

UNIVERSIDAD DE MURCIA

FACULTAD DE VETERINARIA
Departamento de Medicina y Cirugía Animal



**ELECTRODIAGNÓSTICO:
PROTOCOLO CLÍNICO Y ESTANDARIZACIÓN DE
ELECTRORRETINOGRAFÍA (ERG) Y POTENCIALES
EVOCADOS VISUALES (PEV) EN EL PERRO BEAGLE**

Tesis Doctoral presentada por la Licenciada en Veterinaria

D.ª Desireé Torres Soriano

Murcia 2010



UNIVERSIDAD DE
MURCIA

D^a **MARIA DEL CARMEN TOVAR SAHUQUILLO**, Profesora Titular de Universidad del
Departamento de MEDICINA Y CIRUGIA ANIMAL,

AUTORIZA:

La presentación de la Tesis Doctoral titulada "ELECTRODIAGNOSTICO:
PROTOCOLO CLINICO Y ESTANDARIZACIÓN DE ELECTRORETINOGRAFIA (ERG) Y
POTENCIALES EVOCADOS VISUALES (PEV) EN EL PERRO BEAGLE", realizada por D^a
DESIREÉ TORRES SORIANO, bajo mi inmediata dirección y supervisión, y que presenta para
la obtención del grado de Doctor por la Universidad de Murcia.

En Murcia a 1 de Septiembre de 2010

Fdo. M^a Carmen Tovar Sahuquillo

Facultad de Veterinaria
Departamento de Medicina y Cirugía Animal

Campus Universitario de Espinardo. 30100 Murcia
Tif. 868 88 4737 – Fax. 868 88 8401



D^a. Amalia Agut Giménez, Catedrática de Universidad del Área de Medicina y Cirugía Animal y Director del Departamento de Medicina y Cirugía Animal, INFORMA:

Que la Tesis Doctoral titulada “Electrodiagnóstico:Protocolo Clínico y Estandarización de Electrorretinografía (ERG) y Potenciales Evocados Visuales (PEV)en el Perro Beagle“, ha sido realizada por D^a Desireé Torres Soriano, bajo la inmediata dirección y supervisión de D^a. M^a Carmen Tovar Sahuquillo, y que el Departamento ha dado su conformidad para que sea presentada ante la Comisión de Doctorado.

Murcia, a 6 de septiembre de 2010



AGRADECIMIENTOS

Tras largo tiempo de estudio y dedicación para llevar a cabo esta tesis doctoral, me dispongo a agradecer el trabajo realizado por todos aquellos que creyeron en mí incondicionalmente.

A la Dra. M^a Carmen Tovar Sahuquillo, por dirigirme y confiar en mí para este complejo trabajo, y sobretodo por ser un ejemplo de pasión por la Oftalmología.

A Susana y Sergio, por “salvar” mi tesis de los virus maliciosos y por guiarme en el análisis estadístico.

A D. Joaquín Antonio Paredes Moreno, por su colaboración en el formato de la tesis.

A D. Francisco Laredo Álvarez, por su asesoramiento en la traducción al inglés del resumen de esta tesis.

A todos los alumnos internos y becarios que nos han ayudado en la fase experimental de esta tesis.

A mis amigos y compañeros de facultad, que siempre apostaron por mí y me animaron en los momentos más difíciles. Gracias por compartir vuestra vida conmigo.

A toda mi familia, por permitir que mis sueños se hagan realidad.

A Víctor, gracias por compartir tu vida conmigo.

A mi Jungli, por tantos años de compañía.

¡Gracias a todos por vuestra paciencia!

Dedico esta tesis:

A mis padres, mi ejemplo de esfuerzo y constancia.

A Víctor, por su continuo apoyo.

*A todos los que viven en un mundo de sombras...
...para que la luz llegue a sus ojos.*

ÍNDICE

CAPÍTULO 1. INTRODUCCIÓN	1
CAPÍTULO 2. OBJETIVOS	7
2.1. <u>OBJETIVO GENERAL</u>	9
2.2. <u>OBJETIVOS ESPECÍFICOS</u>	9
CAPÍTULO 3. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA	11
3.1. <u>BASES DE NEUROFISIOLOGÍA</u>	13
3.1.1. La neurona y la neuroglía	13
3.1.2. La fibra nerviosa	14
3.1.3. La transmisión sináptica. Potenciales de acción	15
3.2. <u>MECANISMO DE LA VISIÓN</u>	18
3.2.1. Fisiología de la visión	18
3.2.2. Bases de neuroanatomía	21
3.2.2.1. <u>Vías visuales centrales (sistema visual retino-cortical):</u>	21
a) La retina. Fototransducción	22
b) El nervio óptico	39
c) El quiasma óptico	40
d) El tracto óptico	42
e) El cuerpo geniculado lateral	42
f) Las radiaciones ópticas	45
g) El córtex visual	46
g.1. Estructura de la corteza cerebral	47
g.2. Estructura de la corteza visual	48
g.2.1. Córtex visual primario	48
g.2.2. Córtex visual secundario	52
3.2.2.2. <u>Vías fotomotrices (sistema óptico retino-tectal):</u>	55
a) Vía retino-tectal. Inervación parasimpática	55
b) Vía tecto-tegmento-espinal. Inervación simpática	57
3.3. <u>ELECTRODIAGNÓSTICO EN OFTALMOLOGÍA VETERINARIA</u>	57
3.3.1. <u>La Electroretinografía (ERG)</u>	58
3.3.1.1. Introducción	58
3.3.1.2. Definición	59
3.3.1.3. Técnicas de electroretinografía	59
3.3.1.4. Parámetros de estimulación luminosa:	60
a) Estimulador luminoso	61

b) Duración del estímulo	62
c) Longitud de onda del estímulo	62
d) Intensidad del estímulo	62
e) Nomenclatura del estímulo y de las respuestas	62
f) Iluminación de fondo	63
3.3.1.5. Parámetros de registro de las señales:	63
a) Los electrodos	63
b) El sistema de amplificación y filtrado	65
c) El sistema de registro y promediado	65
d) Representación y análisis de datos. El electroretinograma ..	65
3.3.1.6. Protocolo clínico:	69
a) Condiciones ambientales	69
b) Preparación del paciente	69
c) Colocación de electrodos	70
d) Preparación del equipo de registro	71
e) Elección del protocolo de estimulación	72
f) Obtención de los electroretinogramas básicos	73
g) Análisis e interpretación de resultados	74
3.3.1.7. Factores influyentes en la calidad del ERG:	75
a) Factores relacionados con el paciente	75
b) Factores técnicos del procedimiento	76
3.3.1.8. Indicaciones del ERG	76
3.3.2. <u>Los Potenciales Evocados Visuales (PEV)</u>	78
3.3.2.1. Definición	78
3.3.2.2. Técnicas de estimulación:	79
a) PEV con patrón geométrico invertido	79
b) PEV con patrón onset/offset	80
c) Flash-PEV	80
3.3.2.3. Parámetros de registro:	82
a) Los electrodos	82
b) El sistema de amplificación y filtrado	84
c) El tiempo de análisis	84
d) Los sistemas de promediado (averaging systems)	84
e) Calibración del sistema informático	85
3.3.2.4. Protocolo clínico:	85
a) Preparación del paciente	86
b) Estimulación luminosa y registro de los PEV	86
c) Representación gráfica de los PEV	87
d) Interpretación de resultados	89
3.3.2.5. Factores influyentes en la calidad de los PEV:	91

a) Factores propios del individuo.....	91
b) Factores propios de la técnica	92
3.3.2.6. Indicaciones de los PEV	93
3.3.2.7. Patologías del Sistema Visual Central influyentes en los PEV:	96
a) Afecciones del nervio óptico	96
b) Afecciones del quiasma óptico	98
c) Afecciones del tracto óptico	100
d) Afecciones del C.G.L	101
e) Afecciones de las radiaciones ópticas y de la corteza visual	101
 ANEXOS	 103
 CAPÍTULO 4. MATERIAL Y MÉTODO	 113
4.1. MATERIAL	115
4.1.1. Material animal	115
4.1.2. Material de examen clínico	115
4.1.3. Material para la preparación del paciente	115
4.1.4. Material de anestesia	115
4.1.5. Material fungible	115
4.1.6. Material de estimulación y registro	116
4.1.7. Material informático	116
4.1.8. Material fotográfico	116
4.1.9. Material estadístico	116
4.2. MÉTODO	117
4.2.1. Preparación del paciente	117
4.2.2. Colocación de electrodos	118
4.2.3. Calibración del sistema	119
4.2.4. Estimulación luminosa	121
4.2.5. Registro y promediado	121
 CAPÍTULO 5. RESULTADOS	 123
5.1. CALIDAD DEL PROTOCOLO DE OBTENCIÓN DE LOS PEV Y DEL ERG	125
5.2. REPRESENTACIÓN GRÁFICA Y OBTENCIÓN DE DATOS DE LOS PEV Y DEL ERG	126
5.2.1. Análisis de la morfología de la gráfica e interpretación de los datos obtenidos en el estudio de los potenciales evocados visuales (PEV)	126
5.2.2. Análisis de la morfología de la gráfica e interpretación de los datos obtenidos en el estudio electroretinográfico (ERG)	129
5.2.3. Informes de electrodiagnóstico	134
5.2.4. Análisis estadístico de los datos obtenidos en el estudio de los potenciales evocados visuales (PEV)	160

5.2.5. Análisis estadístico de los datos obtenidos en el estudio electroretinográfico (ERG)	164
5.3. FACTORES INFLUYENTES EN LA OBTENCIÓN DE LOS RESULTADOS	173
CAPÍTULO 6. DISCUSIÓN	175
6.1. ADECUACIÓN DEL PROTOCOLO CLÍNICO DE ELECTRODIAGNÓSTICO OFTALMOLÓGICO DISEÑADO	177
6.2. DISCUSIÓN Y ANÁLISIS DE LOS RESULTADOS OBTENIDOS ...	189
CAPÍTULO 7. CONCLUSIONES	195
7.1. CONCLUSIONES REFERENTES AL PROTOCOLO CLÍNICO	197
7.2. CONCLUSIONES REFERENTES A LOS RESULTADOS	198
CAPÍTULO 8. RESUMEN	199
CAPÍTULO 9. SUMMARY	203
CAPÍTULO 10. BIBLIOGRAFÍA.....	207

CAPÍTULO 1. INTRODUCCIÓN

La neuro-oftalmología podría considerarse, como su nombre indica, una disciplina intermedia entre la neurología y la oftalmología. Integrada por las bases de la neurofisiología, permite estudiar el complejo mecanismo de la visión, los movimientos pupilares, y los movimientos y la posición de los globos oculares y de sus anejos. El interés de la neuro-oftalmología consiste en permitir la localización con precisión de una lesión a nivel del sistema nervioso cuando nos encontramos ante afecciones neurológicas junto con síntomas oculares.

Es necesario un buen conocimiento de la anatomía del Sistema Nervioso y de las bases fisiológicas de la formación y conducción del impulso nervioso para así poder entender las diferentes rutas que forman el sistema visual.

La evaluación de la visión en los animales es compleja en ausencia de comunicación verbal y por su capacidad de adaptación a un estado de ceguera mediante el desarrollo de otros sentidos, como el olfato y el oído. En consecuencia surge la necesidad de utilizar conjuntamente distintas técnicas diagnósticas que nos permitan establecer, con la mayor fiabilidad posible, el grado de visión del animal.

El electrodiagnóstico surge como método diagnóstico complementario de la exploración visual, exploración neurológica y otras técnicas de diagnóstico para evaluar la integridad de las vías visuales. Se basa en un análisis objetivo y cuantitativo de los cambios en los potenciales eléctricos generados en varias partes del sistema visual.

La actividad eléctrica registrada mediante el electrodiagnóstico puede ser de carácter voluntario, espontáneo o evocado. La actividad eléctrica voluntaria tiene lugar cuando un animal consciente realiza un movimiento voluntario. La actividad eléctrica espontánea sin embargo puede ser registrada sin la participación voluntaria del animal y sin el uso de ningún estímulo externo que estimule sus células excitables (por ejemplo: el electroencefalograma-EEG). Por último, las respuestas evocadas representan la respuesta eléctrica a un estímulo externo intencionado, tipificado y de intensidad y frecuencia específica¹⁸⁴. Las respuestas evocadas que nos interesan para el estudio de la visión son los Potenciales Evocados Visuales (PEV) y el Electrorretinograma (ERG), y el estímulo externo que las provoca son los estímulos luminosos.

Muchas de las señales bioeléctricas son registradas a distancia (far-field) de los lugares generadores de las mismas, como es el caso de los PEV y del ERG. La selección de los electrodos apropiados para el registro de estas señales es por ello muy importante. Las técnicas electrodiagnósticas más utilizadas en veterinaria se basan en el uso de electrodos de superficie, resultando ser de este modo una técnica mínimamente invasiva. Aún así, en el estudio de los PEV, algunos investigadores utilizan electrodos fijados en el hueso craneal¹⁷², o subdurales con el fin de realizar un mapeo del córtex visual y obtener registros

crónicos o continuados que permitan así mayor comodidad en el estudio de la evolución de un tratamiento¹⁰⁷.

En la clínica veterinaria, siempre que queramos evaluar el estado de la función visual mediante un estudio de electrodiagnóstico debemos incluir el ERG y los PEV. En nuestro estudio hemos realizado ambas pruebas para caracterizar correctamente la función visual del paciente. Consideramos que estos dos tipos de técnicas electrodiagnósticas son complementarias a la hora de realizar una correcta interpretación de los resultados obtenidos, y siempre teniendo en cuenta la sintomatología clínica.

El estudio de los Potenciales Evocados Visuales (PEV) nos interesa especialmente porque hasta hace poco la única técnica disponible para estudiar la actividad eléctrica del córtex cerebral era el electroencefalograma (EEG), que registraba actividad eléctrica espontánea, pero no éramos capaces de discernir entre dichas señales de gran amplitud (aproximadamente de 55-60 uV) y las pequeñas señales (de 5uV de amplitud) de los PEV resultantes de estímulos luminosos repetidos. Así los PEV quedaban ocultos entre las diversas señales del EEG⁵³.

Los PEV sumarían un conjunto de señales eléctricas evocadas por el córtex visual tras una variedad de estímulos luminosos dirigidos a nivel ocular, mientras que el ERG registraría las señales evocadas por las células de la retina. Existen principalmente dos tipos de registro de los PEV: los PEV con patrón (mayormente utilizado en medicina humana por la necesidad de colaboración del paciente) y el Flash-PEV (muy utilizado en pediatría y en animales, por la poca necesidad de colaboración del paciente). Sin embargo, existen multitud de técnicas para la obtención del ERG, pero en oftalmología veterinaria también utilizamos mayoritariamente el Flash-ERG.

Ambas pruebas utilizan como fuente luminosa los flashes estroboscópicos o miniganzfeld y los diodos emisores de luz. Los haces de luz repetidos estimularán las células retinianas produciendo un conjunto de reacciones químicas en cadena que transformarán el impulso luminoso en señal eléctrica (proceso de fototransducción) que será registrada por el ERG. Ésta recorrerá la ruta del sistema visual hasta llegar al córtex occipital donde tendrá lugar la interpretación consciente de la visión. A su vez, la corteza visual evocará señales que serán registradas a nivel del cuero cabelludo mediante los electrodos de superficie en forma de Potenciales Evocados Visuales (PEV). Estas pequeñas señales se aumentarán de magnitud gracias al uso de un amplificador y serán conducidas a un programa informático donde las señales serán promediadas, y donde obtendremos una serie de gráficas a interpretar. En ambas pruebas, la onda obtenida estará compuesta de una serie de picos positivos y negativos que serán medidos en valores de amplitud y tiempos implícitos. Cada pico evaluará la funcionalidad de un tipo de célula retiniana en el caso del ERG y una porción

de las vías visuales en el estudio de los PEV. Las alteraciones del ERG y los PEV se basarán fundamentalmente en aumentos de los tiempos implícitos y disminución de las amplitudes.

El paciente al que se le realizará el estudio electrodiagnóstico previamente deberá haberse sometido a dilatación de sus pupilas, adaptación a la oscuridad o luminosidad (dependiendo del tipo de prueba que queramos realizar) y a sedación profunda o anestesia general que permita la inmovilización del animal durante aproximadamente 1-2h. Debemos tener en cuenta la influencia de ciertos factores como son: la especie animal, la raza, la edad, el tipo de anestesia, el tiempo de adaptación a la oscuridad o a la luz, los parámetros de estimulación y de registro del equipo utilizado, incluso los fármacos administrados o pruebas oftalmológicas realizadas antes del estudio.

La importancia del estudio de los PEV se basa en la capacidad de estudiar la integridad de las vías visuales centrales, desde las células ganglionares de la retina y cuyos axones forman el nervio óptico, pasando por el quiasma, tracto óptico, cuerpo geniculado lateral, radiaciones ópticas y córtex occipital. Mientras que el ERG nos proporciona información de la funcionalidad de cada tipo celular de la retina. De este modo podemos diferenciar la ceguera de tipo central de la ceguera producida por alteraciones en el globo ocular.

Ante una disminución o ausencia de visión deberíamos realizar en primera instancia un examen clínico del estado general del paciente, incluyendo una exploración neurológica adecuada. En segundo lugar pasaríamos a evaluar la integridad ocular general, prestando especial atención al fondo de ojo.

Como prueba de diagnóstico complementaria deberíamos realizar un electroretinograma (ERG) para descartar lesiones a nivel de retina. Si el ERG es normal y si el fondo de ojo es normal pero sigue habiendo ceguera, se realizarán los PEV. En el caso de obtener PEV patológicos se efectuarían pruebas diagnósticas complementarias (TAC, RM...).

La utilización del electrodiagnóstico está limitada por el coste del equipamiento y por la necesidad de profesionales entrenados en esta materia. Por ello estos procedimientos suelen utilizarse en centros veterinarios especializados.

En España los estudios concernientes a los Potenciales Evocados Visuales (PEV) se centran en medicina humana, y el gran desconocimiento de esta técnica en medicina veterinaria ha sido uno de los principales motores de nuestra investigación. Quizás algunos de los motivos de su desconocimiento son: el escaso trabajo en equipo de las especialidades de neurología y oftalmología, el coste del equipo de electrodiagnóstico, la dificultad que entraña su calibración y puesta a punto (calibración específica de cada equipo), la gran variabilidad inter-

e intraespecífica en relación con la interpretación de resultados, y la ausencia de un estándar (valores normales) para cada especie animal.

El estudio de los PEV en medicina humana es de gran importancia en el diagnóstico y seguimiento evolutivo de ciertas enfermedades que afectan al Sistema Nervioso Central (SNC): enfermedad desmielinizante del sistema nervioso central (albinismo, esclerosis...), neuritis óptica, lesión quiasmática, ambliopía, ceguera cortical, hipoxia neonatal, enfermedades neurodegenerativas y atrofia de vías visuales, coma, neurofibromatosis, isquemia e inflamación de vías visuales, tumores hipofisarios o cerebrales, epilepsia , trastornos de conducta, encefalopatías metabólicas, demencias...Esto abre una puerta en el estudio electrodiagnóstico de la medicina veterinaria, extrapolando los estudios de medicina humana a los animales. Todavía son necesarios múltiples estudios en este ámbito, pero desde este punto ya hace pensar en la valiosa utilidad futura de estas pruebas en la clínica veterinaria.

En la actualidad ya se han obtenido resultados alentadores a la hora de diagnosticar alteraciones de la funcionalidad de las vías visuales centrales en animales. Así se ha demostrado la utilidad de los PEV en patologías como: neuritis ópticas, enfermedades desmielinizantes, glaucoma, neoplasias y enfermedades inflamatorias e isquémicas del SNC...

Respecto al ERG, que cuenta con mayor número de estudios en la clínica veterinaria, ya conocemos su gran utilidad a la hora de evaluar la funcionalidad global de la retina previamente a la cirugía de cataratas, así como para diagnosticar precozmente enfermedades con componente hereditario que cursan con ceguera. Así mismo, también evalúa la funcionalidad de la retina en pacientes con enfermedades infecciosas, vasculares, metabólicas o tóxicas.

Teniendo en cuenta la gran capacidad diagnóstica que nos ofrece el estudio electrodiagnóstico en oftalmología veterinaria, hemos decidido elaborar un estándar de electrodiagnóstico y confeccionar un protocolo clínico válido para la especie canina. Entre nuestras perspectivas de futuro en la investigación de los PEV estaría la posibilidad de que nuestro estudio sirviera a su vez a otros investigadores para dar utilidad a esta prueba diagnóstica que creemos que tiene tanta importancia tanto a nivel de medicina humana como de medicina veterinaria.

CAPÍTULO 2.

OBJETIVOS

2.1. OBJETIVO GENERAL

El objetivo principal de esta tesis es la elaboración de un protocolo clínico de electrodiagnóstico para la clínica de oftalmología veterinaria, así como la estandarización de los valores normales del ERG y los PEV en el perro de raza beagle.

Para llevar a cabo este objetivo hemos considerado el ERG y los PEV como las dos pruebas electrodiagnósticas básicas necesarias en la clínica oftalmológica para evaluar la funcionalidad de la vía visual.

Esta investigación surgió con la necesidad de crear un protocolo clínico que nos permitiera obtener de la manera más rápida y eficiente unos resultados fiables y reproducibles del ERG y los PEV. Éste debería ser lo menos variable posible debido a la gran cantidad de factores relacionados con la técnica (tipo de anestesia, tipo y colocación de electrodos...) que influyen en los resultados.

Además, como así afirman la mayoría de estudios previos, creemos que es fundamental la realización de un estándar de datos normales para cada especie animal, y si es posible para cada raza. En nuestro estudio hemos elegido la especie canina por ser la más común en la clínica veterinaria, y la raza beagle por ser de tamaño intermedio entre el amplio rango de razas caninas existente.

La realización de unas tablas de valores normales del ERG y los PEV nos permitiría comparar y detectar anomalías en los registros, y así poder localizar la porción de la vía visual que está alterada.

2.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS

Existe una serie de objetivos previos o secundarios que hay que llevar a cabo para conseguir un protocolo clínico adecuado y un estándar de datos normales fiables.

Estos son:

1. Conseguir una muestra significativa de perros de raza beagle cuyo examen clínico y oftalmológico sea normal.
2. Plantear una sucesión lógica de los diferentes pasos que componen el protocolo clínico a diseñar: preparación de la sala de electrodiagnóstico, preparación del paciente, puesta a punto del equipo de análisis, orden de realización de las diferentes técnicas de

estimulación, registro y promediado de las señales evocadas, análisis e interpretación de resultados.

3. Establecer un protocolo de sedación y anestesia con la menor depresión del SNC, cuyo plano anestésico evite artefactos y permita realizar ambas técnicas en el menor tiempo posible.
4. Localizar las zonas adecuadas para la colocación de los electrodos que permitan la obtención de los mejores registros. De este modo se pretende crear un circuito eléctrico inocuo para el paciente y adecuado para registrar la mayor parte de las señales producidas por el sistema visual.
5. Calibrar el sistema de estimulación, registro y promediado del equipo de electrodiagnóstico. Éste constituye el objetivo más complicado a conseguir. Hay que ajustar los diferentes parámetros de estimulación y registro, pues los proporcionados por el fabricante no siempre son los idóneos ya que están diseñados para oftalmología humana.

En primer lugar habrá que ajustar los parámetros de estimulación, es decir, las características que queramos que tenga nuestro estímulo. Para ello siempre tendremos en cuenta el tipo de células que queramos estimular.

En segundo lugar tendremos que calibrar el sistema de registro, para que la impedancia de los electrodos sea la correcta y los filtros impidan detectar artefactos o señales que no nos interesan en nuestro estudio. Así, ajustando el amplificador diferencial y el sistema de promediado, conseguiremos aislar las señales que nos interesan procedentes del sistema visual de la actividad electroencefalográfica de fondo.

6. Interpretar las gráficas y realizar un análisis descriptivo de los datos obtenidos para evidenciar que corresponden a registros normales y reproducibles.

CAPÍTULO 3. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

3.1. BASES DE NEUROFISIOLOGÍA

El estudio del ERG y los PEV requiere el conocimiento de unas nociones básicas a cerca de la estructura y funcionamiento del Sistema Nervioso Central para, de este modo, poder interpretar correctamente las respuestas evocadas del sistema visual. En primer lugar definiremos la neurona y la neuroglía, representantes de la unidad básica anatómica y funcional del sistema nervioso, así como la fibra nerviosa que representa la unidad de transmisión del impulso nervioso. A continuación pasaremos a describir los tipos de conexiones o sinapsis entre neuronas y el mecanismo de generación y transmisión del impulso nervioso.

3.1.1. LA NEURONA Y LA NEUROGLÍA

La **neurona** (Fig.1) constituye la unidad anatómica y funcional del Sistema Nervioso. Son células altamente especializadas, capaces de generar y conducir impulsos nerviosos, incapaces de multiplicarse (son únicas). Poseen en cambio una larga vida en condiciones normales y tienen un elevado metabolismo que requiere un permanente y abundante aporte de oxígeno y glucosa².

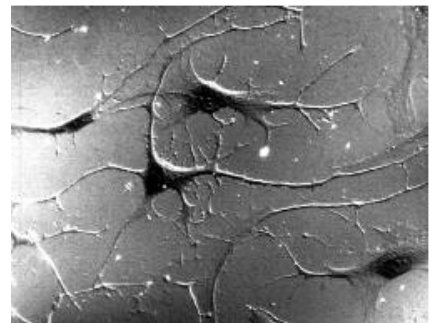


Fig.1: Neuronas.¹⁴

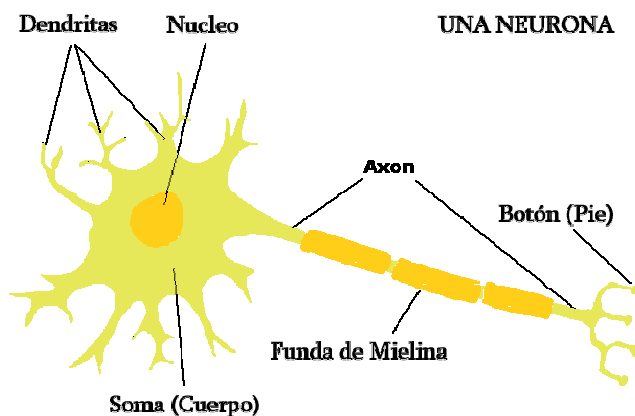


Fig.2: Partes de una neurona.¹³

Estructuralmente (Fig.2), la neurona está formada por un soma o cuerpo celular y unas prolongaciones. Está rodeada de una membrana celular o axoplasma formada por fosfolípidos que rodea el citoplasma y regula el transporte de solutos entre la neurona y el medio extracelular².

Las prolongaciones son de dos tipos: cortas, numerosas y ramificadas llamadas dendritas, y otra proyectada como una prolongación del cuerpo que se conoce como axón².

Desde el punto de vista funcional las neuronas pueden ser:

-*neuronas receptoras de estímulos*: encargadas de recibir información sensorial y transmitirla a los centros superiores.

-*interneuronas*: comunican las neuronas motoras con las sensoriales.

-*neuronas motoras*: transmiten los impulsos del Sistema Nervioso Central (SNC) a los órganos efectores (músculos y glándulas)².

A parte de las neuronas, en el SNC nos encontramos con otros tipos celulares necesarios para su correcto funcionamiento y que englobamos bajo el término de neuroglía².

La **neuroglía** consiste en un conjunto de células no excitables, por lo que no transmiten impulsos eléctricos, pero poseen la capacidad de multiplicarse y sus funciones se centran en dar estructura, nutrición y aislamiento al sistema nervioso, aunque su principal función sería ayudar a mantener el potencial de membrana de la neurona².

La neuroglía está compuesta por los siguientes tipos celulares:

-*astrocitos*: transportan nutrientes a la neurona y forma, en colaboración con la piamadre de las meninges, la barrera hematoencefálica entre la sangre y el parénquima cerebral.

-*oligodendrocitos*: presentes en todos los nervios “rápidos” y poseen un componente citoplasmático que rodea al axón, la mielina, que proporciona una cubierta aislante a la fibra nerviosa.

-*microglía*: con función defensiva, al igual que los macrófagos.

-*células ependimarias*: recubren los ventrículos del encéfalo y el canal medular e intervienen en la secreción y circulación del líquido cefalorraquídeo (LCR)².

3.1.2. LA FIBRA NERVIOSA

La conducción del impulso nervioso necesita un soporte estructural y funcional, la fibra nerviosa, que permita el paso de la corriente eléctrica desde las células sensoriales a las células motoras.

La **fibra nerviosa** es una estructura formada por uno o varios axones entrelazados. Ciertas fibras poseen sus axones mielinizados, aumentando así la velocidad de transmisión del impulso nervioso².

Según el grado de mielinización de la fibra nerviosa, existen tres tipos:

-tipo A: fibras mielínicas de los nervios raquídeos.

-tipo B: fibras mielínicas delgadas y con pequeña velocidad de conducción. Son las fibras preganglionares del Sistema Nervioso Vegetativo (SNV).

-tipo C: fibras amielínicas, delgadas y componentes de los nervios periféricos y de los nervios postganglionares del SNV².

3.1.3. LA TRANSMISIÓN SINÁPTICA. POTENCIALES DE ACCIÓN.

Entendemos como sinapsis (Fig.3) los diferentes tipos de conexiones de contigüidad entre las neuronas. Pueden ser de tipo axo-somáticas, axo-dendríticas, axo-axónicas y dendro-dendríticas².

Según la forma de la conexión tenemos tres **tipos de sinapsis**:

-sinapsis eléctricas: apenas hay separación entre las membranas pre- y postsinápticas, permiten el libre paso de iones de una neurona a otra, no necesitan neurotransmisor (NT), carecen de fatiga sináptica y producen una transmisión rápida y bidireccional del impulso nervioso. Este tipo de sinapsis existe a nivel del cerebelo y retina entre otros lugares².

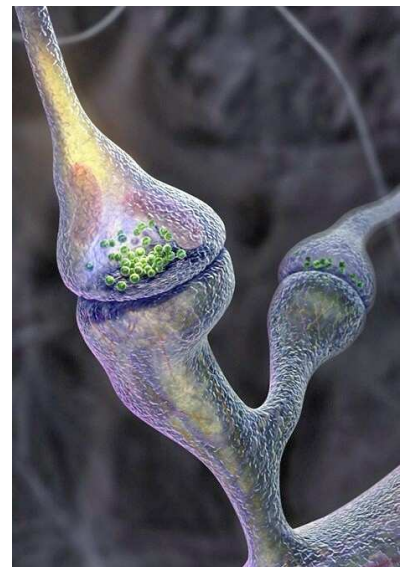


Fig.3: Sinapsis.⁷⁹

-sinapsis mixtas: poseen en el terminal presináptico, vesículas sinápticas contiguas con membranas postsinápticas. Este tipo de sinapsis está presente en el ganglio ciliar de los pollos de pocos días de vida².

-sinapsis químicas (Fig.4): compuestas por un terminal presináptico, una hendidura sináptica donde se liberarán los neurotransmisores y una membrana postsináptica. Este tipo de sinapsis es la más abundante entre las neuronas de los vertebrados².

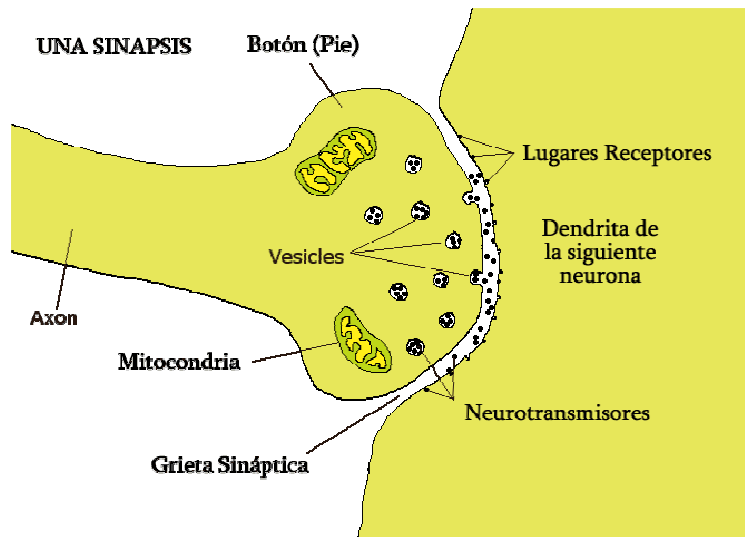


Fig.4: Sinapsis química.¹³

Mecanismo de la sinapsis:

La membrana celular soporta un gradiente eléctrico entre el espacio extracelular y el intracelular que difiere en voltaje. La carga intracelular en reposo es de aproximadamente -65 mV^2 .

La diferencia de carga eléctrica con el exterior genera un potencial de membrana en reposo (RMP), que consiste en la capacidad de la célula de ser excitada. A medida que el voltaje intracelular se hace más positivo, la membrana neuronal será más excitable².

Las bombas de Na^+ y K^+ son mecanismos de transporte transmembranosos que producen un flujo de iones de Na^+ al interior celular, reduciendo así la negatividad del voltaje intracelular (-45 mV) y excitando la neurona. Este proceso se denomina despolarización².

El aumento de la permeabilidad al Na^+ en la membrana postsináptica se debe a la unión de sus receptores con el neurotransmisor (Fig.5). Un mismo NT puede tener actividad excitadora en unas sinapsis e inhibitora en otras, según el receptor con el que interacciona. El neurotransmisor es una sustancia química de origen neuronal liberada por las terminaciones presinápticas a la hendidura sináptica y cuya acción tiene lugar en la membrana postsináptica².

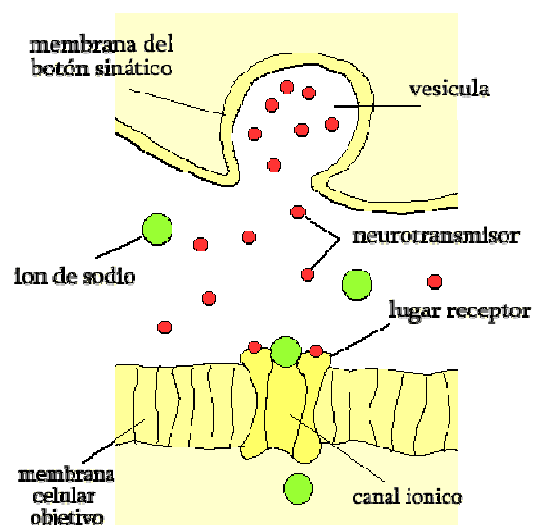


Fig.5: Detalle de la hendidura sináptica.¹³

La entrada de iones de Ca^{2+} a nivel presináptico es imprescindible para que se libere el NT. El Ca^{2+} entra en la neurona mediante unos canales de Ca^{2+} presentes en el terminal presináptico, y la cantidad de NT liberado en la hendidura sináptica es proporcional al número de iones Ca^{2+} que atraviesan estos canales².

El potencial sináptico despolarizante se denomina potencial excitador post-sináptico (PEPS) y cuando este alcanza un valor suficientemente elevado se desencadena un potencial de acción en la neurona postsináptica. Son necesarios cientos o miles de PEPS para generar un potencial de acción. La duración del potencial de acción es de 0,5 mseg. El potencial de acción se origina en la zona de más bajo umbral de la neurona, el lugar más excitable².

Los potenciales de acción están caracterizados por una serie de parámetros: amplitud, duración, y velocidad de conducción. La amplitud se mide en microvoltios y la duración en mseg².

Cuando la permeabilidad de la membrana permite el paso de iones negativos (Cl^-) al interior celular y la salida de iones K^+ de carga positiva produce un aumento de la negatividad en el interior (-75 mV), es decir, produce un efecto hiperpolarizante (repolarización) que inhibe a la neurona. Se genera un potencial inhibitorio postsináptico (PIPS). La fase de repolarización pretende restablecer la polaridad de la membrana en reposo. En la misma existen dos periodos refractarios, uno absoluto (la neurona no responde a ningún estímulo) y otro relativo (la neurona puede responder sólo a estímulos superiores al umbral)².

Algunos fármacos poseen efectos sobre la transmisión sináptica. La cafeína, teofilina y teobromina aumentan la excitabilidad sináptica por disminución del umbral de excitación. De modo inverso, los anestésicos y analgésicos incrementan este umbral, por lo que disminuye la transmisión sináptica².

Hemos descrito principalmente el mecanismo de las sinapsis excitadoras que se encargan de transmitir el impulso nervioso entre varias neuronas, pero las sinapsis inhibitorias son muy importantes en los procesos de selección de la numerosa información periférica que recibe el cerebro. Existen dos tipos de sinapsis inhibitorias:

- la inhibición presináptica, producida por una disminución del número de canales de Ca^{2+} que impide la liberación del NT.

- la inhibición postsináptica, donde el NT aumenta la permeabilidad al Cl^- y al K^+ , produciendo hiperpolarización, que disminuye la excitabilidad de la neurona. El NT que actúa es la glicina o el GABA (ácido gamma aminobutírico)².

3.2. MECANISMO DE LA VISIÓN

3.2.1. FISIOLOGÍA DE LA VISIÓN

El sentido de la vista es una modalidad sensorial que tiene lugar cuando un estímulo luminoso se transforma en estímulo químico y este a su vez en estímulo eléctrico (transducción foto-químico-eléctrica) para transportar la sensación visual a la corteza occipital donde tendrá lugar la consciencia de la visión². En el sistema visual acontecerán cinco sinápsis neuronales, tres de las cuales son a nivel retiniano, y las dos restantes tienen lugar en cuerpo geniculado lateral y en el córtex occipital respectivamente¹⁹³. Gracias a estas cinco sinápsis la contigüidad de las vías se garantiza para conducir los impulsos eléctricos.

El sistema visual se compone principalmente de los ojos, que actúan como “ventanas” del cerebro dejando pasar los estímulos luminosos, y de las vías visuales centrales.

En capítulos posteriores diferenciaremos anatómicamente la ruta visual propiamente dicha o ruta retino-cortical, de las vías fotomotrices o ruta óptica retino-tectal, encargada de los reflejos pupilares. Ambas rutas poseen una parte común: la retina, el nervio óptico, el quiasma óptico y el tracto óptico cuyos fascículos se separan tomando una ruta u otra. Un defecto en este tramo común producirá alteración de la visión y de los reflejos y diámetros pupilares.

La ruta retino-cortical (Fig.6) continúa el tracto óptico con los cuerpos geniculados laterales (CGL) situados en el tálamo, las radiaciones o cintillas ópticas y el córtex visual u occipital. Un defecto en este tramo produciría falta de visión pero conservaría los reflejos pupilares.

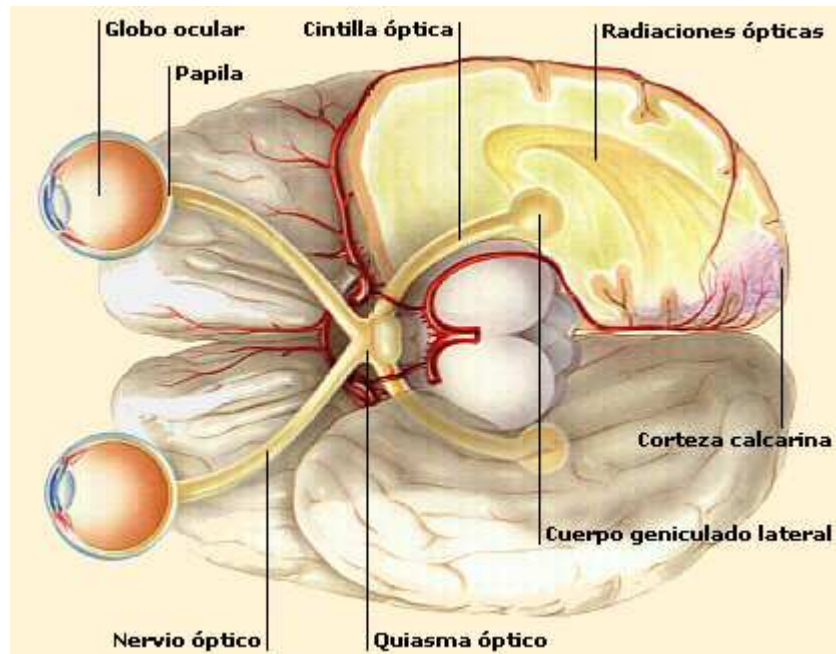


Fig.6: Ruta retino-cortical.⁸

Por otro lado, la ruta retino-tectal (Fig.7) conduce el tracto óptico hacia los colículos rostrales en el mesencéfalo, la región pretectal y más tarde sigue una vía parasimpática o simpática dependiendo del efecto que se quiera producir sobre la pupila.

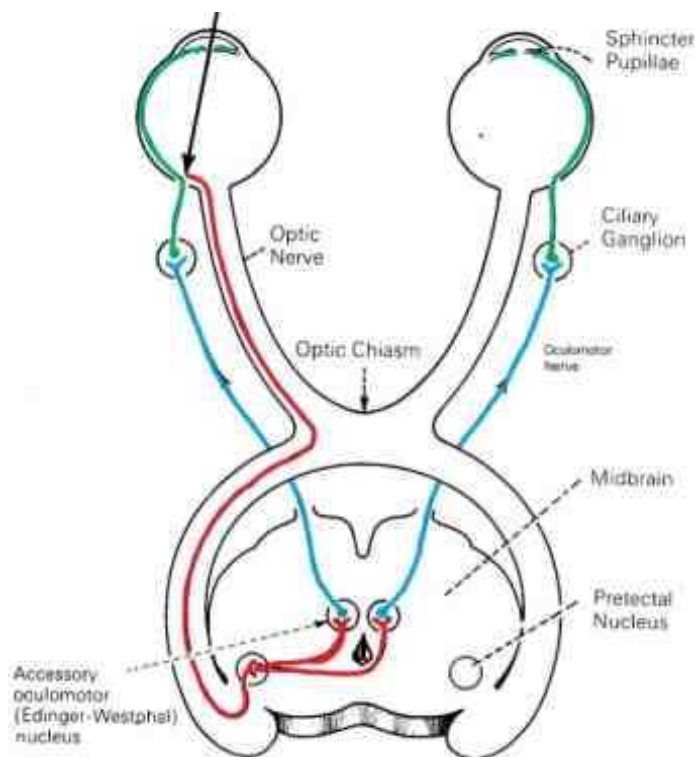


Fig.7: Ruta retino-tectal (vía parasimpática).¹⁷⁸

Un defecto en este tramo particular provocaría anomalías del reflejo fotomotor pupilar (RFP), pero no de la función visual en sí.

Para estudiar el mecanismo de la visión es fundamental entender que el ojo es un órgano sensitivo muy complejo que recibe la luz procedente de los objetos, la enfoca sobre la retina formando una imagen y la transforma en información comprensible para el cerebro. La existencia de dos ojos nos permite una visión panorámica y binocular del mundo circundante, y la capacidad del cerebro para combinar ambas imágenes produce una visión tridimensional o estereoscópica. Para entender la percepción visual definiremos el concepto de campo visual.

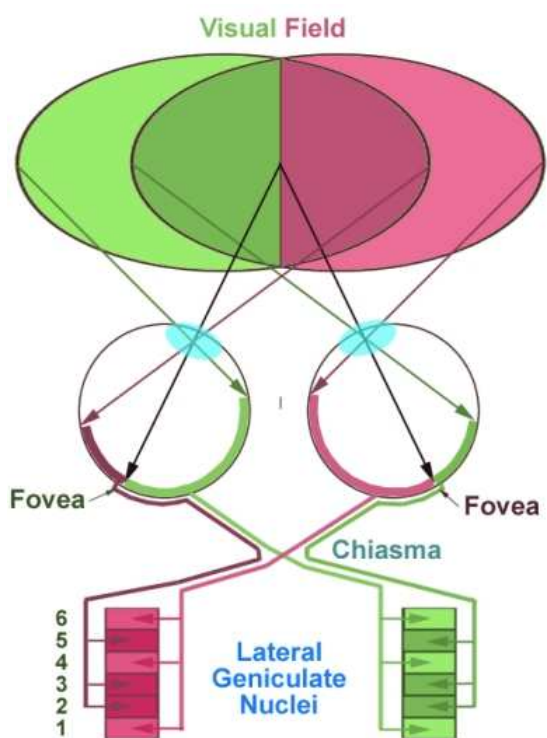


Fig.8: Campo visual.¹³⁸

El campo visual (Fig.8) es el área espacial a partir del cual puede formarse la imagen visual completa. Así el campo visual de cada ojo es de tipo monocular, sin sensación de profundidad, pero existe un área central en la que se superponen los campos visuales de cada ojo formando el campo binocular. De este modo las impresiones de las imágenes del área binocular han de superponerse en la corteza cerebral dando la percepción de profundidad o visión tridimensional^{2,50}. En animales no predadores los ojos se sitúan lateralmente en el cráneo, su campo visual será de gran amplitud (sin a penas área ciega posterior, aunque sí poseen área ciega anterior) para facilitar la huida de los depredadores, pero su campo binocular será reducido. En cambio, en

animales predadores los ojos son más frontales, su campo binocular es mayor (85°+), pero el área ciega posterior al cráneo es mayor. La especie canina posee un campo visual total de 240-250°, mientras que el hombre dispone de 180°. Sin embargo, el campo binocular del hombre es más extenso (140°) que el del perro (30-60°). Esto se debe a la diferencia de tamaño craneal y a la posición de los ojos.¹¹⁴

El campo binocular más extenso posibilita una percepción de la profundidad de campo más exacta y permite así una mejor coordinación de los movimientos corporales. De diferente modo, un amplio campo visual lateral proporciona visión panorámica⁵³.

El proceso de la visión tiene lugar gracias a la luz, formada por un pequeño conjunto de radiaciones electromagnéticas de longitudes de onda comprendidas entre los 380 nm y los 770 nm.

Podemos diferenciar dos tipos de visión, según ésta tenga lugar en presencia de luz o en penumbra.

La visión fotópica (en presencia de luz) está mediada a nivel retiniano por los conos y se proyecta principalmente a nivel del córtex occipital (áreas 17-19). Por el contrario, la visión escotópica (en ausencia de luz o en penumbra) tiene lugar gracias a los bastones de la retina y proyecta sus imágenes de manera más difusa a nivel subcortical y cortical, directamente o por medio de radiaciones subcorticales. La función del sistema fotópico central retiniano es discriminadora de tamaño (agudeza visual), de contrastes de alto nivel y del color; mientras que el sistema escotópico periférico de la retina detecta variaciones de la luminancia. A nivel cortical, las neuronas binoculares discriminan los relieves¹⁹³.

3.2.2. BASES DE NEUROANATOMÍA

El estudio diferencial de las vías visuales centrales y de las vías fotomotrices es fundamental para poder localizar las lesiones que generan un déficit visual, y para ello es fundamental un buen conocimiento anatómico y funcional de las mismas.

3.2.2.1. VIAS VISUALES CENTRALES (SISTEMA VISUAL RETINO-CORTICAL)

El sistema visual retino-cortical es el encargado de procesar y analizar la escena visual. Y además gracias a él tiene lugar la visión binocular⁵³.

Las vías visuales centrales están formadas por la retina, el nervio óptico, el quiasma óptico, el tracto óptico, los cuerpos geniculados laterales, las radiaciones ópticas y la corteza cerebral occipital (córtex visual primario y secundario).

En el sentido de la visión, los haces luminosos atraviesan las diferentes estructuras del ojo para proyectar las imágenes sobre la retina formando una imagen óptica de menor tamaño a la real, invertida y de dos dimensiones, como si de un esbozo de la imagen real se tratara (Fig.9). La corteza visual occipital será la encargada más tarde de formar una imagen igual a la real, de mayor tamaño, derecha y en tres dimensiones².

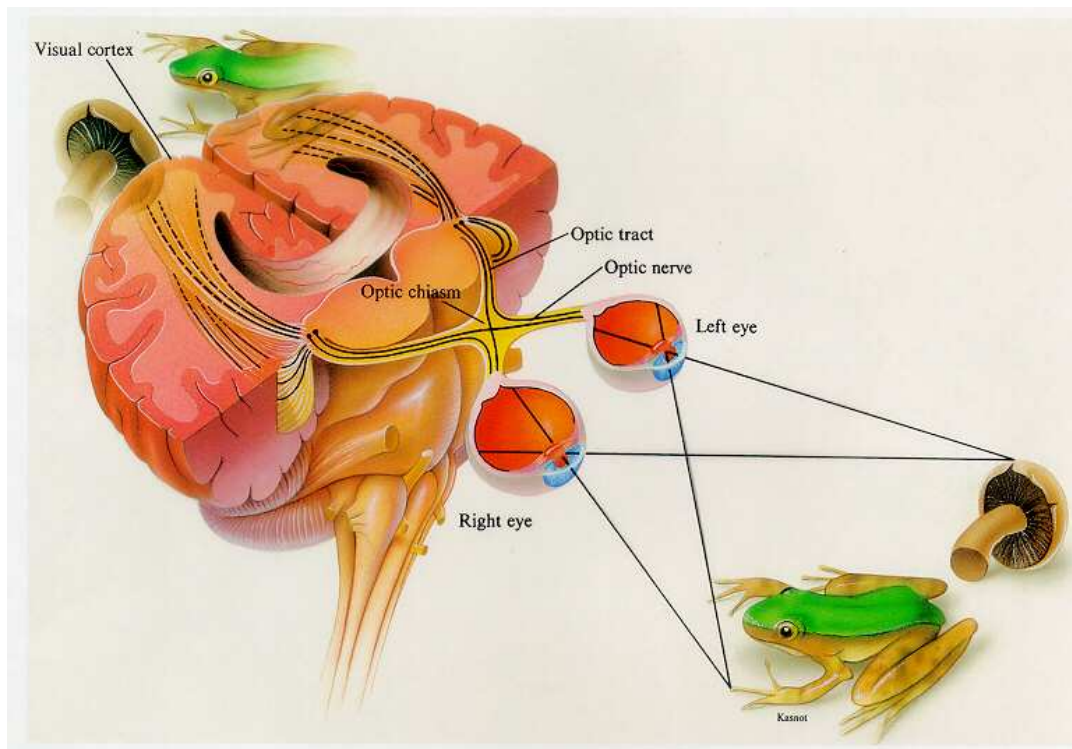


Fig.9: Formación de la imagen visual.¹⁹⁴

a) La retina. Fototransducción.

La retina es la capa más interna del ojo, encargada del tratamiento de la imagen óptica que le llega del exterior tras pasar los diferentes medios de refracción (córnea y cristalino), compactando y codificando la información visual en forma de mensajes neuronales o potenciales de acción que serán transportados hasta la corteza visual donde serán interpretados.

Histológicamente (Fig.10), la retina está formada por diez capas^{95, 183,199}:

- epitelio pigmentario
- capa de fotorreceptores (conos y bastones)
- membrana limitante externa
- capa nuclear externa
- capa plexiforme externa
- capa nuclear interna
- capa plexiforme interna
- capa de células ganglionares
- capa de fibras nerviosas del nervio óptico
- membrana limitante interna

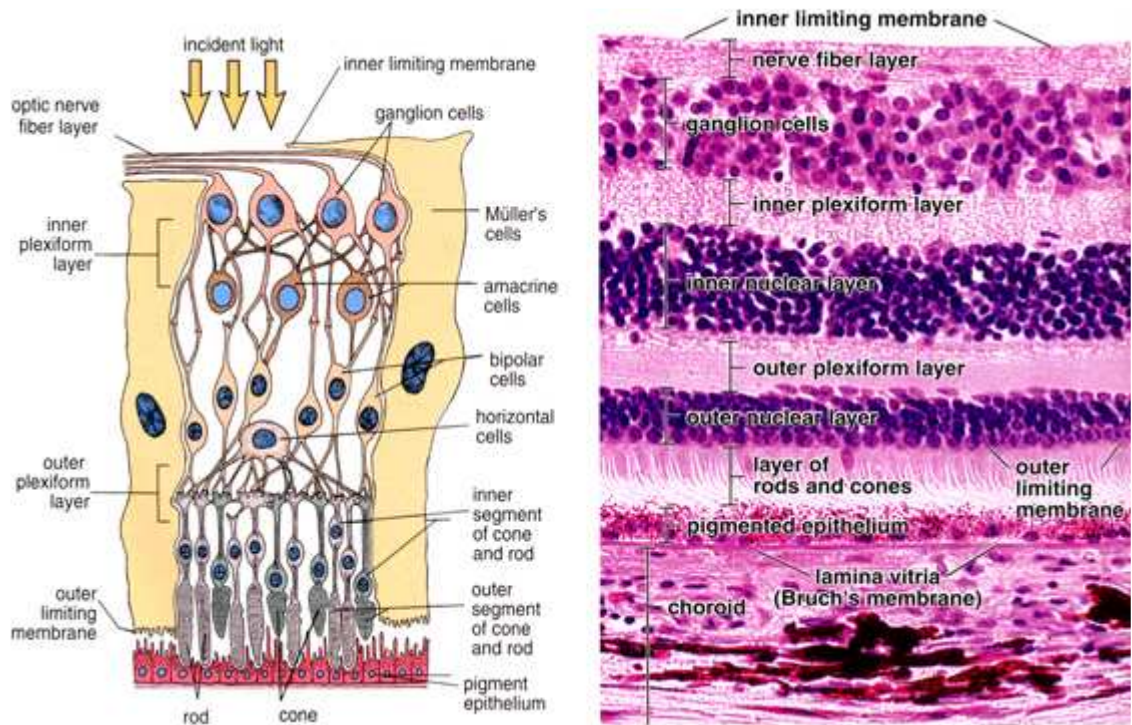


Fig.10: Capas celulares e histología de la retina.³⁶

A excepción del epitelio pigmentario, las nueve capas restantes forman la neuro-retina¹⁸³.

- El epitelio pigmentario es el estrato más externo de la retina. Contacta con la coroides para tener acceso a los nutrientes que transporta en sus vasos. Como su nombre indica, el epitelio pigmentario es rico en pigmento, la melanina, excepto en la zona tapetal (Fig.11 y 12) del fondo de ojo donde carece de él.

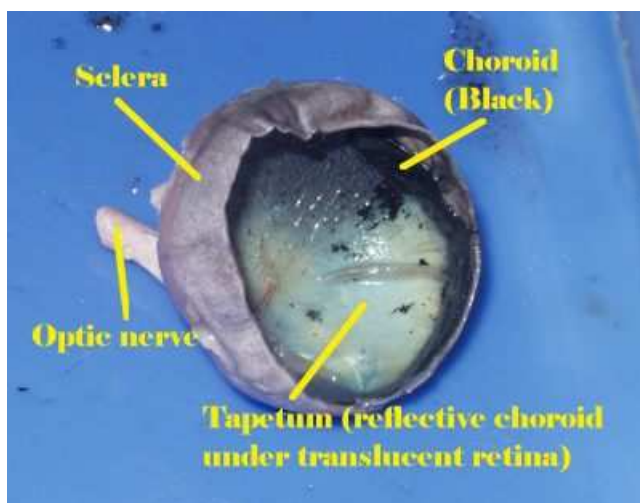


Fig.11: Zona tapetal en la coroides.¹¹¹

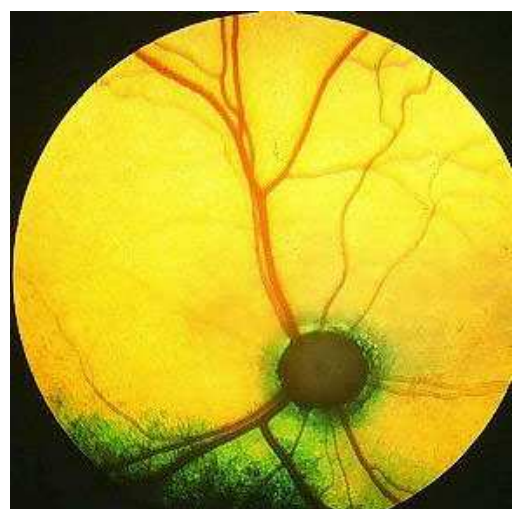


Fig.12: Fondo de ojo con gran tapete.¹⁰

En la zona tapetal, a nivel de la coroides, se encuentra el tapete. Es una estructura celular en carnívoros y fibrosa en herbívoros, que está ausente en el hombre y el cerdo. En esta zona, al carecer el epitelio pigmentario de pigmento, la luz lo atraviesa, y choca sobre el tapete siendo reflejada de nuevo hacia la capa de fotorreceptores, actuando este como un amplificador. En ambientes escotópicos esta función es muy importante para aprovechar al máximo la poca luz que exista en el entorno. Se trata de un proceso evolutivo de nuestros animales domésticos, excepto en el cerdo, como ya hemos dicho.

El epitelio pigmentario posee varias funciones, entre las cuales las más importantes son: el aporte de nutrientes a los fotorreceptores, la fagocitosis (Fig.13) de los discos degenerados del segmento externo de los fotorreceptores y la regeneración de los pigmentos visuales.

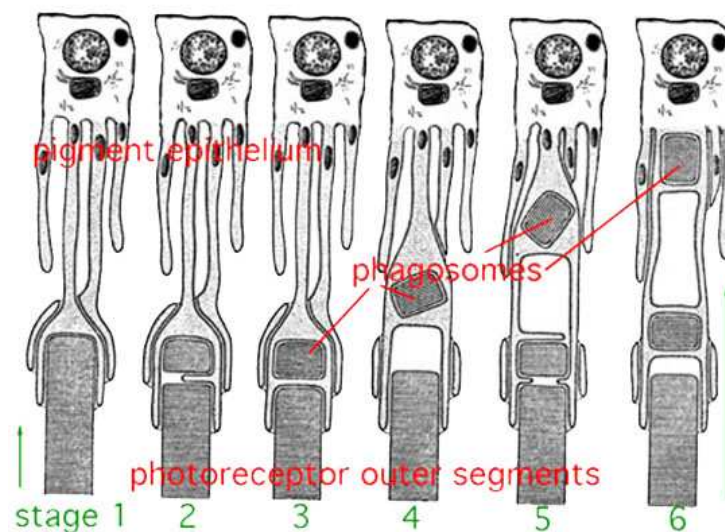


Fig.13: Regeneración del fotorreceptores.⁸³

- La capa fotorreceptora está formada por los segmentos externos, cargados de pigmentos visuales, de los conos y bastones (Fig. 14 y 15).

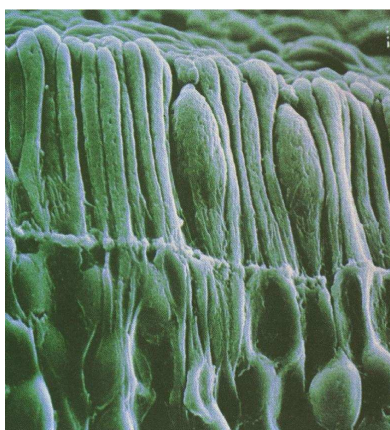


Fig.14: Microscopía electrónica de los fotorreceptores.⁷⁸

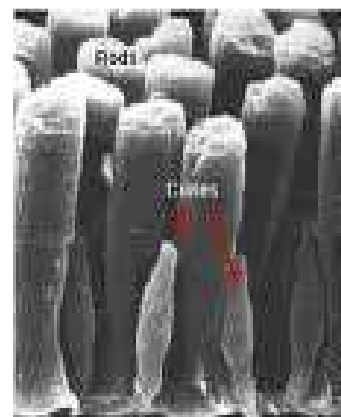


Fig.15: Microscopía electrónica de los fotorreceptores.⁴⁸

- A continuación se dispone la membrana limitante externa formada por el cilio de los fotorreceptores, que separa su segmento externo del interno, y por una porción de la célula de Müller. Este tipo celular se extiende desde esta capa hasta la membrana limitante interna, formando el “esqueleto” estructural de la retina, capta glucógeno para proteger a la retina frente a fluctuaciones del nivel sistémico de glucosa y también elimina el exceso de iones de K^+ en la retina contribuyendo en la generación de la “onda b” del ERG⁵³.

- La capa nuclear externa está formada por los núcleos de los conos y bastones, situados en el segmento interno de los fotorreceptores.

- La capa plexiforme externa está compuesta por las extensiones axonales de los fotorreceptores y por las expansiones sinápticas de éstos que contactan con las células bipolares y horizontales.

- La capa nuclear interna contiene los núcleos de las células bipolares, de las células de Müller, de las células horizontales y de las células amacrinas (Fig.16).

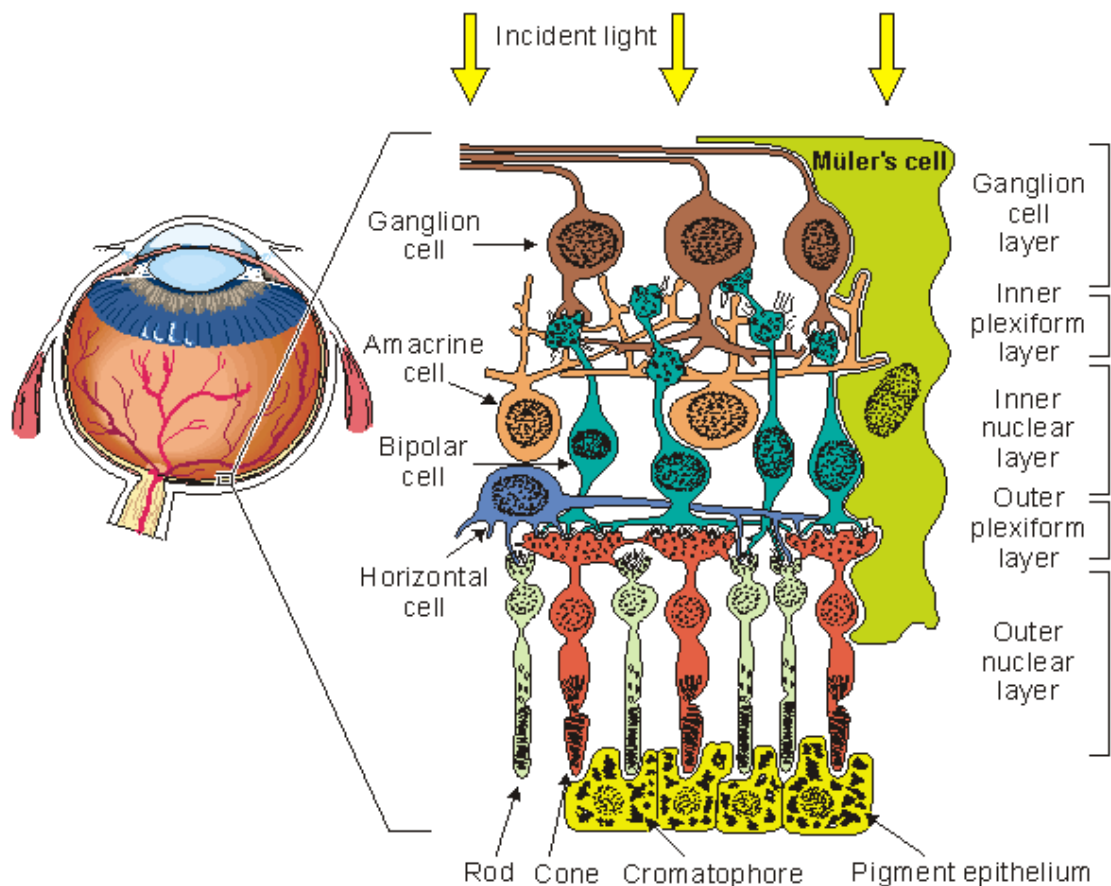


Fig.16: Estructura celular de la retina.¹⁰³

La función de las células bipolares es conectar los fotorreceptores y las células ganglionares (Fig.16). Las células horizontales, se cree que integran las respuestas procedentes de los fotorreceptores y aumentan la sensibilidad a los cambios de contraste y color, por el fenómeno denominado inhibición lateral. Y las células amacrinas actúan de un modo similar a las horizontales en el procesado lateral de la señal.

- La capa plexiforme interna está integrada por los axones de las células bipolares, horizontales, amacrinas, y las dendritas de las células ganglionares, por lo que numerosas sinapsis tienen lugar en esta capa.

- La capa celular ganglionar está constituida por los grandes núcleos de las células ganglionares. Dichas células son auténticas neuronas formadoras de potenciales de acción.

- La capa de fibras nerviosas está formada por los axones de las células ganglionares que forman los haces nerviosos que transcurren en paralelo a la retina hasta el disco óptico y lámina cribosa, donde se mielinizan para formar el nervio óptico.

- La membrana limitante interna es la capa más interna de la retina, y contacta con el vítreo. Es una membrana basal donde se fijan las células de Müller^{183, 199}.

A su vez, las diferentes capas de la retina están formadas por los tipos celulares que hemos citado anteriormente y que estudiaremos a continuación.

Células de la retina¹⁵¹

La retina tiene tres tipos de células:

1. Pigmentadas: Se encargan del metabolismo de los fotorreceptores.

2. Neuronas: Hay cinco tipos:

- 1. Células fotorreceptoras: Son los conos y los bastones.
- 2. Células horizontales.
- 3. Células bipolares de la retina.
- 4. Células amacrinas
- 5. Células ganglionares de la retina.

3. Células de sostén:

- 1. Astroцитos.
- 2. Células de Müller.

1-Fotorreceptores:

Existen dos tipos de fotorreceptores: los conos y los bastones. Los conos son las células responsables de la visión fotópica y de la visión en color. Por el contrario, los bastones son funcionales cuando la intensidad lumínica del ambiente es baja, son más sensibles a la luz, y así se encargan de la visión escotópica y de la detección del movimiento⁵³. En concreto, la retina del perro está compuesta mayoritariamente por bastones debido a sus hábitos nocturnos.¹¹⁴

Existe tan sólo un tipo de bastón, mientras que podemos distinguir tres tipos de conos (S, M y L) en animales con visión tricromática, dependiendo del espectro de absorción del pigmento fotosensible. Los conos S, M y L poseen un máximo de absorción en longitudes de onda cortas, medias y largas respectivamente, y son responsables de la detección del color azul, verde y rojo⁵³ (Fig.17). En el perro existen solamente dos tipos de conos que les permite ver colores de la gama de los azules y amarillos, mientras que no son capaces de distinguir los verdes o rojos.¹¹⁴

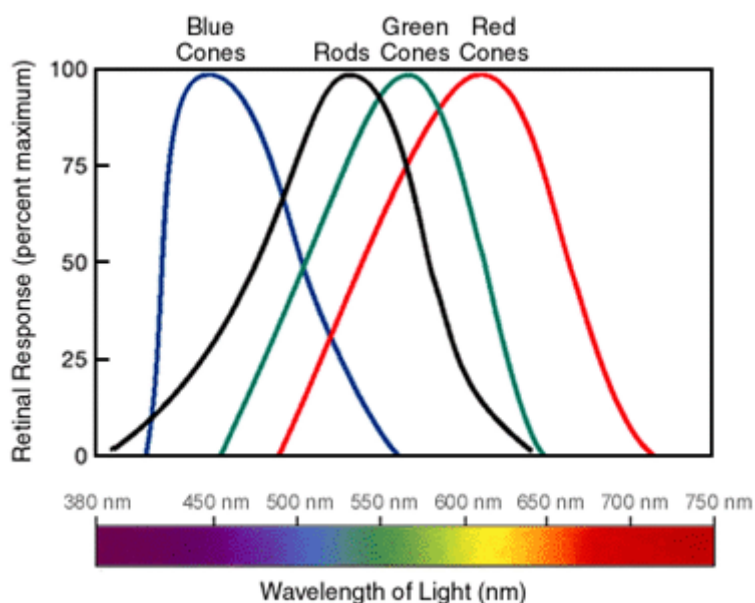


Fig.17: Sensibilidad espectral de los fotorreceptores.³⁵

La densidad de conos es mayor en el área central de la retina, mientras que los bastones abundan en la periferia (Fig.18). Este hecho permite diferenciar la retina en dos porciones, retina central y retina periférica, que es necesario para comprender cómo se transmite la información visual por las vías visuales y cómo es procesada en los centros superiores de la visión (Fig.19).¹⁹⁹ La especie canina posee una zona oval en la retina (raya visual-visual streak), situada nasalmente, donde existe la mayor concentración de fotorreceptores y células

ganglionares. Esta zona es similar a la fovea de la retina humana y representa la porción de mayor agudeza visual.¹¹⁴

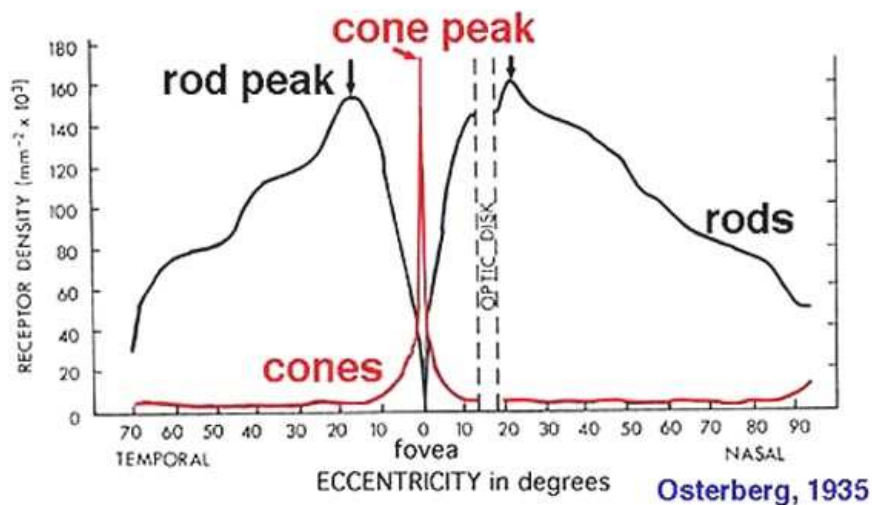


Fig.18: Gráfica de densidad de conos y bastones en la retina humana.⁸⁴

	RETINA CENTRAL	RETINA PERIFÉRICA
RELACION ENTRE CONOS, C.BIPOLARES Y C.GANGLIONARES	1:1:1 (CONOS: BIPOL.: GANGL.)	127:1 (CONOS + BASTONES: GANGL.)
Ø CAMPOS RECEPTIVOS	PEQUEÑO	GRANDE
TIPO DE VISIÓN	AGUDEZA VISUAL Y DEFINICIÓN DE LA FORMA VISIÓN CROMÁTICA	BAJA AGUDEZA VISUAL. VISIÓN DEL CONTRASTE Y MOVIMIENTO. VISIÓN ESCOTÓPICA
SENSIBILIDAD A LA LUZ	BAJA	ALTA (GRAN CANTIDAD DE PIGMENTO)

Fig.19: Tabla comparativa de las características de la retina central y periférica.¹⁹⁹

La estructura de los conos y los bastones está compuesta por tres regiones¹⁹⁹:

- el segmento externo (SE): formado por multitud de discos membranosos cargados de pigmentos visuales (rodopsina en bastones (Fig.20) y yodopsina en conos) cuya función es la fotorrecepción² (Fig.21).

- el segmento interno (SI): contiene el núcleo, mitocondrias y demás estructuras citoplasmáticas. Está separado del segmento externo por un cilio modificado² (Fig.21).

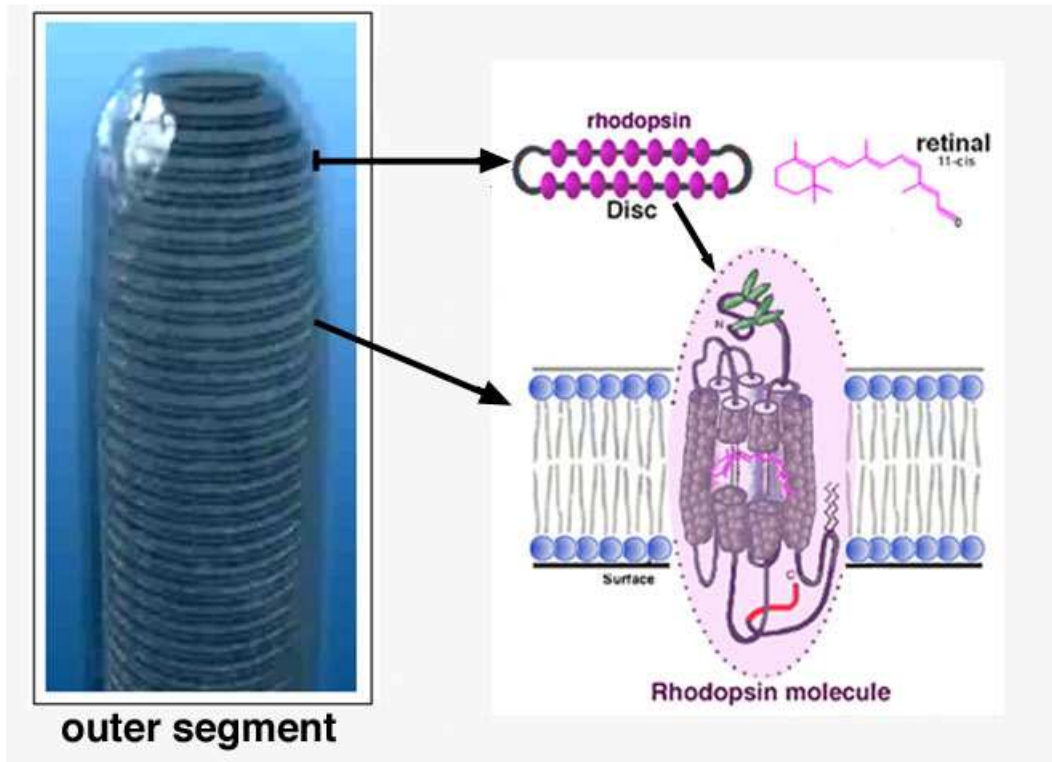


Fig.20.Molécula de rodopsina en los discos del segmento externo del bastón.⁸³

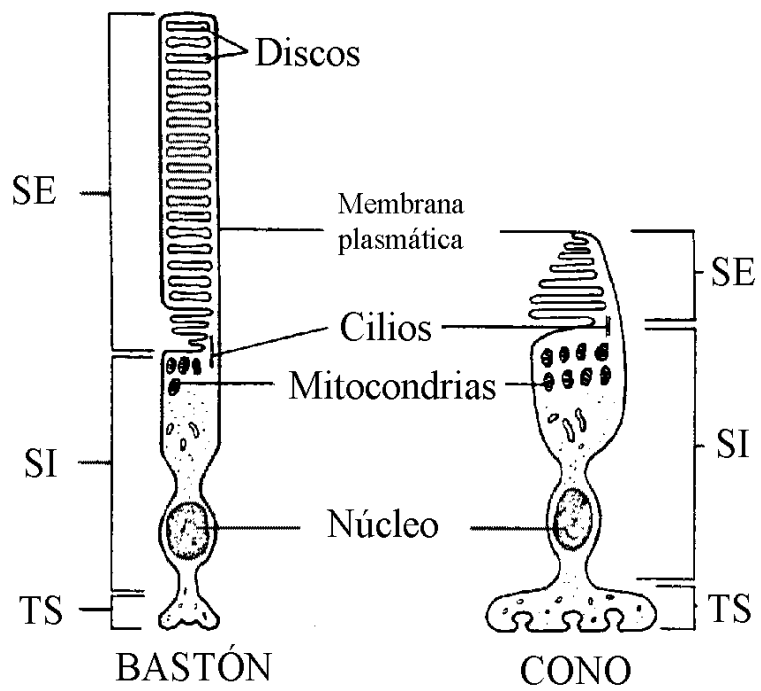


Fig.21.Estructura de un cono y un bastón.²

- el terminal sináptico (TS): es la porción terminal y más interna del fotorreceptor y contacta con una o varias células bipolares² (Fig.21).

La función más importante de la retina en el mecanismo de la visión es la transformación de los estímulos luminosos en señales eléctricas. Este fenómeno es denominado fototransducción o transducción foto-químico-eléctrica y tiene lugar en los fotorreceptores (conos y bastones). El mecanismo de la fototransducción comienza en su totalidad en el segmento externo con la absorción de los fotones por los fopigmentos de los fotorreceptores. Los pigmentos visuales (rodopsina y yodopsina) están formados por una opsina, que determina la longitud de onda del fotón que absorberá, y la vitamina A1, 11-cis-retinaldehído (retinal) que es la porción que absorbe la luz (cromatóforo). Los bastones son células muy sensibles a la luz y son receptores de baja frecuencia (380-600 nm de longitud de onda). Por el contrario, los conos son menos sensibles a la luz y son receptores de alta frecuencia (450-780 nm)².

Durante la oscuridad, el segmento externo de los fotorreceptores genera una “corriente de oscuridad” (Fig.22 y 23), que consiste en un flujo iónico entre el exterior y el interior celular. Y está compuesta en un 80% por Na⁺ entrante y un 20% de Ca⁺⁺ también entrante. Junto a esta entrada de iones, también existe en el segmento externo un contratransporte que modula la entrada de 4 iones Na⁺ por la salida de un Ca⁺⁺ y un K⁺.

Además, en el segmento interno existe una bomba de Na⁺/K⁺, que provoca la salida de 3Na⁺ y la entrada de 2K⁺ dependiendo del sistema ATP/ATPasa.

El conjunto de estos tres mecanismos produce un equilibrio iónico en la oscuridad que será modificado en presencia de luz.

Los fotorreceptores, al contrario que la mayoría de células excitadas del organismo, se despolarizan en la oscuridad, abriendo sus canales de Na⁺ y produciendo la corriente de oscuridad. Durante este proceso tiene lugar una liberación continua de glutamato, que es el neurotransmisor (NT) de los fotorreceptores, a la hendidura sináptica para transmitir la señal eléctrica a las células bipolares y horizontales. Por el contrario, en presencia de luz se producirá la hiperpolarización de las células al disminuir la corriente de oscuridad, y por lo tanto se reducirá la liberación del NT en proporción a la amplitud de la hiperpolarización².

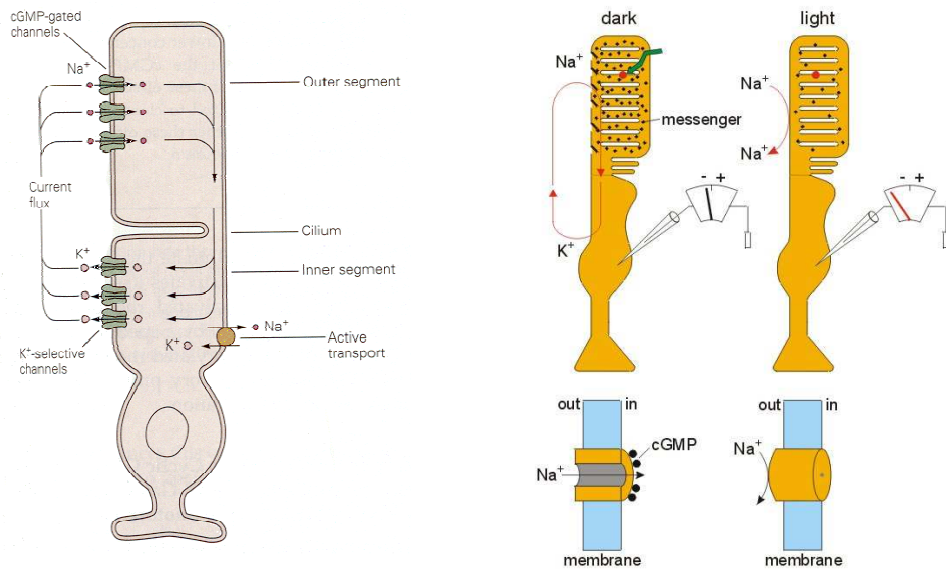


Fig. 22 y 23: Flujo iónico en los fotorreceptores.^{106,120}

Ante la presencia de luz, existe una cadena de procesos bioquímicos que se dividen en tres fases principales (Fig.24) y que producirán la hiperpolarización de los conos y bastones².

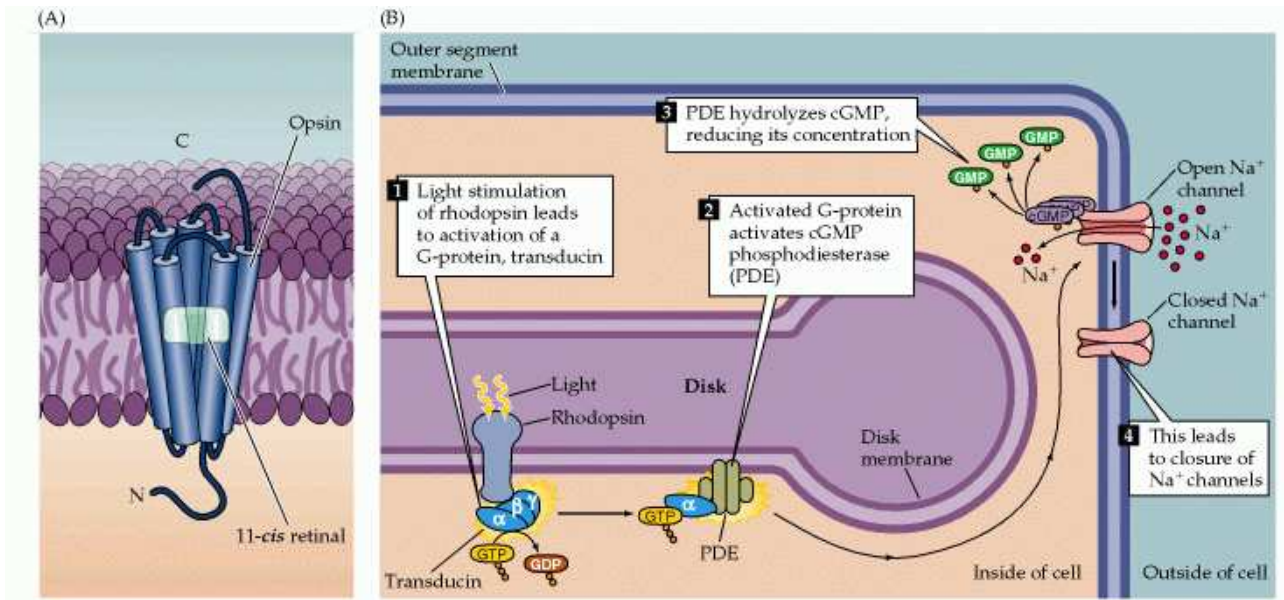


Fig.24: Fases de la fototransducción en presencia de luz.¹⁴⁶

1- En el caso de los bastones, que son los fotorreceptores mejor estudiados, en la primera fase se produce la absorción de los fotones por la rodopsina y la fotoisomerización de su cromóforo en 11-trans-retinal. Esta molécula interacciona con la transducina, que es una G-proteína².

2- En una segunda fase la transducina activada se escinde en dos, donde su porción de GPD (Guanidín difosfato) se intercambia por un GPT (Guanidín trifosfato) y se libera como α -GPT, que a su vez impedirá la inhibición de la fosfodiesterasa (PDE). La PDE quedará activada².

3- Por último, en la tercera fase, la PDE hidroliza el GMPC (ácido guanílico cíclico) en 5'-GMP. Este descenso de GMPC provocará el cierre de los canales de Na^+ del segmento externo².

Los mecanismos de desactivación tienen lugar también en estas tres fases (inactivación de la rodopsina, inactivación de la PDE y síntesis de GMPC). La regeneración del pigmento tendrá lugar durante la ausencia relativa de luz. Para ello el trans-retinal se transformará en cis-retinal de nuevo. Y éste se unirá a la opsina para formar el pigmento visual².

En los conos y bastones no existe potencial de acción, tan sólo un potencial receptor que se transmite al resto de células nerviosas, siendo las células ganglionares las únicas que transmitirán los potenciales de acción a través del nervio óptico².

El proceso de fototransducción culmina con la generación de la señal eléctrica, por lo que a partir de este momento describiremos los mecanismos de transporte de dicha señal a través de las diferentes células de la retina.

Para estudiar la transmisión de la señal eléctrica hay que tener en cuenta que los fotorreceptores no son independientes entre sí, sino que están conectados mediante sinapsis eléctricas o gap-junctions, que producirán el aumento de la amplitud de la respuesta de una célula fotorreceptora cuando los fotorreceptores vecinos son también iluminados. Pero el principal tipo de sinapsis que produce el paso unidireccional de la señal eléctrica generada a las células bipolares y horizontales es la sinapsis química en forma de tríada o sinapsis invaginada (Fig.25). La membrana presináptica dispondrá de una zona central para la unión con las células bipolares y dos zonas laterales para el contacto con las células horizontales. Además, en los conos existen unas zonas de sinapsis superficiales alrededor de la sinapsis invaginante para contactar con las células bipolares planas. De esta manera, diferenciamos células bipolares invaginantes y bipolares planas según su conexión sináptica¹⁶³.

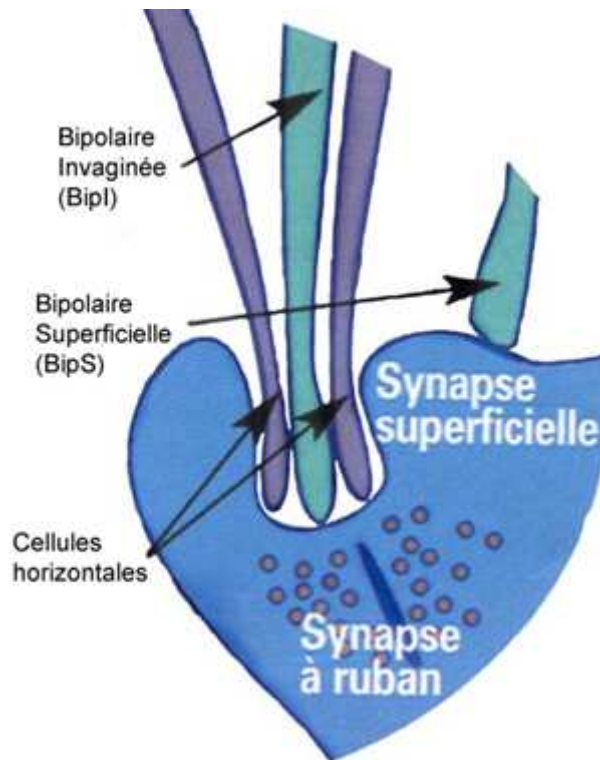


Fig.25: Trípada o sinapsis invaginada.⁹³

2-Células bipolares:

Las células bipolares son neuronas que conectan con las terminaciones sinápticas de los fotorreceptores y transmiten las señales hacia las células ganglionares.

Las células bipolares son de dos tipos según el fotorreceptor al que se unan^{163,199}:

- c. bipolares a conos o magnocelulares
- c. bipolares a bastones o parvocelulares

Las c. bipolares a conos se dividen a su vez en: c. bipolares difusas, que reciben señales de varios conos vecinos, y c. bipolares enanas, que reciben señales de un número más reducido de conos. Sin embargo, las c. bipolares a bastones sólo hacen sinapsis con los bastones y por sinapsis de invaginación¹⁶³ (Fig.25).

Las células bipolares se unen a los fotorreceptores bien sea directamente por sinapsis o indirectamente por medio de las células horizontales. Así, el conjunto de los fotorreceptores que están funcionalmente ligados a una c. bipolar forma su campo receptor. El campo receptivo de una célula bipolar se divide en una zona central y una zona periférica. Su centro se compone por los fotorreceptores ligados por sinapsis y su perímetro por los unidos a las c. horizontales (Fig.26)¹⁶³.

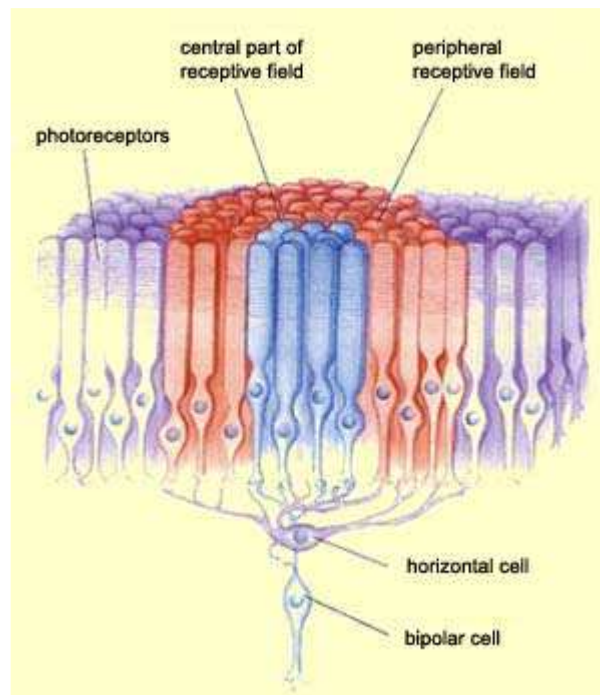


Fig.26: Campo receptor de una célula bipolar.⁴¹

Desde el punto de vista de la transmisión eléctrica, las c. bipolares (al contrario que los fotorreceptores) pueden clasificarse en:

-c.bipolares ON: son estimuladoras, continúan con la polaridad del fotorreceptor^{163,199}.

-c.bipolares OFF: son inhibitoras, pues no continúan con la polaridad eléctrica del fotorreceptor^{163,199}.

Según esta dicotomía, cuando la luz incide sobre el centro del campo receptor se despolarizan las c.bipolares-ON y se hiperpolarizan las OFF, mientras que si la luz estimula el perímetro, la respuesta es inversa. Esto constituye el fundamento de diferenciación de los contrastes¹⁶³.

Desde las c.bipolares la transmisión de la señal eléctrica continuará hacia las células ganglionares, excepto los bastones, que no se unen directamente con las células ganglionares y que deberán contactar previamente con las células amacrinas AII. Este tipo de c.amacrina establece sinapsis eléctricas excitadoras con las c.bipolares-ON y sinapsis químicas inhibitorias glicerinérgicas con las c.bipolares-OFF. A su vez, las c.amacrinas conectan las c.bipolares-ON con las c.ganglionares-ON y las c.bipolares-OFF con las c.ganglionares-OFF, para mantener así separadas las vías ON y OFF hasta el córtex visual^{163,153}.

3-Células horizontales:

Todas las retinas de mamíferos contienen varios tipos de células de asociación lateral a nivel de la capa plexiforme externa, que son las **células horizontales**⁸⁰. Éstas pueden ser de tipo 1 o de tipo 2, dependiendo del número de sinapsis que establezcan con los fotorreceptores¹⁹⁹.

Desde el punto de vista funcional, las células horizontales también responden a la luz con una hiperpolarización, pero a la vez existen sinápsis recíprocas desde las células horizontales hacia los fotorreceptores. Estas sinápsis permiten que las redes de células horizontales realicen una sumación espacial de los estímulos colaborando en la organización centro/periferia de los campos receptores de las células ganglionares⁸⁰.

4-Células de Müller:

La **célula de Müller** (Fig.16) es una célula glial altamente ramificada que se extiende desde la capa limitante externa a la capa limitante interna. Posee función estructural, de protección (envolviendo por completo a cada uno de los elementos fotosensibles principales de la retina) y de nutrición (de gran importancia porque la retina interna no posee irrigación)¹⁹⁹. La capacidad trófica de este tipo celular es de gran importancia para la regulación de la tasa de glutamato y para la renovación de los segmentos externos de los fotorreceptores. Además, modula las corrientes de K^+ intrarretinianas y mantiene la homeostasis iónica en la retina¹⁵⁰.

5-Células amacrinas:

Estas células presentan un cuerpo celular situado en la capa nuclear interna y unas prolongaciones que se extienden por la capa plexiforme interna.

No reciben conexiones directas de los fotorreceptores, sino sólo de células bipolares y de otras células amacrinas, estableciendo a su vez conexiones con células ganglionares y retroalimentando también a las células bipolares. Por tanto forman la vía de asociación lateral a nivel de la capa plexiforme interna⁸⁰.

6-Células ganglionares:

Las células ganglionares son las únicas células del sistema visual que se podrían considerar verdaderas neuronas, ya que son las únicas que generan verdaderos potenciales de acción y lo proyectan hacia el diencéfalo y mesencéfalo¹⁹⁹.

Estructuralmente, las células ganglionares poseen un cuerpo celular voluminoso y ramificaciones dendríticas que forman sinapsis a nivel de la plexiforme interna con las terminaciones de las células bipolares y amacrinas⁸⁰. Esta sinapsis está formada por una díada, donde la c. ganglionar sólo establece contacto directo con una célula bipolar e indirecto con una célula amacrina¹⁹⁹.

Cuantitativamente, la retina del perro posee una densidad de c. ganglionares de 6,400 a 14,400 c.gangl./mm²¹¹⁴. Mientras que cualitativamente, las c. ganglionares pueden dividirse en varias categorías según su tamaño y el de su campo receptor:

- células α ó Y: de gran tamaño celular, y con campos receptores de gran tamaño y encargadas de responder a estímulos en movimiento rápido (velocidad de transmisión elevada $>50\text{m/s}$). Son de tipo ON-OFF y representan un 5% del total de células ganglionares¹⁹⁹.

- células β ó X: de pequeño tamaño celular, y con campos receptores pequeños que tienen respuesta ante estímulos estacionarios de luz. Suponen un 55% del total de c. ganglionares, su velocidad de transmisión es media (14m/s) y pueden ser de tipo ON y tipo OFF¹⁹⁹ (Fig.28).

- células γ , δ , ϵ ó W: morfológicamente heterogéneas y cuyos campos receptores no se subdividen en una región central y otra perimetral. Y además responden a estímulos que se desplazan en una dirección determinada sin importar su contraste¹⁶³. Representan el 40% del total de c. ganglionares, su velocidad de transmisión es lenta (8m/s) y pueden ser de tipo ON-OFF, ON y OFF.

En la siguiente tabla (Fig.27) se diferencian las características más relevantes entre los tipos de células ganglionares más significativos:

TIPO DE CÉLULA GANGLIONAR	C. GANGLIONAR β ó X	C. GANGLIONAR α ó Y	C. GANGLIONAR γ ó W
Asociadas a:	Conos	Bastones	Conos
Ubicación	Centro de la retina	Periferia retiniana	Centro y periferia
Árbol dendrítico	Pequeño	Grande y amplio	Muy grande
Sensibilidad	Forma y color	Movimiento y contraste	Color
Llegada al cuerpo geniculado lateral	Capas dorsales	Capas ventrales	Interlaminar

Fig.27: Tabla de características de c. ganglionares.¹⁹⁹

En cuanto a la funcionalidad de los campos receptores de las células ganglionares, existe semejanza con las células bipolares ya estudiadas. Así la respuesta de la célula es distinta si se ilumina su zona central o su zona periférica: las células ganglionares centro ON (encendido) se activan al ser iluminada la zona central de su campo receptivo y se hiperpolarizan al ser iluminada la zona periférica, sin embargo las células ganglionares centro OFF (apagado) reaccionan al contrario (Fig.28).

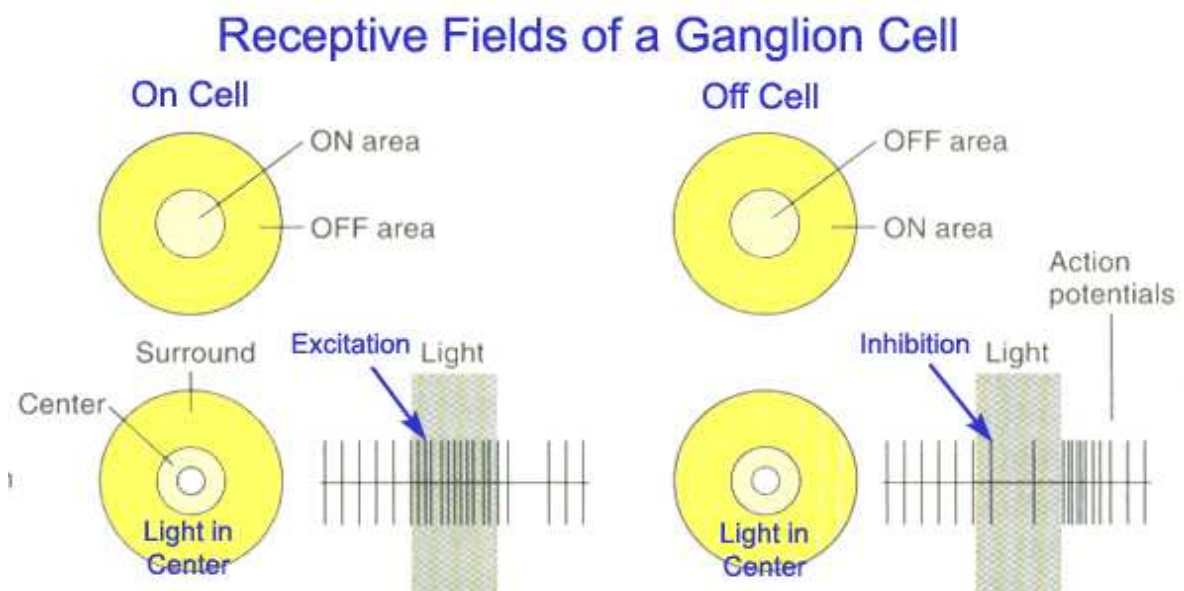


Fig.28: Funcionalidad de los campos receptivos de las c. ganglionares.¹⁰⁰

Los axones de las c. ganglionares- α dan origen al trayecto M (magnocelular) destinado a las capas ventrales (1 y 2) del cuerpo geniculado lateral codificando la luminancia y los movimientos. Mientras que los axones de las c. ganglionares- β constituyen el principio de la vía P (parvocelular) destinada a las capas dorsales del cuerpo geniculado lateral (3-6) codificando la agudeza visual y el color¹⁶³ (Fig.29).

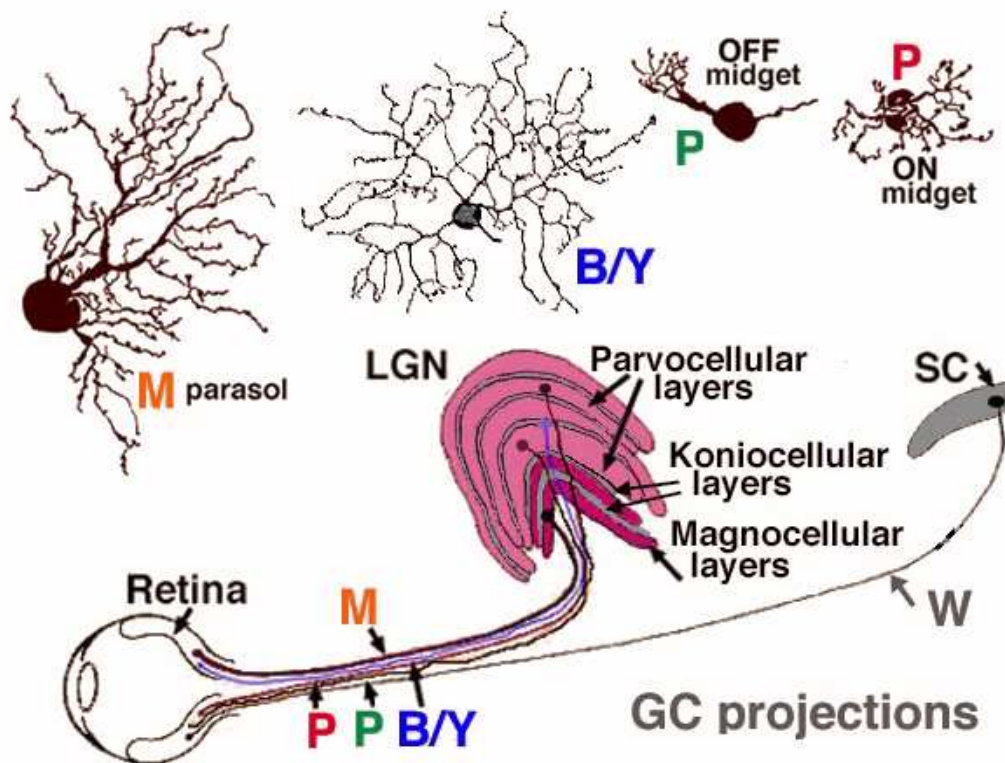


Fig.29. Proyección desde la c. ganglionar hasta el NGL y colículo superior.⁸⁵

Por último, las c. ganglionares- γ darán lugar a la vía K (koniocelular) destinada a las capas interlaminares de los cuerpos geniculados laterales y al colículo superior¹⁶³. Su función estaría relacionada con las vías reflejas para los movimientos oculares y de la cabeza¹⁹⁷.

Estos tres tipos de vías son fundamentales para el transporte ordenado de la información visual codificada en forma de impulsos eléctricos hasta el córtex visual.

De este modo, las c. ganglionares, que generan auténticos potenciales de acción, reúnen sus axones y los mielinizan para formar la segunda estructura de la vía visual central, el nervio óptico¹⁹⁹.

b) El nervio óptico

El nervio óptico (II par craneal) no es un nervio periférico en el sentido estricto de la palabra, sino que es una prolongación del Sistema Nervioso Central (SNC) ya que se desarrolla a partir del diencéfalo¹⁹⁹. Es un nervio de tipo sensitivo formado a partir de la convergencia de los axones de las células ganglionares en el disco óptico y que atraviesan la lámina cribosa (Fig.30). El nervio óptico del perro posee 167.000 fibras nerviosas que se organizan siguiendo un patrón retinotópico, es decir, la disposición espacial de la retina se mantiene en el interior del nervio óptico y a lo largo de toda la vía visual^{199,114}. Así las fibras procedentes de la retina superior forman la mitad superior del nervio óptico, y del mismo modo la parte inferior de la retina dará lugar a la porción inferior del nervio. Lateralmente poseerá fibras procedentes de la retina temporal y medialmente se dispondrán fibras de origen nasal⁵³. Las fibras que proceden de la retina periférica son gruesas, mientras que en la retina central se disponen las fibras más delgadas^{96,199}.

Las fibras que forman el nervio óptico están recubiertas de mielina, para poder realizar una conducción rápida de la señal eléctrica hacia el resto del sistema nervioso visual.

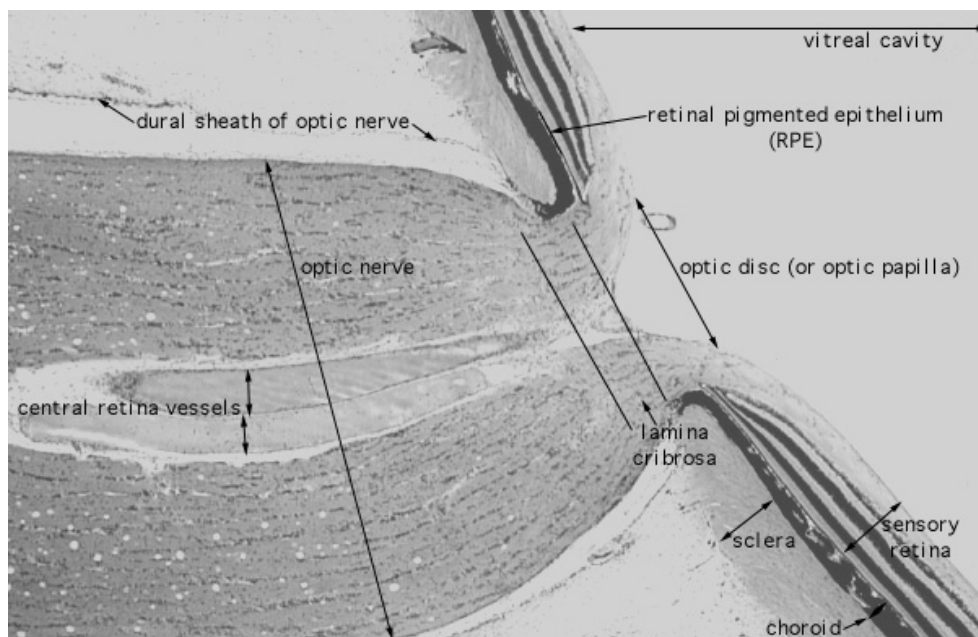


Fig.30: Nervio óptico atravesando la lámina cribosa.²⁰⁰

El nervio óptico está envuelto por dos vainas, una interna o *vaginae interna*, y otra externa o *externa nervi optici*, que son expansiones de las meninges y están separadas por un espacio virtual (*spatia intervaginalia*)⁹⁶.

Así mismo, podemos distinguir tres regiones en el nervio óptico⁹⁶:

- intraocular: abandona la retina a través del área cribosa de la esclera.
- orbitaria: situada en el canal óptico y llega hasta el fondo de la órbita.
- intracraneana: desde el final de la órbita hasta el quiasma óptico.

c) El quiasma óptico

El quiasma óptico, situado encima de la silla turca, es la porción del sistema nervioso visual donde decusan o se cruzan parte de las fibras nerviosas de los nervios ópticos de ambos ojos.

De modo general, las fibras procedentes de la retina temporal (que proporcionan la información visual de la parte nasal del campo visual binocular) no decusan y llegarán al hemisferio cerebral ipsilateral, mientras que las fibras originadas en la retina nasal decusan a nivel quiasmático, en diferente proporción según la especie animal. De este modo, en el hombre las fibras decusan en un 50%, en el perro un 75%, en el gato un 65%, en el caballo un 85% y en el conejo un 90% (Fig.31). Excepcionalmente, las aves, los peces, algunos anfibios y los reptiles poseen una decusación completa de todas sus fibras nerviosas^{53,96,197}.

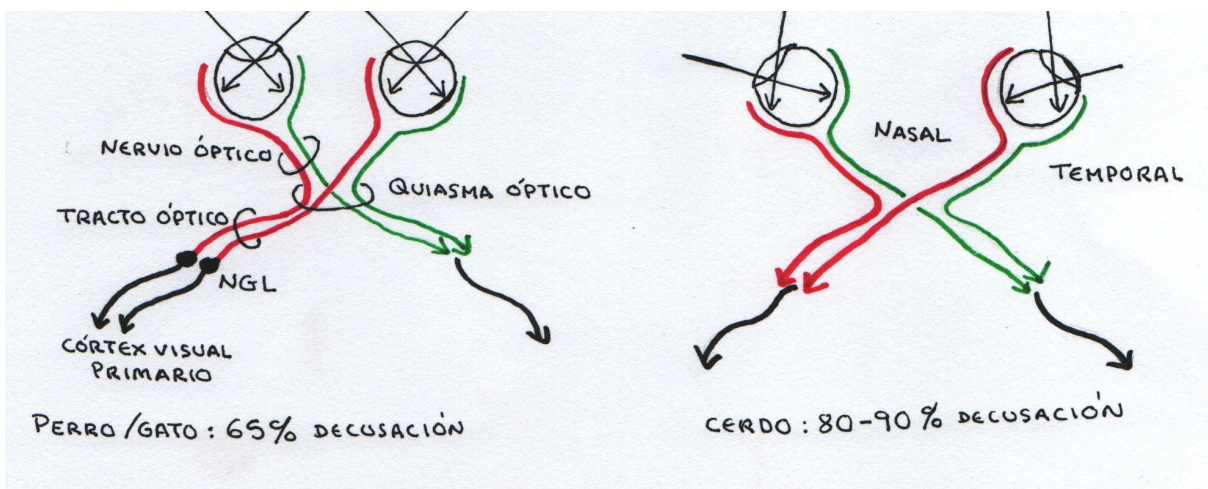


Fig.31: Porcentaje de decusación a nivel quiasmático en carnívoros y cerdo.

Podemos observar que las fibras que no decusan son más abundantes en especies animales más evolucionadas y que poseen los ojos frontales y un campo binocular extenso. De modo contrario, en las especies menos evolucionadas y poseedoras de campos binoculares menos extensos y los ojos en posición lateral, suelen decusar gran parte o la totalidad de sus fibras^{53,183,190}.

La decusación parcial de las fibras nerviosas permite que los dos hemisferios cerebrales reciban información cuando la retina o el nervio óptico de un ojo estén completamente destruidos⁵³. Esto es debido a que la visión de cada ojo llega a ambos hemisferios cerebrales (Fig.32), constituyendo así la base de la visión binocular y permitiendo la percepción de profundidad, distancia y contorno de la imagen visual¹⁹⁷.

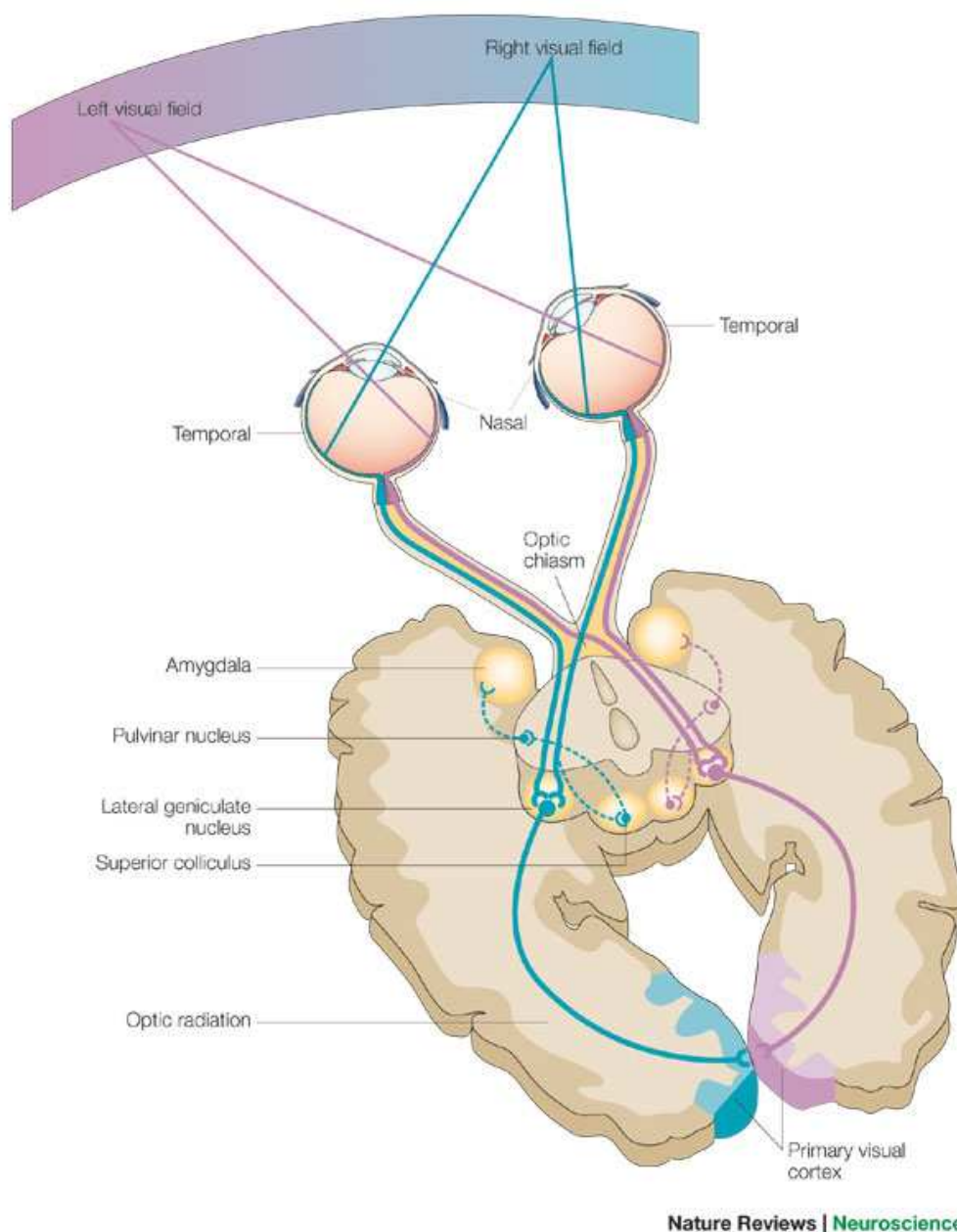


Fig.32: Visión binocular.⁶²

d) El tracto óptico o cintillas ópticas

El tracto óptico es la porción del sistema nervioso visual que parte de la escotadura posterior del quiasma óptico. Está separado del tracto contralateral por el tallo de la hipófisis en la parte inferior y por el tercer ventrículo en la parte superior⁵⁴.

El tracto óptico conduce la mayor parte de la información visual al cuerpo geniculado lateral (CGL). Una pequeña parte será dirigida al techo y colículo rostral mesencefálico para producir los reflejos oculomotores y reflejos pupilares.

Fibras colaterales del tracto óptico irán al núcleo supraquiasmático del hipotálamo para participar en la regulación de los ritmos biológicos².

Aproximadamente, el 80% de las fibras del tracto óptico llegan al CGL, y el 20% forman las vías ópticas que llegan a nivel mesencefálico⁹⁶.

El tracto óptico derecho está constituido por las fibras procedentes de la hemi-retina temporal del ojo derecho (fibras que no decusan) y las fibras de la hemi-retina nasal del ojo izquierdo (que han decusado en el quiasma), y viceversa en el ojo izquierdo (Fig.32). En las aves, donde existe decusación completa de las fibras, el tracto óptico está formado por la totalidad de fibras del nervio óptico del ojo contralateral⁹⁶.

A su vez, el tracto óptico está dividido en dos raíces⁹⁶:

- raíz medial o *radix medialis*, formada completamente por fibras que han decusado y que serán utilizadas por el sistema retino-tectal. Este tipo de fibras (W) son de conducción lenta (10m/seg).

-raíz lateral o *radix lateralis*, formada por fibras directas y parcialmente por fibras decusadas (excepto en aves, donde todas las fibras decusan), y que forman las vías retino-corticales. Estas fibras (X e Y) son de conducción más rápida (35m/seg). Esta raíz transportará la información visual al cuerpo geniculado lateral siguiendo la vía retino-cortical.

e) El cuerpo geniculado lateral (CGL)

El cuerpo geniculado lateral es uno de los múltiples núcleos pequeños que componen el tálamo, situado entre el telencéfalo y el mesencéfalo (Fig.33). Es el principal núcleo receptor de las terminaciones de las c. ganglionares retinianas.

Su función más relevante es ser un centro de recambio para las aferencias visuales, regulando el flujo e intensidad de las señales visuales que se transmiten a la corteza visual². Es donde tiene lugar la primera sinapsis de los axones de las células ganglionares, constituyendo la cuarta sinapsis del sistema visual^{53,193}.

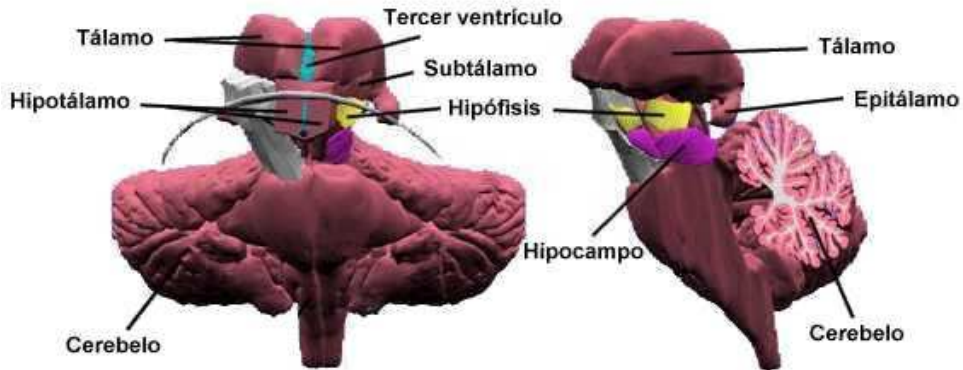


Fig.33: Diencéfalo-tálamo.⁶⁰

El CGL recibe información del hemicampo visual contralateral de ambos ojos y eferencias de la corteza visual, constituyendo así un centro de relevo de las señales visuales^{53,197,170} (Fig.34).

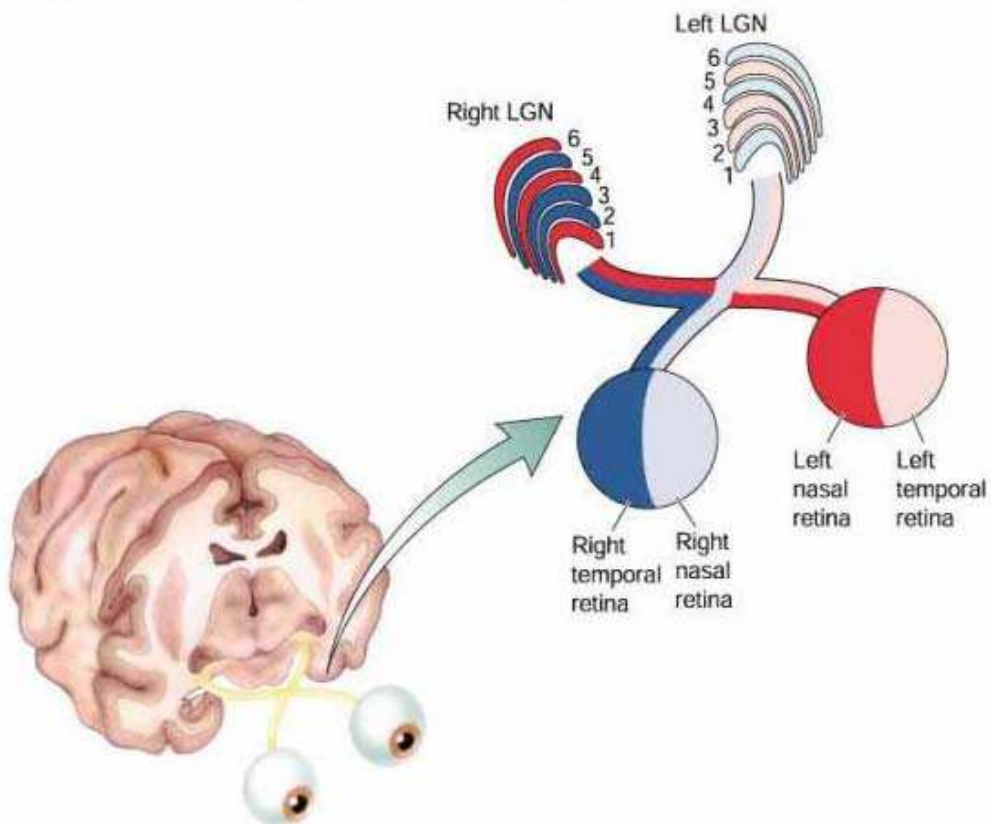


Fig.34: Aferencias visuales del CGL.¹⁷⁰

La arquitectura del CGL sigue un patrón retinotópico, es decir, cada capa del CGL representa un mapa preciso del hemicampo visual contralateral^{53,96,197,170}.

Las células del CGL son de dos tipos⁵³:

1- interneuronas: intervienen en el procesamiento de la señal.

2- células proyectoras: sus axones salen del CGL para formar las radiaciones ópticas. Existen tres tipos: las células X, de pequeño tamaño, las células Y, de gran tamaño y las células K ó koniocélulas.

Las células del CGL se disponen constituyendo dos núcleos⁹⁶ (Fig.35):

1- el núcleo magnocelular: compuesto por células Y. Reciben aferencias de las fibras Y procedentes de la retina periférica. El 10% de las c. ganglionares proyectan a este núcleo¹⁴³.

2- el núcleo parvocelular: formado por células X. Reciben la información de las fibras X de la retina central. El 80% de las c. ganglionares proyectan a este núcleo¹⁴³.

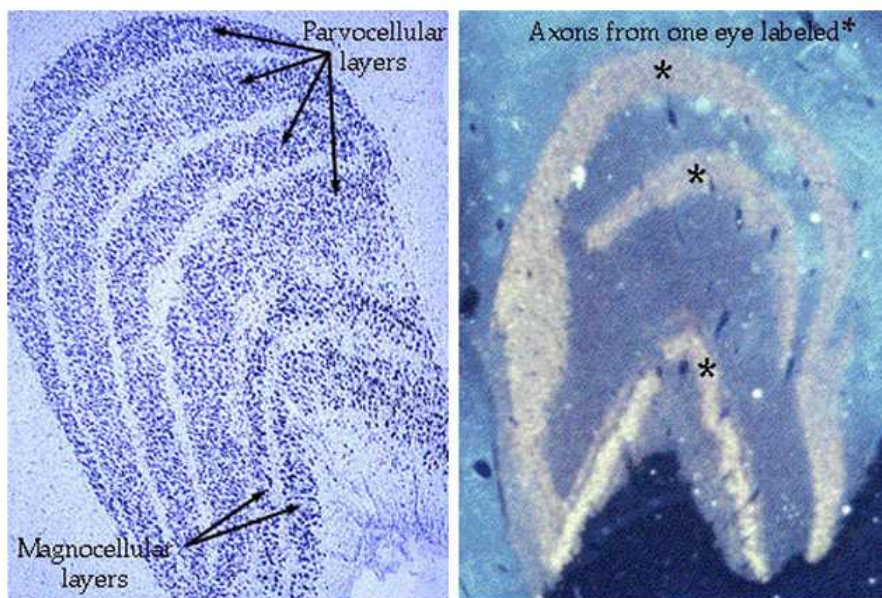


Fig.35: Núcleos magnocelular y parvocelular en el CGL.¹⁷⁵

Adicionalmente, las koniocélulas se sitúan entre las distintas capas de los núcleos magnocelular y parvocelular (Fig.29). Este tipo celular constituye una vía específica para la percepción del color.

En cada uno de los núcleos, las neuronas geniculares se disponen en estratos simulando capas (Fig.35). Cada línea de proyección perpendicular a las láminas geniculares corresponde a un punto de la retina o del campo visual. Además el número de capas varía con la especie animal, de este modo, los primates poseen 6 capas y el gato 4 capas. Y sin embargo, esta estratificación desaparece en la rata y el conejo, que poseen ojos laterales (visión monocular). Cada capa recibe aferencias de un solo ojo y un solo tipo de c. ganglionar (del ojo ipsilateral para las capas 2, 3 y 5; y del ojo contralateral para las capas 1, 4 y 6)^{96,199}.

Las proyecciones geniculares que abandonan el CGL son corticales y subcorticales. Por lo tanto, el núcleo parvocelular, situado dorsalmente, proyecta las aferencias visuales sobre el córtex visual primario (área estriada o área 17), y accesoriamente sobre las áreas visuales secundarias (áreas 18 y 19), por medio de las radiaciones ópticas. Y el núcleo magnocelular, situado ventralmente, realiza sus proyecciones sobre el pretectum, el colículo rostral y el núcleo supraquiasmático del hipotálamo. A su vez, las koniocélulas proyectan en las capas II Y III del córtex visual⁹⁶.

Por otro lado, el CGL presenta una modulación por inhibición presináptica de sus neuronas al recibir axones procedentes de la capa VI del área 17 del córtex visual. De este modo permite la regulación del flujo de información visual¹⁹⁷.

El CGL enviará así sus proyecciones a la corteza visual por medio de las radiaciones ópticas.

f) Las radiaciones ópticas

Las radiaciones ópticas están formadas por los axones de las neuronas del CGL, que llegan a la corteza occipital para realizar la quinta sinapsis^{53,193}.

En algunas especies, las radiaciones ópticas también contienen axones que llevan eferencias del córtex visual al CGL y al colículo superior⁵³ (Fig.36).

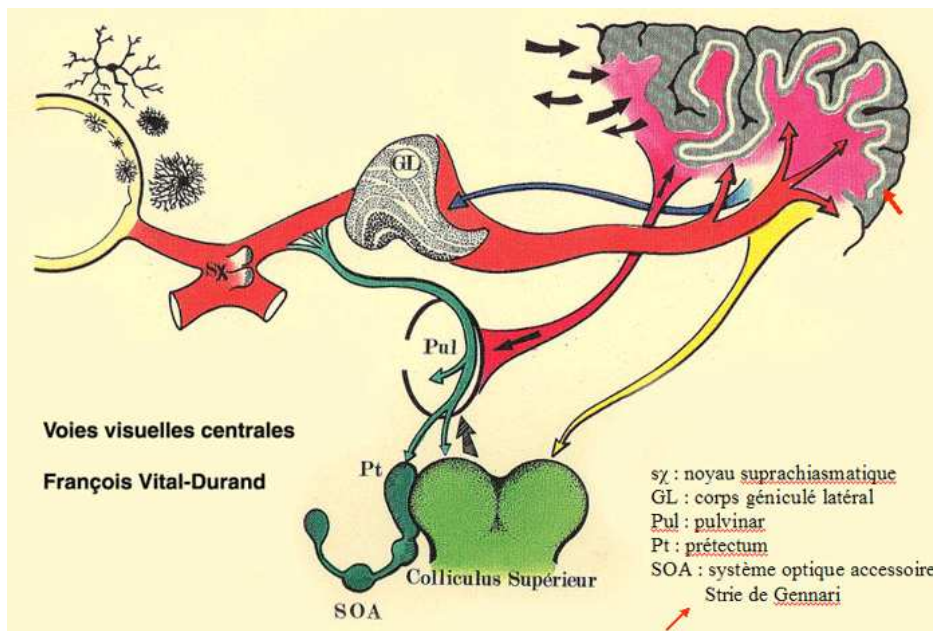


Fig.36: Proyecciones de las radiaciones ópticas.¹⁴⁹

g) El córtex visual

El córtex visual corresponde a la porción occipital del telencéfalo y está formado por sustancia gris compuesta por cuerpos y dendritas neuronales que no poseen vaina de mielina, por lo que no son capaces de transmitir rápidamente los impulsos nerviosos. Esta característica se asocia con la función del procesamiento de la información, es decir, sirve para razonar.

La superficie cortical presenta circunvoluciones y surcos que aumentan su área superficial, excepto en los roedores y el conejo. Además, su espesor es variable, de 2 a 6 mm⁹⁶.

La corteza visual presenta una distribución retinotópica al igual que el resto de la vía visual^{96,197}. En ella, la representación de la retina central es 35 veces superior a la de la retina periférica, considerando la superficie que ocupa en el ojo¹⁹⁷.

A continuación, describiremos la estructura general de la corteza cerebral y continuaremos con la organización de la corteza visual primaria y secundaria.

g.1. Estructura de la corteza cerebral

La organización celular y fibrilar de la corteza cerebral no es uniforme. Por ello, en 1909 Korbinian Brodmann reconoció 52 áreas citoarquitectónicas en la corteza cerebral del hombre (Fig.37)^{96,197}.

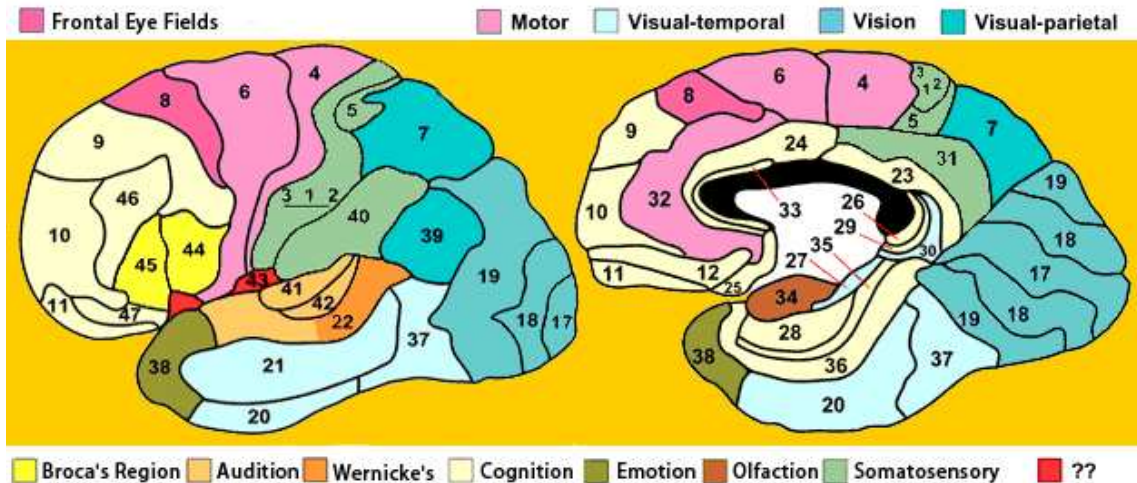


Fig.37: Mapa cortical de Áreas de Brodmann, 1909.⁹²

A su vez, en la corteza cerebral se han identificado varias representaciones del campo visual a partir del registro electrofisiológico de los Potenciales corticales evocados. En relación con la **clasificación de Brodmann**, estas regiones o áreas son¹⁹⁷:

- Área visual primaria o V1 (área 17 de Brodmann)
- V2, V3, V3a, V4 (área 18 de Brodmann)
- Corteza inferotemporal (áreas 20 y 21 de Brodmann)
- Corteza parietal posterior (área 7 de Brodmann)

El grado de evolución de las diferentes especies es determinante de la estructura del encéfalo. Las especies poco evolucionadas, como el conejo, sólo poseen áreas de proyección (sensorial, motora, visual, auditiva y olfatoria), mientras que las especies más evolucionadas poseen también áreas de asociación (zonas de la corteza que reciben y analizan señales que proceden de múltiples regiones de la corteza). Así el perro y el gato presentan las áreas de asociación en el lóbulo temporal, que les permite comparar la información recibida con experiencias previas conservadas en la memoria (capacidad de pensar y aprender)².

Las **áreas de proyección** pueden ser de dos tipos² (Fig.37):

1- la corteza motora: situada delante del surco crucial.

2- la corteza sensorial: detrás del surco crucial. Su porción occipital forma la corteza visual.

La corteza sensorial recibe la información procedente de las vías aferentes, procesa la señal y la compara con la memoria para luego transmitirla intracorticalmente a la corteza motora, donde se elaborará la respuesta que será enviada por las vías eferentes hasta las motoneuronas de la médula espinal. Y en último término, de ésta pasará a los músculos del cuello, tronco y extremidades del lado contrario del cuerpo para ejercer su acción².

A continuación describiremos la estructura de la corteza visual donde se procesará la información visual recibida del exterior.

g.2. Estructura de la corteza visual.

El córtex visual se diferencia en córtex visual primario y secundario según la cantidad de información visual que llega a ellos.

g.2.1. Córtex visual primario:

Es la zona de la corteza visual que recibe mayor cantidad de aferencias visuales procedentes de los CGL. Se localiza en la porción posteromedial del lóbulo occipital del telencéfalo y es el **área 17 estriada de Brodmann o V1**. Su denominación de córtex estriado se debe a la estría presente en la IV capa y que, a diferencia del resto de corteza visual, presenta una gran concentración de fibras nerviosas muy mielinizadas^{53,96}.

El área 17 recibe las señales aferentes de CGL, que representan la información visual registrada por todo el hemisferio visual contralateral. Su mapeo superficial también sigue un patrón retinotópico. De este modo trazaríamos un meridiano vertical a nivel cortical que representaría el área centralis de la retina y que separaría la información recibida del hemisferio nasal de la retina (proyectado sobre el córtex contralateral) de la información del hemisferio temporal (proyectado sobre el córtex ipsilateral). Dicho meridiano corresponde con el borde lateral del córtex primario que lo separa del córtex secundario adyacente⁵³.

Si embargo, el córtex visual posee un importante factor de magnificación para la información recibida procedente del área centralis de la retina, pues posee una gran cantidad de zonas con afinidad por procesar la información procedente de esta zona. La extensión del área afín por la zona centralis aumenta con el grado de evolución visual del animal⁵³.

En la retina, el área centralis se diferencia de la periferia por poseer mayor cantidad de conos y de células ganglionares, pero en la corteza cerebral existe la misma densidad de neuronas en las áreas que representan los campos periféricos o centrales de la retina⁵³.

Estructura de la corteza visual primaria:

La corteza visual primaria presenta dos tipos de organización celular: organización celular horizontal en capas y organización celular vertical en columnas.

1-Organización celular horizontal: compuesta de **6 capas** celulares horizontales (Fig.39). En general se puede decir que las capas I, II y III funcionan fundamentalmente como asociación intracortical, mientras que la capa IV recibe la mayoría de las proyecciones específicas del tálamo y es donde ocurre la quinta sinapsis del sistema visual (Fig.38). Las capas V y VI son fundamentalmente las capas eferentes de la corteza. De ellas se originan las proyecciones hacia: a) otras áreas corticales del mismo hemisferio, b) otras áreas corticales del hemisferio del lado opuesto, y c) núcleos subcorticales.

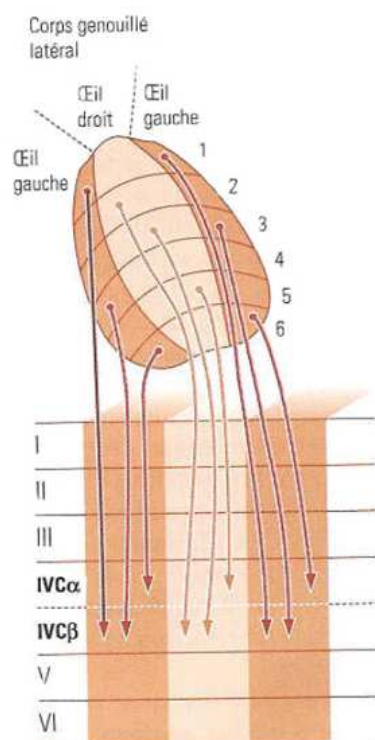


Fig.38: Aferencias del CGL hacia la capa 4 del córtex visual.⁷⁶

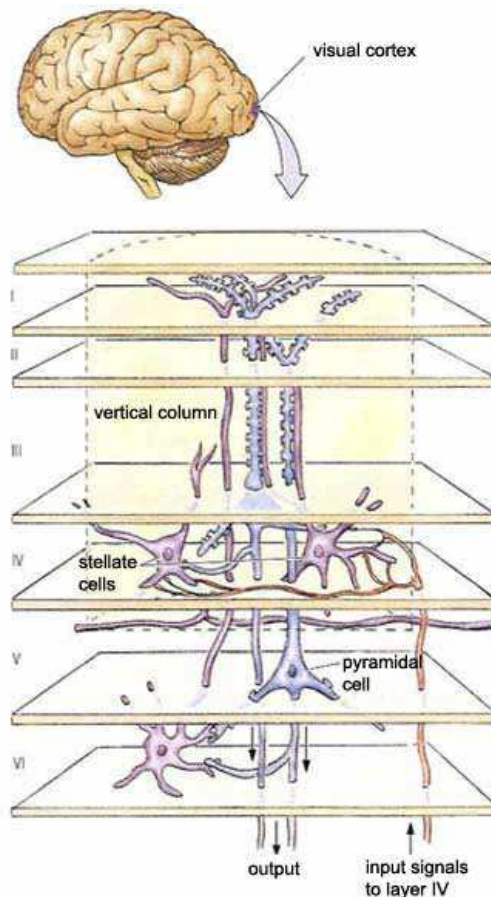


Fig. 39: Estructura cortical en capas.⁴²

Las distintas capas corticales están formadas histológicamente por los cuerpos neuronales de 2 tipos básicos de neuronas^{199,197}.

Según su forma se pueden clasificar en:

- **células piramidales:** son muy grandes y ramificadas. Son neuronas de proyección, excitatorias y secretoras de glutamato y aspartato.
- **células estrelladas:** son pequeñas. A su vez, pueden dividirse en: espinosas (son excitatorias y secretan glutamato y aspartato) y lisas (son inhibitorias y secretan GABA).

Según su campo receptor, Hubel y Weisel distinguieron dos tipos de neuronas⁶⁹:

- **células simples:** con campo receptor simple.
- **Células complejas:** con campos receptores más grandes.

La principal característica que distingue la corteza visual primaria (área 17 ó V1) es la presencia de una capa de fibras mielinizadas relativamente acelular, llamada en medicina humana, “estría de Gennari-Vick d’Azir” (Francisco Gennari, 1782). Esta estría se localiza en la capa IV. Se trata de un plexo fibroso intracortical, compuesto por axones mielinizados orientados horizontalmente y constituido por células piramidales y estrelladas⁹⁹.

2-Organización celular columnar (módulo): Actualmente, la mayoría de neurofisiólogos, organizan la corteza visual en módulos o unidades funcionales también denominados hipercolumnas⁶⁸ (Fig.40). Cada módulo o hipercolumna procesa una porción concreta del campo visual. Mediante la combinación de técnicas bioquímicas y electrofisiológicas se ha demostrado la estructura de un módulo. Se compone de tres tipos de columnas celulares funcionalmente diferentes: columnas de orientación, columnas de dominancia ocular y blobs o burbujas¹⁹⁹ (Fig.40).

- **Columnas de orientación:** formadas por células sensibles a un estímulo con cierta orientación espacial específica. Existen columnas de orientación para responder frente a cada punto de los 360° de la retina¹⁹⁹.

- **Columnas de dominancia ocular:** compuestas por células que reciben información de un ojo en concreto (derecho o izquierdo), y por tanto de diferentes porciones del CGL. Las columnas de dominancia del ojo derecho se disponen alternativamente respecto las del ojo izquierdo¹⁹⁹.

- **Blobs o burbujas:** son estructuras cilíndricas formadas por grupos celulares que contienen una gran concentración del enzima citocromo-oxidasa que indica la presencia de un elevado metabolismo celular. La detección de este enzima por Wong-Riley (1983) evidenció la presencia de los blobs.

Las células que componen los blobs no forman columnas como tal, pues están presentes en las capas superficiales de la corteza visual sin ocupar las 6 capas corticales. Además, estas estructuras se suelen localizar en el centro de las columnas de dominancia ocular y reciben un influjo masivo de información visual desde la capa IV.

Los blobs están especializados en la percepción del color¹⁹⁷.

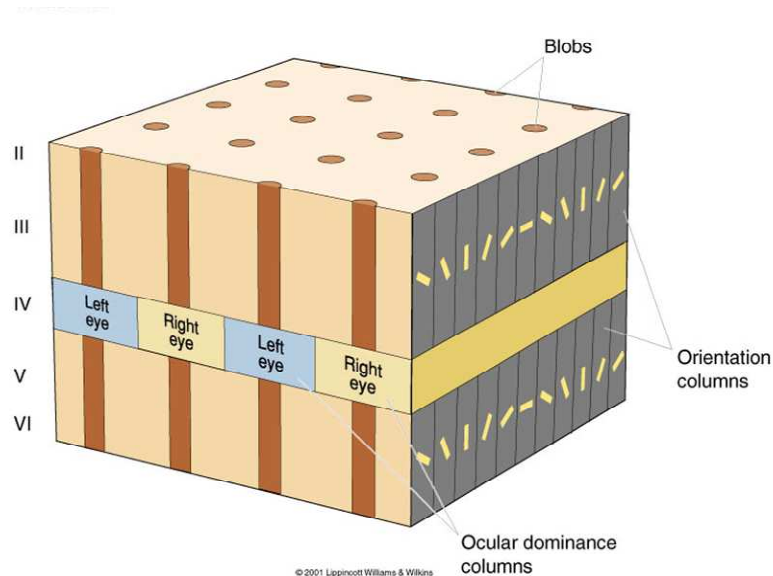


Fig.40: Un módulo cortical.²⁰²

Resumiendo, la hipercolumna, unidad funcional o módulo es el conjunto formado por las dos columnas de orientación correspondientes a los dos ojos, que incluyen las burbujas y que analizan una región del espacio binocularmente.

De igual modo podemos sintetizar las tres funciones principales de la corteza visual incluidas en un módulo¹⁹⁷:

- a) Descompone el entorno visual en segmentos de líneas con diversas orientaciones, suponiendo el primer análisis de la forma y movimiento del estímulo visual.
- b) Combina información de los dos ojos, iniciando así la visión binocular.
- c) Inicia el análisis cromático.

g.2.2. Córtex visual secundario.

En términos generales, el córtex visual primario (visuo-sensorial) se proyecta en el córtex visual secundario (visuo-psíquico), en las áreas corticales visuo-motrices, en el CGL de nuevo, en el pretectum y en los colículos rostrales² (Fig.36).

El córtex visual secundario o extraestriado produce un tratamiento más global de los estímulos visuales. Está constituido por el **área 18 o V2** (córtex paraestriado, configurado como un anillo concéntrico lateral al área 17) y el **área 19 o V3** (córtex periestriado, adyacente al área 18) en los lóbulos occipitales, y por las **áreas 20, 21 y 7** en los lóbulos temporal y parietal del encéfalo^{53,96} (Fig.41).

La organización celular en estas áreas sigue un patrón retinotópico, siendo una imagen en espejo del área 17. De este modo, un paso de la señal visual desde el área 17 al córtex secundario implica una inversión en la topografía de los campos receptores.^{53,96}

El tamaño del córtex visual secundario es menor que el del primario debido a que procesa una pequeña parte del campo visual y posee menos grado de magnificación. Además, el meridiano vertical, que representa el área centralis de la retina, separa el córtex primario del secundario⁵³.

La mayor parte de las células que forman el área 18 y 19 son de tipo complejo e hipercomplejo y se organizan en columnas de orientación. Recibirán aferencias del córtex primario (capas II y III), del CGL (núcleo dorsal o parvocelular) y del pulvinar (que posee una proyección retinotópica del colículo rostral)⁹⁶.

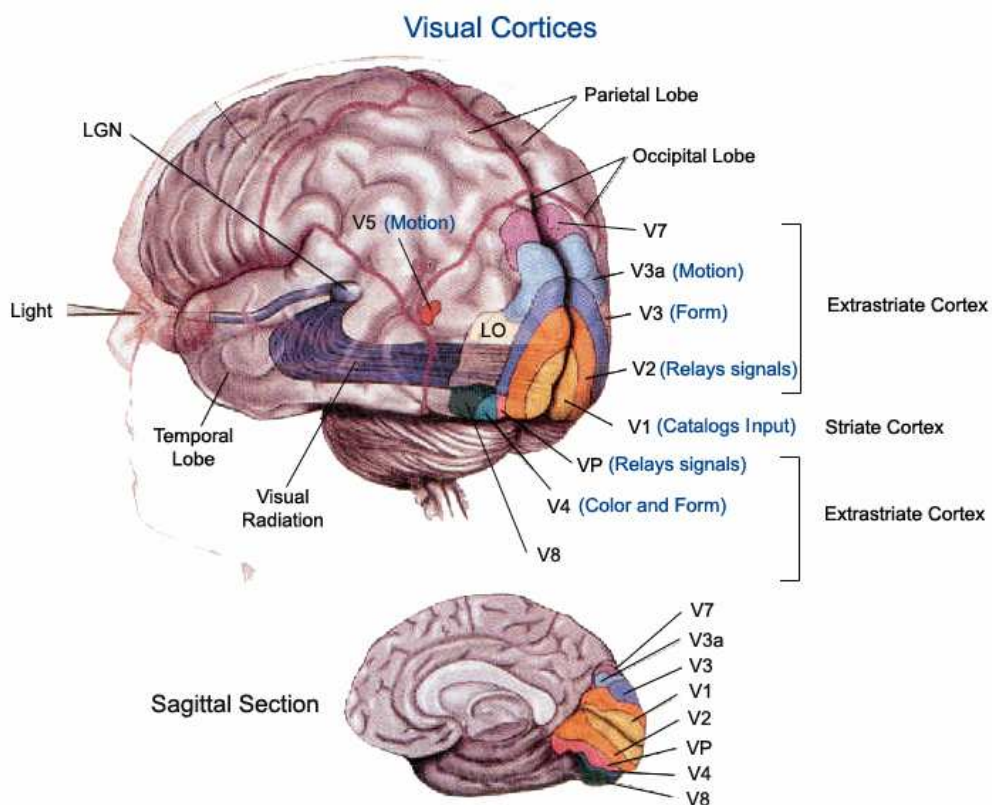


Fig.41: Áreas estriadas y extraestriadas del córtex visual.⁹⁸

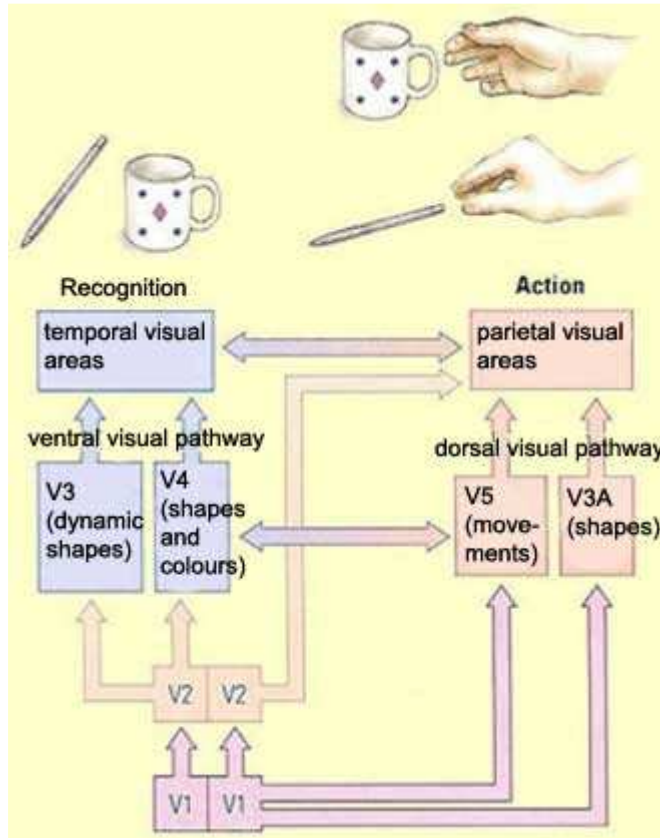


Fig.42: Proyecciones de V1 sobre el córtex extraestriado.⁴³

En el macaco, el área 18 posee al menos cuatro representaciones visuales: V2, V3 y V3a que procesan las sensaciones de profundidad, y V4 que procesa los colores⁹⁶ (Fig.42 y 43).

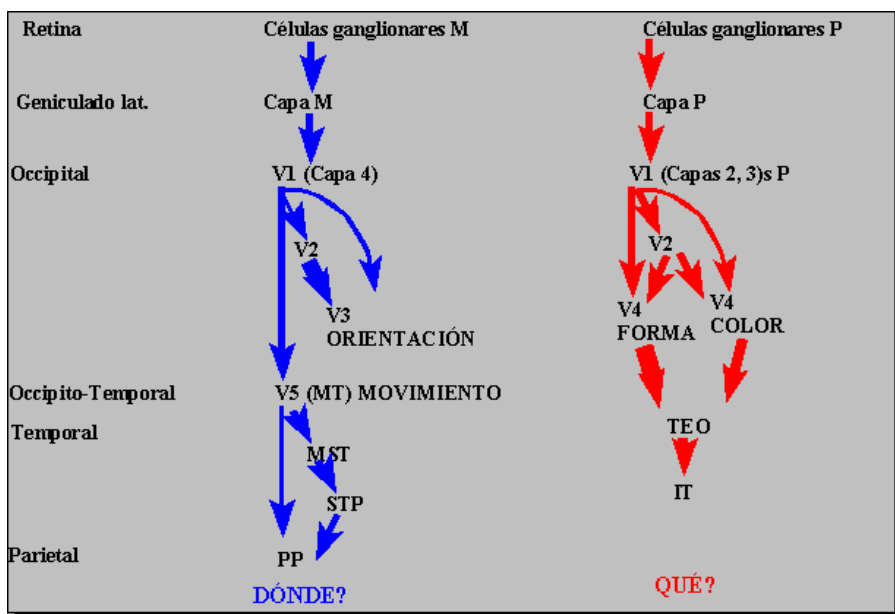


Fig.43: Procesado de la imagen visual.⁵⁵

De modo diferente, la zona medial de los lóbulos temporales está asociada al análisis del movimiento, incluyendo la velocidad, la orientación, la dirección y la profundidad. Por tanto, actúa en el reconocimiento y discriminación de un objeto. Y el lóbulo parietal participa en el reconocimiento espacial del objeto⁵³ (Fig.41-43).

Todas estas estructuras comprendidas desde la retina hasta la corteza visual componen las vías visuales centrales, que necesariamente hay que diferenciar de las vías fotomotrices que describiremos a continuación.

3.2.2.2. VÍAS FOTOMOTRICES (SISTEMA ÓPTICO RETINO-TECTAL)

Las vías fotomotrices están encargadas de producir los reflejos de regulación de los diámetros pupilares cuando estimulamos la retina con una luz¹⁹⁰. Dicha función es llevada a cabo por dos tipos de inervación (simpática y parasimpática) que ejercen su función sobre dos músculos diferentes de la pupila. Así cada tipo de inervación sigue una ruta distinta^{23,53,190}.

a) Vía retino-tectal, inervación parasimpática

Las vías retino-ectales, que estimulan la inervación de tipo parasimpático, poseen una porción de su trayecto común con las vías visuales (sistema retino-cortical), por lo que hay que tener conocimiento de su estructura y de su funcionamiento para poder discernir entre las lesiones que provocan déficits visuales y las lesiones que provocan alteraciones de los reflejos fotomotores o de los diámetros pupilares.

Ese tramo compartido por ambas vías está formado por la retina, el nervio óptico, el quiasma óptico y el tracto óptico (raíz medial). Aproximadamente el 20% de las fibras que componen el tracto óptico están destinadas a formar parte de las vías fotomotrices. Este porcentaje de fibras forma la raíz medial del tracto óptico, constituyen las proyecciones W, de conducción más lenta que las utilizadas por las vías visuales, y se dirigen al área pretectal del mesencéfalo⁹⁶.

Cuando incidimos el ojo con una luz puntual, la hemirretina nasal transportará el impulso eléctrico al núcleo pretectal contralateral debido a la decusación de las fibras a nivel del quiasma, y a su vez el núcleo pretectal ipsilateral recibirá también información procedente de las fibras directas generadas en la hemirretina temporal²³.

En la zona pretectal las fibras sufren una segunda decusación para dirigirse a los núcleos parasimpáticos (núcleo de Edinger-Westphal) de los nervios oculomotores (III par craneal) en los colículos rostrales del mesencéfalo, situados caudalmente a la zona pretectal^{23,197} (Fig.44).

De este modo, la estimulación luminosa de un solo ojo producirá la contracción de la pupila de ambos ojos, constituyendo de este modo el fundamento de los reflejos fotomotores directo y consensuado (contracción de la pupila del ojo estimulado y contracción de la pupila del ojo contralateral al estimulado, respectivamente)²³.

Desde ambos núcleos parasimpáticos, las vías eferentes estarán formadas por dos tipos de motoneuronas periféricas: las fibras preganglionares que van desde los núcleos parasimpáticos hasta el ganglio ciliar retrobulbar y las fibras postganglionares que se reagrupan tras salir del ganglio para formar de 5 a 8 nervios ciliares cortos y mixtos en el perro, y solo 2 nervios ciliares y parasimpáticos en el gato. Estas fibras terminarán en el músculo esfínter del iris para producir la contracción del mismo (miosis)²³ (Fig.44).

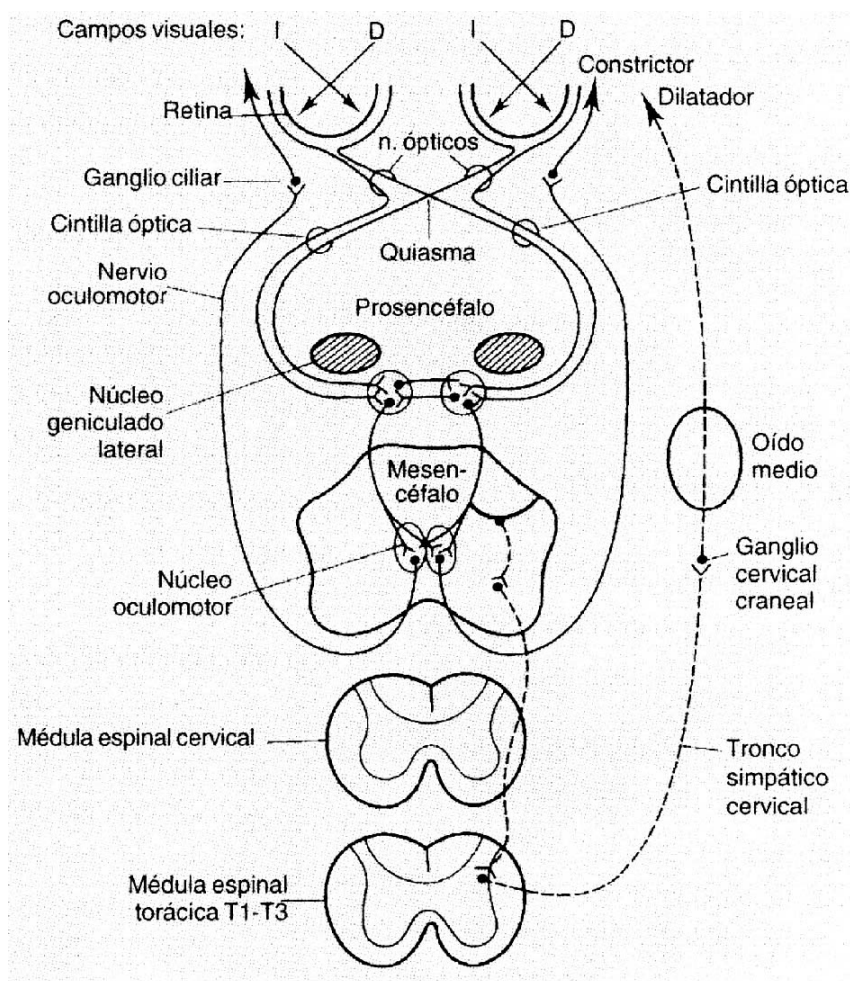


Fig.44: Vía retino-tectal (rutas simpática y parasimpática).²⁶

b) Vía tecto-tegmento-espinal, inervación simpática

La inervación simpática del ojo posee una función conservatoria del animal para mejorar su visión a la hora de huir o de luchar, produciendo midriasis, exoftalmia, aumento de la abertura palpebral y retracción del tercer párpado. Por lo tanto transporta una información de tipo psico-sensorial²³.

La inervación simpática del ojo tiene su origen en el hipotálamo (Fig.33), desde donde las motoneuronas centrales (neuronas de primer orden) descienden por la vía tecto-tegmental hacia la médula espinal cervical. En este lugar realizarán sinapsis con las neuronas preganglionares (neuronas de segundo orden) localizadas en los segmentos medulares T1-T3. Sus axones saldrán por las raíces ventrales para unirse al tronco vago-simpático torácico mediastinal y cervical, y llegarán al ganglio cervical craneal situado craneo-medialmente a la bulla timpánica donde también realizarán sinapsis. A continuación saldrán desde el ganglio las neuronas postganglionares (neuronas de tercer orden) que atravesarán la bulla y el seno cavernoso, y se unirán a la rama oftálmica del nervio trigémino (V par craneal) para terminar en el músculo dilatador del iris que producirá midriasis²³ (Fig.44).

3.3. ELECTRODIAGNÓSTICO EN OFTALMOLOGÍA VETERINARIA

Tras definir la compleja estructura y función del sistema visual pasaremos a estudiar el electrodiagnóstico como técnica complementaria de evaluación de la función visual.

Las diferentes técnicas electrodiagnósticas recogen la suma de las diferencias de potencial originadas por la actividad electrofisiológica de las células del sistema visual, las cuales son evocadas o reflejadas en la superficie craneal de los lugares generadores¹⁵³.

En oftalmología veterinaria utilizaremos dos técnicas de electrodiagnóstico como son la electrorretinografía (ERG) y los potenciales evocados visuales (PEV) para evaluar la función de la retina y de las vías visuales centrales respectivamente (Fig.45).

Para entender cualquier proceso de electrodiagnóstico es imprescindible conocer la Ley de Ohm. Ésta postula que el voltaje se origina cuando una corriente eléctrica, generada por una diferencia de potencial, cruza una resistencia¹³⁴.

De este modo, en la electroretinografía, las células retinianas estimuladas por un efecto luminoso generan una corriente eléctrica que atraviesa una resistencia constituida por la retina, los espacios extracelulares del vítreo y la córnea^{94,134}. Mientras que en el registro de los potenciales evocados visuales, las células de la corteza occipital generarán potenciales postsinápticos que atravesarán una zona de resistencia formada por las meninges, la bóveda craneal y la superficie cutánea⁷³.

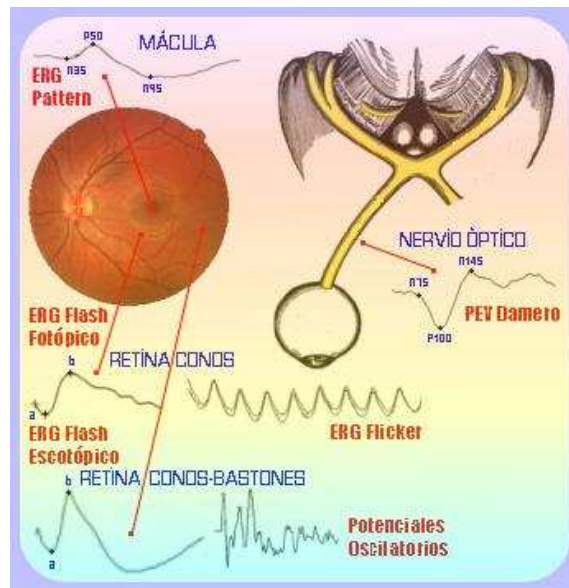


Fig.45: Lugares generadores de diferentes pruebas electrodiagnósticas.⁵⁹

3.3.1. LA ELECTORRETINOGRAFÍA (ERG)

3.3.1.1. INTRODUCCIÓN

La técnica de electroretinografía ha sido utilizada desde el siglo XIX por investigadores como F. Holmgren, que registró respuestas estimulando ojos de anfibios^{33,38,67}. Mientras que la electroretinografía clínica moderna aplicada en animales, probablemente tenga su origen en el Reino Unido, a partir de 1949, por el veterinario H.B. Parry que estudió la atrofia progresiva de retina (APR) en el Setter irlandés mediante ERG^{64,137}.

Desde entonces, esta técnica diagnóstica ha servido para aumentar nuestros conocimientos de anatomía y fisiología del sistema visual, en concreto de la retina, para estudiar patologías oculares, y para mejorar el diagnóstico de enfermedades y la efectividad terapéutica de ciertos fármacos^{33,38,67}.

3.3.1.2. DEFINICIÓN

La electroretinografía es la técnica electrodiagnóstica encargada de recoger los potenciales generados por la actividad electrofisiológica de las células de la retina, en respuesta a una serie de estímulos luminosos repetidos en un periodo de tiempo determinado. Se trata de una respuesta evocada de la retina tras ejercer un estímulo luminoso sobre ella y recogida a distancia del lugar de origen mediante electrodos de superficie. El conjunto de potenciales recogidos por los electrodos se aísla y magnifica, y se representa mediante una gráfica gracias al tratamiento de la señal con un programa informático^{95,108,195,196}.

3.3.1.3. TÉCNICAS DE ELECTORRETINOGRFÍA

Existen numerosas técnicas de electroretinografía descritas por la ISCEV (International Society for Clinical Electrophysiology of Vision) aplicadas en medicina humana¹⁰⁹. Algunas de estas técnicas son:

- ERG estándar (Flash)
- ERG macular o focal
- ERG patrón
- ERG multifocal
- ERP (Early Receptor Potential)
- STR (Scotopic Threshold Response)
- Direct-current ERG
- ERG fotópico de larga duración (on-off responses)
- ERG doble-flash
- ERG de estímulo cromático
- ERG con adaptación a la luz y a la oscuridad
- Análisis de luminancia escotópica y fotópica

Las técnicas más comunes en medicina humana son: ERG estándar con flashes (Flash-ERG) y ERG con patrón (explora las c. ganglionares⁵¹). Sin embargo, en oftalmología veterinaria, la técnica utilizada es el Flash-ERG debido a las especiales características de nuestros pacientes. Por ello, es la técnica que hemos utilizado en nuestro estudio y sobre la que hemos realizado nuestra revisión bibliográfica.

La mayoría de equipos de registro de ERG están formados por: un estimulador, electrodos, un amplificador y un programa informático de registro y promediado de las señales registradas^{33,40,197} (Fig.46).

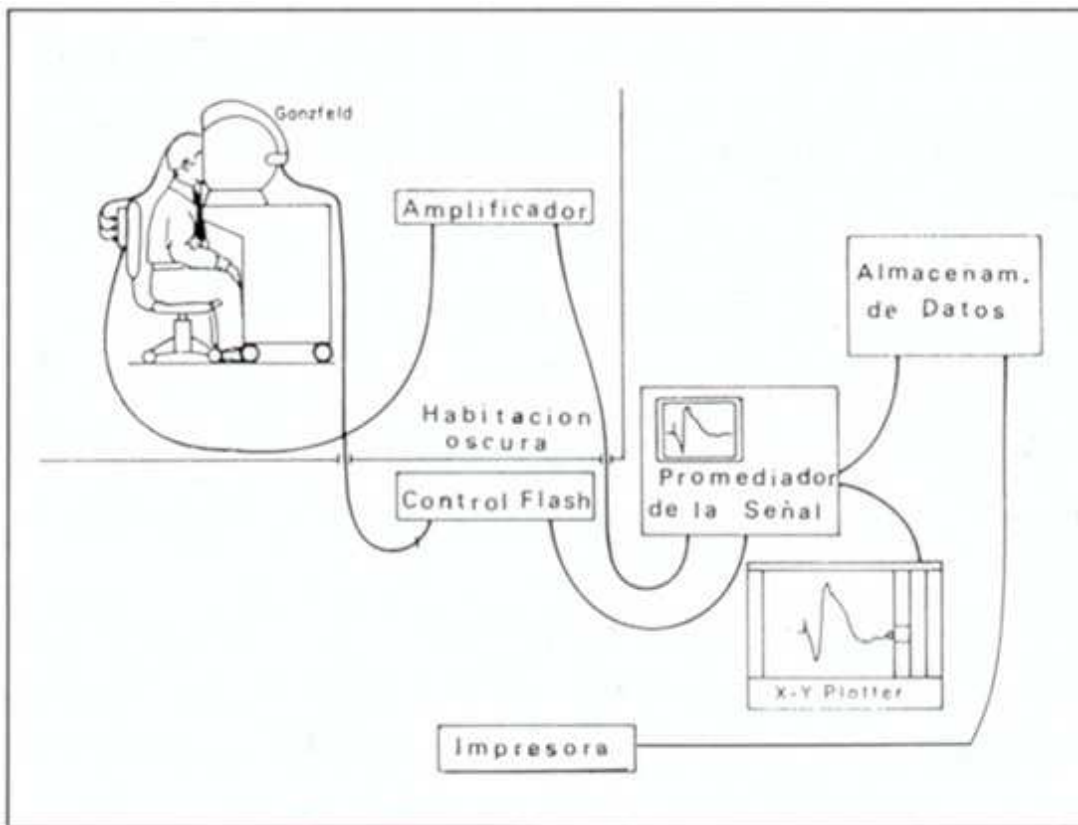


Fig.46: Equipo básico de electrodiagnóstico.⁵⁶

El fundamento de cualquier técnica electrorretinográfica consiste en:

- la estimulación luminosa de la retina.
- la recepción de las señales evocadas por las células retinianas mediante electrodos.
- la amplificación de las señales registradas.
- el filtrado del “ruido” de fondo procedente de señales electrofisiológicas extra-retinianas.
- el registro, representación gráfica y promediado de los datos obtenidos.

3.3.1.4. PARÁMETROS DE ESTIMULACIÓN LUMINOSA

En el proceso de obtención del Flash-ERG es fundamental la estimulación luminosa de la retina mediante flashes de luz que provoquen cambios en la polaridad eléctrica de las membranas celulares de las neuronas retinianas. Durante esta fase de estimulación es necesario controlar una serie de parámetros como son: el tipo de estimulador luminoso, las características del estímulo (duración, longitud de onda, intensidad) y la iluminación de fondo¹⁰⁹.

a) Estimulador luminoso

El Flash-ERG puede realizarse mediante estimulación monocular, utilizando flashes estroboscópicos focales o miniGanzfel^{109,125 159,186} (Fig.47), o bien mediante estimulación binocular utilizando un estimulador de campo completo en forma de cúpula (Fig.48).



Fig.47: Miniganzfeld (Roland Consult®).¹⁵⁷



Fig.48: Equipo de ERG con estimulador de campo completo.¹⁹²

En algunos estudios recientes utilizan LED (light emitting diodes) como estimulador luminoso^{72,101,104,171,204}.

b) Duración del estímulo

Durante la estimulación luminosa de los fotorreceptores retinianos, cada flash de luz emitido por el estimulador debe durar 5ms como máximo^{109,125}.

c) Longitud de onda del estímulo

La longitud de onda del flash debe tener una temperatura de color de 7000°K, y debe utilizarse con cúpulas o difusores de luz blanca. Algunos investigadores utilizan también filtros de colores para separar las señales electroretinográficas procedentes de los conos y los bastones, aunque esto conlleva una intensidad luminosa más atenuada^{109,101,124,126}.

d) Intensidad del estímulo

La intensidad luminosa del estímulo o “luminancia del flash” se mide en candelas fotópicas por segundo por metro cuadrado ($\text{cd} \cdot \text{s} \cdot \text{m}^{-2}$).

Esta intensidad la modificaremos durante el examen clínico dependiendo de la respuesta que queramos obtener. Estos parámetros pueden variar según el protocolo que utilicemos para el registro, así, para obtener el ERG según el estándar de la ISCEV tendremos que ajustar las intensidades del flash y de la luz de fondo del siguiente modo¹⁰⁹:

- para la estimulación de bastones: $0,01 \text{ cd} \cdot \text{s} \cdot \text{m}^{-2}$
- para el resto de respuestas: $3,0 \text{ cd} \cdot \text{s} \cdot \text{m}^{-2}$ (estándar flash)
- la adaptación fotópica y la luminancia de fondo: $30 \text{ cd} \cdot \text{s} \cdot \text{m}^{-2}$

e) Nomenclatura del estímulo y de las respuestas

Tanto el tipo de estimulación utilizado como la respuesta que obtenemos, la denominamos según el tipo de adaptación luminosa y la luminancia del flash en $\text{cd} \cdot \text{s} \cdot \text{m}^{-2}$. Por ejemplo, la respuesta con adaptación a la oscuridad y flash de $3,0 \text{ cd} \cdot \text{s} \cdot \text{m}^{-2}$ se denomina “ERG 3.0 escotópico”. A veces se añaden términos como “respuesta de bastones” o “respuesta máxima de conos y bastones”¹⁰⁹.

f) Illuminación de fondo

Además de la emisión de flashes, el estimulador debe ser capaz de producir una luminancia de fondo constante para la adaptación fotópica. Suele utilizarse una luz de fondo blanca de $30 \text{ cd} \cdot \text{s} \cdot \text{m}^{-2}$. Así mismo, las variaciones en su calibrado deben rondar $\pm 10\%$ ¹⁰⁹.

En algunos estudios especiales puede utilizarse luz de fondo cromática¹⁰⁹.

Todos los parámetros de estimulación descritos deben calibrarse y ajustarse en cada equipo de ERG según las especificaciones del fabricante y según el propio estándar elaborado por cada investigador en su experiencia clínica.

3.3.1.5. PARÁMETROS DE REGISTRO DE LAS SEÑALES

Para registrar las señales que forman el electroretinograma debemos tener en consideración una serie de parámetros de registro que influirán sustancialmente en el análisis. Los más importantes son: el tipo de electrodo y su emplazamiento, el sistema de amplificación y filtrado de la señal, y el sistema de informático de registro y promediado.

a) Los electrodos

La estimulación luminosa de las células retinianas provoca una serie de potenciales de acción que son recogidos en la superficie cutánea craneal y corneal por medio de electrodos de superficie¹³⁵.

Los electrodos son de tres tipos según la función que desempeñen:

- **electrodos de registro:** recogen las señales procedentes de la retina.
- **electrodos de referencia:** crean una diferencia de polaridad eléctrica respecto la retina.
- **electrodo de tierra:** crea una toma de tierra en nuestro circuito eléctrico.

Los electrodos de registro (+) suelen ser lentes de contacto que se colocan sobre la córnea^{1,87,94,109,112,125,126,142,144}, electrodos de fibra¹², electrodos conjuntivales (conjuntiva bulbar)¹⁸⁶ o electrodos intracraneales para registros crónicos⁵⁷ (Fig.49).



Fig.49: Distintos tipos de electrodos.¹¹³

La mayoría de investigadores coinciden en que los electrodos de lente de contacto son los que registran mayores amplitudes y realizan registros más estables^{72,109}. Estudios previos con electrodos activos colocados sobre la superficie cutánea registraron amplitudes más bajas y mayores niveles de “ruido” o artefactos.

Para la aplicación de este tipo de electrodos es necesario lubricar la superficie corneal con una solución iónica conductiva, no alergénica y no irritante, cuya viscosidad no supere el 0,5% de la metilcelulosa ya que soluciones más viscosas atenuarían la amplitud de la señal^{109,112,125}.

Los electrodos de referencia (-) se utilizan como puntos corporales de actividad eléctrica reducida o nula respecto al cual se mide el potencial eléctrico del electrodo activo. Por ello se coloca alejado del electrodo activo o de registro.

Algunos investigadores emplean electrodos bipolares situados en la conjuntiva como electrodos de referencia, pero el lugar más utilizado suele ser la superficie cutánea a 1cm del canto lateral del ojo correspondiente^{1,87,94,109,112,125,126,144}. Otros autores también utilizan la frente como lugar de referencia, pero conlleva más riesgo de contaminación por las señales eléctricas procedentes del ojo contralateral o de los potenciales evocados corticales.

En último lugar, el electrodo de tierra (G), que posibilita una toma de tierra al circuito creado, suele situarse sobre la superficie cutánea de una zona craneal alejada del ojo (ej: cresta occipital, frente u oreja)^{1,87,94,112,126,142,144}.

Tanto los electrodos de referencia como el de tierra pueden ser de diversas formas y materiales¹¹² (agujas subcutáneas^{72,125,142,144,186}, discos de oro¹⁰⁹...), su impedancia debe oscilar entre los 5K Ω y su resistencia los 10KW^{109,125,126,186}.

En los electrodos de disco de oro es fundamental rasurar y limpiar la superficie cutánea, así como colocar una pasta conductora que asegure un buen registro de la señal eléctrica y minimice los artefactos indeseables. Además, después de cada examen clínico es imprescindible limpiar y esterilizar los electrodos para prevenir el contagio de enfermedades entre pacientes y para conservar las características de conductividad de los electrodos^{109,125}.

b) El sistema de amplificación y filtrado

Las señales eléctricas que constituyen el ERG son de muy pequeño tamaño (unos pocos μ V) y deben ser ampliadas para su análisis. Para ello, conectamos los electrodos al amplificador diferencial, que disminuirá el “ruido de fondo” o artefactos procedentes de la actividad electrofisiológica de zonas corporales extra-retinianas gracias a los filtros que posee¹⁰⁹. Los filtros del amplificador deben incluir un rango de 0,3-300 Hz^{109,186} ó 1-300 Hz^{125,126}, y la impedancia de las referencias o inputs del amplificador debe oscilar los 10M Ω ¹⁰⁹.

Durante el estudio electroretinográfico es muy importante que el paciente esté aislado eléctricamente.

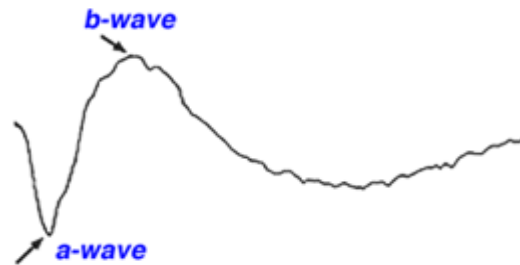
c) El sistema de registro y promediado

Para obtener un registro de señales electrofisiológicas es imprescindible conectar el amplificador a su equipo informático de registro y promediado (Averaging systems) que suele consistir en una computadora con sistemas digitalizados. Este equipo recoge todas las señales eléctricas filtradas y sin atenuar, para analizar los datos, representarlos gráficamente y realizar un promedio de las diferentes mediciones¹⁰⁹. La duración de cada registro (sweep time) debe rondar los 200 ms^{125,126}.

d) Representación y análisis de datos. El electroretinograma

El equipo de electroretinografía realiza una representación gráfica de los datos obtenidos, llamada electroretinograma. En realidad se trata de una representación gráfica del conjunto de cambios de potencial de membrana obtenidos tras estimular mediante fotones las células de la retina.

El electroretinograma está formado por una serie de ondas de diferente polaridad. Distinguiremos tres ondas principales (a, b, c), aunque sólo dos de ellas (a y b) tienen interés diagnóstico en oftalmología veterinaria (Fig.50)^{1,19,22,33,40,94,109,125-127}.



The basic waveform of the ERG

Fig.50: Gráfica normal de ERG (onda a y b).²⁷

- La onda “a”: es la primera onda registrada, de polaridad negativa y originada por la hiperpolarización de los fotorreceptores (conos y bastones)^{46,51,127,147,174} (Fig.52 y 53).
- La onda “b”: es la segunda onda en registrarse, de polaridad positiva y mayor amplitud que la onda “a”. Su origen se relaciona directamente con la actividad de las c. de Müller e indirectamente con la despolarización de las c. bipolares tipo ON^{20,46,51,94,119,154,162,174,181} (Fig.52 y 53).

Durante la fase ascendente de la onda “b” pueden registrarse los Potenciales Oscilatorios (OPs)¹²⁵ (Fig.51-52). Consisten en una serie de ondas rítmicas originadas en la capa plexiforme interna de la retina, principalmente por las c. amacrinas^{18,49,51,94,144,174,179,181,182}. Además, ciertos estudios con roedores muestran una posible contribución de las c. ganglionares junto a las c. amacrinas como originarias de los OPs¹⁹.

El registro de los OPs depende de la intensidad, ratio y características espectrales del estímulo luminoso y del estado de adaptación de la retina, por lo que requiere un estímulo luminoso intenso y de luz blanca,^{125,181,182} y un filtro de baja frecuencia ajustado entre 70-100Hz¹²⁵.

oscillatory potentials (OPs)

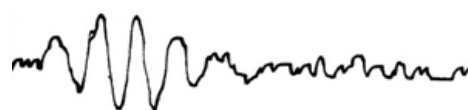


Fig.51: Potenciales oscilatorios aislados de la onda “b”.²⁷

The single flash Ganzfeld Electroretinogram

FIG. 2A

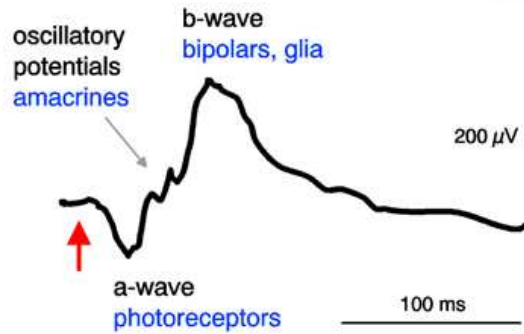


Fig.52: Potenciales oscilatorios en un ERG normal. Células generadoras de las diferentes ondas.¹²⁸

- la onda “c”: es la tercera onda registrada, de polaridad también positiva y generada por las células del epitelio pigmentario de la retina que contactan con los bastones^{20,33,95,137,162,174}. Puede registrarse en ciertas condiciones de estimulación con flashes de larga duración (>300 ms)^{1,94,127,159,182}. En la mayoría de casuística esta onda es de baja amplitud y difícil de registro, por lo que no la tendremos en cuenta en nuestros estudios (Fig.52 y 53).

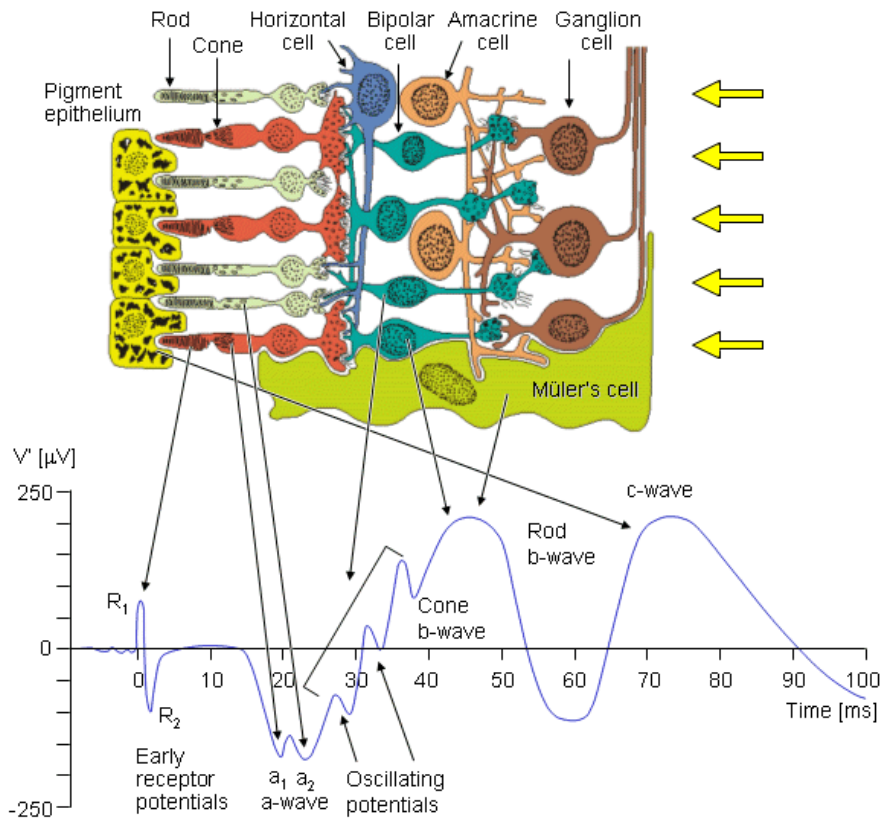


Fig.53: Células retinianas generadoras de las distintas ondas del ERG.¹⁰³

Bajo ciertas condiciones de estimulación y registro, algunos investigadores han observado ondas adicionales (onda-i, onda-d) de origen desconocido^{20,162}. Además, en ciertas ocasiones, tras el complejo de ondas “a” y “b”, pueden observarse artefactos procedentes de la actividad muscular¹⁵⁹ o de interferencias con los PEV⁴⁶.

El **análisis de los datos** obtenidos se basa en la interpretación de la morfología del electroretinograma, así como de los parámetros que caracterizan las ondas “a” y “b”. Éstos son: la latencia, los tiempos implícitos o latencias absolutas y las amplitudes^{22,33,40,86,87,94,124-126,181,197}.

- La latencia: se mide en milisegundos (ms) e indica el tiempo que transcurre desde que emitimos el primer flash hasta que aparece la onda analizada⁴⁰. Este parámetro no es de gran importancia en oftalmología veterinaria, por lo que no lo tendremos en consideración en nuestro estudio.
- El tiempo implícito o latencia absoluta: se mide también en milisegundos (ms) y mide el tiempo que tarda cada tipo de célula retiniana en presentar una respuesta máxima. Para interpretarlo, medimos el tiempo transcurrido desde el primer flash hasta el punto máximo de la onda analizada (Fig.54)^{22,40,87,94,109,124-126,159,181}.
- La amplitud^{22,40,87,94,109,124-126,159,181}: medida en microvoltios (μV), muestra el voltaje o potencia eléctrica de las respuestas celulares. La amplitud de la onda “a” la mediremos desde la línea isoelectrónica (base line = potencial permanente del ojo) hasta el punto máximo o pico dicha onda. Sin embargo, la amplitud de la onda “b” la mediremos desde el punto máximo de la onda “a” al punto máximo de la onda “b” (Fig.54)¹⁵⁹.

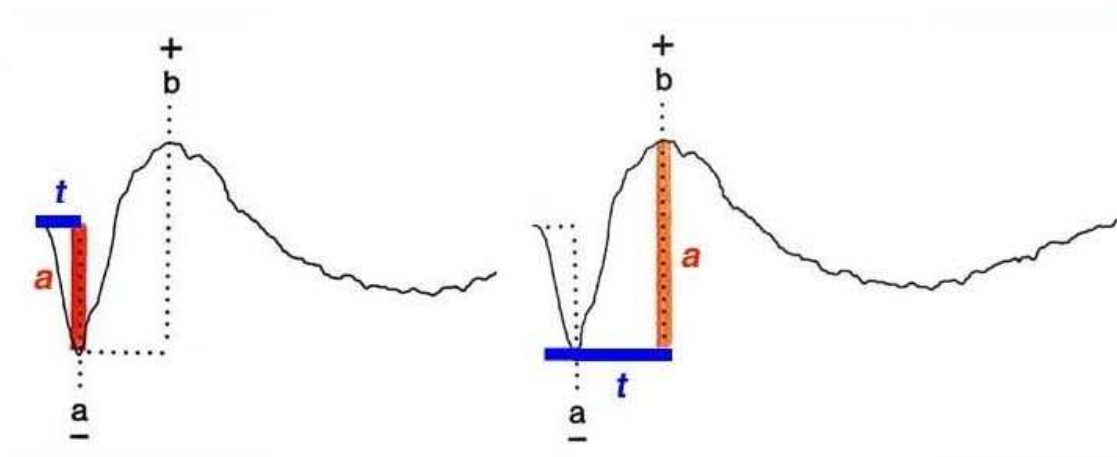


Fig.54: Medida de la amplitud y tiempo implícito de las ondas “a” y “b”.²⁷

El tiempo implícito y la amplitud de una onda serán los parámetros más importantes para interpretar un ERG¹⁸⁶.

Algunos investigadores, como Records y Zahn, señalan que la amplitud de una onda es proporcional a la cantidad de células estimuladas de la retina, mientras que el tiempo implícito depende de la conducción de la señal eléctrica a través de las distintas capas celulares de la retina cuando ésta es estimulada.

Cada clínico necesita realizar un estándar con los valores normales de amplitud y tiempo implícito de las diferentes ondas del ERG de todos sus pacientes para, de este modo, poder interpretar con fiabilidad sus resultados. Esto es fundamental por la variabilidad de registros dependientes del equipo de diagnóstico utilizado^{109,186}. Por tanto, consideraremos que un ERG es anormal cuando estos parámetros se desvíen significativamente del estándar. Normalmente, las alteraciones oculares que alteran el ERG suelen provocar aumentos de los tiempos implícitos y, aumentos excesivos o disminución de las amplitudes de las ondas “a” y “b”.

Además, cada electrofisiólogo debe seguir un protocolo clínico estandarizado para evitar posibles errores de interpretación de resultados causados por variaciones en el proceso de obtención del ERG.

3.3.1.6. PROTOCOLO CLÍNICO

La mayoría de investigadores emplean una modificación del protocolo clínico estandarizado por la ISCEV adaptándolo a las características específicas de cada especie animal.

a) Condiciones ambientales

Las pruebas de electrodiagnóstico deben de realizarse en una habitación acondicionada para este tipo de exámenes. Tendremos en cuenta una serie de recomendaciones como: mantener una temperatura ambiental estable de 25°C, utilizar una habitación cerrada sin ventanas y aislada eléctricamente, y que posea una toma de oxígeno⁴⁰.

b) Preparación del paciente

Para el examen electroretinográfico es fundamental la dilatación pupilar para exponer la mayor parte de la retina al estímulo luminoso^{51,72,109,124-126,142,167}.

Normalmente suele utilizarse tropicamida al 1% en la especie canina^{40,72,125,126,144,167}, aunque en otras especies, como el ganado ovino, no se emplea ningún midriático¹⁸⁶, es necesario fijar y centrar el ojo en su órbita para evitar posibles artefactos derivados del desplazamiento del electrodo corneal^{72,109,126}. Para conseguirlo se puede emplear blefarostatos^{40,144}, suturas conjuntivales^{125,126,159} o una inyección retrobulbar de suero fisiológico para evitar la rotación del ojo¹²⁴.

Se recomienda rasurar y limpiar la superficie cutánea donde emplazaremos los electrodos de superficie.

El estudio electroretinográfico del perro requiere anestesia general que evite los artefactos causados por los movimientos musculares involuntarios, mientras que en grandes animales sólo se emplea sedación o ningún tipo de anestesia general^{72,125,186}. La mayoría de protocolos anestésicos suelen incluir: tiletamina-zolazepam (Zoletil®)⁴⁰, acepromacina + petidina + propofol¹⁶⁷, tiopental sódico 2,5% + halotano¹²⁴, etc. Y durante el examen siempre se mantendrá una correcta oxigenación del paciente¹²⁵. A la hora de elegir el tipo de anestésico es fundamental tener en cuenta que algunos anestésicos producen rotación ventromedial del ojo y depresión del sistema nervioso central.

El factor más importante a la hora de realizar una buena estimulación luminosa de la retina es la adaptación a la oscuridad. Ésta debe ser como mínimo de 20 minutos de duración para el estudio del ERG escotópico^{72,109,124-126,144}.

Sin embargo, el estudio del ERG fotópico para evaluar la funcionalidad de los conos requiere un mínimo de 10 minutos de adaptación a la luz^{109,125,126}. Este hecho demuestra que los conos se adaptan o recuperan su función más rápidamente que los bastones.

Hay que tener en cuenta que si realizamos fotografías de fondo ocular y angiografías fluoresceínicas previas al ERG, el tiempo de adaptación a la oscuridad deberá ser incrementado a 1 hora como mínimo^{109,125,126}.

c) **Colocación de electrodos**

Algunos autores utilizan anestésico tópico para anestesiar las córneas previamente a la colocación de los electrodos de lentilla^{40,142,144}. Pero siempre protegen las córneas con una solución conductiva no irritante como puede ser la metilcelulosa 0,5%^{109,125,159} ó 2%¹⁶⁷, hidroxipropil metilcelulosa 2,5%^{40,142,144} ó 0,3% (Methocel®)^{72,124}, siempre evitando la formación de burbujas entre ésta y el electrodo^{109,125,159}.

En primer lugar, se colocarán los electrodos activos o de registro sobre la superficie corneal^{40,109,142,144,159,167}. Suelen utilizarse lentillas con anillo de oro eligiendo la curvatura adecuada para cada paciente^{72,125,126,167}.

A continuación, se posicionan los electrodos de referencia, a unos 2cm de distancia del electrodo de registro, es decir, a 1cm del canto lateral del ojo^{40,126}. Este tipo de electrodo suele ser de disco de oro o agujas subcutáneas (18 gauge)^{40,72,125}.

En último lugar, se coloca un único electrodo de tierra (ground electrode) en diversas zonas como el pabellón auditivo o la cresta occipital^{40,124,126,144,186}.

En la colocación de los electrodos de referencia y de tierra se empleará una pasta conductora para facilitar la fijación de los electrodos a la superficie cutánea y mejorar la recepción de las señales eléctricas. Debe permitir que la impedancia de los electrodos no supere los 5 K Ω ^{109,125,126}.

d) Preparación del equipo de registro

Los distintos electrodos se conectarán al amplificador diferencial y sistema de filtrado⁴⁰. Y ajustaremos los filtros entre 1-300 Hz para evitar el “ruido de fondo”.

A su vez, conectaremos el amplificador y el fotoestimulador (ganzfeld) a la unidad informática central⁴⁰.

De este modo, habremos creado el circuito eléctrico que nos interesa (Fig.55).

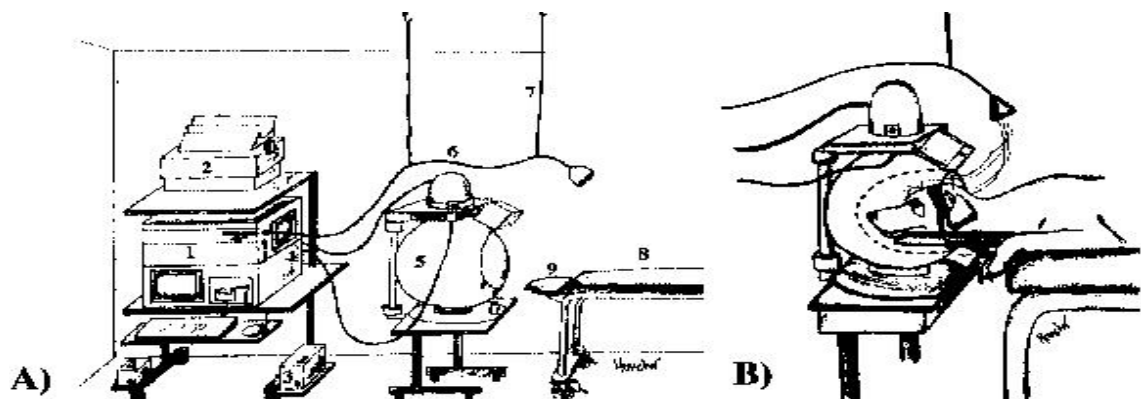


Fig.55: A) Conexión de las diferentes partes del equipo de ERG. B) Colocación del paciente en la unidad fotoestimuladora.⁴⁰

El fotoestimulador se coloca frente al animal, si realizamos estimulación binocular^{142,186}, o a 10cm de distancia de cada ojo si realizamos estimulación monocular. En este último caso, tapamos el ojo que no estamos analizando.

Además, en la unidad informática programamos los diferentes parámetros de estimulación y registro, dependiendo de la respuesta que queremos obtener.

e) Elección del protocolo de estimulación

Actualmente existen dos tipos de protocolos estandarizados por la ISCEV que se emplean dependiendo del tipo de diagnóstico que deseamos obtener^{109,125}.

Tenemos un protocolo abreviado para evaluar la función global de la retina y que utilizaremos previamente a la cirugía de cataratas, y un protocolo más extenso y completo que evalúa la funcionalidad de las diferentes células retinianas permitiendo el diagnóstico de enfermedades relacionadas con los fotorreceptores^{109,125,126}.

Protocolo abreviado para evaluar la funcionalidad global de la retina^{109,126}:

1. Adaptación a la oscuridad durante 5 min.
2. Análisis de la función de los bastones con flash de baja intensidad (single flash-SF).
3. Análisis mixto de conos y bastones usando SF¹⁶⁷.

Existe una modificación de éste¹²⁵:

1. Análisis de la función retinal en luz ambiente usando SF.
2. Análisis de la función retinal tras 1 min. de adaptación a la oscuridad con SF.
3. Segundo análisis de la función retinal tras 5 min. de adaptación a la oscuridad con SF.

Protocolo para diagnosticar enfermedades de los fotorreceptores^{109,126}:

1. Adaptación a la oscuridad durante 20 min. Y evaluación de la funcionalidad de los bastones y su adaptación a la oscuridad cada 5 min.
2. Análisis del flícker de bastones.
3. Análisis mixto de conos y bastones.
4. Adaptación a la luz durante 10 min.
5. Análisis de los conos.
6. Análisis del flícker de conos.

Este protocolo es más completo y permite evaluar por separado la funcionalidad de ambos fotorreceptores.

f) Obtención de los electroretinogramas básicos (fig.56)¹⁰⁹

1. ERG 0.01 escotópico (respuesta de los bastones): es la primera prueba realizada tras la adaptación a la oscuridad. La realizamos con un flash de luz blanca tenue de $0.01 \text{ cd} \cdot \text{s} \cdot \text{m}^{-2}$ y con un intervalo mínimo de 2 s entre flashes.

2. ERG 3.0 escotópico (respuesta mixta conos + bastones): es la segunda prueba a realizar. Utilizaremos un flash blanco más intenso ($3.0 \text{ cd} \cdot \text{s} \cdot \text{m}^{-2}$) y con un intervalo de 10 s entre estímulos.

3. Potenciales Oscilatorios 3.0 escotópico: usamos un flash de $3.0 \text{ cd} \cdot \text{s} \cdot \text{m}^{-2}$, pero ajustamos el filtro de alta frecuencia a 75-100 Hz.

4. ERG 3.0 fotópico (respuesta de los conos): lo realizamos tras 10 min de adaptación a la luz, empleando un flash de $3.0 \text{ cd} \cdot \text{s} \cdot \text{m}^{-2}$ y una luz de fondo de $30 \text{ cd} \cdot \text{s} \cdot \text{m}^{-2}$.

5. Flícker 3.0 fotópico (respuesta exclusiva del sistema de conos): última prueba realizada en ambiente luminoso, con un flash de $3.0 \text{ cd} \cdot \text{s} \cdot \text{m}^{-2}$ y una frecuencia de estimulación elevada de 30 Hz (30 flashes/s)¹⁰⁹ ó 50 Hz¹²⁶. Esta prueba permite aislar más todavía la respuesta de los conos⁵¹.

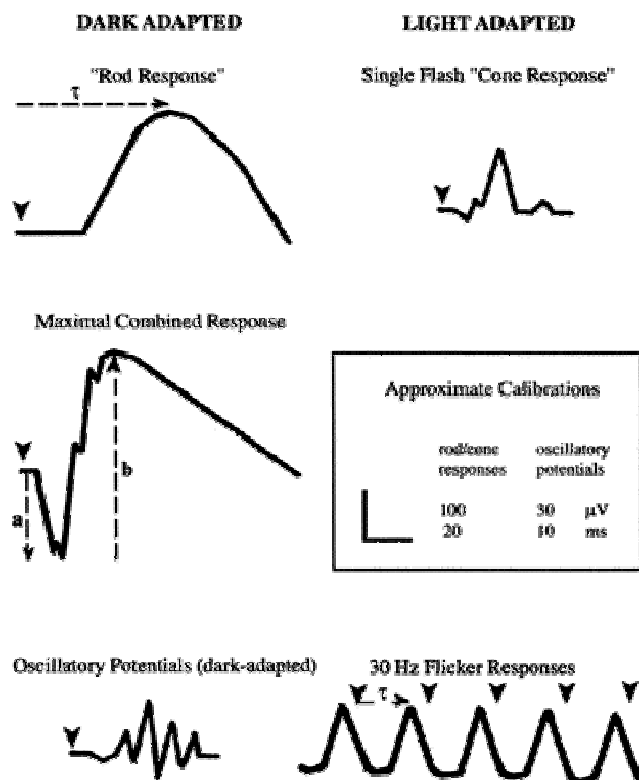


Fig.56: Electroretinogramas de las pruebas básicas.¹⁰⁹

g) Análisis e interpretación de resultados

Consiste en la observación de la morfología global de la gráfica y de las distintas ondas registradas, y en el análisis de los parámetros de amplitud y tiempo implícito de las ondas “a” y “b”, comparando los registros de ambos ojos en busca de asimetrías funcionales¹⁰⁹. Estudios recientes han demostrado que grandes aumentos del tiempo implícito de la onda “a” es indicativo de un daño muy extenso en la retina¹⁴⁷.

Los OPs se suelen estudiar cuando se sospecha de alteraciones del riego sanguíneo en la retina interna, pero no se examinan en la rutina de la clínica^{109,124}.

Según la morfología del electroretinograma se distinguen cinco tipos de registros⁵¹:

- 1- Registro abolido: no existe ninguna respuesta. Indica que la retina está afectada en toda su extensión con disfunción de fotorreceptores y c. bipolares. Este registro es típico de distrofia de fotorreceptores, desprendimientos totales de retina y obstrucción de arteria oftálmica.
- 2- Registro disminuido: reducción de las amplitudes. Esta disminución es proporcional a la superficie de retina dañada. Este patrón se encuentra en coriorretinitis extensas, desprendimientos de retina parciales y en algunas formas de ceguera nocturna estacionaria congénita (CNEC) en el hombre.
- 3- Registro negativo: onda “a” normal y disminución de la amplitud de la onda “b”. Se debe a una afección selectiva de las c. bipolares o de las c. de Müller, donde los fotorreceptores son normales. Este registro es típico de patología vascular de la retina, y en humanos es diagnóstico de la retinosquiasis ligada al gen X por afectación selectiva de la c. de Müller, y en algunos tipos de CNEC donde hay un defecto congénito de la neurotransmisión a nivel de la capa plexiforme externa.
- 4- Registro escotópico anormal con fotópico normal: producido por una afección selectiva del sistema de bastones. Es el registro más frecuente del inicio de la retinosis pigmentaria del hombre o de la atrofia progresiva de retina del perro.
- 5- Registro fotópico anormal con escotópico normal: por anomalías exclusivas del sistema de conos. Suele observarse en la atrofia progresiva de conos y en el monocromatismo de bastones.

3.3.1.7. FACTORES INFLUYENTES EN LA CALIDAD DEL ERG

Existe una gran variedad de factores que influyen en la morfología del ERG y vamos a clasificarlos del siguiente modo:

a) Factores relacionados con el paciente: la especie, la raza y la edad del animal (gran variabilidad de tamaño y grosor del cráneo¹²⁵), la oxigenación y nivel sérico de glucosa, la temperatura corporal, la presión intraocular, la movilidad del globo ocular, de los párpados o de los músculos corporales durante el proceso⁸⁶, el diámetro pupilar y la transparencia de los medios de refracción del ojo^{32,40,87,95,109,125,133,144,153,159,164}.

La edad es un factor a tener en cuenta en los registros de ERG, pues existe una disminución de las amplitudes y aumento de los tiempos implícitos de las ondas “a” y “b” correlacionada con el envejecimiento. No obstante, estas ligeras modificaciones interfieren poco en la clínica diaria^{142,147}.

En cuanto al sexo, se ha descubierto en medicina humana una mayor amplitud de la onda “b” en las mujeres, pero esta variación es tan ligera que no suele tenerse en cuenta en estudios prácticos¹⁴².

El tamaño del cráneo (dependiente de la especie, raza y edad) es un factor muy importante relacionado con la intensidad de la señal recibida. Los cráneos de reducido tamaño presentan menor atenuación de la señal, pues este hecho está directamente relacionado con el cuadrado de la distancia existente entre el electrodo de registro y el lugar generador de la señal^{52,186}.

Factores como la alteración del riego sanguíneo de la retina (ver anexo 3) o los aumentos de presión intraocular alteran los OPs, afectando a sus amplitudes y tiempos implícitos¹⁸¹.

Incluso el tamaño pupilar y la presencia de tapete afectan a la cantidad de luz que recibe la retina, por lo que hay que tenerlo en cuenta durante el estudio del ERG escotópico¹³¹. Así, ciertas especies como los felinos presentan un gran tapete que incrementa 130 veces la luminosidad de la retina¹⁵⁵, siendo sus respuestas electroretinográficas un 50% mayor que las de los caninos en las mismas condiciones de estimulación¹⁷⁹. Esto sugiere que una respuesta, que sería interpretada como normal en un perro, sea deprimida para un gato¹³¹.

b) Factores técnicos del procedimiento: la temperatura ambiente, el tipo de anestesia empleado, los parámetros de estimulación, la adaptación de la retina a la oscuridad, la luminancia de fondo durante el proceso, el tipo de electrodo, la solución conductora usada entre el electrodo de lentilla y la córnea, y las propiedades eléctricas del sistema de testado^{1,22,32,40,86,87,95,109,115,125,133,144,159,164,205}.

Uno de los factores más influyentes en las respuestas electrofisiológicas es el tipo de agente anestésico empleado así como el plano anestésico conseguido. Se debe al cambio de temperatura corporal y a la depresión del sistema nervioso que inducen. Por lo que induce un incremento de la latencia y una disminución de las amplitudes de las respuestas^{88,97,172}. Se ha comprobado en el perro, que la anestesia con halotano retarda la adaptación a la oscuridad, reduce las amplitudes de la onda “b” en el ERG escotópico, pero incrementa las amplitudes de los OPs²⁰⁵. Los estudios más recientes recomiendan la utilización de tiletamina-zolacepam para realizar el protocolo corto de ERG en perros⁹⁷.

Diversos estudios han comprobado cómo el tiempo de adaptación a la oscuridad influye sustancialmente en las amplitudes de las ondas del ERG. Así tiempos de más de 20 min de adaptación provocan incrementos importantes de las amplitudes de las ondas “a y b” y del tiempo implícito de la onda “b”⁷². También hay que tener en cuenta que los animales de hábitos nocturnos (retina con predominio de bastones) requieren un mayor tiempo de adaptación a la oscuridad respecto a los de hábitos diurnos (retina con predominio de conos)¹³².

Además, se recomienda realizar las pruebas de ERG en la misma franja horaria del día porque se ha comprobado la influencia de las variaciones diurnas de regeneración de los fotorreceptores. Y esto produce variaciones (20-30%) de las amplitudes del ERG de un mismo paciente entre medidas tomadas por la mañana y medidas registradas al final de la tarde^{5,57,153}.

Debido a la gran diversidad de factores que modifican el ERG, es necesario que cada equipo de diagnóstico cree un estándar propio de los valores normales para cada sistema de registro.

3.3.1.8. INDICACIONES DEL ERG (ver anexo 1)

La realización de un estudio de ERG es necesaria cuando sospechamos de lesiones a nivel de la retina. Por lo que puede ayudarnos en la identificación de la causa de ceguera, siempre que no sea de origen central. Además el ERG nos ayuda a diagnosticar enfermedades hereditarias de retina con gran anterioridad a su presentación clínica^{51,124,125,131,167}, y a evaluar la evolución de los desórdenes progresivos de la retina⁹⁵.

En la actualidad, el ERG presenta un gran valor en la evaluación del efecto de diversos tratamientos para la enfermedad degenerativa de retina como la terapia génica, la terapia con células madre y los implantes subretinianos^{102,123}.

El ERG se utiliza también cuando hay opacidad de los medios transparentes del ojo. En medicina humana se emplea el ERG para evaluar la funcionalidad de la retina antes de realizar un trasplante de córnea o cuando existe edema cornea tras una enfermedad traumática o inflamatoria. Además se utiliza en hemorragias densas de vítreo de origen traumático o previamente a la vitrectomía⁷⁵.

Tanto en medicina humana como en veterinaria, el ERG se realiza siempre como técnica previa a la cirugía de cataratas, fundamentalmente en razas predispuestas a una Atrofia Progresiva de Retina (APR) (degeneración de fotorreceptores hereditaria análoga a la retinitis pigmentosa humana), en las cuales la extracción del cristalino no solucionará el problema de ceguera. En este tipo de lesión observaremos una disminución de la amplitud de la onda “b” y variaciones en los tiempos de culminación^{95,131,167}.

El ERG con filtros de color es útil en la detección de la hemeralopia o ceguera diurna, donde no habrá respuesta a la estimulación fotópica debido a la ausencia de la función de los conos, y donde la estimulación escotópica será normal por una correcta función de los bastones^{51,71,95,101}.

Además, el ERG permite distinguir cegueras súbitas (ver anexo 2) producidas por neuritis ópticas de la degeneración de retina súbita adquirida (SARD), ya que ambas enfermedades cursan con la misma sintomatología clínica (ceguera aguda, examen de fondo de ojo normal y pupilas dilatadas no reactivas)^{51,131}.

En veterinaria no suele utilizarse el ERG con patrón por la dificultad existente para que los animales presten atención a la pantalla estimuladora, pero en medicina humana es muy importante este tipo de técnica en el estudio del glaucoma debido a su correlación con la delgadez de la capa de fibras nerviosas¹³⁶.

El ERG estará alterado en estadios donde la alta presión ocular haya dañado esta capa de la retina, por lo que observaremos alteraciones en la amplitud de la onda “b” y en la latencia de la onda “a”⁹⁵.

En el desprendimiento de retina habrá variaciones de la onda “b”. Aunque en ciertos casos hay una alteración del ERG escotópico en estadios iniciales de la enfermedad, mientras que el ERG fotópico es normal⁹⁵ (ver anexo 3).

Los OPs no suelen utilizarse en la rutina de la clínica veterinaria, pero podría emplearse en el diagnóstico de desórdenes relacionados con la alteración del riego sanguíneo retiniano, como son: la retinopatía diabética, la isquemia retiniana, la degeneración pigmentaria de retina, la retinopatía inducida por toxicidad (cloroquina, usada en medicina humana), la oclusión de la arteria central de la retina...¹⁴⁴ (ver anexo 3).

Así mismo, la electroretinografía también puede utilizarse para evaluar el daño ocasionado por una sustancia tóxica^{51,171,204} (ceguera inducida por ácido arsánico en porcino)²⁰³, una enfermedad infecciosa o parasitaria (listeriosis en ovino)¹⁸⁷ (ver anexo 4).

Hasta ahora hemos realizado un recuerdo de las bases de la electroretinografía antes de estudiar los PEV porque el ERG influye en el registro de los potenciales evocados visuales, pues la representación gráfica de los PEV registra señales procedentes de la estimulación luminosa de las células retinianas.

3.3.2. LOS POTENCIALES EVOCADOS VISUALES (PEV)

3.3.2.1. DEFINICIÓN

Los Potenciales Evocados Visuales (PEV) constituyen una prueba de electrodiagnóstico de la función visual. Mientras que el ERG recoge la respuesta de la retina, los PEV registran múltiples respuestas evocadas por la corteza cerebral visual tras la emisión de estímulos luminosos¹⁵². Además representan, al igual que el ERG, una gran cantidad de corrientes eléctricas generadas por un conjunto de células que son simultáneamente afectadas por el estímulo visual²⁸.

Las respuestas evocadas por la corteza visual serán recogidas en la superficie del cráneo mediante una serie de electrodos que a su vez las transmitirán a un amplificador y a un sistema informático de análisis y procesado, donde obtendremos una representación gráfica formada por una serie de ondas de diferente polaridad y con un conjunto de parámetros a interpretar. Estos potenciales evocados están constituidos por los potenciales postsinápticos generados por las células corticales, y son registrados cuando creamos una diferencia de voltaje entre un electrodo activo y otro de referencia⁸⁶.

Una representación normal de los PEV indicará una correcta funcionalidad de las vías visuales desde las células ganglionares de la retina hasta el córtex visual, mientras que si es anormal implicará la existencia de un defecto en la conducción de la señal eléctrica por alteración de alguna estructura de la vía retino-cortical^{53,195}.

Existen varias técnicas de obtención de los PEV, en las que hay que controlar una serie de parámetros tanto de estimulación como de registro para obtener unos resultados fiables y útiles para diagnosticar afecciones de las vías visuales.

3.3.2.2. TÉCNICAS DE ESTIMULACIÓN

Según el estándar realizado por el ISCEV (International Society for Clinical Electrophysiology of Vision)^{129,130}, existen tres técnicas fundamentales de estimulación para obtener los PEV:

- 1- PEV con patrón geométrico invertido
- 2- PEV con patrón onset/offset
- 3- Flash-PEV

a) PEV con patrón geométrico invertido

Este tipo de estimulación utiliza una pantalla con un patrón en damero o tablero de ajedrez compuesto por un número idéntico de cuadrados negros y blancos (Fig.57), los cuales cambian de fase (de blanco a negro y viceversa) repentinamente y de modo repetido un número determinado de inversiones por segundo^{4,129,130}.



Fig.57: Equipo de PEV con patrón geométrico invertido (Roland Consult®).¹⁵⁶

Otros investigadores como Cracco y Bodis-Wollner utilizan patrones con barras blancas y negras alternantes, que en el fondo representa un similar modo de estimulación de la corteza visual basado en la detección de cambios de contraste¹⁹³.

El patrón geométrico estimula principalmente la mácula y sobre todo la zona foveal (en humanos), pues son zonas de máxima densidad de conos y dichas células se encargan de discernir los cambios de contraste.

Desde este territorio retiniano se proyecta al cuerpo geniculado lateral y desde allí, por las fibras P (parvocelulares) de pequeño diámetro y conducción lenta⁹¹, al córtex visual primario (área 17, que posee gran representación de la mácula).

Por esta razón es la técnica más utilizada en medicina humana, junto al patrón onset/offset, para estudiar la agudeza visual¹⁹³.

Esta técnica de estimulación no es viable en los animales porque es necesaria la colaboración del paciente para que preste atención a la pantalla^{129,130}.

b) PEV con patrón onset/offset

La estimulación con patrón onset/offset se realiza también con una pantalla en damero, pero la presentación de éste se alterna con presentaciones de una pantalla blanca con fondo difuso. Además no debe haber cambio de luminancia durante la transición de una pantalla a otra^{129,130}.

Consiste también en una detección de cambios de contraste por parte de la corteza visual al igual que la técnica anterior¹³⁰.

Tanto en los PEV con patrón invertido como en los PEV onset/offset utilizamos pantallas con patrones geométricos donde un factor muy importante a considerar a la hora de la estimulación es el tamaño de los cuadrados del damero. Su importancia es debida a que los cuadrados de pequeño tamaño estimulan principalmente la zona foveal de la retina y los cuadrados de mayor tamaño inducen mayor cantidad de potenciales perifoveales. De este modo utilizaremos un tamaño u otro dependiendo de si queremos estudiar la agudeza visual del paciente o la respuesta a los contrastes, respectivamente.

c) Flash-PEV

El flash-PEV es la técnica más utilizada en veterinaria y en pediatría por la ausencia de necesidad de colaboración del paciente, pues puede realizarse con anestesia general. También puede realizarse sobre ojos que presenten alteraciones (opacidades) de los medios transparentes de refracción donde la entrada de la luz se vea atenuada^{4,51,117,130}.

La estimulación consiste en la emisión de flashes luminosos de modo monocular o binocular por diferentes aparatos como son: los flashes estroboscópicos o ganzfeld¹²⁹ (que estimulan simultáneamente todas las zonas de la retina) y las gafas de LED (light-emitting diodes)^{3,4,53,117}.

Esta técnica se basa en la percepción cerebral de los cambios de luminancia. Éstos son captados principalmente por los bastones de la periferia de la retina, conducidos hacia los cuerpos geniculados laterales y proyectados por todas las fibras pero especialmente mediante las fibras M (magnocelulares), de gran diámetro y conducción rápida⁹¹, hacia el córtex visual en pequeña proporción y hacia el córtex no visual (áreas de asociación) en mayor cuantía¹⁹³.

En los tres tipos de estimulación debemos tener en cuenta la proporción de fibras que decusan a nivel del quiasma óptico. En la mayoría de especies existe una gran cantidad de fibras que se entrecruzan (75% en el perro y 65% en el gato) pero también hay otra parte de fibras que llegan directamente al hemisferio cerebral ipsilateral (25% en el perro y 35% en el gato), por lo que al estimular un ojo obtendremos respuestas evocadas procedentes de ambos hemisferios cerebrales, pero en mayor cuantía del contralateral. Ambas respuestas se sumarán durante el registro de la señal evocada⁵³.

Debido a esta característica del Sistema Nervioso Central, los PEV nos orientarán en la localización de lesiones en las vías visuales cuando estimulemos ambos ojos por separado para detectar posibles asimetrías en los registros de las señales.

A la hora de realizar la estimulación en cualquiera de las tres técnicas debemos manejar una serie de parámetros importantes para el correcto funcionamiento de la prueba.

La ISCEV propone unas tablas (tabla 1 y 2) donde se pueden apreciar los diferentes parámetros de estimulación y de registro que debemos manipular dependiendo del tipo de técnica de utilizada. Así, para la estimulación con patrones geométricos debemos tener en consideración: el tamaño del campo a estimular, el número de ojos a estimular simultáneamente (monocular o binocular), el tamaño de los cuadrados del damero o de las barras del patrón, la luminancia principal, de fondo y del elemento brillante, el porcentaje de contraste y el ratio de presentación (número de inversiones por segundo).

Los parámetros de estimulación a controlar en la estimulación con flashes son: el tamaño del campo a estimular, el tipo de estimulación ocular (monocular o binocular), la luminancia de fondo así como la intensidad luminosa del flash y la frecuencia temporal de presentación (número de flashes por segundo)^{129,130}.

Además de estas consideraciones, es necesario definir los diferentes equipos o instrumentos necesarios para obtener, amplificar, analizar y promediar el conjunto de respuestas evocadas por la corteza visual.

TABLA 1. ISCEV estándar para obtención de PEV: estímulo estándar.

	Field size (deg)	Stimulus type	Stimulation	Pattern element size	Luminance (cd·m ⁻²)			Contrast (%)	Presentation rate (per sec)
				----- Checks (deg) Or flash (cd·s·m ⁻²)	----- Background	Bright Element	Mean		
Pattern Stimulation- Pre-chiasmal	>15	Pattern reversal or onset/offset	Monocular	1°; 0.25°	Dim ambient light	>80	40-67	80-100	2 reversals or 1.67 onset
Flash Stimulation- Pre-chiasmal	>20	ISCEV standard luminance flash	Monocular	3 (2.7-3.3)	Dim ambient light	—	—	—	1 (0.9-1.1) flash

TABLA 2. ISCEV estándar para obtención de PEV: registro estándar.

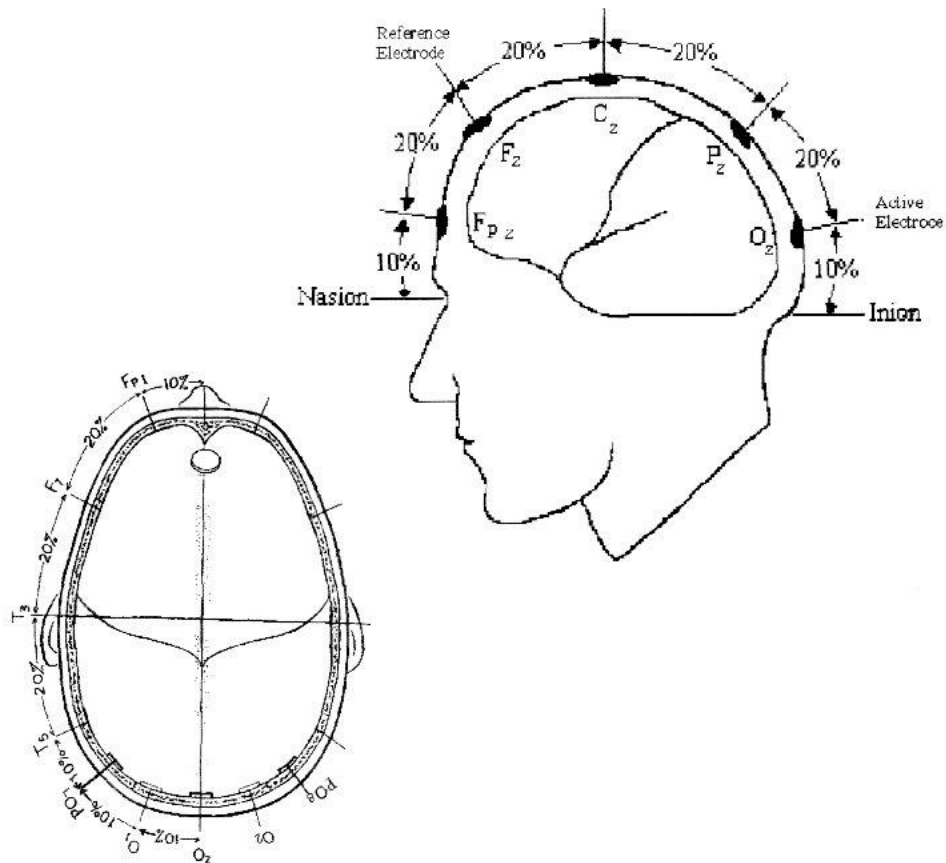
	Electrode montage (International 10/20 channel system)		Filters (-3 dB)		Sweeps averaged
	Active	Common reference	Low freq.	High freq.	
Pattern Stimulation- Pre-chiasmal	Oz	Fz	≤1	≥100	≥ 64
Flash stimulation- Pre-chiasmal	Oz	Fz	≤1	≥100	≥ 64

3.3.2.3. PARÁMETROS DE REGISTRO

a) Los electrodos

Las señales evocadas por la corteza visual serán obtenidas a distancia de sus lugares generadores¹⁸⁴. Los elementos encargados de recoger estas respuestas de pequeña intensidad son los electrodos. El tipo de electrodo utilizado difiere mucho según el investigador. Así, los electrodos pueden ser discoidales de superficie^{4,129,130}, en forma de agujas hipodérmicas^{58,142,186} o intracraneales^{57,148}. La mayoría de estos electrodos suelen ser monopolares (una única polaridad, negativa o positiva), aunque algunos investigadores utilizan electrodos bipolares¹¹⁶ (poseen ambas polaridades, actúa de electrodo positivo y negativo a la vez).

La colocación de los electrodos es de gran importancia en el registro de los PEV, pero también varía según los distintos investigadores. En medicina humana, la mayoría de ellos sigue el Sistema Internacional 10/20 (Fig.58) de colocación de los electrodos dividiendo el cráneo según una serie de porcentajes^{37,82,129,130,142,148,158,166,189,193}.



Sistema Internacional 10/20 de colocación de electrodos.

Fig.58: Sistema internacional 10/20 de colocación de electrodos para medicina humana.¹³⁰

El sistema 10/20 sugiere la colocación de los electrodos sobre la superficie craneal a lo largo de su línea media, en proporción al tamaño del cráneo. Utilizan un electrodo activo o positivo (Oz) situado en la zona del córtex occipital (área visual), un electrodo de referencia o negativo (Fz) emplazado en la zona frontal justo caudal a los ojos (corteza no visual con escasa influencia del estímulo luminoso), y un electrodo de tierra (Cz) colocado en la zona del vértex, en la zona mastoidea o en los lóbulos auriculares (A1 ó A2)^{117,130,142,186}.

Además algunos investigadores que utilizan equipos con multicanal pueden utilizar electrodos adicionales situados a ambos lados de la línea media sobre el córtex occipital (O1 y O2) para obtener información de ambos hemisferios cerebrales^{129,130,142}.

Algunos autores emplean no obstante una modificación de este sistema variando fundamentalmente la situación de los electrodos de referencia y de tierra^{91,172,180,198}.

Otro factor de gran importancia en un electrodo es su impedancia (resistencia al paso de la corriente eléctrica existente en la interfase entre el electrodo de registro y el tejido subyacente)¹⁸⁴, que debe rondar los 5-7 k Ω para reducir las interferencias eléctricas^{129,130,186}.

b) El sistema de amplificación y filtrado

Las señales eléctricas que forman los PEV son de muy pequeño tamaño y deben ser ampliadas para que sean extraídas de la señal continua del electroencefalograma (EEG)^{28,53,129}. Para ello utilizamos los amplificadores diferenciales, que aumentan la señal generada por la diferencia de potenciales entre dos electrodos (el activo y el de referencia), por lo que recibe dos referencias o inputs. El amplificador también atenúa la actividad que es común a ambos inputs, por lo que ayuda a eliminar la actividad eléctrica de fondo (ruido) no deseada que constituye un tipo de artefacto¹⁸⁴.

Según el ISCEV, es necesaria una amplificación de la señal input de 20,000-50,000 veces para registrar apropiadamente los PEV¹³⁰. Además, suelen utilizarse amplificadores con un único canal de registro¹²⁹.

El ruido de fondo también es disminuido gracias a los filtros de alta y baja frecuencia que permiten al amplificador ampliar el tamaño de las señales sin distorsión¹⁸⁴. Los filtros deben estar comprendidos entre 1-100 Hz^{58,129,130,186}.

c) El tiempo de análisis

El tiempo de análisis o barrido es otro parámetro de registro a tener en cuenta, pues debe estar comprendido entre 250-300 ms para las técnicas de flash-PEV y de PEV con patrón geométrico invertido^{129,186}. Mientras que si realizamos el PEV onset/offset podemos extender el tiempo de análisis a 500 ms^{129,130}.

d) Los sistemas de promediado (averaging systems)

Las señales evocadas recogidas por el conjunto de electrodos y amplificadas serán conducidas hacia un equipo informático que posea un sistema de promediado¹³⁰. De este modo, tras una serie de estimulaciones repetidas este sistema de cálculo realiza un promedio de todas las respuestas registradas para realzar las señales de los PEV y reducir el ruido de fondo procedente de la actividad eléctrica del tejido muscular y auditivo circundante.

Si se realiza el promedio de múltiples respuestas, la amplitud de la respuesta evocada se incrementará proporcionalmente al número de pruebas que realicemos. Mientras que el ruido de fondo decrecerá por la raíz cuadrada del número de respuestas recibidas. Por lo tanto, el número de repeticiones de la prueba a promediar está determinado por la amplitud de la respuesta y la cantidad de ruido detectado. De todos modos el examinador debe determinar el número de repeticiones que debe realizar según su experiencia, pues no siempre un mayor número de repeticiones genera un registro de calidad¹⁸⁴. En la mayoría de protocolos se utiliza un número mínimo de barridos por promedio de 64. Además son necesarios al menos dos promedios para poder garantizar la reproducibilidad de los resultados^{129,130,186}.

Para el tratamiento estadístico de los datos registrados tendremos en cuenta: la media, la desviación estándar (D.E.) y el rango para cada medida tomada de tiempo implícito y amplitud^{58,186}.

e) Calibración del sistema informático

El sistema informático debe ser calibrado para registrar la amplitud de los PEV en el rango de microvoltaje (μV) y el tiempo implícito en milisegundos (ms)^{16,108,129,130}.

Una vez definidos los parámetros de estimulación y de registro necesarios para obtener los PEV, pasaremos a plantear el protocolo clínico de obtención de los PEV utilizado por la mayoría de investigadores. Aún así cada autor introduce pequeñas variaciones del protocolo en algunas de las pruebas que realizan.

3.3.2.4. PROTOCOLO CLÍNICO

Definiremos el protocolo clínico de obtención de los PEV como el conjunto de pasos a realizar durante la prueba para poder obtener un registro de los PEV que sea interpretable y fiable.

Para ello debemos preparar previamente al paciente y adaptarlo a unas determinadas condiciones ambientales para más tarde someterlo a la estimulación luminosa. De igual modo describiremos el proceso de registro de las señales evocadas y la representación de las mismas a modo de gráfica polifásica, para culminar con la interpretación de los resultados obtenidos.

a) Preparación del paciente

La obtención de los Flash-PEV (utilizados en veterinaria) se realizará en un ambiente escotópico, pues los fotorreceptores encargados de detectar las variaciones de luminancia son los bastones. Por ello, antes de someter al paciente a la estimulación luminosa debemos situarlo en una estancia en oscuridad para que los fotorreceptores de su retina se adapten a esa ausencia de luminancia ambiental^{58,73,81,82,141,158,172}.

Los bastones aumentan su sensibilidad a la luz tras 5-10 minutos de adaptación a la oscuridad⁸⁰, pero no suele haber adaptación completa hasta las 2 h de oscuridad⁹¹.

Durante el periodo de adaptación a la oscuridad situaremos al paciente en un lugar confortable y en una postura que evite los posibles artefactos derivados de la actividad muscular¹³⁰. De igual modo tendremos que rasurar las zonas de piel donde se emplazarán los electrodos para permitir un mejor contacto y reducir la interfase electrodo-piel. Limpiaremos y desinfectaremos la zona con acetona o alcohol, y colocaremos los electrodos con un gel conductor^{116,117,129,142}.

Antes de realizar la estimulación con flashes (en veterinaria) dilataremos las pupilas con un midriático (tropicamida, atropina ó fenilefrina)^{3,81,82,107,118,142,158,172,180,198}, para permitir el paso de la mayor cantidad de luz posible hacia la periferia de la retina, que es la “zona diana” a estimular en los flash-PEV.

Debe consistir en una técnica anestésica que permita la inconsciencia del animal durante aproximadamente 1 h y que deprima el SNC lo menos posible.

b) Estimulación luminosa y registro de los PEV

Después de la correcta preparación del paciente realizaremos la técnica de estimulación oportuna según su especie, edad y las características de sus ojos. De este modo, si el sujeto a testar es humano y queremos analizar su agudeza visual utilizaremos los patrones invertidos como fuente luminosa de contraste, mientras que si la persona presenta nistagmo sería más eficaz utilizar los patrones onset/offset, que se alteran menos por el movimiento de los ojos. Si por el contrario testamos niños o animales usaremos los flashes cortos de luz o las gafas de LED³, pues este método no requiere la colaboración del paciente¹³⁰.

El tipo de estimulación será binocular¹⁹¹ o monocular según queramos tener una representación global de la funcionalidad de las vías visuales o queramos localizar asimetrías de la funcionalidad visual, respectivamente⁹¹.

En estudios con animales se utiliza prevalentemente la estimulación monocular^{4,37,81,82,142,180,186,188,189} tapando el ojo que no estimulamos^{58,116,158}. Pero testando ambos ojos, uno detrás del otro.

La obtención de los Flash-PEV la llevaremos a cabo en ambiente escotópico, para que el sistema visual detecte con mayor facilidad los cambios de luminancia^{73,81,82,107,141,172,188,189,198}. Colocaremos el ganzfeld enfrente del ojo a estimular a una distancia variable según los distintos investigadores, taparemos el ojo contra lateral^{58,116}, y emitiremos una serie de flashes con una frecuencia de ≤ 1.5 flashes por segundo durante un tiempo de análisis de unos 250mseg^{4,129,130}.

Los estudios se deben realizar en una misma franja horaria todos los días. De este modo evitaremos las interferencias originadas por el ritmo circadiano⁵⁷.

Independientemente del tipo de técnica utilizada para estimular las vías visuales, los electrodos situados en sus correspondientes lugares de registro recibirán las pequeñas señales evocadas por el córtex visual y las enviarán al amplificador donde serán aumentadas de tamaño. Estas señales pasarán por un sistema de filtrado para eliminar el ruido de fondo y evitar así la aparición de artefactos.

Las señales ya filtradas serán registradas en un sistema informático, donde el sistema de promediado permitirá obtener los valores definitivos a analizar.

c) Representación gráfica de los PEV

Una vez el sistema informático ha promediado las señales, realizará una representación gráfica de los valores obtenidos. Y serán caracterizados por sus valores de amplitud y tiempo implícito¹³⁰.

La morfología de la gráfica depende de la frecuencia temporal de los estímulos. Los rangos rápidos de estimulación producirán una morfología sinusoidal y constituirán los PEV de estado estacionario (steady-state VEP). Sin embargo, la utilización de frecuencias de estimulación relativamente lentas genera gráficas formadas por un número discreto de ondas, constituyendo los PEV transitorios (transient VEP). Todos los PEV estandarizados por la ISCEV son de tipo transitorio, por lo que serán nuestro objeto de estudio¹²⁹.

Dicha representación consta de una serie de ondas de diferente polaridad. Pero la morfología estándar de la gráfica varía según la técnica de estimulación empleada, por lo que distinguiremos tres tipos de morfología.

Aún así los ejes de coordenadas serán siempre del siguiente modo: la amplitud se representará en el eje vertical y se medirá en μV , y los tiempos implícitos ocuparán el eje horizontal y se medirán en mseg. La amplitud será considerada como la distancia vertical entre un pico y el siguiente, y el tiempo implícito será el tiempo transcurrido desde la instauración del estímulo hasta que aparece la respuesta máxima¹³⁰.

* Gráfica del PEV con patrón invertido:

Su morfología consiste en una onda con tres picos: N75, P100 y N135. Donde los picos negativos son nombrados con la letra N seguida de su tiempo implícito, y los picos positivos con la letra P y su correspondiente tiempo implícito^{130,139}(Fig.59).

Los PEV con patrón invertido presentan muy poca variabilidad de la morfología y los tiempos implícitos tanto en un individuo como entre distintos individuos¹³⁰.

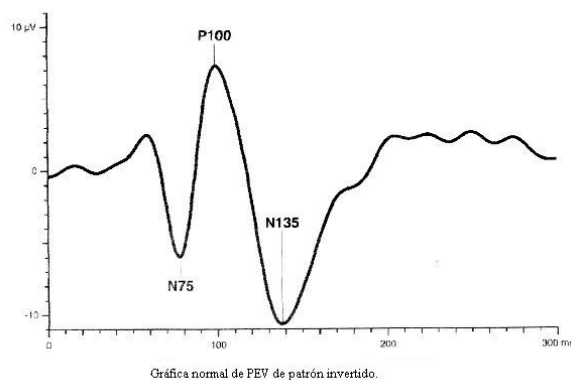


Fig.59: Gráfica normal de PEV con patrón invertido.¹³⁰

*Gráfica del PEV con patrón onset/offset:

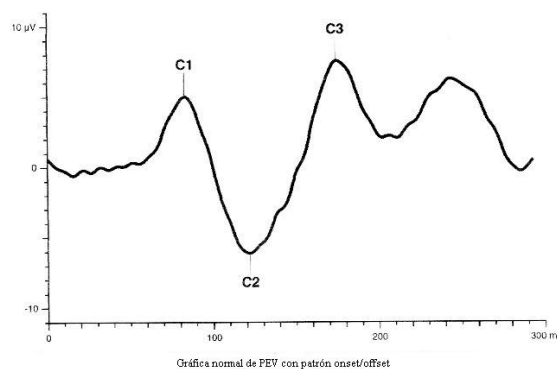


Fig.60: Gráfica normal de PEV onset/offset.¹³⁰

Esta técnica da lugar a una gráfica compuesta también por tres picos principales: C1 (positivo y a 75ms aprox.), C2 (negativo y a 125ms aprox.) y C3 (positivo y a 150ms aprox.)^{47,130} (Fig.60).

Este tipo de gráfica sí presenta mayor variabilidad morfológica que el anterior tipo¹³⁰.

*Gráfica del Flash-PEV:

Cuando estimulamos el sistema visual con flashes obtenemos una representación formada por cinco o seis picos: N1, P1, N2, P2, N3 Y P3 (en ciertas ocasiones, por su dificultad de registro). Su nomenclatura es acorde a su polaridad y el número designa el orden de aparición^{117,130} (Fig.61).

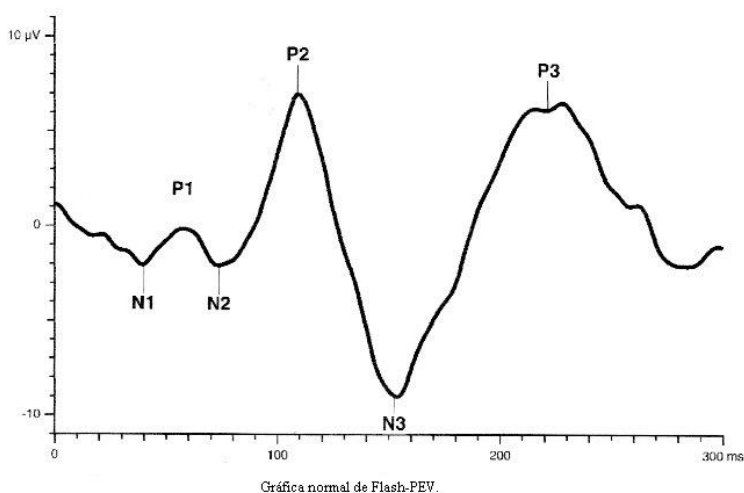


Fig.61: Gráfica normal de Flash-PEV.¹³⁰

La morfología de la gráfica de los Flash-PEV es mucho más variable entre individuos que en los PEV con patrón, pero se realiza de igual modo en animales por la imposibilidad de colaboración de los mismos¹³⁰.

d) Interpretación de resultados

Una vez obtenidas las gráficas de los PEV, debemos interpretarlas. Para ello analizaremos la morfología de la gráfica, las amplitudes y los tiempos implícitos de cada onda. La interpretación la realizaremos por relación con una base de datos normales, comparando las medidas de ambos ojos y con registros anteriores^{86,130}.

En la gráfica de los PEV con patrón invertido se recomienda fundamentalmente la medida de la amplitud de P100 respecto N75 (pico precedente) así como su tiempo implícito, por ser el pico más estable. Mientras que en los PEV con patrón onset/offset mediremos los parámetros de amplitud y tiempos implícitos de C1, C2 y C3, y utilizaremos tiempos de análisis mayores que en los otros tipos de técnicas para poder obtener los tres picos¹³⁰. Estudios recientes demuestran que el componente C1 tiene su origen en la vía parvocelular, con influencias de la vía koniocelular⁴⁷.

Por último, y con mayor importancia en veterinaria, analizaremos la gráfica de los Flash-PEV, donde los picos más prominentes serán N2 y P2. Y donde el pico P3 será más difícil de obtener y presentará mayor variabilidad¹⁸⁸, por lo que algunos autores no lo tendrán en consideración en sus estudios^{73,107,141}. En general, en individuos normales, los tiempos de culminación de las ondas suelen ser bastante estables, mientras que sus amplitudes son más variables^{51,142}. Además, en la mayoría de estudios, existe una gran variabilidad interindividual de los datos, pero muy poca variabilidad intraindividual, a su vez, presentando pocas asimetrías interoculares e interhemisféricas⁶⁵, por lo que se aconseja realizar diversas estimulaciones y promediados para un mismo paciente^{30,51}.

Algunos investigadores plantean hipótesis a cerca de los posibles lugares generadores de los PEV y su correspondencia con los distintos picos registrados. De este modo, en estudios con especie canina, P1 y N1 surgirían por la acción de los potenciales retinales (posible interferencia del ERG en el registro de los PEV)^{81,189}, P2 se correspondería con los potenciales registrados desde la retina hasta el núcleo geniculado lateral y N2 estaría formado por los potenciales detectados desde el C.G.L. hasta la corteza visual⁸¹. Sin embargo, estudios en roedores⁴⁵, primates⁸⁹ y humanos⁴⁴ han sugerido que el origen de P1 está relacionado con las radiaciones talamocorticales o con el córtex visual primario, mientras que los picos posteriores serían generados por el córtex visual primario y secundario.

Cuando interpretemos un registro electrofisiológico debemos realizar siempre una valoración conjunta de todas las ondas, por lo que si tan sólo existe variación en una de ellas, podríamos considerar dicho registro como normal¹⁴².

Al realizar la interpretación de los resultados nunca debemos olvidar que los PEV son un método complementario de diagnóstico, por lo que debemos tener en cuenta para el estudio de la funcionalidad de las vías visuales otras técnicas como son el ERG, la Tomografía Axial Computerizada (TAC) o la resonancia magnética (RM) entre otras^{193,195}.

3.3.2.5. FACTORES INFLUYENTES EN LA CALIDAD DE LOS PEV

La morfología de la gráfica de los PEV y los valores de amplitud y tiempo implícito de sus componentes pueden verse afectados por una serie de factores, propios del individuo a examinar o inherentes al proceso de testado.

a) Entre los **factores propios del individuo** debemos tener en cuenta: la especie, la edad, el género, la asimetría inter-ocular, la transparencia de los medios de refracción del ojo, la temperatura corporal, el ejercicio previo realizado, el tamaño pupilar, la atención del paciente durante el estímulo, incluso el tamaño del cráneo^{4,129,130,186}.

Está comprobada la existencia de variabilidad interespecífica e intraespecífica, mientras que los estudios en un mismo individuo son prácticamente invariables sobre todo en los Flash-PEV, pues en los PEV con patrón existe una mínima variabilidad interocular en un mismo sujeto y que afecta principalmente al pico P100¹³⁰.

En cuanto a la edad, se sabe que es un factor muy influyente en los PEV. La maduración de los PEV responde paralelamente al desarrollo del córtex visual, donde aumentan las amplitudes y disminuyen los tiempos implícitos con el desarrollo de las vías visuales (a los 100 días en el perro, a los 7 días en el bovino y en el momento del nacimiento en ovinos)^{90,117,185,186,188,191}. Esto se debe a que el SNC inmaduro presenta pobre mielinización y escasas conexiones sinápticas¹¹⁷. Además, el envejecimiento produce cambios electrofisiológicos en la corteza cerebral, lo que produce también disminución de los tiempos implícitos y aumento de las amplitudes de los PEV³⁴.

Respecto al género, en medicina humana, se ha evidenciado aumento de las amplitudes y reducción de los tiempos implícitos en las mujeres respecto a los hombres¹⁷⁶. Incluso se ha demostrado la influencia de las fluctuaciones de las hormonas esteroideas ováricas en la excitabilidad del sistema visual. Así, se ha comprobado que durante la fase lútea del ciclo menstrual se produce reducción de los tiempos implícitos y aumento de las amplitudes⁹. Por tanto, podríamos sospechar que en los animales ocurriría lo mismo, siendo importante tener en cuenta, en pacientes hembras, la fase del ciclo ovárico en que se encuentra.

Relacionado con este hecho, algunos estudios han encontrado ligeros cambios en el tiempo implícito de P100 (aumenta) del PEV con patrón en mujeres menopáusicas¹⁹³.

En medicina humana no se han observado variabilidades de los PEV con respecto al aumento de la temperatura corporal (aunque sí con la hipotermia, que reduce las amplitudes)¹⁹³, pero sí se ha apreciado correlación con el ejercicio físico (disminución de los tiempos implícitos)⁵⁸ supuestamente por el aumento

en los niveles cerebrales de catecolaminas y dopamina y los cambios en la temperatura corporal. En cambio, en animales sí se han obtenido variaciones de los PEV con relación a la temperatura¹⁹³.

También es evidente la influencia sobre los PEV de la falta de transparencia de la córnea, el cristalino, el humor acuoso o el vítreo, pues modifican las características espacio-temporales de la estimulación y su nivel energético transmitido a la retina⁹¹. De modo similar, el tamaño pupilar interferirá en la entrada de luz hacia la retina, por lo que las pupilas dilatadas producirán trazados más amplios en el registro de los PEV¹⁴². Asimismo, los movimientos oculares también influyen en los registros produciendo artefactos, por lo que debemos fijar los ojos con blefarostatos o suturas conjuntivales^{6,142}.

En medicina humana también se ha determinado el decrecimiento de las amplitudes de las respuestas cuando el paciente no presta atención a la pantalla estimuladora¹⁴². Así mismo, estados de intoxicación (alcohólica, nicotínica) y de alteraciones metabólicas (insuficiencia renal crónica, diabetes mellitus) producen amplitudes bajas en el primer caso y aumento de los tiempos implícitos en el segundo caso^{34,58,140}. Es más, investigadores como Chalke, Erti, Ellingson, Shevrin y Fritzes han demostrado la existencia de correlación entre el coeficiente intelectual y los PEV registrados en el área parietal, pero no siendo así para los registros en áreas occipitales¹⁴².

Además, como último parámetro influyente, está el tamaño del cráneo del animal, pudiéndose esperar un aumento de las amplitudes de los PEV en perros de cráneo pequeño donde la distancia entre los electrodos de registro y los lugares generadores de los PEV será menor, y de modo inverso en perros de cráneo grande^{186,188}.

b) Los factores propios de la técnica de obtención de los PEV que debemos tener en consideración son múltiples.

Los parámetros que afectan a cualquiera de las técnicas utilizadas son: el tipo de electrodo y su colocación, el tiempo de adaptación a la oscuridad, el tipo de anestesia empleada, el tipo de estimulación utilizada (monocular o binocular), el tipo de técnica estimuladora (patrones geométricos invertidos, onset/offset o flashes), el sistema de amplificación y de filtrado, el tiempo de barrido, la frecuencia de estimulación (nº de inversiones por segundo o nº de flashes por segundo) y el número de barridos realizados^{86,130}.

La posición de los electrodos es muy importante para el registro de los PEV, pues la colocación del electrodo activo en la zona correspondiente al área 17 o córtex visual primario registra las mayores amplitudes y los tiempos implícitos más cortos^{176,193}.

La anestesia general (propofol) influye en la corteza cerebral deprimiendo el SNC por lo que disminuye las amplitudes y sobretodo prolonga los tiempos implícitos y la latencia de los PEV^{30,61,107,172,193}. También influye en el registro de los PEV la anestesia local retrobulbar, pues se concentra en el perímetro del n. óptico produciendo depresión en su velocidad de conducción¹⁵⁸. No obstante, la anestesia local peribulbar no ha registrado hasta la fecha alteraciones en los potenciales¹⁵⁸.

En relación con los PEV de patrón invertido, se ha observado la influencia sobre el tiempo implícito de P100 de factores como: el tamaño del patrón, el contraste y la luminancia principal, donde la reducción del brillo y del contraste produce aumentos en su tiempo implícito y disminución de su amplitud^{130,193}.

Por último, la técnica de Flash-PEV también posee un parámetro propio a controlar: la potencia luminosa del flash¹⁴². Así se ha demostrado que el incremento de la intensidad del flash da lugar a amplitudes más aumentadas y tiempos implícitos más cortos, es decir, el cerebro responde con mayor intensidad y con mayor rapidez¹⁹⁸. Sin embargo, la utilización de filtros monocromáticos de diversos colores disminuye la intensidad luminosa y, por consiguiente, la amplitud de las respuestas¹⁴². De igual modo, la frecuencia de estimulación (flash/seg)¹⁴² es de gran importancia a la hora de establecer la agudeza visual del paciente, pues el PEV FLÍCKER es una prueba especial caracterizada por elevadas frecuencias de estimulación que capturan respuestas generadas mayoritariamente por la vía parvocelular (encargada de la agudeza visual)¹⁶⁵. También se ha demostrado en medicina humana que el sonido (beeps) de algunos estimuladores al emitir los flashes provoca alteración de los PEV¹⁷⁷.

3.3.2.6. INDICACIONES DE LOS PEV (ver anexo 1)

Los potenciales evocados visuales constituyen una técnica objetiva, muy sensitiva, confiable y reproducible para diagnosticar los defectos de conducción en la vía visual causados por un daño crónico. Es especialmente interesante en la detección de cegueras de origen post-retinal^{34,53}.

Los PEV proporcionan información a cerca de la funcionalidad de las vías visuales, desde las células ganglionares de la retina hasta la corteza visual. De este modo, diferentes alteraciones a nivel del Sistema Nervioso Central producirán la ausencia de los PEV, cuando existe interrupción en la vía visual impidiendo la conducción de la información visual hacia el córtex visual. Otras afecciones, como la desmielinización de las fibras nerviosas, producirán aumentos de las latencias de los PEV por retraso en el tiempo de conducción de la información visual^{11,34,65}.

De modo similar, los defectos de activación axonal a lo largo de la ruta retino-cortical provocarán reducción de las amplitudes de los PEV^{34,145}.

La realización de esta técnica diagnóstica está indicada cuando el examen ocular es correcto al igual que el electroretinograma (ERG) y sospechamos de un daño en retina periférica (detectora de contrastes), de afección del nervio óptico, del quiasma óptico, del tracto óptico, del cuerpo geniculado lateral, de las radiaciones ópticas o de los hemisferios cerebrales^{193,195}. Realizando una estimulación binocular estudiaremos el conjunto de las vías visuales, mientras que las estimulaciones monoculares nos permitirán precisar mejor la localización de las lesiones mediante la detección de asimetrías entre los registros de un ojo u otro⁹¹.

En medicina humana se utilizan los PEV para estudiar la agudeza visual mediante el uso de los patrones geométricos. Es muy útil en ciertas enfermedades como:

- la enfermedad desmielinizante del SNC (albinismo, esclerosis múltiple)
- neuritis óptica
- lesión quiasmática por tumor hipofisario
- ambliopía
- ceguera cortical
- hipoxia neonatal (ceguera neonatal)
- enfermedades neurodegenerativas y atróficas (Alzheimer, Parkinson)
- coma
- neurofibromatosis
- isquemia e inflamación de vías visuales
- tumores hipofisarios o cerebrales
- ceguera por intoxicación
- encefalopatías metabólicas
- estudios de eficacia de tratamientos crónicos y estudios de evolución de enfermedades que causan ceguera¹⁴⁵.

Los PEV también complementan la información del EEG para detectar patologías focales de la corteza visual¹⁹³.

El uso de los PEV se ha extendido en el monitoreo de los efectos terapéuticos en pacientes con esclerosis múltiple, en detrimento de la resonancia magnética (RM). De igual modo, se ha demostrado que los PEV son de mayor utilidad que la RM en el diagnóstico de defectos de conducción eléctrica en el tallo cerebral así como de lesiones de n. óptico^{65,140}.

Algunos investigadores del campo de la medicina humana han utilizado también los PEV para estudiar anomalías de conducta (ansiedad, agresividad, comportamientos anormales...) realizando distribuciones topográficas de las

respuestas obtenidas sobre la superficie craneal y correlacionándolas con los posibles generadores de los PEV intracranealmente^{82,193}.

Recientemente se ha encontrado aplicación de los PEV en el estudio de la fisiopatología, del diagnóstico, pronóstico y tratamiento de la enfermedad de Parkinson²¹, la epilepsia humana y de la enfermedad de Creutzfeldt-Jakob, donde utilizan el flash-PEV como técnica³⁷. También los PEV son de gran ayuda en el estudio de las migrañas severas que afectan a la excitabilidad visual, produciendo un marcado incremento de la amplitud de P1N2 antes de un ataque por disminución del mecanismo de inhibición intracortical de la vía magnocelular del córtex extraestriado¹⁶⁹.

Otros estudios indican esta técnica diagnóstica para evaluar la funcionalidad de las prótesis retinales observando si existe transporte de la señal visual hacia el córtex visual¹⁰⁷. Además, estudios de óptica emplean los PEV con patrón invertido, como método alternativo a la retinoscopía y la refractometría, para medir la amplitud de la acomodación del ojo¹¹⁶.

Una aplicación muy importante del Flash-PEV en medicina, es para la diferenciación del albinismo de la disfunción congénita de conos ó del nistagmo idiopático, pues cursan con sintomatología similar. En el paciente albino hay una anomalía en la proyección de las fibras del sistema visual decusando al hemisferio cerebral contralateral la mayoría de fibras del n.óptico. Esto supone una gran asimetría interhemisférica en el registro de los PEV^{65,166}.

En la actualidad se está extendiendo el registro de los PEV para monitorización peri-operatoria de la función del nervio óptico durante cirugías orbitarias e intracraneales^{3,61,75}, ya que se ha comprobado el efecto de las maniobras de compresión/descompresión sobre las amplitudes de las ondas positivas principales³⁰.

En la clínica veterinaria se emplean los PEV para diferenciar la ceguera de origen central de la ceguera retiniana. De este modo, pacientes con ceguera que presenten el examen clínico oftalmológico normal, ERG normal y examen neurológico normal o alterado, nos hacen sospechar de alteraciones en las vías visuales centrales. Los PEV son muy útiles para detectar disfunciones difusas del SNC, así como alteraciones localizadas uni/bilaterales a nivel del nervio óptico, quiasma óptico, tractos ópticos, C.G.L., cintillas ópticas y corteza visual.

Todo este conjunto de enfermedades en las que es útil la realización de un estudio de PEV irá aumentando a lo largo del tiempo con las sucesivas investigaciones tanto en el ámbito de la medicina humana como en el de la veterinaria.

A continuación señalaremos las diferentes patologías del sistema visual central presentes en la clínica veterinaria diaria que alteran los PEV y, por tanto, donde es aconsejable un registro electrodiagnóstico para evaluar la funcionalidad de las vías visuales del paciente.

3.3.2.7. PATOLOGÍAS DEL SISTEMA VISUAL CENTRAL INFLUYENTES EN LOS PEV (ver anexo 5 y 6)

Los potenciales evocados visuales se verán afectados por una serie de patologías a nivel del nervio óptico, del quiasma, del tracto óptico, del cuerpo geniculado lateral, de las radiaciones ópticas o del córtex visual. Las lesiones que afectan a estas estructuras producen defectos o ausencia de la transmisión de la información visual y como consecuencia el paciente padecerá ceguera parcial o total dependiendo del área afectada (Fig.66).

En términos generales debemos considerar que la afección de la retina, del nervio óptico, del quiasma óptico y del tracto óptico provocará tanto déficits visuales como alteraciones o ausencia de reflejos oculares, debido a que forman la porción común de las vías visuales y de las vías ópticas. Sin embargo, lesiones en el cuerpo geniculado lateral, en el tálamo, las radiaciones ópticas o el córtex occipital sólo producirán alteraciones visuales.

En ambos casos se verá afectado el registro de los PEV, donde los tiempos implícitos se prolongarán, las amplitudes disminuirán y la morfología típica variará.

a) Afecciones del nervio óptico (ver anexo 4)

La lesión de un nervio óptico (lesión unilateral) produce ceguera unilateral del ojo afectado, además de ausencia de la respuesta a la amenaza y del reflejo pupilar (RP) directo y consensuado de ese ojo, así como la presencia de midriasis en el ojo alterado. De igual modo, los PEV se verán alterados cuando estimulamos el ojo afectado, mientras que serán normales al estimular el ojo sano²³.

Por otro lado las lesiones bilaterales del nervio óptico, además de los efectos de ceguera bilateral y de ausencia de reflejos en ambos ojos, producirá midriasis bilateral con pupilas arreactivas²³. De igual modo, el registro de los PEV de ambos ojos se verá comprometido.

Entre las afecciones de tipo congénito del nervio óptico podemos encontrar: los colobomas, las aplasias y las hipoplasias. En estos casos el grado

de visión es variable y dependiente del número de células ganglionares presentes en la retina⁹⁶.

Otra lesión del n.óptico consecuente en la reducción del número de células ganglionares y sus axones es la atrofia del n.óptico. En ella, la disminución del tamaño del nervio puede ser de origen traumático, infeccioso, vascular (isquemia), tumoral (compresión), tóxico, parasitario, tras episodios sucesivos de neuritis óptica o en estadios avanzados de glaucoma. La atrofia del n.óptico es un daño irreversible que produce ceguera permanente, y consecuentemente debería producir ausencia de PEV⁹⁶. Estudios recientes en medicina humana recomiendan la aplicación combinada de los PEV y el ERG con patrón para establecer la función del nervio óptico, ya que permiten estudiar la conducción retino-cortical desde las c. ganglionares de la retina (ERG patrón) hasta la corteza visual (PEV)¹¹. Los registros con ERG patrón se verán afectados en el 40% de los pacientes con desmielinización del n.óptico⁶⁵. El inconveniente en medicina veterinaria es la falta de atención de los animales a la pantalla del ERG patrón, por lo que esta técnica no suele utilizarse en este tipo de pacientes.

En la neuropatía isquémica se ha comprobado que la falta de riego sanguíneo en el nervio óptico provoca disminución de las amplitudes en el ERG patrón y en el Flash-PEV⁶⁵.

Una lesión más común en los animales es la neuritis óptica bilateral. Es una afección de tipo inflamatorio o desmielinizante que entraña una ceguera repentina bilateral, las pupilas midriáticas y los RP lentos o ausentes. Sus posibles causas son el virus de la enfermedad de Carré, la criptococosis, blastomicosis, toxoplasmosis, linfosarcoma felino y la contigüidad con inflamaciones de la úvea, la retina, la esclera, la órbita, el seno paranasal o de las meninges. Este tipo de lesión podría alterar los PEV de manera transitoria hasta la curación de la misma⁹⁶. Estudios recientes demuestran que los PEV suponen la técnica de elección para detectar neuritis ópticas clínicas y subclínicas frente a otras técnicas como la tomografía de coherencia óptica (TCO)¹²².

En último término, pero no menos importante, es el estudio de los tumores y traumatismos que pueden comprimir el nervio óptico. Así los tumores de la órbita pueden comprimir el nervio comprometiendo de este modo su vascularización y pudiendolo conducir a una atrofia irreversible. Por otro lado, los tumores específicos del nervio óptico (meningiomas, gliomas, astrocitomas y neurofibrosarcomas) o los traumatismos, producen midriasis, ausencia del reflejo fotomotor del ojo afectado y defectos visuales por interrupción de la vía visual⁹⁶ (Fig.62).

En estas alteraciones, que suelen ser de tipo unilateral, se deduce el déficit o la ausencia de registro de los PEV al estimular el ojo cuyo nervio se ve afectado.

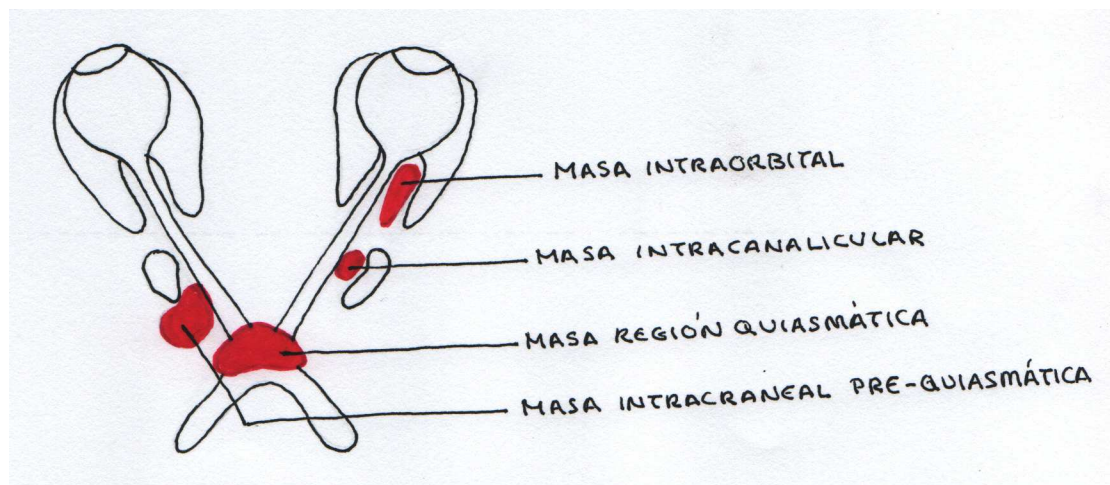


Fig. 62: Sección axial de la vía visual anterior y la localización de varias masas (tumores) que pueden afectarle (Modificado de J.D. Trobe).

b) Afecciones del quiasma óptico

Las lesiones a nivel quiasmático suelen ser de origen tumoral, inflamatorio, desmielinizante o isquémico. Dependiendo de la zona alterada, los signos clínicos serán variables. De este modo, las lesiones unilaterales de la zona anterior del quiasma producirán ceguera en el ojo ipsilateral, anisocoria y pérdida de la visión del campo visual temporal del ojo sano, y por lo tanto los PEV obtenidos al estimular el ojo ipsilateral estarán alterados^{65,96}.

La zona dorsal del quiasma es una zona muy vulnerable a la compresión y a la infiltración por infecciones en el parénquima cerebral o del sistema ventricular (ej: criptocosis, que produce ventriculitis o endimitis)⁹⁶.

Y en último lugar, hay que destacar la importancia de las neoplasias hipotalámicas o hipofisarias sobre la zona posterior del quiasma, que conllevan defectos visuales, anomalías pupilares, alteraciones comportamentales, aumento de apetito, menor regulación térmica, alteraciones endocrinas (diabetes insípida e hiperadrenocorticismos) y afecciones de la frecuencia cardíaca y de los movimientos gastrointestinales. Respecto a los defectos visuales, suele producirse ceguera o hemianopsia bitemporal (ceguera de los campos visuales temporales de ambos ojos)⁹⁶ (Fig.63). Este tipo de tumores suelen dañar el quiasma provocando aumento de las amplitudes de las ondas durante el registro de los PEV³⁰.



Fig.63: Hemianopsia bitemporal.⁷⁷

A partir de esta zona caudal del quiasma encontramos las lesiones retroquiasmáticas (en tracto óptico, C.G.L., radiaciones ópticas o en corteza visual) que suelen manifestarse en el paciente con hemianopsia homónima (ceguera del hemicampo visual derecho de ambos ojos o del izquierdo) (simulaciones: Fig.64 y 65) y otros signos clínicos⁹⁶.



Fig.64: Hemianopsia homónima izq.⁷⁷



Fig.65: Hemianopsia homónima dch.⁷⁷



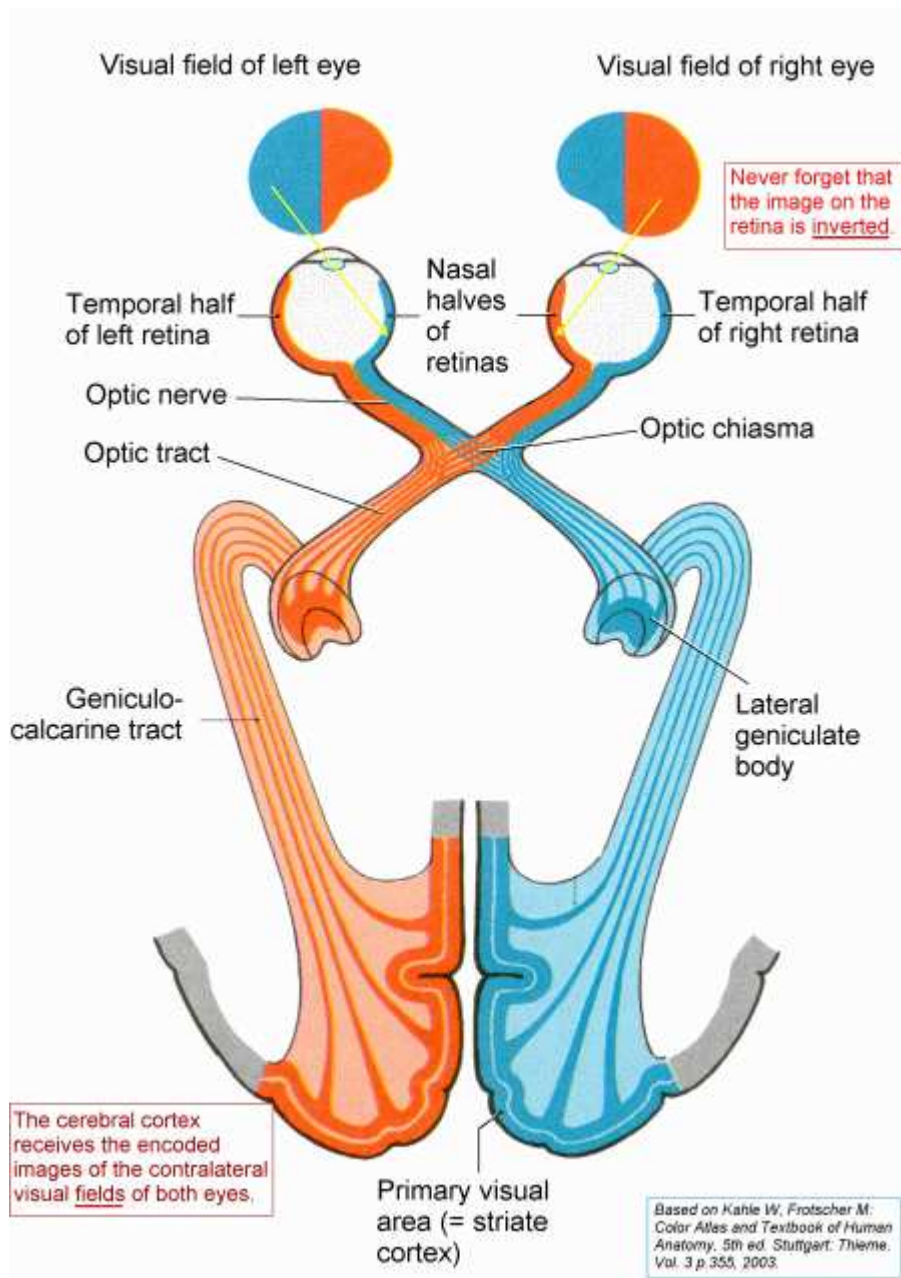


Fig.66: Tipos de ceguera según el lugar de afección de la vía visual.¹⁰⁵

c) Afecciones del tracto óptico

La mayoría de lesiones que afectan esta porción de la vía visual suelen ser de tipo unilateral por la presencia de masas a nivel del hipotálamo y del tálamo. Producen anisocoria, con midriasis en el ojo contralateral a la lesión, hemianopsia homónima (ej: una afección del tracto óptico izquierdo producirá ceguera de los hemicampos visuales derechos de ambos ojos, y viceversa) (Fig.64 y 65) y déficits de reacciones posturales en las extremidades contralaterales a la lesión pero en presencia de andares normales^{53,96}. Además supondremos que los PEV obtenidos al estimular el ojo contralateral a la lesión estarán más alterados que con la estimulación del ojo ipsilateral, en el perro,

pues en esta especie hay mayor número de fibras que decusan (75%) que fibras directas (25%), pero aún así se obtendrá cierto grado de respuesta por este porcentaje de fibras directas que van desde el ojo estimulado hasta el hemisferio cerebral ipsilateral⁹⁶.

Por otro lado, las afecciones bilaterales son raras, pero el virus de la enfermedad de Carré sí tiene predilección por ambos tractos ópticos. En esta situación la midriasis será bilateral, los RP serán lentos e incompletos, y la pérdida de visión será bilateral^{53,96}. De igual modo, los PEV de ambos ojos estarán alterados o ausentes.

d) Afecciones del cuerpo geniculado lateral (C.G.L.)

Las afecciones del C.G.L., al igual que las producidas en radiaciones ópticas y en córtex visual, provocan ceguera pero no inducen alteraciones de los reflejos, pues ya no forman parte de la vía óptica refleja (retino-tectal). En estas porciones también son raras las lesiones bilaterales, pero cuando se presenten, los PEV de ambos ojos estarán alterados. Sin embargo, ante lesiones unilaterales, se afectarán principalmente los PEV obtenidos al estimular el ojo contralateral^{53,96}.

Diversos estudios han demostrado que la neuropatía óptica glaucomatosa genera daño estructural y funcional en la zona dorsal del C.G.L. tanto en animales como en humanos^{25,31,201}. Esto demuestra el retraso en la aparición de los PEV así como la reducción de su intensidad¹³⁶.

e) Afecciones de las radiaciones ópticas y de la corteza visual

La lesión de estas áreas puede ser bilateral, pero también es más frecuente la lesión de tipo unilateral. Así el infarto cerebral felino destruye las radiaciones ópticas, el córtex visual o ambos en un lado.

El virus de la enfermedad de Carré produce una encefalitis esclerosante que desmieliniza las radiaciones ópticas, *Streptococcus equi* y *Corynebacterium pyogenes* producen abscesos que provocan hemianopsia homónima contralateral por afección de las radiaciones, y *Toxoplasma gondii* produce granulomas sobre ellas^{53,96}.

Todas estas lesiones producirán hemianopsia homónima contralateral a la lesión, hemiplejía contralateral y hemianestesia contralateral, pero en ningún caso se verán afectados los reflejos pupilares⁵³.

Las afecciones bilaterales de ambas zonas, como en el caso de la hidrocefalia, producen ceguera bilateral por compresión de estas áreas. Y otras enfermedades como las encefalopatías de origen metabólico (hipoglucemia, encefalopatía hepática o hipertensiva), intoxicaciones (saturnismo o tóxicos epileptiformes), hemorragias cerebrales y la hipoxia cerebral prolongada producen también pérdida total de las radiaciones y del córtex visual^{53,96}.

Las neoplasias y traumatismos son las causas más comunes de daño unilateral del córtex visual y producirán hemianopsia homónima contralateral, por lo que los PEV registrados con la estimulación del ojo contralateral estarán especialmente alterados^{53,96}.

Además de los signos de ceguera, se puede presentar la ausencia de respuesta a la amenaza si se ve afectada la corteza estriada caudal o lateral. Las lesiones unilaterales en estas zonas darán la abolición de la respuesta en el ojo contralateral. Sin embargo, si la región afectada es la porción rostral del córtex estriado habrá eliminación de la reacción de placer visual (ej: animales que chocan con objetos o que “quieren atravesar paredes”). Y si sólo está lesionada la porción caudal también se producirá ausencia de los movimientos conjugados de los ojos⁵³.

Dependiendo de la extensión del daño cerebral también podremos observar déficits propioceptivos de las extremidades contralaterales o convulsiones^{53,96}.

Todo este conjunto de signos clínicos que presenta el paciente con daño de vías visuales, junto con las alteraciones que presentan los PEV y con la realización de otras técnicas complementarias de estudio cerebral como son la resonancia magnética y la tomografía axial computerizada, nos orientan hacia la localización de la lesión.

ANEXOS

ANEXO 1:

INDICACIONES DE PRUEBAS ELECTRODIAGNÓSTICAS. (MODIFICACIÓN ISCEV⁷⁵)

DIAGNÓSTICO PROVISIONAL	EOG	ERG	ERG FLASH BRILLANTE	ERG PATRÓN	FLASH PEV	PEV PATRÓN	PEV ESPECIAL
Distrofias hereditarias de retina	+	+					
Enfermedades vasculares incluyendo diabetes		+		+		+	
Opacidad media o trauma		+	+		+		
Neuritis retrobulbar*				+		+	
Ceguera súbita		+		+		+	
Animales o niños con sospecha de ceguera		+			+		+
Albinismo		+**					+
Enfermedad nutricional o toxicidad	+	+		+	+		
Glaucoma				+			
Sospecha de lesión intracraneal				+		+	+

* no útil durante la fase aguda pero sí para monitorizar la recuperación.

** para excluir otras alteraciones que cursen con nistagmo.

EOG = electro-oculograma (evalúa el epitelio pigmentario de la retina).

ANEXO 2:

DIAGNÓSTICO DIFERENCIAL DE LA CEGUERA SÚBITA¹⁷

- Pupilas dilatadas y sin respuesta, bilateral:
 - Neuritis óptica/Meningoencefalitis granulomatosa
 - Desprendimientos de retina
 - Glaucoma agudo
 - Postictal (ceguera transitoria)
 - Degeneración retiniana adquirida súbita

- Pupilas y reflejos pupilares normales (ceguera cortical):
 - Congénita (hidrocefalia, lisencefalia, enfermedad de almacenamiento)
 - Metabólica (hipoglucemia, encefalopatía hepática)
 - Tóxica (intoxicación por plomo)
 - Nutricional (deficiencia de tiamina)
 - Traumática/vascular (émbolo)
 - Hipóxica-postictal, parada respiratoria o cardíaca
 - Infecciosa (moquillo canino, toxoplasmosis, peritonitis infecciosa felina)
 - Neoplásica (reticulosis, meningioma...)
 - Idiopática

- Pupilas y reflejos pupilares normales:
 - Cataratas

ANEXO 3:

ETIOLOGÍA DE LA HEMORRAGIA RETINIANA¹⁷

- Traumatismo
- Coagulopatías
- Parásitos sanguíneos
- Síndromes de hiperviscosidad
- Inflamación retiniana
- Enfermedades neoplásicas y linforreticulares
- Alteraciones congénitas retinianas/vasculares
- Hipertensión
- Anemia grave

ETIOLOGÍA DE LOS DESPRENDIMIENTOS DE RETINA¹⁷

- Asociado con la alteración “ojo de Collie”, displasias retinianas
- Enfermedades infecciosas sistémicas (micosis, PIF, toxoplasmosis, linfosarcoma/FeLV, otras enfermedades inflamatorias intraoculares)
- Enfermedad neoplásica que produce un desprendimiento sólido
- Desprendimientos por tracción asociados a adherencias vitreoretinianas
- Traumatismo
- Degeneración vítrea
- Disminución súbita de la presión intraocular
- Desprendimientos serosos o fluidos (vasculitis, uremia, hipertensión vascular)
- Presión extraocular
- Agujeros retinianos

ANEXO 4:

ETIOLOGÍA DE LAS NEURITIS ÓPTICAS¹⁷

- Alteración/isquemia vascular
- Idiopática
- Moquillo canino
- Reticulosis
- Fúngica (criptococosis, blastomicosis)
- Toxoplasmosis
- Neoplasia (especialmente carcinoma de células escamosas, linfosarcoma, tumores nasales, meningiomas)
- Tóxicos (plomo, arsénico, talio, alcohol etílico/metílico, hidrocarburos clorados)
- Septicemia
- Deficiencia de vitamina A
- Peritonitis infecciosa felina (PIF)
- Inflamación de la órbita
- Traumatismo, por ejemplo después de proptosis del globo ocular

ETIOLOGÍA DE LAS CORIORRETINITIS¹⁷

PERROS:

- Vírica: moquillo
- Bacteriana: cualquier septicemia o bacteriemia, como leptospirosis o brucelosis
- Rickettsias: ehrlichiosis, fiebre de las Montañas Rocosas, borreliosis
- Fúngicas: aspergilosis, blastomicosis, histoplasmosis, criptococosis, coccidiomicosis
- Algas: geotricosis, protothecosis
- Parasitarias: larva *migrans* ocular, toxoplasmosis, leishmaniosis, neosporiosis

GATOS:

- Vírica: FeLV, FIV, PIF
- Bacteriana: cualquier septicemia
- Fúngica: criptococosis, histoplasmosis
- Parasitaria: toxoplasmosis, oftalmomiasis, larva *migrans* ocular

ANEXO 5:

PATOLOGÍAS QUE AFECTAN AL SISTEMA NERVIOSO CENTRAL DEL PERRO¹⁵

DESÓRDENES INFLAMATORIOS

- Virus de la Rabia (Rhabdovirus)
- Virus del Moquillo (Distemper, Morbillivirus canino): puede causar ceguera súbita por neuritis óptica y encefalitis.
- Hepatitis infecciosa canina (CAV-1): neuritis y atrofia de n.óptico.
- Encefalitis por virus La Crosse
- Encefalitis por Parvovirus
- Abscesos
- Encefalitozoonosis
- Meningoencefalitis eosinofílica
- Meningoencefalitis bacteriana por *Staphylococcus aureus*.
- Meningoencefalitis granulomatosa ocular: produce neuritis óptica bilateral que cursa con ceguera.
- Enfermedades micóticas (*Criptococosis-Criptococcus neoformans*, *Blastomicosis-Blastomyces dermatitidis*): causan neuritis ópticas.
- Encefalitis del perro senil
- Encefalomiелitis parasitarias
- Encefalitis del Pug
- Toxoplasmosis: en el perro causa neuritis óptica.
- Neosporosis: provoca meningoencefalitis no supurativa.
- *Ehrlichia canis*: causa meningoencefalitis en procesos crónicos.

DESÓRDENES DEGENERATIVOS

- Encefalopatía del Husky de Alaska
- Leucodistrofia del Dálmata
- Degeneración esponjiforme de la materia gris en Salukis
- Encefalomiелopatías orgánicas
- Acidopatías
- Encefalopatía del Yorkshire Terrier

DESÓRDENES DEL DESARROLLO

- Lisencefalia: defecto del desarrollo de las circunvoluciones y surcos que generan problemas visuales.
- Hidranencefalia
- Meningoencefalocele
- Hidrocefalia: produce aumento de la presión intracraneal y atrofia de la corteza cerebral.

DESÓRDENES METABÓLICOS

- Diabetes mellitus
- Encefalopatía hepática
- Hipernatremia/Hiponatremia
- Hipoglucemia
- Hipotiroidismo/Hipertiroidismo
- Encefalopatía urémica
- Acidosis/Alcalosis
- Hipofosfatemia
- Hipercalcemia

DESÓRDENES NEUROTÓXICOS

- Plantas cianogénicas
- Toxicidad por etilenglicol
- Envenenamiento por plomo
- Intoxicación por metionina y metoclopramida

DESÓRDENES NEUROVASCULARES

- Infarto cerebral
- Hemorragias cerebrales

DESÓRDENES DE ALMACENAMIENTO

- Lipofuscinosis ceroide neuronal (Enfermedad de Batter) en Setter inglés y Terrier tibetano: depósito de ceroide en las neuronas cerebrales.
- Fucosidosis
- Gangliosidosis
- Leucodistrofia globoide

NEOPLASIAS

- Meningiomas
- Gliomas en perros braquicefálicos (astrocitomas, oligodendrogliomas)

ANEXO 6:

TABLA DE VARIACIONES DE LAS AMPLITUDES Y TIEMPOS IMPLÍCITOS DE LOS PEV EN DIFERENTES ALTERACIONES DE LAS VÍAS VISUALES (medicina humana).⁷

ENFERMEDAD	AMPLITUD	TIEMPO IMPLÍCITO
NEURITIS ÓPTICA	NORMAL O REDUCIDA	MUY PROLONGADO
COMPRESIÓN DE N.ÓPTICO	MÍNIMAMENTE REDUCIDA	MODERADAMENTE PROLONGADO
NEUROPATÍA ÓPTICA ISQUÉMICA ANTERIOR	MODERADAMENTE REDUCIDA	MÍNIMAMENTE PROLONGADO
NEUROPATÍA ÓPTICA HEREDITARIA DE LEBER	REDUCIDA	MÍNIMAMENTE PROLONGADO
NEUROPATÍA ÓPTICA DOMINANTEMENTE CONGÉNITA	MÍNIMAMENTE REDUCIDA	NORMAL O MÍNIMAMENTE PROLONGADO
PAPIEDEMA	NORMAL O MÍNIMAMENTE REDUCIDA	NORMAL O MÍNIMAMENTE PROLONGADO
NEUROPATÍAS ÓPTICAS TÓXICAS	MÍNIMAMENTE REDUCIDA	NORMAL O MÍNIMAMENTE PROLONGADO
DEFICIENCIA DE VITAMINA B12	NORMAL	MÍNIMAMENTE PROLONGADO
GLAUCOMA	NORMAL O MÍNIMAMENTE REDUCIDA	NORMAL
AMBLIOPÍA	NORMAL O REDUCIDA	NORMAL O MÍNIMAMENTE PROLONGADO

CAPÍTULO 4. MATERIAL Y MÉTODO

4.1. MATERIAL

4.1.1. MATERIAL ANIMAL

Para realizar este estudio se seleccionaron doce animales de especie canina y raza beagle, pertenecientes al Servicio de Animales de Laboratorio de la Universidad de Murcia, inscrito como centro usuario y actividad de cría en la Dirección General de Ganadería y Pesca de la CARM (Consejería de Agricultura y Agua) con nº de registro REGA ES300305440012, y siendo un Centro autorizado para la producción, por el Estabulario de la Universidad de Murcia. RD 223/1988, del 14 de marzo, sobre protección de los animales utilizados para la experimentación y otros fines científicos, BOE nº67, del 18 de marzo de 1988). Todos los animales estaban en buen estado de salud, desparasitados y vacunados. Su peso estaba comprendido entre 10 y 21kg, su edad entre 2 y 5 años y su sexo era macho (11) o hembra (1) indistintamente.

4.1.2. MATERIAL DE EXAMEN CLÍNICO

- Fonendoscopio (Littmann®)
- Oftalmoscopio directo (Heine®)
- Oftalmoscopio binocular indirecto con casco frontal (Welch Allyn®)
- Lámpara de hendidura (Photo Slit Lamp, TOPCON® SL-7F).

4.1.3. MATERIAL PARA LA PREPARACIÓN DEL PACIENTE

- Colirios midriáticos: tropicamida (Colircusí tropicamida®, Alcon).
- Máquina depiladora (Oster®).
- Alcohol 96°.
- Blefarostatos.

4.1.4. MATERIAL DE ANESTESIA

- Clorhidrato de medetomidina (Domtor®, 1mg/ml, Pfizer).
- Butorfanol tartrato (Torbugesic® inyectable, 10mg/ml, Fort Dodge).
- Ketamina (Imalgene® 1000, 100mg/ml, Merial).
- Oxígeno.

4.1.5. MATERIAL FUNGIBLE

- Catéter de 22G (azul) Vasocan®, B Braun.
- Jeringas de 1ml y de 2ml Injekt®, B Braun.
- Agujas hipodérmicas Sterican®, 23G (azules) y 21G (verdes), B Braun.
- Esparadrapo.
- Gasas estériles.

4.1.6. MATERIAL DE ESTIMULACIÓN Y REGISTRO

- Estimulador luminoso: Miniganzfeld.
- Electrodo discoidales de superficie de oro con orificio central.
- Electrodo de lente de lente ERG-JET® (lente de policarbonato con anillo de oro perimetral concéntrico).
- Pasta conductora (TEN 20™ conductive. EEG paste. Net Wt. 8 OZ).
- Gel corneal de carbómero (LacriVisc® Alcón).
- Amplificador de dos canales.

4.1.7. MATERIAL INFORMÁTICO

- Unidad central con el programa de registro y análisis de ERG y PEV: RETIsystem® (microsoft windows 95©1996-98 by CINDATEC GmbH. ROLAND CONSULT Electrophysiological Diagnostic Systems. Programa RETIport 32).
- Unidad informática portátil: Packard Bell, AMD Mobile Sempron™, con Microsoft® Windows® XP. Microsoft Office Word 2003.
- Impresora-Scanner: Canon PIXMA MP150®.

4.1.8. MATERIAL FOTOGRÁFICO

- Cámara fotográfica digital: Digital camera Olympus® C-480, AF zoom 6,3-18,9mm; 1:2.8-4.9; 4.0 megapixel, 3x optical zoom.

4.1.9. MATERIAL ESTADÍSTICO

- Programa estadístico SPSS (Windows Release 12 Standard Version®; USA).
- Microsoft Office Excel 2003.

4.2. MÉTODO

Nuestro trabajo de investigación tiene como objetivo la realización de un protocolo clínico que permita la obtención del Electrorretinograma (ERG) y de los Potenciales Evocados Visuales (PEV) en el perro beagle. El protocolo a seguir se basa en la correcta preparación del paciente, en la colocación de los electrodos, la calibración del sistema, la fase de estimulación luminosa y el registro y promediado de las respuestas evocadas por la retina (ERG) y por el resto de las vías visuales (PEV).

4.2.1. PREPARACIÓN DEL PACIENTE

Todos los beagles seleccionados para nuestro estudio fueron sometidos a un minucioso **examen de salud general** para evitar riesgos anestésicos indeseados y asegurarnos que ninguna enfermedad subyacente interfiera en el registro. Además, se les realizó un **examen ocular** completo con el fin de descartar posibles anomalías a este nivel que pudieran alterar los resultados.



Los animales fueron puestos en **ayuno** un mínimo de 12h antes del procedimiento de sedación y anestesia para evitar la emesis durante la prueba.

Para la obtención de los Flash-PEV y del Flash-ERG es necesario que la pupila esté dilatada. Para ello se instiló una gota de un colirio midriático de tropicamida (Fig.1) en cada ojo, cada 5 minutos durante 15 minutos, hasta la completa **dilatación pupilar**.

Se procedió al **rasurado cutáneo** de las zonas de colocación de los electrodos para permitir una correcta fijación de los mismos a la superficie y disminuir al máximo la resistencia al paso de la señal eléctrica procedente de la retina y de la corteza cerebral. Así mismo se limpió la zona con alcohol.

El siguiente paso a seguir fué la **sedación** del animal (Fig.2). Para ello se utilizó medetomidina (Domtor®)(0.01 mg/kg) im. + butorfanol (Torbugesic®)(0.3 mg/kg) im.



Fig.2: Sedación (medetomidina + butorfanol).

Transcurridos unos 10 minutos, se colocó al animal en la mesa de estudio en **decúbito esternal**, y se apoyó la cabeza sobre una almohadilla quirúrgica con el fin de que la superficie craneal quedase horizontal y paralela a la mesa.

A continuación, se realizó la venoclisís colocando un catéter en la vena cefálica. Mediante esta vía se inyectó el **anestésico**. Utilizamos ketamina (Imalgene® 500) (5 mg/kg) vía intravenosa (Fig.3).

Mientras el animal entraba en el plano anestésico deseado, se le fue **adaptando a la oscuridad** durante unos 20 minutos (obtención de los PEV), previos a la estimulación luminosa. De este modo los fotorreceptores de su retina se fueron adaptando a la nueva condición de baja luminosidad (ambiente escotópico) de la sala.



Fig.3: Anestésico (ketamina).

Se prefirió obtener los PEV en primer lugar, continuar con el ERG escotópico y culminar con el ERG fotópico, ya que la adaptación a la luz requiere sólo 10 minutos y de este modo aprovechamos mejor el tiempo de anestesia.

4.2.2. COLOCACIÓN DE ELECTRODOS

El paso previo a la estimulación luminosa fue la colocación de los electrodos en forma de disco en la superficie cutánea del cráneo. La fijación de los electrodos a la superficie cutánea se realizó por medio de una pasta conductora (TEN 20, EEG paste).

Para registrar los PEV se utilizaron tres electrodos colocados a lo largo de la línea media del cráneo. El **electrodo de registro (+)** se situó en la región occipital, correspondiente al área de corteza visual (área 17). El **electrodo de referencia (-)** se fijó en la zona frontal, posterior a los ojos. Por último, el **electrodo de tierra** se emplazó en el vértex, entre ambas orejas (Fig.5).



Fig.4: Electrodo corneal

En cambio para registrar el ERG se colocaron **electrodos corneales** de registro (+) fijados a ambas córneas con un gel de carbómero (Lacrivisc®)

(Fig.4), los electrodos de referencia (-) se situaron en el canto lateral de cada ojo y el de tierra en la línea media del hueso occipital (Fig.6).

Los electrodos se conectaron al amplificador de señales. Se eligió esta disposición de electrodos por ser la que mejor resultados proporcionaba durante las pruebas previas.



Fig.5: Electrodo para registrar PEV



Fig.6: Electrodo para registrar ERG

4.2.3. CALIBRACIÓN DEL SISTEMA

Tras la colocación de los electrodos y la conexión del amplificador y del miniganzfeld a la unidad central informática, se preparó el programa informático de registro de PEV y ERG. Se utilizó el programa RETIport 32 (Fig.7).

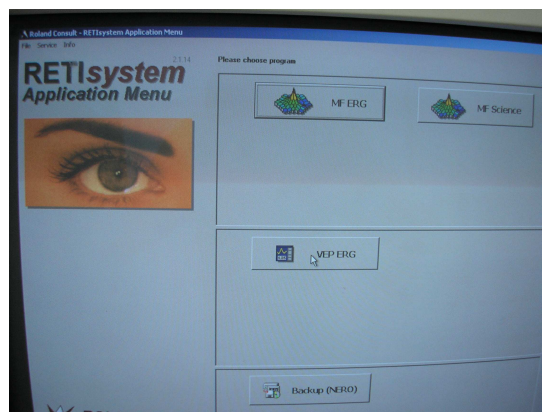


Fig.7: Sistema de electrodiagnóstico RETI port 32.

Los sistemas de obtención de Flash-PEV y de Flash-ERG se ajustaron según las recomendaciones del ISCEV mostradas en las tablas 1 y 2, según unos parámetros que se mantienen constantes durante toda la prueba.

Por último se calibró el sistema de medida de las amplitudes (μV) y el tiempo implícito (ms) de los picos que constituirían las ondas que obtendríamos.

Tabla 1: Parámetros de estimulación y registro para Flash-PEV

Parámetros	
TIPO DE ESTÍMULO	ISCEV-Flash de luminancia estándar
LUMINOSIDAD AMBIENTAL	Escotópico
ESTIMULACIÓN	Monocular
DISTANCIA OJO-MINIGANZFELD	10cm
INTENSIDAD DEL FLASH	2,7-3,3 (3) $\text{cd}\cdot\text{s}\cdot\text{m}^{-2}$
INTENSIDAD LUZ DE FONDO	15-30 $\text{cd}\cdot\text{m}^{-2}$
FRECUENCIA DE ESTIMULACIÓN	1 flash/seg (1Hz)
IMPEDANCIA DE LOS ELECTRODOS	5-7 $\text{K}\Omega$
FILTROS (-3dB)	1 Hz (baja frecuencia)-100 Hz (alta frecuencia)
NÚMERO DE BARRIDOS (flashes)	64
TIEMPO DE ANÁLISIS	250 ms

Tabla 2: Parámetros de estimulación y registro para Flash-ERG

	Respuesta bastones	Respuesta máxima	Potenciales Oscilatorios	Respuesta conos	Flícker (conos)
LUMINOSIDAD AMBIENTE	Escotópico	Escotópico	Escotópico ó Fotópico	Fotópico	Fotópico
ESTIMULACIÓN	Monocular	Monocular	Monocular	Monocular	Monocular
TIEMPO DE ADAPTACIÓN LUZ/OSCURIDAD	20 min	30 min	10 min/20 min	10 min	10 min
DISTANCIA OJO-MINIGANZFELD	5 cm	5 cm	5 cm	5 cm	5 cm
INTENSIDAD DEL FLASH ($\text{cd}\cdot\text{s}\cdot\text{m}^{-2}$)	0,01-0,02	3	3	3	3
INTENSIDAD LUZ DE FONDO ($\text{cd}\cdot\text{m}^{-2}$)	—	—	—	30	30
FRECUENCIA DE ESTIMULACIÓN (Hz)	$\leq 0,5$	0,5	0,5-1	4,9-5,1	30
Nº DE FLASHES	8	8	3	8	8-12
TIEMPO ENTRE FLASHES	2 seg	10 seg	15 seg	$\geq 0,5$ seg	-----
IMPEDANCIA DE LOS ELECTRODOS	2-5 $\text{K}\Omega$	2-5 $\text{K}\Omega$	2-5 $\text{K}\Omega$	2-5 $\text{K}\Omega$	2-5 $\text{K}\Omega$
FILTROS (-3 dB) (Hz)	0,3-300	0,3-300	200-500	0,3-300	0,3-300
TIEMPO DE ANÁLISIS	250 ms	250 ms	200 ms	200 ms	200 ms

4.2.4. ESTIMULACIÓN LUMINOSA

La primera fase de la obtención de los PEV y el ERG es la estimulación luminosa. En nuestro estudio utilizamos el Flash-PEV y el Flash-ERG como técnica de estimulación por la falta de colaboración de los animales. Esta técnica nos permitía obtener respuestas evocadas de la corteza visual y de la retina, respectivamente, al estimularla con una serie de flashes de corta duración. Para ello empleamos como estimulador un miniganzfeld (Fig.8). En el protocolo de los PEV solamente intervino 1 tipo de estimulación, mientras que en el ERG se incluyeron 5 tipos de estimulaciones estipuladas por el ISCEV (tabla 2).



Fig.8: Miniganzfeld

En nuestro protocolo realizamos estimulaciones monoculares para aislar la respuesta de cada ojo. Además, durante la estimulación individual de cada ojo se tapó el ojo contralateral para evitar interferencias.

Tanto para los PEV como para el ERG se realizaron dos pruebas en cada ojo para comprobar su reproducibilidad.

4.2.5. REGISTRO Y PROMEDIADO.

Tras la estimulación luminosa, la siguiente fase consiste en el registro de las señales evocadas, el filtrado de las mismas y el promediado de dichas respuestas.

El registro se llevó a cabo por los electrodos, gracias a la diferencia de cargas entre el electrodo activo y el de referencia.



Fig.9: Amplificador diferencial

A continuación se filtraron las respuestas obtenidas para eliminar el ruido de fondo (señales eléctricas procedentes de otros lugares extracraneales) mediante el **amplificador diferencial** (Fig.9).

Y desde éste, las señales fueron enviadas a la unidad central informática **RETIsystem**, donde el programa **RETIpport 32** se encargaría de promediar las señales y representarlas en forma de gráfico (Fig.10).



Fig.10: RETIport 32, RETIsystem.

La fase final y de mayor importancia es el estudio de la morfología de las gráficas (nº de ondas que la conforman, secuencia de aparición, polaridad y tamaño de las mismas), de los parámetros (amplitud y tiempos implícitos) de los picos de las ondas obtenidas, así como el análisis estadístico de los mismos. Para este análisis emplearemos los elementos básicos (rango, media y desviación estándar) de estadística descriptiva. Así, estableceremos el rango (R) que es el intervalo de menor tamaño que contiene a los datos y que permite obtener una idea de la dispersión de los datos.

$R = x_{(k)} - x_{(1)}$, donde $x_{(i)}$ indica que se trata del elemento i -ésimo de la serie de datos y k es el valor máximo.

La media aritmética también será calculada para conocer el promedio de los datos y para ello, emplearemos esta fórmula:

$$\bar{x} = \frac{\sum_{i=1}^n a_i}{n} = \frac{a_1 + \dots + a_n}{n}, \text{ dados los } n \text{ números } a_1, a_2, \dots, a_n$$

Y la desviación estándar muestral, que es una medida de dispersión que nos dice cuánto tienden a alejarse los valores respecto de la media aritmética de dicha distribución. Utilizaremos la siguiente expresión:

$$\sqrt{s^2} = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^n (x_i - \bar{x})^2}{n - 1}}$$

Además, nos ayudaremos de histogramas de barras y diagramas de dispersión para representar la variabilidad de los datos obtenidos en cada prueba.

Para finalizar, la interpretación global de los datos obtenidos siempre deberá relacionarse minuciosamente con la sintomatología del paciente y las pruebas de diagnóstico clínico complementarias realizadas.

CAPÍTULO 5. RESULTADOS

5.1. CALIDAD DEL PROTOCOLO DE OBTENCIÓN DE LOS PEV Y EL ERG.

En la preparación del paciente la utilización de midriáticos fue importante para obtener una correcta estimulación de toda la retina y la corteza occipital (área visual). La adaptación a la oscuridad permitió una correcta respuesta de los bastones y una eficaz discriminación de los contrastes generados con la estimulación luminosa en ambiente escotópico. De igual modo, la adaptación a la luz permitió una eficaz respuesta de los conos en la prueba del ERG fotópico.

La calidad de la anestesia resultó satisfactoria, permitiendo el mantenimiento de unos valores correctos de frecuencia cardio-respiratoria y un plano anestésico de 90 minutos. Éste es el tiempo medio necesario para realizar las dos pruebas (PEV y ERG), aunque en algunos animales (2 animales) fue necesario aplicar una dosis adicional de anestésico (la mitad de la dosis inicial) a los 40 y 50 minutos de la primera administración.

La colocación de los electrodos en el canto lateral del ojo (electrodos de referencia) y las lentillas corneales (electrodos de registro) en el caso del ERG, y a lo largo de la línea media craneal en los PEV, nos reportaron resultados coherentes y reproducibles. En el ERG colocamos el electrodo positivo en la córnea porque posee diferente polaridad que la retina y está próxima a las células generadoras del registro. Para obtener los PEV fueron necesarias múltiples pruebas para localizar la zona de la superficie craneal que registrase la señal evocada más intensa. Con nuestro equipo de diagnóstico registramos señales más potentes en la línea media de la cresta del hueso occipital debido a que en este lugar los electrodos mantenían unas correctas impedancias, y por ello decidimos emplazar el electrodo de registro (positivo) en esta zona.

A la hora de colocar los electrodos fue fundamental rasurar la piel y limpiarla a conciencia, pues los restos de pelo y suciedad producían impedancias erróneas impidiendo el paso de la corriente eléctrica evocada. Cubrimos la superficie corneal con un gel protector cuando colocamos los electrodos de lentillas.

Calibramos el sistema de registro de PEV, después de numerosas pruebas y pudimos comprobar que el ajuste de los filtros entre 1-100Hz, la frecuencia de estimulación en 1 flash/seg, el tiempo de análisis en 250ms y el número de promedios en 64 (averages), proporcionaba resultados válidos. Así mismo, la realización por duplicado de la prueba en cada ojo permitió demostrar la reproducibilidad y la escasa variabilidad de los resultados. Sin embargo, el sistema de registro del ERG se calibró según la normativa del ISCEV (tabla 2, en material y método) sin presentar ningún problema de registro.

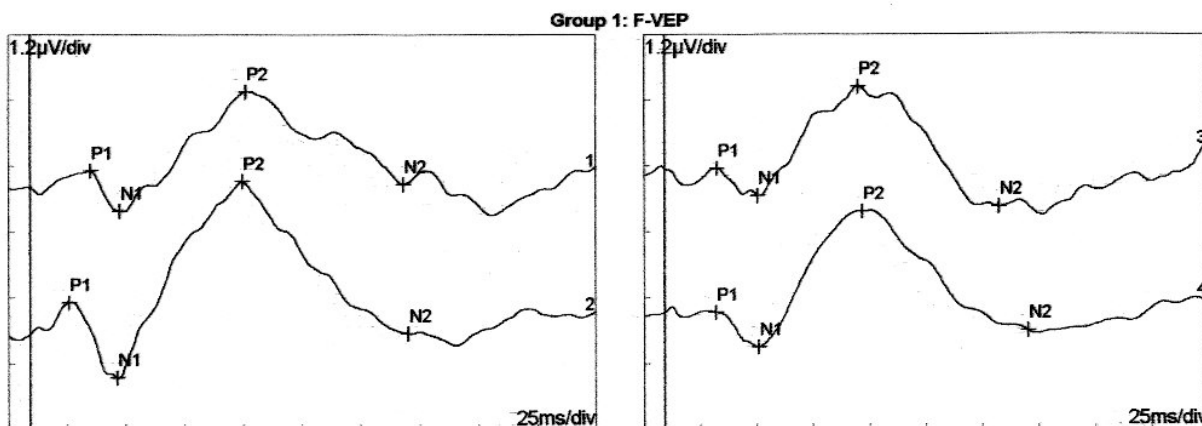
5.2. REPRESENTACIÓN GRÁFICA Y OBTENCIÓN DE DATOS DE LOS PEV Y EL ERG.

El programa de obtención de los PEV y el ERG realizó una serie de representaciones gráficas de los mismos junto con la medida de los tiempos implícitos y las amplitudes de los diferentes picos.

A continuación analizaremos e interpretaremos las gráficas y los datos obtenidos en ambas pruebas electrofisiológicas.

5.2.1. ANÁLISIS DE LA MORFOLOGÍA DE LA GRÁFICA E INTERPRETACIÓN DE LOS DATOS OBTENIDOS EN EL ESTUDIO DE LOS POTENCIALES EVOCADOS VISUALES (PEV)

El patrón morfológico de las gráficas obtenidas es una onda en forma de 'M' compuesta por dos picos positivos (P1 y P2) y dos negativos (N1 y N2). El orden de aparición de los picos sería: P1, N1, P2 y N2. En todos los beagles pudimos comprobar que el pico P2 era el más prominente (Fig.1).



Diagnostic data:

Channel	N1 [ms]	P1 [ms]	N2 [ms]	P2 [ms]	N1-P1	N2-P2
1 right F-VEP	38	25	158	91	768nV	1.76μV
2 right F-VEP	37	16	160	90	1.43μV	2.88μV
3 left F-VEP	41	22	147	85	515nV	2.28μV
4 left F-VEP	41	22	160	87	659nV	2.26μV

Test parameter:

Channel	Stimulus	Ampl., Range, Filter
1 right F-VEP	Standard Flash, BackLight Off 1Hz, Avg:64	1, +/-20μV 1-100Hz
2 right F-VEP	Standard Flash, BackLight Off 1Hz, Avg:64	1, +/-20μV 1-100Hz
3 left F-VEP	Standard Flash, BackLight Off 1Hz, Avg:65	1, +/-20μV 1-100Hz
4 left F-VEP	Standard Flash, BackLight Off 1Hz, Avg:64	1, +/-20μV 1-100Hz

Fig.1: Gráfica representativa de la morfología de los PEV

En nuestro estudio medimos el tiempo implícito de cada pico (P1, N1, P2, N2). Los tiempos implícitos de los diferentes picos miden el tiempo en milisegundos (ms) desde que iniciamos el estímulo luminoso hasta la aparición del pico en cuestión, es decir, representan el tiempo que tardan en registrarse las señales evocadas por las diferentes porciones de la vía visual central.

Por otro lado, la amplitud entre dos picos consecutivos mide el voltaje (μV) existente desde un pico hasta el siguiente, es decir, representa la intensidad de las señales evocadas por la vía visual central. Las amplitudes consideradas en nuestro estudio son P1-N1 y P2-N2. Nuestros datos revelan una mayor amplitud de P2-N2.

Los valores normales de los 12 beagles, junto con los rangos, medias y desviaciones estándar presentados en la tabla 1 son de gran utilidad, pues la presencia de asimetrías significativas entre ambos ojos sería indicativa de disfunción en alguna zona de la vía visual central.

Los datos obtenidos en nuestro estudio para los tiempos de culminación deberían ser considerados como valores estándar en un estudio de funcionalidad de la vía visual central. Las amplitudes, aunque con mayor variabilidad interindividual, podrían considerarse anormales cuando los valores son muy bajos ($<0.2 \mu\text{V}$).

TABLA 1: FLASH-PEV

BEAGLE	OJO	TIEMPO IMPLÍCITO (ms)				AMPLITUD (μ V)	
		P1	N1	P2	N2	P1-N1	P2-N2
1	Dcho	20	38	83	127	2,17	2,17
	Izq	19	40	77	132	2,18	1,58
2	Dcho	16	40	97	161	2,11	1,58
	Izq	18	39	97	150	1,37	1,46
3	Dcho	17	35	96	154	1,52	2,32
	Izq	18	36	97	155	3,49	4,42
4	Dcho	18	34	96	151	741 nV	2,4
	Izq	18	36	95	158	895 nV	3,35
5	Dcho	15	30	89	122	2,5	2,15
	Izq	15	32	91	132	3,26	2,78
6	Dcho	21	40	100	145	4,16	2,84
	Izq	22	40	97	146	3,3	3,47
7	Dcho	17	34	95	149	2,47	1,98
	Izq	18	49	86	155	3,75	4,54
8	Dcho	17	34	99	151	3,29	6,03
	Izq	13	33	90	141	2,76	5,12
9	Dcho	8	38	103	156	1,15	1,41
	Izq	18	39	100	149	1,77	1,67
10	Dcho	16	30	79	129	1,01	2,05
	Izq	16	32	79	129	1,1	1,59
11	Dcho	17	38	96	136	3	406 nV
	Izq	18	38	95	141	3,6	1,62
12	Dcho	15	32	84	120	2	2,42
	Izq	16	34	80	128	1,27	1,61
Rango		(8-22)	(30-49)	(77-100)	(120-161)	(0,741-4,16)	(0,406-6,03)
Media \pm D.E.		16,91 \pm 2,69	36,29 \pm 4,13	91,70 \pm 7,56	142,37 \pm 12,11	2,28 \pm 1,00	2,54 \pm 1,30

Los datos de cada beagle son la media de las dos exploraciones realizadas en cada ojo.

Las medias totales y las D.E. han sido calculadas con los valores obtenidos en las dos exploraciones de cada ojo de los 12 beagles (n= 48).

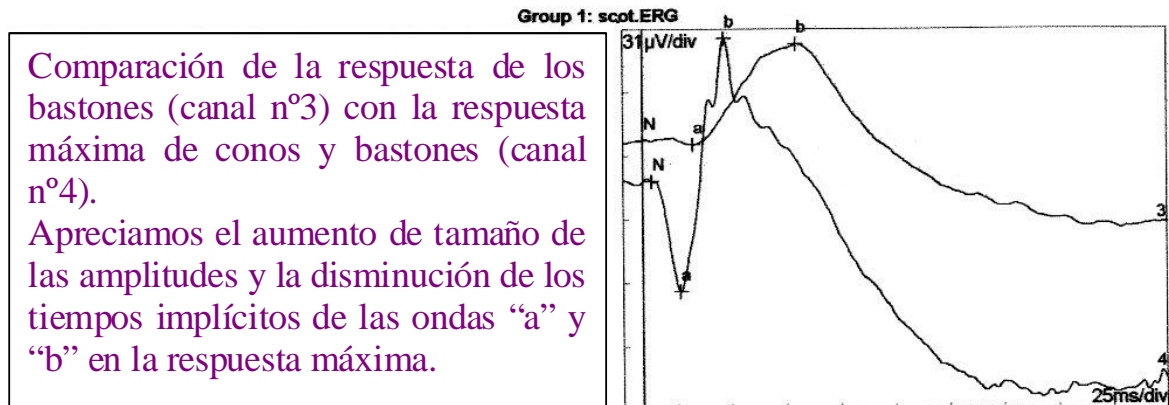
D.E.: Desviación Estándar

5.2.2. ANÁLISIS DE LA MORFOLOGÍA DE LA GRÁFICA E INTERPRETACIÓN DE LOS DATOS OBTENIDOS EN EL ESTUDIO ELECTRORETINOGRÁFICO (ERG)

Obtuvimos diferente morfología de onda en los distintos tipos de estimulación. De acuerdo con el protocolo del ISCEV comenzamos en ambiente escotópico:

* En la **respuesta escotópica de los bastones** (Fig.2, canal n°3) la gráfica estaba compuesta por dos ondas, la onda “a” de polaridad negativa y representativa de la hiperpolarización de los bastones, ya que los conos no están siendo estimulados según las condiciones de la prueba, y la onda “b” de polaridad positiva y correspondiente directamente con la actividad de las células de Müller e indirectamente con la acción de las células bipolares.

* En la **respuesta máxima de conos y bastones** (Fig.2, canal n°4) obtuvimos una gráfica con las ondas “a” y “b”, cuyas amplitudes eran mayores. La onda “a” representa la respuesta combinada de conos y bastones, y la onda “b” las señales de las c.de Müller.



Diagnostic data:				
Channel	a [ms]	b [ms]	a-Wave	b-Wave
3 left scot.P.	22	70	2.2µV	49.2µV
4 left max.R.	17	37	54µV	124µV
Test parameter:				
Channel	Stimulus			Ampl., Range, Filter
3 left scot.P.	-25dB, BackLight Off 0.5Hz, Avg:8			2, +/-1mV 0.1-300Hz
4 left max.R.	Standard Flash, BackLight Off 0.5Hz, Avg:8			2, +/-1mV 0.1-300Hz

Fig.2: Gráfica representativa del ERG escotópico (respuesta de bastones + respuesta máxima).

A continuación hemos recopilado en la tabla 2 los datos obtenidos en el ERG escotópico:

TABLA 2: ERG ESCOTÓPICO

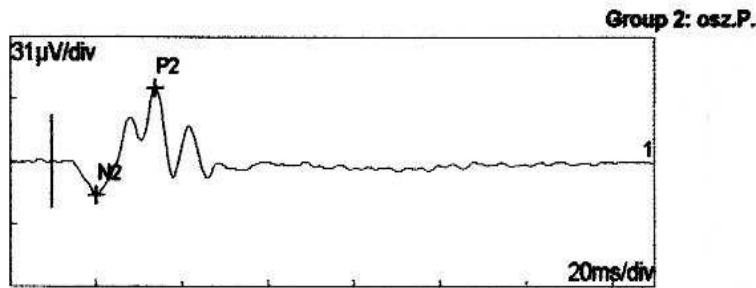
BEAGLE	RESPUESTA BASTONES				RESPUESTA MÁXIMA (CONOS + BASTONES)			
	TIEMPO IMPLÍCITO (ms)		AMPLITUD (µV)		TIEMPO IMPLÍCITO (ms)		AMPLITUD (µV)	
	a	b	Onda-a	Onda-b	a	b	Onda-a	Onda-b
1	22	70	2,2	49,2	17	37	54	124
2	22	70	2,2	49,2	17	37	54	124
3	15	57	2,42	145	13	36	81,7	350
4	18	69	793 nV	155	15	34	118	313
5	19	66	2,03	86	15	35	40,5	139
6	16	37	19,2	139	7	25	42,6	200
7	18	70	6,09	81,1	16	38	82,2	151
8	23	60	3,71	49,2	18	35	71,7	147
9	24	76	854 nV	39,3	18	37	29	114
10	18	67	757 nV	52	17	39	27,9	116
11	28	71	3,77	24,9	18	42	19,4	95,4
12	23	60	19	169	14	33	53,4	185
Rango	(15-28)	(37-76)	(0,757-19,2)	(24,9-169)	(7-18)	(25-42)	(19,4-118)	(95,4-350)
Media ± D.E.	20,5 ± 3,61	64,41 ± 9,77	5,25 ± 6,36	86,57 ± 49,23	15,41 ± 8,90	35,66 ± 15,55	56,2 ± 26,97	171,53 ± 77,26

Los resultados de cada beagle son la media de las exploraciones de ambos ojos.

Las medias totales y las D.E. han sido calculadas con los valores obtenidos en las dos exploraciones de cada ojo de los 12 beagles (n= 48).

D.E.: Desviación Estándar.

* En ambiente escotópico también se obtuvieron los **potenciales oscilatorios** (Fig.3), pero en nuestro estudio se desestimaron por no ser relevantes en nuestra investigación.



Diagnostic data:

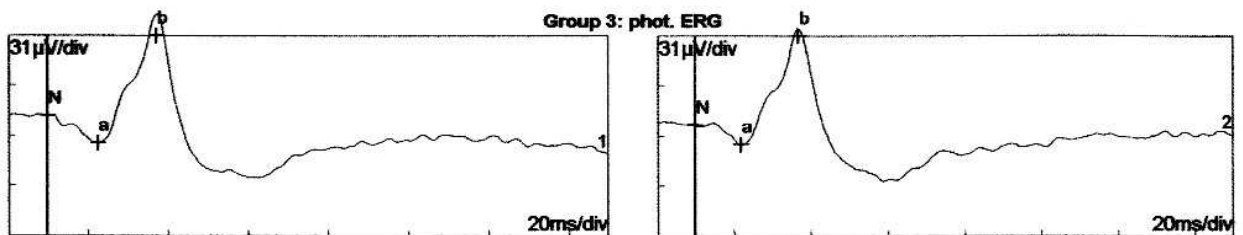
Channel	N2 [ms]	P2 [ms]	OS2
1 right osz.P.	10	24	53.2μV
2 left osz.P.			

Test parameter:

Channel	Stimulus	Ampl., Range, Filter
1 right osz.P.	Standard Flash, BackLight Off 0.5Hz, Avg:3	1, +/-1mV 200-500Hz
2 left osz.P.	Standard Flash, BackLight Off 1Hz, Avg:0	2, +/-1mV 200-500Hz

Fig.3: Gráfica representativa de los Potenciales Oscilatorios.

* En ambiente fotópico, la **respuesta de los conos** (Fig.4) también presentaba los picos “a” (respuesta de los conos) y “b” (respuesta de las c.de Müller y c. bipolares), aunque con mayores amplitudes que la respuesta de los bastones.



Diagnostic data:

Channel	a [ms]	b [ms]	a-Wave	b-Wave
1 right phot.P.	12	27	17μV	80.5μV
2 left phot.P.	12	27	11.7μV	72.3μV

Test parameter:

Channel	Stimulus	Ampl., Range, Filter
1 right phot.P.	Standard Flash + Backgr., Fix On, BackLight On (White) 0.5Hz, Avg:8	1, +/-1mV 0.1-300Hz
2 left phot.P.	Standard Flash + Backgr., BackLight Off 0.5Hz, Avg:8	2, +/-1mV 0.5-300Hz

Fig.4: Gráfica representativa del ERG fotópico (respuesta de conos).

Los datos obtenidos son los siguientes:

TABLA 3: ERG FOTÓPICO

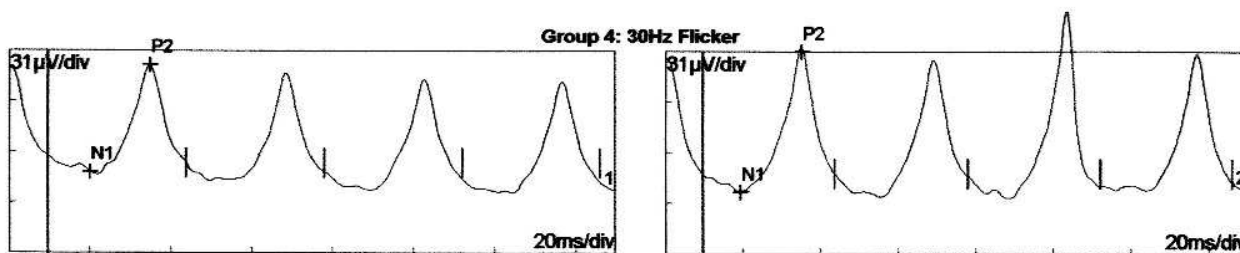
BEAGLE	TIEMPO IMPLÍCITO (ms)		AMPLITUD (μV)	
	a	b	Onda-a	Onda-b
1	10	29	2,16	25,9
2	10	29	2,16	25,9
3	12	27	11,7	72,3
4	12	27	17	80,5
5	10	27	7,54	20,9
6	10	26	3,22	60,2
7	13	26	8,53	30,5
8	10	26	7,10	32,8
9	11	27	7,65	44
10	13	30	6,27	23,7
11	16	34	2,94	18,9
12	17	30	977 nV	17,5
Rango	(10-17)	(26-34)	(0,977-17)	(17,5-80,5)
Media ± D.E.	12 ± 2,30	28,16 ± 2,26	6,43 ± 4,43	37,75 ± 20,75

Los resultados de cada beagle son la media de las exploraciones de ambos ojos.

Las medias totales y las D.E. han sido calculadas con los valores obtenidos en las dos exploraciones de cada ojo de los 12 beagles (n= 48).

D.E.: Desviación Estándar

* Por último, el **flícker fotópico** (Fig.5) adoptaba una morfología típica formada por la repetición continua de una onda idéntica y con los mismos intervalos temporales entre ellas. Representa la respuesta de los conos frente a una elevada frecuencia de estimulación.



Diagnostic data:

Channel	N1 [ms]	P2 [ms]	N1/P2	30Hz/Ampl.
1 right 30Hz	10	25	65.7μV	26.5μV
2 left 30Hz	9	25	89.5μV	33.5μV

Test parameter:

Channel	Stimulus	Ampl., Range, Filter
1 right 30Hz	Standard Flash + Backgr., BackLight Off 29.4Hz, Avg:8	1, +/-1mV 0.5-300Hz
2 left 30Hz	Standard Flash + Backgr., BackLight Off 29.4Hz, Avg:8	2, +/-1mV 0.5-300Hz

Fig.5: Gráfica representativa del ERG flícker (respuesta de conos a alta frecuencia de estimulación).

Los datos obtenidos se representan en la siguiente tabla:

TABLA 4: ERG FLÍCKER

BEAGLE	TIEMPO IMPLÍCITO (ms)		AMPLITUD (μV)	
	N1	P2	N1/P2	30Hz/Amplitud
1	20	29	17,5	6,48
2	20	29	17,5	6,48
3	3	24	80,5	27,9
4	6	24	49,6	18,7
5	1	24	33,3	13,3
6	0	24	16,8	8,55
7	10	25	65,7	26,5
8	9	25	89,5	33,5
9	10	27	19,6	5,9
10	10	25	20,8	7,87
11	10	35	13	8,99
12	5	25	12,4	5,23
Rango	(0-20)	(24-35)	(12,4-89,5)	(5,23-33,5)
Media ± D.E.	8,66 ± 6,12	26,33 ± 3,14	36,35 ± 26,69	14,11 ± 9,57

Los resultados de cada beagle son la media de las exploraciones de ambos ojos.

Las medias totales y las D.E. han sido calculadas con los valores obtenidos en las dos exploraciones de cada ojo de los 12 beagles (n= 48). D.E.: Desviación Estándar

5.2.3. INFORMES DE ELECTRODIAGNÓSTICO

A continuación se expone el conjunto de todos los informes de electrodiagnóstico (PEV y ERG) realizados a los 12 perros de raza beagle.

En cada informe se han incluido las características de reseña del paciente, los datos referentes a vacunaciones, desparasitaciones, enfermedades padecidas y tratamientos recibidos, así como los pertinentes al examen clínico y oftalmológico previo. Además, se adjuntan las características protocolarias más relevantes que pudieran causar variaciones en el registro.

En todos los pacientes se ha comenzado el estudio electrodiagnóstico con el registro de los PEV, seguido del ERG escotópico (respuesta de bastones y respuesta máxima), y finalizando con el ERG fotópico (respuesta de conos y flícker). De este modo se ha conseguido un máximo aprovechamiento del plano anestésico y de la adaptación a la oscuridad.

INFORME DE ELECTRODIAGNÓSTICO

Características del paciente:

Nombre: beagle 1

Especie: canina

Raza: beagle

Edad: 2-5 años

Sexo: macho

Peso: 10 kg

Vacunaciones y desparasitaciones: reglamentarias

Enfermedades padecidas: ninguna

Exploración clínica y oftalmológica: normal

Características protocolarias:

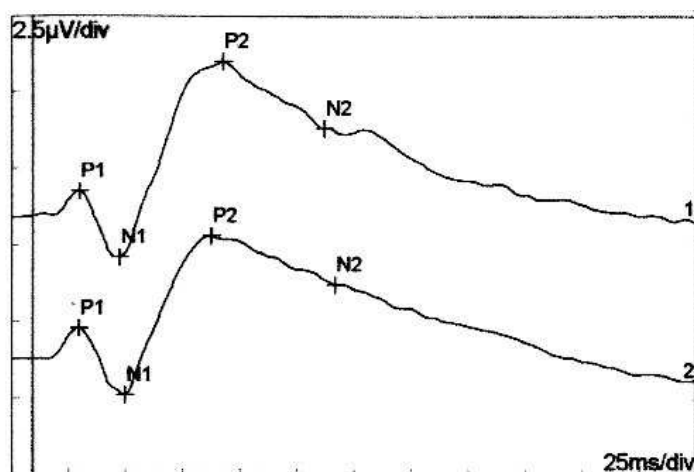
Midriasis: sí.

Sedación-anestesia: sí.

Tiempo de adaptación a la oscuridad: 20 min.

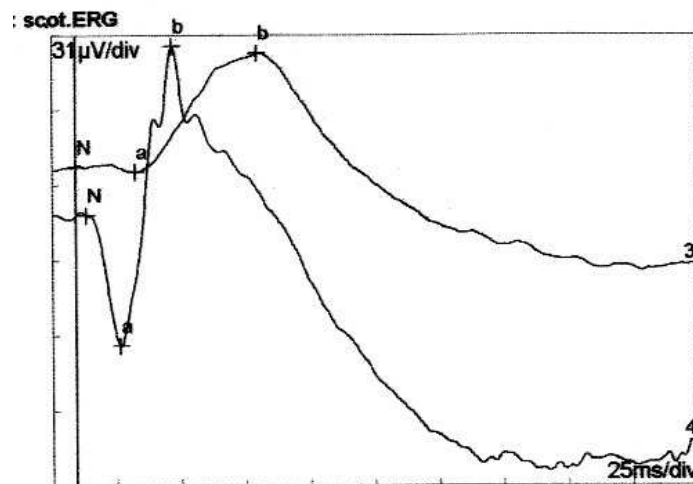
Reacciones adversas: no.

POTENCIALES EVOCADOS VISUALES (FLASH-PEV)



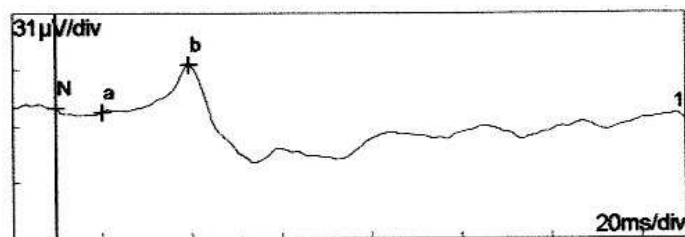
Canal	P1(ms)	N1(ms)	P2(ms)	N2(ms)	P1-N1	P2-N2
1: ojo dcho	20	38	83	127	2.17µV	2.17µV
2: ojo izq	19	40	77	132	2.18µV	1.58µV

ERG ESCOTÓPICO



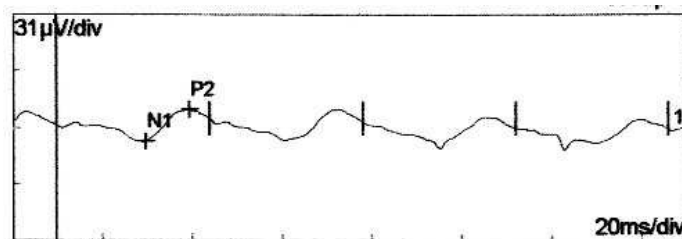
Canal	a (ms)	b (ms)	onda-a	onda-b
3: normal	22	70	2.2 μV	49.2 μV
4: máxima	17	37	54 μV	124 μV

ERG FOTÓPICO



Canal	a (ms)	b (ms)	onda-a	onda-b
1	10	29	2.16 μV	25.9 μV

ERG FLÍCKER



Canal	n1 (ms)	p2 (ms)	n1/p2	30hz/amplitud
1	20	29	17.5 μV	6.48 μV

INFORME DE ELECTRODIAGNÓSTICO

Características del paciente:

Nombre: beagle 2

Especie: canina

Raza: beagle

Edad: 2-5 años

Sexo: macho

Peso: 13 kg

Vacunaciones y desparasitaciones: reglamentarias

Enfermedades padecidas: ninguna

Exploración clínica y oftalmológica: normal

Características protocolarias:

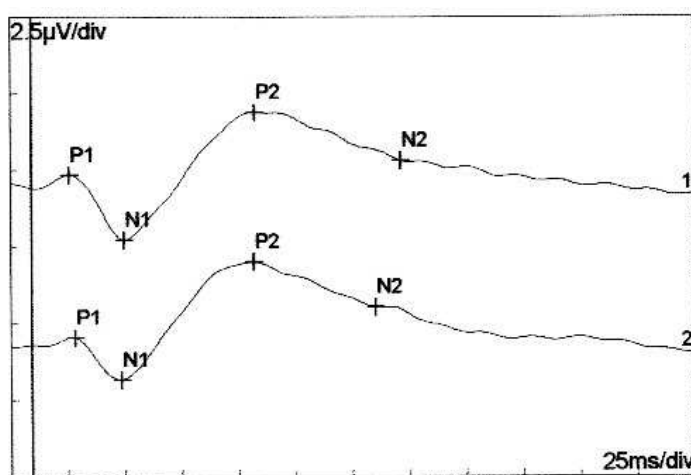
Midriasis: sí.

Sedación-anestesia: sí.

Tiempo de adaptación a la oscuridad: 20 min.

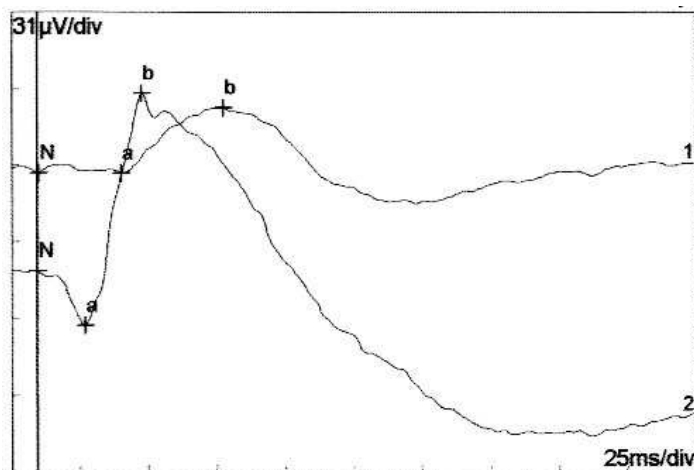
Reacciones adversas: no.

POTENCIALES EVOCADOS VISUALES (FLASH-PEV)



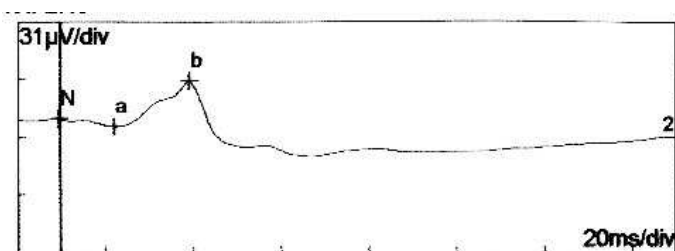
Canal	P1 (ms)	N1 (ms)	P2 (ms)	N2 (ms)	P1-N1	P2-N2
1: ojo dcho	16	40	97	161	2.11 μ V	1.58 μ V
2: ojo izq	18	39	97	150	1.37 μ V	1.46 μ V

ERG ESCOTÓPICO



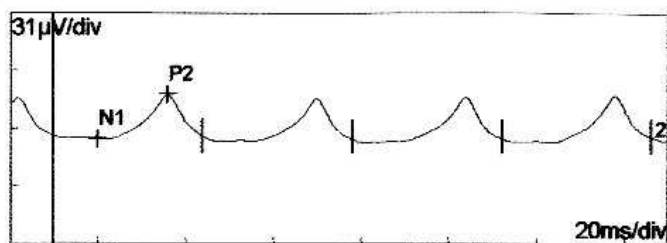
Canal	a (ms)	b (ms)	onda-a	onda-b
1: normal	30	67	24.4nV	26.6µV
2: máxima	17	38	22.2µV	94.5µV

ERG FOTÓPICO



Canal	a (ms)	b (ms)	onda-a	onda-b
2	12	29	3.97µV	24.3µV

ERG FLÍCKER



Canal	N1 (ms)	P2 (ms)	N1/P2	30Hz/Amplitud
2	10	26	23.9µV	9.31µV

INFORME DE ELECTRODIAGNÓSTICO

Características del paciente:

Nombre: beagle 3

Especie: canina

Raza: beagle

Edad: 2-5 años

Sexo: macho

Peso: 13.2 kg

Vacunaciones y desparasitaciones: reglamentarias

Enfermedades padecidas: ninguna

Exploración clínica y oftalmológica: normal

Características protocolarias:

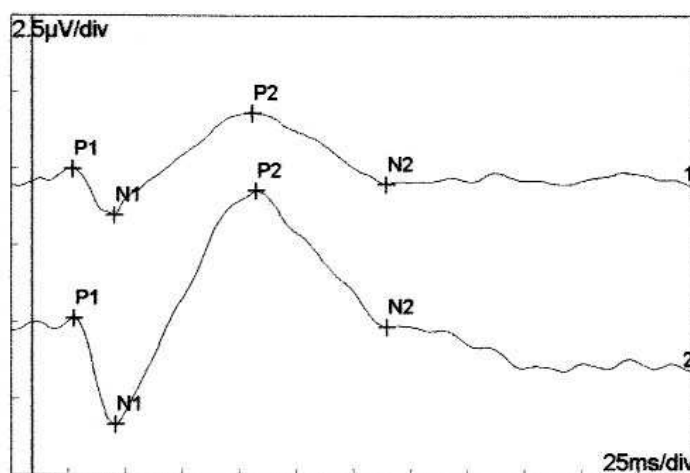
Midriasis: sí.

Sedación-anestesia: sí.

Tiempo de adaptación a la oscuridad: 20 min.

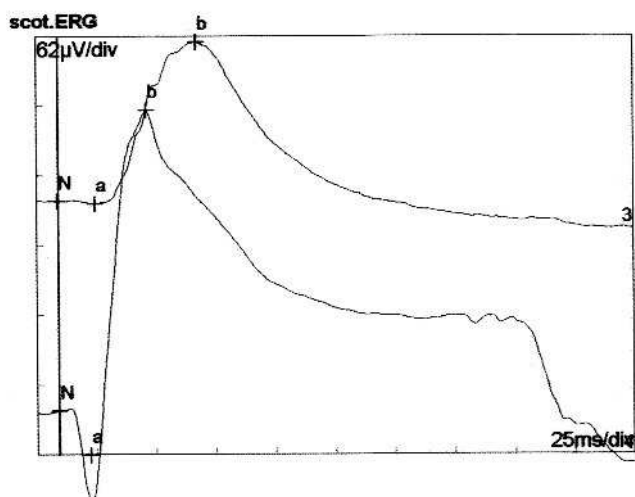
Reacciones adversas: no.

POTENCIALES EVOCADOS VISUALES (FLASH-PEV)



Canal	P1 (ms)	N1 (ms)	P2 (ms)	N2 (ms)	P1-N1	P2-N2
1: ojo dcho	17	35	96	154	1.52 μV	2.32 μV
2: ojo izq	18	36	97	155	3.49 μV	4.42 μV

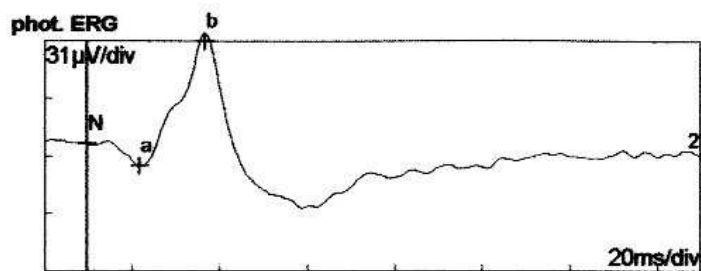
ERG ESCOTÓPICO



Canal	a (ms)	b (ms)	onda-a	onda-b
3: normal	15	57	2.42µV	145µV
4: máxima	13	36	81.7µV	350µV

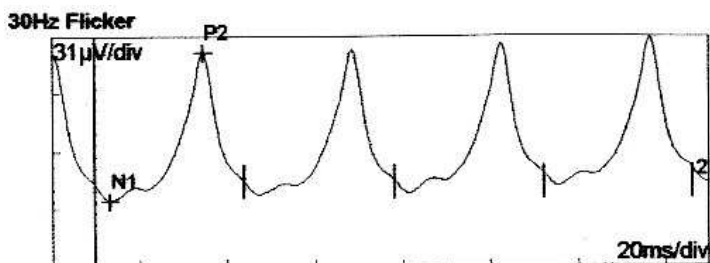
Observación: se ha aumentado el µV/div al doble para ajustar el tamaño de las ondas a la gráfica, debido a la gran respuesta del ERG de este beagle.

ERG FOTÓPICO



Canal	a (ms)	b (ms)	onda-a	onda-b
2	12	27	11.7µV	72.3µV

ERG FLÍCKER



Canal	N1 (ms)	P2 (ms)	N1/P2	30Hz/Amplitud
2	3	24	80.5µV	27.9µV

INFORME DE ELECTRODIAGNÓSTICO

Características del paciente:

Nombre: beagle 4

Especie: canina

Raza: beagle

Edad: 2-5 años

Sexo: macho

Peso: 10 kg

Vacunaciones y desparasitaciones: reglamentarias

Enfermedades padecidas: ninguna

Exploración clínica y oftalmológica: normal

Características protocolarias:

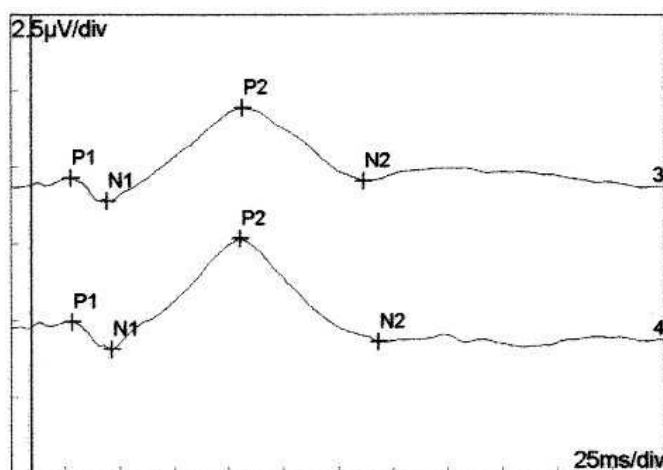
Midriasis: sí.

Sedación-anestesia: sí.

Tiempo de adaptación a la oscuridad: 20 min.

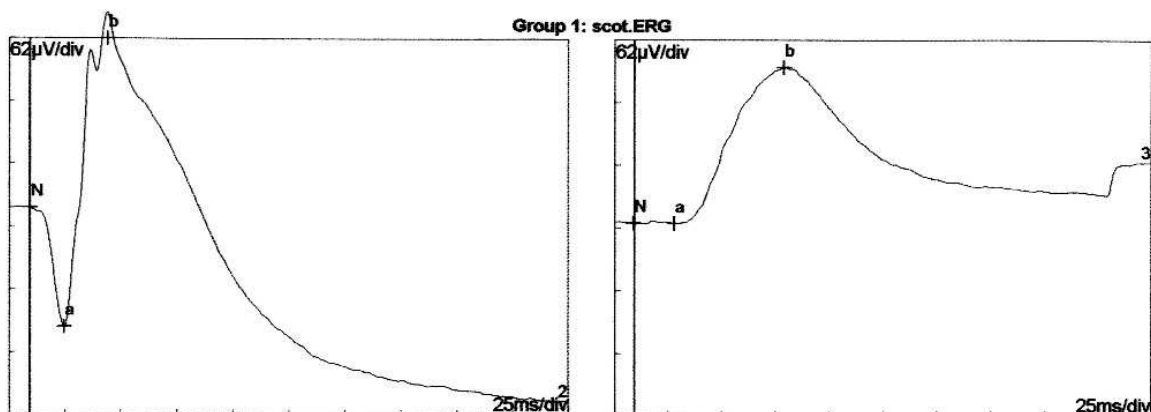
Reacciones adversas: no.

POTENCIALES EVOCADOS VISUALES (FLASH-PEV)



Canal	P1 (ms)	N1 (ms)	P2 (ms)	N2 (ms)	P1-N1	P2-N2
3: ojo dcho	18	34	96	151	741nV	2.4µV
4: ojo izq	18	36	95	158	895nV	3.35µV

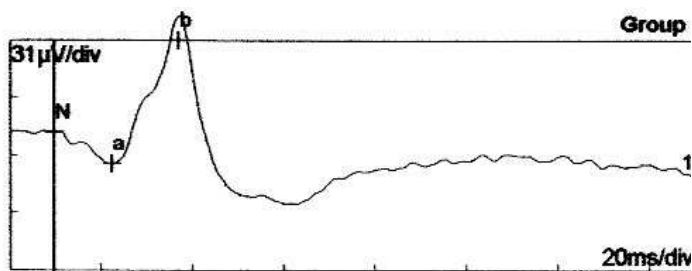
ERG ESCOTÓPICO



Canal	a (ms)	b (ms)	onda-a	onda-b
2: máxima	15	34	118 μ V	313 μ V
3: normal	18	69	793nV	155 μ V

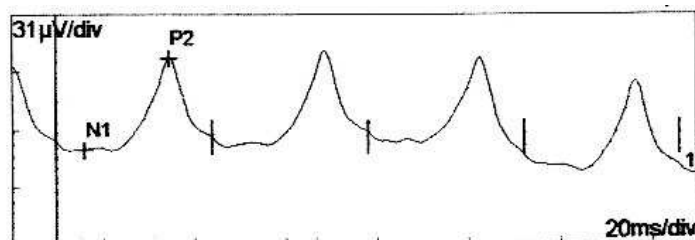
Observación: se ha aumentado el μ V/div al doble para ajustar el tamaño de las ondas a la gráfica, debido a la gran respuesta del ERG de este beagle.

ERG FOTÓPICO



Canal	a (ms)	b (ms)	onda-a	onda-b
1	12	27	17 μ V	80.5 μ V

ERG FLÍCKER



Canal	N1 (ms)	P2 (ms)	N1/P2	30Hz/Amplitud
1	6	24	49.6 μ V	18.7 μ V

INFORME DE ELECTRODIAGNÓSTICO

Características del paciente:

Nombre: beagle 5

Especie: canina

Raza: beagle

Edad: 2-5 años

Sexo: macho

Peso: 21 kg

Vacunaciones y desparasitaciones: reglamentarias

Enfermedades padecidas: ninguna

Exploración clínica y oftalmológica: normal

Características protocolarias:

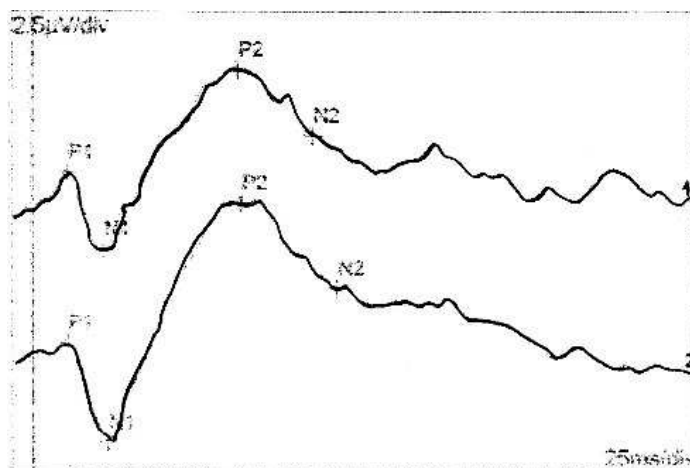
Midriasis: sí.

Sedación-anestesia: sí.

Tiempo de adaptación a la oscuridad: 20 min.

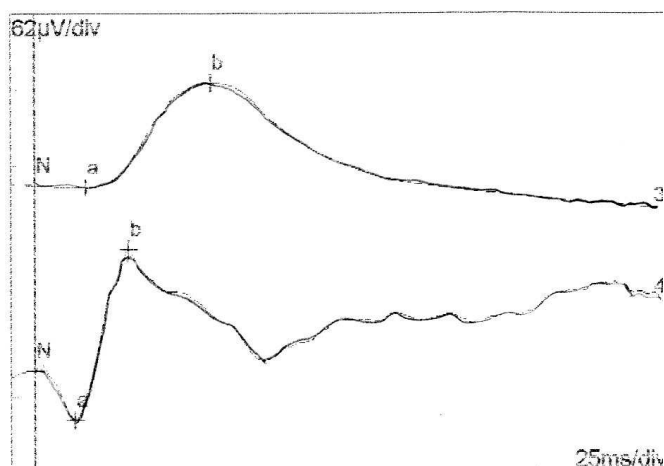
Reacciones adversas: no.

POTENCIALES VISUALES EVOCADOS (FLASH-PEV)



Canal	P1 (ms)	N1 (ms)	P2 (ms)	N2 (ms)	P1-N1	P2-N2
1: ojo dcho	15	30	89	122	2.5µV	2.15µV
2: ojo izq	15	32	91	132	3.26µV	2.78µV

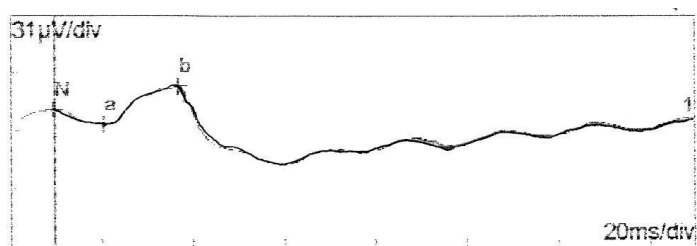
ERG ESCOTÓPICO



Canal	a (ms)	b (ms)	onda-a	onda-b
3: normal	19	66	2.03µV	86µV
4: máxima	15	35	40.5µV	139µV

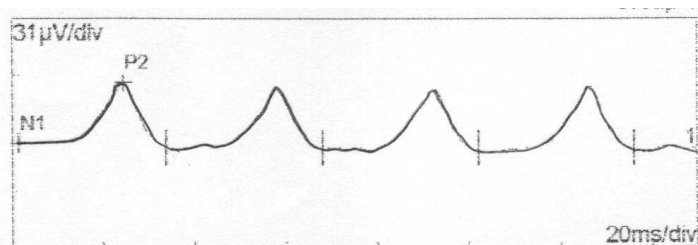
Observación: se ha aumentado el µV/div al doble para ajustar el tamaño de las ondas a la gráfica, debido a la gran respuesta del ERG de este beagle.

ERG FOTÓPICO



Canal	a (ms)	b (ms)	onda-a	onda-b
1	10	27	7.54µV	20.9µV

ERG FLÍCKER



Canal	N1 (ms)	P2 (ms)	N1/P2	30Hz/Amplitud
1	1	24	33.3µV	13.3µV

INFORME DE ELECTRODIAGNÓSTICO

Características del paciente:

Nombre: beagle 6

Especie: canina

Raza: beagle

Edad: 2-5 años

Sexo: macho

Peso: 13 kg

Vacunaciones y desparasitaciones: reglamentarias

Enfermedades padecidas: ninguna

Exploración clínica y oftalmológica: normal

Características protocolarias:

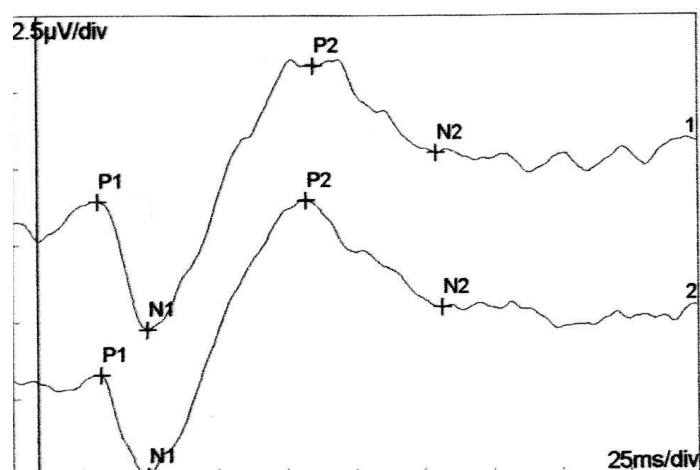
Midriasis: sí.

Sedación-anestesia: sí.

Tiempo de adaptación a la oscuridad: 20 min.

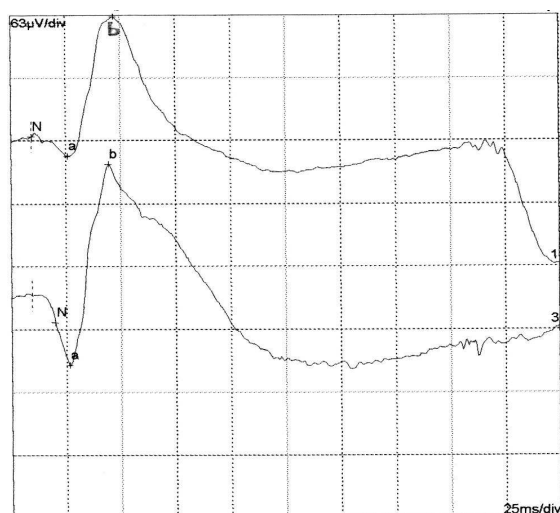
Reacciones adversas: no.

POTENCIALES EVOCADOS VISUALES (FLASH-PEV)



Canal	P1 (ms)	N1 (ms)	P2 (ms)	N2 (ms)	P1-N1	P2-N2
1: ojo dcho	21	40	100	145	4.16 μV	2.84 μV
2: ojo izq	22	40	97	146	3.3 μV	3.47 μV

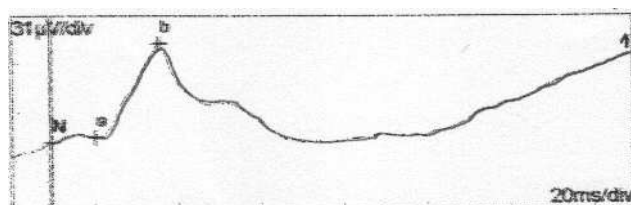
ERG ESCOTÓPICO



Canal	N (ms)	a (ms)	b (ms)	onda-a	onda-b
1: normal	0	16	37	19.2µV	139µV
3: máxima	10	17	35	42.6µV	200µV

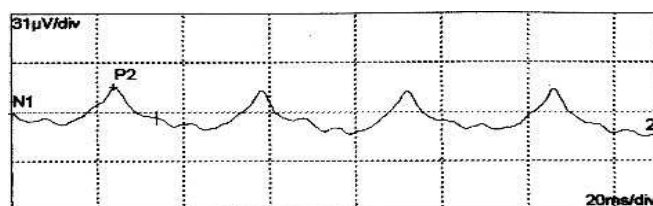
Observación: se ha aumentado el µV/div al doble para ajustar el tamaño de las ondas a la gráfica, debido a la gran respuesta del ERG de este beagle.

ERG FOTÓPICO



Canal	a (ms)	b (ms)	onda-a	onda-b
1	10	26	3.22µV	60.2µV

ERG FLÍCKER



Canal	N1 (ms)	P2 (ms)	N1/P2	30Hz/Amlitud
2	0	24	16.8µV	8.55µV

INFORME DE ELECTRODIAGNÓSTICO

Características del paciente:

Nombre: beagle 7

Especie: canina

Raza: beagle

Edad: 2-5 años

Sexo: macho

Peso: 12 kg

Vacunaciones y desparasitaciones: reglamentarias

Enfermedades padecidas: ninguna

Exploración clínica y oftalmológica: normal

Características protocolarias:

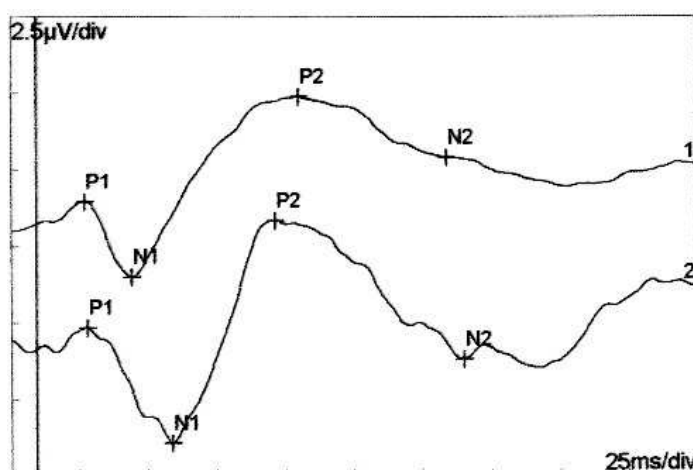
Midriasis: sí.

Sedación-anestesia: sí.

Tiempo de adaptación a la oscuridad: 20 min.

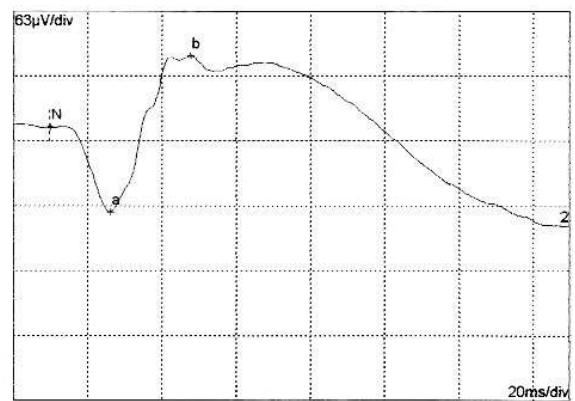
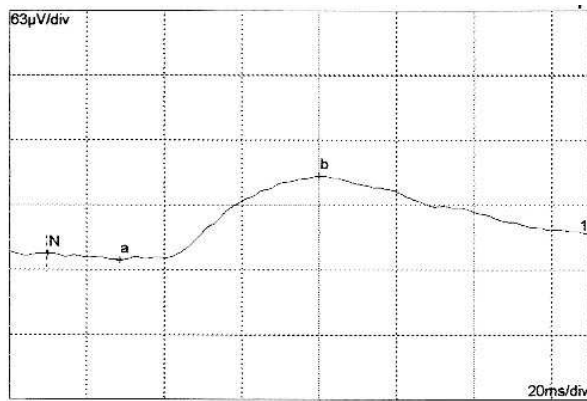
Reacciones adversas: no.

POTENCIALES EVOCADOS VISUALES (FLASH-PEV)



Canal	P1 (ms)	N1 (ms)	P2 (ms)	N2 (ms)	P1-N1	P2-N2
1: ojo dcho	17	34	95	149	2.47μV	1.98μV
2: ojo izq	18	49	86	155	3.75μV	4.54μV

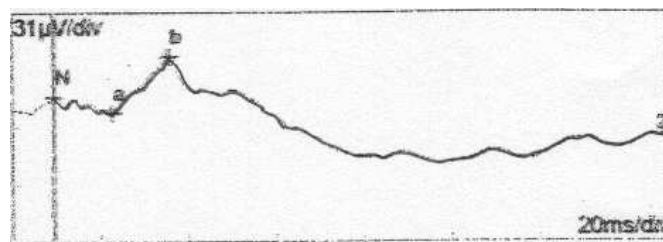
ERG ESCOTÓPICO



Canal	a (ms)	b (ms)	onda-a	onda-b
1: normal	18	70	6.09µV	81.1µV
2: máxima	16	38	82.2µV	151µV

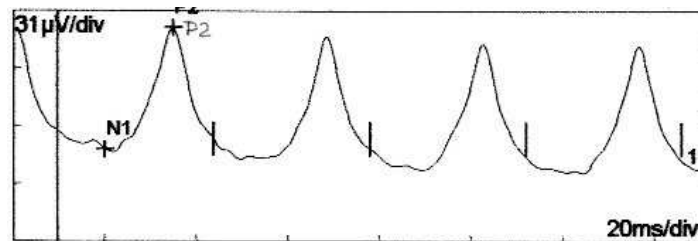
Observación: se ha aumentado el µV/div al doble para ajustar el tamaño de las ondas a la gráfica, debido a la gran respuesta del ERG de este beagle.

ERG FOTÓPICO



Canal	a (ms)	b (ms)	onda-a	onda-b
2	13	26	8.53µV	30.5µV

ERG FLÍCKER



Canal	N1 (ms)	P2 (ms)	N1/P2	30Hz/Amplitud
1	10	25	65.7µV	26.5µV

INFORME DE ELECTRODIAGNÓSTICO

Características del paciente:

Nombre: beagle 8

Especie: canina

Raza: beagle

Edad: 2-5 años

Sexo: macho

Peso: 19 kg

Vacunaciones y desparasitaciones: reglamentarias

Enfermedades padecidas: ninguna

Exploración clínica y oftalmológica: normal

Características protocolarias:

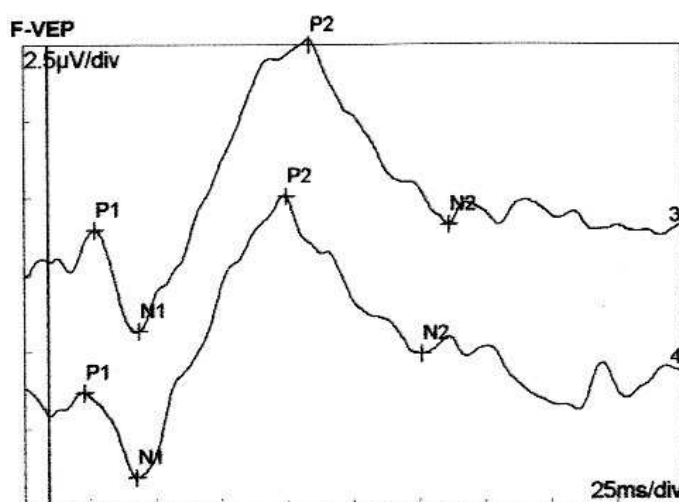
Midriasis: sí.

Sedación-anestesia: sí.

Tiempo de adaptación a la oscuridad: 20 min.

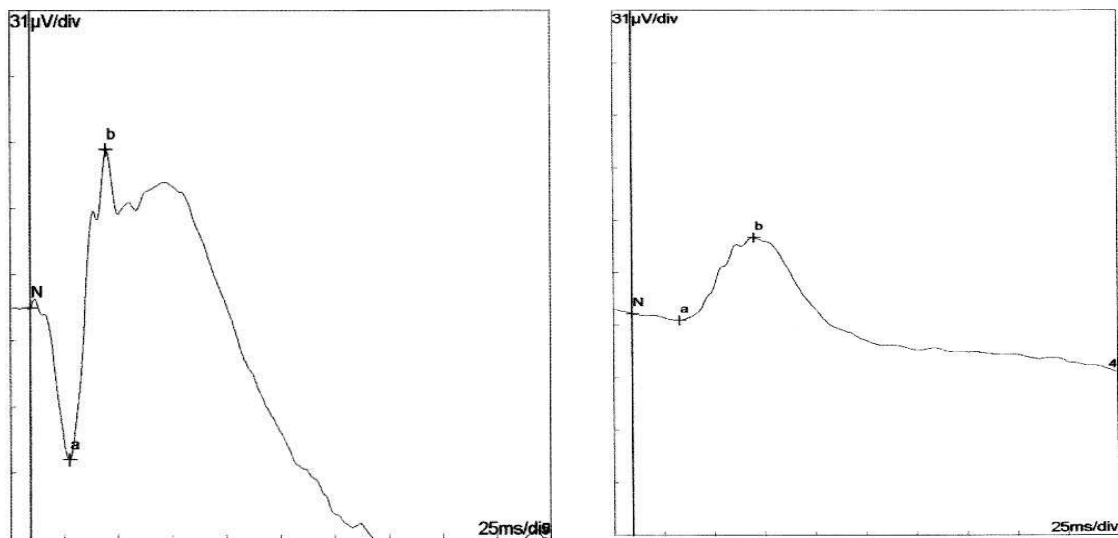
Reacciones adversas: no.

POTENCIALES EVOCADOS VISUALES (FLASH-PEV)



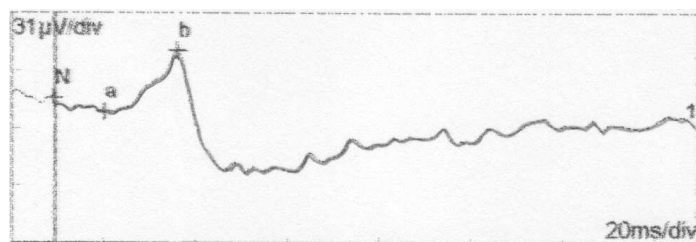
Canal	P1 (ms)	N1 (ms)	P2 (ms)	N2 (ms)	P1-N1	P2-N2
3: ojo dcho	17	34	99	151	3.29µV	6.03µV
4: ojo izq	13	33	90	141	2.76µV	5.12µV

ERG ESCOTÓPICO



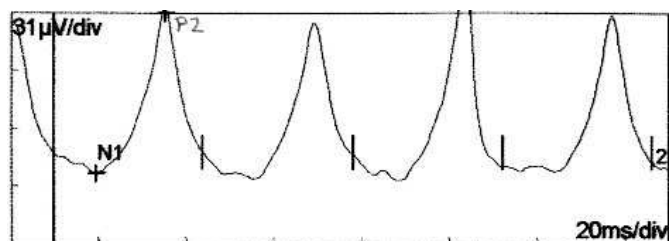
Canal	a (ms)	b (ms)	onda-a	onda-b
5: máxima	18	35	71.7 μ V	147 μ V
4: normal	23	60	3.71 μ V	49.2 μ V

ERG FOTÓPICO



Canal	a (ms)	b (ms)	onda-a	onda-b
1	10	26	7.1 μ V	32.8 μ V

ERG FLÍCKER



Canal	N1 (ms)	P2 (ms)	N1/P2	30Hz/Amplitud
2	9	25	89.5 μ V	33.5 μ V

INFORME DE ELECTRODIAGNÓSTICO

Características del paciente:

Nombre: beagle 9

Especie: canina

Raza: beagle

Edad: 2-5 años

Sexo: macho

Peso: 21 kg

Vacunaciones y desparasitaciones: reglamentarias

Enfermedades padecidas: ninguna

Exploración clínica y oftalmológica: normal

Características protocolarias:

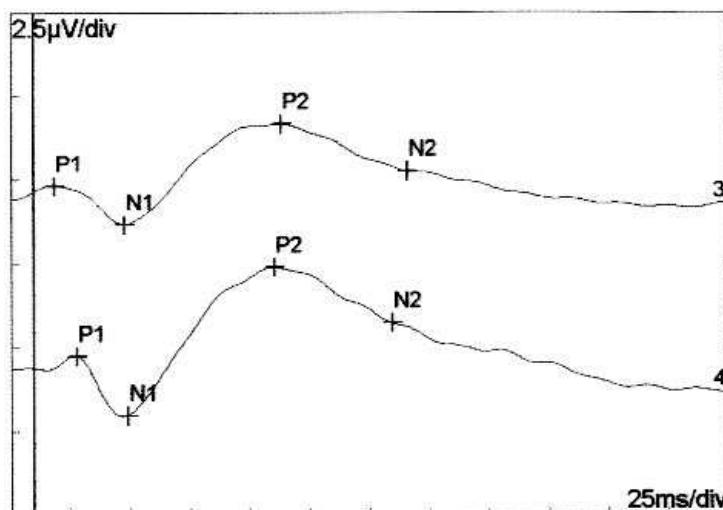
Midriasis: sí.

Sedación-anestesia: sí.

Tiempo de adaptación a la oscuridad: 20 min.

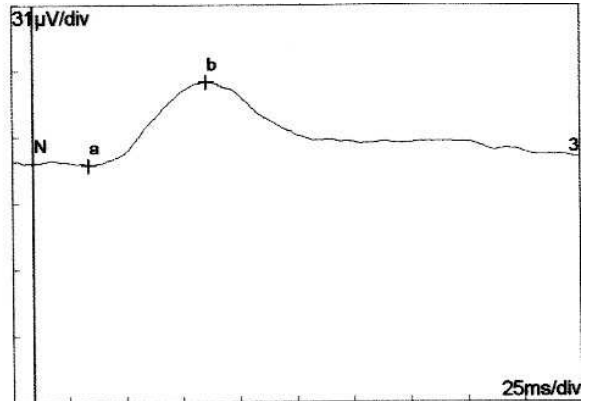
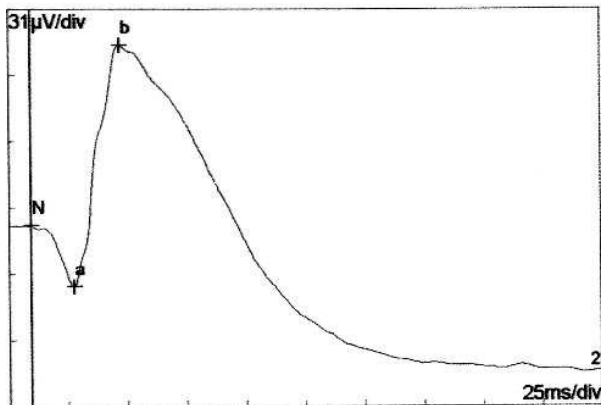
Reacciones adversas: no.

POTENCIALES EVOCADOS VISUALES (FLASH-PEV)



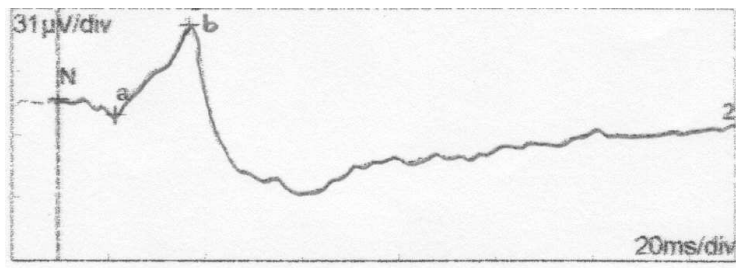
Canal	P1 (ms)	N1 (ms)	P2 (ms)	N2 (ms)	P1-N1	P2-N2
3: ojo dcho	8	38	103	156	1.15μV	1.41μV
4: ojo izq	18	39	100	149	1.77μV	1.67μV

ERG ESCOTÓPICO



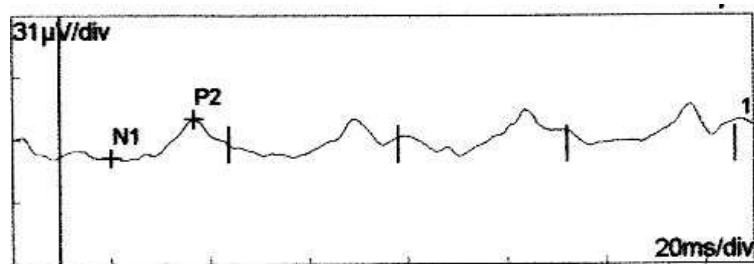
Canal	a (ms)	b (ms)	onda-a	onda-b
2: máxima	18	37	29μV	114μV
3: normal	24	76	854nV	39.3μV

ERG FOTÓPICO



Canal	a (ms)	b (ms)	onda-a	onda-b
2	11	27	7.65μV	44μV

ERG FLÍCKER



Canal	N1 (ms)	P2 (ms)	N1/P2	30Hz/Amplitud
1	10	27	19.6μV	5.9μV

INFORME DE ELECTRODIAGNÓSTICO

Características del paciente:

Nombre: beagle 10

Especie: canina

Raza: beagle

Edad: 2-5 años

Sexo: macho

Peso: 18 kg

Vacunaciones y desparasitaciones: reglamentarias

Enfermedades padecidas: ninguna

Exploración clínica y oftalmológica: normal

Características protocolarias:

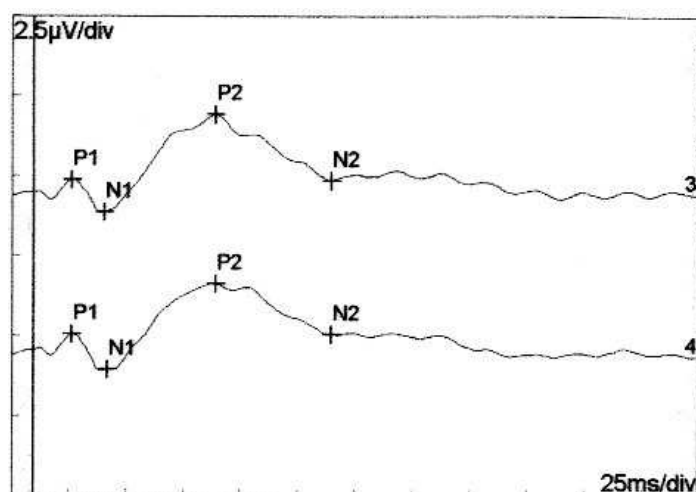
Midriasis: sí.

Sedación-anestesia: sí.

Tiempo de adaptación a la oscuridad: 20 min.

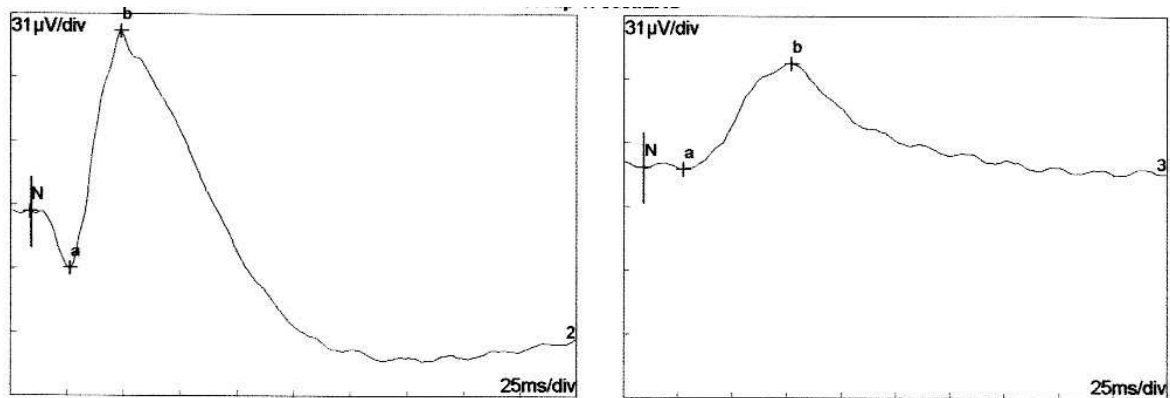
Reacciones adversas: no.

POTENCIALES EVOCADOS VISUALES (FLASH-PEV)



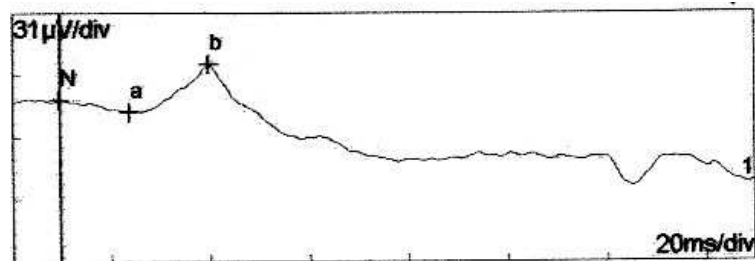
Canal	P1 (ms)	N1 (ms)	P2 (ms)	N2 (ms)	P1-N1	P2-N2
3: ojo dcho	16	30	79	129	1.01μV	2.05μV
4: ojo izq	16	32	79	129	1.1μV	1.59μV

ERG ESCOTÓPICO



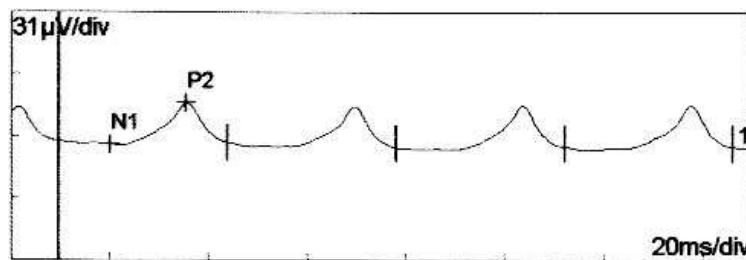
Canal	a (ms)	b (ms)	onda-a	onda-b
2: máxima	17	39	27.9μV	116μV
3: normal	18	67	757nV	52μV

ERG FOTÓPICO



Canal	a (ms)	b (ms)	onda-a	onda-b
1	13	30	6.27μV	23.7μV

ERG FLÍCKER



Canal	N1 (ms)	P2 (ms)	N1/P2	30Hz/Amplitud
1	10	25	20.8μV	7.87μV

INFORME DE ELECTRODIAGNÓSTICO

Características del paciente:

Nombre: beagle 11

Especie: canina

Raza: beagle

Edad: 2-5 años

Sexo: macho

Peso: 18.3 kg

Vacunaciones y desparasitaciones: reglamentarias

Enfermedades padecidas: ninguna

Exploración clínica y oftalmológica: normal

Características protocolarias:

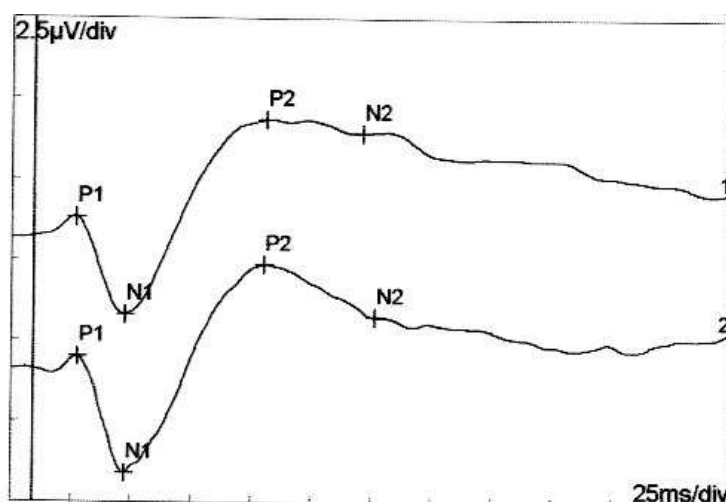
Midriasis: sí.

Sedación-anestesia: sí.

Tiempo de adaptación a la oscuridad: 20 min.

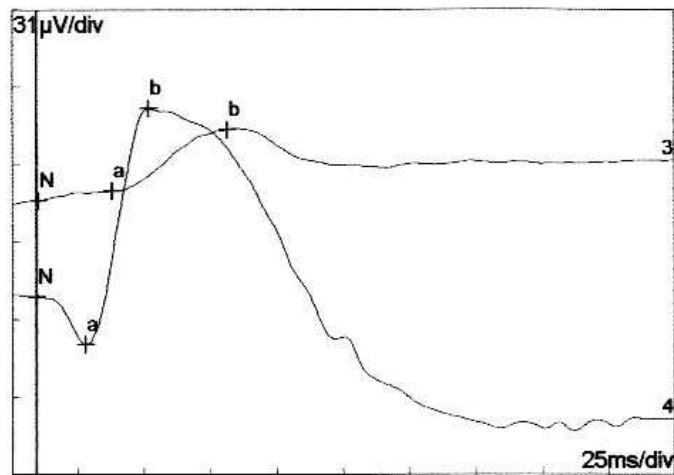
Reacciones adversas: no.

POTENCIALES EVOCADOS VISUALES (FLASH-PEV)



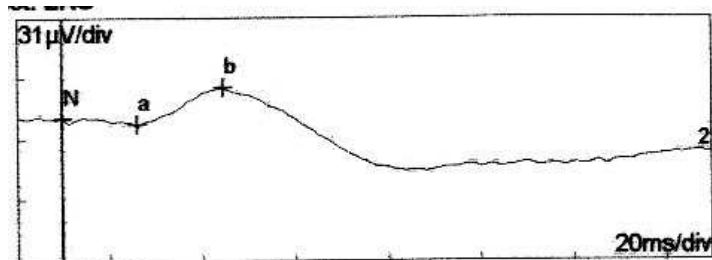
Canal	P1 (ms)	N1 (ms)	P2 (ms)	N2 (ms)	P1-N1	P2-N2
1: ojo dcho	17	38	96	136	3µV	406nV
2: ojo izq	18	38	95	141	3.6µV	1.62µV

ERG ESCOTÓPICO



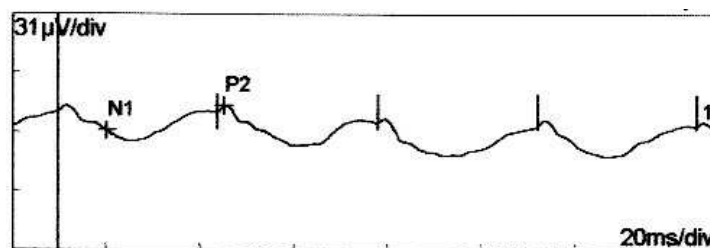
Canal	a (ms)	b (ms)	onda-a	onda-b
3: normal	28	71	3.77μV	24.9μV
4: máxima	18	42	19.4μV	95.4μV

ERG FOTÓPICO



Canal	a (ms)	b (ms)	onda-a	onda-b
2	16	34	2.94μV	18.9μV

ERG FLÍCKER



Canal	N1 (ms)	P2 (ms)	N1/P2	30Hz/Amplitud
1	10	35	13μV	8.99μV

INFORME DE ELECTRODIAGNÓSTICO

Características del paciente:

Nombre: beagle 12

Especie: canina

Raza: beagle

Edad: 2-5 años

Sexo: hembra

Peso: 17.9 kg

Vacunaciones y desparasitaciones: reglamentarias

Enfermedades padecidas: ninguna

Exploración clínica y oftalmológica: normal

Características protocolarias:

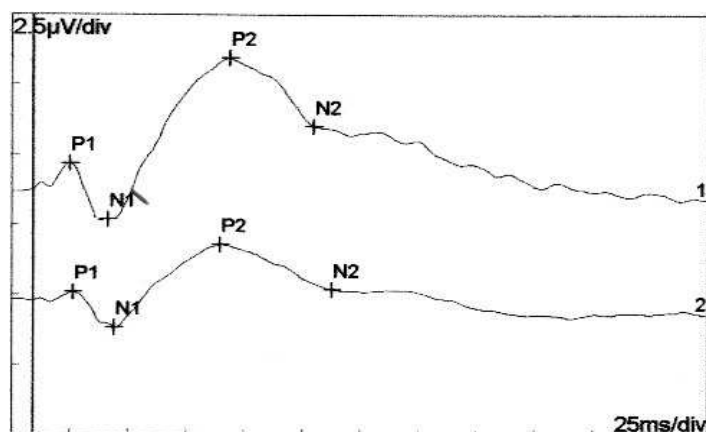
Midriasis: sí.

Sedación-anestesia: sí.

Tiempo de adaptación a la oscuridad: 20 min.

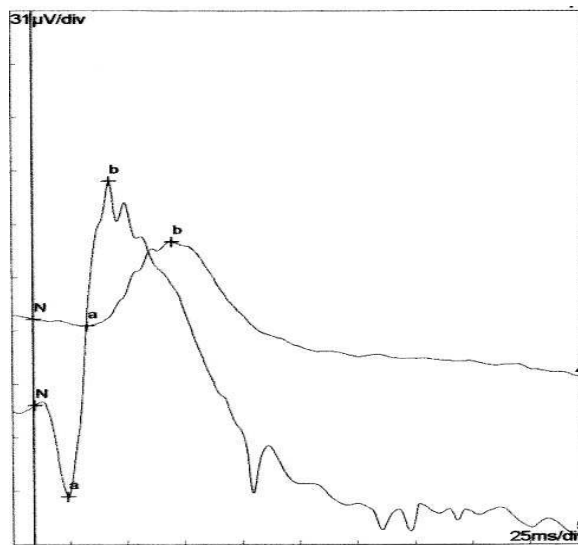
Reacciones adversas: no.

POTENCIALES EVOCADOS VISUALES (FLASH-PEV)



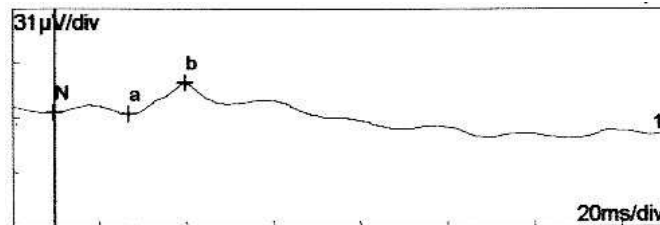
Canal	P1 (ms)	N1 (ms)	P2 (ms)	N2 (ms)	P1-N1	P2-N2
1: ojo dcho	15	32	84	120	2μV	2.42μV
2: ojo izq	16	34	80	128	1.27μV	1.61μV

ERG ESCOTÓPICO



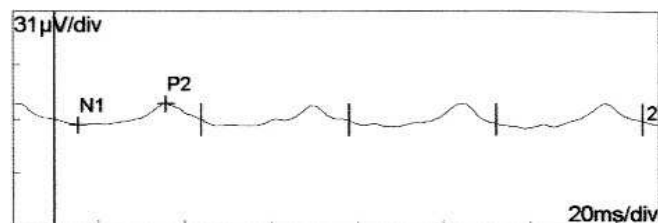
Canal	a (ms)	b (ms)	onda-a	onda-b
4: normal	23	60	19μV	169μV
5: máxima	14	33	53.4μV	185μV

ERG FOTÓPICO



Canal	a (ms)	b (ms)	onda-a	onda-b
1	17	30	977nV	17.5μV

ERG FLÍCKER



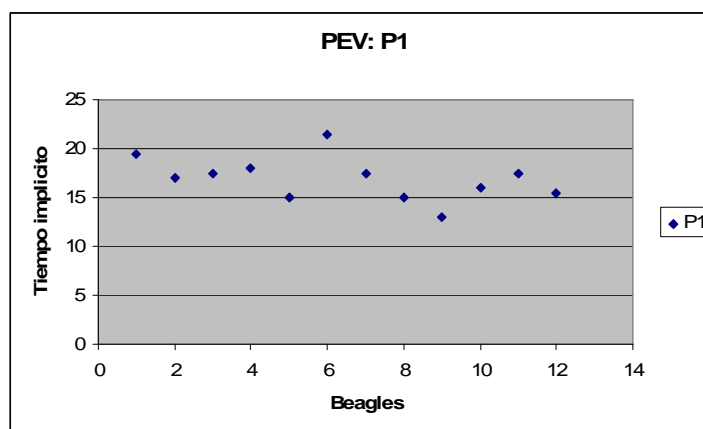
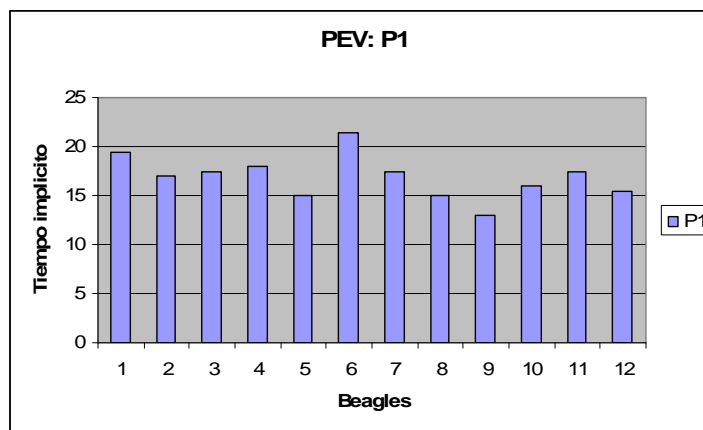
Canal	N1 (ms)	P2 (ms)	N1/P2	30Hz/Amplitud
2	5	25	12.4μV	5.23μV

5.2.4. ANÁLISIS ESTADÍSTICO DE LOS DATOS OBTENIDOS EN EL ESTUDIO DE LOS POTENCIALES EVOCADOS VISUALES (PEV)

Para realizar el estudio de estadística descriptiva de los datos registrados hemos empleado el programa informático de estadística SPSS (Windows Release 12 Standard Version®; USA), junto con Microsoft Office Excel 2003® para obtener la representación gráfica de los mismos.

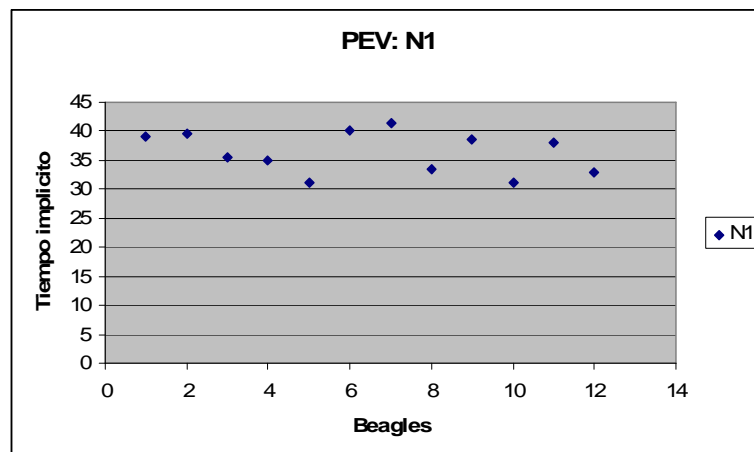
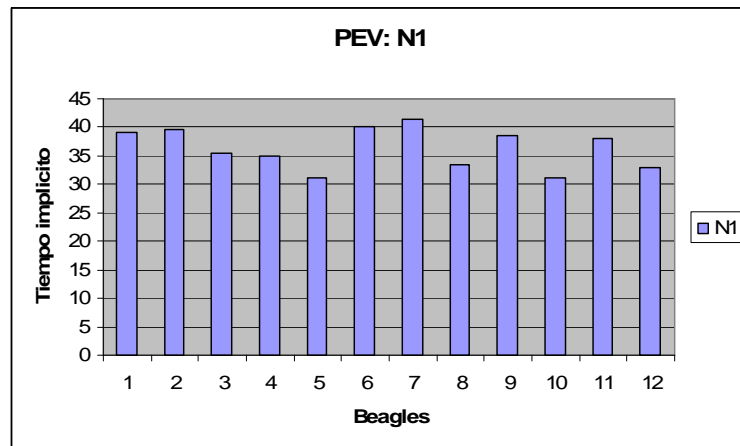
A continuación, se representan los histogramas de barras y los gráficos de dispersión correspondientes para los tiempos implícitos (ms) de cada pico y las amplitudes (μV) de cada onda de los 12 perros beagles estudiados. De este modo podemos comparar la posible variabilidad de los datos, así como la proporción de individuos con valores similares.

-Histogramas y gráficos de dispersión de tiempos implícitos de P1, N1, P2 y N2:

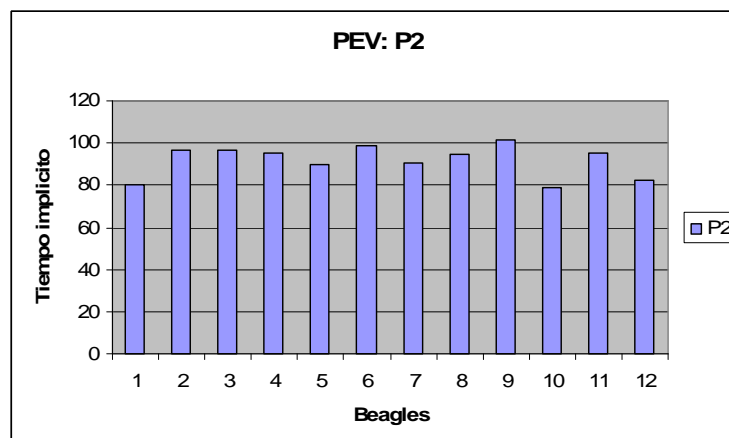


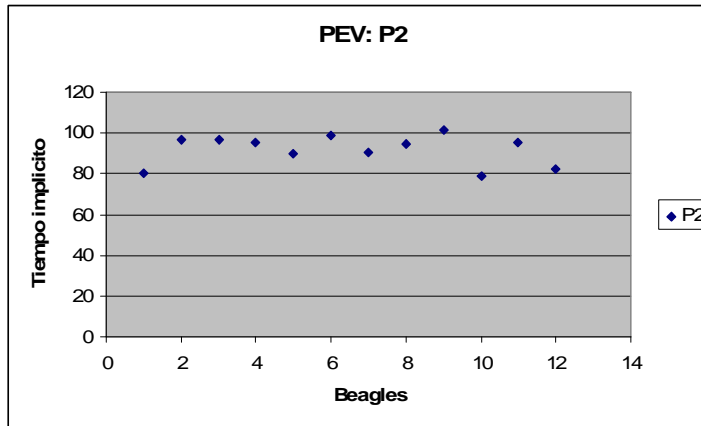
En el histograma de P1 se puede apreciar la similitud de los datos, desviándose los beagle n°6 y n°9.

En el gráfico de dispersión se aprecia como la mayoría de individuos (10/12) están dentro del rango de **15-20 ms**, por lo que podríamos establecerlo como rango normal de **tiempo implícito para el pico P1**.

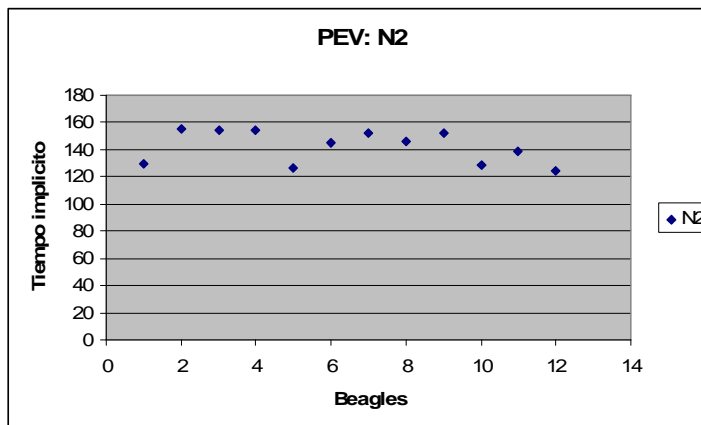
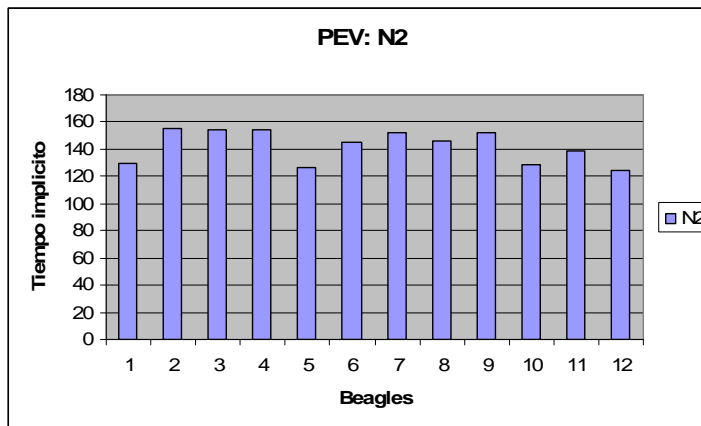


En ambos gráficos representativos del **tiempo implícito de N1** apenas existe variabilidad considerando como normal el rango de valores situados entre **30-40 ms**.



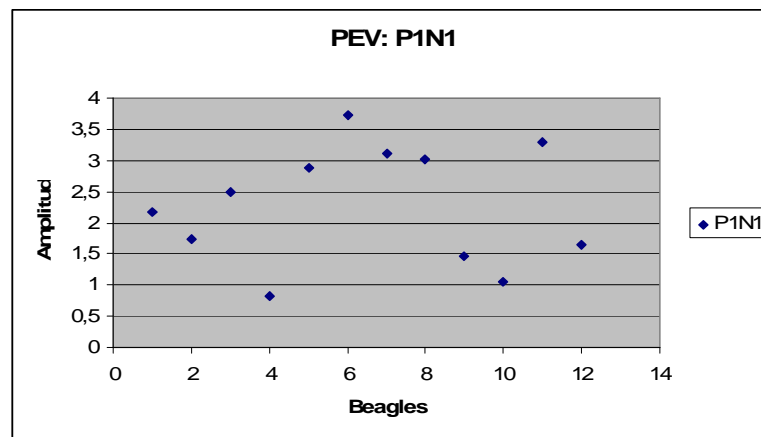
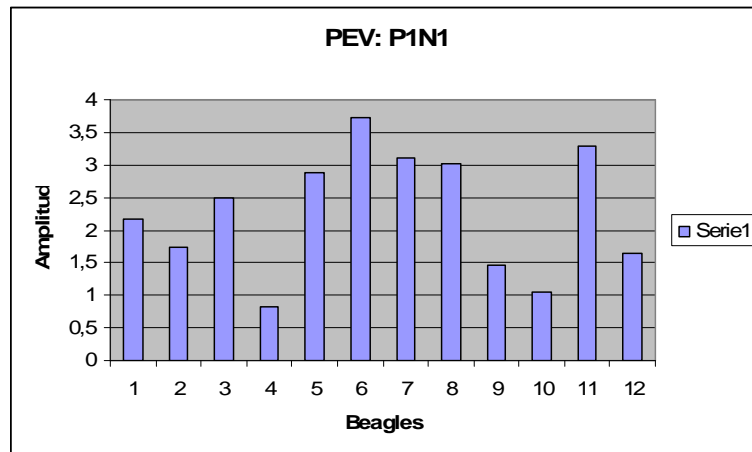


El pico **P2** presenta los valores más homogéneos, situándose el rango de valores normales entre **90-100 ms**.

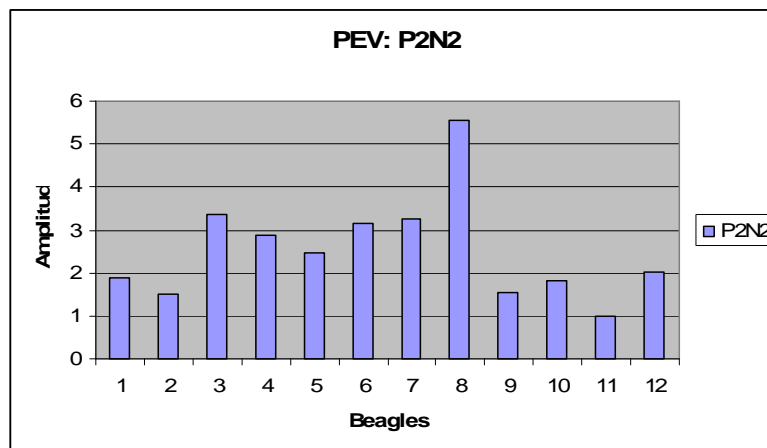


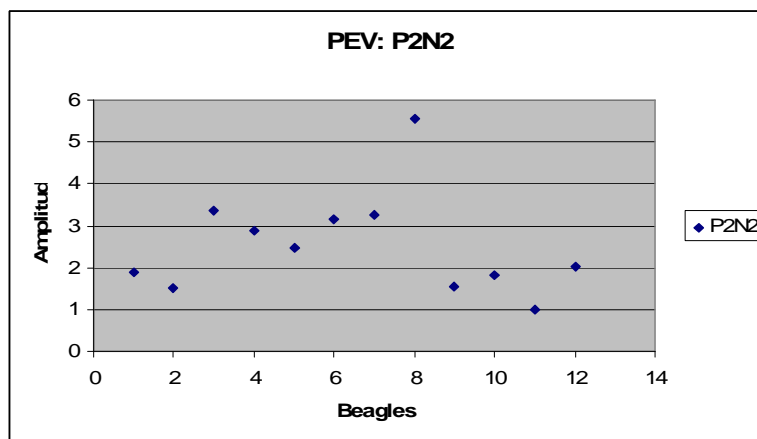
Para finalizar, podemos observar cómo el pico **N2** presenta la mayoría de valores (8/12) comprendidos entre **140-150 ms**, por lo que lo podríamos considerar como rango normal.

-Histogramas y gráficos de dispersión de las amplitudes P1N1 y P2N2:



En el análisis estadístico de las amplitudes podemos observar mayor variabilidad de datos en comparación con los tiempos implícitos. En el caso de **P1N1** casi la mitad (5/12) de registros se sitúan entre **2,5 y 3,5 μV** , mientras que el resto presenta valores más dispares.





Sin embargo, en la amplitud de **P2N2** los datos no son tan dispares, situándose la gran mayoría (8/12) de resultados en un rango de **2-3,5 μV**. En este estudio se desvía sustancialmente el beagle n°8.

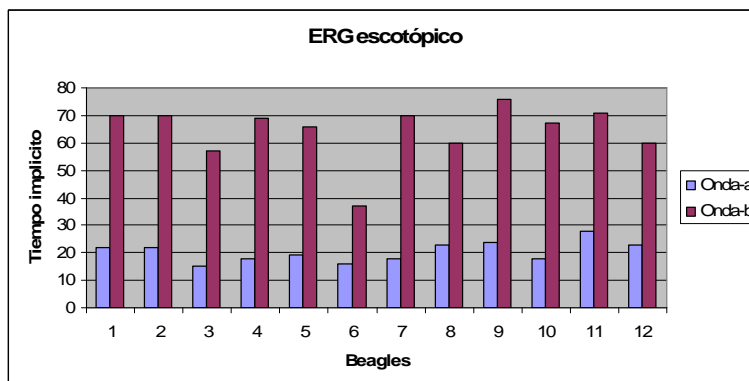
5.2.5. ANÁLISIS ESTADÍSTICO DE LOS DATOS OBTENIDOS EN EL ESTUDIO DE ELECTRORETINOGRAFÍA (ERG)

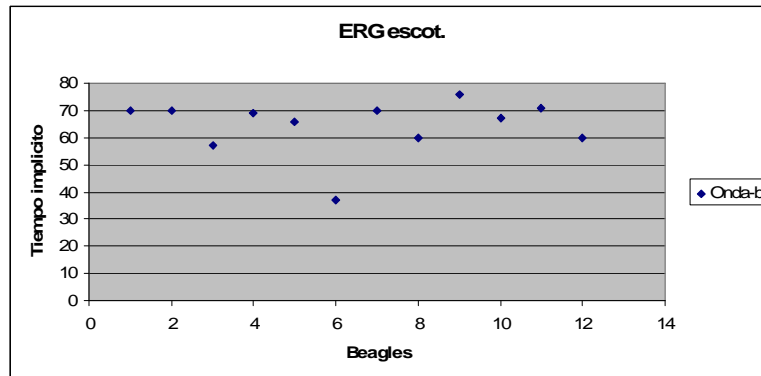
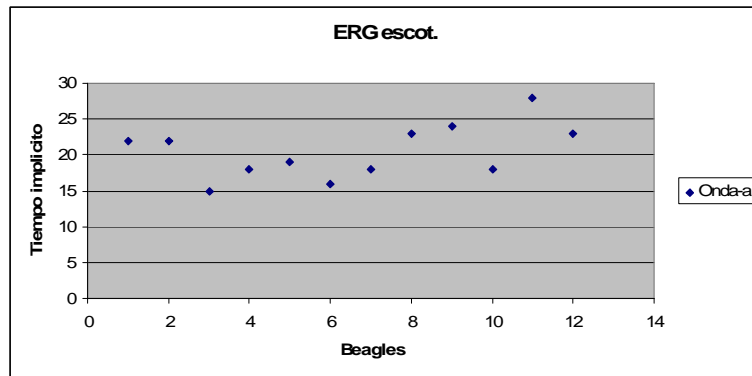
El estudio estadístico del ERG se realizó con los mismos programas informáticos utilizados en los PEV.

A continuación, se representan los histogramas de barras y los gráficos de dispersión correspondientes para los tiempos implícitos (ms) de cada onda y las amplitudes (μV) de cada onda de los 12 perros beagles estudiados. De este modo podemos comparar la posible variabilidad de los datos, así como la proporción de individuos con valores similares.

ERG ESCOTÓPICO

-Histogramas y gráficos de dispersión de tiempos implícitos de la onda-a y onda-b:

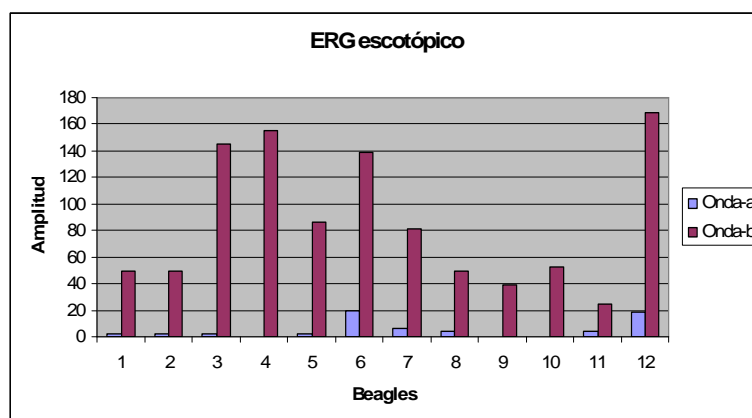


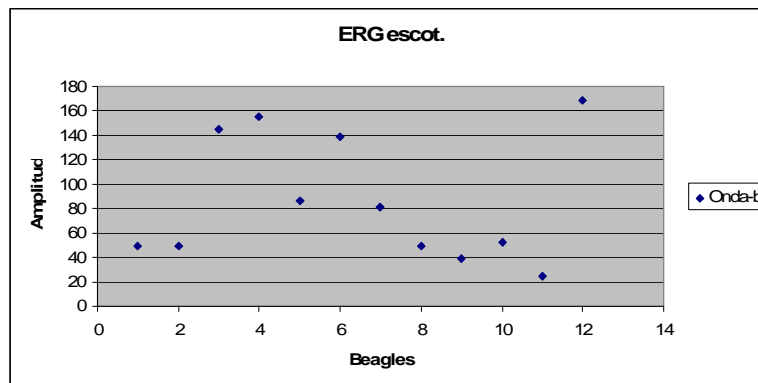
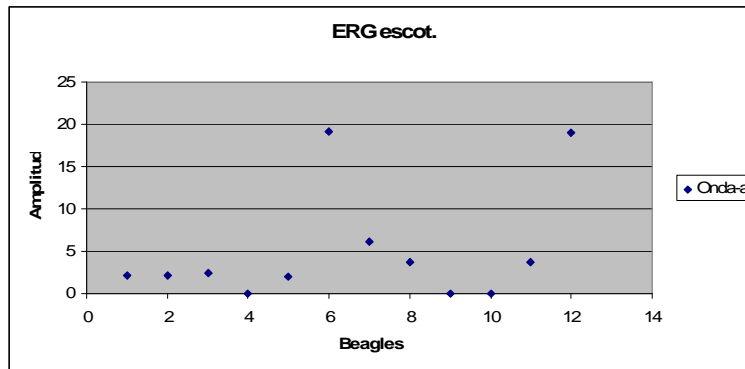


En el histograma de los tiempos implícitos del ERG escotópico se puede observar mayor homogeneidad de datos de la onda-a respecto a la onda-b.

En el diagrama de dispersión de la **onda-a**, la mayoría (10/12) de registros están comprendidos entre **15-22 ms**, mientras que en el diagrama de la **onda-b** los datos se sitúan en un rango de **60-70 ms**.

-Histogramas y gráficos de dispersión de amplitudes de la onda-a y onda-b:

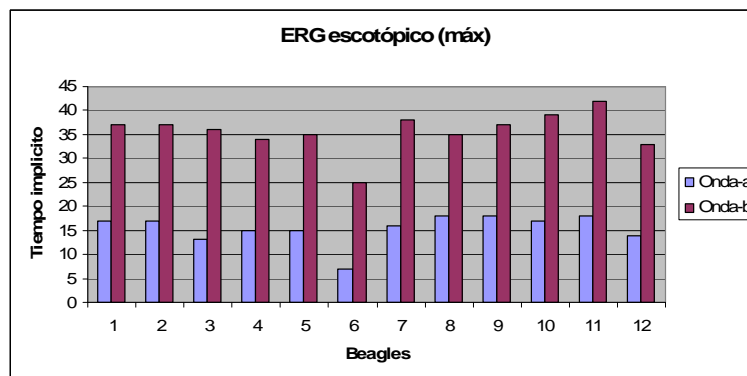


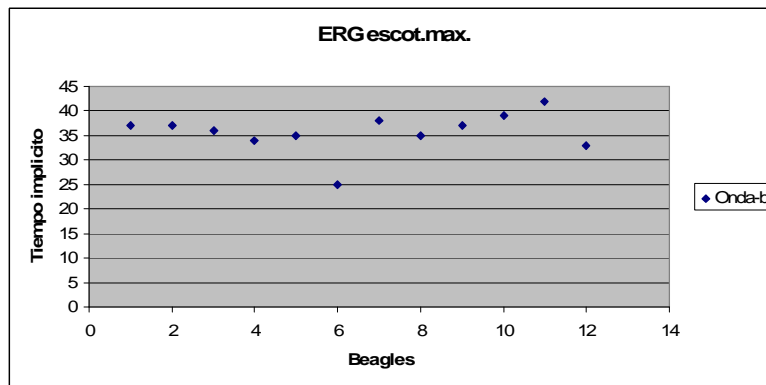
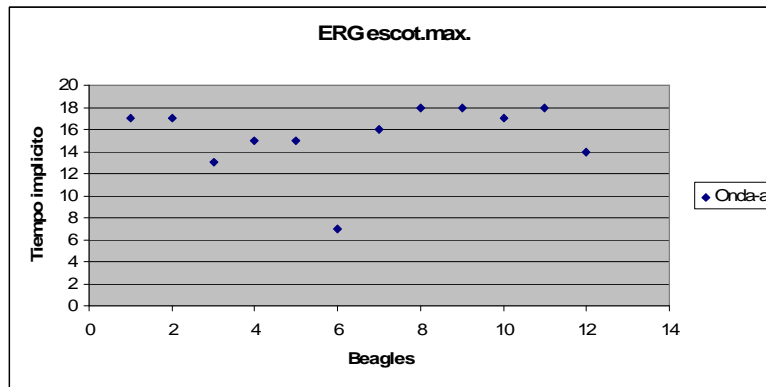


En el ERG existe mayor variabilidad en los datos de las amplitudes que en los tiempos implícitos, la onda-a presenta mayor homogeneidad. La dispersión de los datos de amplitud de la **onda-a** muestra un rango mayoritario (9/12) entre **2-4 μV** , mientras que la dispersión de la **onda-b** sitúa la mayoría (5/12) de registros en torno a **40-60 μV** .

ERG ESCOTÓPICO (RESPUESTA MÁXIMA)

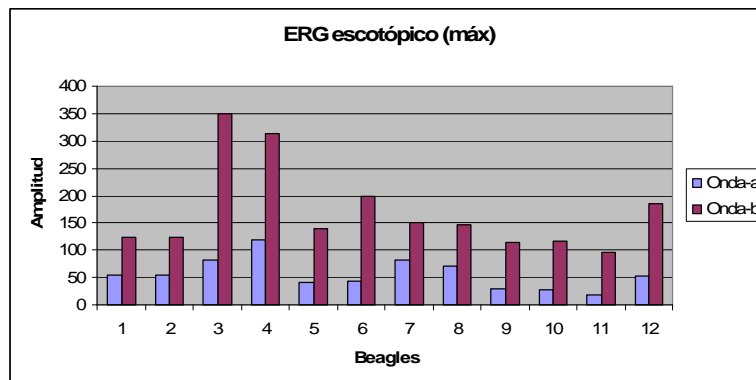
-Histogramas y gráficos de dispersión de tiempos implícitos de la onda-a y onda-b:

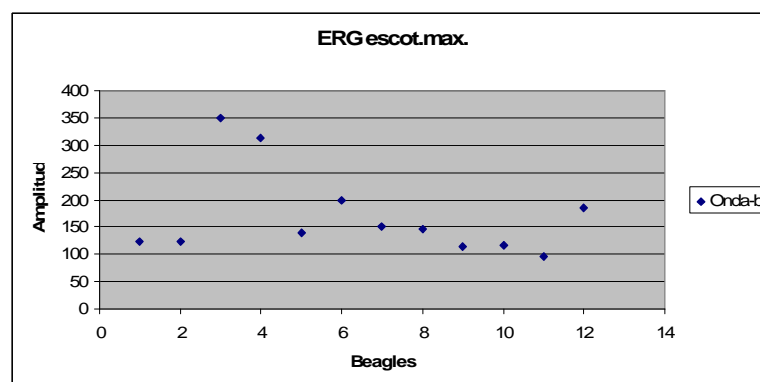
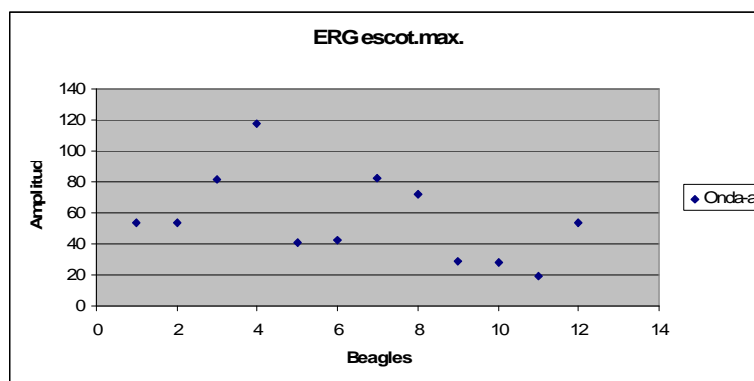




El análisis de los datos de la respuesta máxima escotópica desvela tiempos implícitos más cortos, en comparación con la respuesta escotópica simple. Esto se debe a la utilización de un flash de mayor luminosidad que produce respuestas más rápidas. De igual modo, se observa mayor homogeneidad en estos registros. La mayoría (10/12) de tiempos implícitos de la **onda-a** se sitúan entre los **14-18 ms**, mientras que los (9/12) de la **onda-b** están comprendidos entre **35-40 ms**.

-Histogramas y gráficos de dispersión de amplitudes de la onda-a y onda-b:

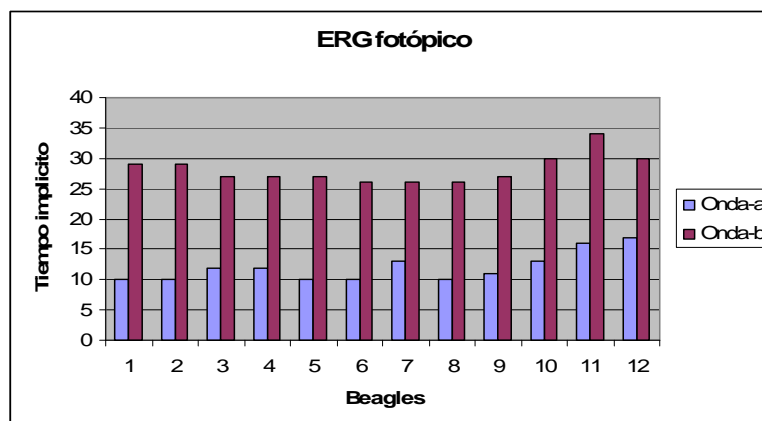


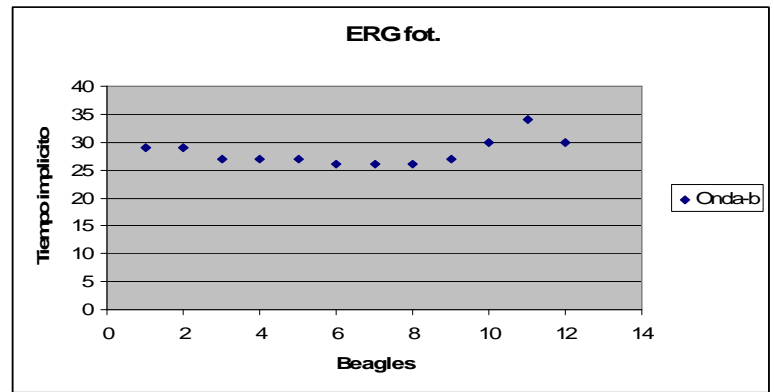
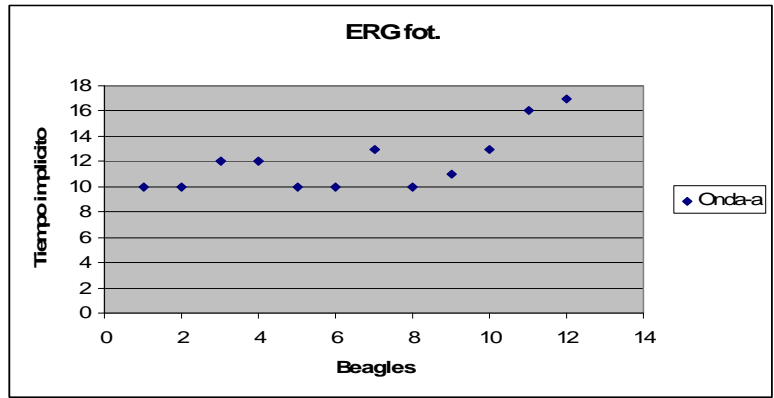


Al igual que en el resto de histogramas de amplitudes, aquí también podemos observar la heterogeneidad de datos, pero en este caso es la onda-b la que presenta mayor homogeneidad al estudiar sus dispersiones. La mayoría (8/12) de registros de amplitud para la **onda-b** están comprendidos entre **100-150 μ V**, mientras que para la **onda-a** (7/12) se sitúan entre **20-60 μ V**.

ERG FOTÓPICO

-Histogramas y gráficos de dispersión de tiempos implícitos de la onda-a y onda-b:

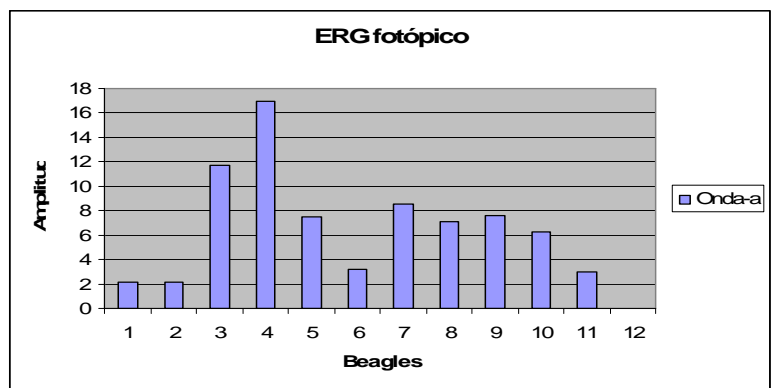


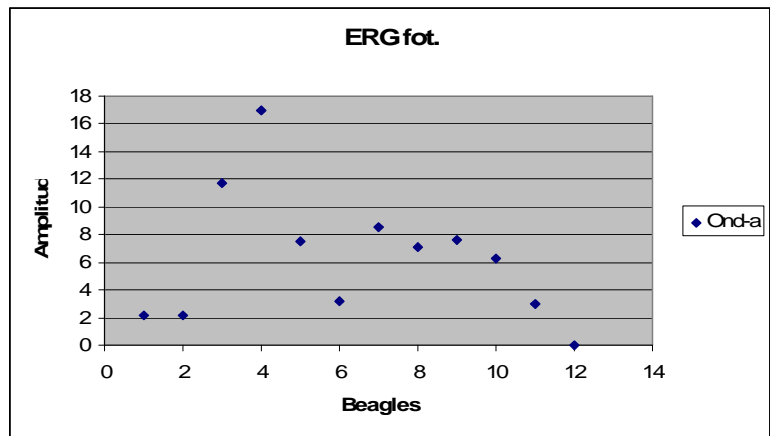


En el análisis estadístico de los tiempos implícitos del ERG fotópico se aprecia una gran homogeneidad de datos, posiblemente debido a la mayor homogeneidad de intensidad luminosa durante la fase de estimulación.

Los registros mayoritarios (10/12) para la **onda-a** se sitúan entre **10-13 ms**, mientras que para la **onda-b** se localizan (11/12) entre **25-30 ms**.

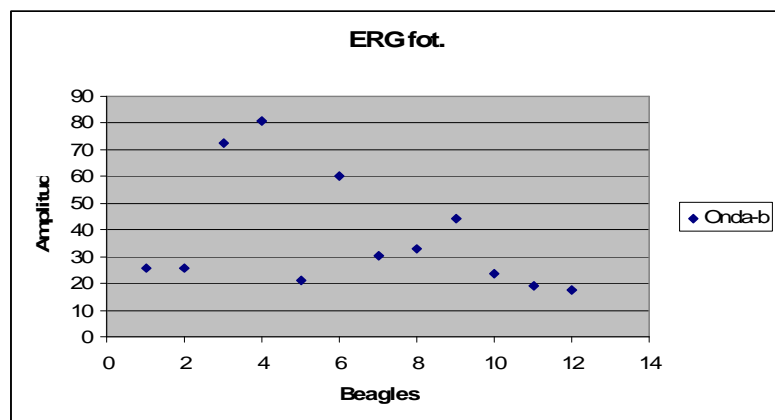
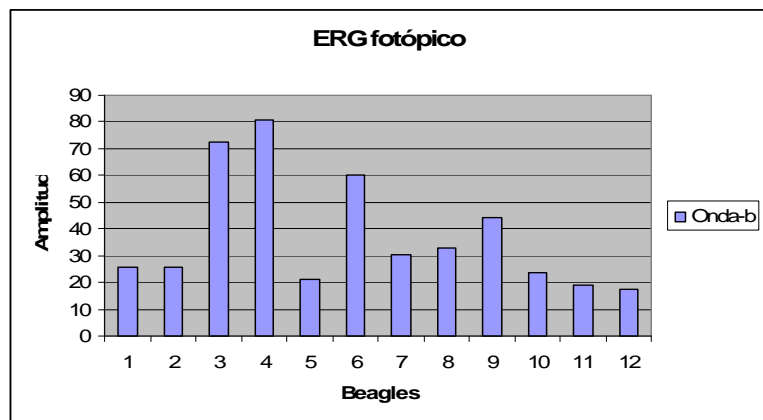
-Histogramas y gráficos de dispersión de amplitudes de la onda-a y onda-b:





En el ERG fotópico las amplitudes también son dispares entre distintos individuos, aunque no intraindividualmente.

Las amplitudes de la **onda-a** suelen (5/12) situarse entre **6-8 μ V**. Y los registros que más se desvían de lo normal son los beagles nº3 y 4.

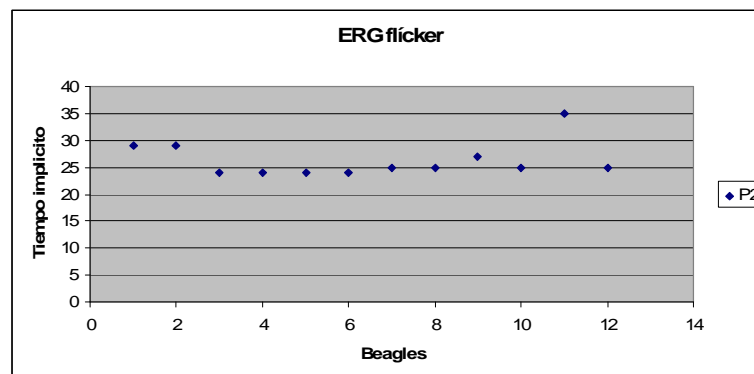
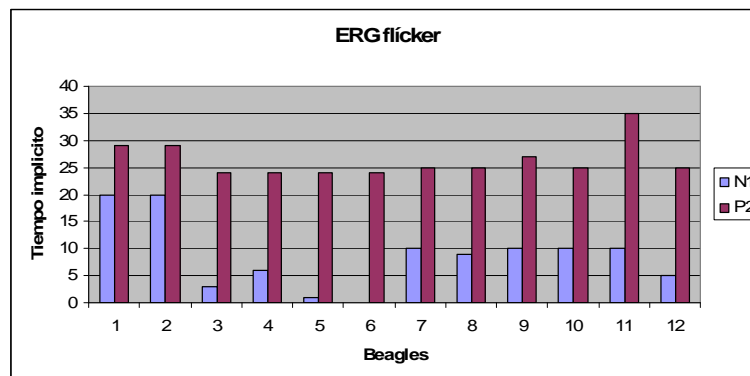


Las amplitudes de la **onda-b** presentan mayor similitud que la anterior, situándose su mayoría (8/12) en torno a **19-31 μV** . En este caso son los beagles n°3, 4 y 6 los que desvían sus datos de lo normal.

También se puede apreciar cómo la amplitud de la onda-b es mucho mayor que la de la onda-a, posiblemente debido a la suma de las respuestas celulares. Teniendo en cuenta que a nivel de las células bipolares existe mayor cantidad celular, la onda-b generada por ellas será de mayor amplitud.

ERG FLÍCKER

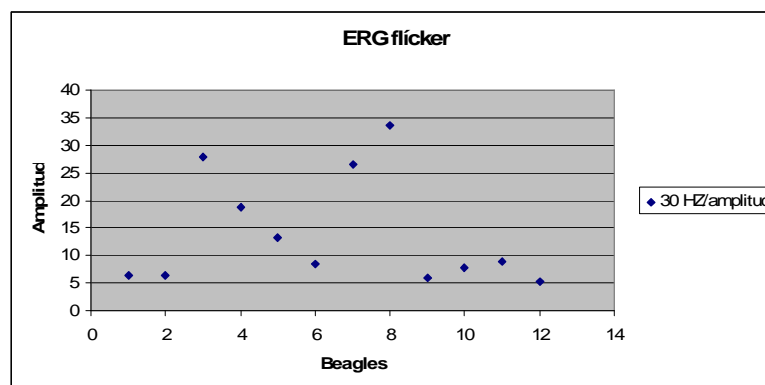
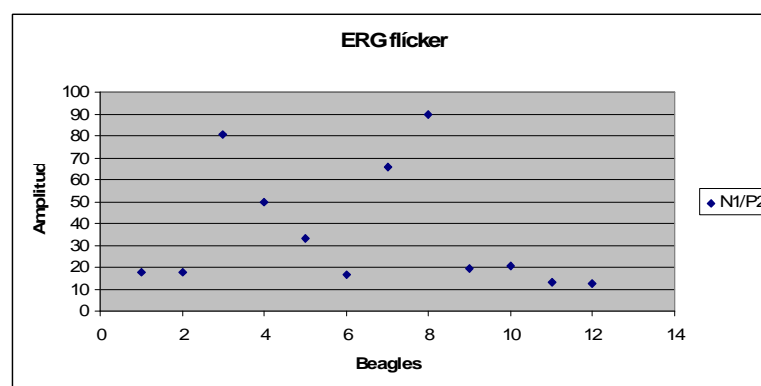
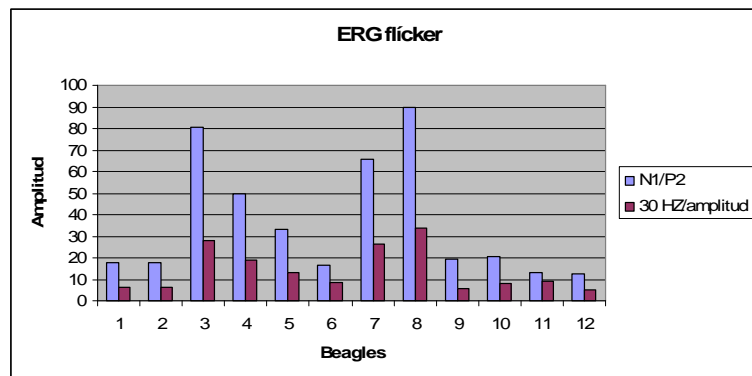
-Histogramas y gráficos de dispersión de tiempos implícitos del pico N1 y P2:



Al analizar los datos estadísticos del ERG flícker podemos apreciar la mayor homogeneidad de los tiempos implícitos del pico **P2**, que es el que nos interesa estudiar para definir la funcionalidad de los conos. Estos (11/12) se sitúan en torno a **25-30 ms**, desviándose significativamente el beagle n°11.

Los tiempos implícitos de **N1** sufren mayor disparidad, estando (5/12) comprendidos en torno a **10 ms**.

-Histogramas y gráficos de dispersión de amplitudes de N1/P2 y 30Hz/amplitud:



El estudio de las amplitudes del ERG flícker también muestra disparidad. La mayoría (7/12) de datos de **N1/P2** están comprendidos entre **10-20 μV** , mientras que los de **30Hz/amplitud** se sitúan (7/12) en un rango de **5-10 μV** .

En este estudio, los beagles que se han desviado de la media han sido los nº3, 7 y 8.

A la hora de interpretar correctamente un estudio de ERG, al igual que en los PEV, es necesario basarse en los tiempos implícitos y en la constancia de las

amplitudes para registros de un mismo individuo. La interpretación de las amplitudes siempre debe ser cuidadosa y en relación con el resto de estudios oftalmológicos, así como con la sintomatología clínica presentada.

5.3. FACTORES INFLUYENTES EN LA OBTENCIÓN DE LOS RESULTADOS.

Durante el proceso de realización de nuestra investigación detectamos una serie de factores que influyeron a la hora de obtener el ERG y los PEV. Así, por ejemplo, observamos la influencia del **tiempo de adaptación a la oscuridad**, pues conforme prolongábamos este tiempo mejores resultados obteníamos, mientras que si este tiempo era muy corto (ej: 10min) las respuestas registradas eran muy débiles.

La completa **midriasis** ocular también fue necesaria, obteniendo nulos o pobres registros si la pupila no estaba bien dilatada.

El grado de **anestesia** influyó sustancialmente, pues en animales con un plano anestésico muy superficial que presentaban reflejos palpebrales o contracciones musculares se observaron artefactos en la señal de registro. Esto sucedió por un incorrecto ajuste de los electrodos corneales causado por el parpadeo, así como por movimiento del resto de electrodos cutáneos derivado de los espasmos musculares. En contraposición, un plano anestésico demasiado profundo producía una excesiva depresión del sistema nervioso central y por tanto los registros obtenidos estaban más disminuidos de lo habitual.

La completa **depilación cutánea** de las zonas de colocación de los electrodos fue necesaria ya que comprobamos que la presencia de pelos dificultaba la obtención de una impedancia válida para el registro. De igual modo, el **emplazamiento de los electrodos** en el lugar exacto fue decisivo para trabajar con impedancias entre 5-7 k Ω , que son las necesarias para registrar el ERG y los PEV. En el estudio de los PEV se comprobó que la colocación del electrodo de registro (+) en la línea media del hueso occipital proporcionaba registros de mayor intensidad. Posiblemente este hecho se debe a que en esa zona del córtex visual existe la mayor proporción de proyecciones retinianas.

La **distancia entre ojo-miniganzfeld** también influyó en el registro, pues distancias mayores de 10cm no permitían estimular correctamente el ojo.

Durante la estimulación luminosa monocular, fue esencial **tapar el ojo contralateral** para aislar la respuesta de cada ojo. Se comprobó un aumento de los registros si el ojo contralateral al estimulado no estaba correctamente tapado.

De igual modo, si el ojo que no queríamos estimular recibía luminosidad accidentalmente, cuando llegaba la hora de estimularlo producía registros muy disminuidos. Esto se debía a la excesiva estimulación y saturación de los bastones (falta tiempo para la regeneración del pigmento visual) y a la falta de adaptación a la oscuridad previamente a la estimulación.

En último lugar, a la hora de calibrar el sistema, el ajuste del **sistema de filtrado** (paso de banda) entre 1-100 Hz, en el estudio de los PEV, permitió discriminar el ruido de fondo obteniendo las señales sin ningún tipo de artefacto.

CAPÍTULO 6. DISCUSIÓN

6.1. ADECUACIÓN DEL PROTOCOLO CLÍNICO DE ELECTRODIAGNÓSTICO OFTALMOLÓGICO DISEÑADO

En este estudio hemos incluido dos pruebas de electrodiagnóstico oftalmológico (PEV y ERG) porque consideramos que son necesarias y complementarias para estudiar la funcionalidad de las vías visuales. De este modo, con el ERG estudiaríamos la funcionalidad de los diferentes tipos celulares de la retina, y con los PEV analizaríamos las vías visuales propiamente dichas, desde las células ganglionares de la retina hasta el córtex visual.

Estas técnicas diagnósticas presentan una serie de ventajas: la objetividad que ofrecen sus resultados, son procedimientos no invasivos, de corta duración, asequibles para el propietario y ofrecen mucha información de calidad a cerca de la funcionalidad global de la vía visual del paciente.

Además, consideramos necesario realizar estas pruebas diagnósticas previamente a la cirugía de cataratas. Habitualmente, suele realizarse únicamente el ERG con anterioridad a este tipo de intervenciones, pero creemos muy útil complementar este estudio con los PEV para descartar posibles lesiones subyacentes en la vía retino-cortical. De esta manera incrementaríamos las probabilidades de éxito de esta cirugía.

En nuestro estudio hemos seleccionado la **técnica de Flash-PEV y Flash-ERG** por ser la única opción viable de obtener resultados satisfactorios cuando los pacientes son animales. Otras técnicas, como los patrones de estimulación (Pattern-PEV y Pattern-ERG) ofrecen mucha información a cerca de la funcionalidad de las células ganglionares, pero necesitan la colaboración absoluta del paciente.

Diversos estudios^{40,109,124,125,129} consideran necesario que cada laboratorio oftalmológico diseñe su propio protocolo clínico ajustado a las características de su equipo de diagnóstico y a sus pacientes. Del mismo modo, creemos fundamental elaborar un estándar con los valores normales de PEV y ERG para los pacientes que frecuentan. Este hecho se debe a la gran dificultad que entraña calibrar los equipos de diagnóstico, así como el ajuste preciso que requieren para obtener registros válidos e interpretables. Además, son múltiples los factores que pueden influir en los registros y por ello cada protocolo debería presentar ciertas alternativas por si aconteciera algún incidente.

A continuación se muestra la discusión de la presente investigación, donde analizaremos punto por punto el tipo de técnica utilizada, la composición del equipo de electrodiagnóstico, los diferentes pasos del protocolo clínico de obtención de los PEV y el ERG, así como los resultados obtenidos.

Elección de los pacientes:

En este estudio hemos elegido beagles adultos porque diversos estudios han demostrado la influencia de la **edad** en los registros. Así, Qiu H.¹⁴⁷ observó prolongaciones de las latencias de la onda-a del ERG y la ISCEV^{75,130} señaló la influencia de la edad en los tiempos implícitos, amplitudes y morfología de las ondas de ambas pruebas diagnósticas. Strain G.M.¹⁸⁸ demostró que los tiempos implícitos de los PEV en perros no son maduros hasta los 100 días de vida. Este hecho es variable entre especies distintas debido a que necesitan diferente tiempo de desarrollo del sistema visual^{121,160,191}, así en ratas¹⁶¹ y conejos⁷⁰ el primer PEV no aparece hasta el 7°-10° día de nacimiento. Takenchi T.¹⁹¹ comprobó en terneros un aumento de las amplitudes de los PEV conforme aumentaba el desarrollo cortical, mientras que Montes J.¹¹⁷ realizó estudios pediátricos que demostraban aumento de los tiempos implícitos (sobre todo P2) debido a la pobre mielinización y a las escasas conexiones sinápticas del SNC inmaduro de los neonatos.

Todos estos trabajos demuestran que la maduración de los PEV responde paralelamente al desarrollo del córtex visual, pues con la madurez del cachorro aumentan las amplitudes y disminuyen los tiempos implícitos, es decir, las señales evocadas son de mayor intensidad y más precoces.

De modo contrario, Delgado ZR.³⁴ observó disminución de los tiempos implícitos y aumento de las amplitudes de los PEV en personas seniles, debido posiblemente a cambios electrofisiológicos en la corteza cerebral. Por el contrario, en medicina veterinaria, Kimotsuki et al.⁸¹ estudió también la influencia de la edad sobre los PEV en el perro, donde obtuvo una prolongación de los tiempos implícitos de P2, N2 y P3 en animales de avanzada edad, al igual que evidenció correlación entre la edad y las amplitudes de P2-N2 y N2-P3.

Con toda esta información, pensamos que la variabilidad de los registros electrofisiológicos respecto a la edad podría suponer una nueva línea de estudio en oftalmología veterinaria.

Preparación del paciente:

Durante la preparación del paciente, previamente al test de PEVs y ERG escotópico consideramos muy importante el tiempo de **adaptación a la oscuridad**, mientras que en el ERG fotópico habría que tener en consideración el tiempo de **adaptación a la luz** ambiente.

La retina del perro se caracteriza por su gran contenido en bastones⁴⁰ (250.000/mm²)⁹¹ repartidos en toda su extensión, en comparación con la cantidad de conos que posee (5%)²⁹ (26.000/mm² en área centralis y 4000/mm²

en la periferia)⁹¹. Este hecho es fundamental, ya que los PEVs registran mayoritariamente los cambios de contraste que se producen en la retina debido a esta abundancia de bastones, y por tanto, a su mayor representación a nivel cortical. Esta es la razón por la que realizamos el **registro de los PEVs en ambiente escotópico**. De modo contrario, en el hombre sí hay una mayor influencia de los conos debido a la exclusividad de éstos en la fovea y su mayor representación en el área 17 de Brodmann del córtex visual.

En nuestro protocolo sometimos al animal a una **adaptación a la oscuridad durante 20 minutos para realizar los PEV y el ERG escotópico**, pues de este modo coincidimos con varios autores^{129,130,144} en que es un paso fundamental para que los bastones se preparen para recibir el estímulo luminoso y discriminen los contrastes de un modo eficaz. En las pruebas preliminares pudimos comprobar el efecto del tiempo de adaptación a la oscuridad sobre los PEV, donde observamos que a mayor tiempo previo de oscuridad se registraban mayores amplitudes y tiempos implícitos más cortos. Mientras que el ERG manifestaba un aumento de la onda-a.

Según una publicación de Webvision⁸⁰, a partir de los 5-10min de oscuridad es cuando los bastones comienzan a sensibilizarse a la baja luminosidad del ambiente, y Lazard P.⁹¹ afirma que la adaptación completa se produciría a las 2h de exposición a la oscuridad. Además, este tiempo de adaptación de los bastones coincide con la duración de la regeneración de su fotopigmento, la rodopsina¹⁶³.

Coincidiendo con nuestras pruebas, Hyung-Ah Yu et al.⁷² comprobó que tras el tiempo de adaptación (10 min) no se producían variaciones de las amplitudes y que los tiempos implícitos de la onda-a no se veían afectados por el tiempo de adaptación a la oscuridad. Sin embargo, tras 20min de adaptación sí comprobó un incremento significativo del tiempo implícito y la amplitud de la onda-b. Esto sugirió que era necesario un tiempo mínimo de adaptación de 20min para que la transmisión de la respuesta de las células de Müller y bipolares fuera de gran intensidad. Por tanto, una onda-b de gran amplitud sugeriría la estimulación de gran cantidad de bastones.

La duración de la prueba limita no obstante dicho tiempo, puesto que si quisiéramos realizar una adaptación completa de los bastones necesitaríamos emplear un protocolo anestésico de larga duración con los inconvenientes que ello conlleva. Por este motivo unos investigadores realizan exposiciones a la oscuridad de 1h^{81,82,172}, otros de 30min¹⁰⁷, de 15min^{73,158}, 5min⁵⁸ e incluso algunos¹⁸⁹ no realizan adaptación previa y realizan el test directamente en ambiente escotópico.

De igual modo, para el ERG escotópico adaptamos el ojo a la oscuridad durante más de 20min coincidiendo con la mayoría de publicaciones^{72,109,124-126,144,167}, ya que es fundamental para sensibilizar los bastones de la retina. Mientras que, al igual que ciertos estudios^{109,125,126,167}, **el ERG fotópico y el flícker requirió tan sólo 10 minutos de adaptación a la luz** para obtener una respuesta satisfactoria, ya que los conos regeneran su fotopigmento y recuperan su funcionalidad con mayor rapidez.

Respecto al uso de **midriáticos** hay gran controversia. Algunas publicaciones¹⁶³ sugieren la periferia de la retina como zona a estimular para la obtención de los PEV por su alta especificidad en la detección de los cambios de luminancia ambiental debido a la abundancia de bastones, por lo que según esta teoría sería necesaria la utilización de midriáticos. Sin embargo un estudio¹³⁵ en medicina humana sugiere la mayor participación de los conos en el registro de los PEV, por lo que Sims et al.¹⁸⁰ plantea que el área centralis de la retina del perro (rica en conos) sea la zona clave a estimular. Este razonamiento se basa en que las fibras que parten de la retina central son las que se proyectan sobre el área 17 de Brodman (V1), zona cortical con gran magnificación del área centralis de la retina debido a la estructura retinotópica del córtex visual primario. Nosotros pensamos que no es correcto extrapolar los conocimientos a cerca de la retina humana a la del perro, pues éste presenta tan sólo un 5%²⁹ de conos en su retina. Esto nos hace pensar en una mayor contribución de los bastones en la estructura del córtex visual, por lo que sería necesario dilatar la pupila para estimular la periferia retiniana (rica en bastones) y abarcar una mayor área de estimulación. De esta manera, la periferia supondría una zona más extensa de captación de fotones¹⁶³.

Además, Sims et al.¹¹⁸ emplea midriáticos en sus estudios, para evitar el movimiento pupilar indeseado a la hora de estimular el ojo, puesto que los flashes producirían miosis y, por tanto, reducirían la entrada de fotones.

En nuestro estudio, hemos detectado tiempos implícitos más cortos y mayores amplitudes de las ondas al utilizar midriáticos, debido posiblemente a la estimulación de una mayor área de la retina y por tanto obteniendo una mayor respuesta sumativa de todas las zonas retinianas.

Respecto al uso de midriáticos para realizar el ERG, estamos de acuerdo con muchos investigadores^{51,72,109,124-126,142,167} en que es fundamental, pues si no dilatamos totalmente las pupilas no podemos estimular los bastones de la periferia de la retina y por tanto las amplitudes de las ondas del ERG escotópico y respuesta máxima estarían disminuidas de tamaño. Así falsearíamos el estudio de funcionalidad de la retina, puesto que no registraríamos las respuestas de un número de bastones que son potencialmente funcionales.

Al igual que nosotros, la mayoría de investigadores^{73,74,91,96,110,190} en medicina veterinaria utilizan colirios de tropicamida 1% como midriáticos para obtener los PEV y el ERG en la especie canina^{40,72,88,97,124-126,144,167}, a excepción de Strain et al.^{186,188,189} e Imai et al.⁷³ que no realizan midriasis. En medicina humana¹⁴², la ISCEV^{109,129,130} recomienda el empleo de midriáticos para registrar el ERG y el Flash-PEV, pero contraindica el uso de cualquier miótico o midriático para realizar los PEV con patrón.

Otra fase de gran importancia en la preparación del paciente es la **anestesia** del animal. Nosotros y la mayoría de investigadores la utilizamos por la falta de colaboración del paciente durante las pruebas PEV^{81,82,107,172,180,198} y ERG^{40,88,97,125,126,144,167,180,205}. De este modo evitamos que el animal se mueva y consecuentemente desplace los electrodos, que produzca interferencias o artefactos derivados de la actividad eléctrica generada por las contracciones musculares (registrable mediante electromiografía), el parpadeo o movimientos oculares, y que dificulte la estimulación ocular por los movimientos cefálicos. Además, conseguimos un buen estado de relajación del animal disminuyendo el estrés causado por la preparación del paciente y por la molestia de los flashes luminosos generados durante la fase de estimulación.

Sin embargo, Strain et al.^{186,188,189} (PEV y ERG), Hyung-Ah Yu et al.⁷² (ERG) y Sato S. et al.¹⁷² (ERG y PEV) realizan sus investigaciones sin emplear agentes sedantes o anestésicos. Opinan que todas las drogas anestésicas influyen a nivel del Sistema Nervioso Central (SNC) deprimiendo la actividad cortical, y por tanto, modificando las respuestas electrofisiológicas (posiblemente por los cambios de temperatura corporal que producen los agentes anestésicos) e incrementando la latencia de las respuestas evocadas.

Es cierta la influencia de la anestesia sobre las respuestas electrofisiológicas, pero es necesaria su utilización en oftalmología veterinaria, sobre todo si queremos realizar los PEV y el ERG seguidamente, pues suponen un protocolo de larga duración. Es más, la cantidad de artefactos que se producirían durante el test no permitiría obtener registros coherentes apropiados para elaborar un estándar. Recomendamos la utilización de anestesia general para evitar dichas interferencias. Solamente en casos excepcionales, donde la vida del animal corra peligro por la utilización de anestesia profunda, se podría intentar realizar el test empleando un sedante.

En nuestro estudio hemos empleado un protocolo anestésico que combina sedación (medetomidina + butorfanol) y anestesia (ketamina), de manera que obtenemos un plano de inconsciencia adecuado durante 90 minutos, necesarios para realizar las dos pruebas. Decidimos no emplear anestesia inhalatoria, puesto que existen diversos estudios que demuestran el gran efecto depresivo que provocan sobre el SNC y en consecuencia sobre la morfología de la onda de los PEV. Así, Margalit et al.¹⁰⁷ estudió el efecto de dos protocolos anestésicos, uno

con halotano + fentanilo y el otro con propofol + fentanilo, y utilizando en ambos pancuronio para realizar parálisis muscular y evitar interferencias. Extrajo como conclusión que la gráfica representativa de los PEV variaba en el 100% de las pruebas con halotano y en el 52% de las pruebas con propofol, por lo que comprobó el mayor efecto depresivo sobre el SNC del agente inhalatorio en relación con el inyectable. De modo similar, Lin SL.^{88,97} demostró, en sus estudios de ERG, que agentes inyectables como la medetomidina y el Zoletil[®] (empleado por varios autores^{40,144}) no mostraban diferencias significativas en sus registros, mientras que el isofluorano disminuía las amplitudes de la onda-a y onda-b por su acción inhibitoria en SNC que bloquea la recepción de estímulos externos. Además, observó que la medetomidina y el isofluorano producían desplazamiento ventromedial del ojo. En nuestro protocolo hemos compensado este fenómeno utilizando ketamina, que devuelve al ojo su posición central.

Yanase J.²⁰⁵ también estudió el efecto del halotano sobre el ERG, donde observó que este anestésico retardaba la adaptación a la oscuridad de los bastones, reducía las amplitudes de la onda-b de las respuestas escotópicas, pero aumentaba las amplitudes de los potenciales oscilatorios (OPs) debido a la variación del flujo sanguíneo de la retina.

En nuestro trabajo de investigación hemos podido demostrar que la combinación de medetomidina (0.01mg/kg im) + butorfanol (0.3mg/kg im) + ketamina (2.5mg/kg iv) deprime en baja medida el SNC y permite obtener la gráfica tipo de los PEV y el ERG, y unos valores de tiempo implícito y amplitud coherentes. Además, la influencia sobre cada animal es prácticamente idéntica ya que los valores obtenidos a penas varían en un mismo animal y entre individuos diferentes, a pesar de que las dos medidas que se realizaron en cada ojo tuvieron lugar a tiempos diferentes desde el comienzo de la anestesia.

Acorde con nuestro protocolo, la mayor parte de autores utilizan agentes inyectables para anestesiarse a los pacientes caninos. Kimotsuki et al.^{81,82} (PEV) emplea una combinación de sulfato de atropina (0.05mg/kg sc) + xylacina (2-3mg/kg im) consiguiendo buenos resultados, Lin S.L.^{88,97} emplea diferentes dosis de medetomidina o de Zoletil[®] (al igual que Dos Santos C.⁴⁰ y Pontes A.¹⁴⁴) y Safatle AMV.¹⁶⁷ utiliza acepromacina + petidina + propofol. Sin embargo, respecto al propofol existe un trabajo de medicina humana⁶¹ que demuestra que la concentración empleada influye en gran medida en las amplitudes de las ondas de los PEVs registradas.

Por otro lado, en estudios con gatos, la utilización de anestésicos es todavía más dispar, desde la utilización de anestesia local y curarizantes¹⁴¹, de atropina (0.05mg/kg) + xylacina (2mg/kg) + pentobarbital sódico (10mg/kg)¹⁹⁸, hasta la ausencia de utilización de anestésicos⁷. Auli Ropo¹⁵⁸ sugirió que la anestesia local podía alterar la actividad eléctrica del nervio óptico y ésta fue una de las razones por las que nosotros desestimamos este tipo de anestésico. Aunque un

anestésico local evitase las interferencias por parpadeo y por movimiento ocular, existen multitud de artefactos producidos por movimientos musculares si el paciente no está anestesiado a nivel general.

Para **evitar el parpadeo y los movimientos oculares** algunos investigadores¹⁴⁴ emplean blefarostatos al igual que nosotros (útiles cuando empleamos anestesia general), pero otros estudios emplean métodos más agresivos como las suturas conjuntivales^{125,126}, bloqueantes musculares¹⁶⁷ o las inyecciones retrobulbares de NaCl¹²⁴ para centrar el ojo. Nosotros no utilizamos este último método tan agresivo, porque la posición del globo ocular en su órbita influye en la actividad del córtex visual primario (V1) alterando las amplitudes de los primeros picos que aparecen en los PEVs⁶.

El último factor que hemos tenido en cuenta, previamente a la colocación de los electrodos, ha sido el **rasurado cutáneo**, puesto que la densidad de folículos pilosos en el perro dificultaría la captación de las señales eléctricas por parte de los electrodos. Depilando y **limpiando la piel** para quitar la grasa cutánea permitimos una mejor fijación de los electrodos y disminuimos la zona de resistencia al paso de las señales eléctricas evocadas. Ciertos autores^{116,142} utilizan acetona como desengrasante, pero nosotros hemos limpiado la piel con alcohol, ya que también nos sirve de desinfectante y no es corrosivo para los electrodos que utilizamos.

Preparación del equipo de registro y amplificación:

En este proceso es muy importante la elección del tipo, número y posición de la unidad de registro, el electrodo. Así como del amplificador diferencial de las señales.

El **tipo de electrodo** empleado es variable según los diferentes estudios. En la mayoría de registros de ERG y PEV realizados en perros han usado electrodos en forma de agujas hipodérmicas^{30,40,58,72,81,82,86,124-126,142,186,188,189}. Incluso Margalit et al.¹⁰⁷ optó por implantar los electrodos intracranealmente (subdurales) con el objetivo de localizar las estructuras generadoras de los diferentes picos de la onda de los PEV y poder realizar un mapeo de los PEV sobre el córtex cerebral. Con este estudio comprobó la mayor sensibilidad de este tipo de electrodos, pero nosotros opinamos que es una técnica muy invasiva y muy poco útil en la clínica diaria. Aún así estamos de acuerdo en que podría ser un buen método para realizar registros de PEVs a lo largo del tiempo implantando los electrodos de un modo crónico. Acorde con esta teoría algunos investigadores fijan los electrodos al hueso craneano del perro¹⁷² o del gato⁷³, y otros los implantan supraduralmente en el córtex occipital del conejo¹¹⁸, en la duramadre del gato¹⁴¹ o epiduralmente en ratas⁵⁷.

Sin embargo, nosotros decidimos utilizar electrodos superficiales discoidales de oro, al igual que recomienda la ISCEV^{75,109,130,135} para medicina humana, por ser un procedimiento no invasivo. Con este tipo de electrodo la colocación de los mismos sobre la superficie cutánea del cráneo fue muy sencilla, rápida y eficaz, ya que permitió obtener buenos resultados.

Para registrar el ERG no suele haber controversia en la utilización de un electrodo corneal como electrodo activo (+). Simplemente difieren en su polaridad, pues pueden ser bipolares¹²⁴ (llevan el electrodo activo y el de referencia integrados en la misma lentilla) o con más frecuencia monopolares.

Al igual que la mayoría de investigadores^{40,86,125,126,144,159,167}, nosotros utilizamos electrodos corneales monopolares de lentilla (ERG-Jet[®]). Estos electrodos poseen un anillo de oro que actúa como una pupila artificial y afecta a la cantidad de luz que entra en el ojo⁸⁶. Además, este anillo está en contacto con un electrodo puntual que detecta las señales eléctricas presentes en la córnea que han sido evocadas por la retina¹⁴². La ISCEV¹⁰⁹ asegura que estas lentes producen mayores amplitudes de onda y registros más estables. Y Pérez-Salvador E.¹⁴² también los utiliza por las siguientes ventajas: se adaptan a casi todos los tamaños de ojos (12mm Ø, 7,9mm de curvatura), por su ligero peso (150mg) se adapta muy bien a la córnea permitiendo cierta movilidad sobre ella para producir un mejor transporte de oxígeno bajo la lente, es muy bien tolerado, es desechable, de un único uso, viene esterilizado con rayos gamma que previenen el contagio de enfermedades oculares infecciosas, y registra señales sin artefactos procedentes del ojo contralateral.

Respecto al **número de electrodos y su emplazamiento** en el registro de los PEVs, decidimos emplear 3. Un electrodo activo (+) que registrase los PEVs en la zona de mayor actividad de la corteza visual (línea media del hueso occipital, donde obteníamos impedancias adecuadas), un electrodo de referencia (-) suficientemente distante del activo para crear una diferencia de carga (en la zona frontal, entre ambos ojos) y un electrodo de tierra (G) situado entre ambos (zona del vértex craneal entre la línea que une ambas orejas).

Este número de electrodos fue suficiente para registrar los PEV, aunque para realizar un mapeo de los PEV sobre la superficie cerebral y así detectar la actividad eléctrica en cada punto sería necesario disponer de más electrodos y de un amplificador con más canales. Al igual que nosotros, Kimotsuki et al.^{81,82}, Uzuka et al.¹⁹⁸ y Strain et al.^{186,188,189} emplean 3 electrodos obteniendo excelentes resultados en pacientes caninos. La ISCEV¹³⁰ sugiere la utilización de 3 electrodos situados en la línea media craneal cuando se utiliza un amplificador de 1 canal, lo que permitiría el registro de señales prequiasmáticas. Sin embargo, considera necesario utilizar más electrodos activos, colocados en la línea media occipital y a ambos lados de ésta usando un amplificador de 3 canales, para registrar señales quiasmáticas y retroquiasmáticas. En las pruebas

preliminares de nuestro estudio para localizar las zonas de registro con mayor actividad eléctrica, pudimos observar que la línea media occipital ofrecía los registros más intensos y estables. Además, no disponíamos de un amplificador de 3 canales para poder estudiar las diferencias con nuestros registros. Estaríamos de acuerdo con la ISCEV en utilizar 3 canales de registro si realizásemos estimulación binocular, pues sería la única manera de diferenciar los registros de ambos ojos. Pero en nuestro estudio hemos estimulado individualmente cada ojo (tapando el contralateral), y hemos registrado las mayores amplitudes de onda en la línea media occipital, que nos haría pensar en una respuesta sumativa de las fibras que decusan en el quiasma y las que no lo hacen. Como el grado de decusación de las vías visuales al hemisferio visual contralateral es del 75% en el perro, podríamos obtener los registros más intensos colocando el electrodo (+) en la línea media occipital o a 1cm de ésta en el hemisferio contralateral al ojo estimulado.

La colocación de los electrodos superficiales para obtener los PEVs también es variable en las distintas publicaciones. La mayoría^{51,81,82,117,130,158,186,188,189}, al igual que nosotros, siguen el Sistema Internacional 10/20, consistente en colocar los electrodos a lo largo de la línea media antero-posterior de la superficie craneana. De este modo, el electrodo activo (Oz) toma posición en la corteza occipital que se corresponde con el área 17 de Brodman (V1) (lugar de mayor registro de actividad evocada por estimulación visual), el electrodo de referencia (Fpz) es colocado en la zona frontal^{81,82} posterior a los ojos evitando todo lo posible la interferencia del ERG o en el lóbulo de las orejas^{142,198}, y el electrodo de tierra (Cz) suele colocarse en el vértex entre ambas orejas^{81,82}, aunque puede situarse también en zona mastoidea, frontal¹⁴², nasal¹⁹⁸ o en lóbulos auriculares. Otros investigadores^{73,107,118,141,172,180} realizan modificaciones de este sistema, pues a su vez también utilizan mayor número de electrodos.

En los registros de ERG empleamos, como la mayoría de autores^{40,72,109,135,144,167}, 2 electrodos corneales activos (1 para cada ojo), sus 2 electrodos de referencia respectivos (en el canto lateral del ojo) y 1 electrodo de tierra (en el hueso occipital). Algunos investigadores realizan ciertas modificaciones como: colocar el electrodo de tierra en la zona frontal¹⁶⁷, en la oreja¹²⁴, vértex^{125,126} o interescapular; o localizar el electrodo de referencia en el lóbulo auricular^{125,126}. Respecto a la colocación del electrodo activo en la córnea no hay discrepancias, puesto que en la superficie cutánea registra amplitudes de onda de menor tamaño y mayor número de artefactos¹⁰⁹. Además, la córnea es una superficie de polaridad contraria a la retina y cercana a ella, siendo de este modo la zona indicada para registrar las señales generadas por la retina.

Un punto muy importante en la colocación del electrodo corneal fué la lubricación de la superficie corneal con una **solución iónica conductiva** de moderada viscosidad (similar a la solución de metilcelulosa al

0,5%)^{40,72,86,108,109,125,126,144,159,167}, ya que una viscosidad superior podría atenuar las amplitudes registradas^{108,109,167}. Pudimos observar cómo la presencia de burbujas entre la córnea y el electrodo generaba artefactos en el registro, así como la ausencia de gel lubricante producía excesiva movilidad del electrodo y lesiones corneales.

Así mismo, para la colocación de los electrodos de superficie discoidal también fue necesario, como aconseja la ISCEV¹⁰⁹ y otros autores¹¹⁶, emplear una **pasta conductora** que mantuviese inmóvil al electrodo y favoreciese la captación de las señales evocadas. En nuestro trabajo comprobamos que es necesaria la colocación de pasta en su justa medida, pues un exceso de la misma impedía un adecuado registro de las señales (por aumento de la resistencia al paso de las señales eléctricas) y un déficit provocaba movimiento de los electrodos.

El equipo de estimulación luminosa y el protocolo de estimulación:

Durante el test de Flash-PEV hicimos una **estimulación** de tipo monocular (tapando el ojo contralateral) coincidiendo con otros autores^{37,58,72,81,82,116,129,130,142,158,186,188,189} con la intención de buscar posibles asimetrías en los registros al testar ambos ojos por separado. De igual modo procedimos con el Flash-ERG^{109,125,159,180,186}. Por el contrario, otros apuestan por un tipo de estimulación binocular (ambos ojos simultáneamente) para obtener una imagen global de la funcionalidad de las vías visuales^{30,75,129,141,198} o de la retina^{40,109,142,144,167,186}, pero este método tiene muchas limitaciones a la hora de delimitar la zona afectada de la vía visual ya que representa la suma de todas las respuestas evocadas por ambos ojos.

Como **estimulador luminoso** utilizamos el miniganzfeld^{81,82,109,118,125,129,159,180,186,188,189} para la emisión de flashes, pero la estimulación binocular requiere otros sistemas de emisión de haces luminosos de mayor envergadura o más sofisticados^{18,72,82,110,112,120}, como el ganzfeld en forma de cúpula^{40,129,141,144,167}, las pantallas de estimulación¹²⁹ o los sistemas LED (light emitting diodes)^{3,61,107,117,204}. El miniganzfeld creemos que es más ventajoso por permitir una estimulación monocular y un mejor ajuste de la distancia estimulador-ojo a 10cm^{58,81,82,188,189,198}. Además, nuestro estimulador no emitía ningún sonido con los flashes. Esto es muy importante, ya que se ha demostrado en un estudio¹⁷⁷ que la emisión de un flash acompañado de un “beep” se percibe en la corteza visual como 2 flashes.

Nosotros, al igual que la gran mayoría de investigadores, usamos flashes de luz blanca para estandarizar ambas pruebas, puesto que los filtros de colores sólo se emplean en protocolos especiales de ERG para estimular un tipo de cono en concreto^{109,125,126}. Narfström K.¹²⁴ (al igual que Pontes A.¹⁴⁴) utilizó, en un primer estudio con perros, luz azul para estimular los bastones y luz roja para

estimular los conos, pero en estudios posteriores^{125,126} recomienda la utilización de luz blanca tanto de flash como de fondo. Respecto a estos trabajos, nosotros pensamos que una luz blanca con luminosidad ajustable es suficiente para conseguir la estimulación de conos y bastones. Así, al igual que Pérez-Salvador E.¹⁴², pensamos que los filtros monocromáticos rojos y azules disminuyen la intensidad luminosa, y por tanto, la amplitud de las respuestas.

Respecto al **protocolo de estimulación**, decidimos preadaptar a la oscuridad, realizar los PEVs en escotópico^{37,73,81,82,141,172,188,189,198}, continuar con el ERG escotópico (respuesta de bastones y respuesta máxima), adaptar a la luz, seguir con el ERG fotópico (conos) y finalizar con el flícker fotópico (conos de mayor longitud de onda). Elegimos este orden por ser la manera más eficiente de aprovechar la adaptación a la oscuridad (que siempre requiere mucho más tiempo que la adaptación a la luz) y el plano anestésico deseado (sólo hubo que redosificar en 2 beagles). De este modo, conseguimos realizar todo el estudio en tan sólo 90min⁷⁵. Fue necesario comenzar con los PEVs, puesto que su obtención era más lenta y complicada que el resto de pruebas, debido al desconocimiento previo y a la necesidad de un calibrado minucioso de este tipo de prueba diagnóstica.

Existen 2 estudios^{118,180} que realizan los PEV en ambiente fotópico, pero nosotros discrepamos con ellos, puesto que en nuestras pruebas previas comprobamos que con luz ambiente obteníamos registros de baja amplitud y muy variables, mientras que a mayor tiempo de adaptación a la oscuridad registrábamos amplitudes de mayor magnitud y más estables. Esto puede deberse a la abundancia de bastones (95%) en la retina del perro que discriminan los cambios de luminancia y son 100 veces más sensibles que los conos¹⁶³, por lo que requieren de oscuridad para regenerar su fotopigmento y poder actuar.

En cuanto al ERG, seleccionamos el protocolo largo^{109,135,167}, puesto que nuestra intención era obtener la mayor información útil a cerca de todos los componentes celulares de la retina y estandarizar estos valores para el beagle. En dicho protocolo suprimimos los OPs, ya que no se ha demostrado todavía su utilidad en medicina veterinaria¹²⁴⁻¹²⁶ y su obtención requería prolongar el tiempo necesario para realizar el test. Por tanto, decidimos realizar 4 tipos de estimulación comenzando con las escotópicas^{75,125,126,167}. Narfström K.¹²⁴ empieza sus registros en ambiente fotópico, pero luego debe esperar 20min de adaptación a la oscuridad para estimular los bastones y otros 30min adicionales para obtener la respuesta máxima, por lo que creemos que es una desventaja realizando también los PEV. Además, Narfström K.¹²⁴ realiza el flícker en ambiente escotópico, mientras que nosotros preferimos en fotópico, ya que los bastones se saturan y dejan de funcionar permitiendo un mejor aislamiento de los conos.

En nuestro protocolo siempre realizamos los registros de ambas pruebas a las mismas horas del día, puesto que varios estudios^{5,57} han comprobado la existencia de variaciones en la tasa de renovación de los discos con fotopigmento de los fotorreceptores a lo largo del día. Esto supondría un posible factor influyente en los PEVs y especialmente en el ERG, donde la amplitud de las ondas depende del número de fotorreceptores estimulados.

Calibrado del sistema de estimulación y registro:

Haciendo referencia al calibrado del sistema central de registro de PEVs y ERG existen también discrepancias entre autores en cuanto al ajuste de los diferentes parámetros del sistema.

En cuanto a los **parámetros de estimulación**, la gran mayoría de las publicaciones siguen, al igual que nosotros, las indicaciones de la ISCEV de ajuste de la *frecuencia de estimulación* en ≤ 1.5 flashes/seg para el ERG (excepto 30 flashes/seg para el flícker) y 1 flash/seg (1Hz) para los PEV^{58,81,82,129,130,141,142,158,180,186,188,189,198}. De igual modo, no hay discrepancias en cuanto a la utilización del “single flash” como estímulo en ambas pruebas y al ajuste de la luminancia o *intensidad del flash* (PEV: $3 \text{ cd}\cdot\text{s}\cdot\text{m}^{-2}$; ERG: $0,01\text{-}0,02 \text{ cd}\cdot\text{s}\cdot\text{m}^{-2}$ respuesta bastones, $3 \text{ cd}\cdot\text{s}\cdot\text{m}^{-2}$ respuesta máxima, conos y flícker) y la *luminancia de fondo* (para el ERG fotópico: $30 \text{ cd}\cdot\text{s}\cdot\text{m}^{-2}$)^{75,107,109,125,126,130}. Por otro lado, existe mayor variedad de opiniones a la hora de elegir el *número de estimulaciones* por análisis. En nuestro caso hemos seguido las indicaciones de la ISCEV emitiendo 64 flashes para los PEV¹²⁹, y 8 para las pruebas de ERG¹⁰⁹. Sin embargo, Pérez-Cobo¹⁴² utiliza 96 flashes para los PEV, porque duplica el tiempo de análisis (512ms). Kimotsuki⁸¹ emite 30 flashes para los PEV, Sato¹⁷² 10 flashes y Strain^{188,189} 200 flashes (puesto que su frecuencia de estimulación es mayor).

Respecto al *tiempo de análisis*, suele ser suficiente con 250ms para los PEV^{37,81,82,129,130,141,180,188,189} y ERG escotópico^{109,180}, y 200ms para el ERG fotópico^{73,109,125,126}. Un mayor tiempo de estimulación en situaciones escotópicas podría saturar la funcionalidad de los bastones, puesto que en las pruebas previas que realizamos pudimos comprobar que al realizar estimulaciones durante mucho tiempo producía registros de menor amplitud de onda. De modo adicional, un tiempo de estimulación muy prolongado es más susceptible a registrar artefactos (“ruido”) que distorsionan la señal evocada.

Entre los **parámetros de registro** a calibrar, todos los estudios están de acuerdo en que las *impedancias* de los electrodos estén en torno a los $5\text{-}7\text{K}\Omega$ ^{109,125,126,130,186,188} y las de las señales entrantes al amplificador en $10\text{M}\Omega$ ¹⁰⁹. En nuestras pruebas pudimos comprobar impedancias mayores cuando existía un error en el lugar de colocación de los electrodos o cuando no poníamos la

cantidad adecuada de pasta conductora. Esto provocaba alteraciones en la conducción de la señal eléctrica desde los lugares generadores, atravesando meninges, cráneo y piel, hasta los electrodos, por lo que el sistema informático se bloqueaba y no permitía realizar los tests.

Por otro lado, el ajuste del *sistema de filtrado* conlleva mayores diferencias en las distintas publicaciones. Los filtros de baja y alta frecuencia para los PEV suelen afinarse entre 1-100 Hz en nuestros ensayos, coincidiendo con ciertos autores^{58,130,186,188,189}. Mientras que otros lo fijan entre 10-1000 Hz¹⁴¹, 1.5-3000 Hz¹⁹⁸, 1-300 Hz³⁷, 0.3-300 Hz¹⁰⁷ y 1-1000 Hz^{81,82}. Todo ello indica que cada sistema de amplificación de PEVs necesita un proceso de ajuste particular. Sin embargo, la mayoría de investigadores^{75,109,125,126,186} sitúan los filtros para todas las pruebas del ERG entre 0.1-0,3 Hz (baja frecuencia) y 300 Hz (alta frecuencia) (excepto 200-500 Hz para Potenciales Oscilatorios), excepto Dos Santos C.⁴⁰ y Safatle AMV.¹⁶⁷ que los fijan en 0,3-500 Hz. Nosotros ajustamos nuestros filtros entre 0,1-300 Hz para obtener el ERG, puesto que un mayor paso de banda registraba demasiados artefactos y las gráficas obtenidas no eran nítidas. De este modo, pudimos obtener señales con muy poco grado de contaminación por “ruido de fondo”.

Ajuste del equipo de promediado (averaging system):

Al igual que diversas publicaciones^{109,129,130,186}, decidimos realizar 2 análisis en cada ojo para cada una de las pruebas y ajustar el sistema informático de promediado para que estimara la media de ambos registros. Así, conseguimos comprobar la **reproducibilidad de los datos**. Además, consideramos que este hecho es fundamental para poder elaborar un estándar, ya que pretende garantizar la normalidad de los datos.

6.2. DISCUSIÓN Y ANÁLISIS DE LOS RESULTADOS OBTENIDOS.

Resultados de los PEVs:

La **morfología de las gráficas** representativas de los PEV que obtenemos en nuestro trabajo es muy similar al resto de publicaciones^{107,129,141,158}. Consiste en una onda en forma de “M”, compuesta de dos picos de polaridad positiva (P1 y P2) y dos de polaridad negativa (N1 y N2), donde su orden de presentación es P1, N1, P2 y N2. Este orden puede variar según los diferentes autores, pues la ISCEV¹²⁹ presenta una gráfica tipo para PEVs de humanos que sigue el orden N1, P1, N2, P2. Sin embargo, los estudios más recientes en perros^{81,82,107,188,189} y

gatos^{73,141} revelan una sucesión de picos igual a la obtenida en nuestra investigación, pues el primer pico que obtenemos es de polaridad positiva (P1).

A pesar de todo, existe cierta variabilidad respecto el número de picos que forman la gráfica. Así, Uzuka Y.¹⁹⁸ en sus estudios con gatos solamente registró los picos P1, N1 y P2. Sims¹⁸⁰ analizó únicamente 3 picos positivos (P1, P2 y P3) en perros. Y Takenchi T.¹⁹¹ y la ISCEV¹²⁹ extrajeron 6 picos (P1, N1, P2, N2, P3 y N3) en sus investigaciones con terneros y humanos, respectivamente. Mientras que Kimotsuki T.^{81,82} y Strain GM.^{188,189} en sus registros de beagles obtuvieron 5 picos: P1, N1, P2, N2 y P3. Es de suponer, que esta variabilidad en el número de picos registrados se deba a la distinta morfología de las vías visuales entre especies diferentes o bien por características propias del equipo de registro. Así, en nuestros tests no consideramos el pico P3, puesto que es de difícil registro y cuando está presente es muy variable. Quizás se deba a la baja señal de entrada de este componente por su posible origen en zonas más distales del córtex visual o en zonas extracorticales (áreas de asociación).

Todos los trabajos consultados coinciden en la prominencia destacable de los picos P2 y N2. Excepto en estudios con terneros¹⁹¹, donde destacan los picos N1 y N3. Esta diferencia interespecífica posiblemente se deba a las diferencias de tamaños craneales, donde se hace evidente que los lugares de colocación de los electrodos diferirán, y por tanto cabría preguntarse si estos dos picos equivaldrían a P2 y N2 del perro.

En cuanto al posible **origen de los diferentes picos** que forman la gráfica, existe gran controversia. Pérez-Cobo JC.¹⁴¹, en sus trabajos con gatos, y Kraut MA.⁸⁹ con macacos, supusieron que el origen de los 4 picos que registraron era el área visual primaria (P1 se originaba por la llegada de la información talámica al córtex visual, y el resto de picos aparecían con el inicio del procesamiento cortical puesto que eran más prominentes en las áreas de registro 17, 18 y 19 de Brodman).

Otros estudios^{173,188} proponen la existencia de una cierta contaminación de los registros de PEVs por el ERG, debido a la cierta similitud de los tiempos de culminación de P1 y N1 con las ondas "a" y "b" del ERG. Por lo que pensaron que estos 2 picos tenían origen retiniano. Así, Saxton et al.¹⁷³, pensó que esta influencia del ERG se debía a la colocación del electrodo de referencia en el seno frontal, por su cercanía con la retina. Y propuso emplazar este electrodo en la oreja para evitar dichas interferencias. Así mismo, Strain GM¹⁸⁸, en un primer estudio con beagles, apoyó esta hipótesis porque comprobó la existencia de un PEV formado únicamente por P1 y N1 en un paciente con neuritis óptica. Nosotros pensamos que este hecho no es fiable por observarlo en un único paciente, pues serían necesarios más casos similares para poder afirmarlo. Además, es posible que estos picos derivaran de una cierta actividad presente en las células ganglionares que no estuvieran afectadas por la neuritis óptica.

De modo parecido, Kimotsuki T.⁸² en sus estudios de mapeo cortical de los PEVs, propuso que P1 y N1 eran de origen retinal, pero sólo pudo confirmar que P2 se originaba desde la retina al puente cerebral (incluyendo el cuerpo geniculado lateral (C.G.L.)) y los picos más tardíos desde el puente hasta el córtex visual. Para ello indujo una necrosis en el C.G.L. derecho. Por un lado, no observó cambios en los PEVs del ojo derecho (debido a la gran decusación quiasmática de las fibras del nervio óptico) y, por otro, comprobó que en los PEVs del ojo izquierdo P2 sufría un retraso y, N2 y P3 desaparecían.

Por otro lado, Strain GM.¹⁸⁹ pudo comprobar en un estudio posterior con beagles de diferentes edades, que P1 no era producido por el ERG. Sus motivos fueron que las ondas “a” y “b” del ERG no se detectaban hasta el día 10 y 15 tras el nacimiento respectivamente, mientras que P1 y N1 de los PEV aparecían el día 7. De modo similar, Sims¹⁸⁰ comprobó la inexistencia de PEVs al seccionar el nervio óptico de dicho ojo, por lo que cabría pensar que todos los componentes de los PEVs son de origen post-retinal.

Con todo esto podemos concluir que son necesarios más estudios de mapeos corticales para confirmar los posibles lugares de origen de cada componente de la gráfica de los PEVs.

Respecto a la **nomenclatura** de los valores a medir de las diferentes ondas, tanto en los PEVs como en el ERG, hemos decidido (al igual que diversos autores^{20,22,30,34,40,51,87,94,109,124-126,129,142,144,159,162,172,181}) emplear el término “tiempo implícito” para medir el tiempo que tarda en aparecer el punto máximo de cada onda (estima el tiempo de conducción de la señal eléctrica evocada), y “amplitud” para evaluar el voltaje máximo que alcanza cada onda (estima la intensidad de las respuestas).

De manera equivalente, algunos autores^{81,82,107,129,141,191,198} emplean el término “latencia”, “tiempo del pico” (peak time), “latencia del pico” (peak latency) o “tiempo de culminación” para referirse al tiempo implícito. Sin embargo, nosotros pensamos que esta nomenclatura puede llevar a confusión, puesto que la ISCEV¹²⁹, Dos Santos C.⁴⁰ y Pontes A.¹⁴⁴ añaden el valor “latencia” (mide el tiempo que transcurre desde el estímulo hasta que comienza la primera respuesta) a sus análisis. Además, nosotros no hemos valorado las latencias en nuestro trabajo, porque nuestro equipo no las registra.

En cuanto al **análisis global** de los tiempos implícitos de los picos obtenidos en el presente estudio de PEVs, se observa gran similitud con otros trabajos^{81,82,142,188,189,191}, donde los picos P1 y N1 presentan los valores más estables, y los picos P2 y N2 son más tardíos y presentan mayor desviación estándar, aunque sin ser significativa.

Comparando nuestros registros con los de la ISCEV¹²⁹, podemos comprobar cómo en los beagles registramos un primer pico (P1) a los 17ms, mientras que en humana la respuesta tarda más en aparecer, a los 30ms. Sin embargo, el resto de picos están dentro de un mismo rango (2º pico: 30-36ms, 3º pico: 90ms, 4º pico: 120-140ms). Por otro lado, analizando los valores de Kimotsuki T.⁸¹ en beagles y de Uzuka Y.¹⁹⁸ en gatos, observamos pocas diferencias en los picos P1 y N1, mientras que P2 y N2 son más tardíos en nuestros registros. Esto nos lleva a concluir que existe mayor variabilidad de tiempos implícitos en picos más tardíos¹⁸⁶.

Respecto a las amplitudes, en casi todos los estudios^{51,142,172,198} se consideran P1-N1 y P2-N2 como las más interesantes, pero suelen presentar gran variabilidad en comparación con los tiempos implícitos. Nuestros resultados sí difieren con el resto de publicaciones (que a su vez estas difieren entre ellas), pero son simétricos para ambos ojos del mismo animal presentando, por tanto, poca variabilidad intraindividual como indicaba la ISCEV¹²⁹.

Sin embargo, los estudios con gatos¹⁴¹ presentan gran variabilidad inter e intraindividual tanto en las amplitudes como en los tiempos implícitos.

Posiblemente se deba al reducido tamaño del cráneo que dificulte la colocación de los electrodos de manera idéntica en todos los pacientes.

En nuestro **estudio estadístico** para elaborar un estándar de los PEV para el beagle, hemos comprobado la poca variabilidad de los tiempos implícitos (en especial P2, que es el pico más estable). Sin embargo, las amplitudes han presentado mayor grado de dispersión de datos entre individuos, siendo P2N2 más estable que P1N1. De modo contrario, las amplitudes presentan mayor simetría entre los ojos de un mismo individuo.

Debido a la variabilidad de las amplitudes registradas, consideramos fundamental en la interpretación de los estudios de PEV basarse en el estudio de los tiempos implícitos de los picos detectados. Estos nos informan de la velocidad de conducción de los impulsos nerviosos, así como de la ausencia o retraso en la presentación de dichas señales. Además es de gran importancia ya que la mayor parte de las alteraciones de la vía visual central están relacionadas con defectos de mielinización o con compresiones en diferentes localizaciones de la misma, lo que provoca alteraciones en los tiempos de conducción eléctrica.

Respecto al análisis de las amplitudes, creemos importante valorar la existencia de unos valores homogéneos en diversos estudios consecutivos de un mismo paciente en las mismas condiciones de estimulación y registro. La interpretación de dichos registros debe realizarse siempre con mucha precaución y siempre como complemento del análisis de los tiempos implícitos.

Por tanto, consideramos que un análisis de los PEV es normal cuando la morfología de la onda registrada es coherente (la gráfica sería patológica si más de una onda se desviara de la normalidad y si la sintomatología clínica y las pruebas diagnósticas complementarias indicaran la posibilidad de un problema oftalmológico o neuronal), los tiempos implícitos están dentro de un rango de normalidad y existen amplitudes de una cierta magnitud.

Resultados del ERG:

En cuanto a las gráficas registradas para el ERG, y al igual que en todas las publicaciones observadas, todas presentaban la **morfología** característica acorde con el tipo de estimulación utilizado. Así, en la respuesta escotópica de bastones, respuesta máxima y respuesta de conos la gráfica presentaba 2 ondas: una primera onda-a de polaridad negativa y una siguiente onda-b de polaridad positiva.

Al igual que la mayoría de autores^{1,40,91,94,159,182}, nosotros no pudimos registrar la onda-c derivada de la actividad del epitelio pigmentario de la retina, puesto que es de difícil registro en la clínica veterinaria por la gran cantidad de artefactos derivados de la actividad muscular que se produce tras la onda-b. Por ello, para analizar esta porción de la retina, Lazard P.⁹¹ recomienda realizar electro-oculografía.

El registro del flícker fotópico también presentaba la morfología típica de sucesión de ondas de la misma amplitud y con los mismos intervalos temporales entre ellas.

Respecto a los datos obtenidos, no los hemos podido comparar con otros estudios de ERG en perros, puesto que las condiciones de preparación del paciente, de estimulación y de registro diferían mucho de las empleadas en nuestro trabajo. Sin embargo, sí hemos coincidido con Pérez-Salvador E.¹⁴² en la presencia de mayor variabilidad en las amplitudes de las ondas en comparación con los tiempos implícitos.

Al comparar nuestros registros de ERG escotópico, hemos podido comprobar cómo la respuesta máxima presentaba valores de tiempos implícitos más cortos y amplitudes más aumentadas que las respuestas de bastones. La amplitud de la onda-a es 10 veces mayor en la respuesta máxima, mientras que la de la onda-b se duplica. Este hecho se debería a la suma de las actividades de conos y bastones en la respuesta máxima, lo que conllevaría una respuesta más intensa y más rápida que si actuaran únicamente los bastones. De este modo, esta comparación nos permitiría evaluar la funcionalidad de los bastones y de los conos que captan bajas longitudes de onda. Además, el incremento de las amplitudes de la onda-b se debería al mismo hecho, ya que en la respuesta

máxima estimulamos mayor número de fotorreceptores y, por tanto, se activa mayor cantidad de células bipolares y de Müller. De modo similar, los tiempos implícitos se reducen a la mitad en ambas ondas de la respuesta máxima, puesto que los fotorreceptores (sobre todo los conos) reaccionan con mayor rapidez cuando utilizamos un estímulo luminoso más intenso.

En el **análisis estadístico** del ERG escotópico se observó mayor estabilidad de los tiempos implícitos de la onda-a respecto la onda-b, puesto que la presencia de artefactos afecta en mayor grado a las ondas más tardías. Al igual que observábamos en los PEV, en el ERG escotópico también existe mayor variabilidad en los datos de las amplitudes que en los tiempos implícitos. Y dentro de esta variabilidad, la onda-a presenta mayor homogeneidad en la respuesta de bastones, mientras que la amplitud de la onda-b es más estable en la respuesta máxima. Este hecho podría deberse a que el gran número de fotorreceptores que contribuyen a la respuesta máxima enmascara los artefactos que pueden interferir en la estabilidad de los registros.

En el análisis estadístico de los tiempos implícitos del ERG fotópico se aprecia una gran similitud de datos, posiblemente debido a la mayor homogeneidad de intensidad luminosa durante la fase de estimulación. Además, en este tipo de respuesta las amplitudes (sobre todo las de la onda-b) también son dispares entre distintos individuos, aunque no intraindividualmente.

En último lugar, al analizar los datos estadísticos del ERG flícker podemos apreciar la mayor homogeneidad de los tiempos implícitos del pico P2, que es el que nos interesa estudiar para definir la funcionalidad de los conos. Sin embargo, las amplitudes también son más variables en este tipo de respuesta.

Podemos concluir, que en todas las respuestas del ERG las señales evocadas por las células de la retina son muy constantes en su aparición, pero la intensidad con la que se presentan son muy dispares. De este modo, podríamos aconsejar el estudio de una gráfica de ERG en su conjunto y basándonos en el análisis de los tiempos implícitos. Mientras que, al igual que en el estudio de los PEVs, se recomienda analizar y comparar las amplitudes de las ondas de varios registros del mismo paciente, ya que este parámetro es muy variable entre individuos, pero muy homogéneo intraindividualmente.

CAPÍTULO 7. CONCLUSIONES

Para finalizar el estudio, vamos a exponer de manera concisa una serie de conclusiones referentes al protocolo clínico de electrodiagnóstico diseñado, así como respecto a los datos obtenidos, ya que pretenden constituir un estándar de ERG y PEV para el perro beagle.

7.1. CONCLUSIONES REFERENTES AL PROTOCOLO CLÍNICO.

1.- La técnica de Flash-ERG y Flash-PEV es la única posible para obtener registros fiables de la funcionalidad de las vías visuales en el perro.

2.- Para obtener los PEV y el ERG escotópico es necesario una adaptación a la oscuridad de 20 minutos. Mientras que para registrar el ERG fotópico y flícker son necesarios 10 minutos de adaptación a la luz ambiente.

3.- El uso de anestésico es fundamental. Nuestro protocolo [medetomidina (0.01mg/kg im) + butorfanol (0.3mg/kg im) + ketamina (2.5mg/kg iv)] deprime en baja medida el SNC y permite obtener PEV y ERG coherentes. Los midriáticos son necesarios en ambas pruebas para estimular la mayor área posible de la retina.

4.- La colocación de los electrodos en la línea media craneal para obtener los PEV es adecuada para registrar señales evocadas por la vía visual de manera global. Así mismo, emplazar el electrodo activo (+) en la línea media del hueso occipital permite obtener los registros de mayor amplitud.

5.- Seleccionar los PEV como primera prueba a realizar nos permite ajustar el tiempo del análisis (90 min.), así como adaptar adecuadamente a la oscuridad toda la retina y aprovechar al máximo el plano anestésico del paciente.

6.- Ajustar la frecuencia de estimulación en ≤ 1.5 flashes/seg para el ERG (excepto 30 flashes/seg para el flícker) y 1 flash/seg (1Hz) para los PEV, la intensidad del flash (PEV: $3 \text{ cd}\cdot\text{s}\cdot\text{m}^{-2}$; ERG: $0,01\text{-}0,02 \text{ cd}\cdot\text{s}\cdot\text{m}^{-2}$ respuesta bastones, $3 \text{ cd}\cdot\text{s}\cdot\text{m}^{-2}$ respuesta máxima, conos y flícker) y la luminancia de fondo (para el ERG fotópico: $30 \text{ cd}\cdot\text{s}\cdot\text{m}^{-2}$) de este modo nos permite realizar unas correctas estimulaciones luminosas.

7.- Elegir un número de 64 estimulaciones para los PEV y 8 para el ERG, así como un tiempo de análisis de 250ms para PEV y ERG escotópico, y 200ms para ERG fotópico, es suficiente para registrar las señales evocadas. Así mismo, el ajuste de los filtros en 1-100Hz para los PEV y 0,1-300Hz para el ERG nos permite eliminar el “ruido de fondo” para depurar las señales obtenidas.

7.2. CONCLUSIONES REFERENTES A LOS RESULTADOS OBTENIDOS.

1.- La morfología de la gráfica obtenida en los PEV presenta forma de “M”, con dos picos de polaridad positiva (P1 y P2) y otros dos de polaridad negativa (N1 y N2), cuyo orden de aparición es P1, N1, P2, N2. Y donde el pico P2 es el más prominente.

2.- La morfología de la gráfica del ERG es variable según la estimulación realizada: los ERG escotópicos y el ERG fotópico presentan una onda-a negativa y una onda-b positiva, mientras que el ERG flícker está formado por una serie de ondas de la misma amplitud que se presentan con una frecuencia constante.

3.- Para analizar los datos de ambas pruebas electrodiagnósticas, es necesario medir el tiempo implícito (ms) y la amplitud (μV) de cada pico registrado, obteniendo de este modo el tiempo que tarda en registrarse la respuesta evocada y la intensidad de dicha señal respectivamente.

4.- En el análisis global de los tiempos implícitos de los PEVs, los picos P1, N1 y P2 presentan los valores más estables (destacando P2). Las amplitudes P1N1 y P2N2 presentan mayor variabilidad interindividual, pero son muy similares y simétricas en los ojos de un mismo individuo.

5.- En el ERG existe mayor variabilidad interindividual en las amplitudes que en los tiempos implícitos, donde la onda-a presenta mayor homogeneidad en ERG escotópico (respuesta de bastones), mientras que la amplitud de la onda-b es más estable en la respuesta máxima. También en los tiempos implícitos, existe mayor estabilidad de la onda-a respecto la onda-b.

6.- El ERG escotópico de respuesta máxima, presenta valores de tiempos implícitos más cortos y amplitudes más aumentadas que en el ERG escotópico (respuesta de bastones).

7.- El ERG flícker presenta gran homogeneidad de los tiempos implícitos del pico P2, que es el parámetro más interesante a estudiar para definir la funcionalidad de los conos.

8.- Consideramos que el análisis, tanto de los PEV como del ERG, es normal cuando la morfología de la onda registrada es coherente, los tiempos implícitos son constantes y están dentro de un rango de normalidad y existen amplitudes de una cierta magnitud.

CAPÍTULO 8.

RESUMEN

La presente tesis se ha basado en conseguir dos objetivos fundamentales: diseñar un protocolo clínico de electrodiagnóstico para obtener el electroretinograma (ERG) y los potenciales evocados visuales (PEV) en el perro beagle, y elaborar un estándar de los resultados para esta raza.

Para ello hemos realizado una revisión bibliográfica meticulosa con la intención de conocer con exactitud la estructura y fisiología de las vías visuales de la especie canina. Además hemos analizado y comparado estudios previos a cerca de ambas técnicas electrodiagnósticas.

En segundo lugar, hemos establecido un protocolo clínico de electrodiagnóstico adaptado a nuestro equipo de diagnóstico, a las características de nuestros pacientes y, en general, a los recursos materiales que teníamos a nuestra disposición. De este modo, hemos conseguido realizar un protocolo de corta duración que nos permite evaluar la funcionalidad de las vías visuales del perro y detectar posibles anomalías.

Durante este procedimiento, hemos tenido que preparar el paciente para poder realizar las estimulaciones luminosas y recoger los registros de la manera más sencilla, corta y menos estresante para el paciente y el clínico. Además, fue necesario controlar una serie de parámetros relacionados con la estimulación luminosa, y con el registro, amplificación y promediado de las señales evocadas.

Una vez obtenidos los registros se procedió al estudio estadístico de los datos y al análisis de la morfología de las gráficas. Para ello, se empleó un programa de estadística que proporcionó las medias, las desviaciones estándar y los rangos de los datos de cada prueba. De este modo nos permitió comprobar la variabilidad de los datos, y así poder establecer un estándar.

Para finalizar, comparamos nuestro trabajo con otras publicaciones y discutimos las diferencias entre ellos. Y de este modo, concluimos que el protocolo que hemos establecido nos permite registrar adecuadamente el ERG y los PEV para el perro beagle, así como obtener resultados fiables y reproducibles que podemos considerar como estándar para esta raza canina y este equipo de electrodiagnóstico.

CAPÍTULO 9. SUMMARY

The aims of this thesis were firstly to design a clinical protocol for Electroretinography (ERG) and visual evoked potential (VEP) in the Beagle dog and, secondly, to develop a performance standard for this breed.

An extensive literature review was performed to determine the exact structure and physiology of the visual pathways in the canine species. Previous studies on these electrodiagnostic techniques were also analyzed and compared.

A clinical electrodiagnostic protocol adapted to our diagnostic equipment was established. This protocol considered the characteristics of the patients as well as the material resources at our Institution. This protocol allowed us to evaluate the functionality of the visual pathways in order to detect any anomalies.

During the procedures, the patients were prepared to perform the light stimuli and to collect the records in the most simple, shorter and less stressful manner for the patient and also the clinician. It was also necessary to control a number of parameters related to light stimulation and recording, amplification and signal averaged evoked.

Once the records were obtained, and statistical data analysis as well as an analysis of the morphology graphs was carried out. A statistical program that provided means values, standard deviations and ranges of data for each test was employed. Thus, it was confirmed the variability of the data, and a standard was established.

Finally, our results were compared with previous published data and the differences are discussed. It can be concluded that the protocol established in this Thesis allows to record accurately the ERG and the VEP of Beagle dogs. Moreover, the results are reliable and reproducible and it could be considered as a good standard for this breed when these electrodiagnosis tools are employed.

CAPÍTULO 10. BIBLIOGRAFÍA

1. Acland GM. Diagnosis and differentiation of retinal diseases in small animals by electroretinography. *Semin Vet Med Surg Small Anim*, 1988; 3(1): 15-27.
2. Agüera S y Ruiz S. *Sistema Nervioso de los Animales Domésticos*. 5ª ed. Córdoba: Don Libro, 2000.
3. Akabane A, et al. Monitoring visual evoked potentials during retraction of the canine optic nerve: protective effect of unroofing the optic canal. *J Neurosurg*, 1995; 82: 284-287.
4. American Clinical Neurophysiology Society. Recommended standards for visual evoked potentials. Guideline 9B: Guidelines on Visual Evoked Potentials. [En línea]. 2008. [Última consulta: 20/08/10]. Disponible en: <<http://www.acns.org/pdfs/Guideline%209B.pdf>>
5. Anderson DH, et al. Mammalian cones: disc shedding, phagocytosis and renewal. *Invest Ophthalmol Vis Sci*, 1978; 17(2): 117-133.
6. Andersson F, et al. Early visual evoked potentials are modulated by eye position in humans induced by whole body rotations. [En línea]. *BMC Neuroscience*, 2004; 5: 35. [Última consulta: 20/07/10]. Disponible en: <<http://www.biomedcentral.com/1471-2202/5/35>>
7. Apfelstedt-Sylla E y Zrenner E. Electrophysiology. En: Schiefer U, Wilhelm H y Hart W (Eds). *Clinical Neuro-Ophthalmology. A Practical Guide*. Berlin Heidelberg: Springer-Verlag. 2007; 97.
8. Argibay MG. Fisiología ocular: vías visuales. [En línea]. Córdoba, Argentina, 2008. [Última consulta: 16/07/10]. Disponible en: <<http://www.monografías.com/trabajos70/fisiología-ocular/fisiología-ocular2.shtm>>
9. Avitabile T, et al. Changes in visual evoked potentials during the menstrual cycle in young women. *Curr Eye Res* vol, 2007; 32(11): 999-1003.
10. Bargaés R Dr. Biología felina: los sentidos del gato. En: Borrás E (Ed). *Felinia Web, el espacio felino en castellano*. [En línea]. 1998. Actualizado Julio 2002. [Última consulta: 17/07/10]. Disponible en: <<http://www.webpersonal.net/felinia/sentidos.htm>>
11. Benedek K, et al. Combined use of pattern electroretinography and pattern visual evoked potentials in neuroophthalmological practice. *Ideggyogy Sz*, 2008; 61(1-2): 33-41.

12. Berezovsky A, et al. Validation of a new fiber electrode prototype for clinical electroretinography. *Arquivos brasileiros de oftalmologia (Arq Bras Oftalmol)*, 2008; 71(3): 316-320.
13. Boeree CG. Psicología general: la neurona. En: Mars V (Ed). *Psicología Online*. [En línea]. 1997. [Última consulta: 15/07/10]. Disponible en: <<http://www.psicologia-online.com/ebooks/general/neuronas.htm>>
14. Bolaños JP. Dissemination. [En línea]. Universidad de Salamanca. Actualizado 26 Oct. 2009. [Última consulta: 16/07/10]. Disponible en: <<http://web.usal.es/~jbolanos/9index.html>>
15. Braund KG. II. Etiological Categories of Neurological Diseases. En su: *Clinical Neurology in Small Animals: Localization, Diagnosis and Treatment*. Ithaca, New York, USA: International Veterinary Information Service (IVIS). 2003.
16. Brigell M, et al. Guidelines for Calibration of Stimulus and Recording Parameters Used in Clinical Electrophysiology of Vision. [En línea]. *Doc Ophthalmol* 1998; 95: 1-14. [Última consulta: 19/07/10]. Disponible en: <<http://www.iscev.org/standards/pdfs/calibration-guidelines-2003.pdf>>
17. Brooks D. Alteraciones oftalmológicas. En: Schaer M (Ed). *Medicina clínica del perro y el gato*. 1ª ed. Barcelona: Masson, S.A. Elsevier. 2006; 44-68.
18. Brooks DE, et al. Changes in oscillatory potentials of the canine electroretinogram during acute sequential elevations in intraocular pressure. *Progress in Veterinary Comperative Ophthalmology*, 1992; 2(2): 80-89.
19. Bui BV y Fortune B. Ganglion cell contributions to the rat full-field electroretinogram. *J Physiol*, 2004; 15(555) (Pt 1): 153-173.
20. Bush RA y Sieving PA. A proximal retinal component in the primate photopic ERG a-wave. *Invest Ophthalmol Vis Sci*, 1994; 35(2): 635-645.
21. Calzetti S, et al. Simultaneous VEP and PERG investigations in early Parkinson's disease. *J Neurol Neurosurg Psychiatry*, 1990; 53: 114-117.
22. Carr RE y Siegel IM. *Electrodiagnostic testing of the visual system: a clinical guide*, Philadelphia: F.A. Davis Company, 1990.
23. Cauzinille L. *Neuro-Ophthalmologie*. C.E.S (Certificado de Estudios Superiores) d'ophtalmologie veterinaire. Ecole Nationale Veterinaire de Toulouse, 2000-2001.

24. Charlier J y Hache JC. VER and pupillary reflex. *Doc Ophthal Proc Series*, 1981; 27: 263-267.
25. Chaturvedi N, Hedley-Whyte T y Dreyer EB. Lateral geniculate nucleus in glaucoma. *Am J Ophthalmol*, 1993; 116: 182-188.
26. Cook CS, Peiffer RL y Landis ML. Clinical basic science. En: Peiffer RL y Petersen-Jones SM (Eds). *Small Animal Ophthalmology: A Problem-Oriented Approach*. 4ª ed. Philadelphia: Saunders Elsevier, 2008; 11.
27. Creel D. Part XII. The Electroretinogram: Clinical Applications. En: Kolb H, Fernandez E y Nelson R (Eds). *Webvision. The Organization of the Retina and Visual System*. [En línea]. Actualizado Sep. 2004. [Última consulta: 23/07/10]. Disponible en: <<http://webvision.med.utah.edu/ClinicalERG.html#Introduction>>
28. Cunningham JG y Klein BG. Electroencefalograma y potenciales evocados sensitivos. En su: *Fisiología veterinaria*. 4ª ed. Madrid: Elsevier. 2009.
29. Curtis R y Lightfoot RM. The canine fundus. En: Petersen-Jones SM y Crispin SM (Eds). *Manual of small animal ophthalmology*. London: British Small Animal Veterinary Association. 1993; 237-258.
30. Damiani S, et al. Sensibilidad de los Potenciales Evocados Visuales a maniobras quirúrgicas y anestésicas durante la aproximación transesfenoidal. *Rev Cubana Oftalmol*, 1998; 11(1): 39-47.
31. Dandona L, et al. Selective effects of experimental glaucoma on axonal transport by retinal ganglion cell to the dorsal lateral geniculate nucleus. *Invest Ophthalmol Vis Sci*, 1991; 32: 1593-1599.
32. Dawson WW y Kommonem B. The late positive retinal potential in dogs. *Exp Eye Res*, 1995; 60(2): 173-179.
33. De Rouck AF. History of the electroretinogram. En: Heckenlively JR, Geoffrey AB (Eds). *Principles and practice of clinical electrophysiology of vision*. Sant-Louis: Mosby Year Book, 1991; 5-13.
34. Delgado ZR, Carral JM y Guerrero EJ. Caracterización de los potenciales evocados visuales en la retinopatía diabética. *Revista Cubana de Oftalmología*, 2009; 22(2): 15-22.
35. Denny MW. *Air and water: the biology and physics of life's media*. Princeton, NJ: Princeton University Press. 1993.

36. Department of anatomy and cell biology. School of Medicine. Indiana University. Histology D502. The Eye. [En línea]. 22 Nov. 2004. “VII Retina. Location of photosensitive cells and neural networks”. [Última consulta: 17/07/10]. Disponible en: <http://anatomy.iupui.edu/courses/histo_D502/D502f04/lecture.f04/Eyef04/ret.i pg>
37. Descals-Moll C y Burcet-Dardé J. Potenciales evocados y su aplicación en epilepsia (Evoked potentials and their application in epilepsy). *Rev Neurol*, 2002; 34(3): 272-277.
38. Dewar J. The physiological action of light. *Nature*, 1877; 15: 433-435. Disponible en: <http://www.roland-consult.com/data/index.php?option=com_content&task=view&id=53&Itemid=87>
39. Dorey SE, et al. The clinical features of albinism and their correlation with visual evoked potentials. *Br J Ophthalmol*, 2003; 87: 767-772.
40. Dos Santos C, et al. The organization of flash electroretinography unit in veterinary medicine. *Ciencia Rural*, Universidad Federal de Santa Maria (Brasil), 2004; 34(4): 1097-1104.
41. Dubuc B. The Brain from top to bottom. [En línea]. 2002. “The senses. Vision. The Retina”. [Última consulta: 16/07/10]. Disponible en: <http://thebrain.mcgill.ca/flash/i/i_02/i_02_cl/i_02_cl_vis/i_02_cl_vis.html>
42. Dubuc B. The Brain from top to bottom. [En línea]. 2002. Actualizado May. 2010. “The senses. Vision. The cellular structure of the visual cortex”. [Última consulta: 16/07/10]. Disponible en: <http://thebrain.mcgill.ca/flash/i/i_02/i_02_cl/i_02_cl_vis/i_02_cl_vis.html>
43. Dubuc B. The Brain from top to bottom. [En línea]. Ene. 2002. Actualizado May. 2010. “The senses. Vision. The various visual cortexes. p.3”. [Última consulta: 21/07/10]. Disponible en: <http://thebrain.mcgill.ca/flash/i/i_02/i_02_cr/i_02_cr_vis/i_02_cr_vis.html>
44. Ducati A, Fava E y Motti EDF. Neuronal generators of the visual evoked potentials: intracerebral recordings in awake humans. *Electroencephalogr Clin Neurophysiol*, 1988; 71: 89-99.
45. Dyer RS, Jensen KF y Boyes WK. Focal lesions of visual cortex – effects on visual evoked potentials in rats. *Exp Neurol*, 1987; 95: 100-115.

46. Fishman GA. The electroretinogram and electro-oculogram in retinal and choroidal disease: A manual prepared for the use of graduates in medicine (Continuing education programs), 1^a ed., American Academy of Ophthalmology and Otolaryngology, 1975; 1-45.
47. Foxe JJ, et al. Parvocellular and Magnocellular contributions to the initial generators of the Visual Evoked Potential: high-density electrical mapping of the “C1” component. *Brain Topogr*, 2008; 21: 11-21.
48. Friedman SM y Plous OZ. Central Florida Retina Institute. [En línea]. 2008. “Glossary of ophthalmologic terms”. [Última consulta: 23/07/10]. Disponible en: <<http://www.retinaflorida.net/RetinaTopics.html>>
49. Frishman LJ. Origins of the electroretinogram. En: Heckenlively JR, Arden GB (Eds). *Principles and practice of clinical electrophysiology of vision*. 2^a ed. Massachusetts: The MIT press, 2006; 139-183.
50. García Fernández J y Boix O. Luminotecnia. Iluminación de interiores y exteriores. [En línea]. 2004. “La luz y la visión”. [Última consulta: 19/07/10]. Disponible en: <<http://edison.upc.edu/curs/llum/indice0.html>>
51. Garcia Lozano I, et al. Aplicaciones clínicas de la electrofisiología ocular. [En línea]. *Studium Ophthalmologicum*, 2006; XXIV (1). [Última consulta: 20/08/10]. Disponible en: <<http://www.oftalmo.com/studium/studium2006/stud06-1/06a-02.htm>>
52. Geddes LA y Baker LE. *Principles of applied biomedical instrumentation*. New York: Wiley-Interscience, 1968; 278-291.
53. Gelatt KN. *Veterinary Ophthalmology*. 3^a ed. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins, 1998.
54. Glaser JS. Anatomía del sistema sensorial visual. En su: *Neurooftalmología*. 2^a ed. Barcelona: Masson-Salvat, 1993; I: 47-58.
55. Grau-Veciana JM Dr. (director). Sistema visual. En: *Máster en Neuropsicología: Diagnóstico y Rehabilitación Neuropsicológica*. [En línea]. Hospital de la Santa Creu i Sant Pau (HSCSP) y Universitat Autònoma de Barcelona (UAB). Mar. 2001. Actualizado 1 Mar. 2010. [Última consulta: 18/07/10]. Disponible en: <<http://www.neuropsicol.org/Np/sisvis.htm>>
56. Griñó MC y Martínez OM. Electrorretinograma y electrooculograma: actualización y novedades. [En línea]. *Annals d’Oftalmologia*, 1995; 5(1). Nexus Médica Editores, S.L. [Última consulta: 21/07/10]. Disponible en: <http://www.nexusediciones.com/np_ao_1995_5_1_003.htm>

57. Guarino I, et al. A chronic implant to record electroretinogram, visual evoked potentials and oscillatory potentials in awake, freely moving rats for pharmacological studies. *Neural Plasticity*, 2004; 11(3-4): 241-250.
58. Gül Özkaya Y, et al. Exercise improves visual deficits tested by visual evoked potentials in Streptozotocin-induced diabetic. *Tohoku J Exp Med*, 2007; 213: 313-321.
59. Guzmán Álvarez JJ. *Neurofisiología Granada*. [En línea]. Granada, 2005. "Qué es el Potencial Evocado Visual (PEV) y el Electrorretinograma (ERG)". [Última consulta: 16/07/10]. Disponible en: <<http://www.neurofisiologiagranada.com/pev/pev-quees.htm>>
60. Guzmán García GJ. *Manual del Seminario de ética y valores*. [En línea]. Maturín, Enero 2008. "Unidad IV: Inteligencia emocional. p.3". [Última consulta: 18/07/10]. Disponible en: <<http://www.monografias.com/trabajos61/manual-etica-valores/manual-etica-valores3.shtml>>
61. Hamaguchi K, et al. Effect of propofol on visual evoked potentials during neurosurgery. *The Japanese Journal of anesthesiology (Masui)*, 2005; 54(9): 998-1002.
62. Hanula DE, Simons DJ y Cohen NJ. Imaging implicit perception: promise and pitfalls. *Nature Reviews Neuroscience*, 2005; 6: 247-255.
63. Heckenlively JR y Arden GB. *Principles and practice of clinical electrophysiology of vision*, 2^a ed., Cambridge, Massachusetts: The MIT Press, 2006.
64. Hodgman SFJ, et al. Progressive retinal atrophy in dogs. The disease in Irish Setters. *Vet Record*, 1949; 61: 185-189.
65. Holder GE. Electrophysiological assessment of optic nerve disease. En: *Eye*, 2004; 18(11): 1133-1143.
66. Holmes MD y Sires BS. Flash visual evoked potentials predict visual outcome in traumatic optic neuropathy. *Ophthalmic Plastic & Reconstructive Surgery*, 2004; 20(5): 342-346.
67. Holmgren F. Method att objektiver effekten av zjursintryck på retina. *Upsala Lakareforenings Forh*, 1865; 1: 177-191.
68. Hubel DH y Wiesel TN. Laminar and columnar distribution of geniculocortical fibers in the macaque monkey. *J Comp Neurol*, 1972; 146: 421-450.

69. Hubel DH y Wiesel TN. Receptive fields, binocular interaction and functional architecture in the cat's striate cortex. *J Physiol*, 1962; 160: 106-154.
70. Hunt WE y Goldring S. Maturation of evoked response of the visual cortex in the postnatal rabbit. *Electroencephalogr Clin Neurophysiol*, 1951; 3: 465-471.
71. Hurn SD, et al. Day-blindness in three dogs: clinical and electroretinographic findings. *Vet Ophthalmol*, 2003; 6(2): 127-130.
72. Hyung-Ah Yu, et al. The determination of dark adaptation time using electroretinography in conscious Miniature Schnauzer dogs. *J Vet Sci*, 2007; 8 (4): 409-414.
73. Imai R, et al. A procedure for recording electroretinogram and visual evoked potential in freely moving cats. *The Journal of Toxicological Sciences*, 1990; 15: 263-274.
74. Imbert M. Le traitement retinien de l'image. C.E.S. d'ophtalmologie veterinaire. Ecole Nationale Veterinaire de Toulouse, 2000-2001.
75. International Society for Clinical Electrophysiology of Vision (ISCEV). Visual electrodiagnostics. A guide to procedures. [En línea]. ISCEV Publications, Apr. 1999. Actualizado 15 Feb. 2005. [Última consulta: 20/07/10]. Disponible en: <<http://www.iscev.org/standards/proceduresguide.html>>
76. Jauzein F. Le Cerveau. [En línea]. 2006. Actualizado 12 Abr. 2010. "Organisation fonctionnelle du cortex visuel primaire (aire V1)". [Última consulta: 16/07/10]. Disponible en: <http://access.inrp.fr/access/ressources/neurosciences/vision/vision_scientifique/organisation_v1>
77. Jay WM. Visual field defects. *American family physician*, 1981; 24(2): 138-42.
78. Jensen B. Iridology: Science and Practice in Healing Arts. Escondido, California: Bernard Jensen Enterprises. 1982; 2: 137.
79. Johnson G. 2005 Visualization Challenge: Illustration. First place: The synapse revealed. [En línea]. *Science*, 2005; 309(5743): 1990. [Última consulta: 16/07/10]. Disponible en: <<http://www.sciencemag.org/cgi/content/full/309/5743/1990>>
80. Kalloniatis M y Luu C. Part IX: Psychophysics of Vision. Light and dark adaptation. En: Kolb H, Fernandez E Y Nelson R (Eds). *Webvision. The organization of the retina and visual system*. [En línea]. Actualizado Marzo,

2010. [Última consulta: 19/07/10]. Disponible en: <http://webvision.med.utah.edu/light_dark.html>

81. Kimotsuki T, et al. Age-associated changes of Flash Evoked Potentials in dogs. *J Vet Med Sci*, 2006; 68(1): 79-82.

82. Kimotsuki T, et al. Topographic analysis of Flash Visual Evoked Potentials in dogs. *J Vet Med Sci*, 2005; 67(9): 869-875.

83. Kolb H, Fernandez E y Nelson R. Webvision. The Organization of the Retina and Visual System. Versión en español. [En línea]. Actualizado Oct. 2000. "Parte II: Histología de la Retina. 1. Fotorreceptores". [Última consulta: 17/07/10]. Disponible en: <<http://webvision.med.utah.edu/spanish/fotorre.html>>

84. Kolb H, Fernandez E y Nelson R. Webvision. The Organization of the Retina and Visual System. [En línea]. Actualizado Jul. 2009. "Part II: Anatomy and Physiology of the Retina. 1. Photoreceptors". [Última consulta: 17/07/10]. Disponible en: <<http://webvision.med.utah.edu/photo2.html>>

85. Kolb H, Fernandez E y Nelson R. Webvision. The Organization of the Retina and Visual System. [En línea]. Actualizado Sep. 2004. "Part III. Retinal circuits. 5. Midget pathways of the primate retina underlying resolution". [Última consulta: 17/07/10]. Disponible en: <<http://webvision.med.utah.edu/midget.html>>

86. Komáromy AM, et al. Technical issues in electrodiagnostic recording. *Veterinary Ophthalmology*, 2002; 5(2): 85-91.

87. Komaromy AM, Smith PJ y Brooks DE. Electroretinography in dogs and cats. Part II. Technique, interpretation and indications. *Comp Cont Educ Pract Vet*, 1998; 20(3): 355-365.

88. Kommonen B, Hyvatti E y Dawson WW. Propofol modulates inner retina function in beagles. *Vet Ophthalmol*, 2007; 10: 76-80.

89. Kraut MA, Arezzo JC y Vaughan HG Jr. Intracortical generators of the Flash VEP in monkeys. *Electroencephalogr Clin Neurophysiol*, 1985; 62: 300-312.

90. Latshaw WK. *Veterinary developmental anatomy*. Toronto: B.C. Decker. 1987; 256-257.

91. Lazard P. Les bases électrophysiologiques et l'exploration de la fonction visuelle. C.E.S. d'ophtalmologie vétérinaire. Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse, 2000-2001.

92. Lehmann ML. Brain Maps. [En línea]. 2009. “Brain Anatomy: Brodmann Areas”. [Última consulta: 18/07/10]. Disponible en: <<http://www.brain-maps.com/brodmann-areas.html>>
93. Lekhal H y Ellefsen E. La perception des couleurs par l’oeil. [En línea]. 2001-2002. “Chapitre 1. L’oeil. 1.3. Les cones”. [Última consulta: 21/07/10]. Disponible en: <<http://www.bioinformatics.org/oeil-couleur/dossier/cones.html>>
94. Lescure F. Electrophysiologie oculaire. En su: Encyclopédie Veterinaire. Paris: Editiond Techniques, 1992; 1700: 1-13.
95. Liapis IC. Electroretinography in Small Animal Practice. En: World Congress of the World Small Animal Veterinary Association (WSAVA), 29th, Rhodes, Greece, October 6-9, 2004.
96. Lignereux Y. Voies et centres Visuels. C.E.S. d’ophtalmologie veterinaire. Ecole Nationale Veterinaire de Toulouse, 2000-2001.
97. Lin SL, et al. The effects of different anesthetic agents on short electroretinography protocol in dogs. J Vet Med Sci, 2009; 71(6): 763-768.
98. Logothetis NK. Vision: A window on consciousness. Scientific American, 1999; 281(5): 72.
99. Lund JS. Organization of neurons in the visual cortex, area 17 of the monkey Macaca mulatta. J Comp Neurol, 1973; 147: 455-496.
100. Lynch R. Brain and Behavior.Vision. [En línea]. Colorado, USA. Actualizado 21 Feb. 2008. “II. Vision-The Eye. B: Traduction and integration of light stimuli. 2. Neuronal integration in the retina. D.2. On center-Off surround responses in ganglion cells”. [Última consulta: 18/07/10]. Disponible en: <<http://www.colorado.edu/intphys/Class/IPHY3730/07vision.html>>
101. Maehara S, et al. Detection of cone dysfunction induced by digoxin in dogs by multicolor electroretinography. Vet Ophthalmol, 2005; 8(6): 407-413.
102. Majji AB, et al. Long-term histological and electrophysiological results of an inactive epiretinal electrode array implantation in dogs. Invest Ophthalmol Vis Sci, 1999; 40(9): 2073-2081.
103. Malmivuo J y Plonsey R. Bioelectromagnetism. Principles and Applications of Bioelectric and Biomagnetic Fields. [En línea]. New York, Oxford: Oxford University Press. 1995. “IX Other Bioelectromagnetic phenomena. 28. The Electric Signals Originating in the Eye”. Actualizado 12

Ene. 2009. [Última consulta: 20/07/10]. Disponible en: <<http://www.bem.fi/book/28/28.htm>>

104. Manbok J, et al. Comparison of two electroretinography systems used in dogs: the Reticom and the HMs-ERG. En: ACVO Annual Conference, 38th, Hawaii, October 21-28, 2007.

105. Mann J. Jeff Mann's Website. [En línea]. Mar. 2005. "Neuro-ophthalmology guidemaps-Loss of Vision. Visual Pathway pathology". [Última consulta: 23/07/10]. Disponible en: <http://www.jeffmann.net/NeuroGuidemaps/vision.htm#visual_pathway>

106. Mann MD. The Nervous System in Action. [En línea]. 1997. Actualizado 22 Jul. 2008. "Chapter 4b: Sensory receptors II". [Última consulta: 18/07/10]. Disponible en: <<http://www.unmc.edu/physiology/Mann/mann4b.html>>

107. Margalit E, et al. Visual and electrical evoked response recorded from subdural electrodes implanted above the visual cortex in normal dogs under two methods of anesthesia. Journal of Neuroscience Methods, 2003; 123: 129-137.

108. Marmor MF y Zrenner E. Standard for Clinical electroretinography. [En línea]. Doc Ophthalmol 1999; 97: 143-156. [Última consulta: 19/07/10]. Disponible en: <<http://www.iscev.org/standards/pdfs/erg-standard-1999.pdf>>

109. Marmor MF, et al. ISCEV standard for full-field clinical electroretinography (2008 update). [En línea]. Doc Ophthalmol, 2009; 118: 69-77. [Última consulta: 19/07/10]. Disponible en: <http://www.iscev.org/standards/pdfs/ERG_standard_2008.pdf>

110. Masland R. L'architecture fonctionnelle de la rétine. Pour la Science, Février 1987; 112: 94-104.

111. Mason B. Dissection of a Sheep's Eye. [En línea]. 1998. [Última consulta: 17/07/10]. Disponible en: <http://www.scitec3.esmartstudent.com/sheep_eye.html>

112. Mentzer AE, et al. Influence of recording electrode type and reference electrode position on the canine electroretinogram. Doc Ophthalmol, 2005; 111 (2): 95-106.

113. Metrovision®. Instruments for visual electrophysiology. [En línea]. "Programs for VEP and ERG with flash and pattern stimulation. Electrodes". [Última consulta: 23/07/10]. Disponible en: <<http://www.metrovision.fr/mv-el-notice-us.html>>

114. Miller PE y Murphy J. Vision in dogs. JAVMA, 1995; 207(12): 1623-1634.
115. Miller TR. The uses and limitations of the electroretinogram in veterinary practice. British Veterinary Journal, 1993; 149(3): 3-4.
116. Millodot M y Newton I. VEP measurement of the amplitude of accommodation. British Journal of Ophthalmology, 1981; 65: 294-298.
117. Montes Brown J. Potenciales evocados visuales en recién nacidos a término. Rev Cubana Pediatr, 1999; 71(1): 5-12.
118. Montezuma SR, Rizzo III JF y Ziv OR. Differential recovery of the electroretinogram, visually evoked cortical potential, and electrically evoked cortical potential following vitrectomy: Implications for acute testing of an implanted retinal prosthesis. JRRD (Journal of Rehabilitation Research & Development), march/april 2004; 41(2): 113-120.
119. Morterá Dantas A, et al. Electroretinografía. En: Electrofisiología ocular. Rio de Janeiro: Cultura Médica, 1995.
120. Müller F. Institute of structural biology and biophysics (ISB). [En línea]. Forschungszentrum Jülich: Germany. Actualizado 1 Jul. 2004. "Photoreception". [Última consulta: 18/07/10]. Disponible en: <<http://www.fz-juelich.de/isb/isb-1/photoreception>>
121. Myslivecek J. The development of the response to light flash in the visual cortex of the dog. Brain Res, 1968; 10: 418-430.
122. Naismith RT, et al. Optical coherence tomography is less sensitive than visual evoked potentials in optic neuritis. Neurology, 2009; 73(1): 46-52.
123. Narfström K, et al. Assessment of structure and function over a 3-year period after gene transfer in RPE65^{-/-}-dogs. Doc Ophthalmol, 2005; 111(1): 39-48.
124. Narfström K, et al. Clinical electroretinography in the dog with ganzfeld stimulation: a practical method of examining rod and cone function. Documenta Ophthalmologica, 1995; 90: 279-290.
125. Narfström K, et al. Guidelines for clinical electroretinography in the dog. Doc Ophthalmol, 2002; 105: 83-92.
126. Narfström K, et al. Recommendations for a harmonized ERG protocol. En: Proceedings of the 1st European Conference on Veterinary Visual Electrophysiology. Hebrew Univ Jerusalem (Israel), 2000; 1: 21-25.

127. Narfström K, Nilsson SE y Andersson BE. Progressive retinal atrophy in the Abyssinian cat: studies of the DC-recorded electroretinogram and the standing potential of the eye. *Br J Ophthalmol*, 1985; 69(8): 618-623.
128. Niemeyer G. Das Elektretinogramm: Nützlich und nicht kompliziert. *Ophta Schweizer. Fachzeitschrift augenärztliche Medizin*, 2004; 5: 7-13.
129. Odom JV, et al. ISCEV standard for clinical visual evoked potentials (2009 update). [En línea]. *Doc Ophthalmol*, 2010; 120: 111-119. [Última consulta: 20/07/10]. Disponible en: <http://www.iscev.org/standards/pdfs/VEP_Standard_2010.pdf>
130. Odom VJ, et al. Visual evoked potentials standard (2004). [En línea]. *Documenta Ophthalmologica*, 2004; 108: 115-123. [Última consulta: 19/07/10]. Disponible en: <<http://www.iscev.org/standards/pdfs/vep-standard-2004.pdf>>
131. Ofri R. Clinical electrophysiology in veterinary ophthalmology- the past, present and future. *Doc Ophthalmol*, 2002; 104: 5-16.
132. Ofri R. Optics and physiology of vision. En: Gelatt KN (Ed). *Veterinary Ophthalmology*. 4ª ed. Iowa: Blackwell synergy. 2007; 183-219.
133. Ofri R. The electroretinogram – a powerful, yet often ignored, tool in the diagnosis of retinal diseases. En: *Congress of the small animal veterinary association*, 21st. Jerusalem, 1996; 28.
134. Ogden TE. Clinical electrophysiology. En: Ryan SJ, Ogden TE (Eds). *Retina*. 2ª ed. St. Louis: Mosby-Year Book, 1994; 1: 321-332.
135. Papathanasiou ES y Papacostas SS. Flash electroretinography: normative values with surface skin electrodes and no pupil dilation using a standard stimulation protocol. *Doc Ophthalmol*, 2008; 116(1): 61-73.
136. Parisi V, et al. Correlation between Optical Coherence Tomography, Pattern Electroretinogram, and Visual Evoked Potentials in Open-angle Glaucoma Patients. *Ophthalmology*, 2001; 108: 905-912.
137. Parry HB, Tansley K y Thomson LC. The electroretinogram in the dog. *J Physiol*, 1953; 153(120): 28-40.
138. Pascual R Dr. Ocularis. El proyecto divulgativo sobre la visión. [En línea]. 17 Jul. 2006. “Visión binocular”. [Última consulta: 17/07/10]. Disponible en: <<http://ocularis.es/blog/?m=200607>>

139. Penkala K. Analysis of bioelectrical signals of the human retina (PERG) and visual cortex (PVEP) evoked by pattern stimuli. *Bulletin of the Polish Academy of Sciences. Technical Sciences*, 2005; 53(3): 223-229.
140. Peña Reyes H y Aguilar Rebolledo F. Potenciales evocados multimodales en trastornos neurológicos. *Plasticidad y Restauración Neurológica*, 2004; 3(1-2): 85-93.
141. Pérez-Cobo JC, et al. Visual Evoked Potentials in Response to Flashes in the Cat Cortex. *Revista Española de Fisiología*, 1994; 50(3): 183-190.
142. Perez-Salvador Garcia E. Valor clínico de la exploración electrofisiológica ocular, electroretinografía y potenciales evocados visuales, en los diferentes estadios evolutivos de las cataratas con relación a su pronóstico visual postoperatorio. Tesis doctoral. Universidad Complutense de Madrid. Facultad de Medicina. Madrid, Jul. 1999.
143. Perry VH, Oehler R y Cowey A. Retinal ganglion cells that project to the dorsal lateral geniculate nucleus in the macaque monkey. *Neuroscience*, 1984; 12(4): 1101-1123.
144. Pontes A, et al. Considerations about electroretinography in dogs. *Ciencia Rural, Universidad Federal de Santa Maria (Brasil)*, 2004; 34(1): 323-328.
145. Potenciales Evocados Visuales. PEV. Wikipedia, la enciclopedia libre. [En línea]. 2001. Actualizado Mayo, 2010. [Última consulta: 19/07/10]. Disponible en: <http://es.wikipedia.org/wiki/Potenciales_Evocados_Visuales>
146. Purves D, et al. *Neuroscience*. [En línea]. 2ª ed. Sunderland (MA): Sinauer Associates, 2001. "Part II: Sensation and Sensory Processing. Chapter 11: Vision: The Eye. Phototransduction". [Última consulta: 18/07/10]. Disponible en: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/bookshelf/br.fcgi?book=neurosci&part=A747>>
147. Qiu H, et al. Evidence that a-wave latency of the electroretinogram is determined solely by photoreceptors. *Jpn J Ophthalmol*, 2002; 46(4): 426-432.
148. Quian Quiroga R. Evoked Potentials. En: Webster JG (Ed). *Encyclopedia of Medical Devices and Instrumentation*. 2ª ed. Hoboken (Nueva Jersey): John Wiley & Sons, Inc. 2006; 233-246.
149. Ranc M. Différentes voies visuelles. En: Jauzein F (Ed). *Le cerveau*. [En línea]. 2006. Actualizado 12 Abr. 2010. [Última consulta: 16/07/10]. Disponible en: <http://acces.inrp.fr/acces/ressources/neurosciences/vision/vision_scientifique/differentes_voies_visuelles>

150. Reichenbach A y Robinson SR. The involvement of Müller cells in the outer retina. En: Djamgoz MBA, Archer SN, Vallerga S, (Eds). Neurobiology and clinical aspects of the outer retina. London: Chapman & Hall, 1995; 395-416.
151. Retina. Wikipedia. La enciclopedia libre. [En línea]. 2001. Actualizado 12 jul. 2010. [Última consulta: 10/08/10]. Disponible en: <http://es.wikipedia.org/wiki/Retina#cite_ref-Kierszenbaum_0-0>
152. Ridder WH y Nusinowtz S. The visual evoked potential in the mouse – origins and response characteristics. Vision Res, 2006; 46(6-7): 902-913.
153. Rigaudière F y Le Gargasson J-F. Explorations électrophysiologiques sensorielles: électrorétinogramme, électro-oculogramme, potentiels évoqués visuels. En su: Ophtalmologie. Paris: EMC Elsevier Masson SAS, 2007; 1-23.
154. Robson JG y Frshman LJ. Dissecting the dark-adapted electroretinogram. Doc Ophthalmol, 1999; 95: 187-215.
155. Rodieck RW. The vertebrate retina: principles of structure and function. San Francisco: W.H. Freeman and Company. 1973; 259.
156. Roland Consult®. EasyVEP-Glaucoma Screening PERG, PVEP, PERG. [En línea]. [Última consulta: 21/07/10]. Disponible en: <http://www.roland-consult.com/data/index.php?option=com_content&task=view&id=54&Itemid=91>
157. Roland Consult®. Electrophysiological diagnostic systems. Reti-com-FVEP, ISCEV ERG. [En línea]. [Última consulta: 21/07/10].
158. Ropo A, Ruusuvaara P y Setälä K. Visual evoked potentials after retrobulbar or periocular anaesthesia. Br J Ophthalmol, 1992; 76: 541-544.
159. Ropstad EO y Narfström K. The obvious and the more hidden components of the electroretinogram. EJCAP, 2007; 17(3): 290-296.
160. Rose GH y Lindsley DB. Development of visually evoked potentials in kittens: specific and nonspecific responses. J Neurophysiol, 1968; 31: 607-623.
161. Rose GH. The development of visually evoked electrocortical responses in the rat. Develop Psychobiol, 1968; 1: 35-40.
162. Rosolen SG, et al. Comparing the photopic ERG i-wave in different species. Vet Ophthalmol, 2004; 7(3): 189-192.

163. Rosolen SG, et al. Electrophysiologie Sensorielle Visuelle. Rappels anatomo-fonctionnels. Société Française d'Etudes et de Recherches en Ophthalmologie Vétérinaire (S.F.E.R.O.V.), 2000.
164. Rubin LF. Clinical electroretinography in dogs. J Am Vet Med Assoc, 1967; 151(1): 1456-1469.
165. Rudvin I y Valberg A. Flicker VEPs reflecting multiple rod and cone pathways. Vision Res, 2006; 46(5): 699-717.
166. Russell-Eggitt I, et al. Albinism in childhood: a flash VEP and ERG study. British Journal of Ophthalmology, 1990; 74: 136-140.
167. Safatle AMV, et al. Retinal degeneration in a Pit Bull dog: electroretinographic findings. Archives of Veterinary Science, 2005; 10(2): 119-124.
168. Samuelson DA. Ophthalmic anatomy. En: Gelatt KN (Ed). Veterinary ophthalmology. 3ª ed. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins. 1999; 31-150.
169. Sand T, et al. Visual evoked potential and spatial frequency in migraine: a longitudinal study. Acta Neurologica Scandinavica, 2009; 120(189): 33-37.
170. Santos A. El ojo y la visión. [En línea]. Madrid: ETSIT – Univ. Politécnica Madrid, 2003. [Última consulta: 20/08/10]. Disponible en: <<http://www.die.upm.es/cursos/insn/vision-1.pdf>>
171. Sasaki S, et al. Full-field ERGs obtained using a contact lens electrode with built-in high intensity white light-emitting diodes in beagle dogs can be applied to toxicological assessments. Toxicology letters, 2006; 166(2): 115-121.
172. Sato S, Sugimoto S y Chiba S. A procedure for recording electroretinogram and visual evoked potential in conscious dogs. Journal of pharmacological methods, 1982; 8: 173-181.
173. Saxton PM y Siegel J. Visual evoked potentials to light flash in cats: is a frontal sinus reference electrode truly indifferent? Electroencephalogr Clin Neurophysiol, 1983; 55: 350-354.
174. Schaeppi U y Liverani F. Procedures for routine electroretinography (ERG) in dogs. Agents Actions, 1977; 7(3): 347-351.
175. Schmolesky M Dr. The Primary Visual Cortex. En: Kolb H, Fernandez E y Nelson R (Eds). Webvision. The Organization of the Retina and Visual System.

[En línea]. Dec. 2000. [Última consulta: 17/07/10]. Disponible en: <<http://webvision.med.utah.edu/VisualCortex.html>>

176. Scott C, et al. Gender-selective effects of the P300 and N400 components of the visual evoked potential. *Vision Research*, 2008; 48: 917-925.

177. Shams L, et al. Sound alters visual evoked potentials in humans. *Cognitive Neuroscience and Neuropsychology. Neuro- Report*, 2001; 12(17): 3849-3852.

178. Shortland P y Hazell P. Neuroanatomy of the Auditory and Visual systems: Brain & behaviour. Microanatomy I. T. Practicals at QM. [En línea]. Queen Mary, University of London. Actualizado 27 Nov. 2000. [Última consulta: 20/07/10]. Disponible en: <<http://courses.stu.qmul.ac.uk/smd/kb/microanatomy/brain/CAL3/BaBy1CAL3.htm>>

179. Sims MH, et al. Effects of stimulus intensity and conditioning on the electroretinogram and oscillatory potentials in dark-adapted cats. *Progress in Veterinary Comperative Ophthalmology*, 1991; 1(3): 177-185.

180. Sims MH, et al. Waveform analysis and reproducibility of visual-evoked potentials in dogs. *Am J Vet Res*, 1989; 50(11): 1823-1828.

181. Sims MH. Electrodiagnostic evaluation of vision. En: Gelatt KN (Ed). *Veterinary Ophthalmology*. 3ª ed. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins, 1999; 483-510.

182. Sims MH. Partial masking of the canine electroretinogram by oscillatory potentials- to problem of frequency bandwidth. *Journal Veterinary Internal Medicine*, 1990; 4(1): 40-42.

183. Slatter D. Fundamentos de oftalmología veterinaria. 2ªed. Argentina: Inter-Médica, 1992.

184. Steiss JE. Electrodiagnostic Evaluation. En: Braund KG (Ed.). *Clinical Neurology in small animals- Localization, Diagnosis and Treatment*. Ithaca, New York, USA: International Veterinary Information Service (IVIS), 24 Feb. 2003.

185. Strain GM, et al. Postnatal development of brainstem auditory-evoked potentials, electroretinograms, and visual evoked potentials in the calf. *J Vet Intern Med*, 1989; 3: 231-237.

186. Strain GM, et al. Electroretinogram and Visual-evoked potential measurements in sheep. *Can J vet Res*, 1991; 55: 1- 4.

187. Strain GM, et al. Visual-evoked potentials and electroretinograms in ruminants with tiamine-responsive polioencephalomalacia or suspected listeriosis. *Am J Vet Res*, 1990; 51: 1513-1517.
188. Strain GM, Jackson RM y Tedford BL. Postnatal development of the visual-evoked potential in dogs. *Am J Vet Res*, 1991; 52(2): 231-235.
189. Strain GM, Jackson RM y Tedford BL. Visual Evoked Potentials in the Clinically Normal Dog. *Journal of veterinary internal medicine*, 1990; 4: 222-225.
190. Sturges BK. Neuro-ophthalmology: The Visible Nervous System. En: *Annual Veterinary Neurology Symposium*, 2nd, University of California, Davis, USA, 2005.
191. Takeuchi T, et al. Postnatal development of visual evoked potentials in Japanese Black Calves. *Japanese Journal of Physiology*, 1993; 43: 809-815.
192. Tanimoto N, et al. Vision tests in the mouse: functional phenotyping with electroretinography. *Frontiers in Bioscience*, 2009; 14: 2730-2737.
193. Teixeira JM, et al. Potenciales evocados visuales (PEV). *Perspectivas actuales. Rev Neurol*, 1998; 26(151): 451-458.
194. The McGraw-Hill Companies. McGraw-Hill's Electronic Image Banks for Psychology. [En línea]. 2002. "The visual pathway". [Última consulta: 23/07/10]. Disponible en: <<http://www.mhhe.com/socscience/intro/cafe/prof/image.htm>>
195. Tovar MC. Examen clínico en oftalmología: primera parte y segunda parte. *Consulta de difusión veterinaria*, 2002; 90: 47-53 y 55-60.
196. Uclés-Moreno P. Taller de electroretinografía y potenciales evocados visuales (Workshop on electroretinography and visual evoked potentials). *Rev Neurol*, 2003; 36(4): 391-394.
197. Urtubia Vicario C. *Neurobiología de la visión*. 2^a ed. Barcelona: Edicions UPC, Octubre, 1999.
198. Uzuka Y, et al. The establishment of a clinical diagnostic method of the Visual Evoked Potentials (VEPs) in the cat: the effects of recording electrode positions, stimulus intensity and the level of anesthesia. *Jpn J Ve. Sci*, 1989; 51(3): 547-553.

199. Valeria. El ojo humano: origen, desarrollo y visión monocular. [En línea]. 2005. [Última consulta: 19/07/10]. Disponible en: <<http://www.mailxmail.com/curso-ojo-humano-origen-desarrollo-vision-monocular>>
200. Vaughan DW. Histology Learning System. [En línea]. 25 Mar. 2002. “Eye. Lámina cribosa”. [Última consulta: 18/07/10]. Disponible en: <<http://www.bu.edu/histology/p/080091oa.htm>>
201. Weber AJ, et al. Experimental glaucoma and cell size, density and number in the primate lateral geniculate nucleus. *Invest Ophthalmol Vis Sci*, 2000; 41: 1370-1379.
202. Werblin F. Exploring the Brain. [En línea]. 2008. “Visual Cortex”. [Última consulta: 16/07/10]. Disponible en: <<http://mcb.berkeley.edu/courses/mcb64/cortex.html>>
203. Witzel DA, et al. Arsanilic acid-induced blindness in swine: electroretinographic and visually evoked responses. *Am J Vet Res*, 1976; 37: 521-524.
204. Yamashita H, et al. Full-field electroretinography obtained using a contact lens electrode with built-in high-intensity white-light-emitting diodes can be utilized in toxicological assessments in rats. *Ophthalmic research*, 2009; 42(1): 15-20.
205. Yanase J y Ogawa H. Effects of halothane and sevoflurane on the electroretinograms of dogs. *American Journal of Veterinary Research*, 1997; 58(8): 904-909.
206. Zemon V y Ratliff F. Visual evoked potentials: evidence for lateral interactions. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1982; 79: 5723-5726.