el campo visual, que no necesita la cooperación manual del paciente, no se afecta por factores físicos ni psicológicos y se realiza en menos tiempo, también se observó que la edad y el sexo no afectan la objetividad del VEP multifocal (Klistorner & Graham, 2000).

Hasta el día de hoy, no hay una manera estandarizada de estudio con el mfVEP que incluyan estímulo, equipo, colocación de electrodos, manera de analizar el resultado etc. En la interpretación de los resultados del mfVEP, Hood ha propuesto calcular la media de la raíz cuadrada (RMS) de amplitud, y la ratio señal/ruido (SNR) en cada sector del ojo, después comparar cada sector con una base normativa para determinar su probabilidad, y finalmente calcular su clúster monocular e interocular (Hood & Greenstein, 2003). Klistorner ha sugerido calcular la respuesta máxima en cada sector y compararla con una base normativa para lograr un gráfico de probabilidad en cada sector, después calcular el escotoma monocular e interocular, finalmente con el tamaño, profundidad y asimetría de escotomas dar un índice de puntuación que es el índice de severidad de Accumap (ASI) (Klistorner *et al.*, 1998; Graham *et al.*, 2005).

1.2.4.2. Procedimiento de registro del VEP multifocal para uso clínico.

La Sociedad Internacional de Electrofisiología Clínica (ISCEV) no ha estipulado una manera estandarizada de utilizar el VEP multifocal (Bach, 2018). La siguiente

descripción del uso de VEP multifocal de Hood (Hood & Greenstein, 2003) es una de las más populares.

1.2.4.2.1. Estímulos.

El estímulo se expone en la pantalla plana del ordenador, la cual está dividida en 60 sectores, cada sector consiste en 8 dameros blancos (200 cd/m^2) y 8 dameros negros ($< 3 \text{ cd/m}^2$) con un contraste de 99% (ver figura 11). En cada sector, el damero blanco y negro cambia cada 13 ms con una secuencia m-pseudorandomizada independientemente y con una probabilidad de 0,5, los tamaños de los diferentes sectores y dameros están escalados según magnificación cortical de la corteza visual (Baseler *et al.*, 1994). Durante la prueba el paciente se sienta a 32 cm y enfrente de la pantalla formando un ángulo de visión de 44,5 grados en los ejes vertical y horizontal. La estimulación se realiza de manera simultánea en diferentes zonas de retina obteniendo una respuesta independiente en cada una de ellas.

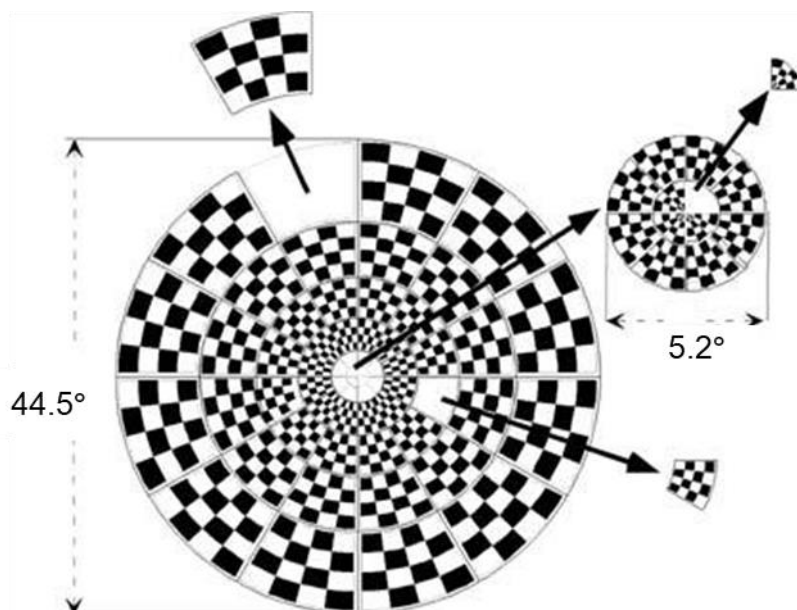


Figura 11. Estímulo del mfVEP. El estímulo de mfVEP consiste en 60 sectores, cada sector consiste en 8 dameros blancos (200 cd/m^2) y 8 dameros negros ($< 3 \text{ cd/m}^2$), con un contraste de 99%, durante la prueba el paciente se sienta enfrente de la pantalla formando un ángulo de visión de 44,5 grados en los ejes vertical y horizontal.

1.2.4.2.2. Electrodo y registros.

Los mismos electrodos y amplificadores que se emplean para los registros en VEP se usan para mfVEP (Hood *et al.*, 2003; Hood *et al.*, 2006). Igualmente, se aplica una parte de las técnicas según recomienda la ISCEV para el VEP estándar (Odom *et al.*, 2016). Usamos copa dorada (Astro-Med Inc. West Warwick, USA) para recoger las señales en cada canal. Con 3 electrodos activos: 1 electrodo activo situado a 4 cm por encima del inion, los otros 2 electrodos activos están puestos a 4 cm al lado izquierdo y derecho desde el punto 1 cm por encima del inion respectivamente. El electrodo de referencia se pone en el inion y el electrodo de tierra se pone en la frente. Así se forman 3 canales registrados y 3 canales adicionales derivados (ver figura 12).

Todas las señales se recogen a través de la Veris software (*Electro-Diagnostic Imaging* Inc. San Mateo, USA), son filtradas con una frecuencia baja de 3 Hz hasta una frecuencia alta de 100 Hz (Hood *et al.*, 2002b; Nakamura *et al.*, 2011) y amplificadas (*Grass instruments preamplifier P511J*, Quincy, MA). La impedancia de cada canal debe estar por debajo de 5 k Ω (Grover *et al.*, 2008; Fortune *et al.*, 2009), medida por un medidor de impedancia (*GRASS F-EZM5, electrode impedance meter*, West Warwick, USA). El registro de cada ojo se hace separadamente, cada ojo se repite 2 veces y cada registro dura 7 minutos. Durante el registro vigilamos el ojo del paciente a través de una cámara óptica para asegurar que mantiene la fijación del ojo adecuadamente, si hay pérdida de fijación o fijación inestable, repetimos el proceso.

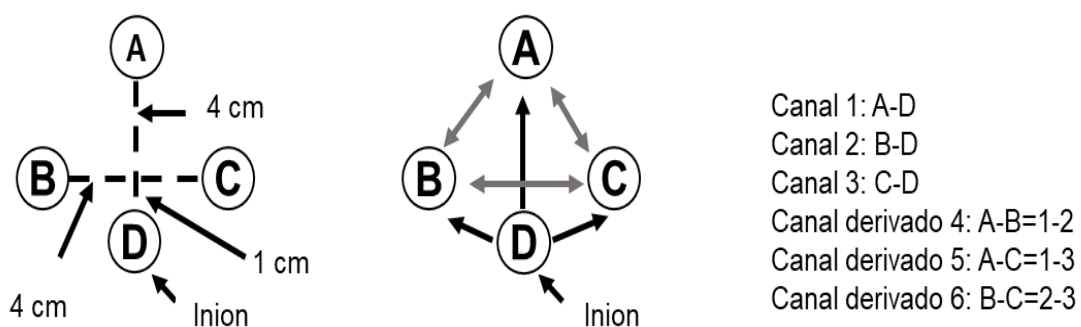


Figura 12. Colocación de electrodos formando los 6 canales en mfVEP. Colocación de los electrodos (lado izquierdo). Los 3 canales registrados (flechas negras) y los 3 canales adicionales derivados (flechas grises) (lado derecho).

1.2.4.2.3. Análisis de las señales del mfVEP.

Los registros exportados serán procesados por el software MATLAB (MATLAB software; The MathWork Inc, Natick, MA, USA) (Hood *et al.*, 2000b). De los 6 canales que recogen las señales, elegimos el canal que presente la mejor respuesta para el análisis, que es el que provee mejor registro por sector con una ratio señal/ruido (SNR) mayor (Zhang *et al.*, 2002). Al igual que en las técnicas anteriores se necesita una base normativa con datos normales para poder realizar el análisis.

Se calcula la media de la raíz cuadrada (RMS) de la amplitud de la señal en cada sector del mfVEP en el tiempo comprendido entre 45 a 150 ms (Hood *et al.*, 2000a; Hood *et al.*, 2003), y la RMS de la amplitud de ventana de ruido entre 325-430 ms. La SNR de cada respuesta local en mfVEP se calcula dividiendo la RMS de la señal por la RMS del ruido. Un gráfico de probabilidad de amplitud interocular se basa en el cálculo de las diferencias de amplitud interocular mediante el logaritmo de la ratio interocular en cada localización (Hood *et al.*, 2002a). Un gráfico de probabilidad de amplitud monocular se basa en comparaciones con la base normalizada (ver figura 13) (Fortune *et al.*, 2004).

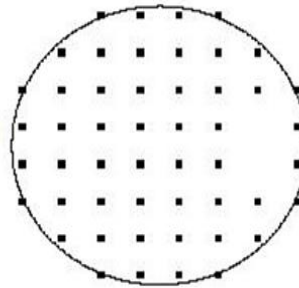
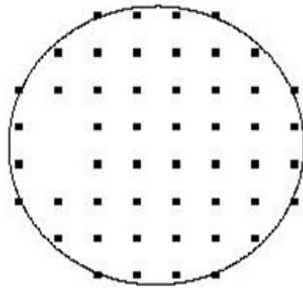
Un gráfico de probabilidad monocular de latencia se calcula en el desfase temporal de la mejor intercorrelación entre el ojo del paciente y la base normativa. El gráfico de latencia de la probabilidad interocular es el desfase temporal de la mejor intercorrelación entre ambos ojos del paciente (ver figura 14) (Garway-Heath *et al.*, 2000; Hood *et al.*, 2004b). Tanto en el gráfico de amplitud como en el de latencia, un color rojo indica defecto en el ojo izquierdo, color azul indica defecto en el ojo derecho. Color desaturado significa un defecto con significación estadística de $p < 0,05$, color saturado significa un defecto con significación estadística de $p < 0,01$. El color negro indica que no existe diferencia estadística y color gris indica un valor demasiado bajo para poder realizar la comparación. Para criticar si existe o no anomalía en el mfVEP se realizó un análisis de clúster, un clúster se define como 2 puntos contiguos en $p < 0,01$, o 3 puntos contiguos en $p < 0,05$ con al menos uno de estos puntos en $p < 0,01$, para ello, los dos puntos más cercanos a la fijación en cada hemisferio fueron excluidos del análisis (Hood & Greenstein, 2003). También se contaron los números totales de puntos anormales y clúster en cada subcampo de mfVEP (puntos anormales en $p < 0,05$ y $0,01$) (Thonginnetra *et al.*, 2010).

Monocular summary for Paciente X, Fecha X / Ch=Best

Blue=OD, Red=OS light color $\leq 2.5\%$, dark color $\leq 0.5\%$

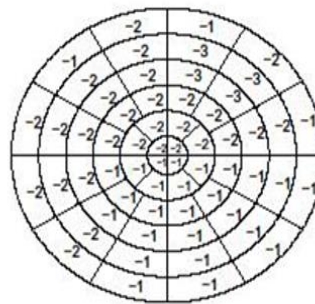
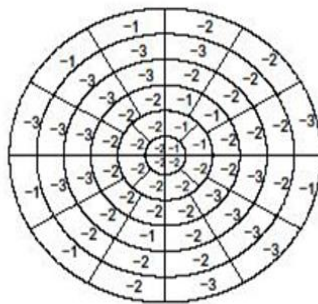
Humphrey OS, Fecha x

Humphrey OD, Fecha x



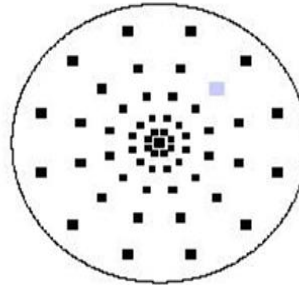
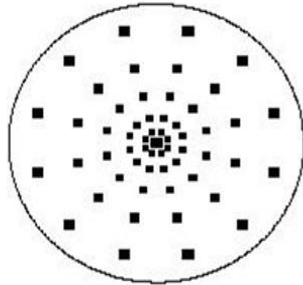
Extrapolated VF OS

Extrapolated VF OD



VEP OS

VEP OD

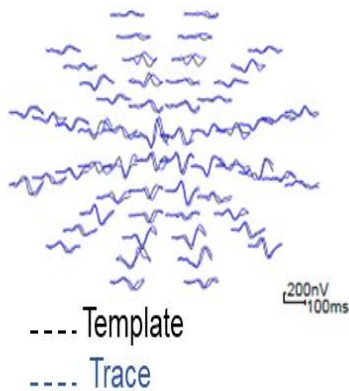


SIND = 1.88 NIND=0.14 Alpha=-0.70 SIND = 2.33 NIND=0.24 Alpha=-1.60

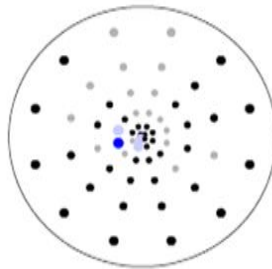
Figura 13. Amplitud monocular recogida desde el mejor canal en una persona sana. Los dos gráficos superiores son las sensibilidades en la perimetría Humphrey del ojo derecho (OD) y del ojo izquierdo (OS). Los dos gráficos intermedios son los mismos gráficos superiores pero divididos en 60 sectores correspondientes a los estímulos del mfVEP. Los 2 gráficos inferiores son de probabilidad monocular de amplitud en el ojo izquierdo (OS) y en el ojo derecho (OD).

INTRODUCCIÓN

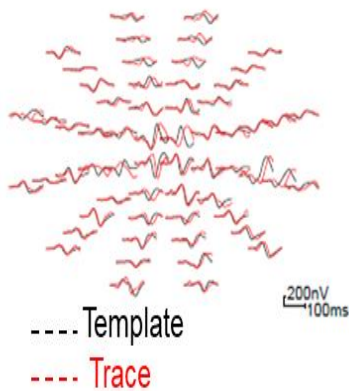
Monocular Best Channel, OD



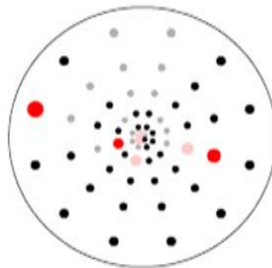
Monocular Latency Prob Plot Paciente X, Best ch, Fecha X, OD
Mean latency =7.14 Median latency = 7.50



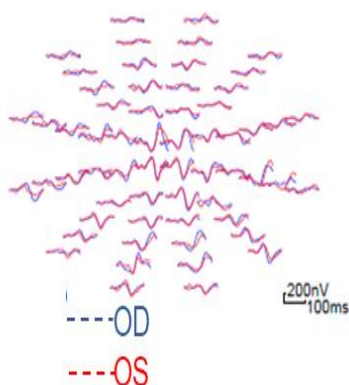
Monocular Best Channel, OS



Monocular Latency Prob Plot Paciente X, Best ch, Fecha X, OS
Mean latency =8.45 Median latency = 7.50



Interocular Best Channel



Interocular Latency Prob Plot Paciente X, Best ch, Fecha X,
Mean latency OD-OS =-2.78 Median latency OD-OS = -2.50

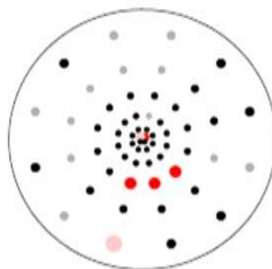


Figura 14. Latencia monocular e interocular recogida del mejor canal registrado en una persona sana. Los dos gráficos superiores son las señales y la probabilidad monocular de latencia en el ojo derecho (OD). Los dos gráficos intermedios son las señales y la probabilidad monocular de latencia en el ojo izquierdo (OS). Y los gráficos inferiores muestran las señales y la probabilidad interocular de latencia en ambos ojos.

1.2.4.3. Técnicas funcionales para el diagnóstico de glaucoma.

El glaucoma es la causa principal del daño visual irreversible en el mundo y se espera que aumente hasta aproximadamente los 111,8 millones de personas en 2040 (Tham *et al.*, 2014). Por lo tanto, el diagnóstico temprano del glaucoma es importante para detectar, diagnosticar y tratar a los pacientes en las primeras etapas. Un tratamiento en etapa temprana puede prevenir su progresión a etapas avanzadas y mantener una visión saludable.

El glaucoma es una enfermedad ocular caracterizada por la excavación del nervio óptico y el defecto en el campo visual, constituyendo una de las causas principales de ceguera. En el glaucoma, la presión intraocular (PIO) puede ser elevada o normal (Von Graefe, 1857). Hasta hoy en día, el mecanismo de la patogénesis del glaucoma no está claro, algunos investigadores han propuesto diferentes teorías sobre su patogénesis como: el factor presión mecánica intraocular (Quigley & Addicks, 1980; Drance *et al.*, 1988), el factor vascular (Flammer *et al.*, 2002), el factor de cambios anatómicos en la lámina cribosa (Miller & Quigley, 1987; Park & Park, 2013), los factores autoinmunes (Yang *et al.*, 2001), el aumento de la diferencia de presión trans lamina cribosa (Morgan *et al.*, 2008), la disminución de la presión intracraneal (Ren *et al.*, 2010), etc.

Algunos estudios han mostrado que la edad y la raza pueden ser factores importantes en la alta prevalencia del glaucoma (Tielsch *et al.*, 1991). Entre los factores de riesgo del glaucoma se incluyen: la miopía, la diabetes, la hipertensión arterial, el alto nivel de colesterol, los antecedentes familiares, etc. (Mitchell *et al.*, 1999; Gordon *et al.*, 2002).

Hay varias formas de clasificar el glaucoma, la más importante es en glaucoma primario y secundario. El glaucoma primario no se asocia con otros trastornos oculares o sistémicos, pero tiene una dificultad en el drenaje del humor acuoso. En este grupo se incluye el glaucoma de ángulo cerrado (agudo, subagudo o crónico), glaucoma de ángulo abierto (presión intraocular alta o normal) y el glaucoma con anomalías en el desarrollo (Glaucoma congénito, juvenil).

INTRODUCCIÓN

El glaucoma secundario se asocia con otros trastornos oculares o sistémicos, que impiden el drenaje del humor acuoso. En este grupo, los más frecuentes son los relacionados con la neovascularización, la uveítis, los traumatismos y el cristalino (Foster *et al.*, 2002).

Por todo ello, en el diagnóstico del glaucoma, son imprescindibles la gonioscopia para evaluar el ángulo en la cámara anterior, la tonometría para tomar la presión intraocular, la biomicroscopia con lámpara de hendidura para ver la característica de la cabeza del nervio óptico, así como la perimetría automatizada estándar (SAP) para detectar los defectos en el campo visual.

La SAP Humphrey Perímetro 24-2 ha sido utilizada como criterio estándar para medir defectos en el campo visual y diagnóstico del glaucoma (Hood *et al.*, 2002a). Sin embargo, SAP tiene una gran variabilidad entre la prueba y la repetición de la prueba en áreas con sensibilidad disminuida del campo visual (Chauhan & Johnson, 1999; Spry *et al.*, 2003). Además, SAP es una prueba subjetiva que detecta anomalías del campo visual en una etapa tardía, de manera que, puede haber hasta un 25% a 35% de pérdida de CGR y puede mostrar anomalías estadísticas de 5 dB de disminución en la desviación media en la SAP (Quigley *et al.*, 1989; Kerrigan-Baumrind *et al.*, 2000). Por tanto, SAP no es adecuada ni para el diagnóstico precoz ni para la monitorización del glaucoma. La cooperación del paciente, los factores físicos y psicológicos y el efecto de aprendizaje también pueden influir en la objetividad del campo visual. Además, en último término el resultado depende de la interpretación del oftalmólogo.

1.2.4.4. El uso del VEP multifocal para el diagnóstico de glaucoma.

El potencial evocado visual multifocal (mfVEP) ha sido más eficaz para vigilar daños leves en las células ganglionares con afectación unilateral que el SAP (Graham *et al.*, 2000; Goldberg *et al.*, 2002). Mientras varios estudios han mostrado que la amplitud de mfVEP es proporcional a la pérdida en la perimetría del campo visual de Humphrey (HVF) 24-2 (Hood *et al.*, 2002a). El mfVEP tiene muchos más estímulos en la región central y paracentral que la perimetría tradicional HVF 24-2, por lo que es más sensible para detectar defectos centrales y paracentrales (Hood *et al.*, 2004a; Thonginnetra *et al.*, 2010). Otro estudio también reveló que mfVEP tiene una mayor fiabilidad en la repetibilidad que HVF (Chen *et al.*, 2003). El mfVEP también ha sido útil en el

diagnóstico de enfermedades como la neuropatía óptica isquémica y compresiva, neuritis óptica y la esclerosis múltiple, etc. (Frederiksen & Petrera, 1999; Hood & Greenstein, 2003).

Varios estudios encontraron que la amplitud de mfVEP es proporcional a la progresión del glaucoma, y sólo moderadamente relacionada con la alteración de la latencia del mfVEP (Grippe *et al.*, 2006; Hood *et al.*, 2006; Rodarte *et al.*, 2006).

Debido a las diferentes maneras de aplicación e interpretación del resultado de mfVEP se han observado discrepancias sobre la eficacia diagnóstica que el estudio de la latencia y amplitud de mfVEP tienen a la hora de evaluar los defectos del campo visual en el glaucoma.

2.HIPÓTESIS Y OBJETIVOS

2.1. HIPÓTESIS

La electrofisiología visual incluye varias técnicas que detectan las características electrofisiológicas generadas en la retina o vía visual. Estas pruebas funcionales presentan grandes ventajas para la evaluación de las alteraciones en las distintas estructuras que integran el Sistema Visual. En general, son técnicas objetivas, no invasivas, y relativamente fáciles de realizar. En este sentido, la electrofisiología visual es una novedosa tecnología de diagnóstico que nos ofrece una buena oportunidad para evaluar objetivamente las alteraciones funcionales de la retina y la vía visual en diferentes tipos de enfermedades.

No obstante, cabe preguntarse hasta qué punto los parámetros de estimulación y los procedimientos seguidos en la actualidad mediante la aplicación de algunas de las técnicas de neurofisiología visual son idóneas para el diagnóstico clínico. A nuestro juicio, es al menos dudoso, ya que *podría optimizarse el tipo de estimulación y protocolos de registro, con el fin de mejorar los procedimientos de evaluación funcional de la Neurofisiología visual.*

2.2. OBJETIVOS

Con el fin de intentar demostrar la hipótesis enunciada, planteamos un objetivo general, así como unos objetivos específicos.

2.2.1. Objetivo general

Estudiar tres de las principales técnicas de electrofisiología visual (electrorretinografía de patrón, electrooculografía y potencial evocado visual multifocal) para la mejora de su aplicabilidad en la práctica clínica.

2.2.2. Objetivos específicos

2.2.2.1. Optimización de los parámetros de estimulación para el registro de Electrorretinografía de patrón (pERG).

Optimizar los parámetros de estimulación para el registro de pERG, en términos de color o longitud de onda (blanco-negro, rojo-verde, azul-amarillo), contraste (99%, 60%), forma (damero, barras verticales o barras horizontales), frecuencia espacial (0,08/0,12/0,17/0,35 ciclos por grado) a través del análisis de las amplitudes de las ondas P50 y N95 del pERG.

2.2.2.2. Optimización de los parámetros de estimulación para el registro electrooculográfico (EOG).

Conocer cuál es el tipo de estímulo lumínico ideal para la exploración funcional de los movimientos oculares y evaluar la respuesta electrooculográfica ante diferentes tipos de estímulos en términos de dirección (horizontal, vertical y rotacional), frecuencia temporal (0,2/0,3/1/2/3/10 Hz), contraste (barra blanca sobre fondo negro, barra negra sobre fondo blanco, barra gris sobre fondo negro) y estado de adaptación (luz y oscuridad), con el fin de optimizar la técnica de EOG y su aplicación a la evaluación funcional de los movimientos oculares.

2.2.2.3. Evaluar la precisión diagnóstica de Potencial Evocado Visual multifocal (mfVEP) en pacientes con glaucoma y buscar su mejor indicador diagnóstico.

Conocer la eficacia diagnóstica de la latencia y amplitud de mfVEP para evaluar los defectos del campo visual en el glaucoma, y buscar un indicador diagnóstico más preciso.

3.MATERIALES Y MÉTODOS

En la presente Tesis Doctoral se describirán y aplicarán tres técnicas distintas de neurofisiología visual. A continuación se exponen los materiales utilizados y métodos seguidos para la realización del trabajo experimental.

3.1. ELECTORRETINOGRAMA DE PATRÓN (pERG).

3.1.1. Participantes.

Esta investigación se realizó en 10 participantes sanos (5 mujeres y 5 hombres), con edad de $25,1 \pm 5,2$ (promedio \pm SD) años, sin patología oftalmológica. La agudeza visual con corrección óptica alcanzó más de 1,0 decimal. Cada participante firmó un consentimiento informado del tipo de estudio realizado. Los procedimientos utilizados son similares a los habitualmente empleados para el diagnóstico clínico en centros e instituciones sanitarias y están avalados por las normas de realización de pruebas de electrofisiología visual de la ISCEV (International Society for Clinical Electrophysiology of Vision).

3.1.2. Estimulación lumínica.

Para cumplir con nuestro objetivo del estudio, hemos diseñado 6 procedimientos experimentales con diferentes parámetros de estimulación, que incluyeron un damero en blanco y negro con 99% o 60% de contraste, un damero en azul y amarillo con 99% de contraste, un damero rojo y verde con 99% de contraste, barras verticales u horizontales en blanco y negro con 99% de contraste (véase Figura 15A). Todos los dameros y barras fueron programados a diferentes frecuencias espaciales (0,08/0,12/0,17/0,35 ciclos por grado, [cpd]) (véase figura 15B), la frecuencia temporal de reversión del damero o barra se ajustó en todos los casos a 1 Hz, lo que equivale a 2 reversiones por segundo. La tabla 1 resume los parámetros de estimulación. Durante la prueba el participante debe fijar el centro de la pantalla marcado con una cruz roja.

Procedimiento	Angulo de visión	Frec. Temp. (Hz)	Contraste	Forma	Color	Frecuencia espacial (cpd)
1	30°	1	99%	Damero	Blanco y negro	0.08
						0.12
						0.17
						0.35
2	30°	1	60%	Damero	Blanco y negro	0.08
						0.12
						0.17
						0.35
3	30°	1	99%	Damero	Rojo y verde	0.08
						0.12
						0.17
						0.35
4	30°	1	99%	Damero	Azul y amarillo	0.08
						0.12
						0.17
						0.35
5	30°	1	99%	Barra vertical	Blanco y negro	0.08
						0.12
						0.17
						0.35
6	30°	1	99%	Barra horizontal	Blanco y negro	0.08
						0.12
						0.17
						0.35

Tabla 1. Resumen de los parámetros de estímulo aplicados en pERG. Se muestran para cada uno de los procedimientos utilizados, los diferentes parámetros de estímulo, que incluyen contraste (99%, 60%), forma (damero, barra vertical, barra horizontal), color (blanco-negro, rojo-verde, azul-amarillo), y frecuencia espacial (0.08; 0.12; 0.17; 0.35 cpd).



Figura 15. Patrones de estimulación utilizados en pERG. **A.** Patrones de estimulación que incluían dameros con oposición blanco-negro, con mayor o menor contraste (99%, 60%), dameros de color (rojo-verde, azul-amarillo), o barras (orientación vertical u horizontal). **B.** Los patrones de estimulación mostrados en A, fueron ajustados a frecuencias espaciales de 0.08, 0.12, 0.17 y 0.35 ciclos por grado (cpd), lo que determina un mayor o menor tamaño de los cuadros/barras.

La luminosidad de la habitación durante la realización del experimento fue medida, alcanzando un valor de 80 cd/m². La luminancia fotópica de la pantalla en las áreas blancas fue de 150 cd/m², siendo la luminancia de las áreas negras de 0.3 cd/m². Las luminancias de los cuadrados de color fueron (rojos: 40 cd/m²; verdes: 100 cd/m²; azules: 10 cd/m²; amarillos: 130 cd/m²). La luminancia de la pantalla se mantuvo constante durante las reversiones del damero o de la barra. Todas las intensidades de luz se midieron con un fotómetro comercial (GO 4068 Gossen Mavo-monitor USB, Gossen Corporation, Milwaukee, USA).

3.1.3. Electrodo y procedimiento para registrar las señales del pERG.

En todos los participantes se realizaron los registros en el ojo derecho. Cinco minutos antes de colocar el electrodo activo, aplicamos 2 gotas de anestésico tópico (Colircusí Anestésico Doble. Lab. Alcon) al ojo examinado. A continuación, se coloca un electrodo

DTL de alambre de plata (*DTL Electrodes from Medical Physics & Clinical Engineering, RL &BUH, Prescot st, Liverpoole, L7 8XP, UK*) (véase Figura 16A, B) en el margen superior del parpado inferior, debajo del limbo corneal inferior. Antes de colocar los electrodos de referencia y de tierra, se debía limpiar la piel con gel NuPrep (NuPrep gel, D.O. Weaver and Co.) para eliminar las grasas de la piel. Como electrodos de referencia y tierra se utilizaron “copas de oro” (*Astro-Med Inc. West Warwick, USA*) (véase Figura 16C). Se utilizó pasta EC2 (*electrode cream*), con el fin de favorecer la transmisión de las señales eléctricas.

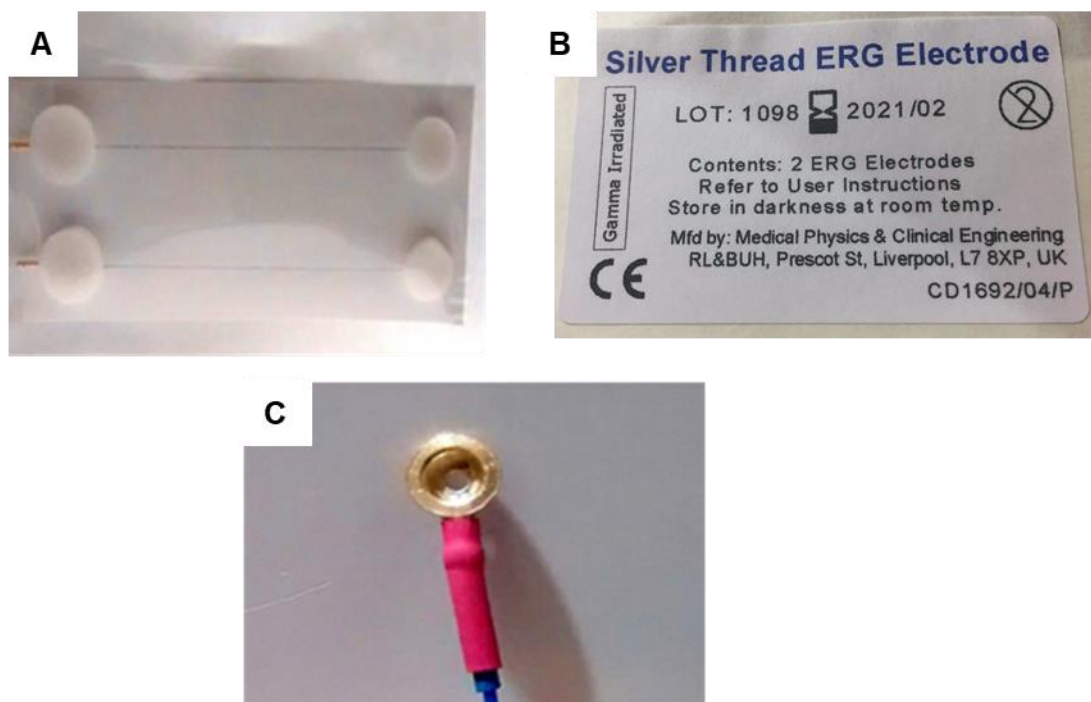


Figura 16. Electrodos usados en el registro del pERG. A, B. Electrodo DTL (Dawson-Trick-Litzkow) utilizado como electrodo activo. **C.** Electrodo de copa dorada de 5 mm que se utiliza como electrodo de referencia y de tierra.

La Figura 17 muestra la ubicación del electrodo corneal, electrodo de referencia y electrodo de tierra con respecto al ojo examinado (figura 17).

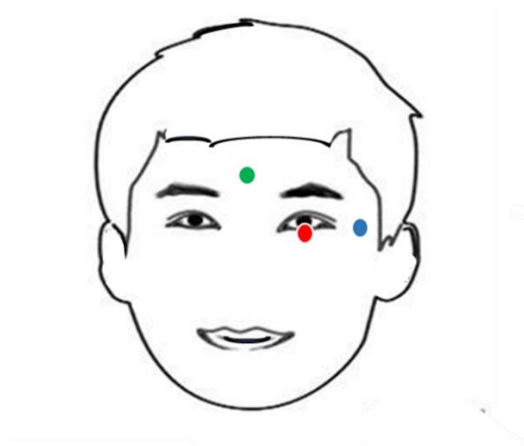


Figura 17. Colocación de los electrodos para el registro de pERG. Se colocó el electrodo de registro activo (rojo) en el margen superior del párpado inferior, debajo del limbo corneal inferior, un electrodo de referencia (azul) en el lado temporal del ojo estimulado, y un electrodo de tierra (verde) en la frente.

La prueba fue realizada de acuerdo con la guía ISCEV para pERG usada en clínica oftalmológica (Bach *et al.*, 2013). El participante se sienta a 60 cm de una pantalla del ordenador (AOC, M2470SWH, 1920 x 1080 píxeles) (véase figura 18), formando un ángulo de visión de 30 grados; la altura de la pantalla es de 30 cm. Los diferentes parámetros de estímulo fueron programados por el software RETIsystem (*RETIsystem, Roland Consult, Brandenburg, Germany*).

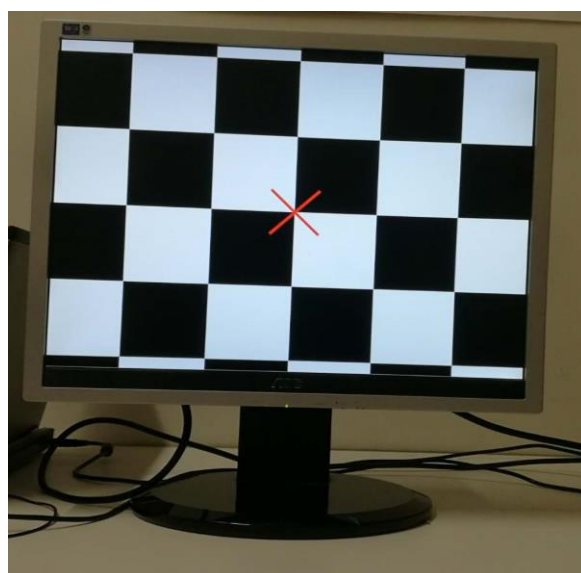


Figura 18. Fotografía de la pantalla de ordenador utilizada como estimulador para los experimentos de registro de pERG. Una cruz roja en el centro que sirve como punto de fijación durante la prueba.

Antes de realizar la prueba, se procedió a medir la impedancia de los electrodos; una impedancia inferior a 5 Kohm se consideró aceptable. Se utilizaron estímulos de diferentes características (contrastes, colores, formas de damero o barra, frecuencias espaciales). Para cada uno de los protocolos (patrón de estimulación) se aplicó el estímulo 100 veces, promediando los registros obtenidos de las señales evocadas por cada estímulo. La figura 19 muestra los registros de pERG ya promediados, obtenidos ante estímulos de distinta frecuencia espacial.

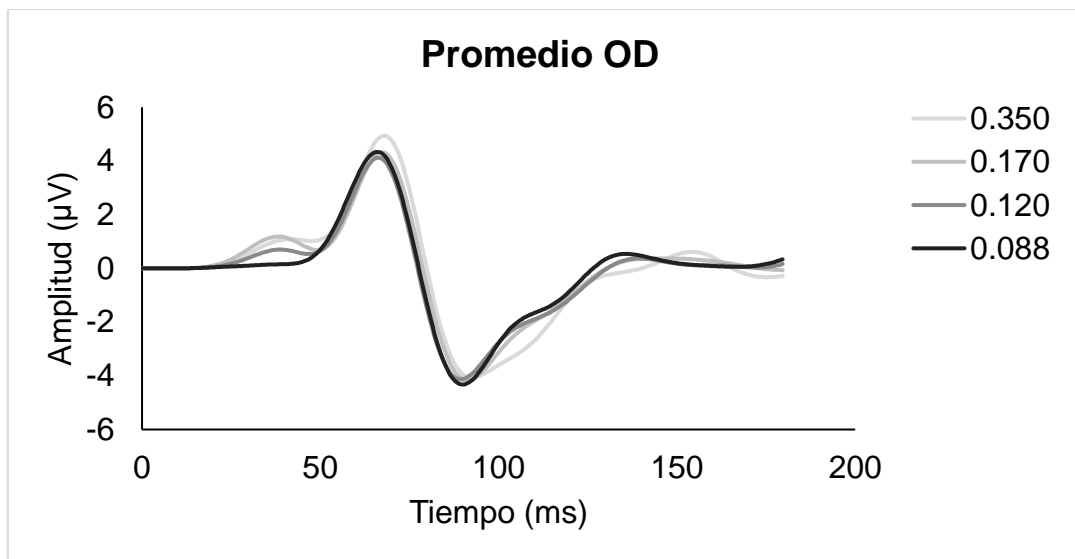


Figura 19. Ejemplo de registros obtenidos mediante pERG. Se muestran los trazados superpuestos del registro de pERG obtenidos del ojo derecho (OD) de un voluntario sano en respuesta a un estímulo en damero en blanco y negro, con un contraste del 99%, a una frecuencia espacial de 0,08/0,12/0,17/0,35 cpd.

A lo largo del protocolo, se pidió a los participantes que parpadearan lo menos posible y fijaran la mirada en la cruz localizada en el centro de la pantalla, procurando no mover la cabeza. Se dejó un intervalo de al menos 3 minutos entre cada protocolo, con el fin de que el participante descanse. Después de terminar el experimento, se retiraron los electrodos y se limpió la piel.

El rango de los filtros de frecuencia del amplificador se fijó entre 1 y 100 Hz. Las señales del pERG se digitalizaron a 1KHz, y se almacenaron utilizando el sistema comercial de registro RETIcom (*RETIcom, Roland Consult, Brandenburg, Germany*). El análisis, fue

realizado con posterioridad, utilizando el software RETIsystem (*RETIsystem, Roland Consult, Brandeburgo, Germany*).

3.1.4. Análisis cuantitativo y estadístico de señales del pERG.

Cuando terminó el experimento, los datos se exportaron desde el software RETIsystem del estimulador (*RETIsystem, Roland Consult, Brandenburg, Germany*) a una base de datos. Todos los datos se almacenaron utilizando el software Excel (*Microsoft® Office Excel 2019, Microsoft Corporation, Redmond, WA, USA*). El análisis del resultado de cada estímulo incluyó la estimación de las amplitudes de las deflexiones positivas o negativas del trazado. Se midieron las amplitudes de onda P50 y N95; la amplitud P50 mide desde el valle de N35 hasta el pico de P50, la amplitud N95 mide desde el pico P50 hasta el valle N95 (véase introducción).

Los valores de amplitud se presentaron como media \pm error estándar de la media (SEM). El análisis estadístico se realizó con GraphPad Prism versión 5.00 para Windows (*GraphPad Software, San Diego California USA*). El análisis de las diferencias entre los diferentes protocolos de estimulación se determinó mediante la prueba t de Student con corrección de Welch. Para estudiar los cambios en las amplitudes del pERG bajo diferentes frecuencias espaciales, se utilizó ANOVA bidireccional (de dos colas) con post hoc test. Un valor de p menor que 0,05 indica la existencia de significación estadística para todas las pruebas realizadas.

3.2. ELECTROOCULOGARMA.

3.2.1. Participantes.

El estudio se realizó en 10 sujetos sanos (5 mujeres y 5 hombres) sin enfermedades oftalmológicas, con edad de $24,2 \pm 4,5$ (promedio \pm SD) años. Cuando fue necesario, los participantes utilizaron la corrección refractiva adecuada para la distancia de prueba. Cada participante firmó un consentimiento informado del tipo de estudio a realizar. Como en el caso anterior, el procedimiento de registro electrooculográfico utilizado es similar a los habitualmente empleados para el diagnóstico clínico en centros e instituciones

sanitarias y están avalados por las normas de realización de pruebas de electrofisiología visual de la ISCEV (*International Society for Clinical Electrophysiology of Vision*).

3.2.2. Estimulación lumínica.

La estimulación lumínica se aplicó mediante una pantalla de ordenador (Dell, vostro 3550, 1366 x 768 píxeles) programada por un software de fabricación propia basado en el lenguaje de programación Python (*Python 2.5.4. Python Software Foundation*). El conjunto de parámetros de estimulación incluyó barras negras sobre fondo blanco, barras blancas sobre fondo negro y barras grises sobre fondo negro. El ancho de las barras se estableció en 2 grados para todos los experimentos y la longitud de las barras se ajustó a 30 grados (ancho o alto de la pantalla) para los desplazamientos lineales horizontales y verticales, mientras que, en los movimientos giratorios, el ancho de las barras se estableció en 0,6 grados y la longitud en ~10 grados. Las barras de estimulación se desplazaron en dirección vertical (sentido de arriba a abajo y abajo a arriba), dirección horizontal (sentido de izquierda a derecha y de derecha a izquierda) y rotacional (en sentido horario o antihorario).

En un primer protocolo, de desplazamiento horizontal, la barra de orientación vertical, se desplaza de forma lineal en dirección horizontal suavemente de izquierda a derecha; cuando llega al borde derecho de la pantalla, desaparece y vuelve a aparecer en el borde izquierdo de la pantalla, describiendo la misma trayectoria de izquierda a derecha. A continuación, en un segundo protocolo, se repite el proceso, pero con desplazamiento en sentido contrario (de derecha a izquierda). En el tercer protocolo, de desplazamiento vertical, la barra de orientación horizontal, se desplaza de forma lineal en dirección vertical suavemente de arriba hacia abajo; cuando llega al borde inferior de la pantalla, desaparece y vuelve a aparecer en el borde superior, describiendo la misma trayectoria de arriba a abajo. A continuación, en un cuarto protocolo, se repite el proceso, pero con desplazamiento en sentido contrario (de abajo hacia arriba). Estos protocolos se repiten secuencialmente a distintas velocidades de desplazamiento (frecuencia temporal). Las frecuencias temporales se ajustaron a 0.2; 0.3; 1.0; 2.0; 3.0 y 10.0 Hz, que corresponden a las velocidades angulares de barrido suave a 6, 10, 30, 60, 100 o 300 grados por segundo, respectivamente. En todo momento se pide al participante que intente fijarse en el borde de la barra en movimiento horizontal y vertical y seguirlo con la mirada.

MATERIALES Y MÉTODOS

En el movimiento rotacional, el estímulo consiste en una rotación suave de la barra en el sentido de las agujas del reloj (o una rotación suave de la barra en el sentido contrario a las agujas del reloj), la frecuencia temporal de 0.2; 0.3; 1.0; 2.0 Hz corresponden a velocidades angulares de 72, 120, 360 y 720 grados por segundo respectivamente. El participante puede elegir un extremo de la barra como punto de fijación a seguir. Y el ojo usa una combinación de movimiento vertical y horizontal cuando se expone al estímulo rotacional.

La Tabla 2 muestra los distintos grupos de experimentos realizados mediante estímulos de distintas características.

	Barra/fondo	Dirección del movimiento	Adaptación	Frecuencia temporal (Hz)
Grupo 1	Barra negra sobre fondo blanco	Izquierdo→Derecho Derecho→Izquierdo Superior→Inferior Inferior→Superior Sentido Antihorario Sentido Horario	Luz	0.2 0.3 1.0 2.0 3.0 10
Grupo 2	Barra blanca sobre fondo negro	Izquierdo→Derecho Derecho→Izquierdo Superior→Inferior Inferior→Superior Sentido Antihorario Sentido Horario	Luz	0.2 0.3 1.0 2.0 3.0 10
Grupo 3	Barra gris sobre fondo negro	Izquierdo→Derecho Derecho→Izquierdo Superior→Inferior Inferior→Superior Sentido Antihorario Sentido Horario	Oscuridad	0.2 0.3 1.0 2.0 3.0 10

Tabla 2. Resumen de los parámetros de estímulo aplicados en EOG. Se muestran los diferentes parámetros de estímulo incluidos en los experimentos de electrooculograma: *Contraste* (barra blanca sobre fondo negro, barra negra sobre fondo blanco, barra gris sobre fondo negro), *Dirección* (vertical, horizontal y rotacional), *Adaptación* (luz y oscuridad), *Frecuencia temporal* (0.2; 0.3; 1.0; 2.0; 3.0; 10 Hz).

Para los experimentos llevados a cabo bajo adaptación a la luz, se utilizaron barras blancas con una luminosidad de 500 cd/m^2 sobre un fondo oscuro de 3 cd/m^2 . También se probó el efecto de barras negras de 3 cd/m^2 sobre un fondo blanco de 500 cd/m^2 bajo adaptación a la luz. Para los experimentos llevados a cabo en condiciones de adaptación a la oscuridad, la luminosidad de la barra gris fue de 90 cd/m^2 sobre un fondo oscuro de 3 cd/m^2 . Todas las intensidades de luz se midieron con un fotómetro comercial (*GO 4068 Gossen Mavo-monitor USB, Gossen Corporation, Milwaukee, USA*).

La figura 20 muestra de forma esquemática los distintos parámetros de estimulación lumínica utilizada para la realización de los experimentos de electrooculografía.

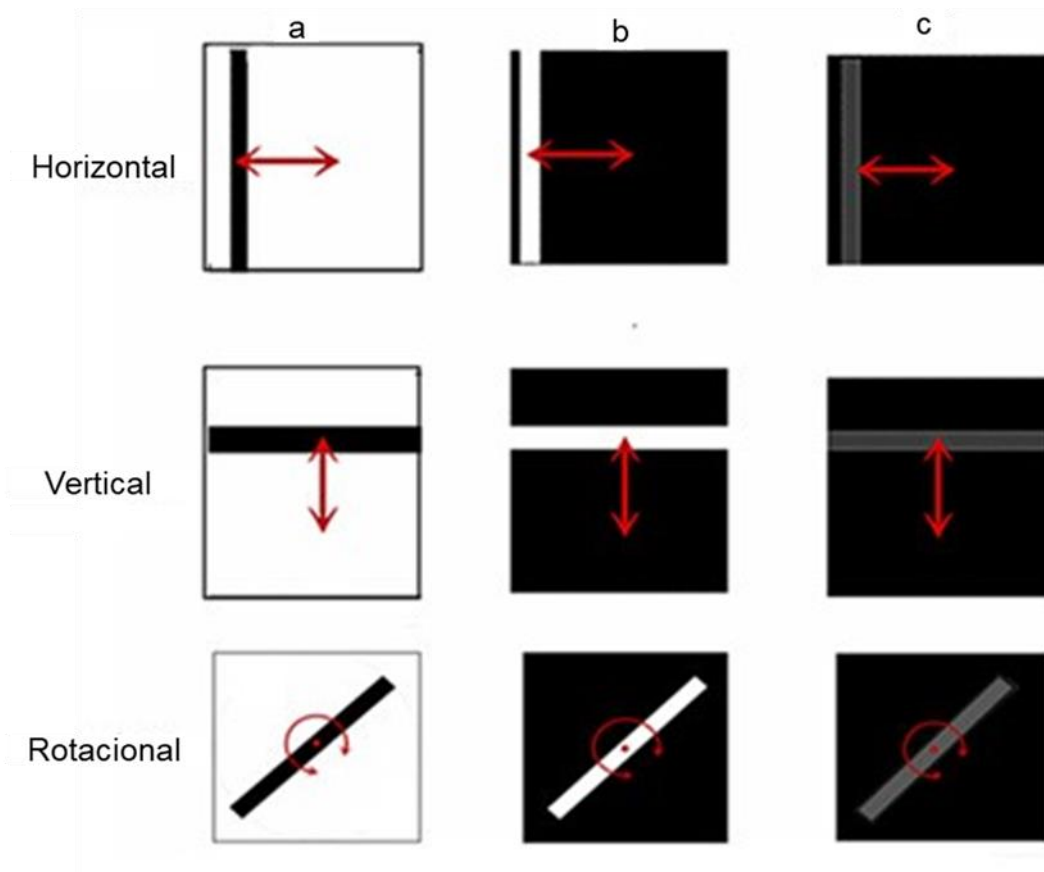


Figura 20. Patrones de estimulación en EOG. El estímulo consistió en el desplazamiento horizontal, vertical y rotacional de una barra de 2° de ancho en un monitor ubicado a 30 cm del plano del ojo. Las barras negras sobre fondo blanco (a), barras blancas sobre fondo negro (b) y barras grises sobre fondo negro (c) se desplazaban ortogonalmente al eje de la barra (flecha roja) en dirección horizontal o vertical, o movimiento giratorio (semicírculo rojo) en sentido horario o antihorario.

3.2.3. Colocación de los Electroodos.

Después de limpiar la superficie de la piel con alcohol, se colocaron electrodos desechables de 0,5 cm de diámetro de superficie de contacto (*conductive adhesive hydrogel, Covidien Ireland limited, IDA Business & Technology Park, Tullamore*) en las posiciones lateral y medial del borde óptico de cada ojo, para la detección del movimiento horizontal. Para el registro del movimiento vertical y rotacional, los electrodos se colocaron por encima y por debajo de la órbita de cada ojo. Los electrodos de tierra se colocaron respectivamente en la frente y en la apófisis mastoidea izquierda. La figura 21 muestra la disposición de los electrodos en cada caso.

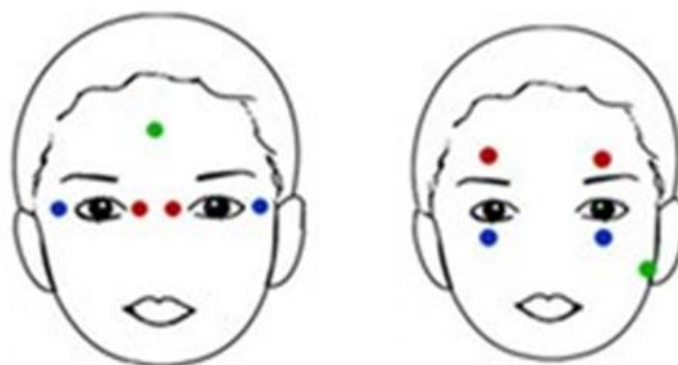


Figura 21. Colocación de electrodos para el registro EOG. Se colocaron electrodos negativos (rojo) y positivos (azul) para el desplazamiento horizontal de los globos oculares (imagen izquierda de la figura) en el epicanto interno o externo. Los electrodos para registrar los movimientos oculares verticales o rotacionales (imagen de la derecha) se colocaron justo encima de la ceja (negativo) o debajo del párpado inferior (positivo). Los electrodos de tierra (verde) se ubicaron en la frente o en la apófisis mastoidea izquierda.

3.2.4. Procedimiento para registrar señales electrooculográficas.

Para la realización del electrooculograma se adaptaron los protocolos de la guía ISCEV (Constable *et al.*, 2017). El voluntario se dispuso en posición sentada, frente a una pantalla plana de ordenador, que sirvió de estímulo. Para los experimentos de estimulación horizontal y vertical, el ángulo visual a la pantalla fue de 30° en el eje horizontal (15° a cada lado, derecha o izquierda) y 30° en el eje vertical (15° arriba y abajo). Para los experimentos de rotación, el ángulo visual a la pantalla es de 10° (5° a cada lado, derecha, izquierda, arriba y abajo), ajustando la distancia del sujeto a la pantalla.

El protocolo experimental en cada voluntario consta de dos fases. En una primera fase, después de 15 min de preadaptación a la luz ambiental (80 cd/m²), se realizaron registros EOG para los diferentes protocolos de estimulación (barras blancas/negras, diferentes direcciones/rotación, varias frecuencias temporales, adaptación a la luz). A continuación, se procedió a apagar la luz de la habitación. Después de 15 min de adaptación a la oscuridad, se llevaron a cabo los experimentos de registro EOG mediante el uso de barras grises sobre fondo negro, desplazándose en diferentes direcciones y sentidos, a las distintas frecuencias temporales. Cada protocolo se repitió 10 veces en cada condición de adaptación para cada participante.

Durante todo el protocolo, se pidió a los participantes que parpadearan lo menos posible y que siguieran la barra en la pantalla sin mover la cabeza. Cada dos repeticiones, se dejaban un tiempo de 1 minuto para que el voluntario descansase. Después de terminar el experimento, se retiraron los electrodos y se limpió la piel.

Las señales EOG se digitalizaron a 1 KHz y se almacenaron utilizando el sistema de grabación PowerLab (*PowerLab, ADI Instruments Ltd, Modelo 4/30*), utilizando el software Labchart® (*Labchart 7, AD Instruments*) y se analizaron *a posteriori*.

3.2.5. Análisis cuantitativo y estadístico de señales de electrooculograma.

Para la estimación de la amplitud de las señales del EOG, se promedió la amplitud de 3 ondas sucesivas a partir de las 10 repeticiones de cada protocolo de estimulación. La Figura 22 muestra ejemplos de los registros electrooculográficos obtenidos de un

voluntario sano, en respuesta a protocolos de estimulación horizontal, vertical y rotacional.

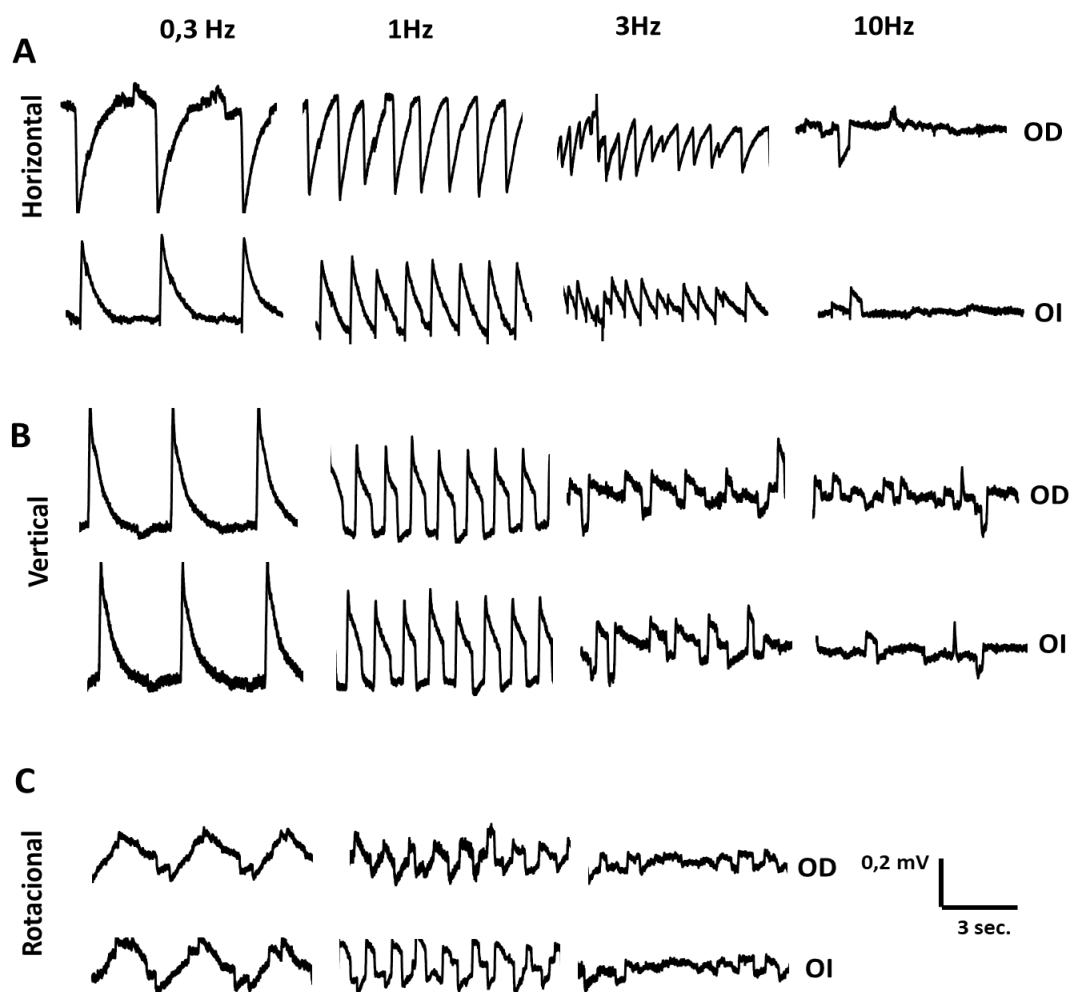


Figura 22. Ejemplo de registros de las señales electrooculográficas. Trazados correspondientes al registro EOG obtenidos en el ojo derecho (OD) y el ojo izquierdo (OI) de un voluntario sano en respuesta al desplazamiento horizontal de una barra blanca de orientación vertical sobre un fondo negro que se desplaza de izquierda a derecha (**A**), de una barra de orientación horizontal que se desplaza de arriba hacia abajo (**B**), y de una barra blanca sobre fondo negro que gira sobre un eje central en sentido horario (**C**). En los tres casos, se muestran los registros ante desplazamientos de distinta frecuencia temporal (0.3; 1.0; 3.0; 10 Hz).

Todos los registros fueron obtenidos en tiempo real mediante un amplificador Power Lab (*PowerLab, ADInstruments Ltd, Modelo 4/30*), digitalizados a una frecuencia de 1 KHz utilizando el software Labchart® (*Labchart 7, ADInstruments*). Los registros obtenidos

ante los diferentes estímulos fueron transferidos a una base de datos (*Microsoft® Office Excel 2019, Microsoft Corporation, Redmond, WA, USA*) y analizados a posteriori. Los valores de amplitud se mostraron como media \pm error estándar de la media ($\bar{X} \pm SEM$). El análisis estadístico se realizó con GraphPad Prism versión 5.00 para Windows (*GraphPad Software, San Diego, California, USA*). El análisis de las diferencias de amplitudes observadas ante los diferentes protocolos de estimulación se determinó mediante la prueba t de Student con corrección de Welch. Para estudiar los cambios en las amplitudes del EOG bajo diferentes frecuencias temporales, se utilizó ANOVA bidireccional (de dos colas) con post hoc test. Un valor de p menor que 0,05 indica la existencia de significación estadística para todas las pruebas realizadas.

3.3. PROCEDIMIENTO DE REVISION SISTEMÁTICA Y METANÁLISIS EN EL ESTUDIO DE POTENCIALES EVOCADOS VISUALES MULTIFOCALES Y SU PRECISIÓN DIAGNÓSTICA.

3.3.1. Estrategia de búsqueda.

La búsqueda de artículos en esta revisión se realizó a través de la literatura disponible sobre potencial evocado visual multifocal (mfVEP) en el glaucoma. Hemos buscado en las bases de datos en línea PubMed, Medline, Scopus, Embase, Web of Science y el Registro Cochrane Central de Ensayos Controlados, desde el inicio hasta el 1 de junio de 2020. Los términos de búsqueda inicialmente en Medline fueron ("mfVEP") OR ("*multifocal visual evoked potential*") OR ("*multifocal VEP*") OR ("mfVEPs")) AND (*glaucoma*) AND ((*human*) OR (*individual*) OR (*patient*) OR (*People*)), posteriormente adaptados para otras bases de datos, y abarcaría diferentes términos para el potencial evocado visual multifocal y la condición de glaucoma. Además, habíamos examinado las listas de referencias de los estudios incluidos para los estudios potencialmente elegibles, así como los artículos que han citado la fuente para identificar cualquier cita directa / inversa.

3.3.2. Criterios de inclusión.

Los criterios de elegibilidad para esta revisión dependían del marco PICO, que correspondía a la población, la intervención, la comparación y el resultado (Richardson, 1995). Se incluyeron artículos que cumplieron con los criterios de inclusión. La población incluyó pacientes adultos de ambos sexos y todas las etnias diagnosticadas con todos los tipos de glaucoma. Con al menos un ojo caracterizado por neuropatía óptica glaucomatosa, definida como una ratio de copa/disco >0.6 , asimetría de la ratio copa/disco entre ojos > 0.2 , adelgazamiento del borde, muescas, excavación y defectos de la capa de fibras nerviosas de la retina. Un defecto del campo visual fiable y repetible en SAP, definido como una desviación estándar del patrón $< 5\%$ y la prueba del hemicampo de glaucoma fuera de los límites normales. La agudeza visual mejor corregida fue de al menos 20/40, sin opacidades significativas de los medios oculares, diámetro de la pupila >3 mm, error de refracción no superior a ± 6 dioptrías o dos dioptrías de cilindro. Sin antecedentes o presencia de enfermedades oculares y neurológicas.

Esta revisión se centró en artículos con estudio observacional, transversal y prospectivo. Pacientes con glaucoma confirmados con estándar de referencia como SAP y tomografía de coherencia óptica (OCT) o fotografía de disco estéreo o tomografía retiniana de Heidelberg (TRH) o biomicroscopía de fondo de ojo u oftalmoscopia, y luego realizaron mfVEP con un intervalo corto, en comparación con un grupo de control con personas sanas sin enfermedades oculares, y relaciones con el estándar de referencia. Los resultados revisados fueron los indicadores de diagnóstico como la amplitud o latencia de mfVEP y el método de ensayo o análisis como el clúster o índice de severidad de Accumap (ASI). Su sensibilidad, especificidad, verdadero positivo (TP), falso positivo (FP), verdadero negativo (TN), falso negativo (FN). En la revisión solo se incluyeron artículos escritos en inglés.

3.3.3. Criterio de exclusión.

Se excluyeron los estudios con alguna de las siguientes características: a) No había grupo control de personas sanas. b) Trabajos no realizados en humanos. c) Revisiones sistemáticas. d) Repetición del ensayo. e) Datos incompletos sobre los índices de evaluación. f) Informes de casos con menos de 10 personas.

3.3.4. Selección de estudios.

La selección y extracción de los datos fueron realizadas por dos investigadores independientes según las características de elegibilidad, como la población, la intervención, la comparación y los tipos de estudio. Primero revisamos los títulos y resúmenes; si los artículos correspondían a nuestros criterios de inclusión, leeríamos los textos completos para tomar una decisión final para la inclusión de cada estudio. Si hubiera alguna discrepancia, solicitaríamos la opinión de un tercer investigador. Finalmente, hicimos un diagrama de flujo de selección, el informe de elementos preferidos para revisiones sistemáticas y metanálisis (A PRISMA) para este estudio (Moher *et al.*, 2015).

La gestión de los artículos se realizó en el software Endnote (Endnote X8, Clarivate Analytics). Primero, excluimos los artículos duplicados. Mediante el análisis de los títulos, resúmenes y palabras clave, eliminamos artículos que no eran relevantes para el estudio de mfVEP en glaucoma. También revisamos la lista de referencias de los artículos de revisión para no perder un estudio de investigación primaria. Finalmente, leímos el texto completo. Los artículos que cumplieran con los estrictos criterios de inclusión se someterían a la extracción de datos.

3.3.5. Extracción de datos.

Los datos se extrajeron en un formulario que incluyó las siguientes variables:

- I. Información básica del estudio como país de origen, año de publicación y tamaño de la muestra.
- II. Información del diseño del estudio como un estudio observacional, transversal, prospectivo.
- III. Información de los participantes, como edades, sexo, etnias, gravedad del glaucoma.
- IV. Información experimental como estándar de referencia, equipamiento, indicador de diagnóstico, amplitud o latencia del mfVEP y el método de ensayo como clúster o índice de severidad de Accumap (ASI) análisis.
- V. Resultados clave como sensibilidad y especificidad, verdadero positivo (TP), falso positivo (FP), verdadero negativo (TN), falso negativo (FN).

No contamos con la aprobación de un comité de investigación ética, dado que nuestro estudio fue un análisis secundario de las publicaciones, que no involucró directamente a ningún sujeto humano.

3.3.6. Evaluación del riesgo de sesgo.

La evaluación de la calidad metodológica de los estudios incluidos se realizó a través de la herramienta de evaluación de la calidad de los estudios de precisión diagnóstica, versión 2 (QUADAS-2) (Whiting *et al.*, 2011). Se establecieron un total de 14 elementos de evaluación, y cada estudio fue evaluado de acuerdo como "sí", "no" y "poco claro". En QUADAS-2, hay cuatro dominios clave, que son (1) la selección de los pacientes, (2) la prueba índice, (3) el estándar de referencia y (4) el tiempo entre la prueba índice y el estándar de referencia, y el flujo del paciente en el estudio.

Los primeros tres dominios evalúan la aplicabilidad con respecto a los participantes, el equipamiento, su realización e interpretación. Además, el diagnóstico de enfermedad según el estándar de referencia coincide o no con nuestra revisión (Fallon *et al.*, 2017). Dos investigadores evaluaron cada artículo de forma independiente. Al final, si no llegaban a un consenso, se resolvía con el juicio de otro investigador.

3.3.7. Síntesis de datos y análisis estadísticos.

Prueba de heterogeneidad.

Hicimos las pruebas estadísticas de Chi-cuadrado (χ^2) y Cochran-Q para evaluar la heterogeneidad entre los estudios incluidos; un resultado con un valor de P bajo indicó la existencia de heterogeneidad. También se calculó el índice de inconsistencia (I^2) para cuantificar la heterogeneidad; un valor de I^2 del 0% significa que no hay heterogeneidad, y un valor de I^2 superior al 50% significa la existencia de heterogeneidad entre los estudios incluidos (Higgins *et al.*, 2003).

Efecto umbral.

En un estudio para la evaluación de la precisión de la prueba, el efecto umbral puede ser una causa importante de la heterogeneidad debido a la falta de estandarización de la definición de resultado positivo. Para encontrar si hay un efecto de umbral, podemos calcular el coeficiente de correlación de Spearman entre el logit de sensibilidad y el logit de 1-especificidad; una correlación positiva y una $p < 0.05$ indica la existencia de un efecto de umbral. Además, la presencia de un patrón típico de "hombro-brazo" en la curva de característica operativa del receptor (ROC) significa un posible efecto umbral (Moses *et al.*, 1993; Zamora *et al.*, 2006).

El sesgo de publicación.

Los estudios con resultados favorables y optimistas tienen más probabilidades de ser aceptados y publicados; puede ser un factor que influya las conclusiones (Song *et al.*, 2002). Hemos evaluado la publicación de sesgos a través del gráfico de embudo. El gráfico con puntos de datos distribuidos simétricamente significa la ausencia de sesgo de publicación y un gráfico asimétrico indica la existencia de sesgo de publicación (Song *et al.*, 2000).

Resumen estadístico.

Los datos extraídos fueron utilizados para construir diagramas de bosque de sensibilidad, especificidad y estimar la precisión diagnóstica de mfVEP en el diagnóstico de defectos del campo visual en pacientes con glaucoma. El resumen estadístico se puede calcular mediante el modelo de efectos fijos (FEM) o mediante el modelo de efectos aleatorios (REM) dependiendo de las características homogéneas de los estudios incluidos. Hemos utilizado el método de regresión bivalente para calcular la sensibilidad y la especificidad. Luego resumimos la correspondiente razón de verosimilitud positiva (PLR), razón de verosimilitud negativa (NLR) y la odds ratio de diagnóstico (DOR). La síntesis del resumen de la curva de característica operativa del receptor (sROC) se basa en la sensibilidad combinada, la especificidad combinada y las variaciones respectivas (Rutter & Gatsonis, 2001; Harbord *et al.*, 2007). El área bajo la curva (AUC) de sROC se utiliza

para evaluar el rendimiento general de la prueba (Swets, 1988). La DOR se calcula mediante la combinación de sensibilidad y especificidad (Glas *et al.*, 2003).

Análisis de sensibilidad.

Realizamos un análisis de sensibilidad mediante la eliminación secuencial de los estudios, con el fin de evitar aquellos estudios que afectarían a nuestro trabajo de manera estadísticamente significativa. Cuando hubo heterogeneidad significativa, se buscó la fuente de la heterogeneidad y, en caso necesario, se realizó un análisis de subgrupos entre los estudios incluidos. El análisis de subgrupos resultó apropiado entre participantes de diversa gravedad del glaucoma, origen étnico, equipamiento, método de ensayo de mfVEP, número de poblaciones.

Los análisis de heterogeneidad, sensibilidad, efecto umbral y cálculo de la estimación estadística fueron realizados con Meta-Disc versión 1.4 (Hospital Ramón y Cajal. Madrid, España) (Zamora *et al.*, 2006). El análisis de sesgo de publicación se realizó mediante Stata 15.0 (*StataCorp LP, College Station, TX*).

4.RESULTADOS

4.1. OPTIMIZACIÓN DE LOS PARÁMETROS DE ESTIMULACIÓN PARA EL REGISTRO DE ELECTORRETINOGRAFÍA DE PATRÓN (pERG).

4.1.1. Características descriptivas de los participantes incluidos en el estudio.

Esta investigación se realizó en 10 participantes sanos (5 mujeres y 5 hombres), con edad de $25,1 \pm 5,2$ (promedio \pm SD) años, sin patología oftalmológica; la agudeza visual con corrección óptica alcanzó más de 1,0 decimal. En todos los participantes, se eligió el ojo derecho para el registro de pERG.

4.1.2. Efecto de la frecuencia espacial sobre la respuesta del electrorretinograma de patrón.

4.1.2.1. Estímulo de damero en blanco y negro, con un contraste del 99%.

Inicialmente se utilizó un estímulo en damero, en blanco y negro, con un contraste del 99%, programado en diferentes frecuencias espaciales: 0,08/0,12/0,17/0,35 ciclos por grado (cpd). Se promediaron todos los datos de los 10 participantes voluntarios. La Figura 23 muestra los resultados superpuestos para cada una de las frecuencias espaciales. Al observar las ondas en la Figura 23, se aprecian los tres componentes principales del pERG (N35, P50, N95), que aparecen dentro de sus rangos normales de latencia. La Figura 24 muestra los valores promediados de amplitud de las ondas P50 y N95 ($\bar{X} \pm SEM$) obtenidos de los ojos derechos de los 10 participantes voluntarios.

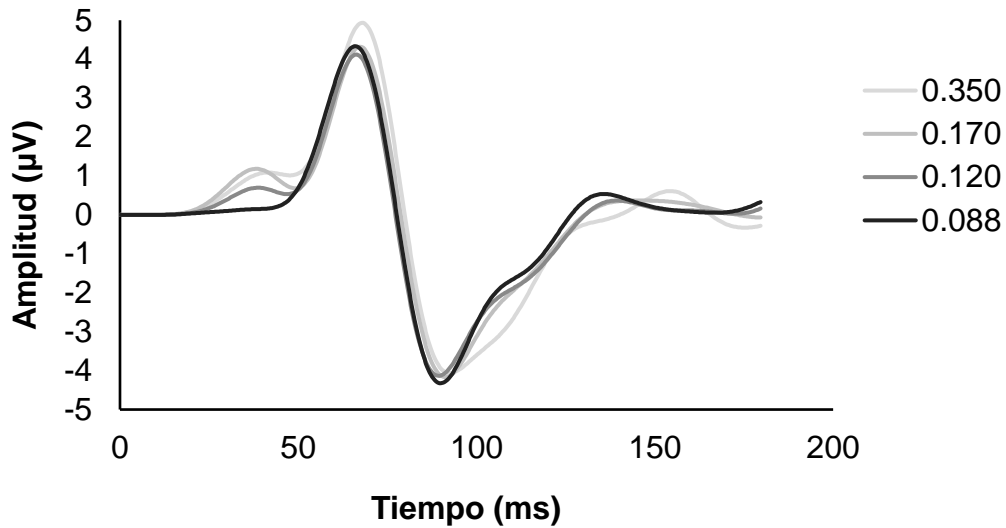


Figura 23. Registros de pERG ante estímulos en damero en blanco y negro y 99% de contraste. Cada trazado corresponde al promedio de los registros de pERG de los 10 participantes. Se muestran en distintos grados de intensidad el trazado correspondiente a cada frecuencia espacial (0,08/0,12/0,17/0,35 cpd).

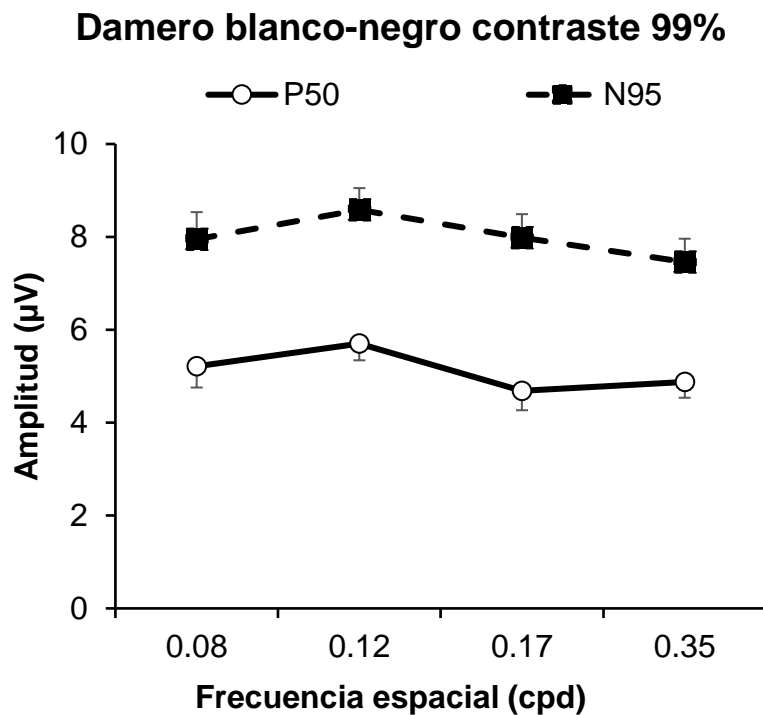


Figura 24. Amplitudes de respuesta de pERG al estímulo de damero blanco-negro con 99% de contraste en diferentes frecuencias espaciales. Valores de amplitud de onda P50 y N95 del pERG, promediados de los 10 voluntarios sanos ($\bar{X} \pm SEM$) representados para cada una de las frecuencias espaciales (cpd).

RESULTADOS

Para el tipo de estímulo indicado, no se observaron diferencias significativas entre las amplitudes del pERG evocadas por diferentes frecuencias espaciales (0,08-0,35 cpd). El análisis estadístico mediante ANOVA de dos colas no mostró diferencias estadísticamente significativas ($p > 0,05$).

4.1.2.2. Efecto de un estímulo de damero en blanco y negro, con un contraste del 60%.

A continuación se utilizó un estímulo en damero, en blanco y negro, con un contraste del 60%, programado en diferentes frecuencias espaciales: 0,08/0,12/0,17/0,35 cpd. Se promediaron todos los datos de los 10 participantes voluntarios. La Figura 25 muestra los resultados superpuestos para cada una de las frecuencias espaciales. Al observar las ondas en la Figura 25, se aprecia los tres componentes principales del pERG (N35, P50, N95), que aparecen dentro de sus rangos normales de latencia. La Figura 26 muestra los valores promediados de amplitud de las ondas P50 y N95 ($\bar{X} \pm \text{SEM}$) obtenidos de los ojos derechos de los 10 participantes voluntarios.

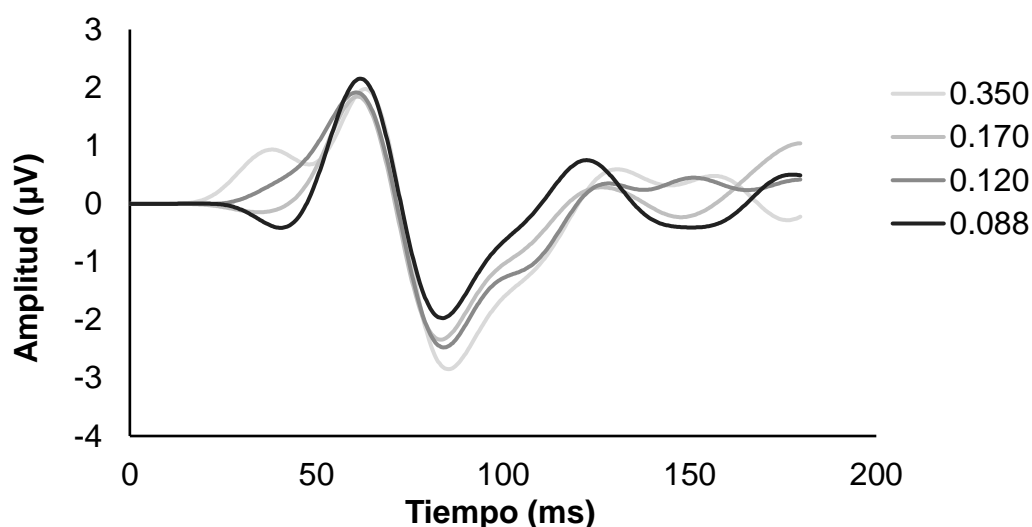


Figura 25. Registros de pERG ante estímulos en damero en blanco y negro y 60% de contraste. Cada trazado corresponde al promedio de los registros de pERG de los 10 participantes. Se muestran en distintos grados de intensidad el trazado correspondiente a cada frecuencia espacial (0,08/0,12/0,17/0,35 cpd).

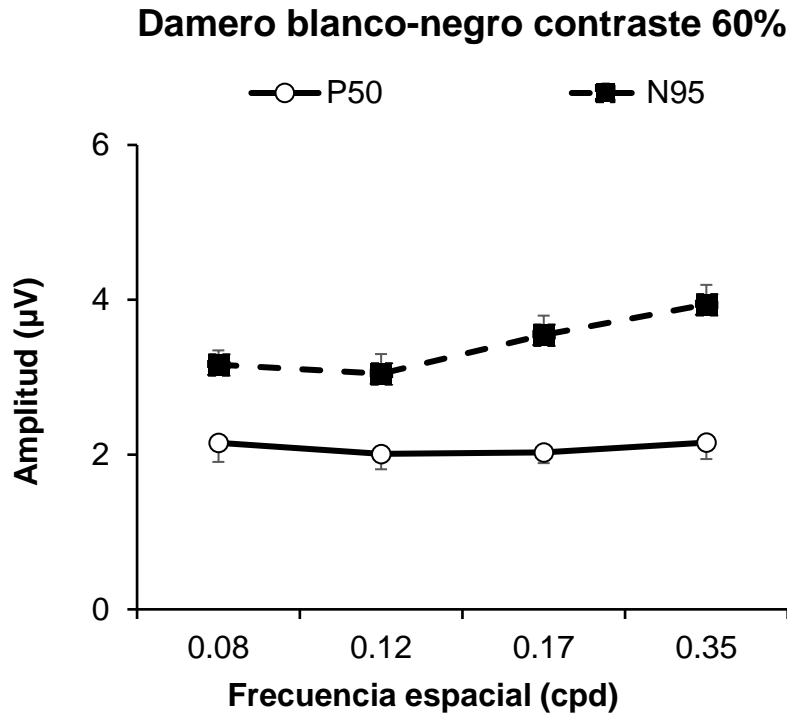


Figura 26. Amplitudes de respuesta de pERG al estímulo de damero blanco-negro con 60% de contraste en diferentes frecuencias espaciales. Valores de amplitud de onda P50 y N95 del pERG, promediados de los 10 voluntarios sanos ($\bar{X} \pm SEM$) representados para cada una de las frecuencias espaciales (cpd).

Para el tipo de estímulo indicado, no se observaron diferencias significativas entre las amplitudes del pERG evocadas por diferentes frecuencias espaciales (0,08-0,35 cpd). El análisis estadístico mediante ANOVA de dos colas no mostró diferencias estadísticamente significativas ($p > 0,05$).

4.1.2.3. Efecto de un estímulo de damero en rojo y verde, con un contraste del 99%.

En este grupo, el estímulo fue un damero rojo-verde, con un contraste del 99%, programado para las diferentes frecuencias espaciales: 0,08/0,12/0,17/0,35 cpd. Todos los datos se promediaron del ojo derecho en los 10 participantes voluntarios. La Figura 27 muestra los resultados superpuestos de los registros de pERG ante dameros con cromatismo rojo/verde para cada una de las frecuencias espaciales. Al observar las ondas en la Figura 27, se aprecia que los tres componentes principales del pERG (N35, P50 y N95) aparecen más retrasados en el tiempo que sus rangos normales observados hasta el momento, con las latencias más prolongadas.

RESULTADOS

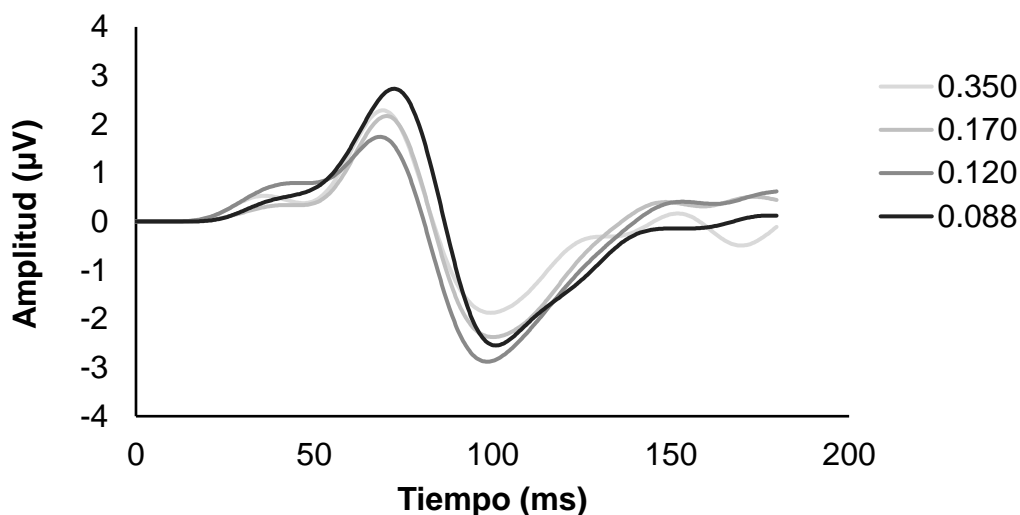


Figura 27. Registros de pERG ante estímulos en damero en rojo y verde y 99% de contraste. Cada trazado corresponde al promedio de los registros de pERG de los 10 participantes. Se muestran en distintos grados de intensidad el trazado correspondiente a cada frecuencia espacial (0,08/0,12/0,17/0,35 cpd).

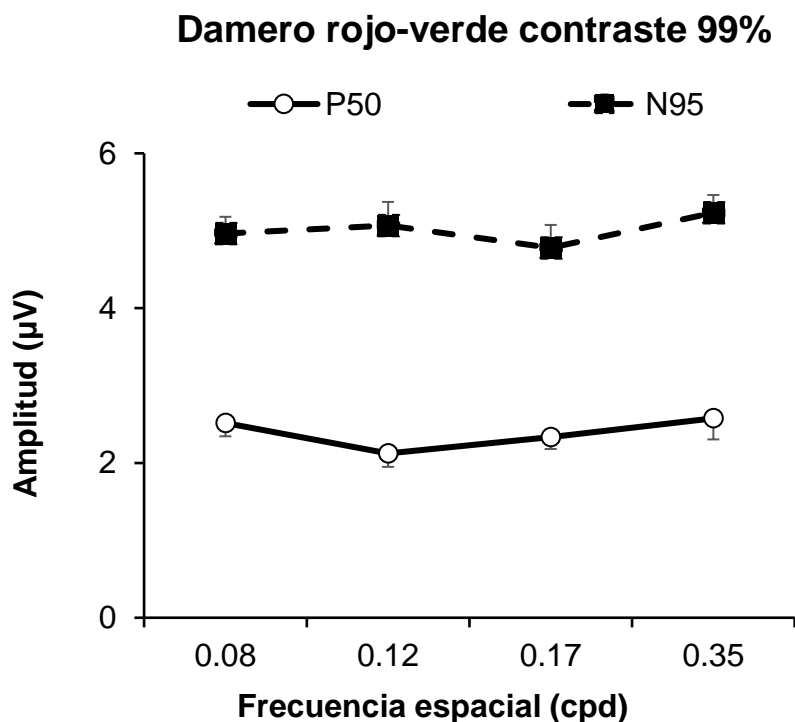


Figura 28. Amplitudes de respuesta de pERG al estímulo de damero rojo-verde con 99% de contraste en diferentes frecuencias espaciales. Valores de amplitud de onda P50 y N95 del pERG, promediados de los 10 voluntarios sanos ($\bar{X} \pm \text{SEM}$) representados para cada una de las frecuencias espaciales (cpd).

De acuerdo con los datos obtenidos anteriormente, la Figura 28 muestra la amplitud de la onda P50 y N95 ($\bar{X} \pm \text{SEM}$) promediada de los ojos derechos en los 10 participantes voluntarios.

No se observaron diferencias estadísticamente significativas entre las amplitudes del pERG evocadas por estímulos de damero rojo-verde con 99% de contraste a diferentes frecuencias espaciales (0,08-0,35 cpd), tanto para las amplitudes de la onda P50 como para la onda N95 ($p > 0,05$). El estudio de los cambios en las amplitudes de pERG bajo diferentes frecuencias espaciales se utilizó ANOVA de dos colas con post hoc test.

4.1.2.4. Efecto de un estímulo de damero en azul y amarillo, con un contraste del 99%.

En otra serie de experimentos, el estímulo fue un damero azul-amarillo, con un contraste del 99%, programado para las diferentes frecuencias espaciales: 0,08/0,12/0,17/0,35 cpd. Todos los datos se promediaron del ojo derecho en los 10 participantes voluntarios. La Figura 29 muestra los resultados superpuestos de los registros de pERG ante dameros con cromatismo azul/amarillo para cada una de las frecuencias espaciales. Al observar las ondas en la Figura 29, se aprecia que los tres componentes principales del pERG (N35, P50 y N95) aparecen dentro de sus rangos normales de latencia.

De acuerdo con los datos obtenidos anteriormente, la Figura 30 muestra la amplitud de la onda P50 y N95 ($\bar{X} \pm \text{SEM}$) promediada de los ojos derechos en los 10 participantes voluntarios.

Para el tipo de estímulo indicado, no se observaron diferencias significativas entre las amplitudes del pERG evocadas por diferentes frecuencias espaciales (0,08-0,35 cpd). El análisis estadístico mediante ANOVA de dos colas no mostró diferencias estadísticamente significativas ($p > 0,05$).

RESULTADOS

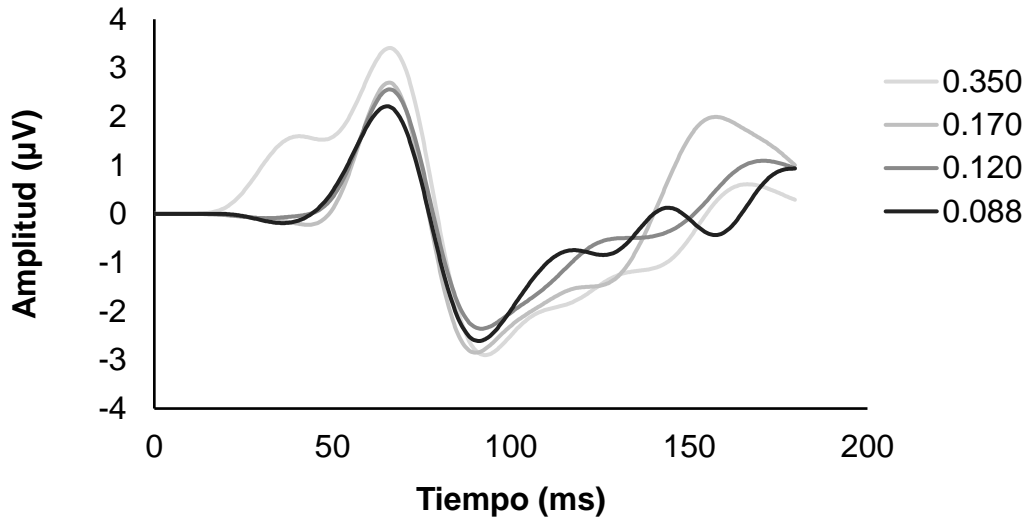


Figura 29. Registros de pERG ante estímulos en damero en azul y amarillo, y 99% de contraste. Cada trazado corresponde al promedio de los registros de pERG de los 10 participantes. Se muestran en distintos grados de intensidad el trazado correspondiente a cada frecuencia espacial (0,08/0,12/0,17/0,35 cpd).

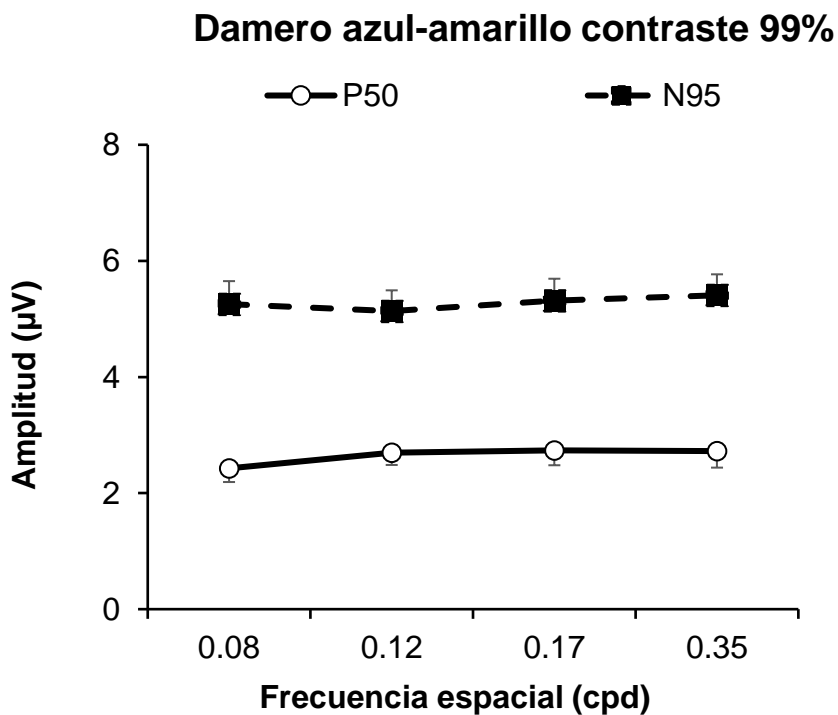


Figura 30. Amplitudes de respuesta de pERG al estímulo de damero azul-amarillo con 99% de contraste en diferentes frecuencias espaciales. Valores de amplitud de onda P50 y N95 del pERG, promediados de los 10 voluntarios sanos ($\bar{X} \pm SEM$) representados para cada una de las frecuencias espaciales (cpd).

4.1.2.5. Efecto de un estímulo de barras verticales en blanco y negro, con un contraste del 99%.

En una serie experimental se utilizó un estímulo consistente en barras verticales, en blanco y negro, con un contraste del 99%, programado en diferentes frecuencias espaciales: 0,08/0,12/0,17/0,35 ciclos por grado (cpd). Se promediaron todos los datos de los 10 participantes voluntarios. La Figura 31 muestra los resultados superpuestos para cada una de las frecuencias espaciales. Al observar las ondas en la Figura 31, se aprecia los tres componentes principales del pERG (N35, P50, N95), que aparecen dentro de sus rangos normales de latencia. La Figura 32 muestra los valores promediados de amplitud de las ondas P50 y N95 ($\bar{X} \pm \text{SEM}$) obtenidos de los ojos derechos de los 10 participantes voluntarios.

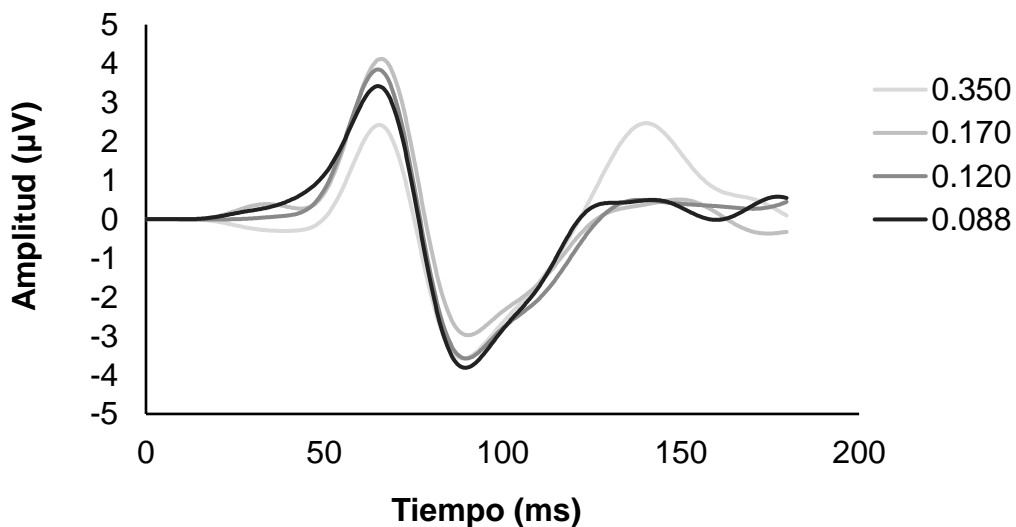


Figura 31. Registros de pERG ante estímulos de barras verticales en blanco y negro, y 99% de contraste. Cada trazado corresponde al promedio de los registros de pERG de los 10 participantes. Se muestran en distintos grados de intensidad el trazado correspondiente a cada frecuencia espacial (0,08/0,12/0,17/0,35 cpd).

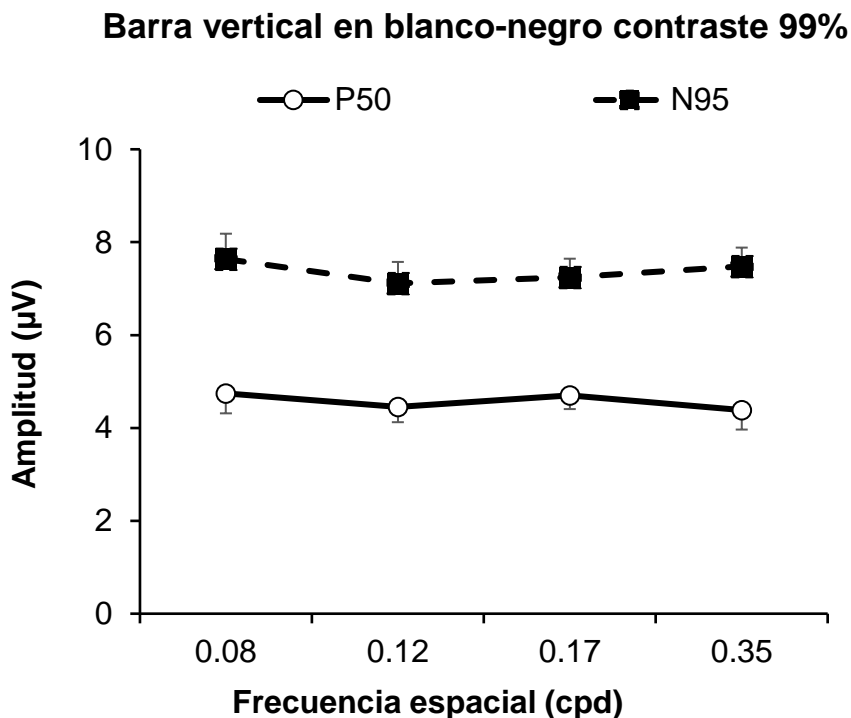


Figura 32. Amplitudes de respuesta de pERG al estímulo en barras verticales en blanco y negro con 99% de contraste en diferentes frecuencias espaciales. Valores de amplitud de onda P50 y N95 del pERG, promediados de los 10 voluntarios sanos ($\bar{X} \pm \text{SEM}$) representados para cada una de las frecuencias espaciales (cpd).

No se observaron diferencias significativas entre las amplitudes del pERG evocadas por barras verticales en contraste blanco y negro y diferentes frecuencias espaciales (0,08 a 0,35 cpd), tanto en las amplitudes de la onda P50 como en la onda N95 ($p > 0,05$). El estudio de los cambios en las amplitudes del pERG bajo diferentes frecuencias espaciales se utilizó ANOVA bidireccional (de dos colas) con post hoc test.

4.1.2.6. Efecto de un estímulo de barras horizontales en blanco y negro, con un contraste del 99%.

En una serie experimental se utilizó un estímulo barras horizontales, en blanco y negro, con un contraste del 99%, programado en diferentes frecuencias espaciales: 0,08/0,12/0,17/0,35 ciclos por grado (cpd). Se promediaron todos los datos de los 10 participantes voluntarios. La Figura 33 muestra los resultados superpuestos para cada una de las frecuencias espaciales. Al observar las ondas en la Figura 33, se aprecian los tres

componentes principales del pERG (N35, P50, N95), que aparecen dentro de sus rangos normales de latencia.

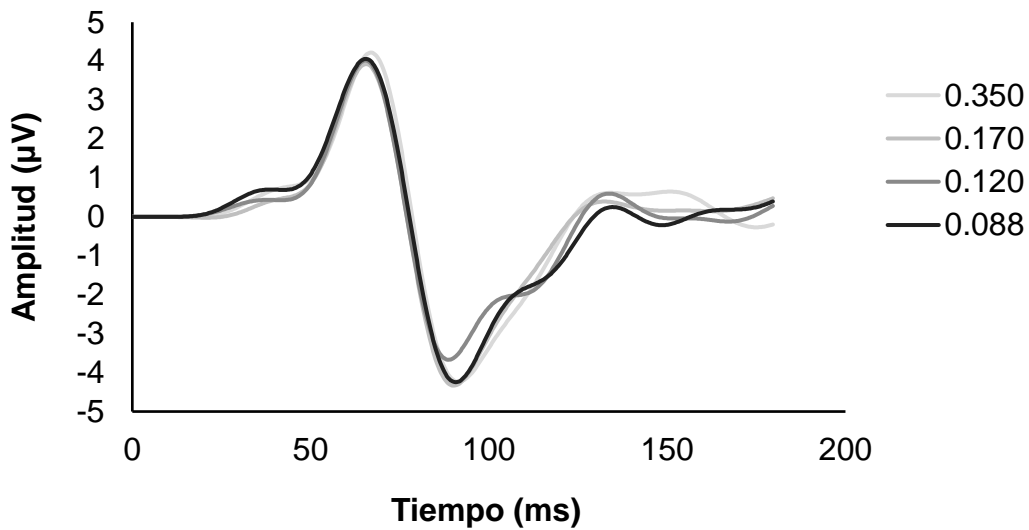


Figura 33. Registros de pERG ante estímulos de barras horizontales en blanco y negro, y 99% de contraste. Cada trazado corresponde al promedio de los registros de pERG de los 10 participantes. Se muestran en distintos grados de intensidad el trazado correspondiente a cada frecuencia espacial (0,08/0,12/0,17/0,35 cpd).

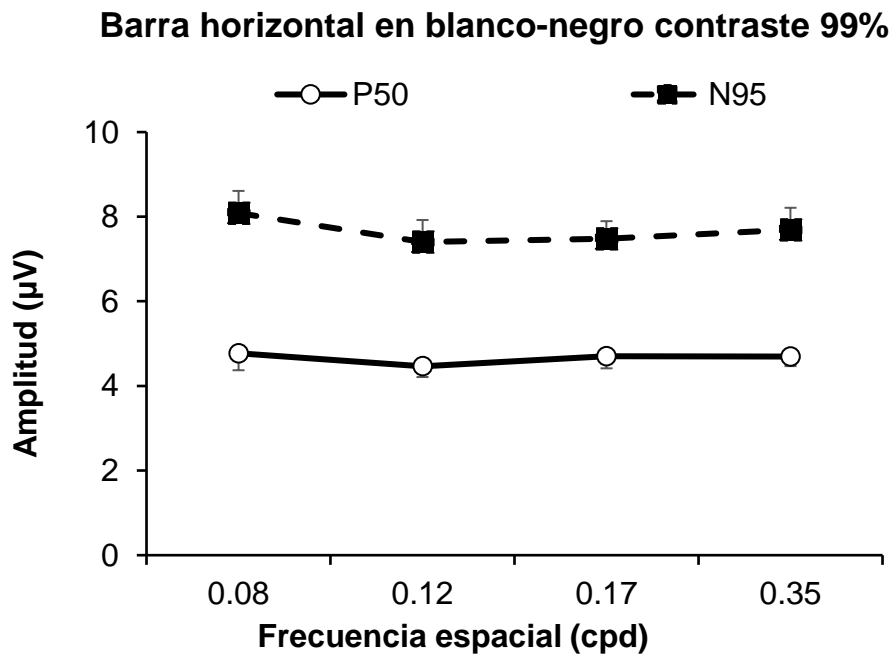


Figura 34. Amplitudes de respuesta de pERG al estímulo en barras horizontales en blanco y negro con 99% de contraste en diferentes frecuencias espaciales. Valores de amplitud de onda P50 y N95 del pERG, promediados de los 10 voluntarios sanos ($\bar{X} \pm SEM$) representados para cada una de las frecuencias espaciales (cpd).

RESULTADOS

La Figura 34 muestra los valores promediados de amplitud de las ondas P50 y N95 ($\bar{X} \pm \text{SEM}$) obtenidos de los ojos derechos de los 10 participantes voluntarios. No se observaron diferencias significativas entre las amplitudes del pERG evocadas por barras horizontales en contraste blanco y negro y diferentes frecuencias espaciales (0,08 a 0,35 cpd), tanto en las amplitudes de la onda P50 como en la onda N95 ($p > 0,05$). El estudio de los cambios en las amplitudes del pERG bajo diferentes frecuencias espaciales se utilizó ANOVA bidireccional (de dos colas) con post hoc test.

La tabla 3 muestra de forma resumida los datos cuantitativos de los 6 grupos experimentales mostrados anteriormente, con los valores promedio ($\bar{X} \pm \text{SEM}$) para cada experimento. No se observaron diferencias estadísticamente significativas entre las amplitudes de pERG evocadas por diferentes frecuencias espaciales en estímulos de damero (blanco con negro, rojo con verde y azul con amarillo) de 99% o 60 % de contraste, barras verticales u horizontales en blanco y negro, tanto en las amplitudes de la onda P50 como en la onda N95. A partir de estos resultados, resumimos que las amplitudes de las respuestas del patrón ERG se obtuvieron para estímulos con una frecuencia espacial entre 0,08 a 0,35 cpd fueron similares, en damero, barra, diferentes colores o diferentes contrastes.

Estímulos		Frecuencia espacial			
		0.08cpd	0.12cpd	0.17cpd	0.35cpd
Amplitud P50	Damero B/N 99%contraste	5.29±0.44	5.98±0.51	5.18±0.58	5.52±0.49
	Barra B/N Vertical 99% contraste	5.43±0.67	5.24±0.64	5.16±0.47	5.09±0.60
	Barra B/N Horizontal 99% contraste	5.50±0.70	5.05±0.48	5.01±0.38	4.97±0.23
	Damero Rojo/Verde 99% contraste	2.49±0.17	2.37±0.26	2.40±0.19	2.79±0.31
	Damero Azul/Amarillo 99% contraste	2.67±0.31	2.94±0.25	2.99±0.31	3.06±0.42
	Damero B/N 60%contraste	2.17±0.29	2.12±0.21	2.42±0.26	2.29±0.26
Amplitud N95	Damero B/N 99%contraste	8.52±0.76	9.42±0.84	8.76±0.80	8.91±0.91
	Barra B/N Vertical 99% contraste	8.96±0.79	8.56±0.85	8.37±0.81	8.82±0.93
	Barra B/N Horizontal 99% contraste	8.81±0.71	8.58±0.87	8.48±0.69	8.15±0.71
	Damero Rojo/Verde 99% contraste	5.29±0.30	5.46±0.42	5.23±0.53	5.39±0.31
	Damero Azul/Amarillo 99% contraste	5.52±0.45	5.26±0.40	5.59±0.48	6.12±0.57
	Damero B/N 60%contraste	3.50±0.37	3.56±0.39	4.04±0.32	4.42±0.46

Tabla 3. Amplitudes de las respuestas del pERG a diferentes estímulos: forma (damero y barras), contraste (99% y 60%), frecuencias espaciales (0,08/0,12/0,17/0,35 cpd) y color (blanco/negro [B/N], rojo/verde, azul/amarillo).

RESULTADOS

4.1.3. Estudio comparativo entre los distintos estímulos blanco-negro, rojo-verde y azul-amarillo sobre la respuesta del electroretinograma de patrón.

Se muestran a continuación (Figura 35) las diferencias observadas en los registros de pERG obtenidos ante estímulos en damero, con contraste blanco/negro y rojo/verde.

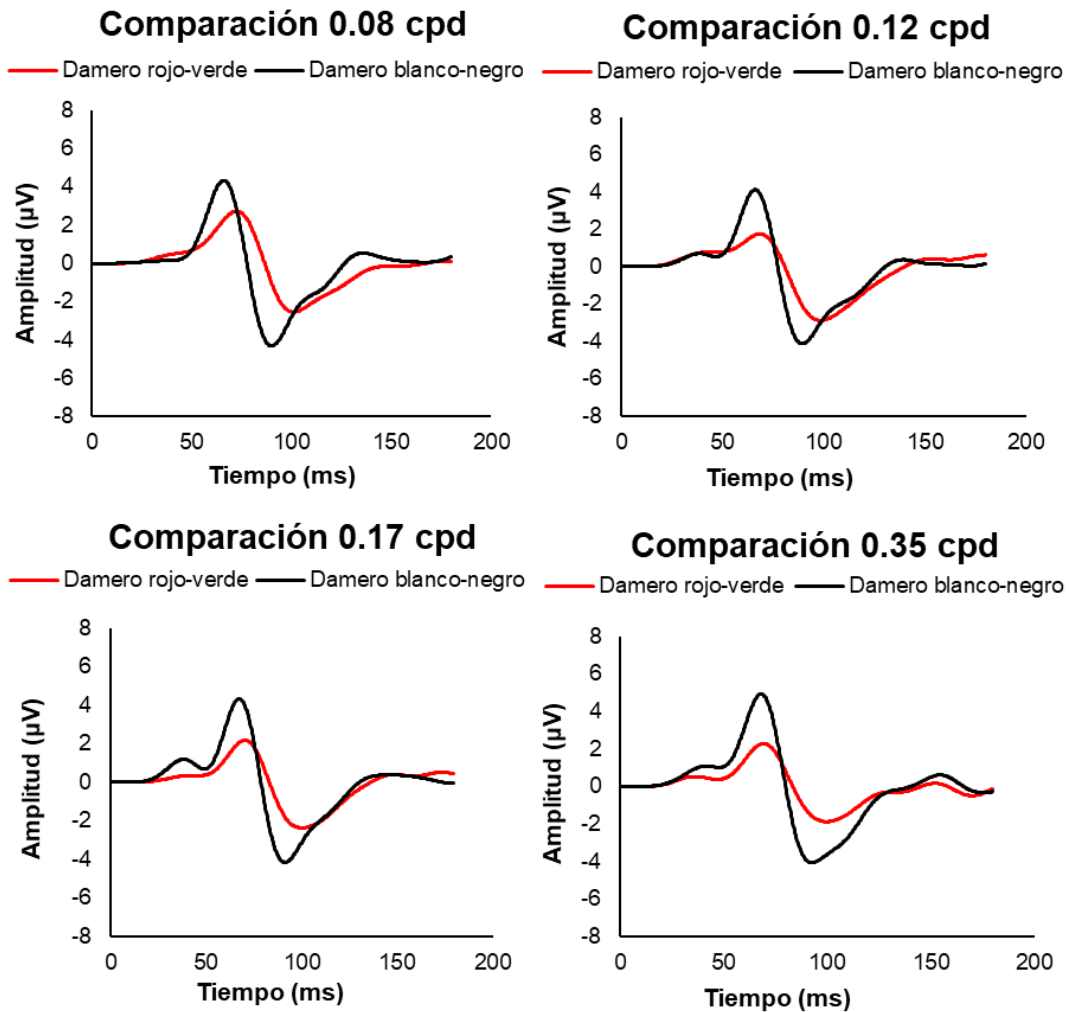


Figura 35. Comparación entre los registros pERG con estímulos de damero blanco-negro y damero rojo-verde. Registros superpuestos obtenidos ante estímulos en damero blanco-negro y de damero rojo-verde, para las diferentes frecuencias espaciales por (0,08/0,12/0,17/0,35 cpd).

La Figura 36 muestra de forma comparativa las amplitudes de onda P50 y N95 del pERG ($\bar{X} \pm SEM$), obtenidas en los experimentos de estimulación mediante dameros blanco-negro y el damero rojo-verde.

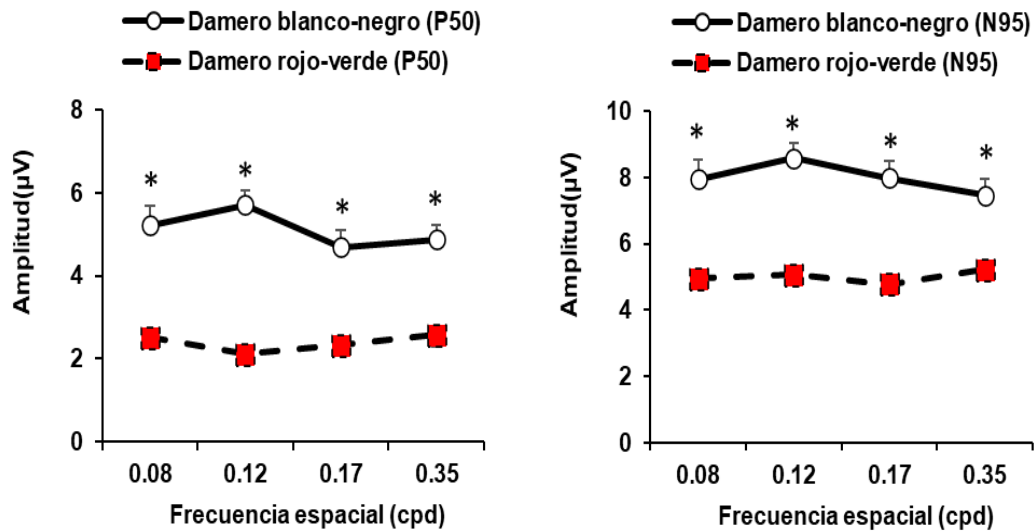


Figura 36. Comparación entre la respuesta pERG a estímulo de damero blanco-negro y de damero rojo-verde. Valores de amplitud de onda P50 (izquierdo) y N95 (derecho) del pERG (μV), promediados de los ojos derechos de los 10 voluntarios sanos ($\bar{X} \pm \text{SEM}$) a diferentes frecuencias espaciales. El símbolo * indica la existencia de diferencias estadísticamente significativas ($p < 0.05$).

Se observaron diferencias estadísticamente significativas entre los resultados obtenidos en respuesta al damero blanco-negro y al damero rojo-verde a frecuencias espaciales entre 0,08-0,35 cpd. La significación de diferencias entre los grupos se determinó mediante la prueba t de Student para datos no apareados con corrección de Welch. La diferencia estadística entre el damero blanco-negro y rojo-verde fue significativa tanto en las amplitudes de la onda P50 como en la onda N95. Los resultados indicaron que el contraste blanco-negro fue más eficaz que el rojo-verde cuando nos referimos a términos de amplitud de onda pERG.

De igual forma, hicimos la comparación entre damero blanco-negro y damero azul-amarillo. La Figura 37 muestra de forma comparativa los resultados obtenidos ante estímulos en damero blanco-negro y damero azul-amarillo.

RESULTADOS

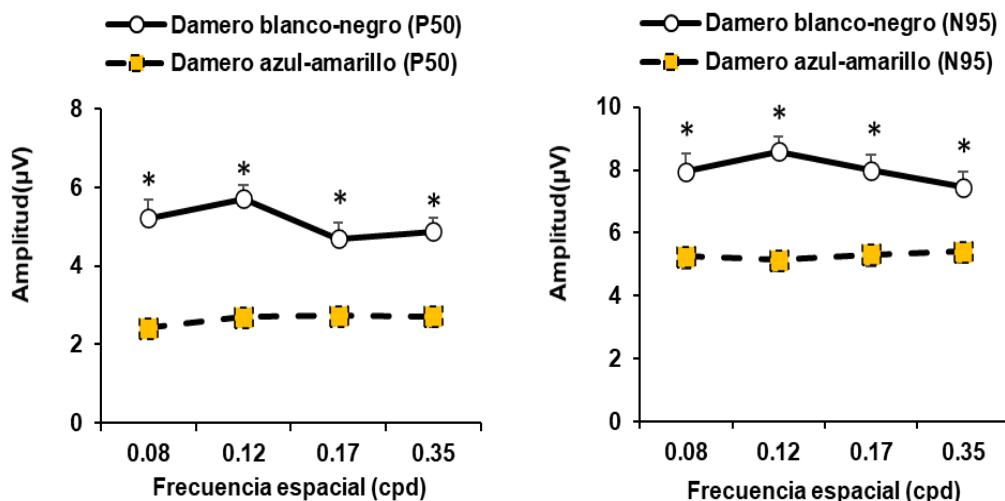


Figura 37. Comparación entre la respuesta pERG al estímulo de damero blanco-negro y de damero azul-amarillo. Valores de amplitud de onda P50 (izquierda) y N95 (derecha) del patrón ERG (μV), promediados de los ojos derechos de los 10 voluntarios sanos ($\bar{X} \pm \text{SEM}$) a diferentes frecuencias espaciales. El símbolo * indica la existencia de diferencias estadísticamente significativas ($p < 0.05$).

Se observaron diferencias estadísticamente significativas entre los resultados obtenidos en respuesta al damero blanco-negro y al damero azul y amarillo a frecuencias espaciales entre 0,08-0,35 cpd. La significación de diferencias entre los grupos se determinó mediante la prueba t de Student para datos no apareados con corrección de Welch. La diferencia estadística entre el damero blanco-negro y rojo-verde fue significativa tanto en las amplitudes de la onda P50 como en la onda N95. Los resultados indicaron que el contraste blanco-negro fue más eficaz que el azul-amarillo cuando nos referimos a términos de amplitud de onda pERG.

Asimismo, el análisis comparativo entre los resultados obtenidos mediante estímulos en damero rojo-verde y damero azul-amarillo se muestra en la Figura 38.

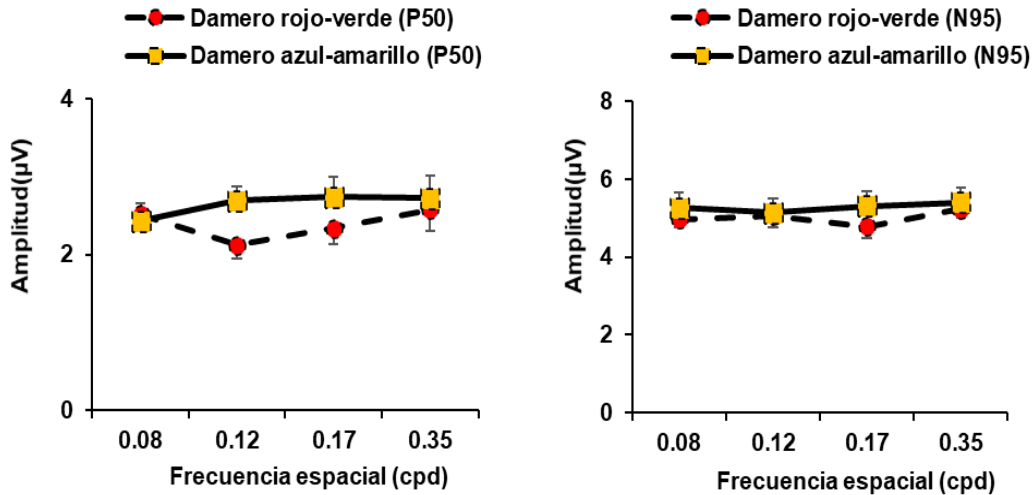


Figura 38. Comparación entre la respuesta pERG al estímulo de damero rojo-verde y damero azul-amarillo. Valores de amplitud de onda P50 (izquierda) y N95 (derecha) del patrón ERG (μV), promediados de los ojos derechos de los 10 voluntarios sanos ($\bar{X} \pm \text{SEM}$) a diferentes frecuencias espaciales.

No se observaron diferencias estadísticamente significativas entre los resultados obtenidos en respuesta al damero rojo-verde y al damero azul-amarillo a frecuencias espaciales entre 0,08-0,35 cpd ($p > 0,05$; prueba t de Student), tanto en las amplitudes de onda P50 como en onda N95. El análisis indica que el damero rojo-verde tiene la misma eficacia que el azul-amarillo al evocar respuestas de pERG. De forma resumida, de este análisis se puede concluir que el damero blanco-negro es más efectivo que el damero azul-amarillo y el damero rojo-verde a la hora de ser empleados para el estudio de pERG.

4.1.4. Estudio comparativo entre los distintos estímulos en damero, barras verticales y barras horizontales sobre la respuesta del electroretinograma de patrón.

Como ya se ha mostrado, se llevaron a cabo experimentos utilizando estímulos de damero en blanco y negro con un contraste del 99%, barras verticales en blanco y negro con un contraste del 99%, barras horizontales en blanco y negro con un contraste del 99%. La Figura 39 muestra los registros superpuestos de pERG ante estímulos en damero y barras verticales.

RESULTADOS

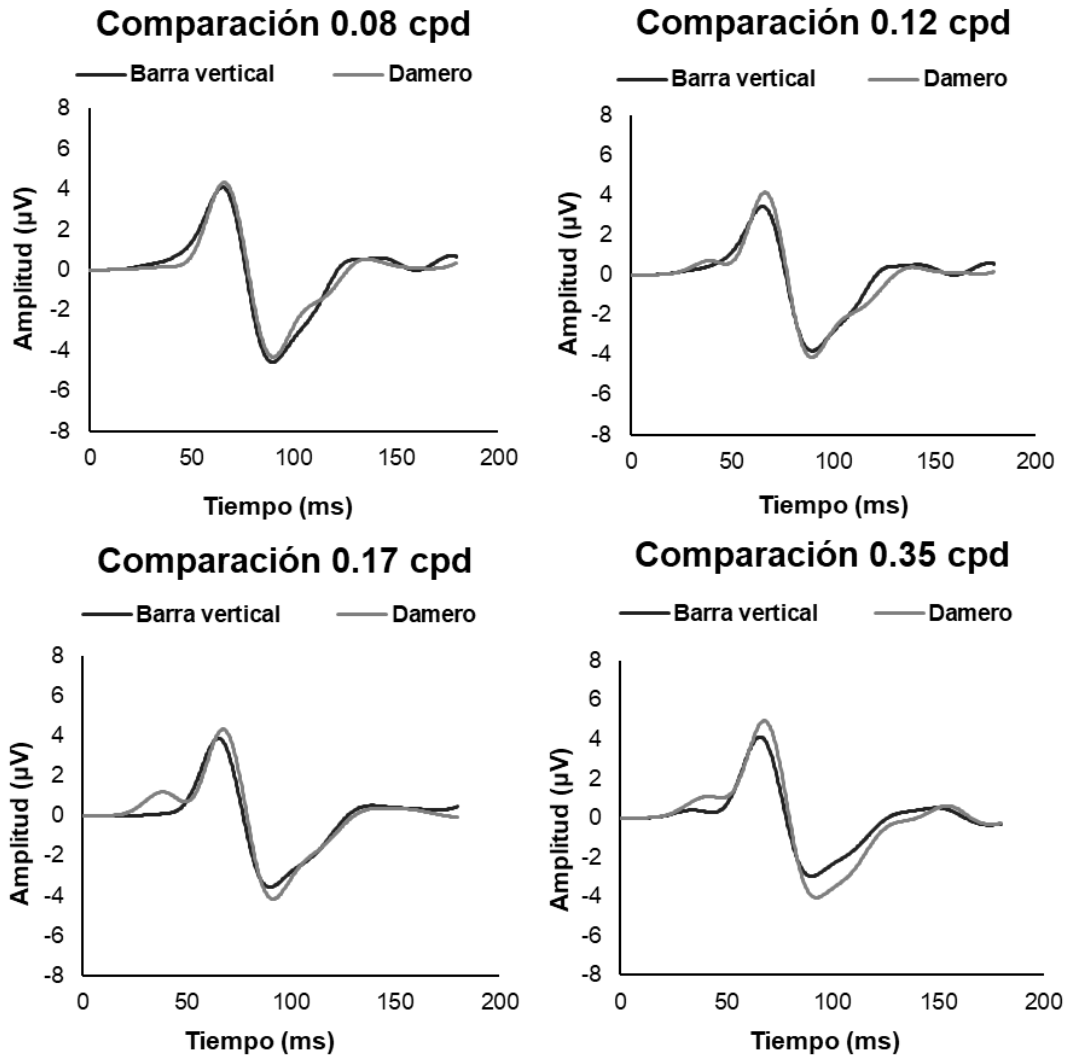


Figura 39. Comparaciones entre los registros pERG con estímulos de damero y barras verticales. Comparaciones entre registros de damero blanco-negro y barras verticales blanco-negro, a diferentes frecuencias espaciales por separado (0,08/0,12/0,17/0,35 cpd).

La Figura 40 muestra de forma comparativa las amplitudes de onda P50 y N95 del pERG ($\bar{X} \pm \text{SEM}$), obtenidas en los experimentos de estimulación mediante dameros y barras verticales.

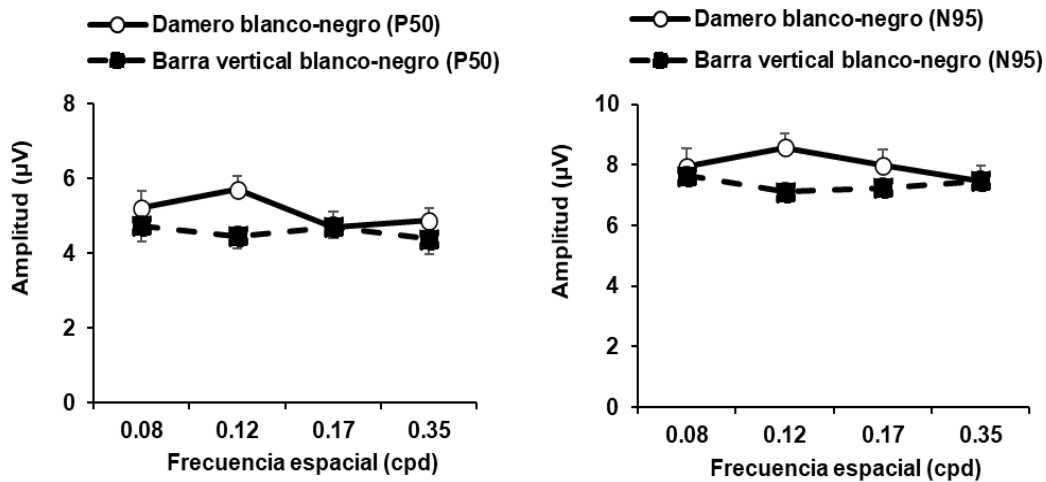


Figura 40. Comparación entre la respuesta pERG al estímulo de damero blanco-negro y barras verticales blanco-negro. Valores de amplitud de onda P50 (izquierda) y N95 (derecha) del patrón ERG (μV), promediados de los ojos derechos de los 10 voluntarios sanos ($\bar{X} \pm \text{SEM}$) a diferentes frecuencias espaciales.

No se observaron diferencias significativas entre los resultados obtenidos en respuesta al damero y barras verticales a frecuencias espaciales entre 0,08-0,35 cpd ($p > 0,05$), tanto en las amplitudes de onda P50 como en onda N95. El grado de significación estadística de las diferencias entre los grupos se determinó mediante la prueba t de Student para datos no apareados con corrección de Welch. La diferencia estadística entre el damero blanco-negro y las barras verticales blanco-negro no fue significativa tanto en las amplitudes de la onda P50 como en la onda N95. Los resultados indicaron que el damero era tan efectivo como las barras verticales con contraste blanco-negro.

Siguiendo el mismo procedimiento, hicimos la comparación de los resultados obtenidos mediante estímulo en damero blanco-negro y las barras horizontales blanco-negro. La figura 41 muestra dicha comparación. Asimismo se procedió a comparar los resultados obtenidos con estímulo de barras horizontales y barras verticales blanco-negro. La figura 42 muestra dicha comparación.

RESULTADOS

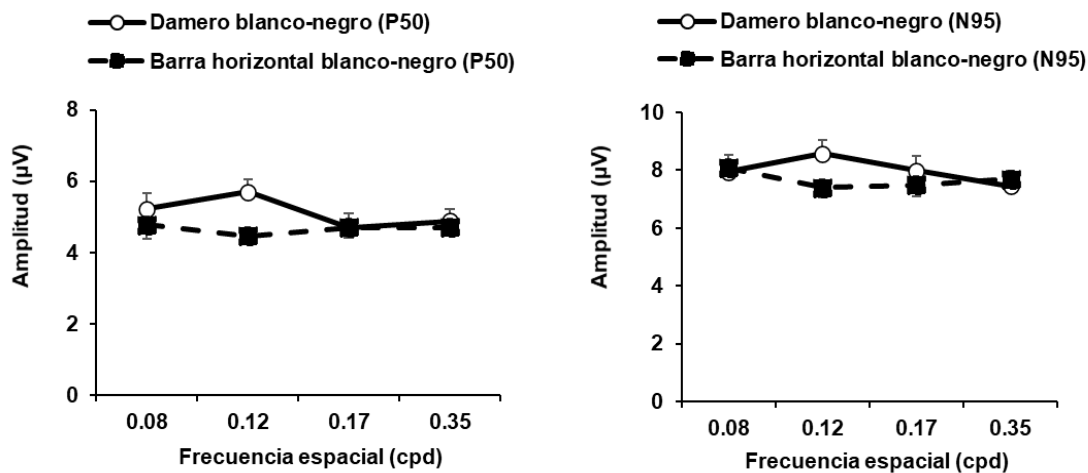


Figura 41. Comparación entre la respuesta pERG al estímulo de damero blanco-negro y la barra horizontal blanco-negro. Valores de amplitud de onda P50 (izquierda) y N95 (derecha) del patrón ERG (μV), promediados de los ojos derechos de los 10 voluntarios sanos ($\bar{X} \pm \text{SEM}$) a diferentes frecuencias espaciales.

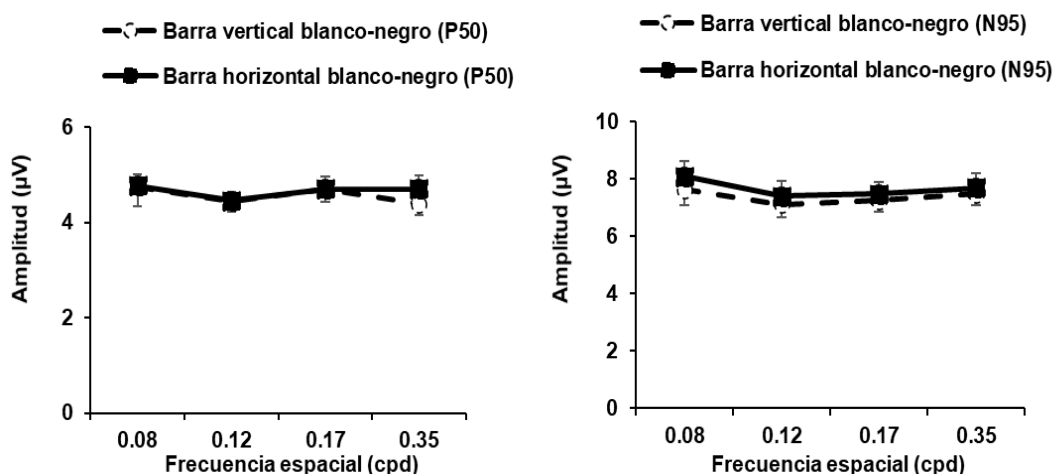


Figura 42. Comparación entre la respuesta pERG al estímulo de la barra horizontal y la barra vertical. Valores de amplitud de onda P50 (izquierda) y N95 (derecha) del patrón ERG (μV), promediados de los ojos derechos de los 10 voluntarios sanos ($\bar{X} \pm \text{SEM}$) a diferentes frecuencias espaciales.

No se observaron diferencias significativas entre los resultados obtenidos en respuesta a al damero y barras horizontales, así como a las barras horizontales y verticales. Los resultados indican que el damero, las barras horizontales y las barras verticales muestran la misma efectividad a la hora de evocar las respuestas del pERG.

4.1.5. Estudio comparativo entre los estímulos con distinto contraste, 60% y 99%, sobre la respuesta del electroretinograma de patrón.

Como ya se ha mostrado, se llevaron a cabo experimentos utilizando estímulos en damero blanco-negro con un 99% de contraste y con un contraste del 60%. La Figura 43 muestra los registros superpuestos de pERG en ambas condiciones experimentales.

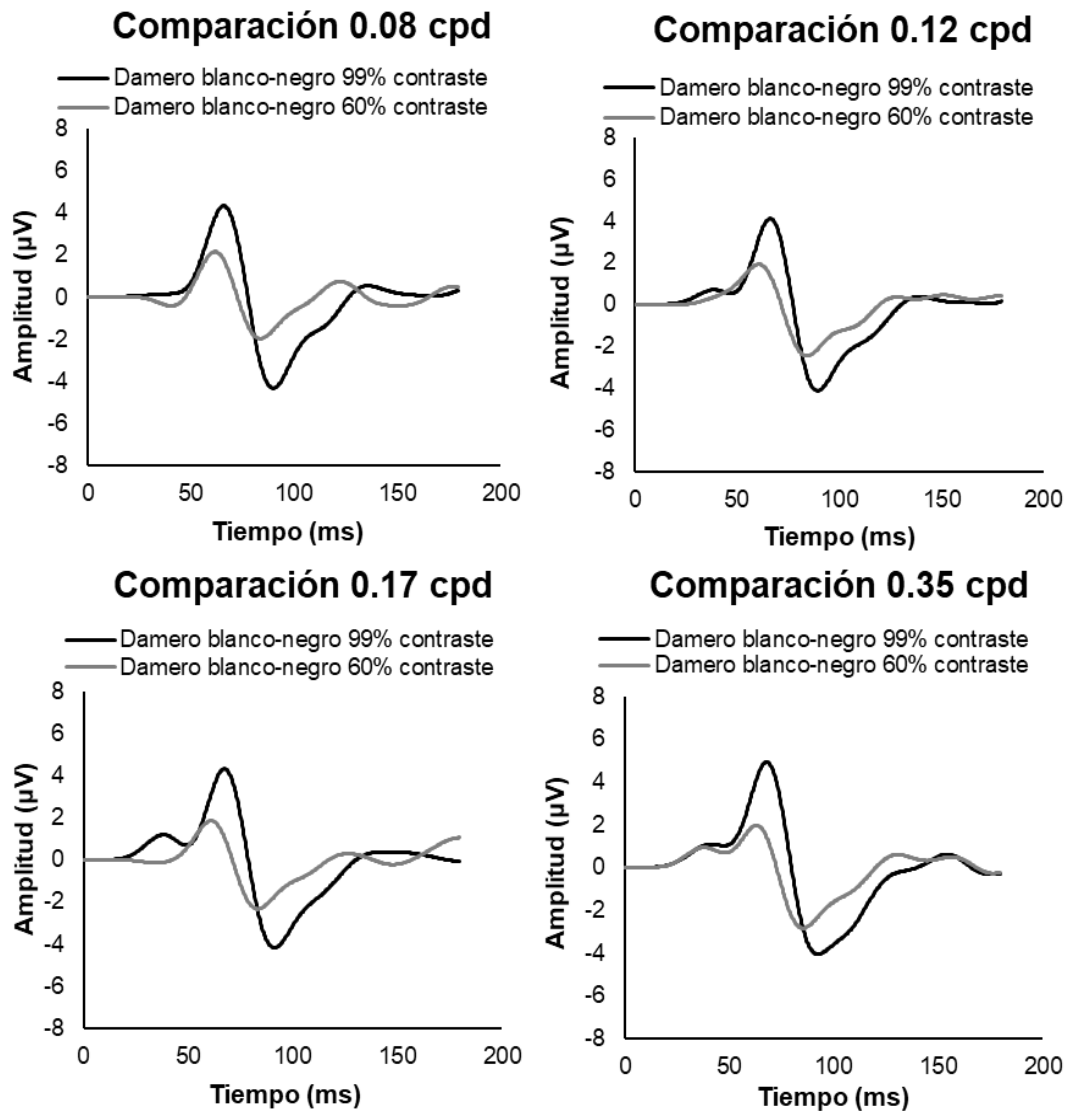


Figura 43. Comparación entre los registros pERG ante estímulos de damero blanco-negro de contraste del 99% y damero blanco-negro de contraste del 60%. Comparaciones entre los registros de damero con del 99% y contraste del 60%, a diferentes frecuencias espaciales (0,08/0,12/0,17/0,35 cpd).

RESULTADOS

La Figura 44 muestra de forma comparativa las amplitudes de onda P50 y N95 del pERG ($\bar{X} \pm \text{SEM}$), obtenidas en los experimentos de estimulación mediante dameros al 99% o al 60% de contraste.

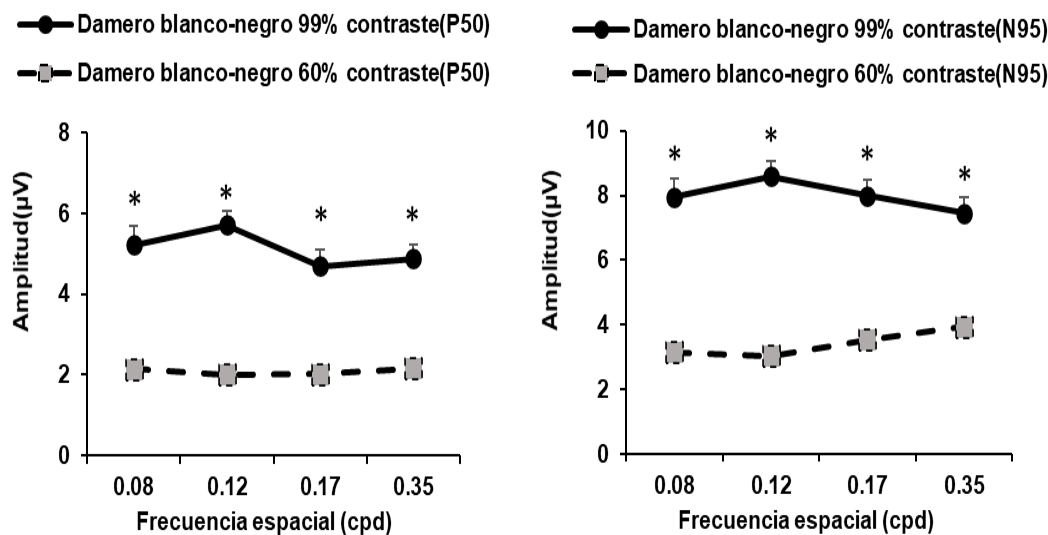


Figura 44. Comparación entre la amplitud de las respuestas pERG al estímulo de damero blanco-negro de contraste del 99% y damero blanco-negro de contraste del 60%. Valores de amplitud de onda P50 (izquierda) y N95 (derecha) del patrón ERG (μV), promediados de los ojos derechos de los 10 voluntarios sanos ($\bar{X} \pm \text{SEM}$) a diferentes frecuencias espaciales. El símbolo * indica la existencia de diferencias estadísticamente significativas ($p < 0.05$).

Se observaron diferencias significativas entre los resultados obtenidos en respuesta al damero blanco-negro de contraste del 99% y al damero blanco-negro de contraste del 60% a frecuencias espaciales entre 0,08-0,35 cpd. La significación de diferencias entre los grupos se determinó mediante la prueba t de Student para datos no apareados con corrección de Welch. La diferencia estadística entre el damero al 99% y al 60% fue significativa tanto en las amplitudes de la onda P50 como en la onda N95. Los resultados indican que los estímulos con mayor contraste son más efectivos que los de bajo contraste para su aplicación a los estudios de pERG.

4.2. RESULTADOS DEL ELECTROOCULOGRAMA.

4.2.1. Características descriptivas de los participantes incluidos en el estudio.

El estudio se realizó en 10 sujetos sanos (5 mujeres y 5 hombres) sin enfermedades oftalmológicas, con edad de $24,2 \pm 4,5$ (promedio \pm SD) años. Cuando fue necesario, los participantes utilizaron la corrección refractiva adecuada y la agudeza visual alcanzó más de 1,0 decimal para la distancia de prueba. En todos los participantes, se eligieron ambos ojos para el registro de electrooculograma (EOG).

4.2.2. Efecto de la frecuencia temporal sobre la amplitud de la respuesta electrooculográfica, en desplazamiento lineal (horizontal y vertical) y rotacional.

En las distintas series experimentales, se realizaron registros de actividad electrooculográfica ante estímulos en movimiento (barras verticales de desplazamiento horizontal, barras horizontales de desplazamiento vertical y barras que rotaban en torno a un eje central), en diferente estado de adaptación (luz y oscuridad), a distintas frecuencias temporales (0,2/0,3/1/2/3 Hz) y con distintos contrastes (barra blanca sobre fondo negro, barra negra sobre fondo blanco, barra gris sobre fondo negro).

En una primera serie experimental, se procedió a la comparación entre frecuencias temporales de 0,2/0,3/1/2/3/10 Hz. La Figura 45 muestra las respuestas EOG ante un estímulo consistente en una barra negra sobre fondo blanco que se desplazaba linealmente o de forma rotatoria, en condiciones de adaptación a la luz, a diferentes frecuencias temporales. Cada trazado corresponde al registro de un ojo. Los registros de ambos ojos fueron realizados de forma simultánea. En cada caso de desplazamiento lineal se aprecia que el movimiento ocular corresponde a un desplazamiento lento de persecución del estímulo, seguido de un movimiento rápido de los ojos para recuperar la posición de la mirada en el punto de comienzo del nuevo estímulo. En los movimientos de rotación, los trazados corresponden a los desplazamientos de la mirada, siguiendo la rotación de la barra, motivo por el cual no se aprecia movimientos rápidos, siendo todos de carácter lento.

RESULTADOS

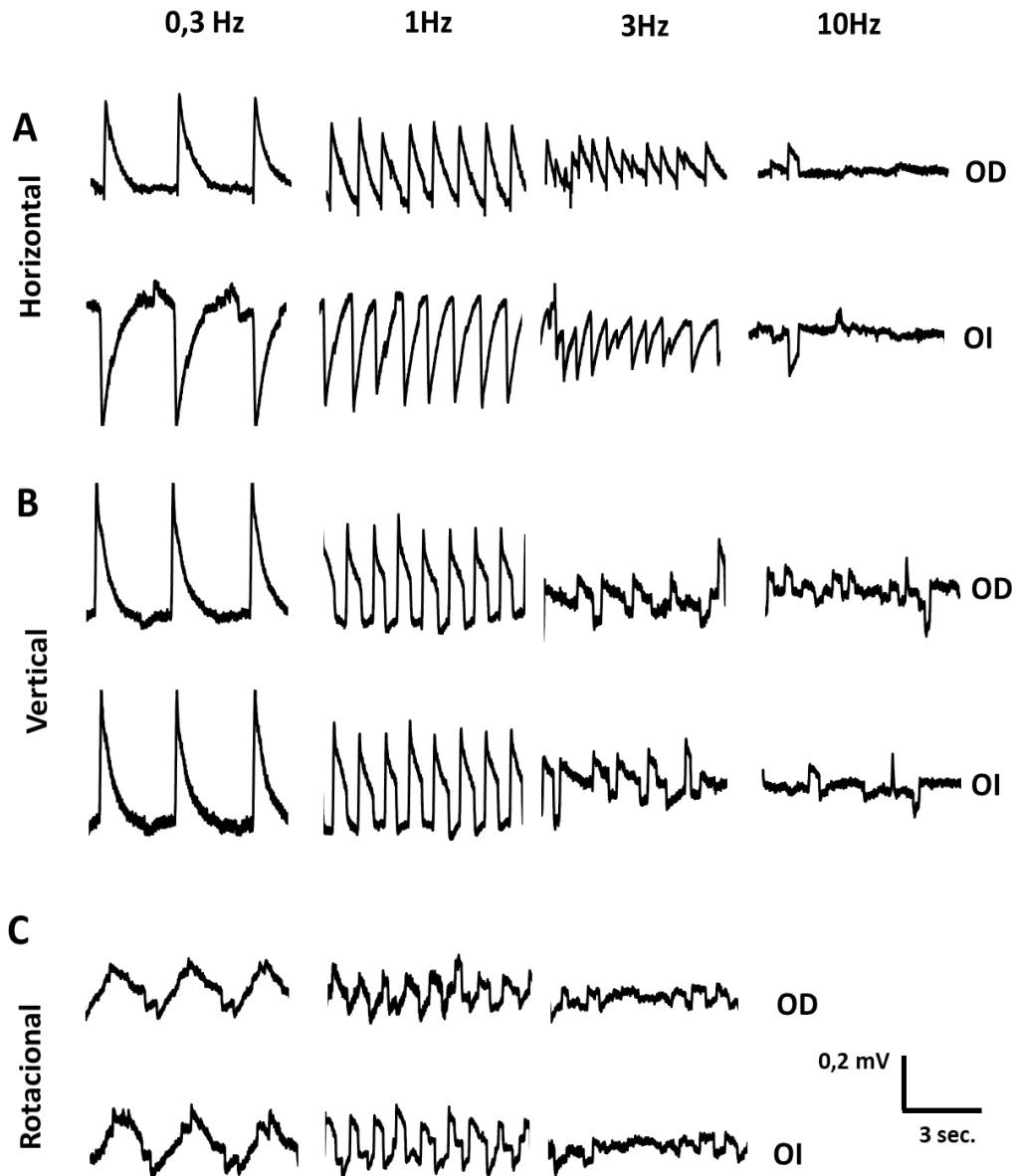


Figura 45. Ejemplo de trazados de registro electrooculográfico obtenidos en un voluntario sano. Registros electrooculográficos ante un estímulo consistente en una barra negra sobre fondo blanco que se desplazaba en la pantalla en dirección horizontal de izquierda a derecha (A), vertical de abajo a arriba (B), y de forma rotacional, en sentido de las manillas del reloj (C), a diferentes frecuencias temporales (0,3 Hz; 1 Hz; 3 Hz; 10 Hz). Se muestran de forma superpuesta los registros obtenidos en el ojo derecho (OD) y en el ojo izquierdo (OI) de un voluntario sano al tiempo que persigue una barra negra sobre fondo blanco representada sobre la pantalla de un ordenador, en condiciones de adaptación a la luz.

La Figura 46 muestra los valores de amplitud máxima (pico-valor) de los trazados electrooculográficos similares a los mostrados en la Figura 45, promediados ($\bar{X} \pm \text{SEM}$) de los 10 voluntarios sanos. Para la realización del análisis se han promediado conjuntamente los valores de ambos ojos. Se observaron diferencias estadísticamente significativas (* $p < 0,05$; ANOVA de dos factores bidireccional) entre las amplitudes de EOG bajo diferentes frecuencias temporales para los movimientos lineales (verticales y horizontales) y movimientos rotacionales. Dichas diferencias significativas se evocaron ante estímulos de 0,3 Hz y 1 Hz ($p < 0,05$; prueba t de Student); pero no se observaron entre la frecuencia temporal de 0,2 y 0,3 Hz ($p > 0,05$; prueba t de Student) en los movimientos oculares horizontales, verticales o de rotación.

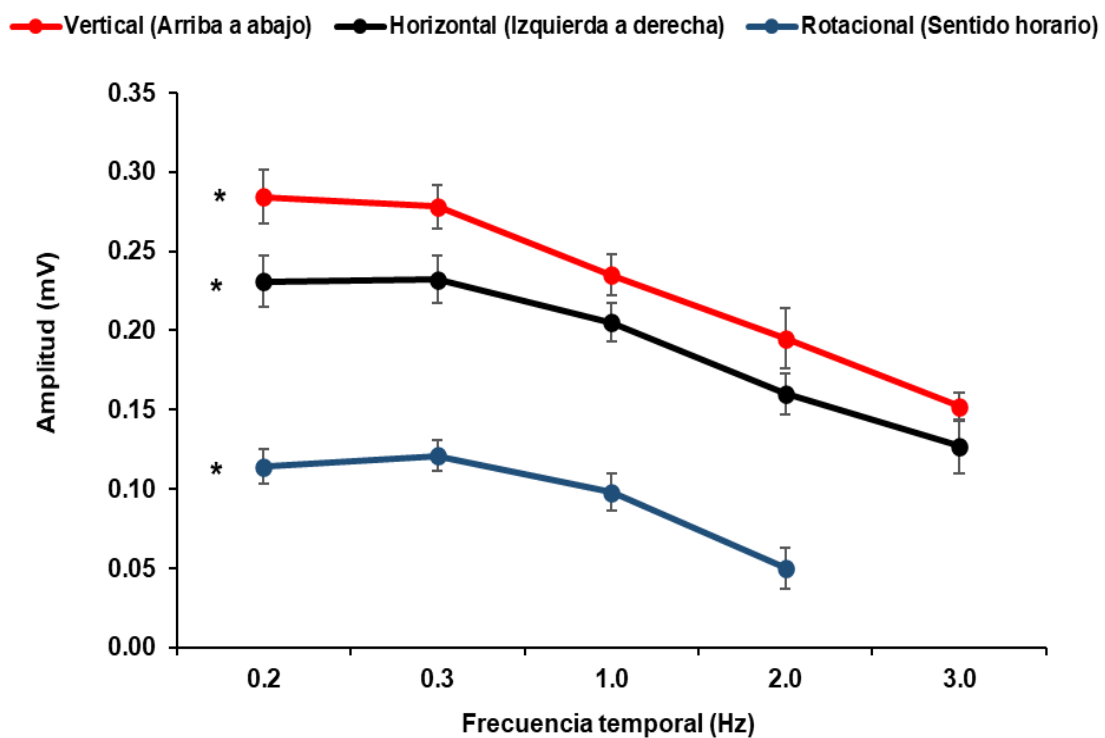


Figura 46. Efecto de la frecuencia temporal sobre la amplitud de la respuesta electrooculográfica. Valores de amplitud del trazado electrooculográfico (mV) promediados de ambos ojos de los 10 voluntarios sanos ($\bar{X} \pm \text{SEM}$) representados en función de la frecuencia temporal (Hz). Se muestran de forma superpuesta los resultados correspondientes a movimientos oculares horizontales (de izquierda a derecha), verticales (de arriba a abajo) o rotacionales (sentido horario) La respuesta máxima se observó a 0,3 Hz.

RESULTADOS

El desplazamiento de la barra de izquierda a derecha evocó señales de EOG con amplitudes decrecientes a medida que aumentó la frecuencia temporal: 0,3 Hz ($0,232 \pm 0,015$ mV) / 1 Hz ($0,205 \pm 0,012$ mV) / 2 Hz ($0,160 \pm 0,013$ mV) / 3 Hz ($0,127 \pm 0,017$ mV). El desplazamiento de la barra de arriba hacia abajo evocó señales de EOG con amplitudes decrecientes a medida que aumentó la frecuencia: 0,3 Hz ($0,278 \pm 0,014$ mV) / 1 Hz ($0,235 \pm 0,013$ mV) / 2 Hz ($0,224 \pm 0,019$ mV) / 3 Hz ($0,152 \pm 0,009$ mV). La rotación de la barra en sentido horario también provocó señales de EOG con amplitudes decrecientes a medida que aumentó la frecuencia: 0,3 Hz ($0,121 \pm 0,006$ mV) / 1 Hz ($0,098 \pm 0,009$ mV) / 2 Hz ($0,050 \pm 0,006$ mV).

En distintas series experimentales se repitieron las pruebas de registro binocular ante distintas frecuencias temporales, así como el análisis de las amplitudes ante las distintas direcciones de desplazamiento, ante barras blancas sobre fondo negro en adaptación a la luz, barras grises sobre fondo negro en adaptación a la oscuridad. En todos los casos se procedió al análisis estadístico mediante el software GraphPad Prism versión 5.00. El estudio de los cambios en las amplitudes del EOG bajo diferentes frecuencias temporales se utilizó ANOVA bidireccional (de dos colas) con post hoc test. La importancia de las diferencias entre dos frecuencias temporales se determinó mediante la prueba t de Student para datos no apareados con corrección de Welch. El análisis estadístico de los resultados permitió observar las diferencias significativas de los distintos resultados experimentales.

La Tabla 4 muestra los datos promediados de ambos ojos de los 10 voluntarios sanos de todos los experimentos realizados. Se observaron diferencias estadísticamente significativas entre las amplitudes de EOG evocadas por estímulos de 0,3 Hz y 1 Hz ($p < 0,05$) en los movimientos oculares horizontales, verticales o de rotación, aunque no se observaron diferencias estadísticamente significativas entre la frecuencia temporal de 0,2 y 0,3 Hz para cualquier desplazamiento/rotación de la barra ($p > 0,05$).

Las Figuras 47, 48 y 49 muestran de forma gráfica las diferencias observadas tras los análisis cuantitativos realizados, así como su significación estadística.

Desplazamiento de la barra			Frecuencia				
			0.2Hz	0.3Hz	1Hz	2Hz	3Hz
Adaptación de luz	Barra negra sobre fondo blanco	Derecha a Izquierda	0.210±0.012	0.211±0.012	0.177±0.011	0.145±0.014	0.106±0.009
		Izquierda a Derecha	0.231±0.016	0.232±0.015	0.205±0.012	0.160±0.013	0.127±0.017
		Arriba a Abajo	0.284±0.017	0.278±0.014	0.235±0.013	0.224±0.019	0.152±0.009
		Abajo a Arriba	0.260±0.023	0.279±0.023	0.225±0.020	0.162±0.012	0.120±0.016
		Sentido Horario	0.114±0.006	0.121±0.006	0.098±0.009	0.050±0.006	
		Sentido Antihorario	0.127±0.007	0.128±0.008	0.104±0.008	0.057±0.005	
Adaptación de luz	Barra blanca sobre fondo negro	Derecha a Izquierda	0.210±0.013	0.208±0.013	0.188±0.013	0.142±0.014	0.090±0.011
		Izquierda a Derecha	0.222±0.010	0.237±0.010	0.208±0.012	0.163±0.015	0.118±0.012
		Arriba a Abajo	0.289±0.015	0.281±0.015	0.234±0.012	0.185±0.011	0.144±0.013
		Abajo a Arriba	0.265±0.020	0.263±0.021	0.240±0.020	0.199±0.022	0.159±0.020
		Sentido Horario	0.111±0.007	0.132±0.007	0.093±0.008	0.048±0.005	
		Sentido Antihorario	0.116±0.005	0.140±0.010	0.100±0.010	0.061±0.008	
Adaptación de oscuridad	Barra gris sobre fondo negro	Derecha a Izquierda	0.184±0.012	0.188±0.013	0.153±0.013	0.126±0.011	0.090±0.012
		Izquierda a Derecha	0.202±0.016	0.211±0.017	0.189±0.019	0.148±0.018	0.105±0.014
		Arriba a Abajo	0.253±0.018	0.277±0.018	0.207±0.014	0.139±0.012	0.119±0.017
		Abajo a Arriba	0.232±0.017	0.242±0.018	0.205±0.018	0.145±0.012	0.085±0.012
		Sentido Horario	0.120±0.007	0.121±0.008	0.088±0.007	0.047±0.005	
		Sentido Antihorario	0.111±0.007	0.122±0.007	0.090±0.008	0.051±0.004	

Tabla 4. Valores promediados de las amplitudes de las respuestas electrooculográficas de todos los experimentos realizados. Amplitudes de las respuestas EOG en los diferentes experimentos realizados, ante las distintos direcciones de desplazamiento horizontal (de derecha a izquierda y de izquierda a derecha), vertical (de arriba abajo y de abajo a arriba) y rotacional (sentido horario y antihorario) de las barras de estimulación (barra blanca sobre fondo negro, barra negra sobre fondo blanco, barra gris sobre fondo negro) y en distintos estados de adaptación (luz y oscuridad), para las distintas frecuencias utilizadas (0,2/0,3/1/2/3 Hz).

4.2.3. Efecto de la direccionalidad (vertical, horizontal y rotacional) y contraste de las barras sobre la amplitud de la respuesta electrooculográfica.

Se observaron diferencias estadísticamente significativas entre los resultados obtenidos para el desplazamiento vertical ($0,281 \pm 0,015$ mV, a 0,3 Hz, de arriba a abajo), al compararlos con los de movimiento horizontal ($0,208 \pm 0,013$ mV, a 0,3 Hz, de derecha a izquierda) o rotacional ($0,132 \pm 0,007$ mV, a 0,3 Hz, sentido horario) ($p < 0,05$). También se observaron diferencias estadísticamente significativas entre los resultados obtenidos para el desplazamiento vertical y horizontal ($\ddagger p < 0,05$; prueba t de Student); para el movimiento vertical y rotacional ($* p < 0,05$; prueba t de Student) y también para el desplazamiento horizontal y el movimiento rotacional ($** p < 0,05$; prueba t de Student) (véase Figura 47).

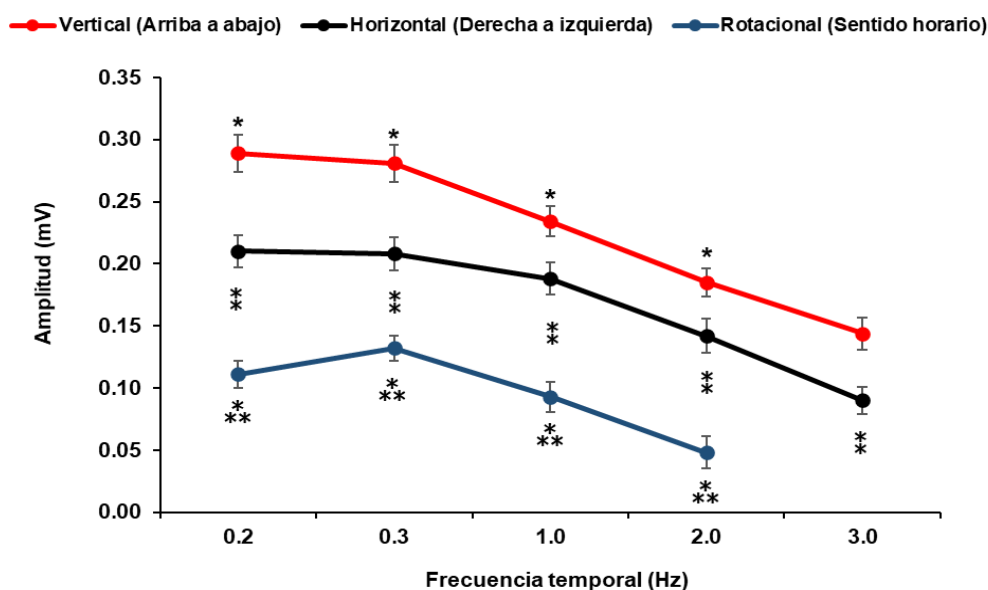


Figura 47. Efecto de la direccionalidad sobre la amplitud de la respuesta electrooculográfica. Valores de amplitud del trazado electrooculográfico (mV) promediados de ambos ojos de los 10 voluntarios sanos ($\bar{X} \pm SEM$) representados en función de la direccionalidad (vertical, horizontal y rotacional). Se muestran de forma superpuesta los resultados correspondientes a movimientos oculares horizontales (de derecha a izquierda), verticales (de arriba a abajo) o rotacionales (sentido horario).

No se observaron diferencias estadísticamente significativas independientemente de la dirección del movimiento de la barra (de izquierda a derecha vs. derecha a izquierda, de arriba a abajo vs. de abajo a arriba, en sentido horario vs. antihorario; ver tabla 4).

Tampoco se observaron diferencias estadísticamente significativas entre las barras blancas que se movieron sobre un fondo negro y las barras negras que se movieron sobre un fondo blanco para las mismas direcciones de desplazamiento / rotación (ver Figura 48).

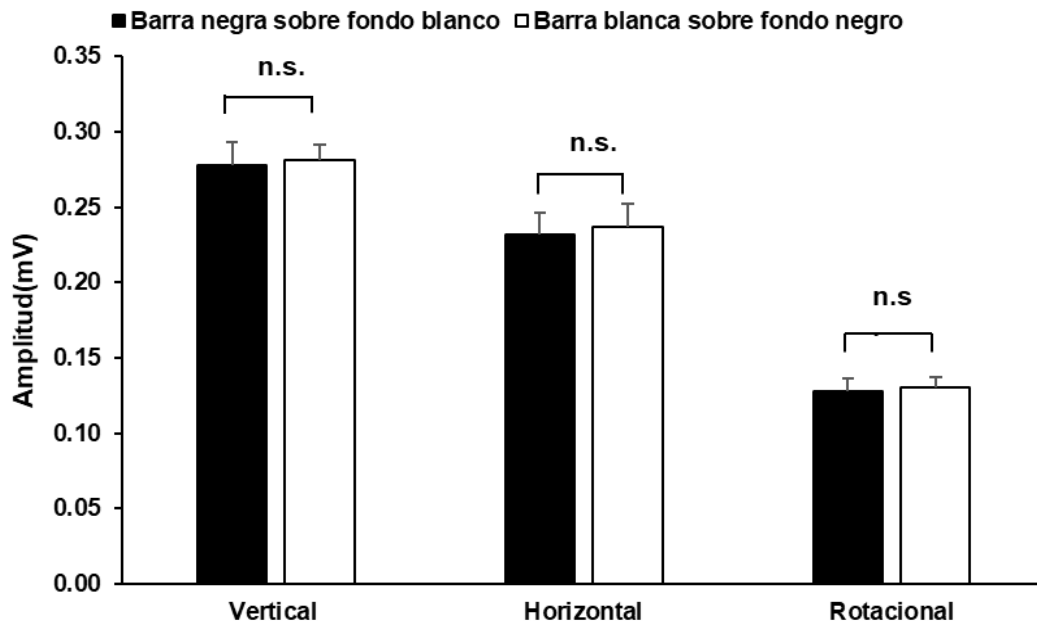


Figura 48. Efecto de los contrastes de barras sobre la amplitud de la respuesta electrooculográfica. Valores de amplitud de onda electrooculográfica (mV) promediados de ambos ojos de los 10 voluntarios sanos ($\bar{X} \pm SEM$) en respuesta a estímulos verticales (de izquierda a derecha), horizontales (arriba a abajo) y rotacionales (en sentido antihorario) de 0,3 Hz, realizados con barras blancas sobre fondo negro y barras negras sobre fondo blanco. No se observaron diferencias estadísticamente significativas (n.s. / $p > 0,05$) entre estímulos con barras blancas sobre fondo negro y barras negras sobre fondo blanco para los desplazamientos (verticales, horizontales y rotacionales).

4.2.4. Efecto de la adaptación lumínica sobre la amplitud de la respuesta electrooculográfica.

Se observaron diferencias estadísticamente significativas entre los resultados obtenidos en respuesta al desplazamiento lineal vertical ($0,263 \pm 0,021$ mV) bajo adaptación a la luz y los resultados obtenidos bajo adaptación a la oscuridad ($0,242 \pm 0,018$ mV) ($p < 0,05$; prueba t de Student). Se observaron las mismas diferencias estadísticamente significativas

RESULTADOS

entre los resultados obtenidos en respuesta a desplazamientos lineales horizontales ($0,208 \pm 0,013$ mV) bajo adaptación a la luz y los resultados obtenidos bajo adaptación a la oscuridad ($0,188 \pm 0,013$ mV) ($p < 0,05$; prueba t de Student). Los resultados obtenidos en diferentes condiciones de adaptación, en respuesta a los movimientos rotacionales, no mostraron diferencias significativas ($p > 0,05$; prueba t de Student).

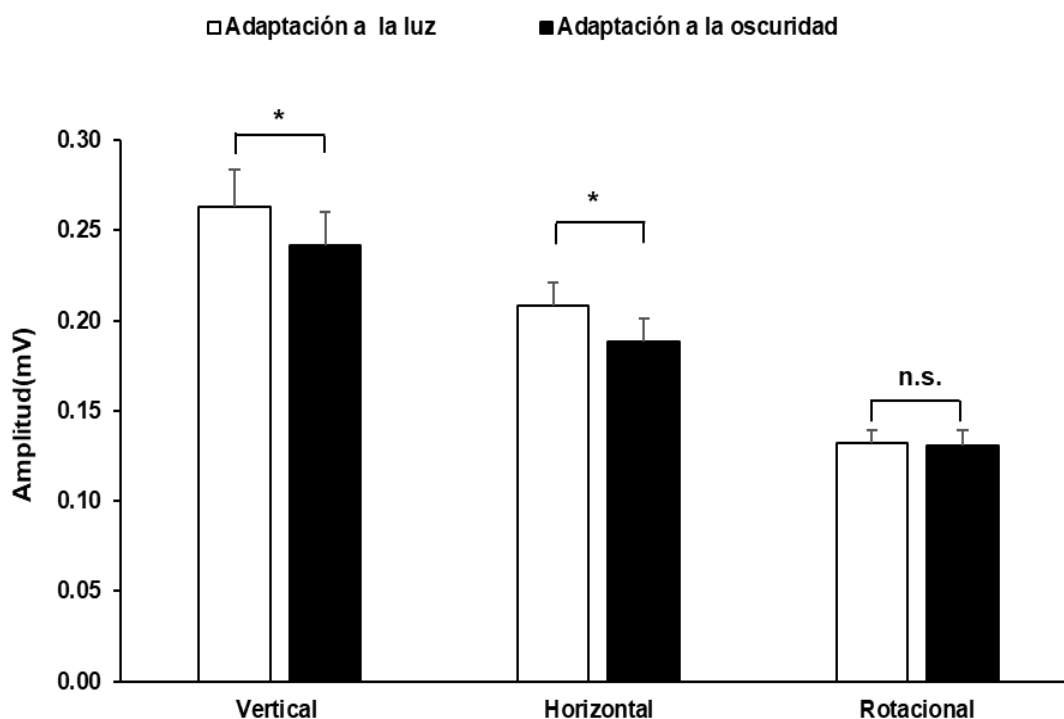


Figura 49. Efecto de la adaptación a la luz y a la oscuridad sobre la amplitud de la respuesta electrooculográfica. Valores de amplitud de onda electrooculográfica (mV) promediados de ambos ojos de los 10 voluntarios sanos ($\bar{X} \pm \text{SEM}$) en respuesta a estímulos verticales, horizontales o rotacionales de 0,3 Hz, realizados bajo adaptación a la luz y la oscuridad. Se observaron diferencias estadísticamente significativas (* $p < 0,05$) entre las condiciones adaptadas a la luz y la oscuridad para los movimientos lineales (verticales y horizontales). Se observaron diferencias no significativas (n.s.) para los movimientos rotacionales.

A partir de estos resultados, podemos resumir que las amplitudes máximas de las respuestas EOG se obtuvieron para estímulos con una frecuencia temporal de 0,3 Hz, en desplazamientos lineales (verticales u horizontales) y movimientos rotacionales. Asimismo, confirmamos que las amplitudes de las respuestas EOG obtenidas para estímulos de desplazamientos verticales fueron mayores que en los movimientos horizontales y rotacionales; las amplitudes de los desplazamientos horizontales fueron

mayores que en los movimientos rotacionales frente a las mismas frecuencias temporales. No se observaron diferencias en la dirección del movimiento de la barra, independientemente de la orientación. Y en cuanto al contraste, las barras blancas que se desplazaba sobre un fondo negro y las barras negras que se desplazaban sobre un fondo blanco tuvieron la misma eficacia en relación a las amplitudes de las respuestas EOG evocadas. También podemos confirmar que las amplitudes de las respuestas EOG obtenidas para los distintos estímulos en adaptación a la luz fueron mayores que aquellas con adaptación a la oscuridad, para los desplazamientos lineales del estímulo, pero no para los movimientos de rotación.

4.3. EVALUACIÓN DE LA PRECISIÓN DIAGNÓSTICA DE POTENCIAL EVOCADO VISUAL MULTIFOCAL (mfVEP) EN PACIENTES CON GLAUCOMA. BÚSQUEDA DEL MEJOR INDICADOR DIAGNÓSTICO (Revisión Sistemática y Metanálisis).

4.3.1. Selección de estudios.

La Figura 50 muestra el flujo completo de la selección de los estudios incluidos en el presente trabajo. Inicialmente se encontraron 468 artículos en el total de la búsqueda realizada a través de las diferentes bases de datos. Del total de artículos, 303 eran duplicados y 159 artículos fueron excluidos porque no fueron considerados pertinentes para la revisión sistemática planteada. Las razones de exclusión fueron: 1.- El artículo no incluía grupo control con sujetos sanos; 2.- Artículos escritos en un idioma distinto al inglés; 3.- Revisiones sistemáticas; 4.- Artículos e informes de casos con escaso número de participantes; 5.- El artículo aportaba insuficientes datos sobre el índice de evaluación (verdaderos positivos, falsos positivos, verdaderos negativos y falsos negativos).

Finalmente se incluyeron un total de seis estudios: (Goldberg *et al.*, 2002; Thienprasiddhi *et al.*, 2003; Balachandran *et al.*, 2006; Punjabi *et al.*, 2008; Gutiérrez-Díaz *et al.*, 2013; Kanadani *et al.*, 2014) que cumplieron con todos los criterios de inclusión.

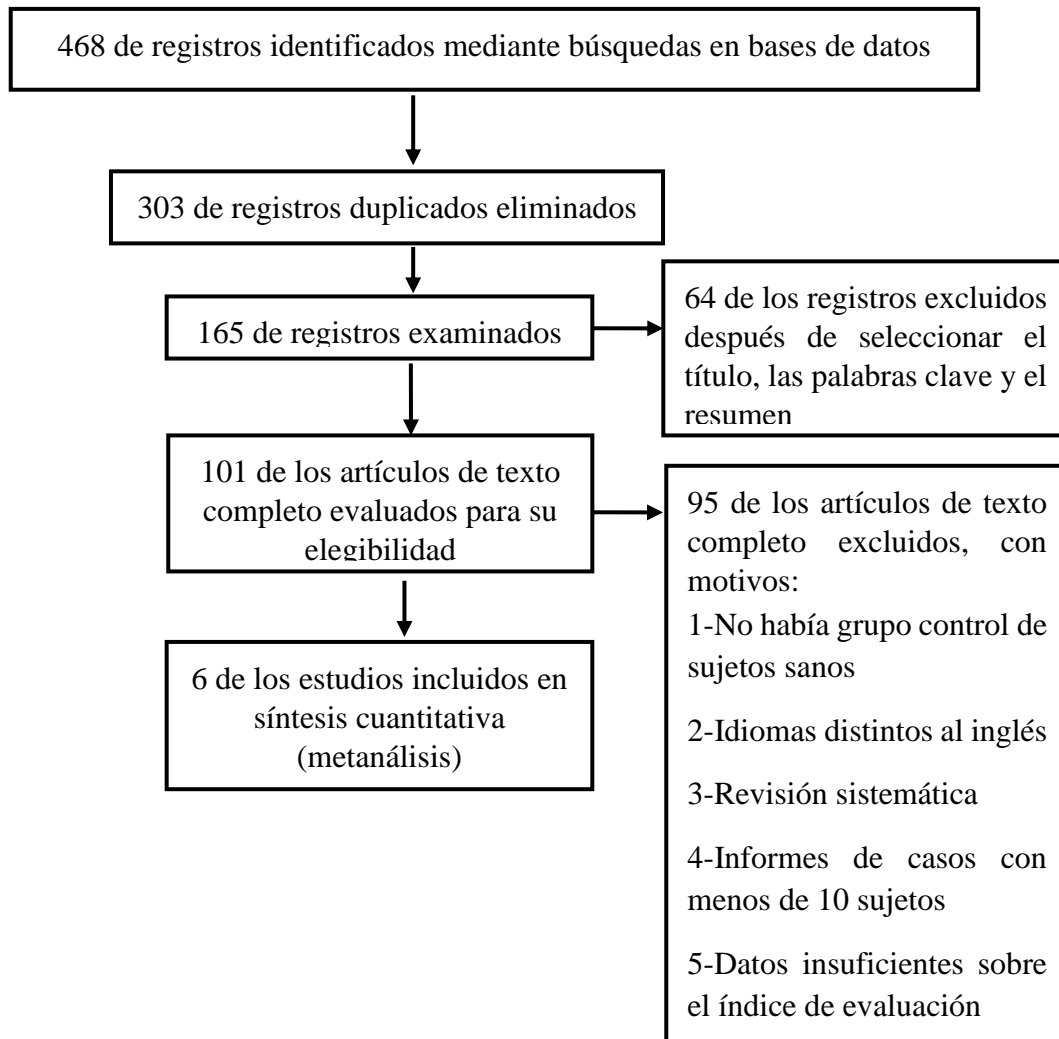


Figura 50. Diagrama de flujo de estudios incluidos a través del proceso de revisión sistemática.

4.3.2. Características de los estudios incluidos.

En los seis estudios incluidos, se pudieron contabilizar un total de 241 pacientes diagnosticados de glaucoma. De los 241 pacientes, 196 pertenecían al grupo de glaucoma de tipo mixto (diferentes tipos de glaucoma), mientras que 10 pacientes presentaban glaucoma con tensión normal (GTN), y los otros 35 pacientes presentaban glaucoma primario de ángulo abierto (GPAA). En la Tabla 5 se muestran las principales características de los seis estudios incluidos en el metanálisis.

RESULTADOS

ID de estudio	Tipo de estudio	Tipos y No. de paciente glaucoma	Gravedad glaucoma (DM del SAP) dB	Estándar de referencia	Equipo para prueba índice (mfVEP)	Indicador diagnóstico Método de ensayo	Edad (Años) media \pm SD
Balachandran, 2006	NA	Mixto 41P 41E	-7.1 ± 6.0	SAP, Fotografía estereoscópica del nervio óptico, TRH	Accumap	Amplitud-ASI	65 ± 11
Goldberg, 2002	Trans	Mixto 100P 100E	-6.5 ± 4.2	SAP, Fotografía disco estéreo	Accumap	Amplitud-ASI	62.2 ± 9.8
Gutierrez Diaz, 2012	Trans	GTN 10P 10E	-5.95 ± 11.7	SAP, OCT, Oftalmoscopia	VERIS	Amplitud-Clúster	66.8 ± 6.1
Kanadani, 2014	Trans	Mixto 39P 39E	Todo nivel	SAP, BMC FO	VERIS	Amplitud-clúster	$66.3 \pm NA$
Punjabi, 2008	Trans	GPAA 35P 67E	-6.2 ± 0.8	SAP, Oftalmoscopia indirecta, TRH	Accumap	Amplitud-ASI	68 ± 10
Thienprasiddhi 2003	NA	Mixto 16P 16E	-6.8 ± 4.2	SAP, Fotografía estereoscópica del nervio óptico	VERIS	Amplitud-Clúster	56 ± 7

Tabla 5. Principales características de los estudios incluidos en el metanálisis.

NA = no disponible. Trans = Estudio transversal. P = Personas. E = ojos. GPAA = glaucoma primario de ángulo abierto. GTN = glaucoma de tensión normal. Mixto = diferentes tipos de glaucoma mixtos. SAP = Perimetría automatizada estándar. DM = desviación media. OCT = Tomografía de coherencia óptica. TRH = Tomografía Retiniana Heidelberg. BMC = Biomicroscopia. FO= fondo de ojo. ASI = Índice de severidad de Accumap. Los números de identificación del estudio (ID) corresponden a los números de estudio en los gráficos de las figuras 51, 52.

4.3.3. Calidad metodológica de los estudios incluidos.

Inicialmente se evaluó la calidad metodológica de los seis estudios revisados con la herramienta QUADAS-2. Cuatro de los seis ensayos eran estudios transversales; tres ensayos inscribieron pacientes consecutivamente, otras inscripciones no se especificaron. Las pruebas estándar de referencia incluyeron la perimetría automatizada estándar (SAP) para detectar la pérdida de campo visual, la tomografía de coherencia óptica (OCT), la fotografía de disco estéreo, la tomografía retiniana Heidelberg (TRH), la biomicroscopia de fondo de ojo, o la oftalmoscopia para estudiar los hallazgos del nervio óptico glaucomatoso. Solo uno de los artículos mencionó el intervalo de tiempo entre la prueba índice (mfVEP) y el estándar de referencia. Los otros no mencionaron el tiempo del intervalo, lo que indicó un alto riesgo de sesgo en el dominio de flujo y tiempo. El resultado de la evaluación de la calidad metodológica de los estudios incluidos se muestra en la Figura 51.

RESULTADOS

	<u>Riesgo de sesgo</u>				<u>Preocupaciones de aplicabilidad</u>		
	Selección de pacientes	Prueba índice	Estándar de referencia	Flujo y tiempo	Selección de pacientes	Prueba índice	Estándar de referencia
Balachandran, 2006	?	+	+	?	+	+	+
Goldberg, 2002	+	+	+	?	+	+	+
Gutierrez-Díaz, 2012	+	+	+	?	+	+	+
Kanadani, 2014	?	+	+	?	+	+	?
Punjabi, 2008	?	+	+	+	+	+	+
Thienprasiddhi, 2003	+	+	+	+	+	+	+

Alto	No claro	Bajo
-------------	-----------------	-------------

Figura 51. Calidad de los estudios incluidos según la herramienta de evaluación de la calidad de los estudios de precisión diagnóstica (QUADAS). Los resultados revelaron que los seis estudios incluidos en esta revisión cumplieron nueve o más de los 14 criterios de la herramienta QUADAS, lo que indica la calidad metodológica relativamente buena de los estudios incluidos.

4.3.4. Síntesis de datos diagnósticos.

Las estimaciones resumidas de la amplitud de mfVEP para el diagnóstico de defectos del campo visual en los 6 estudios correspondieron a una sensibilidad de 0,93 (95% IC: 0,90 - 0,96) y una especificidad de 0,89 (95% IC: 0,84 - 0,93). La razón de verosimilitud positiva (PLR) fue de 6,56 (95% IC: 2,67 – 16,10), la razón de verosimilitud negativa (NLR) fue de 0,08 (95% IC: 0,05 – 0,12) y la odds ratio de diagnóstico (DOR) fue de 90,00 (95% IC: 31,51 – 257,11) (Tabla 6). La Figura 52 muestra los diagramas de bosque de la sensibilidad y especificidad.

Parámetros	Estimaciones
Sensibilidad	0,93 (95% IC: 0,90 a 0,96)
Especificidad	0,89 (95% IC: 0,84 a 0,93)
Positiva LR	6,56 (95% IC: 2,67 a 16,10)
Negativa LR	0,08 (95% IC: 0,05 a 0,12)
DOR	90,00 (95% IC: 31,51 a 257,11)

Tabla 6. Resumen estadístico de los parámetros de precisión diagnóstica en el metanálisis. Resumen estadístico de los parámetros de precisión diagnóstica para la amplitud de mfVEP en el diagnóstico de defectos del campo visual en pacientes con glaucoma, que incluyeron la sensibilidad combinada, la especificidad combinada, la razón de verosimilitud positiva (PLR), la razón de verosimilitud negativa (NLR), la ratio odds de diagnóstico (DOR) y sus 95% intervalo de confianza (IC) respectivamente.

RESULTADOS

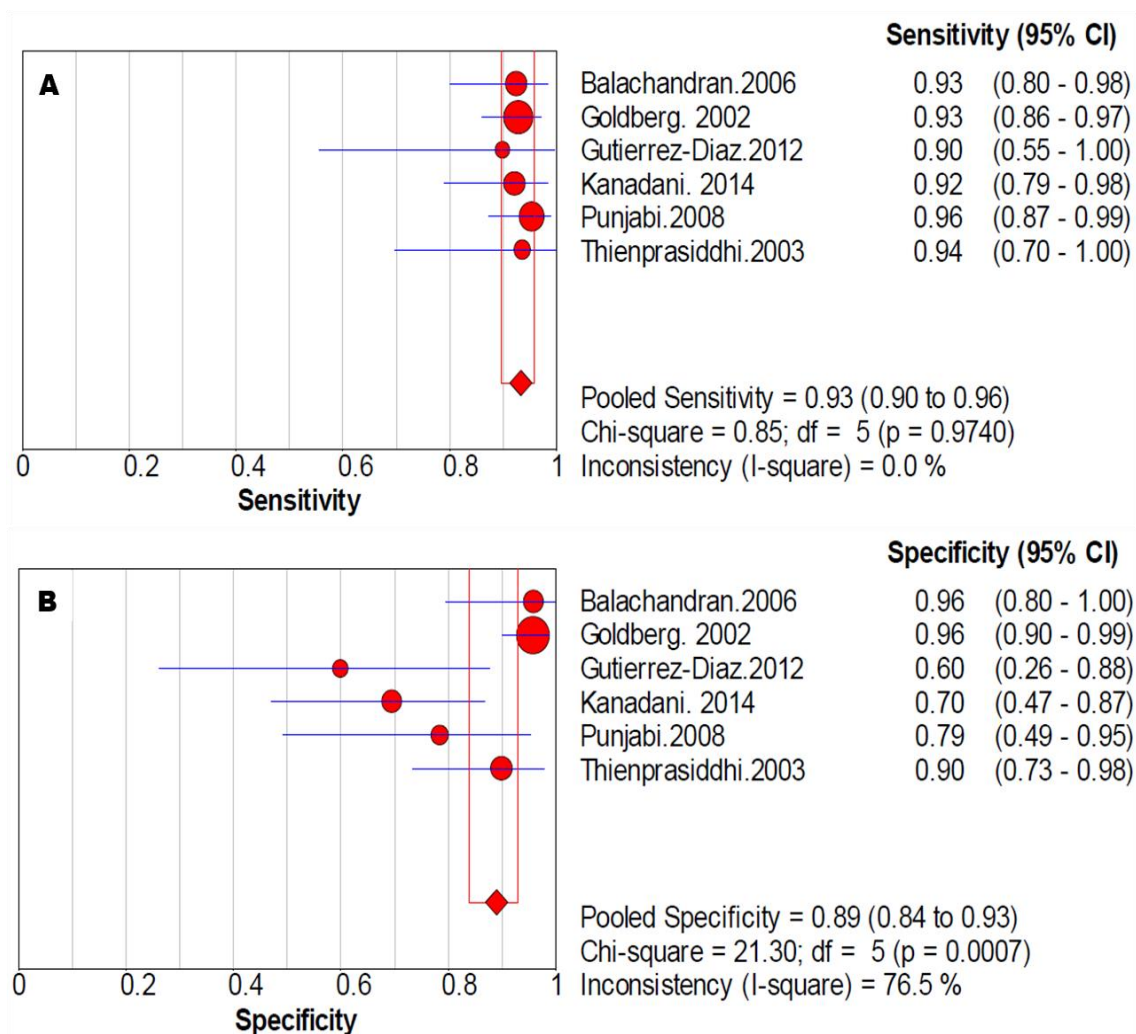


Figura 52. Diagramas de bosque de sensibilidad y especificidad en el metanálisis. Los diagramas de bosque de la sensibilidad y la especificidad correspondieron a la amplitud de mfVEP para diagnosticar defectos del campo visual en el glaucoma. La sensibilidad (A) fue 0,93 (95% IC: 0,90 - 0,96) y la especificidad (B) fue 0,89 (95% IC: 0,84 - 0,93).

4.3.5. Heterogeneidad y efecto umbral.

En nuestro metanálisis, no se observaron signos de heterogeneidad para los resultados de sensibilidad ($I^2 = 0\%$), pero se observó una heterogeneidad sustancial para la especificidad ($I^2 = 73,4\%$).

Para averiguar la fuente de heterogeneidad, realizamos un análisis de subgrupos según el equipo de registro de mfVEP (Veris y Accumap), los métodos de ensayo (ASI y Clúster) y la gravedad del glaucoma dependiendo de la desviación media (DM) de SAP. Sin

embargo, la heterogeneidad para la especificidad siguió siendo alta, con un índice de inconsistencia (I^2) mayor de 50%, mientras que la heterogeneidad para la sensibilidad en todos los subgrupos era $I^2 = 0\%$.

En el metanálisis, solo se incluyeron los 241 pacientes con glaucoma y 6 artículos, si bien somos conscientes que cuando un metanálisis incluye menos de 500 pacientes y menos de 15 ensayos, puede haber fluctuaciones en las estimaciones de I^2 (Thorlund *et al.*, 2012).

En el análisis de sensibilidad, tras excluir los artículos uno a uno, se observó que el índice de inconsistencia para la heterogeneidad de la sensibilidad era del 0%. Sin embargo, el índice de inconsistencia para la especificidad era superior al 50%. La sensibilidad, la especificidad, el área bajo la curva (AUC) y un intervalo de confianza (IC) del 95% fueron similares y se superpusieron entre sí. La heterogeneidad siguió siendo la misma. El análisis de sensibilidad mostró que las estimaciones combinadas eran estables y fiables.

Se realizó una correlación de rango de Spearman, que aportó un valor de -0,464 ($p = 0,354$), además en la curva de resumen de característica operativa del receptor (sROC) no se apreció un patrón "hombro-brazo", lo que significa que no hubo un efecto umbral entre los estudios incluidos.

Calculamos el área bajo la curva (AUC) de resumen de característica operativa del receptor (sROC) para evaluar el rendimiento general de la amplitud de mfVEP para el diagnóstico de defectos del campo visual en glaucoma (Figura 53), el valor fue de 0,97. Debido a la heterogeneidad que existía en la especificidad, hicimos el resumen estadístico mediante el modelo de efectos aleatorios.

También se construyó un gráfico de embudo para evaluar el sesgo de publicación en el metanálisis. Los puntos de los datos tenían una forma simétrica de embudo, lo que significa la ausencia de sesgo de publicación. Pero debemos señalar que, en nuestro estudio solo hemos incluido seis artículos, lo cual es un grupo de estudio relativamente pequeño para hacer un análisis de sesgo de publicación, ya que es recomendable que haya un mínimo de 10 estudios (Macaskill *et al.*, 2001; Lau *et al.*, 2006).

RESULTADOS

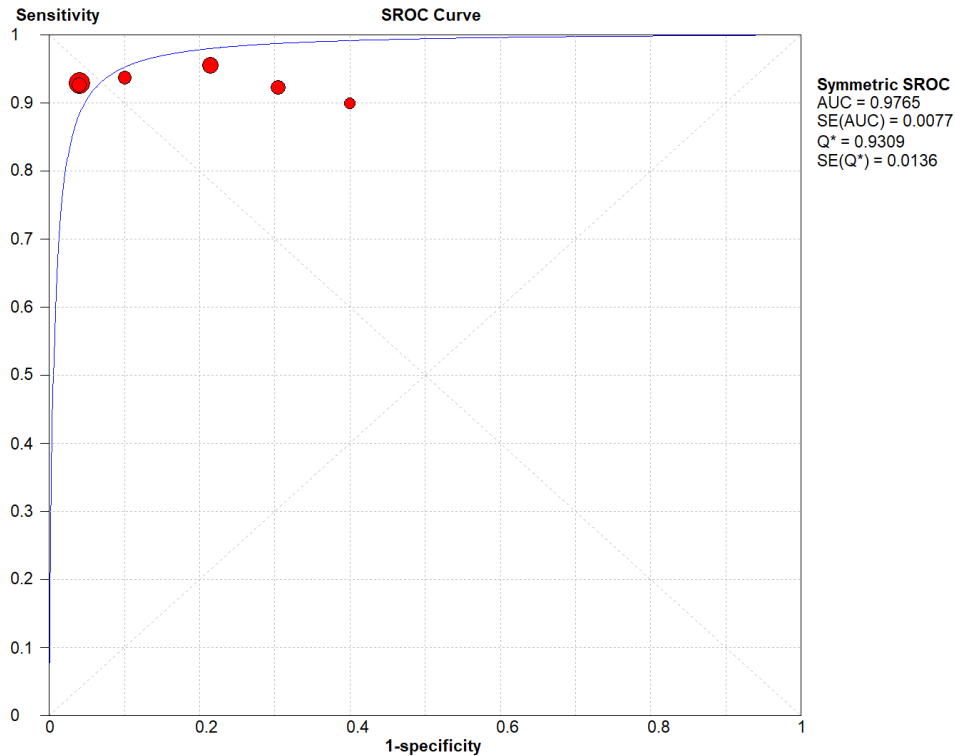


Figura 53. La curva de resumen de característica operativa del receptor (sROC) para los seis estudios incluidos. Se observó el área bajo la curva de resumen ROC fue de aproximadamente 1,0. La síntesis la curva de resumen ROC (sROC) se basó en la sensibilidad combinada, la especificidad combinada y las varianzas respectivas. El área bajo la curva (AUC) de sROC se utilizó para evaluar el rendimiento general de la prueba.

A partir de los resultados obtenidos podemos afirmar que la calidad de los seis estudios incluidos fue relativamente buena. Los datos diagnósticos incluyeron la sensibilidad, la especificidad, la razón verosimilitud y el área bajo la curva sROC demostrando que la amplitud de mfVEP tenía una buena precisión diagnóstica en la predicción de defectos del campo visual en pacientes con glaucoma y en el análisis de la amplitud de mfVEP interocular. Por todo ello, puede ser un buen indicador diagnóstico para el estudio de campo visual. El análisis de sensibilidad demostró que las estimaciones combinadas eran estables y fiables.

5.DISCUSIÓN

Nuestro objetivo en esta tesis doctoral, ha sido mejorar la aplicabilidad de las técnicas electrofisiológicas visuales a la práctica clínica. Hemos optimizado los parámetros de estímulos para registros de Electrorretinografía de patrón y Electrooculografía. Asimismo, hemos evaluado la precisión diagnóstica de Potencial Evocado Visual multifocal en la predicción de defectos del campo visual en pacientes con glaucoma.

En el estudio de pERG, hemos aplicado estímulos con diferentes parámetros (color, contraste, forma y frecuencia espacial), encontrando que los estímulos consistentes en dameros o barras, con contraste blanco-negro del 99% a una frecuencia espacial entre 0.08-0.35 cpd constituyen los mejores parámetros que se pueden utilizar para el estudio de pERG.

En el estudio de EOG, hemos aplicado de igual forma, estímulos con diferentes parámetros (frecuencia temporal, contraste, direccionalidad y estado de adaptación a la luz) para registrar los movimientos oculares. En este análisis encontramos que los estímulos con desplazamiento vertical a una frecuencia temporal de 0.3Hz en la adaptación a la luz son los mejores parámetros para la evaluación funcional de los movimientos oculares.

Finalmente, en el estudio de mfVEP, hemos incluidos 6 artículos en la síntesis cuantitativa para el metanálisis. Hemos observado que la amplitud de mfVEP tiene una buena precisión diagnóstica en la predicción de defectos del campo visual en pacientes con glaucoma, mientras que el análisis de la amplitud de mfVEP interocular puede ser un buen indicador diagnóstico en el estudio del campo visual.

5.1 ELECTORRETINOGRAFÍA DE PATRÓN.

En el presente estudio hemos intentado optimizar los parámetros de estimulación que se deben aplicar en el registro de electrorretinograma de patrón (pERG) en personas sanas. Dichos parámetros son el color (blanco-negro, rojo-verde, azul-amarillo), el contraste (99%, 60%), la forma (damero, barra vertical y barra horizontal) y la frecuencia espacial (0,08/0,12/0,17/0,35 ciclo por grado [cpd]) de los estímulos. Los experimentos fueron

realizados con un ángulo de visión de 30 grados y una frecuencia temporal de reversión de los dameros o barras de 2 veces por segundo, lo que equivalía a 1 Hz.

Se analizó la amplitud de las ondas P50 y N95 tras someter al individuo a diferentes estímulos. Las ondas P50 y N95 son expresión de la respuesta pERG; la onda P50 es generada principalmente por células ganglionares, aunque también depende de otras células de la mácula, mientras que la onda N95 sólo es generada por las células ganglionares (Holder, 2001; Bach *et al.*, 2013). Ciertos estudios han mostrado que la amplitud de la onda N95 era el mejor indicador de la funcionalidad de las células ganglionares y por lo tanto, útil en el estudio de patologías relacionadas como el glaucoma o la hipertensión ocular (Drasdo *et al.*, 2001; Parisi *et al.*, 2001; North *et al.*, 2010). En cambio, otros estudios han encontrado reducciones más significativas en la amplitud de la onda P50 en el glaucoma que en la onda N95, pero sin observar cambios en las latencias (Viswanathan *et al.*, 2000). Todas estas referencias en conjunto han hecho que centremos nuestro análisis en las amplitudes de las ondas P50 y N95.

No se observaron variaciones estadísticamente significativas en la amplitud de las ondas obtenidas ante las frecuencias espaciales que se hallaban entre 0,08 y 0,35 cpd cuando eran sometidas a estímulos que variaban en el contraste, color y forma, tanto en la onda P50 como la N95. Este resultado coincide con estudios previos (Bach & Holder, 1996). En el uso clínico del pERG, la Sociedad Internacional de Electrofisiología Clínica de la Visión (ISCEV) recomienda la estimulación con un damero que tenga un tamaño de alrededor de 0,5 cpd (Bach *et al.*, 2013). Previamente, se había visto que cuando con un ángulo de visión de 15 grados se aumentaba el tamaño del damero de 1 a 7 grados, la amplitud de las ondas P50 y N95 disminuía aproximadamente un 10% (Trick & Wintermeyer, 1982; Arden & Vaegan, 1983; Bach & Holder, 1996). Estudios anteriores habían mostrado que con un ángulo de visión de 30 grados y una frecuencia espacial inferior a 0,5 cpd la amplitud de las ondas P50 y N95 eran relativamente estables, con una variación mínima (Bach & Holder, 1996). Por tanto, un ángulo de visión de 30 grados permite la evaluación de la función macular central y paracentral y responde con una mejor ratio señal / ruido, por lo que es útil para pacientes con respuestas de alto ruido (Bach *et al.*, 2013).

En resumen, proponemos que con un pERG transitorio y un ángulo de visión de 30 grados, la aplicación de estímulos de cualquier frecuencia espacial entre 0,08 a 0,35 cpd pueden generar respuestas de amplitud similar, incluso aunque se varíen otras cualidades del estímulo empleado (damero, barras, colores y contrastes).

Para estudiar el efecto de los diferentes parámetros de estimulación se compararon los resultados obtenidos ante estímulos de damero en blanco y negro con contraste del 99%, barras verticales en blanco y negro con contraste del 99% con los obtenidos con barras horizontales en blanco y negro con contraste del 99% en la amplitud de las ondas P50 y N95, no observándose diferencias estadísticamente significativas. Lo que indica que el uso de damero, barra vertical u horizontal en la realización del pERG no modifica el resultado. Se observó también que el estímulo con damero en blanco y negro y 99% de contraste tenía amplitudes significativamente mayores en las ondas P50 y N95 que el damero en blanco y negro con 60% de contraste. Esta diferencia estaría justificada por el hecho de que la amplitud de las ondas P50 y N95 en el pERG varía con el contraste del estímulo, de forma que mientras aumenta el contraste, aumenta la amplitud de P50 y N95 (Arden & Vaegan, 1983). En este sentido, algunas células ganglionares de la retina (enanas y parasoles) se organizan en un campo receptor concéntrico con un antagonismo entre el centro y la periferia, y en el que una de sus funciones es distinguir el contraste del estímulo visual, de forma que cuanto mayor sea el contraste, más fuerte será la respuesta (Kuffler, 1953).

Nuestros resultados mostraron valores más altos en las amplitudes de ondas P50 y N95 del pERG generado por el damero en blanco y negro que aquellas evocadas por el damero en rojo y verde o el damero en azul y amarillo. Sin embargo, no hay diferencia estadística entre estos dos últimos. En resumen, los resultados indican que el color blanco-negro es más eficaz que el azul-amarillo y el rojo-verde, y que el color amarillo-azul es de igual eficacia que el rojo-verde. Nuestros resultados coinciden con estudios previos (Korth & Rix, 1989; Sartucci *et al.*, 2006). Esto podría explicarse por el hecho de que los dameros en rojo-verde, azul-amarillo corresponden a oponencia de color. El color rojo-verde activa las células ganglionares enanas de la vía parvocelular, y el color azul-amarillo estimula las células ganglionares bistratificadas y la vía cromática koniocelular (Derrington *et al.*, 1984; Lennie & D'Zmura, 1988). El estímulo de damero en blanco-negro con 99% de contraste puede estimular las 3 vías: parvocelular, magnocelular y

koniocelular (Livingstone & Hubel, 1988; Bear *et al.*, 2020), por lo que la amplitud de las ondas P50 y N95 en el pERG son mayores que las generadas por la oposición de los colores.

Sin embargo, también se observó que el estímulo blanco-negro de alto contraste es menos sensible para la detección del glaucoma temprano que el estímulo azul-amarillo, debido a la pequeña cantidad de células ganglionares bistratificadas existentes en la vía koniocelular (aproximadamente el 10% de todas las células ganglionares) y con menos redundancias celulares, pero que son más sensibles al daño temprano (Klistorner *et al.*, 2007; Arvind *et al.*, 2011).

También es interesante señalar que nuestros resultados muestran que las ondas generadas (P50 y N95) con estímulos de color rojo-verde tienen sus latencias alargadas en comparación a las generadas por estímulos de color blanco-negro o azul-amarillo. Esto podría ser debido de que el color rojo-verde estimula las células ganglionares enanas y la vía parvocelular, teniendo este tipo de células ganglionares un carácter de campo receptor pequeño con velocidad lenta (Field & Chichilnisky, 2007).

Los estímulos configurados a modo de damero o barra, con color blanco-negro, 99% de contraste y una frecuencia espacial de 0,08-0,35 cpd constituye el mejor patrón de estímulo lumínico en pERG para la exploración de células ganglionares de la retina y células en la mácula. Este patrón es capaz de generar respuestas eléctricas de máxima amplitud que son registradas por el pERG. La amplitud de las ondas P50 y N95 del pERG pueden funcionar como biomarcadores (indicador directo) en la evaluación de la funcionalidad de las células ganglionares. Mediante la aplicación de diferentes estímulos, hemos podido evaluar la respuesta de diferentes tipos de las células ganglionares y sus vías correspondientes por separado.

La realización del pERG presenta una serie de dificultades como son la amplitud relativamente pequeña de sus respuestas (menos de 10 microvoltios), al menos en comparación con las de otras técnicas electrofisiológicas visuales. Otra dificultad deriva del hecho de que se afecte fácilmente por los ruidos ambientales y artefactos, como es el generado por los movimientos oculares, el parpadeo o los medios oculares no transparentes, (van den Berg *et al.*, 1986; Ver Hoeve *et al.*, 1999). Por todas estas razones,

cuando se realiza la exploración mediante pERG, es recomendable utilizar los estímulos optimizados, que permitirán obtener la respuesta de mayor amplitud que facilite el estudio funcional de las células ganglionares. Cuando el pERG se utiliza como indicador directo de la funcionalidad de las células ganglionares, así como de otras células de la mácula como los fotorreceptores o las células bipolares, proponemos utilizar estímulos del tipo dameros o barras, con color blanco-negro, contraste del 99% a una frecuencia espacial entre 0,08-0,35 cpd. Por ejemplo, para detectar y monitorizar el daño sufrido por las células ganglionares debido a glaucoma, neuropatía óptica o enfermedades primarias de las células ganglionares. La combinación del potencial evocado visual de patrón (pVEP) y el pERG puede distinguir entre el daño macular y el daño de nervio óptico (Bach *et al.*, 2013). Diversos estudios también han mostrado que el pERG es útil en el diagnóstico de la enfermedad atrófica multisistémica (MSA) y la enfermedad de Parkinson idiopática (Stanzione *et al.*, 1989; Delalande *et al.*, 1998; Sartucci *et al.*, 2006). En este sentido, el pERG puede considerarse como una técnica ideal para el diagnóstico de algunas de estas patologías, así como una prueba neurológica y oftalmológica. El pERG es una herramienta diagnóstica complementaria, no invasiva, fiable, objetiva y económica, que además no requiere la cooperación estricta del paciente, tan solo se requiere un técnico bien capacitado.

Quizá, como limitación podríamos mencionar que es necesario el entrenamiento previo de los participantes para evitar el parpadeo, por lo que la duración de todo el protocolo se hace demasiado larga y los participantes pueden mostrar signos de fatiga.

5.2 ELECTROOCULOGRAFÍA.

Nuestros experimentos tenían como objetivo optimizar los parámetros de estímulo para registrar los movimientos oculares mediante electrooculograma (EOG), en respuesta a las variaciones de frecuencia, contraste, direccionalidad y estado de adaptación a la luz.

En una primera serie experimental evaluamos el efecto de la frecuencia temporal sobre la amplitud de la respuesta electrooculográfica en los movimientos ocular horizontal, vertical y rotacional. En este sentido, nuestro estudio incluye estímulos lumínicos de diferentes frecuencias temporales en un intento de explorar los movimientos oculares

sacádicos y de persecución. Se observaron amplitudes máximas de la respuesta EOG para frecuencias de 1 Hz o menos, correspondientes a los movimientos oculares de persecución (Gila et al., 2009). Las frecuencias de estímulo superiores a 1 Hz indujeron una disminución en la amplitud de respuesta con movimientos oculares erráticos, ya que el ojo no es capaz de seguir el estímulo de la barra. Proponemos estímulos de barra con una frecuencia de 0,3 Hz, ya que generan la mayor amplitud de respuesta EOG en los movimientos horizontal, vertical y rotacional.

En una segunda serie experimental evaluamos el efecto de la direccionalidad y del ángulo visual sobre la amplitud de la respuesta electrooculográfica. En nuestro estudio también se incluyen otros protocolos de contraste y nivel de adaptación lumínica. Las diferencias encontradas entre los estímulos de desplazamiento vertical y horizontal, aunque estadísticamente significativas, no invalidan el uso de los estímulos habitualmente utilizados para el examen de los movimientos oculares (Osborne *et al.*, 2019), aunque nuestros resultados señalan que el desplazamiento vertical podría ser el más eficaz.

El movimiento de los ojos en respuesta a la barra giratoria es una combinación de desplazamientos verticales y horizontales. Esto se debe a que por lo general, el participante debe fijarse en un extremo de la barra como punto de fijación a seguir; por ello, configuramos un ángulo de visión de 10 grados que nos permita analizar el movimiento rotacional en la respuesta del EOG. Resulta llamativo que los movimientos rotacionales produzcan respuestas EOG de una amplitud significativamente menor que los movimientos lineales. Esto podría deberse a que, aunque los seis músculos extraoculares participan en los movimientos de rotación, el grado de desplazamiento angular de la mirada para seguir movimientos circulares es de solo 10° en nuestros experimentos, mientras que el desplazamiento lineal de las barras de estimulación lineal tiene una amplitud de 30°. Esta diferencia estaría justificada por el hecho de que la amplitud del electrooculograma varía con el grado de desplazamiento del ojo (López *et al.*, 2020). También se registró la respuesta de EOG a los estímulos rotatorios para puntos de fijación situados a más de 10 grados del centro de rotación. Igualmente, la respuesta rotacional se cancelaba para estímulos superiores a 2 Hz.

En una tercera serie experimental se evaluó el efecto de la adaptación lumínica y del contraste de barras sobre la amplitud de la respuesta electrooculográfica. Nuestros

resultados del EOG mostraron una mayor amplitud de las ondas cuando los registros se hicieron en condiciones de adaptación a la luz que en oscuridad. Esto podría ser debido al aumento del calcio libre intracelular del EPR y la salida del cloruro, que llevan a la despolarización en la membrana basolateral del EPR, registrando así un aumento del potencial transepitelial (Constable et al., 2017). En cambio, en adaptación a la oscuridad, la homeostasis de los iones produce una disminución del potencial transepitelial (Constable, 2014; Constable *et al.*, 2017), siendo este potencial transepitelial el responsable de la respuesta electrooculográfica.

Resulta interesante señalar que no encontramos diferencias estadísticamente significativas en la amplitud de respuesta del EOG en los movimientos rotacionales entre la adaptación a luz y a la oscuridad. Esto tal vez puede ser debido a que el ángulo de visión en el movimiento rotacional es de sólo 10 grados, y las amplitudes de respuesta EOG son relativamente pequeñas. No hemos encontrado diferencias significativas entre los estímulos de contraste (barra blanca sobre fondo negro *versus* barra negra sobre fondo blanco), lo cual coincide con estudios previos (Takada *et al.*, 2017).

Nuestros resultados muestran que el patrón capaz de generar respuestas eléctricas de máxima amplitud en el registro del EOG es aquel en el que los estímulos lumínicos son barras horizontales blancas que se desplazan sobre un fondo negro (o barras negras sobre fondo blanco) y que se mueven verticalmente (hacia arriba o hacia abajo) a una frecuencia temporal de 0,2 - 0,3 Hz. Dicho estímulo lumínico constituye pues, el mejor patrón en la exploración de los movimientos oculares.

Cuando se evalúa la integridad de las vías oculomotoras mediante el EOG, y en función de los resultados anteriores, proponemos como estimulación óptima el desplazamiento vertical de barras horizontal a una frecuencia de 0,3 Hz. Como ejemplos tenemos la variación de movimientos sacádicos en la enfermedad de Duane (Metz *et al.*, 1975), la alteración de los movimientos oculares lentos de persecución como biomarcadores de pacientes diagnosticados con esquizofrenia (Franco *et al.*, 2014) y los cambios en los micromovimientos de pacientes diagnosticados con trastornos de Parkinson (Otero-Millan *et al.*, 2013) o de la enfermedad de Alzheimer (Kapoula *et al.*, 2014). En todos ellos se podría conseguir un diagnóstico precoz y/o seguimiento mediante el uso del EOG, con las ventajas que eso conllevaría. En este sentido, el EOG puede ser considerado un

instrumento no invasivo ideal para el diagnóstico de algunas de estas patologías, así como una prueba neuropsicológica que nos permita explorar el estudio de la atención o fatiga (Kanayama *et al.*, 1994; Sommer & Wurtz, 2004).

Al considerar el EOG como un procedimiento clínico para diagnosticar la disfunción en el EPR, el estándar ISCEV ha estipulado la estimulación mediante un ángulo visual de 30 grados y un movimiento ocular horizontal sacádico a 1 Hz para obtener la amplitud mínima en la adaptación a la oscuridad (un valle oscuro) y la amplitud máxima en la adaptación a la luz (un pico de luz), y con estos valores calcular la ratio pico de luz a valle de oscuridad, válida para evaluar la función EPR (Constable *et al.*, 2017). Sugerimos que la optimización de los parámetros de estimulación electrooculográfica con una barra de desplazamiento vertical a 0,3 Hz, aunque no podemos confirmar su eficacia en la evaluación de la función del EPR. Se necesitarían nuevos experimentos para determinar el beneficio obtenido al utilizar estos parámetros de estimulación electrooculográfica optimizados, tales como el movimiento ocular de persecución vertical de 0,3 Hz en la evaluación adecuada de la disfunción del EPR.

La electrooculografía es una técnica actualmente utilizada en la evaluación del EPR y, desde un punto de vista clínico, para el diagnóstico de algunas distrofias retinianas como la enfermedad de Best (Constable *et al.*, 2017) o la distrofia viteliforme macular donde hay un cambio genético en bestrofina, que determina cambios relevantes en la amplitud de los registros de EOG (Scholl & Zrenner, 2000).

No podemos evitar algunas limitaciones de nuestro estudio. (i) La variabilidad en las amplitudes de registros EOG entre diferentes sujetos es a veces superior a lo deseado. (ii) En la mayoría de las ocasiones las mediciones realizadas han sido oculares y no se puede descartar la subjetividad del observador. (iii) Los participantes no habían sido entrenados antes de recopilar los datos, por lo que los experimentos debían repetirse varias veces para evitar el parpadeo. (iv) La duración de todo el protocolo es a veces demasiado larga, por lo que los participantes argumentan algunos signos de fatiga. En cualquier caso, de nuestros experimentos, concluimos que se puede utilizar el EOG como medida de la integridad de las vías oculomotoras y de las enfermedades relacionadas. Así mismo, proponemos la optimización de la evaluación funcional de los movimientos oculares mediante respuestas EOG en la que se debe incluir desplazamientos verticales a 0,3 Hz

de frecuencia temporal. El EOG es una herramienta complementaria, fiable y objetiva. Además, no es invasiva, no requiere la cooperación estricta del paciente y es económica.

5.3. POTENCIAL EVOCADO VISUAL MULTIFOCAL.

En esta revisión sistemática, se ha evaluado la eficacia diagnóstica que el mfVEP tiene a la hora de evaluar los defectos de campo visual en pacientes con glaucoma, utilizando como indicadores diagnósticos la amplitud y la latencia de sus respuestas.

Respecto a la amplitud, los resultados muestran una sensibilidad combinada de 0,93 (95% IC: 0,90 - 0,96) y una especificidad combinada de 0,89 (95% IC: 0,84 - 0,93). La razón de verosimilitud positiva (PLR) fue de 6,56 (95% IC: 2,67 - 16,10), la razón de verosimilitud negativa (NLR) de 0,08 (95% IC: 0,05 - 0,12) y la ratio odds de diagnóstico (DOR) de 90,00 (95% IC: 31,51 - 257,11). El área bajo la curva (AUC) de la característica operativa del receptor resumen (sROC) fue de 0,97, lo que indicaba un buen rendimiento de la amplitud registrada por el mfVEP en la predicción de defectos del campo visual en el glaucoma. Los resultados del análisis de sensibilidad demostraron que las estimaciones combinadas son estables y fiables.

En nuestro metanálisis, la heterogeneidad de la especificidad combinada es algo alta ($I^2 = 73,4\%$) y no se observó heterogeneidad en la sensibilidad combinada ($I^2 = 0\%$). Sin embargo, es importante señalar que en nuestro estudio se incluye un número no excesivamente elevado de pacientes totales, lo que ha podido ser causa de fluctuaciones en la estimación de I^2 (Thorlund *et al.*, 2012). La existencia de heterogeneidad en la especificidad combinada indica que el bajo número de personas en el grupo control puede ser la causa de variación en la especificidad entre los diferentes estudios. En nuestro estudio, tanto la especificidad combinada (0,89) como la heterogeneidad son altas, en contraste con las observadas en algunos estudios en las que se había encontrado una especificidad muy baja (Bengtsson, 2002; Hood *et al.*, 2004a). Bengtsson también encontró una gran variedad de especificidad entre diferentes estudios. De hecho, ha sugerido como posibles causas de la gran variabilidad observada en la especificidad entre los diferentes estudios el bajo número de personas evaluadas, la falta de formación del operador o los límites normales erróneos o demasiado estrechos en las amplitudes

registradas por el mfVEP (Bengtsson, 2002). Por todo ello, estimamos necesario realizar nuevas investigaciones con un mayor número de participantes en el grupo control.

El análisis de los subgrupos evaluados con distintos equipos (Veris y Accumap) y métodos de ensayo (ASI y Clúster) son dos técnicas principales presentes en la literatura sobre mfVEP, que presentan ciertas diferencias como son el número de sectores de estímulo, la colocación de los electrodos o la forma de interpretar los resultados (Klistorner *et al.*, 1998; Hood & Greenstein, 2003; Graham *et al.*, 2005). Sin embargo, no se observaron diferencias significativas en su precisión diagnóstica del campo visual. En cuanto a la latencia del mfVEP en el diagnóstico de defectos del campo visual, algunos artículos encontraron una baja correlación con el resultado de SAP (Grippo *et al.*, 2006; Hood *et al.*, 2006; Rodarte *et al.*, 2006). En nuestra revisión, no hemos encontrado suficientes artículos con datos diagnósticos como para realizar un metanálisis de la latencia registrada por el mfVEP.

En todos los estudios incluidos en nuestra revisión se incluyen tanto el análisis de la amplitud mono como interocular. Sin embargo, debido a los pocos datos obtenidos en el estudio, no se pudo evaluar la precisión diagnóstica tan solo con el análisis de amplitud monocular. Los resultados mostraron una variabilidad significativa entre los pacientes, principalmente debida a las diferencias anatómicas existentes en la corteza visual y a la posición de la corteza calcarina en relación a la ubicación de los electrodos externos, así como a las diferencias en los pliegues corticales (Hood *et al.*, 2000b). El análisis interocular de un mismo individuo permite reducir la variabilidad entre participantes. De hecho, esto puede ser una desventaja del mfVEP en comparación con SAP. Por otro lado, el mfVEP es más sensible en pacientes con glaucoma y pérdida asimétrica del campo visual (Graham *et al.*, 2000; Hood & Zhang, 2000). Además, el mfVEP tiene más puntos de estímulos en un centro de 10 grados. Por tanto, es más sensible a la detección de daños centrales (Yu *et al.*, 1998). Sin embargo, la detección de daños en las campimetrías superior y periférica es más compleja, debido que se corresponde con el área cortical profunda, situada detrás de la cisura calcarina.

Nuestra revisión sistemática ha confirmado que la amplitud de mfVEP puede ser un biomarcador de diagnóstico o pronóstico de defectos visuales en el glaucoma. En la clínica, ante casos dudosos, que presentan defectos del campo visual no confirmados

debido a la disociación entre OCT-SAP, o casos de SAP poco fiables, o cuando el paciente tiene un problema de concentración o motor para realizar SAP, podemos utilizar la amplitud de mfVEP como herramienta complementaria, fiable y objetiva, que ayude en dicha confirmación. En este sentido, la técnica mfVEP no es invasiva, no requiere la cooperación subjetiva del paciente y es económica. Su desventaja es que su aplicación requiere un técnico bien capacitado.

La variedad de resultado de mfVEP entre diferentes personas es amplia debido a las diferencias anatómicas interindividuales en la corteza visual (Hood *et al.*, 2000b). Por lo tanto, la combinación de análisis mono e interocular es necesaria para reducir dicha variedad interindividual.

Algunos artículos han mostrado una mejor detección de daños leves en el campo visual mediante mfVEP que mediante SAP. Aunque en ocasiones, los daños graves no fueron detectados mediante mfVEP (Hood *et al.*, 2004a). En nuestro metanálisis, debido a la gravedad del glaucoma, los resultados diagnósticos son similares, por lo que no hemos podido obtener una mayor precisión diagnóstica mediante el estudio de la amplitud de mfVEP entre diferentes grados de glaucoma. En cualquier caso, en la clínica es necesario utilizar también SAP para estudiar el campo visual, ya que es más sensible a los daños severos (Hood *et al.*, 2004a), siendo, a nuestro juicio, necesaria la combinación de las dos técnicas.

Es recomendable la realización de un número mayor de estudios de la latencia de mfVEP para establecer definitivamente su utilidad en la precisión diagnóstica de los defectos visuales en el glaucoma. Debido a la alta heterogeneidad que existe en la especificidad combinada, sería necesario realizar más estudios en los que participen una gran cantidad de personas en el grupo de control.

Pensamos que nuestra revisión sistemática contiene algunas limitaciones. Primero, el metanálisis solo incluyó 241 pacientes y 6 artículos, lo que a nuestro juicio significan pocos casos si se quiere evaluar la eficacia diagnóstica del mfVEP en la predicción de defectos del campo visual en el glaucoma. En segundo lugar, varios estudios han utilizado diferentes técnicas para el estudio de los hallazgos glaucomatosos del nervio óptico, como la OCT, la fotografía de disco óptico, la TRH, la biomicroscopía del fondo de ojo o la

oftalmoscopia. En tercer lugar, sólo en un artículo se menciona el intervalo de tiempo entre la prueba índice y el estándar de referencia, en tanto que los otros no indican el tiempo del intervalo, lo que significa un alto riesgo de sesgo en el dominio del flujo y del tiempo. Además, varios artículos no mencionaron si interpretaron los resultados de la prueba índice y el estándar de referencia sin conocer los resultados de los demás, lo cual es un factor que puede provocar medidas aumentadas en la prueba diagnóstica. En cuarto lugar, también existen diferentes parámetros de mfVEP, como el estar dividido en cuatro cuadrantes, seis sectores, varios anillos, porcentaje de puntos anormales, hemicampos, , pero no pudimos analizarlos porque pocas publicaciones cumplían con nuestro criterio.

6.CONCLUSIONES

CONCLUSIONES

- 1.- El Electrorretinograma de patrón (pERG) y el Electrooculograma (EOG) pueden ser considerados como técnicas idóneas para el diagnóstico de ciertas patologías oculares. El pERG, para aquellas relacionadas con células ganglionares, sobre todo ante lesiones a nivel macular. El EOG para patologías de la motilidad ocular. Las técnicas de pERG y EOG constituyen herramientas complementarias de diagnóstico, no invasivas, fiables, económicas y objetivas, que no requiere la cooperación estricta del paciente. Aunque su aplicación requiere un técnico bien capacitado.
- 2.- Los estímulos óptimos para la realización de la técnica de pERG son dameros o barras blancas y negras, con un contraste máximo, y a una frecuencia espacial entre 0,08 y 0,35 ciclos por grado. Los estímulos cromáticos, ya sean con contraste rojo/verde o azul/amarillo son menos efectivos que los contrastes blanco/negro en las pruebas de pERG.
- 3.- La optimización de la evaluación funcional de los movimientos oculares mediante respuestas EOG debe incluir desplazamientos de barras móviles a baja frecuencia temporal (<1 Hz). Los estímulos de desplazamiento vertical parecen más idóneos que los desplazamientos horizontales o los movimientos rotacionales. En estado de adaptación a la oscuridad la evaluación funcional de los movimientos oculares pierde calidad. El contraste del estímulo (barra blanca sobre fondo negro o barra negra sobre fondo blanco) no parece influir en la calidad o magnitud de la respuesta EOG.
- 4.- La amplitud de potencial evocado visual multifocal (mfVEP) ha demostrado una buena precisión diagnóstica en la predicción de defectos del campo visual en pacientes con glaucoma. El análisis de la amplitud de mfVEP interocular puede ser un indicador diagnóstico al estudio de campo visual en los casos dudosos o poco fiables de perimetría estándar automatizada.

7.BIBLIOGRAFÍA

BIBLIOGRAFÍA

- Arden GB. (2006). Origin and Significance of the Electro-oculogram. In *Principles and Practice of Clinical Electrophysiology of Vision, Second Edition*, ed. Heckenlively JR & Arden GB, pp. 123-138. The MIT Press Cambridge, Massachusetts, London, England.
- Arden GB, Barrada A & Kelsey JH. (1962). New clinical test of retinal function based upon the standing potential of the eye. *The British journal of ophthalmology* **46**, 449-467.
- Arden GB & Vaegan. (1983). Electroretinograms evoked in man by local uniform or patterned stimulation. *The Journal of Physiology* **341**, 85-104.
- Arden GB, Vaegan & Hogg CR. (1982). Clinical and experimental evidence that the pattern electroretinogram (PERG) is generated in more proximal retinal layers than the focal electroretinogram (FERG). *Annals of the New York Academy of Sciences* **388**, 580-601.
- Arvind H, Klistorner A, Grigg J & Graham SL. (2011). Low-Luminance Contrast Stimulation Is Optimal for Early Detection of Glaucoma Using Multifocal Visual Evoked Potentials. *Investigative Ophthalmology and Visual Science* **52**, 3744-3750.
- Bach M. (2001). Electrophysiological approaches for early detection of glaucoma. *European Journal of Ophthalmology* **11 Suppl 2**, S41-49.
- Bach M. (2018). ISCEV. Standards, Recommendations and Guidelines. Consultado el 10 de noviembre de 2020. URL: <http://www.iscev.org/standards/proceduresguide.html>
- Bach M, Brigell MG, Hawlina M, Holder GE, Johnson MA, McCulloch DL, Meigen T & Viswanathan S. (2013). ISCEV standard for clinical pattern electroretinography (PERG): 2012 update. *Documenta Ophthalmologica* **126**, 1-7.
- Bach M & Hoffmann MB. (2008). Update on the pattern electroretinogram in glaucoma. *Optometry and Vision Science* **85**, 386-395.
- Bach M & Holder GE. (1996). Check size tuning of the pattern electroretinogram: a reappraisal. *Documenta Ophthalmologica* **92**, 193-202.
- Bach M & Mathieu M. (2004). Different effect of dioptric defocus vs. light scatter on the Pattern Electroretinogram (PERG). *Documenta Ophthalmologica* **108**, 99-106.

- Bach M, Unsoeld AS, Philippin H, Staubach F, Maier P, Walter HS, Bomer TG & Funk J. (2006). Pattern ERG as an early glaucoma indicator in ocular hypertension: a long-term, prospective study. *Investigative Ophthalmology and Visual Science* **47**, 4881-4887.
- Balachandran C, Graham SL, Klistorner A & Goldberg I. (2006). Comparison of objective diagnostic tests in glaucoma: Heidelberg retinal tomography and multifocal visual evoked potentials. *Journal of Glaucoma* **15**, 110-116.
- Banerjee A, Datta S, Pal M, Konar A, Tibarewala DN & Janarthanan R. (2013). Classifying Electrooculogram to Detect Directional Eye Movements. *Procedia Technology* **10**, 67-75.
- Baseler HA, Sutter EE, Klein SA & Carney T. (1994). The topography of visual evoked response properties across the visual field. *Electroencephalography and Clinical Neurophysiology* **90**, 65-81.
- Bear MF, Connors BW & Paradiso MA. (2020). *Neuroscience: Exploring the brain, fourth edition*. Jones & Bartlett Learning, LLC, USA.
- Becker W. (1991). Saccades. *Vision and visual dysfunction* **8**, 95-137.
- Belov DP, Eram SY, Kolodyazhnyi SF, Kanunikov IE & Getmanenko OV. (2010). Electrooculogram detection of eye movements on gaze displacement. *Neuroscience and Behavioral Physiology* **40**, 583-591.
- Bengtsson B. (2002). Evaluation of VEP perimetry in normal subjects and glaucoma patients. *Acta Ophthalmologica Scandinavica* **80**, 620-626.
- Berson DM. (2003). Strange vision: ganglion cells as circadian photoreceptors. *Trends in Neurosciences* **26**, 314-320.
- Bode SF, Jehle T & Bach M. (2011). Pattern electroretinogram in glaucoma suspects: new findings from a longitudinal study. *Investigative Ophthalmology and Visual Science* **52**, 4300-4306.
- Bok D. (1993). The retinal pigment epithelium: a versatile partner in vision. *Journal of Cell Science Supplement* **17**, 189-195.
- Bonmati-Carrion MA, Hild K, Isherwood C, Sweeney SJ, Revell VL, Skene DJ, Rol MA & Madrid JA. (2016). Relationship between Human Pupillary Light Reflex and Circadian System Status. *PloS One* **11**, e0162476.

BIBLIOGRAFÍA

- Bowd C, Tafreshi A, Vizzeri G, Zangwill LM, Sample PA & Weinreb RN. (2009). Repeatability of pattern electroretinogram measurements using a new paradigm optimized for glaucoma detection. *Journal of Glaucoma* **18**, 437-442.
- Boycott BB & Wässle H. (1974). The morphological types of ganglion cells of the domestic cat's retina. *The Journal of Physiology* **240**, 397-419.
- Brandstätter JH, Koulen P & Wässle H. (1998). Diversity of glutamate receptors in the mammalian retina. *Vision Research* **38**, 1385-1397.
- Bringmann A, Grosche A, Pannicke T & Reichenbach A. (2013). GABA and Glutamate Uptake and Metabolism in Retinal Glial (Müller) Cells. *Frontiers in Endocrinology* **4**, 48-48.
- Burns ME & Arshavsky VY. (2005). Beyond counting photons: trials and trends in vertebrate visual transduction. *Neuron* **48**, 387-401.
- Burnstein Y, Elish NJ, Magbalon M & Higginbotham EJ. (2000). Comparison of frequency doubling perimetry with Humphrey visual field analysis in a glaucoma practice. *American Journal of Ophthalmology* **129**, 328-333.
- Butt AM, Pugh M, Hubbard P & James G. (2004). Functions of optic nerve glia: axoglial signalling in physiology and pathology. *Eye (London, England)* **18**, 1110-1121.
- Cajal SR. (1893). La retine des vertebres. *La Cellule* **9**, 773-904.
- Calkins ME, Katsanis J, Hammer MA & Iacono WG. (2001). The misclassification of blinks as saccades: Implications for investigations of eye movement dysfunction in schizophrenia. *Psychophysiology* **38**, 761-767.
- Carpenter RH. (1988). *Movements of the Eyes, 2nd revised edition*. Pion Limited, London.
- Carson MJ, Doose JM, Melchior B, Schmid CD & Ploix CC. (2006). CNS immune privilege: hiding in plain sight. *Immunological Reviews* **213**, 48-65.
- Cello KE, Nelson-Quigg JM & Johnson CA. (2000). Frequency doubling technology perimetry for detection of glaucomatous visual field loss. *American Journal of Ophthalmology* **129**, 314-322.

- Chauhan BC & Johnson CA. (1999). Test-retest variability of frequency-doubling perimetry and conventional perimetry in glaucoma patients and normal subjects. *Investigative Ophthalmology and Visual Science* **40**, 648-656.
- Chen CS, Hood DC, Zhang X, Karam EZ, Liebmann JM, Ritch R, Thienprasiddhi P & Greenstein VC. (2003). Repeat reliability of the multifocal visual evoked potential in normal and glaucomatous eyes. *Journal of Glaucoma* **12**, 399-408.
- Cibis GW, Beaver HA, Johns K, Kaushal S, Tsai JC & Beretska JS. (2008). *Fundamentos y Principios de Oftalmología. Sección 2. Curso de Ciencias Básicas y Clínicas*. Ed. American Academy of Ophthalmology, the Eye MD association Ed. Elsevier España, Impreso en España. Capítulos: 1-4, 9-15.
- Colotto A, Falsini B, Salgarello T, Iarossi G, Galan ME & Scullica L. (2000). Photopic negative response of the human ERG: losses associated with glaucomatous damage. *Investigative Ophthalmology and Visual Science* **41**, 2205-2211.
- Constable PA. (2014). A perspective on the mechanism of the light-rise of the electrooculogram. *Investigative Ophthalmology and Visual Science* **55**, 2669-2673.
- Constable PA, Bach M, Frishman LJ, Jeffrey BG & Robson AG. (2017). ISCEV Standard for clinical electro-oculography (2017 update). *Documenta Ophthalmologica* **134**, 1-9.
- de la Villa P, Kurahashi T & Kaneko A. (1995). L-glutamate-induced responses and cGMP-activated channels in three subtypes of retinal bipolar cells dissociated from the cat. *The Journal of neuroscience : the official journal of the Society for Neuroscience* **15**, 3571-3582.
- Delalande I, Hache J, Forzy G, Bughin M, Benhadjali J & Destée A. (1998). Do visual-evoked potentials and spatiotemporal contrast sensitivity help to distinguish idiopathic Parkinson's disease and multiple system atrophy? *Movement Disorders* **13**, 446-452.
- Derrington AM, Krauskopf J & Lennie P. (1984). Chromatic mechanisms in lateral geniculate nucleus of macaque. *The Journal of Physiology* **357**, 241-265.
- Drance SM, Douglas GR, Wijsman K, Schulzer M & Britton RJ. (1988). Response of blood flow to warm and cold in normal and low-tension glaucoma patients. *American Journal of Ophthalmology* **105**, 35-39.

BIBLIOGRAFÍA

- Drasdo N, Aldebasí YH, Chiti Z, Mortlock KE, Morgan JE & North RV. (2001). The s-cone PHNR and pattern ERG in primary open angle glaucoma. *Investigative Ophthalmology and Visual Science* **42**, 1266-1272.
- Duncan J. (2001). Electrophysiologic Testing in Disorders of the Retina, Optic Nerve, and Visual Pathway. *The British Journal of Ophthalmology* **85**, 1013-1013.
- Eggert T. (2007). Eye movement recordings: methods. *Developments in ophthalmology* **40**, 15-34.
- Erickson KK, Sundstrom JM & Antonetti DA. (2007). Vascular permeability in ocular disease and the role of tight junctions. *Angiogenesis* **10**, 103-117.
- Fain GL. (2003). *Sensory Transduction*. Sinauer Associates, Inc., Sunderland, Massachusetts U.S.A.
- Fallon M, Valero O, Pazos M & Antón A. (2017). Diagnostic accuracy of imaging devices in glaucoma: A meta-analysis. *Survey of Ophthalmology* **62**, 446-461.
- Feigl B & Zele AJ. (2014). Melanopsin-Expressing Intrinsically Photosensitive Retinal Ganglion Cells in Retinal Disease. *Optometry and Vision Science* **91**.
- Field GD & Chichilnisky EJ. (2007). Information Processing in the Primate Retina: Circuitry and Coding. *Annual Review of Neuroscience* **30**, 1-30.
- Flammer J, Orgul S, Costa VP, Orzalesi N, Krieglstein GK, Serra LM, Renard JP & Stefansson E. (2002). The impact of ocular blood flow in glaucoma. *Progress in Retinal and Eye Research* **21**, 359-393.
- Fortune B, Demirel S & Bui BV. (2009). Multifocal visual evoked potential responses to pattern-reversal, pattern-onset, pattern-offset, and sparse pulse stimuli. *Visual Neuroscience* **26**, 227-235.
- Fortune B, Zhang X, Hood DC, Demirel S & Johnson CA. (2004). Normative ranges and specificity of the multifocal VEP. *Documenta Ophthalmologica* **109**, 87-100.
- Foster PJ, Buhrmann R, Quigley HA & Johnson GJ. (2002). The definition and classification of glaucoma in prevalence surveys. *British Journal of Ophthalmology* **86**, 238.

- Franco JG, De Pablo J, Gaviria AM, Sepúlveda E & Vilella E. (2014). Movimientos de seguimiento ocular lento y esquizofrenia: revisión de la literatura. *Archivos de la Sociedad Española de Oftalmología* **89**, 361-367.
- Frederiksen JL & Petrera J. (1999). Serial visual evoked potentials in 90 untreated patients with acute optic neuritis. *Survey of Ophthalmology* **44 Suppl 1**, S54-62.
- Frishman L, Sustar M, Kremers J, McAnany JJ, Sarossy M, Tzekov R & Viswanathan S. (2018). ISCEV extended protocol for the photopic negative response (PhNR) of the full-field electroretinogram. *Documenta Ophthalmologica* **136**, 207-211.
- Galley N. (1993). The Evaluation of the Electrooculogram as a Psychophysiological Measuring Instrument in the Driver Study of Driver Behavior. *Ergonomics* **36**, 1063-1070.
- Garway-Heath DF, Poinoosawmy D, Fitzke FW & Hitchings RA. (2000). Mapping the visual field to the optic disc in normal tension glaucoma eyes. *Ophthalmology* **107**, 1809-1815.
- Germain F, Pérez-Rico C, Vicente J & de la Villa P. (2010). Functional histology of the retina. In *Microscopy: Science, Technology, Applications and Education*, ed. Méndez-Vilas A & Díaz J, pp. 914-925. Formatex, Spain.
- Gila L, Villanueva A & Cabeza R. (2009). Fisiopatología y técnicas de registro de los movimientos oculares. *Anales del sistema sanitario de Navarra* **32**, 9-26.
- Glas AS, Lijmer JG, Prins MH, Bonsel GJ & Bossuyt PM. (2003). The diagnostic odds ratio: a single indicator of test performance. *Journal of Clinical Epidemiology* **56**, 1129-1135.
- Goldberg I, Graham SL & Klistorner AI. (2002). Multifocal objective perimetry in the detection of glaucomatous field loss. *American Journal of Ophthalmology* **133**, 29-39.
- Gordon MO, Beiser JA, Brandt JD, Heuer DK, Higginbotham EJ, Johnson CA, Keltner JL, Miller JP, Parrish RK, 2nd, Wilson MR & Kass MA. (2002). The Ocular Hypertension Treatment Study: baseline factors that predict the onset of primary open-angle glaucoma. *Archives of Ophthalmology* **120**, 714-720; discussion 829-730.
- Gotoh Y, Machida S & Tazawa Y. (2004). Selective Loss of the Photopic Negative Response in Patients With Optic Nerve Atrophy. *Archives of Ophthalmology* **122**, 341-346.

BIBLIOGRAFÍA

- Graham SL, Klistorner AI & Goldberg I. (2005). Clinical application of objective perimetry using multifocal visual evoked potentials in glaucoma practice. *Archives of Ophthalmology* **123**, 729-739.
- Graham SL, Klistorner AI, Grigg JR & Billson FA. (2000). Objective VEP perimetry in glaucoma: asymmetry analysis to identify early deficits. *Journal of Glaucoma* **9**, 10-19.
- Grippo TM, Hood DC, Kanadani FN, Ezon I, Greenstein VC, Liebmann JM & Ritch R. (2006). A Comparison between Multifocal and Conventional VEP Latency Changes Secondary to Glaucomatous Damage. *Investigative Ophthalmology and Visual Science* **47**, 5331-5336.
- Grover LK, Hood DC, Ghadiali Q, Grippo TM, Wenick AS, Greenstein VC, Behrens MM & Odel JG. (2008). A comparison of multifocal and conventional visual evoked potential techniques in patients with optic neuritis/multiple sclerosis. *Documenta Ophthalmologica* **117**, 121-128.
- Gutiérrez-Díaz E, Pérez-Rico C, Díaz de Aauri MJ, Mencía-Gutiérrez E & Blanco R. (2013). Evaluation of the visual function in obstructive sleep apnea syndrome patients and normal-tension glaucoma by means of the multifocal visual evoked potentials. *Graefe's Archive for Clinical and Experimental Ophthalmology* **251**, 1459-1460.
- Guyton AC & Hall JE. (2006). *Tratado de fisiología médica, duodécimo edición*. Elsevier Saunders, España. Capítulos: 49-50.
- Hamann S. (2002). Molecular mechanisms of water transport in the eye. *International Review of Cytology* **215**, 395-431.
- Harbord RM, Deeks JJ, Egger M, Whiting P & Sterne JA. (2007). A unification of models for meta-analysis of diagnostic accuracy studies. *Biostatistics* **8**, 239-251.
- Higgins JP, Thompson SG, Deeks JJ & Altman DG. (2003). Measuring inconsistency in meta-analyses. *BMJ* **327**, 557-560.
- Holder GE. (2001). Pattern electroretinography (PERG) and an integrated approach to visual pathway diagnosis. *Progress in Retinal and Eye Research* **20**, 531-561.
- Hood DC, Bach M, Brigell M, Keating D, Kondo M, Lyons JS, Marmor MF, McCulloch DL & Palmowski-Wolfe AM. (2012). ISCEV standard for clinical multifocal electroretinography (mfERG) (2011 edition). *Documenta Ophthalmologica* **124**, 1-13.

- Hood DC, Chen JY, Yang EB, Rodarte C, Wenick AS, Grippo TM, Odel JG & Ritch R. (2006). The role of the multifocal visual evoked potential (mfVEP) latency in understanding optic nerve and retinal diseases. *Transactions of the American Ophthalmological Society* **104**, 71-77.
- Hood DC & Greenstein VC. (2003). Multifocal VEP and ganglion cell damage: applications and limitations for the study of glaucoma. *Progress in Retinal and Eye Research* **22**, 201-251.
- Hood DC, Greenstein VC, Odel JG, Zhang X, Ritch R, Liebmann JM, Hong JE, Chen CS & Thienprasiddhi P. (2002a). Visual field defects and multifocal visual evoked potentials: evidence of a linear relationship. *Archives of Ophthalmology* **120**, 1672-1681.
- Hood DC, Odel JG & Winn BJ. (2003). The multifocal visual evoked potential. *Journal of neuro-ophthalmology : the official journal of the North American Neuro-Ophthalmology Society* **23**, 279-289.
- Hood DC, Odel JG & Zhang X. (2000a). Tracking the Recovery of Local Optic Nerve Function after Optic Neuritis: A Multifocal VEP Study. *Investigative Ophthalmology and Visual Science* **41**, 4032-4038.
- Hood DC, Thienprasiddhi P, Greenstein VC, Winn BJ, Ohri N, Liebmann JM & Ritch R. (2004a). Detecting Early to Mild Glaucomatous Damage: A Comparison of the Multifocal VEP and Automated Perimetry. *Investigative Ophthalmology and Visual Science* **45**, 492-498.
- Hood DC, Xu L, Thienprasiddhi P, Greenstein VC, Odel JG, Grippo TM, Liebmann JM & Ritch R. (2005). The Pattern Electroretinogram in Glaucoma Patients with Confirmed Visual Field Deficits. *Investigative Ophthalmology and Visual Science* **46**, 2411-2418.
- Hood DC & Zhang X. (2000). Multifocal ERG and VEP responses and visual fields: comparing disease-related changes. *Documenta Ophthalmologica* **100**, 115-137.
- Hood DC, Zhang X, Greenstein VC, Kangovi S, Odel JG, Liebmann JM & Ritch R. (2000b). An Interocular Comparison of the Multifocal VEP: A Possible Technique for Detecting Local Damage to the Optic Nerve. *Investigative Ophthalmology and Visual Science* **41**, 1580-1587.
- Hood DC, Zhang X, Hong JE & Chen CS. (2002b). Quantifying the benefits of additional channels of multifocal VEP recording. *Documenta Ophthalmologica* **104**, 303-320.

BIBLIOGRAFÍA

- Hood DC, Zhang X, Rodarte C, Yang EB, Ohri N, Fortune B & Johnson CA. (2004b). Determining abnormal interocular latencies of multifocal visual evoked potentials. *Documenta Ophthalmologica* **109**, 177-187.
- Iester M, Altieri M, Vittone P, Calabria G, Zingirian M & Traverso CE. (2003). Detection of glaucomatous visual field defect by nonconventional perimetry. *American Journal of Ophthalmology* **135**, 35-39.
- Irving EL, Zacher JE, Allison RS & Callender MG. (2003). Effects of scleral search coil wear on visual function. *Investigative Ophthalmology and Visual Science* **44**, 1933-1938.
- Johnson CA, Adams AJ, Casson EJ & Brandt JD. (1993). Blue-on-yellow perimetry can predict the development of glaucomatous visual field loss. *Archives of Ophthalmology* **111**, 645-650.
- Kanadani FN, Mello PAA, Dorairaj SK & Kanadani TCM. (2014). Frequency-doubling technology perimetry and multifocal visual evoked potential in glaucoma, suspected glaucoma, and control patients. *Clinical Ophthalmology* **8**, 1323-1330.
- Kanayama R, Nakamura T, Sano R, Ohki M, Okuyama T, Kimura Y & Koike Y. (1994). Effect of aging on smooth pursuit eye movement. *Acta Oto-Laryngologica Supplementum* **511**, 131-134.
- Kandel ER, Schwartz JH & Jessell TM. (2000). *Principles of neural science, fourth edition*. McGraw-hill, New York.
- Kapoula Z, Yang Q, Otero-Millan J, Xiao S, Macknik SL, Lang A, Verny M & Martinez-Conde S. (2014). Distinctive features of microsaccades in Alzheimer's disease and in mild cognitive impairment. *Age (Dordrecht, Netherlands)* **36**, 535-543.
- Kawasaki K, Yonemura D & Madachi-Yamamoto S. (1984). Hyperosmolarity response of ocular standing potential as a clinical test for retinal pigment epithelium activity diabetic retinopathy. *Documenta Ophthalmologica* **58**, 375-384.
- Keegan J, Burke E, Condrón J & Coyle E. (2011). On Improving Electrooculogram-Based Computer Mouse Systems: The Accelerometer Trigger. In *Bioengineering In Ireland, January 28–29, 2011*. Galway.
- Kerrigan-Baumrind LA, Quigley HA, Pease ME, Kerrigan DF & Mitchell RS. (2000). Number of ganglion cells in glaucoma eyes compared with threshold visual field

tests in the same persons. *Investigative Ophthalmology and Visual Science* **41**, 741-748.

Kimmig H, Greenlee MW, Gondan M, Schira M, Kassubek J & Mergner T. (2001). Relationship between saccadic eye movements and cortical activity as measured by fMRI: quantitative and qualitative aspects. *Experimental Brain Research* **141**, 184-194.

Klaiman E. (2004). Electro-Oculography (EOG) Measurement System. Consultado el 20 de noviembre de 2020. URL: <https://visl.technion.ac.il/projects/2004s34/>

Klistorner A & Graham SL. (2000). Objective perimetry in glaucoma. *Ophthalmology* **107**, 2283-2299.

Klistorner A, Graham SL, Martins A, Grigg JR, Arvind H, Kumar RS, James AC & Billson FA. (2007). Multifocal Blue-on-Yellow Visual Evoked Potentials in Early Glaucoma. *Ophthalmology* **114**, 1613-1621.

Klistorner AI, Graham SL, Grigg JR & Billson FA. (1998). Multifocal topographic visual evoked potential: improving objective detection of local visual field defects. *Investigative Ophthalmology and Visual Science* **39**, 937-950.

Kolb H. (2003). How the Retina Works: Much of the construction of an image takes place in the retina itself through the use of specialized neural circuits. *American Scientist* **91**, 28-35.

Kolb H, Fernandez E, Schouten J, Ahnelt P, Linberg KA & Fisher SK. (1994). Are there three types of horizontal cell in the human retina? *Journal of Comparative Neurology* **343**, 370-386.

Korth M, Horn F, Storck B & Jonas J. (1989). The pattern-evoked electroretinogram (PERG): Age-related alterations and changes in glaucoma. *Graefe's Archive for Clinical and Experimental Ophthalmology* **227**, 123-130.

Korth M & Rix R. (1989). Differences between pattern onset and pattern reversal retinal responses. *Documenta Ophthalmologica* **72**, 39-46.

Kuffler SW. (1953). Discharge patterns and functional organization of mammalian retina. *Journal of Neurophysiology* **16**, 37-68.

Lam BL. (2005). Electrophysiology of vision: clinical testing and applications. CRC Press, Florida, U.S.A.

BIBLIOGRAFÍA

- Lamb TD & Pugh EN, Jr. (2006). Phototransduction, Dark Adaptation, and Rhodopsin Regeneration The Proctor Lecture. *Investigative Ophthalmology and Visual Science* **47**, 5138-5152.
- Lau J, Ioannidis JP, Terrin N, Schmid CH & Olkin I. (2006). The case of the misleading funnel plot. *BMJ* **333**, 597-600.
- Lencer R & Trillenberg P. (2008). Neurophysiology and neuroanatomy of smooth pursuit in humans. *Brain and Cognition* **68**, 219-228.
- Lennie P & D'Zmura M. (1988). Mechanisms of color vision. *Critical Reviews in Neurobiology* **3**, 333-400.
- Livingstone M & Hubel D. (1988). Segregation of form, color, movement, and depth: anatomy, physiology, and perception. *Science* **240**, 740.
- Lobes LA. (1978). The electro-oculogram in human retinal detachment. *The British journal of ophthalmology* **62**, 223-226.
- López A, Ferrero F, Villar JR & Postolache O. (2020). High-Performance Analog Front-End (AFE) for EOG Systems. *Electronics* **9**, 970.
- Macaskill P, Walter SD & Irwig L. (2001). A comparison of methods to detect publication bias in meta-analysis. *Statistics in Medicine* **20**, 641-654.
- Machida S, Gotoh Y, Toba Y, Ohtaki A, Kaneko M & Kurosaka D. (2008). Correlation between Photopic Negative Response and Retinal Nerve Fiber Layer Thickness and Optic Disc Topography in Glaucomatous Eyes. *Investigative Ophthalmology and Visual Science* **49**, 2201-2207.
- Maddess T, James AC, Goldberg I, Wine S & Dobinson J. (2000). Comparing a Parallel PERG, Automated Perimetry, and Frequency-Doubling Thresholds. *Investigative Ophthalmology and Visual Science* **41**, 3827-3832.
- Mafei L & Fiorentini A. (1981). Electroretinographic responses to alternating gratings before and after section of the optic nerve. *Science* **211**, 953.
- Marg E. (1951). Development of electro-oculography; Standing Potential of the Eye in Registration of Eye Movement. *AMA Archives of Ophthalmology* **45**, 169-185.

- Marmor MF, Holder GE, Porciatti V, Trick GL & Zrenner E. (1995). Guidelines for basic pattern electroretinography. *Documenta Ophthalmologica* **91**, 291-298.
- Marmor MF & Zrenner E. (1993). Standard for clinical electro-oculography. International Society for Clinical Electrophysiology of Vision. *Documenta Ophthalmologica* **85**, 115-124.
- Marmor MF & Zrenner E. (1995). Standard for clinical electroretinography (1994 update). *Documenta Ophthalmologica* **89**, 199-210.
- Martinez-Conde S, Macknik SL, Troncoso XG & Dyar TA. (2006). Microsaccades counteract visual fading during fixation. *Neuron* **49**, 297-305.
- Masland RH. (2001). The fundamental plan of the retina. *Nature Neuroscience* **4**, 877-886.
- Masland RH. (2012). The neuronal organization of the retina. *Neuron* **76**, 266-280.
- Matute C, Alberdi E, Domercq M, Pérez-Cerdá F, Pérez-Samartín A & Sánchez-Gómez MV. (2001). The link between excitotoxic oligodendroglial death and demyelinating diseases. *Trends in Neurosciences* **24**, 224-230.
- McCulloch DL, Marmor MF, Brigell MG, Hamilton R, Holder GE, Tzekov R & Bach M. (2015). ISCEV Standard for full-field clinical electroretinography (2015 update). *Documenta Ophthalmologica* **130**, 1-12.
- Metz HS, Scott AB & Scott WE. (1975). Horizontal saccadic velocities in Duane's syndrome. *American Journal of Ophthalmology* **80**, 901-906.
- Meyer CH, Lasker AG & Robinson DA. (1985). The upper limit of human smooth pursuit velocity. *Vision Research* **25**, 561-563.
- Miller KM & Quigley HA. (1987). Comparison of optic disc features in low-tension and typical open-angle glaucoma. *Ophthalmic Surgery* **18**, 882-889.
- Mitchell P, Hourihan F, Sandbach J & Wang JJ. (1999). The relationship between glaucoma and myopia: the Blue Mountains Eye Study. *Ophthalmology* **106**, 2010-2015.
- Moher D, Shamseer L, Clarke M, Ghersi D, Liberati A, Petticrew M, Shekelle P & Stewart LA. (2015). Preferred reporting items for systematic review and meta-analysis protocols (PRISMA-P) 2015 statement. *Systematic Reviews* **4**, 1.

- Morgan WH, Yu DY & Balaratnasingam C. (2008). The role of cerebrospinal fluid pressure in glaucoma pathophysiology: the dark side of the optic disc. *Journal of Glaucoma* **17**, 408-413.
- Moses LE, Shapiro D & Littenberg B. (1993). Combining independent studies of a diagnostic test into a summary ROC curve: data-analytic approaches and some additional considerations. *Statistics in Medicine* **12**, 1293-1316.
- Mowrer O, Ruch TC & Miller N. (1935). The corneo-retinal potential difference as the basis of the galvanometric method of recording eye movements. *American Journal of Physiology-Legacy Content* **114**, 423-428.
- Nakamura M, Ishikawa K, Nagai T & Negi A. (2011). Receiver-operating characteristic analysis of multifocal VEPs to diagnose and quantify glaucomatous functional damage. *Documenta Ophthalmologica* **123**, 93-108.
- Nelson R & Connaughton V. (2007). Bipolar Cell Pathways in the Vertebrate Retina. In *Webvision: the organization of the retina and visual system* ed. Kolb H, Fernandez E & Nelson R, pp. 685-743. University of Utah Health Sciences Center, Salt Lake City (UT).
- Newman EA, Frambach DA & Odette LL. (1984). Control of extracellular potassium levels by retinal glial cell K⁺ siphoning. *Science* **225**, 1174-1175.
- Nilsson SEG & Wrigstad A. (1997). Electrophysiology in some animal and human hereditary diseases involving the retinal pigment epithelium. *Eye* **11**, 698-706.
- North RV, Jones AL, Drasdo N, Wild JM & Morgan JE. (2010). Electrophysiological Evidence of Early Functional Damage in Glaucoma and Ocular Hypertension. *Investigative Ophthalmology and Visual Science* **51**, 1216-1222.
- Odom JV, Bach M, Brigell M, Holder GE, McCulloch DL, Mizota A & Tormene AP. (2016). ISCEV standard for clinical visual evoked potentials: (2016 update). *Documenta Ophthalmologica* **133**, 1-9.
- Osborne D, Theodorou M, Lee H, Ranger M, Hedley-Lewis M, Shawkat F, Harris CM & Self JE. (2019). Supranuclear eye movements and nystagmus in children: A review of the literature and guide to clinical examination, interpretation of findings and age-appropriate norms. *Eye (London, England)* **33**, 261-273.

- Otero-Millan J, Schneider R, Leigh RJ, Macknik SL & Martinez-Conde S. (2013). Saccades during attempted fixation in parkinsonian disorders and recessive ataxia: from microsaccades to square-wave jerks. *PloS One* **8**, e58535.
- Pancrat. (2011). Connexions de la rétine au CGL. Consultado el 10 de noviembre de 2020. URL: https://www.wikiwand.com/fr/R%C3%A9tine#/google_vignette
- Parisi V, Manni G, Centofanti M, Gandolfi SA, Olzi D & Bucci MG. (2001). Correlation between optical coherence tomography, pattern electroretinogram, and visual evoked potentials in open-angle glaucoma patients. *Ophthalmology* **108**, 905-912.
- Park HY & Park CK. (2013). Diagnostic capability of lamina cribrosa thickness by enhanced depth imaging and factors affecting thickness in patients with glaucoma. *Ophthalmology* **120**, 745-752.
- Polo V, Abecia E, Pablo LE, Pinilla I, Larrosa JM & Honrubia FM. (1998). Short-Wavelength Automated Perimetry and Retinal Nerve Fiber Layer Evaluation in Suspected Cases of Glaucoma. *Archives of Ophthalmology* **116**, 1295-1298.
- Polo V, Larrosa JM, Pinilla I, Perez S, Gonzalvo F & Honrubia FM. (2002). Predictive value of short-wavelength automated perimetry: A 3-year follow-up study. *Ophthalmology* **109**, 761-765.
- Porciatti V & Ventura LM. (2004). Normative data for a user-friendly paradigm for pattern electroretinogram recording. *Ophthalmology* **111**, 161-168.
- Punjabi OS, Stamper RL, Bostrom AG, Han Y & Lin SC. (2008). Topographic Comparison of the Visual Function on Multifocal Visual Evoked Potentials with Optic Nerve Structure on Heidelberg Retinal Tomography. *Ophthalmology* **115**, 440-446.
- Purves D, Augustine GJ, Fitzpatrick. D, Hall. WC, Lamantia. A-S, Mcnamar. JO & Williams. SM. (2006). *NEUROSCIENCE, third Edition*. Sinauer Associates, Inc., Sunderland, Massachusetts U.S.A.
- Quaia C, Lefevre P & Optican LM. (1999). Model of the control of saccades by superior colliculus and cerebellum. *Journal of Neurophysiology* **82**, 999-1018.
- Quigley HA & Addicks EM. (1980). Chronic experimental glaucoma in primates. II. Effect of extended intraocular pressure elevation on optic nerve head and axonal transport. *Investigative Ophthalmology and Visual Science* **19**, 137-152.

BIBLIOGRAFÍA

- Quigley HA, Dunkelberger GR & Green WR. (1989). Retinal ganglion cell atrophy correlated with automated perimetry in human eyes with glaucoma. *American Journal of Ophthalmology* **107**, 453-464.
- Ren R, Jonas JB, Tian G, Zhen Y, Ma K, Li S, Wang H, Li B, Zhang X & Wang N. (2010). Cerebrospinal fluid pressure in glaucoma: a prospective study. *Ophthalmology* **117**, 259-266.
- Richardson WS, Wilson MC, Nishikawa J & Hayward RS. (1995). The well-built clinical question: a key to evidence-based decisions. *ACP Journal Club* **123**, A12-13.
- Riggs LA. (1954). Electroretinography in Cases of Night Blindness*. *American Journal of Ophthalmology* **38**, 70-78.
- Riggs LA, Johnson EP & Schick AM. (1964). Electrical Responses of the Human Eye to Moving Stimulus Patterns. *Science* **144**, 567.
- Rodarte C, Hood DC, Yang EB, Grippo T, Greenstein VC, Liebmann JM & Ritch R. (2006). The effects of glaucoma on the latency of the multifocal visual evoked potential. *British Journal of Ophthalmology* **90**, 1132-1136.
- Rutter CM & Gatsonis CA. (2001). A hierarchical regression approach to meta-analysis of diagnostic test accuracy evaluations. *Statistics in Medicine* **20**, 2865-2884.
- Sartucci F, Orlandi G, Bonuccelli U, Borghetti D, Murri L, Orsini C, Domenici L & Porciatti V. (2006). Chromatic pattern-reversal electroretinograms (ChPERGs) are spared in multiple system atrophy compared with Parkinson's disease. *Neurological Sciences* **26**, 395-401.
- Schiller PH. (2010). Parallel information processing channels created in the retina. *Proceedings of the National Academy of Sciences* **107**, 17087.
- Scholl HP & Zrenner E. (2000). Electrophysiology in the investigation of acquired retinal disorders. *Survey of Ophthalmology* **45**, 29-47.
- Smyrnis N. (2008). Metric issues in the study of eye movements in psychiatry. *Brain and Cognition* **68**, 341-358.
- Sommer MA & Wurtz RH. (2004). What the brain stem tells the frontal cortex. I. Oculomotor signals sent from superior colliculus to frontal eye field via mediodorsal thalamus. *Journal of Neurophysiology* **91**, 1381-1402.

- Song F, Eastwood AJ, Gilbody S, Duley L & Sutton AJ. (2000). Publication and related biases. *Health Technology Assessment* **4**, 1-115.
- Song F, Khan KS, Dinnes J & Sutton AJ. (2002). Asymmetric funnel plots and publication bias in meta-analyses of diagnostic accuracy. *International Journal of Epidemiology* **31**, 88-95.
- Spry PGD, Johnson CA, McKendrick AM & Turpin A. (2003). Measurement error of visual field tests in glaucoma. *The British journal of ophthalmology* **87**, 107-112.
- Stanzione P, Pierelli F, Peppe A, Stefano E, Pa R, Morocutti C & Bernardi G. (1989). Pattern visual evoked potentials and electroretinogram abnormalities in Parkinson's disease: Effects of L-dopa therapy. *Clinical vision sciences* **4**, 115-127.
- Steinberg RH. (1985). Interactions between the retinal pigment epithelium and the neural retina. *Documenta Ophthalmologica* **60**, 327-346.
- Strauss O. (2005). The retinal pigment epithelium in visual function. *Physiological Reviews* **85**, 845-881.
- Swets JA. (1988). Measuring the accuracy of diagnostic systems. *Science* **240**, 1285-1293.
- Tafreshi A, Racette L, Weinreb RN, Sample PA, Zangwill LM, Medeiros FA & Bowd C. (2010). Pattern Electroretinogram and Psychophysical Tests of Visual Function for Discriminating Between Healthy and Glaucoma Eyes. *American Journal of Ophthalmology* **149**, 488-495.
- Takada T, Kotani K, Suzuki S & Asao T. (2017). D4-4 The effect of visual target contrast on latency and amplitude of saccades. *The Japanese Journal of Ergonomics* **53**, S494-S497.
- Takagi M, Zee DS & Tamargo RJ. (1998). Effects of lesions of the oculomotor vermis on eye movements in primate: saccades. *Journal of Neurophysiology* **80**, 1911-1931.
- Tham YC, Li X, Wong TY, Quigley HA, Aung T & Cheng CY. (2014). Global prevalence of glaucoma and projections of glaucoma burden through 2040: a systematic review and meta-analysis. *Ophthalmology* **121**, 2081-2090.

BIBLIOGRAFÍA

- Thienprasiddhi P, Greenstein VC, Chen CS, Liebmann JM, Ritch R & Hood DC. (2003). Multifocal visual evoked potential responses in glaucoma patients with unilateral hemifield defects. *American Journal of Ophthalmology* **136**, 34-40.
- Thonginnetra O, Greenstein VC, Chu D, Liebmann JM, Ritch R & Hood DC. (2010). Normal versus high tension glaucoma: a comparison of functional and structural defects. *Glaucoma* **19**, 151-157.
- Thorlund K, Imberger G, Johnston BC, Walsh M, Awad T, Thabane L, Glud C, Devereaux PJ & Wetterslev J. (2012). Evolution of heterogeneity (I²) estimates and their 95% confidence intervals in large meta-analyses. *PloS One* **7**, e39471.
- Tielsch JM, Sommer A, Katz J, Royall RM, Quigley HA & Javitt J. (1991). Racial variations in the prevalence of primary open-angle glaucoma. The Baltimore Eye Survey. *JAMA* **266**, 369-374.
- Torok N, Guillemin Jr V & Barnothy J. (1951). LXXX Photoelectric Nystagmography. *Annals of Otology, Rhinology and Laryngology* **60**, 917-926.
- Trick GL. (1985). Retinal potentials in patients with primary open-angle glaucoma: physiological evidence for temporal frequency tuning deficits. *Investigative Ophthalmology and Visual Science* **26**, 1750-1758.
- Trick GL & Wintermeyer DH. (1982). Spatial and temporal frequency tuning of pattern-reversal retinal potentials. *Investigative Ophthalmology and Visual Science* **23**, 774-779.
- Tulunay-Keesey U. (1982). Fading of stabilized retinal images. *Journal of the Optical Society of America* **72**, 440-447.
- Usrey WM & Reid RC. (1999). Synchronous activity in the visual system. *Annual Review of Physiology* **61**, 435-456.
- Van den Berg TJ, Riemsdag FC, de Vos GW & Verduyn Lunel HF. (1986). Pattern ERG and glaucomatous visual field defects. *Documenta Ophthalmologica* **61**, 335-341.
- Vecino E, Rodriguez FD, Ruzafa N, Pereiro X & Sharma SC. (2016). Glia-neuron interactions in the mammalian retina. *Progress in Retinal and Eye Research* **51**, 1-40.

- Ventura LM, Feuer WJ & Porciatti V. (2012). Progressive loss of retinal ganglion cell function is hindered with IOP-lowering treatment in early glaucoma. *Investigative Ophthalmology and Visual Science* **53**, 659-663.
- Ventura LM & Porciatti V. (2006). Pattern electroretinogram in glaucoma. *Current Opinion in Ophthalmology* **17**, 196-202.
- Ver Hoeve JN, Danilov YP, Kim CB & Spear PD. (1999). VEP and PERG acuity in anesthetized young adult rhesus monkeys. *Visual Neuroscience* **16**, 607-617.
- Viswanathan S, Frishman LJ & Robson JG. (2000). The uniform field and pattern ERG in macaques with experimental glaucoma: removal of spiking activity. *Investigative Ophthalmology and Visual Science* **41**, 2797-2810.
- Viswanathan S, Frishman LJ, Robson JG & Walters JW. (2001). The Photopic Negative Response of the Flash Electroretinogram in Primary Open Angle Glaucoma. *Investigative Ophthalmology and Visual Science* **42**, 514-522.
- Von Graefe A. (1857). Ueber die Iridectomie bei Glaucom und über den glaucomatosen Process. *Archives of Ophthalmology* **3**, 456-555.
- Wade NJ, Tatler BW & Heller D. (2003). Dodge-ing the issue: Dodge, Javal, Hering, and the measurement of saccades in eye-movement research. *Perception* **32**, 793-804.
- Walls GL. (1942). *The vertebrate eye and its adaptive radiation*. Cranbrook Institute of Science, Bloomfield Hills, Michigan.
- Wässle H. (2004). Parallel processing in the mammalian retina. *Nature reviews Neuroscience* **5**, 747-757.
- Wassle H & Boycott BB. (1991). Functional architecture of the mammalian retina. *Physiological Reviews* **71**, 447-480.
- Weleber RG. (1989). Fast and Slow Oscillations of the Electro-oculogram in Best's Macular Dystrophy and Retinitis Pigmentosa. *Archives of Ophthalmology* **107**, 530-537.
- Whiting PF, Rutjes AWS, Westwood ME, Mallett S, Deeks JJ, Reitsma JB, Leeflang MMG, Sterne JAC & Bossuyt PMM. (2011). QUADAS-2: A Revised Tool for the Quality Assessment of Diagnostic Accuracy Studies. *Annals of Internal Medicine* **155**, 529-536.

BIBLIOGRAFÍA

- Witmer AN, Vrensen GF, Van Noorden CJ & Schlingemann RO. (2003). Vascular endothelial growth factors and angiogenesis in eye disease. *Progress in Retinal and Eye Research* **22**, 1-29.
- Yang J, Patil RV, Yu H, Gordon M & Wax MB. (2001). T cell subsets and sIL-2R/IL-2 levels in patients with glaucoma. *American Journal of Ophthalmology* **131**, 421-426.
- Young LR & Sheena D. (1975). Eye-movement measurement techniques. *American Psychologist* **30**, 315-330.
- Yu M, Brown B & Edwards MH. (1998). Investigation of multifocal visual evoked potential in anisometric and esotropic amblyopes. *Investigative Ophthalmology and Visual Science* **39**, 2033-2040.
- Zamora J, Abaira V, Muriel A, Khan K & Coomarasamy A. (2006). Meta-DiSc: a software for meta-analysis of test accuracy data. *BMC Medical Research Methodology* **6**, 31.
- Zhang X, Hood DC, Chen CS & Hong JE. (2002). A signal-to-noise analysis of multifocal VEP responses: an objective definition for poor records. *Documenta Ophthalmologica* **104**, 287-302.
- Zrenner E. (1990). Chapter 12 The physiological basis of the pattern electroretinogram. *Progress in Retinal Research* **9**, 427-464.