

MARIO TERUO SATO

**CONTRIBUIÇÃO PARA A NORMATIZAÇÃO DO ELETORRETINOGRAMA EM
PACIENTES NORMAIS, DISTRIBUÍDOS POR SEXO E FAIXA ETÁRIA NO
HOSPITAL DE CLÍNICAS DA UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ.**

Dissertação apresentada como requisito parcial à
obtenção do grau acadêmico de Mestre. Programa de
Pós-Graduação em Clínica Cirúrgica, Setor de
Ciências da Saúde da Universidade Federal do Paraná.

Orientador: Prof. Dr. Carlos Augusto Moreira Jr.

Coordenador: Prof. Dr. Antônio Carlos L. Campos

CURITIBA

2000

MÁRIO TERUO SATO

**CONTRIBUIÇÃO PARA A NORMATIZAÇÃO DO ELETORRETINOGRAMA EM
PACIENTES NORMAIS, DISTRIBUÍDOS POR SEXO E FAIXA ETÁRIA NO
HOSPITAL DE CLÍNICAS DA UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ.**

Dissertação apresentada como requisito parcial à
obtenção do grau acadêmico de Mestre. Programa de
Pós-Graduação em Clínica Cirúrgica, Setor de
Ciências da Saúde da Universidade Federal do Paraná.

Orientador: Prof. Dr. Carlos Augusto Moreira Jr.

Coordenador: Prof. Dr. Antonio Carlos L. Campos

CURITIBA

2000

Dedico esta dissertação à minha esposa Rumi, pelo apoio e compreensão durante a realização deste trabalho

Dedico também aos meus pais Katuzo e Tereza pelo apoio e estímulos dados na minha educação.

AGRADECIMENTOS

Ao meu orientador Prof. Dr. Carlos Augusto Moreira Júnior, pelo apoio e incentivo na realização de pesquisas científicas.

Ao Prof. Dr. Carlos Augusto Moreira que durante a residência me ensinou à prática da oftalmologia.

Ao Prof. Walter Yukihiro Takahashi, pelas orientações e conselhos na realização do eletrorretinograma.

Ao Prof. Osvaldo Malafaia, ex-Coordenador do Programa de Pós-Graduação em Clínica Cirúrgica e Prof. Dr. Antonio Carlos Ligocki Campos, atual Coordenador do referido Programa, pela oportunidade oferecida para a realização deste trabalho.

Aos Professores, médicos, secretarias e enfermeiras da Disciplina de Oftalmologia do Hospital de Clínicas da Universidade Federal do Paraná, pelo apoio durante a elaboração deste trabalho.

Aos residentes da Disciplina de Oftalmologia do Hospital de Clínicas da Universidade Federal do Paraná, pela seleção dos pacientes normais.

A enfermeira Márcia Fatima Dlugokenshi, que ajudou como modelo nas fotos de fixação dos eletrodos para a realização do eletrorretinograma.

Aos estatísticos Aldemir Junglos da Assessoria de Planejamento do Hospital de Clínicas da Universidade Federal do Paraná, pela análise estatística.

A secretária Edlaine Araújo dos Santos do Programa de Pós-Graduação em Clínica Cirúrgica da Universidade Federal do Paraná, pela ajuda na diagramação desta dissertação.

Ao fotógrafo João Dias Betim, pelas fotos da sala de exames.

Ao Prof. Clóris Porto Torquato do Departamento de Letras da Universidade Federal do Paraná, que corrigiu esta dissertação.

A todos que de maneira direta e indireta ajudaram na realização das diferentes etapas desta dissertação, meu reconhecimento e gratidão.

Ao CNPq, pela oportunidade e privilégio de atuar como bolsista dessa respeitável instituição.

SUMÁRIO

LISTA DE ABREVIATURAS, SIGLAS E SÍMBOLOS	vi
LISTA DE FIGURAS	vii
LISTA DE GRÁFICOS	ix
LISTA DE TABELAS	x
RESUMO	xi
ABSTRACT	xii
1 INTRODUÇÃO	1
2 REVISÃO DA LITERATURA	3
2.1 HISTÓRICO	3
2.2 FISIOLOGIA DA RETINA E ORIGENS DO ERG	5
2.3 FOTOQUÍMICA DA VISÃO E INÍCIO DO POTENCIAL DE AÇÃO	7
2.4 ELEMENTOS DO ERG	11
2.5 APLICAÇÕES CLÍNICAS DO ERG	13
2.6 FATORES QUE INTERFEREM NA REALIZAÇÃO DO ERG	15
2.7 NORMATIZAÇÃO DO ERG	16
2.8 OBJETIVOS	23
2.9 PACIENTE E MÉTODOS	23
2.9.1 Seleção de pacientes	23
2.9.2 Preparação do paciente	24
2.9.3 Descrição do aparelho	26
2.9.4 Programação do computador	28
2.9.5 Fixação dos eletrodos	28
2.9.6 Realizando o teste	33

2.9.7	Análise do traçado eletrorretinográfico.....	34
2.10	Avaliação estatística.....	39
3	RESULTADOS	40
4	DISCUSSÃO	51
5	CONCLUSÕES	57
	ANEXOS	58
	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	64

LISTA DE ABREVIATURA, SIGLAS E SÍMBOLOS

μv	- microvolts
<	- menor
>	- maior
cd-sm ²	- candela segundos por metro quadrado
cGMP	- Metabolismo do nucleotídeo cíclico
EOG	- Eletro-oculograma
EPR	- Epitélio pigmentado da retina
ERG	- Eletrorretinograma
F	- feminino
fig.	- figura
Hz	- Hertz
IC	- intervalo de confiança
ICI	- intervalo de confiança inferior
ICS	- intervalo de confiança superior
ISCEV	- <i>International Society for Clinical Electrophysiology of Vision</i>
J	- joule
K	- potássio
KD	- kilodaltons
L	- esquerdo
Log	- logarítimo
M	- masculino
Méd	- médio
META	- Metarodopsina
mm	- milivolts
ms	- milisegundos
mv	- milivolts
Na	- sódio
OD	- olho direito
OE	- olho esquerdo
<i>p</i>	- probabilidade
PRP	- potencial receptor precoce
PVE	- potencial visual evocado
R	- direito
<i>r</i>	- coeficiente de correlação
RBP	- Proteína de ligação do retinol
RO	- Rodopsina
SBPR	- Proteína de ligação do soro retinol
SD	- desvio padrão
SF	- Flash estandardizado (<i>Standard flash</i>)
<i>t</i>	- teste <i>t</i> de Student

LISTA DE FIGURAS

FIGURA 1 - Anatomia básica da retina dividida por camadas, tipos celulares e diferentes potenciais eletrofisiológicos.....	7
FIGURA 2 – O efeito da luz sobre a atividade da membrana plasmática nos bastonetes.....	9
FIGURA 3 - Distribuição das cargas elétricas oriundas da retina.....	11
FIGURA 4 a - e - Respostas normais do ERG obtidas através do protocolo estandardizado (ISCEV).	22
FIGURA 5 - Sala onde é realizado o ERG.....	25
FIGURA 6 - Paciente mantido na sala do ERG com os olhos cobertos por uma máscara preta.....	25
FIGURA 7 – Visão de perfil do EPIC-2000.....	26
FIGURA 8 – Visão frontal do EPIC –2000.....	27
FIGURA 9 - Sistema de interconexões do EPIC-2000.....	27
FIGURA 10 - Eletrodo EKG conectado ao pino conector do eletrodo negativo.....	28
FIGURA 11 – Eletrodo neutro (<i>ground</i>).	29
FIGURA 12 - ERG <i>Jet-electrodes</i> (lente de contato).	30
FIGURA 13 - Cabo do paciente com todos os eletrodos conectados.....	31
FIGURA 14 – Eletrodos conectado na paciente e ao cabo do paciente.....	32
FIGURA 15 - Paciente em posição de exame na cúpula de Ganzfeld.....	32
FIGURA 16 – Resultados do exame projetadas na tela do EPIC-2000.....	34
FIGURA 17 – Definições de latência, tempo de culminação e amplitude.....	35
FIGURA 18 - Etapa 1 do ERG: escotópico flash simples (24 dB), resposta dos bastonetes – escotópico <i>b</i>	36
FIGURA 19 - Etapa 2 do ERG: escotópico flash simples (0 dB), resposta máxima, cursor em <i>a1</i>	36
FIGURA 20 - Etapa 2 do ERG: escotópico flash simples (0 dB), resposta máxima, cursor em <i>b1</i>	37

FIGURA 21 – Etapa 3 do ERG: escotópico flash simples (0 dB), potenciais oscilatórios.....	37
FIGURA 22 – Etapa 4 do ERG: fotópico, flash simples (0 dB), resposta dos cones – fotópico <i>b</i>	38
FIGURA 23 – Etapa 5 do ERG: fotópico, 30Hz <i>flicker</i> (0 dB), resposta pura dos cones.....	38
FIGURA 24 – Exemplifica a alta correlação entre o OD e o OE ($r=0,90$), na etapa 5 do ERG fotópico, 30Hz <i>flicker</i>	41
FIGURA 25 – Resposta escotópica <i>b</i> (0 dB), demonstração da diferença entre latência e tempo de culminação.....	52

LISTA DE GRÁFICOS

GRÁFICO 1 – Amplitude (μv) e o tempo de culminação (ms) para a resposta escotópica <i>b</i> (E 24) por faixa etária.....	46
GRÁFICOS 2 - Amplitude (μv) e o tempo de culminação (ms) da onda <i>a</i> e <i>b</i> da resposta máxima escotópica (EOA e EOB) por faixa etária.....	46
GRÁFICO 3 - Amplitude (μv) e o tempo de culminação (ms) para a resposta aos potenciais oscilatórios (PO) por faixa etária.....	47
GRÁFICO 4 - Amplitude (μv) e o tempo de culminação (ms) para a resposta fotópica <i>b</i> (FO) por faixa etária.....	47
GRÁFICO 5 - Amplitude (μv) e o tempo de culminação (ms) para a resposta ao <i>flicker</i> 30 Hz (FL) por faixa etária.....	48

LISTA DE TABELAS

TABELA 1 – Média da faixa etária por sexo e	40
TABELA 2 – Média geral entre o sexo, desvio padrão e intervalo de confiança.....	40
TABELA 3 - Cálculo da correlação entre os olhos em todas as etapas do ERG.	41
TABELA 4 – Médias das idades, sexo e etapas do ERG. Amplitude (μv) e o tempo de culminação (ms).....	43
TABELA 5 - Comparação entre os sexos por faixa etária e todas as etapas do ERG. Amplitude (μv)e tempo de culminação (ms)	44
TABELA 6 - Cálculo da diferença entre os grupos etários em todas as etapas do ERG. Amplitude (μv)e tempo de culminação (ms).....	45
TABELA 7 – Limites de normalidade (Intervalo de confiança de 95%) em todas as etapas, independente da faixa etária. Amplitude (μv) e tempo de culminação (ms).....	49
TABELA 8 - Limites de normalidade (intervalo de confiança de 95%) em todas as etapas do ERG por faixa etária. Amplitude (μv) e tempo de culminação (ms).....	50

RESUMO

O eletrorretinograma (ERG) é um exame sensível, de difícil realização e sujeito a influência de vários fatores, tais como: tipos diferentes de eletrodos, aparelhos, características da população em estudo (raça, idade e sexo) e do meio ambiente. Portanto cada serviço deve ter a sua própria normatização para se comparar com pacientes anormais. Neste trabalho foram avaliados 40 pacientes com exame oftalmológico normal, separados por sexo e estratificados por faixa etária de 8-65 anos (intervalo de 20 anos) a fim de se proceder a normatização do ERG, de acordo com o protocolo estandardizado preconizado pelo ISCEV (*Internatinal Society for Clinical Electrophysiology of Vision*). Todos os exames foram realizados no ambulatório de oftalmologia do Hospital de Clínicas da Universidade Federal do Paraná. Os resultados demonstraram que houve grande correlação entre os olhos direito e esquerdo ($r=0,90$) e diferenças significativas a 5 % no teste *t* nas seguintes respostas do ERG, separados por faixa etária: 1) diminuição da amplitude (μv) da onda escotópica *b*, onda *a* e *b* (resposta máxima) com a idade e; 2) aumento do tempo de culminação (ms) da onda *b* (resposta máxima), fotópico *b* e *flicker* até os 60 anos. Não houve diferenças significativas na análise de variância (ANOVA) em quaisquer respostas, sem separação por faixa etária e na média entre os sexos. A partir desses cálculos estatísticos, foram obtidas duas tabelas dos limites da normalidade, uma sem separação por faixa etária ($n=40$), com intervalo de confiança da amplitude (μv) e tempo de culminação (ms) de 95% de confiança; outra com o mesmo intervalo de confiança, tendo a amplitude (μv) e tempo de culminação (ms) separados por faixa etária ($n=10$).

ABSTRACT

The electroretinogram (ERG) is a sensible examination, of difficult accomplishment and subject to influence many factors, such as: different types of electrodes, devices, features of the population in study (race, age and sex) and the environment. Therefore each service must have its proper normalization to compare with abnormal patients. In this work 40 patients with normal ophthalmological examination were evaluated, separated by sex and stratified by age band of 8-65 years (interval of 20 years) in order to proceed the standardization of the ERG, in accordance with the standard protocol praised by the ISCEV (International Society for Clinical Electrophysiology of Vision). All the examinations were carried through in the clinic of ophthalmology of the Hospital de Clínicas da Universidade Federal do Paraná. The results demonstrated that there was great correlation between the right and left eyes ($r=0,90$) and 5 % of significant differences in test t in the following responses to the ERG, separated by age band: 1) reduction of the amplitude of scotopic b wave, a and b wave (maximal response) by age and; 2) increase of the implicit time of b wave (maximal response), photopic b and flicker until 60 years of age. There weren't any significant differences in the analysis of variance (ANOVA) in any responses, without splitting by age band and in the average between the sex. Through these statistical calculations, two tables of normality limits were obtained, one without splitting by age band ($n=40$), with reliable interval of the amplitude (μv) and implicit time (ms) of 95 %; another one with the same reliable interval, having the amplitude (μv) and implicit time (ms) separated by age band ($n=10$). The results of the present study allow that the examination of electroretinography carried through in the clinic of ophthalmology of the Hospital de Clínicas da Universidade Federal do Paraná, can have clinical applications and be compared with results of other services.

1 INTRODUÇÃO

No sistema nervoso, a reação elétrica serve como o meio mais refinado para estudar a organização e mecanismo do funcionamento deste sistema. Aplicados à retina, os métodos eletrofisiológicos têm mostrado sucesso em oferecer evidência concreta, através de medidas de uma única reação celular, de modelos da atividade nervosa produzida na retina por estímulos de intensidade, duração e contraste diferentes.

O eletrorretinograma (ERG) é definido como a medida da resposta elétrica produzida na retina, seguida por vários estímulos luminosos padronizados, em referência ao lado externo dos olhos NOELL, (1954). É uma resposta em massa da retina a estímulos visuais pelos quais se obtém gráfico de um potencial de ação. Estas respostas são registradas no aparelho de ERG como ondas, acoplados a um computador. Com estas ondas, podemos analisar as respostas elétricas de diferentes camadas da retina, exceto a das células ganglionares e do (epitélio pigmentado da retina=EPR). (BRUNETTE, 1982). Juntamente com o eletroculograma=EEOG mede o potencial corneo-retiniano e o potencial visual evocado=PVE (que são respostas fornecidas pelo córtex occipital com a chegada da mensagem visual, a qual se origina na retina estimulada pela luz), compõe os exames realizados na eletrofisiologia ocular. (GONÇALVES e ORÉFICE, 1987).

Na realização do exame, são necessários: aparelhagem de registro, eletrodo para captar a resposta elétrica proveniente da retina e o estímulo luminoso.

Várias condições interferem no ERG, como modelo do aparelho, condições locais, interferência do meio ambiente (ondas eletromagnéticas) e características da população em estudo (raça, idade e sexo). Portanto, os resultados de outros serviços não podem ser usados como padrão o que torna necessário que cada serviço tenha a sua própria normatização. (GALLOWAY, 1992; WEINSTEIN, 1989; GOURAS 1970).

AYLWARD et al., (1990) estudou a variação do ERG com a idade a partir de vários parâmetros, como a análise da intensidade da resposta e o limiar da resposta escotópica entre outros, e encontrou uma ampla variação desses parâmetros, particularmente naqueles baseados na amplitude. As variações em ordem crescente foram de : 1) entre as sessões, 2) entre os olhos e 3) entre os pacientes.

O ERG tem uma aplicação ampla e variada e é imprescindível para o diagnóstico e diferenciação de diversas patologias, tais como: distrofias e degenerações retinianas, doenças

genéticas ou que acompanham síndromes, acompanhamento de processos isquêmicos de doenças vasculares, e avaliação da função retiniana em pacientes com meios opacos, como nas cataratas e opacificações corneanas. (KRILL, 1970; DANTAS, 1995)

A fim de ter dados para comparar com pacientes que tenham exame anormais, principalmente em pacientes que tenham exames dúbios e nos limiares da normalidade e para que o exame tenha validade, é de suma importância que cada serviço tenha os seus limites de normalidade da amplitude (microvolts= μv) e do tempo de culminação (milisegundos= ms) das ondas das diversas respostas que contém o ERG num intervalo de confiança de 95 %. (PARANHOS et al., 1997; COSTA et al., 1998).

2 REVISÃO DA LITERATURA

2.1 HISTÓRICO

As alterações elétricas foram detectadas pela primeira vez por DU BOIS REYMOND (1849), que registrou o “potencial de repouso” que aparece entre a córnea e o polo posterior do olho, através de um galvanômetro. HOLMGREN, (1865), evidenciou em olho de rã as variações do potencial elétrico quando o mesmo era colocado frente a um estímulo luminoso. A esta variação ele chamou de “corrente retiniana, “corrente de iluminação” ou “potencial de ação”, fenômeno este que mais tarde seria chamado de ERG.

DEWAR e McKENDRICK, (1873), obtiveram variações de amplitude da resposta elétrica ocular em função dos vários estímulos luminosos. Inicialmente, colocaram eletrodos sobre a córnea e o polo posterior do olho.

DEWAR, (1877), registrou o primeiro “potencial de ação” humano.

KUHNE e STEINER, (1880), trabalhando com a retina atribuíram à esta a origem do ERG. Em 1881, os mesmos autores relataram que o potencial se originava ao nível de cones e bastonetes.

Muitas técnicas foram desenvolvidas desde então. GOTCH, (1903), usando um eletrômetro capilar, obteve o primeiro ERG parecido com o atual.

BRUCKE e GARTEN, (1907), usando um galvanômetro de corda, demonstraram que os olhos de vertebrados reagem de forma idêntica a de outros animais, quando estimulados pela luz.

EITHOVEN e JOLLY, (1908), subdividiram a resposta elétrica da retina à luz em 3 componentes: *a* (negativo), *b* (positivo), *c* (positivo).

HARTLINE (1925), demonstrou que o potencial registrado com um eletrodo situado na córnea era idêntico ao tipo de resposta obtida pela colocação de um eletrodo na superfície exposta da retina.

Coube a GRANIT, (1933), os maiores avanços da técnica de eletrorretinografia. Usando técnicas de oclusão da circulação carotidiana e narcose pelo éter em gatos, ele conseguiu desdobrar o ERG em seus componentes. Ele conclui que o ERG representa a soma de 3 ondas, chamadas de componentes PI, PII e PIII. Estes componentes são indicados na ordem de seu desaparecimento, sob narcose profunda, de forma que o PI é o primeiro a

desaparecer e corresponde à onda *c*. PII, corresponde a onda *b* e, finalmente PIII que corresponde à onda *a*.

Muitas dificuldades foram encontradas no desenvolvimento do ERG, principalmente na colocação de eletrodo adequado sobre o olho, devido ao movimento ocular e das pálpebras. MOTOKAWA E MITA, (1942), tentaram vencer estas dificuldades colocando os eletrodos sobre a pele próxima aos olhos. Entretanto, o problema somente foi resolvido por RIGGS, (1941), que empregou uma lente de contato, com um disco de prata cimentado dentro do buraco de contato da lente, como eletrodo no registro do ERG.

O ERG sai dos laboratórios, nesta época, pelas mãos de KARPE (1945), que iniciou a eletrorretinografia clínica. Ele é considerado o fundador da eletrorretinografia clínica.

ADRIAN (1944,1945), fez a diferenciação entre o componente fotópico e escotópico da onda *b* do ERG humano.

Várias modificações seguiram-se desde então nas lentes de contato. A modificação que mais se adaptou à aplicação clínica prática foi a lente de contato de BURIAN e ALLEN, (1954).

COBB e MORTON, (1954), descrevem os potenciais oscilatórios que apresenta se de elevações superpostas na fase ascendente da onda *b*.

BROWN e MURAKAMI, (1964), descobriram o potencial receptor precoce (PRP), que precede a onda *a* do ERG, em oposição ao potencial receptor tardio (PRT) ou ERG.

No nosso meio, QUEIROGA, (1953), após estágio na clínica do Prof. KARPE, iniciou o estudo da eletrorretinografia no Brasil, aplicando o à clínica. QUEIROGA (1967), estudou o ERG e registrou os traçados em vários caso patológicos. GONÇALVES, (1971-a), revisou os princípios de eletrorretinografia e apresentou um protocolo para se registrar o ERG. GONÇALVES, (1971-b), estudou o efeito dos danos retinianos em coelhos, provocados pela crioretinopexia e diatermia transesclerais através do ERG, analisando a onda *a* (atividade do sistema fotópico-cones) e onda *b* (sistema escotópico-bastonetes). DANTAS e cols., (1973), estudaram o princípio de eletroneurofisiologia e suas aplicações na clínicas. PACINI, (1979), estudou a fotoquímica dos pigmentos visuais, bem como os diversos componentes das ondas do ERG. DANTAS e cols., (1986), visaram, em seu trabalho as origens dos potenciais do ERG, EOG e PVE e suas aplicações clínicas.

2.2 FISIOLOGIA DA RETINA E ORIGENS DO ERG

A retina é uma fina e transparente estrutura que se desenvolve durante a diferenciação da camada interna e externa do disco óptico. A camada externa é composta pelo epitélio pigmentado da retina e a camada interna pela retina neurosensorial. A separação entre essas duas camadas é denominada de descolamento de retina.

O epitélio pigmentado da retina é formado por uma camada hexagonal de células que se estende anteriormente ao disco óptico até a ora serrata, e continua com o epitélio do corpo ciliar. Tem como principais funções o metabolismo da vitamina A, manutenção da barreira hemato-retiniana externa, fagocitose do segmento externo dos fotorreceptores, absorção da luz, produção de mucopolissacarídeos da matriz que envolve o segmento externo dos fotorreceptores, formação da lamina basal e o transporte ativo de substâncias entre o interior e exterior da célula.

O EPR de célula adjacentes é firmemente atado por uma série de adesões intercelulares chamada de “complexos juncionais”. A zônula de oclusão e zônula de adesão tem importante função na manutenção da barreira externa hemato-retiniana.

A retina neurosensorial é composta por neurônios, glia e elementos vasculares.

Os elementos neuronais são formados por células neuroepiteliais altamente especializadas que são os cones e bastonetes. As células horizontais fazem sinapses com os cones e bastonetes na camada plexiforme externa. As células bipolares são orientadas verticalmente, seus dendritos fazem sinapses com os fotorreceptores, e seus axônios fazem sinapses com as células ganglionares e amácrimas. Os axônios das células ganglionares tendem a ser paralelos à superfície interna da retina onde eles formam a camada de fibras nervosas e o nervo óptico.

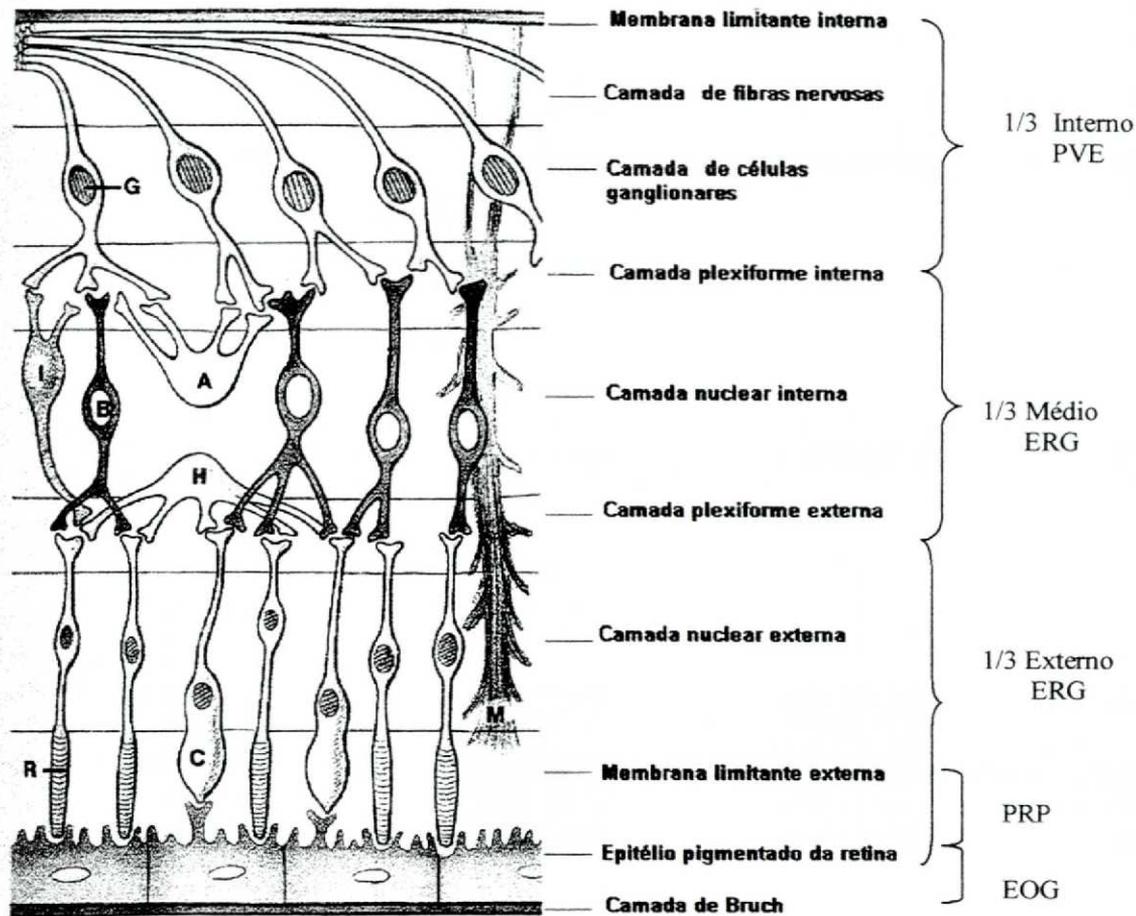
Os elementos gliais são formados pelas células de Müller que se estendem verticalmente da membrana limitante externa para a membrana limitante interna. Estas células são responsáveis pelo suporte estrutural e nutricional da retina junto com outros elementos gliais, tais como: astrócitos, microglia e oligodendrócitos.

Os elementos vasculares são responsáveis pela perfusão da porção interna da retina, através dos ramos da artéria central da retina. Em 30 % dos olhos a artéria ciliarretiniana também perfunde a camada interna da retina. Os vasos da retina são semelhantes aos vasos do

cérebro e são responsáveis pela manutenção da barreira hemato-retiniana interna, que é formada por camada simples de células endoteliais não fenestradas com junções apertadas.

A retina pode ser dividida em três níveis anatômicos principais que correspondem a sua atividade elétrica (figura 1). O terço externo que é limitado pela membrana limitante externa e camada plexiforme externa, contém os fotorreceptores (cones, bastonetes e seus axônios), que são responsáveis pela onda *a* do ERG, e o EPR que contribui para o EOG. O Terço médio, que é limitada pela camada plexiforme externa e interna, é composto por corpos celulares da camada nuclear interna e suas intrincadas organizações sinápticas. Estas células são as bipolares, horizontais, amácrimas e células de Müller; a combinação das células bipolares e as de Müller originam a onda *b* do ERG. Esta camada também é responsável pela origem dos potenciais oscilatórios. Somente uma categoria de células é encontrada no terço interno que está entre a camada plexiforme interna e a membrana limitante interna: são as células ganglionares, responsáveis pelo PEV. O terço interno não contribui para o ERG. O terço externo depende da circulação coroideana e a porção média e interna depende da artéria central da retina para o seu metabolismo e nutrição.

Figura 1 – Anatomia básica da retina dividida por camadas, tipos celulares e diferentes potenciais eletrofisiológicos.



Anatomia básica da retina dividida por camadas, tipos celulares e diferentes potenciais eletrofisiológicos. EOG=eletro-oculograma, PRP=potencial receptor precoce, ERG=eletrorretinograma e PVE=potencial visual evocado.

C=cones, R=bastonetes, H=células horizontais, B=células bipolares, M=células de Müller, A células amácrimas, G=células ganglionares e I=células plexiforme interna.

BRUNETTE (1969); TRIPATHI, et al., (1999)

2.3 FOTOQUÍMICA DA VISÃO E INÍCIO DO POTENCIAL DE AÇÃO

O segmento externo da membranas dos fotorreceptores (cones e bastonetes) contém proteínas que são conhecidas como pigmentos visuais; elas absorvem a luz e iniciam a excitação visual. Estas proteínas moleculares estão encravadas em uma camada dupla de lipídios.

As membranas de lipídios dos fotorreceptores é formada por uma camada dupla que cria uma barreira passiva permeável para os íons e proporciona uma matriz estável em que a membrana proteica da rodopsina (opsina) possa ser firmemente aderida. A rodopsina é uma

proteína que está presente nos discos e na membrana plasmática do segmento externo dos bastonetes e é responsável por converter a luz em sinal químico.

Pigmentos visuais de quatro classes ocorrem na retina humana: rodopsina nos bastonetes e três pigmentos sensíveis a cores nos cones. O segmento externo de cones e nos bastonetes possuem somente um tipo de pigmento visual por célula. Baseados na absorção espectral, os pigmentos dos cones são caracterizados como sensíveis a comprimento longo de ondas (570 nm) ou vermelho, sensíveis a comprimento médio de ondas (540 nm) ou verde e ao comprimento curto de ondas (440 nm) ou azul. A substância cromófora é o 11-cis-retinaldeído nas quatro classes de pigmentos visuais.

Na dinâmica dos pigmentos visuais (rodopsina), a absorção de um fóton pela molécula de pigmento visual (rodopsina) é o evento inicial da excitação visual. Segue-se uma variedade de reações. Algumas são envolvidas na transmissão da mensagem visual para o córtex occipital. A resposta evocada pela luz nos fotorreceptores é associada às seguintes mudanças: na química do pigmento visual (rodopsina), no metabolismo da vitamina A e no metabolismo do GMP cíclico (Guanidina monofosfato cíclico).

Na rodopsina a resposta evocada pela ação da luz na excitação visual é a de isomerizar o 11-cis-retinaldeído para todo-trans-retinaldeído.

No metabolismo da Vitamina A, os principais isômeros geométricos no olho são a forma 11-cis e todo-trans. A maior parte dos componentes da vitamina A no olho são encontrados no segmento externo da retina e no EPR. Esta vitamina presente no EPR é derivada de três fontes: a circulação sistêmica, ingestão do material do segmento externo dos bastonetes (fagossomas) e liberação que ocorre durante o mecanismo de descoloração do pigmento visual nos fotorreceptores.

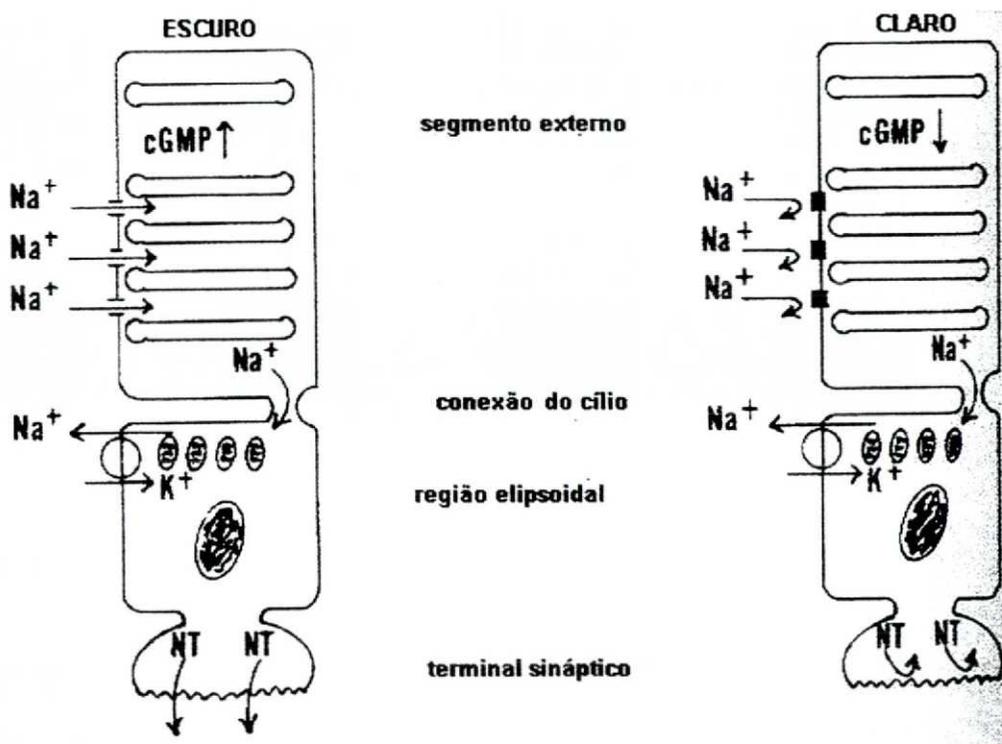
Quase todo os componentes da vitamina A no segmento externo do bastonetes existe na forma 11-cis-retinaldeído. A vitamina A é estocada no fígado como éster de retinil, podendo ser hidrolizado para a forma retinol e ácido graxos livres. O retinol combina-se com a proteína de ligação do soro retinol (SRBP) de 21 KD. Este complexo liga-se no soro a uma proteína, a pré-albumina, o complexo RBP-pré-albumina (76KD) penetra na membrana de Bruch e interage com receptores específicos no lado basal do EPR. A proteína então se separa da vitamina A que entra na membrana do EPR. Todo o RBP (proteína de ligação do retinol) isolado no plasma humano contém exclusivamente a forma todo-trans-retinol. O EPR tem

dois papéis importantes no metabolismo da vitamina A os quais são a estocagem dos ésteres de retinil e isomeração do todo-trans-retinil éster.

A transdução de sinal na retina é controlada pela GMP cíclico, cuja hidrólise é desencadeada pela reação de descoloração da rodopsina. A rodopsina fotoexcitada dispara uma cascata enzimática que resulta na hidrólise do GMP cíclico, através da transducina (proteína G), que ativa a fosfodiesterase a qual hidrolisa o GMP cíclico. A queda da concentração do GMP cíclico induzida pela luz fecha os canais cátion-específicos da membrana citoplasmática dos fotorreceptores.

A figura 2. Mostra o mecanismo de despolarização e hiperpolarização dos bastonetes.

Figura 2 – O efeito da luz sobre a atividade da membrana plasmática nos bastonetes.



No escuro um nível alto de GMP cíclico no segmento externo mantém os canais de sódio abertos, permitindo a entrada passiva de sódio no segmento externo. Íons de sódio difundem-se através das conexões dos cílios para o segmento interno e são ativamente extruídos para a matriz interfotorreceptora por uma Na⁺/K⁺ATPase localizada na membrana plasmática das mitocôndrias na região elipsoidal. No escuro as células se despolarizam e os neurotransmissores (NT) são liberados no terminal sináptico, este movimento de sódio é chamada de corrente escura. Na luz a diminuição do nível de GMP cíclico (cGMP) que leva ao fechamento dos canais de sódio no segmento externo dos bastonetes, levando a hiperpolarização da célula e diminuição na liberação dos neurotransmissores.

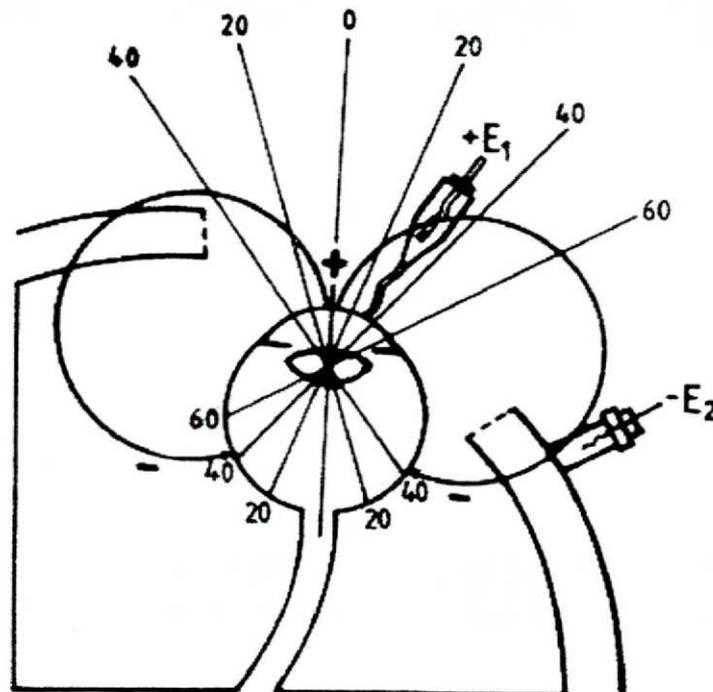
HARGRAVE (1992); McDOWELL (1992).

No processamento de sinais na retina, os neurônios da retina têm duas propriedades semelhantes a outros neurônios no sistema nervoso central e periférico que são: a geração e condução de sinais bioelétricos ao longo da superfície da membrana e a excitação ou inibição específica que são associadas aos neurônios por sinais químicos. A transmissão elétrica é mediada por mudanças no potencial da membrana, causada por um fluxo de íons através da membrana plasmática das células. A transmissão química é desencadeada pela estimulação elétrica. Isto envolve a liberação dos neurotransmissores da célula pré-sináptica e a difusão deste para o espaço extracelular chamada “fenda sináptica” quanto para a célula pós-sináptica, que é excitada ou inibida pelo neurotransmissores.

A transferência de informações visuais através dos elementos celulares da via visual resulta de uma cadeia elétrica e de reações de estimulação químicas, cada qual desencadeada por um evento prévio. O estímulo inicial na retina é a resposta elétrica (hiperpolarização) dos fotorreceptores à luz (cones e bastonetes), a saída final de informações da retina é a descarga elétrica gerada nas células ganglionares que viajam ao longo dos axônios das células ganglionares até o córtex visual. Entre o estímulo inicial e a saída final das informações, vários ciclos de transmissão elétrica e química ocorrem nos neurônios da retina. Estes passos intermediários são responsáveis pelo processamento das informações visuais na retina.

A retina é um tecido carregado eletricamente, ou seja, as camadas mais externas são eletronegativas e as mais internas eletropositivas. A retina funciona como o centro de um gerador polarizado em torno do qual se estende um amplo campo elétrico (figura 3), a eletropositividade das camadas internas migra para a córnea e a negatividade das camadas externas vão para a região periocular. A luz ao incidir na retina é absorvida pelos pigmentos visuais nos fotorreceptores, fato que provoca a isomerização dos pigmentos, resultando na hiperpolarização pela impossibilidade para o íon sódio de penetrar na célula. Este processo resulta na primeira deflexão negativa no ERG que é a onda *a*. A liberação de íons K^+ pela células bipolares induzirá a despolarização das células de Müller. Tal processo se traduzirá na onda *b* do ERG.

Figura 3 – Distribuição das cargas elétricas oriundas da retina.



A córnea recebe a eletropositividade das camadas internas (captada pelo eletrodo E1=lente de contato) e a região periorbital recebe a eletronegatividade das camadas externas (captada pelo eletrodo E2=eletrodo negativo que se fixa na frente).

GONÇALVES E ÓREFICE, (1987).

2.4 ELEMENTOS DO ERG

O PRP antecede a onda *a* do ERG com latência inferior a 1 segundo.

Para registrá-lo, é necessário um estímulo luminoso breve e bastante intenso, cerca de 100.000 vezes mais potente do que os normalmente usado em eletrorretinografia. O PRP foi descoberto por BROWN e MURAKAMI (1964), que encontraram uma resposta elétrica sem latência detectável através de microeletrodos inseridos no segmento interno dos fotorreceptores. O PRP resultaria do deslocamento de cargas elétricas nas moléculas do pigmento visual. É composta por duas ondas: *R1*, inicial e positiva seguida, da *R2* que é negativa e mais ampla e seguida posteriormente pela onda *a*

Acredita-se que o PRP se origina do segmento externo dos fotorreceptores com maior participação dos cones do que bastonetes. O PRP é mais resistente para doenças que outros componentes do ERG; quando a retina é estudada isoladamente, o PRP não é muito alterado pelo formadeído ou agentes quelantes. (GALLOWAY, 1992). Os PRPs são alterados nas

vasculopatias, nas opacificações dos meios transparentes, no descolamento de retina e nas distrofias retinianas. (GONÇALVES e ORÉFICE, 1987).

Potencial de Ação Tardio ou ERG. A origem do potencial de ação tardio ou ERG foram descritas previamente junto com o EOG e PVE. Estes compõem os exames realizados na propedêutica eletrofisiológica, avaliando-se os segmentos do olho sob o ponto de vista funcional, complementando, assim outros métodos diagnósticos. (GOURAS, 1970; GALLOWAY, 1992; EPIC-2000, 1994).

O ERG possui duas fases distintas: uma fase escotópica (escura) na qual os bastonetes são avaliados; e uma fotópica (clara) na qual se avaliam os cones. A resposta elétrica da retina, adaptada ao escuro, a um *flash* branco reflete-se na atividade de cones e bastonetes. Em aplicações clínicas usualmente a atividade destes é separada. O ERG é uma resposta bifásica que tem uma onda *a* negativa e *b* positiva. As ondas *c* e *d* não são registradas em condições normais de exame. (WEINSTEIN, 1989).

A onda *a* é a primeira deflexão negativa no ERG e representa a atividade dos fotorreceptores. Sob certas circunstâncias, como no curso da curva de adaptação ao escuro a onda *a* pode se dividir em dois componentes: a onda *a1* e *a2*, sendo a *a1* fotópica (ligada a atividade dos cones) e *a2* escotópica (ligada a atividade dos bastonetes). Junto com a onda *b1* (fotópica) e *b2* (escotópica), indicam a dualidade funcional da retina em sistema fotópico e escotópico. (BRUNETTE, 1969)

A onda *b*, deflexão positiva representa, a atividade das células de Müller ou reflexo indireto da transmissão de informação das células bipolares. Pode ser bifásica (*b1* ou *b2*) na fase de adaptação ao escuro e é acompanhado do aumento do tempo de culminação. (BRUNETTE, 1969).

Os potenciais oscilatórios são representados por numerosas pequenas ondas rítmicas que são superpostas à fase ascendente da onda *b*, tendo sido descritos previamente por COBB e MORTON, (1954). Em macacos, esta seqüência de ondas desaparecem após o clampeamento da circulação retiniana. As ondas são abolidas também, no olho humano, após a oclusão da artéria central da retina. A dependência dessas ondas rítmicas da integridade da circulação sangüínea sugere que elas são oriundas da parte interna da retina e parecem ser mais susceptíveis a isquemia do que a onda *b*. As ondas rítmicas podem ser melhor produzidas por exposição do olho por um *flash* duplo de luz em um intervalo de 15 segundos, o segundo *flash* tende a produzir uma resposta mais definida, principalmente se houve

adaptação ao escuro previamente. Os potenciais oscilatórios são muito sensíveis às alterações vasculares da retina (diabetes, obstruções venosas e arteriais) e às opacificações dos meios transparentes.

BRESNICK et al., (1984); BRESNICK e PALTA, (1987), analisaram a progressão da retinopatia em 85 pacientes diabéticos. Os resultados das análises mostraram que a probabilidade de progressão para retinopatia severa foi significativa nos olhos que apresentaram vazamento alto da fluoresceína, não perfusão capilar alta e baixa amplitude dos potenciais oscilatórios. Evidências recentes demonstram que a origem do potencial oscilatório estaria na camada nuclear interna da retina, pelo fato que a resposta é similar com a resposta registrada nas células amácrimas. (GALLOWAY, 1992),

2.5 APLICAÇÕES CLÍNICAS DO ERG.

FRANKLIN, (1966), KRILL, (1979), TAKAHASHI, (1993), e DANTAS et al., (1995), descreveram as indicações nas seguintes circunstâncias:

- 1) *Doenças degenerativas.* Doenças que se manifestam por alterações pigmentárias severas na retina, cegueira noturna e baixa acuidade visual, como a retinite pigmentosa, atrofia girata e coroideremia. O ERG mostra alterações, ainda, na doença de Stargardt, doença de Best e na amaurose congênita de Leber.
- 2) *Condições tóxicas.* Intoxicação pelos derivados da cloroquina, usados no tratamento da malária e nas doenças do colágeno, que levam a depósitos nas células do EPR e à pigmentação macular. A intoxicação pelos derivados do digital provocam alterações nas ondas dos potenciais oscilatórios. A intoxicação pela indometacina leva às lesões idênticas às da cloroquina, com pigmentação macular e escotoma central. Derivados da fenotiazina (clorpromazina, tioridazina, NP207, levomepromazina) causam cegueira noturna e pigmentação macular. O etambutol provoca alterações no ERG, principalmente nos potenciais oscilatórios.
- 3) *Anomalias congênitas.* Acromatopsia (cegueira total das cores), na qual se nota a preservação da resposta escotópica (mediada por bastonetes) e o decréscimo ou ausência da resposta fotópica (mediada por cones), cegueira noturna congênita estacionária e albinismo óculo-cutâneo.

4) *Descolamento de retina*. O ERG pode dar importantes informações para o prognóstico cirúrgico e para a função da área a ser reaplicada, podendo variar de subnormal até extinto dependendo da extensão da área descolada.

5) *Doenças vasculares*. Oclusão da artéria central da retina ou de seus ramos, oclusão da veia central da retina e retinopatia diabética (alterações nos potenciais oscilatórios).

O ERG pode esclarecer as seguintes circunstâncias clínicas:

- Determinação da função retiniana onde não há possibilidade de exame do fundo de olho com o oftalmoscópio indireto, como na catarata ou opacidade dos meios transparentes oculares (opacidade corneana e turvação vítrea);
- Pacientes que se queixam de distúrbios na visão das cores, diminuição de visão noturna e sem achados fundoscópicos positivos;
- Exame de fundo de olho com diagnóstico ambíguo, como a diferenciação de cicatriz de coriorretinite com retinite pigmentosa;
- Situações em que não há a colaboração do paciente como na deficiência mental ou baixa da acuidade funcional.

Situações em que o ERG tem pouco valor:

- Na determinação da acuidade visual, o ERG funciona como um índice do funcionamento da retina.
- ERG standardizado é realizado na cúpula de Ganzfeld e detecta alterações da resposta total da retina e não tem validade nas lesões maculares.
- Na doenças que afetam as células ganglionares da retina e do nervo óptico, como as doenças desmielinizantes (esclerose múltipla), glaucoma e as esfingolipidoses. (GOURAS, 1970).

A resposta aos bastonetes são úteis para documentar pacientes com cegueira noturna hereditária e condições que envolvem a periferia da retina, como doenças inflamatórias difusas. A resposta aos cones é usada para diagnosticar disfunções hereditárias dos cones ou doenças adquiridas, bem como as acromatopsias. A resposta ao *flicker* ajuda para diferenciar disfunções hereditárias em cones das doenças adquiridas. A resposta máxima proporciona

uma indicação geral da quantidade da retina que *está* funcionando, além de ser útil para a identificação de condições da retina, verificando possíveis danos traumáticos ou evolução de distúrbios visuais na infância. Os potenciais oscilatórios são úteis em desordens que causam isquemia retiniana, tais como a retinopatia diabética. (EPIC 2000, 1994).

2.6 FATORES QUE INTERFEREM NA REALIZAÇÃO DO ERG

Vários fatores influenciam o ERG normal; portanto, o examinador deve estar atento a todos eles para que se possa corretamente interpretar o traçado eletrorretinográfico. Os fatores, que podem influenciar o ERG, estão resumidos como se seguem: GOURAS, (1970); GALLOWAY, (1992), e EPIC-2000 (1994):

1. Fatores fisiológicos:

(a) Estado da adaptação ao escuro. Com o aumento da adaptação ao escuro as ondas do ERG aumentam em tamanho, e os elementos escotópicos predominam.

(b) Tamanho da pupila. Se um ciclopérgico for usado, a onda não contém resposta elétrica produzida pela íris e o músculo do corpo ciliar. (KELSEY, 1967)

(c) Ritmo diurno. Pode haver cerca de 13 % de redução da amplitude do ERG pela manhã, que corresponde ao tempo máximo de desprendimento dos fotorreceptores. (MILLER e NEWMAN, 1999).

(d) Erros de refração. O comprimento do eixo ocular está estreitamente relacionado a refração. Há uma amplitude maior em olhos hipermetropes que nos míopes. (PALLIN, 1969).

(e) Sexo e idade. Em mulheres, aumento da amplitude em relação aos homens. (KARPE, 1945; VAINIO-MATTILA, 1951; ZEIDLER, 1959; PETERSON, 1968; MARTIN e HECKENLIVELY, 1982). Há diminuição da amplitude da onda *b* com o aumento da idade. (ZEIDLER, 1959; PETERSON, 1968; WELEBER, 1981; MARTIN e HECKENLIVELY, 1982; WRIGHT et al., 1985; BIRCH et al., 1992).

(f) Colírios DECLERCQ, (1977), usou dois tipos de soluções lubrificante do olho em lentes de contato á base de hydroxymetilcelulose. A primeira solução na concentração de 0,2 % aumentou em 81% a amplitude da onda do ERG, em comparação com a onda obtida com uma solução de 1,6%.

2. Tipo e ajustamento do equipamento

(a) Amplificadores. Checam o ganho e mantém o tempo constante

(b) Tipos de eletrodos. Existem vários tipos de eletrodos, tais como: tipo bipolar de Burian-Allen e as lentes de contato tipo *ERG-Jet*, que são monopolares e cujo filamento condutor é folhado a ouro e necessita de um segundo eletrodo indiferente que é colocado geralmente na testa.

(c) Posição dos eletrodos. Os eletrodos indiferentes podem ser colocados na testa, lobos das orelhas e próximo as pálpebras inferiores.

(d) Estímulo colorido, duração e intensidade. Quanto maior a intensidade luminosa, maior é a amplitude e menor o tempo de culminação das ondas *a* e *b*. (GOURAS, 1970). Para a completa adaptação da retina ao escuro são necessários 30 minutos. (PACINI, 1979). A luz azul favorece o aparecimento de respostas do sistema de bastonetes; e a luz vermelha, num olho adaptado ao escuro, faz aparecer a resposta dependente do sistema de cones. (GOURAS, 1970). O uso do fotoestimulador acoplado a cúpula de Ganzfeld permite uma iluminação homogênea da retina em todo o campo visual. Desta forma o ERG representa a soma de respostas relativamente similares. (BERSON et al., 1968; GOURAS, 1970; RABIN e BERSON, 1974).

3. Artefatos

Piscar os olhos

Lacrimejamento

Bolhas na lente de contato

Movimentos oculares

Fotoelétrico e artefatos elétricos

2.7 NORMALIZAÇÃO DO ERG

Devido a grande variedade de aparelhos, de lentes de contato e devido aos vários fatores que interferem na onda do ERG, deve se determinar o limite de normalidade em indivíduos normais na população em estudo para cada laboratório de eletrofisiologia ocular. Também, para que se tenha aplicabilidade clínica ao se estudar pacientes com patologias. Ainda, em caso de divulgação científica, para que os achados possam ser comparados a outros laboratórios.

Os primeiros estudos clínicos para se normalizar o ERG foi feito por KARPE, (1945), que avaliou 74 olhos em 48 pacientes entre as idade de 11 e 50 anos, dos quais somente 6

pacientes eram mulheres. A média da onda *b* foi de 0,40 mV (milivolts) para as mulheres e de 0,36 mV para toda a série comparada.

VAINIO-MATTILA, (1951), examinou 79 olhos em 53 homens e 52 olhos em 36 mulheres na faixa etária de 19 a 50 anos. Nestas mulheres, a amplitude da onda *b* do ERG foi de 0,39 mV, sendo maior do que em homens cujo valor foi de 0,34 mV.

ZEIDLER, (1959), estudou 229 olhos normais de homens e 182 olhos normais de mulheres. A idade variou de 5 a 80 anos, separada por grupo etário de 10 em 10 anos. A conclusão é que o valor médio da amplitude da onda *b* é ligeiramente maior nas mulheres dos que nos homens em toda a faixa etária, com exceção no grupo de 71 - 80 anos. Nos homens, a onda *b* parece ser maior entre 11-20 anos. Após esta idade, há a tendência de diminuir com o aumento da idade. A avaliação estatística mostrou diferenças significativas na onda *b* entre homens e mulheres, somente na faixa de 31-50 anos. Em outros grupos não houve diferenças significativas.

PETERSON, (1968), avaliou 357 pacientes, 192 homens e 165 mulheres. Demonstrou que as mulheres tem onda *b* maior do que os homens, mesmos naquele que apresentaram um aumento significativo da onda *b*. Há uma tendência de queda da amplitude com o aumento da idade, exceto em mulheres entre a faixa etária de 40-49 anos, devido provavelmente, a fatores hormonais. Foi demonstrado uma diferença significativa, entre homens e mulheres ($p < 0,001$), em todas as faixas etária incluídas, quando foi avaliado a queda da amplitude da onda *b*. Esta onda é maior nas mulheres: a diferença média foi de 0,03 mV. Quando avaliou-se o desvio padrão nos diferentes grupos de idade não houve diferença significativa em homens ($p > 0,50$) em mulheres ($p > 0,05$). A análise de covariância mostra que, em homens, o efeito da idade sobre a amplitude da onda *b* é independente da refração dentro dos limites de -1,00 para +2,00 Dioptrias, cuja variação não influencia na amplitude da onda *b*.

PALLIN, (1969), submeteu à biometria pela ultrassonografia e refração os seus pacientes (52 homens e 39 mulheres) com idade de 12-28 anos. Esta variação da idade foi escolhida para excluir o fator idade que pode influenciar no estudo do efeito do eixo óptico ocular sobre a amplitude da onda *b*, avaliada por *flash* simples com estímulo de luz estandardizado de 20, 80 e 800 lux, de acordo com o método de KARPE (1945). A diferença média do comprimento do eixo óptico encontrada, foi de 0,649 mm (milímetros), sendo que foi maior nos olhos dos homens que nas mulheres ($p < 0,01$). Houve uma significativa relação entre a amplitude da onda *b* e comprimento do eixo ocular, ou seja, a amplitude da onda

decreceu com o aumento do comprimento do eixo ocular. Estes resultados concordam com o conceito do olho como um organismo elétrico, cujo maior eixo ocular implica no aumento na distância entre a retina e a lente de contato colocado sobre a córnea. Estas relações se aplicam a ambos os sexos. Entretanto, não houve prova que o alto valor médio encontrado nas mulheres deve-se somente ao comprimento do eixo ocular, pois fatores hormonais também têm sua contribuição. Assim, o comprimento do eixo ocular está estreitamente relacionado à refração. Os resultados mostraram uma alta significativa, relacionada à amplitude da onda *b* e a refração. Nesta relação, foi encontrado uma amplitude maior em olhos hipermetropes que nos míopes. Pelo fato do comprimento da cavidade vítrea ser fator determinante para o tamanho total do comprimento do eixo ocular, a relação entre os dois foi também investigada. Os resultados mostraram uma significativa correlação entre eles.

BRUNETTE, (1969), conduziu estudos em 50 olhos normais. Foram avaliados a amplitude e o tempo de culminação dos componentes do ERG, do início ao final dos 24 minutos de adaptação ao escuro. Todos os componentes ganharam amplitude durante o curso da adaptação ao escuro. O componentes *a2*, *b1* e *b2* tiveram aumento no tempo de culminação, enquanto que a onda *a1* e *p2* (deflexão positiva que separa a onda *a1* da *a2*) permaneceram sem mudanças. Esta duplicidade da onda *a* e *b* durante o curso da adaptação ao escuro, levou ao conceito de dois sistemas, ou seja, mostrou a natureza dupla da retina. (ADRIAN, 1946; GOURAS, 1966). As ondas *a1* e *b1* expressariam a função fotópica e as ondas *a2* e *b2*, a função escotópica.

Outras normatizações têm sido feitas empregando-se outras técnicas. WEINSTEIN (1970), propôs, através da técnica chamada “resposta constante da amplitude” para a realização do ERG. Seu trabalho baseia-se em princípios aceitos por neurofisiologistas da retina, e avalia a quantidade de luz necessária para alcançar o “limiar de resposta” como índice de normalidade, com o aumento da intensidade do estímulo até se conseguir uma onda *b* de 50 μv . Na avaliação de 50 indivíduos normais, o limiar da onda *b* foi de 5,10-4,00 unidade log (logarítimo) para adaptação no escuro e de 2,00-0,80 unidade log para adaptação ao claro, a intensidade máxima foi de 290-760 μv para a onda *b* em pacientes adaptado ao escuro e de 65-200 μv em pacientes adaptado ao claro. Este método é usualmente superior a técnica usualmente utilizada “estímulo de intensidade constante”, mas não é a técnica normalmente empregada na maioria dos laboratórios de eletrofisiologia.

WELEBER, (1981), usou a regressão linear e análise de regressão múltipla contra a idade e intensidade logarítmica do estímulo para obter a resposta do ERG em 24 pacientes normais, dos quais 10 homens e 14 mulheres, com idade de 9-67 anos. Os parâmetros foram realizados com o uso da cúpula de Ganzfeld e filtros de várias intensidades. Os *flashes* eram separados por intervalos de 10 segundos. Para evitar a adaptação dos bastonetes, em seguida o paciente foi adaptado à luz de fundo da cúpula de Ganzfeld e teve início a estimulação luminosa fotópica. Significativa dependência em relação a idade foi encontrado para a fase escotópica mediada pelo bastonetes (amplitude da onda *b*), resposta mista de cones e bastonetes (amplitude da onda b_x =onda de pico positivo) e fotópico mediada por cones (amplitude da onda *b*). Não houve correlação significativa entre amplitude da onda *a* escotópica, resposta mediada para cones escotópica (amplitude da onda x = a resposta positiva corneana mediada por cone adaptado ao escuro), resposta mista de cones e bastonetes para estímulo luminoso (amplitude da onda *a*) ou para o tempo de culminação para todos os testes realizados. WELEBER, sugere que, para a evolução clínica do paciente, a variação da idade normal corrigida através do coeficiente de regressão linear ou múltipla deveria ser usada para resposta mediada para bastonetes e cones (onda *b*). A variação normal derivada da média e desvio padrão é mais apropriada para a amplitude da onda *a* escotópica, resposta ao cone escotópica (amplitude da onda *x*) e para todo o tempo de culminação.

MARTIN e HECKENLIVELY, (1982), estabeleceram valores normais para o ERG em 42 pacientes, sendo 20 homens e 27 mulheres, com idade variando de 3-70 anos. Foram usados filtro de densidade neutra 2 com a abertura do fotoestimulador fixado em 1.8 para isolar a resposta aos bastonetes, e *bright flash* com abertura de 1.8 e sem filtros de densidade neutra para evidenciar a resposta de cones e bastonetes. Na fase fotópica, houve uma diferença significativa em relação a idade, em ambos os sexos, com a diminuição da amplitude da onda *a* e *b* e do tempo de culminação da onda *b* com a idade. Não houve diferença do tempo de culminação da onda *a*. Diferença significativa entre os sexos também são evidenciados em todos os parâmetros. Houve diferença significativa somente em relação a idade com a diminuição da amplitude da onda *b* escotópica e do tempo de culminação da onda *b* quanto ao sexo. Na análise da variância (*3way*), a resposta para os cones e bastonetes, mostrou diferença significativa do efeito da idade e sexo em todos os parâmetros avaliados das ondas *a* e *b*.

WRIGHT, (1985), avaliou o efeito da idade (20-77 anos), independente do sexo. Seu exame fotópico foi realizado com estímulo vermelho, com intensidade de 116 dB (decibéis), e o escotópico com luz branca, estímulo de 12 dB e adaptação ao escuro por 10 min. Os resultados mostram que houve aumento progressivo e gradual no tempo de culminação das ondas *a* e *b* escotópica ($p < 0,05$ e $p < 0,01$ respectivamente) e diminuição progressiva da amplitude da configuração *ab* ($p < 0,05$). Para a fase fotópica vermelha, os potenciais oscilatórios, o tempo de culminação das ondas *a* e *b* e a configuração da amplitude de *ab* todos mostram progressiva mudança em relação à idade, com o aumento do tempo de culminação e diminuição da amplitude com o aumento da idade ($p < 0,01$).

TAKAHASHI, (1988), estudou comparativamente o ERG (amplitude e tempo de culminação) com estimulação luminosa pupilar, transescleral e paraocular em olhos normais de 6 pacientes do sexo feminino e seis do sexo masculino, com idade entre 20-27 anos, a partir de estímulos de diferentes intensidades (2J, 20J e 80J). No teste *t* de Student, globalmente, não foram detectadas diferenças estatisticamente significantes entre os dois sexos.

BIRCH, (1992), obteve traçados eletrorretinográficos de 229 pacientes normais (92 homens e 137 mulheres, com idade de 5-79 anos) em apenas um olho, através do protocolo estandardizado pelo ISCEV com o objetivo de avaliar o efeito da idade. Usou-se como aparelho a cúpula de Ganzfeld com um *Grass PS22* como estimulador.

A amplitude dos bastonetes (onda *b*) e dos cones (*flicker*) por determinação pelo log, mostra um declínio gradual com o aumento da idade até 55 anos e um declínio exponencial após esta idade (onda *b*, $p < 0,001$ e *flicker*, $p < 0,001$). A função exponencial mostra que a amplitude cai para a metade na idade de 69 anos para os bastonetes e 70 anos para os cones, a partir da idade de 15-24 anos (adulto jovem). Houve considerável sobreposição na amplitude de homens e mulheres para todas as idades, embora a idade média ajustada para a onda *b* tenha significativamente alta ($p < 0,001$) para mulheres (145 μv) que para homens (119 μv) e embora a idade média ajustada para o fotópico *b* também tenha sido mais alta ($p < 0,01$) nas mulheres (66 μv) do que em homens (58 μv). Estas diferenças não foram consideradas e os resultados de pacientes masculinos e femininos foram somados na determinação do valores mínimo para a amplitude e máximos para o tempo de culminação de pacientes normais nos seguintes estímulos: Escotópico *b*, resposta máxima, 30-Hz *flicker* e fotópico *b*. Um declínio gradual da idade de 5-14 anos até a idade de 45-54 anos é evidente para a amplitude média de cada resposta e houve um rápido declínio após a idade de 55 anos. O tempo de

culminação também se correlaciona significativamente com aumento em relação à idade, para a resposta aos bastonetes ($p < 0,001$), resposta máxima ($p < 0,001$), fotópico *b* ($p < 0,005$) e *flicker* para a resposta de 30 hz, ($p < 0,001$).

PARANHOS et al., (1997), incluiu no seu estudo 42 pacientes de 6-72 anos (média de 33,9 +/- 16 anos, mediana de 32 anos), sendo 20 homens e 22 mulheres. Os resultados mostraram que não houve diferença significativa ($p > 0,05$) entre os olhos direito e o esquerdo para nenhum dos parâmetros, seja de amplitude de resposta, seja da latência. Portanto, a correlação entre os olhos foi grande e significativa para todos os parâmetros. Igualmente não houve diferença estatisticamente significativa ($p > 0,05$), entre os sexos masculino e feminino para qualquer dos parâmetros,. Não houve correlação significativa ($r < 0,5$; $p > 0,05$) entre o resultado do ERG e a idade. O trabalho foi realizado no aparelho EPIC 2000 (LKC) com programa para análise de dados do tipo UTAS versão 3.10. Foi seguido o protocolo recomendado pelo ISCEV e constando no manual do aparelho como a rotina *standard*.

COSTA et al., (1998) realizou exame de ERG em 40 pacientes normais, dos quais 21 eram do sexo masculino e 19 dos sexo feminino, com idade de 16-54 anos. Evidenciou-se diferença significativa, somente na latência da onda *b* ao estímulo escotópico branco, entre homens e mulheres. Juntaram-se os dados relativos a homens e a mulheres, constituindo uma só amostra no intervalo de confiança de 95 %. Foi usado o aparelho de ERG *Nicolet Compact Four*. Os estímulos avaliados na seguinte seqüência: azul escotópico, vermelho escotópico, laranja escotópico, branco escotópico, vermelho fotópico, branco *flicker* e vermelho *flicker*.

O protocolo do ISCEV (1999), é baseado nas modificações feitas a partir do protocolo apresentado por MARMOR et al., (1989), descrito no ANEXO 1, cujo objetivo é possibilitar a comparação das ondas do ERG ao redor do mundo e a ampla utilização do método estandardizado. Entretanto, o uso deste método não visa excluir outros tipos de respostas ou teste adicionais que são usados por determinados laboratórios.

Segundo o ISCEV, cinco respostas estandardizadas são apresentadas e que são obtidas neste trabalho. (figuras 4a-e).

Figuras 4a – e – Respostas normais do ERG obtidas através do protocolo estandardizado (ISCEV).

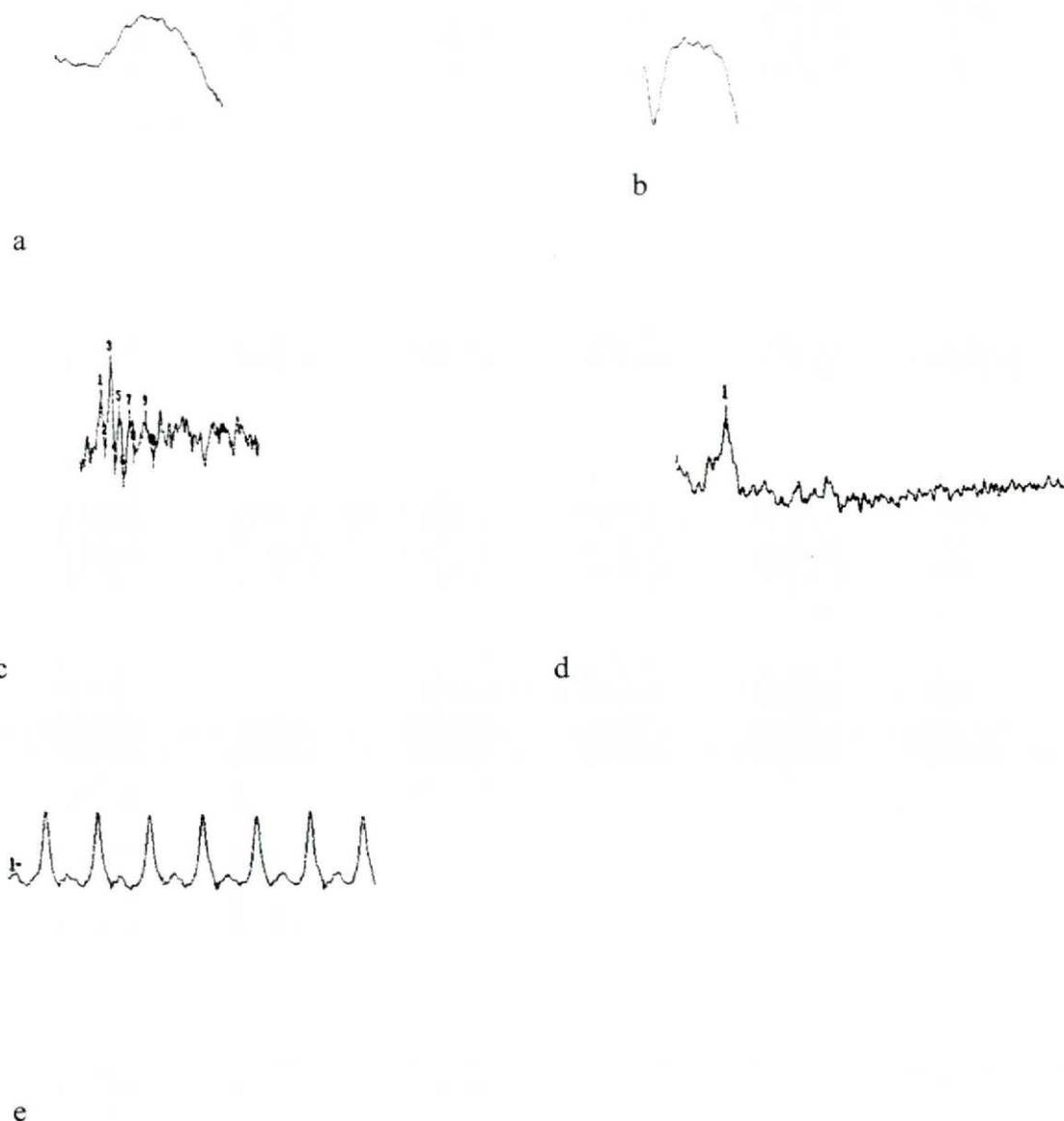


Figura 4a - Uma resposta devida aos bastonetes (em olhos adaptados ao escuro por vinte minutos) - escotópico branco 24 dB *Flash* simples (escotópico *b*).

Figura 4b - Uma respostas máxima de olhos adaptados ao escuro - escotópico branco 0 dB *Flash* simples (onda *a e b*)

Figura 4c - Potenciais oscilatórios filtro *high-pass* deve ser fixado em 75 para 100Hz

Figura 4d- Uma resposta devida aos cones - fotópico branco 0 dB (fotópico *b*)

Figura 4e - Resposta ao estímulo rápido repetitivo - fotópico branco 0 dB *Flicker* 30 Hz

2.8 OBJETIVOS

1. Normatizar os resultados obtidos do ERG no ambulatório de oftalmologia do Hospital de Clínicas da Universidade Federal do Paraná, de acordo com o protocolo preconizado pelo ISCEV.
2. Determinar se há diferença nas etapas do ERG entre os sexos.
3. Se há diferença nas etapas do ERG por faixa etária.
4. Obter limites da normalidade das etapas do ERG por faixa etária.

2.9 PACIENTES E MÉTODOS

2.9.1 Seleção dos pacientes

Para o desenvolvimento deste trabalho, quarenta pacientes foram selecionados. A seleção deu-se através do exame oftalmológico que consistiu de: acuidade visual na tabela de Snellen sem e com a melhor correção, teste para cores com a tabela de Ishihara, fundo de olho sob dilatação e tonometria. Todos os exames foram realizados no ambulatório de oftalmologia do Hospital de Clínicas da Universidade Federal do Paraná. Os pacientes foram selecionados de acordo com critérios de inclusão e exclusão, descritos a seguir:

Critérios de inclusão

- Acuidade visual de 20/20 à 20/25 em ambos os olhos com a melhor correção
- Motilidade intrínseca e extrínseca normais e pressão intra-ocular normal.
- Erro refracional de até 1,00 dioptria para longe (miopia, hipermetropia ou astigmatismo).
- Ausência de discromatopsias na tabela de Ishihara.
- Fundo de olho normal.

Critérios de exclusão:

- Doença retiniana de qualquer etiologia (cicatriz de coriorretinite, maculopatias, distrofias retinianas, etc...).
- Presença de doenças sistêmicas, tais como: doenças metabólicas (diabetes), hipertensão arterial sistêmica, hipercolesteremia e colagenoses (Lupus Eritematoso Sistêmico).
- Opacidades dos meios dióptricos (catarata, uveíte ou leucoma).
- Glaucoma ou outras patologias que afetem o nervo óptico, como colobomas ou atrofas

- História familiar de doença retiniana.
- Uso de medicação sistêmica de forma crônica tais com antidepressivos, anti-inflamatórios (cloroquina), que afetam o traçado eletrorretinográfico e as medicações descritas nas indicações clínicas do ERG.

Os pacientes normais selecionados foram divididos, por sexo e separados por faixa etária (intervalo de 20 anos), de acordo com o esquema abaixo:

Pacientes do Sexo masculino	Pacientes do sexo feminino
< 20 anos = 5 pacientes	< 20 anos = 5 pacientes
20 – 39 anos = 5 pacientes	20 – 39 anos = 5 pacientes
40 – 59 anos = 5 pacientes	40 – 59 anos = 5 pacientes
> 60 anos = 5 pacientes	> 60 anos = 5 pacientes
n = 20	n = 20

Realização do ERG de acordo com o passo á passo para a realização do ERG, EPIC 2000 (1994), baseado no protocolo preconizado pelo ISCEV (1999).

2.9.2 Preparação do paciente

Foram dilatados ambos os olhos do paciente a serem testados com fenilefrina e mydriacyl.

O paciente foi colocado, com os olhos totalmente dilatados, em uma sala escura. Esta sala contém uma lâmpada vermelha a fim de que o examinador possa se locomover em seu interior. A porta e janelas foram vedadas com cortinas escuras para evitar que a luz entre nos olhos e interfira na adaptação ao escuro (figura 5).

Figura 5 – Sala onde é realizado o ERG.



Lâmpada vermelha e porta e janelas vedadas com cortinas escuras.

O paciente foi então mantido na sala escura de 20 à 30 minutos, com os olhos cobertos por uma máscara preta para evitar que qualquer luz adentre nos olhos no período de adaptação. (figura 6).

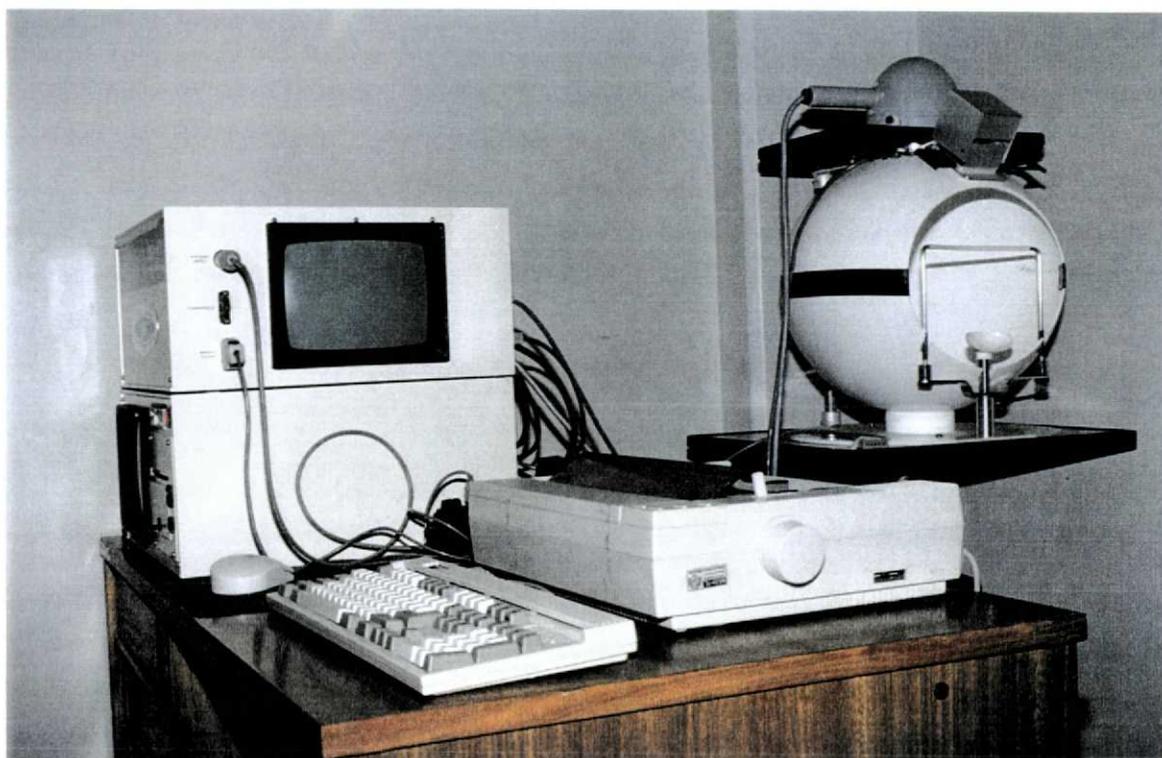
Figura 6 – Paciente mantido na sala do ERG com os olhos cobertos por uma máscara escura.



2.9.3 Descrição do aparelho

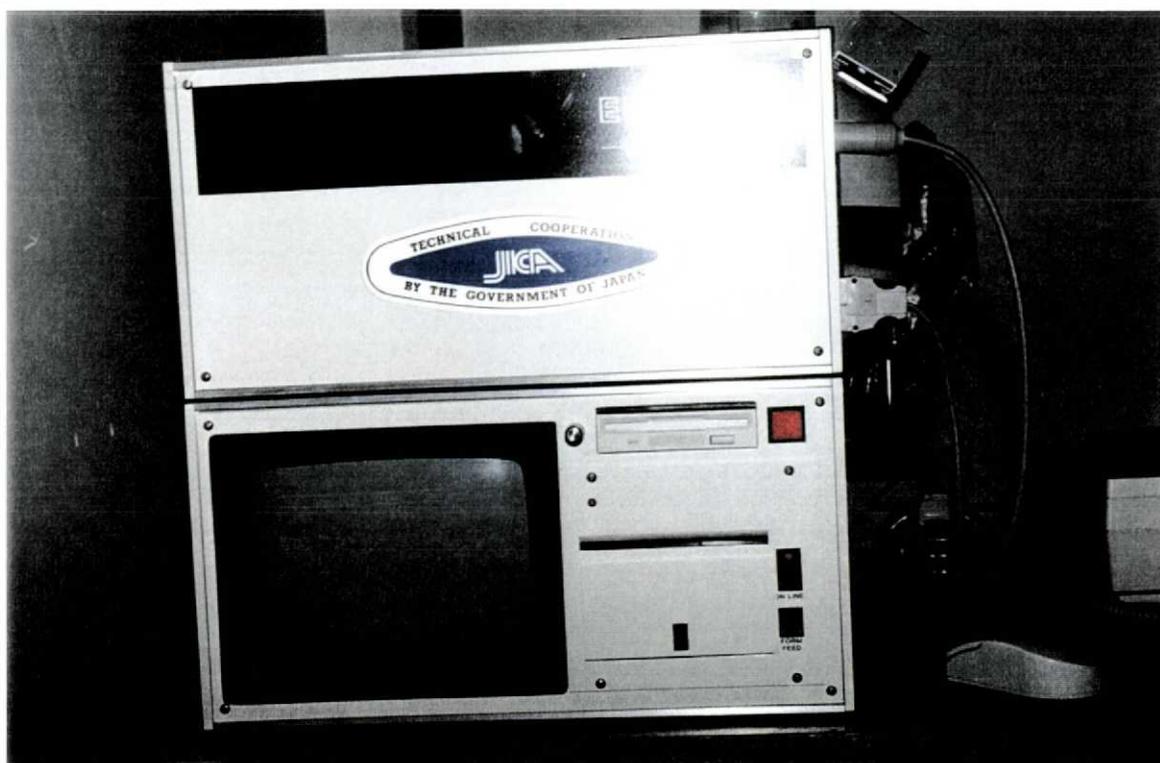
Todos os exames foram realizados no aparelho de eletrofisiologia (EPIC 2000 LKC Technologies, Inc., Gaithersburg, USA) com programa para análise de dados do tipo UTAS versão 3.10 (LKC Technologies) e cúpula semi-automática de Ganzfeld. Visão de perfil figura 7 e frontal figura 8 e esquema na figura 9.

Figura 7 – Visão de perfil do EPIC-2000



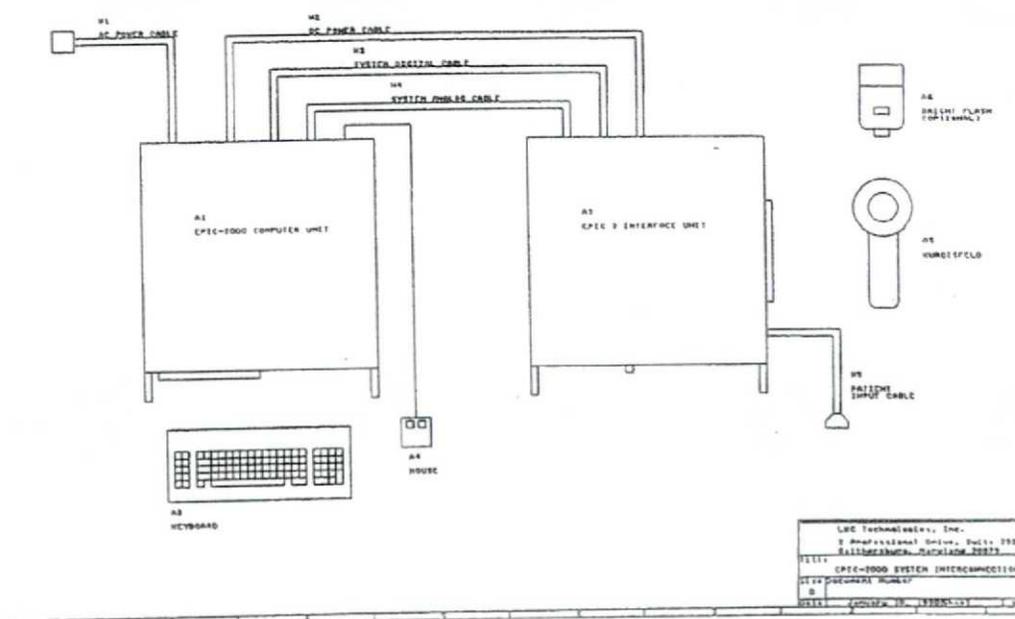
Aparelho de eletrofisiologia (EPIC-2000), cúpula de Ganzfeld e impressora.

Figura 8 - Visão frontal do EPIC-2000



Aparelho de eletrofisiologia (EPIC-2000).

Figura 9 – Sistema de interconexões do EPIC-2000



O sistema é composto por 2 unidades (A1 e A2), pela cúpula semi-automatizada de Ganzfeld (não mostrado no esquema) com um *Grass Photic Stimulator* (fonte estimuladora fótica) e *bright flash* (flash brilhante) e posições para fixação dos eletrodos para o ERG, EOG e PEV. A unidade A1 (contém a unidade do operador) é composta por monitor de vídeo, teclado, computador, impressora e sistema eletrônico de interface. A unidade A2 (contém a unidade do paciente) é composta por vídeo gerador de estímulo em padrão xadrez para o PVE, interface estimuladora (contém a entrada para o cabo do paciente) e fonte emissora eletrônica de *flash*.

2.9.4 Programação do computador

Ligado o computador (Epic 2000).

Os dados do paciente foram preenchidos no computador

Selecionou-se *Test*, em seguida *Electroretinogram*; e finalmente modo *Standard EPIC 2000* (1994). Em todas as etapas (5), os filtros *low cut* foram ajustados para 0.3 Hz e os de *high cut* para 500 Hz, exceto os potenciais oscilatórios em que o filtro *low cut* foi ajustado para 75 Hz. Todas as etapas do protocolo foram obtidas com a abertura da cúpula fixada em $\frac{1}{4}$.

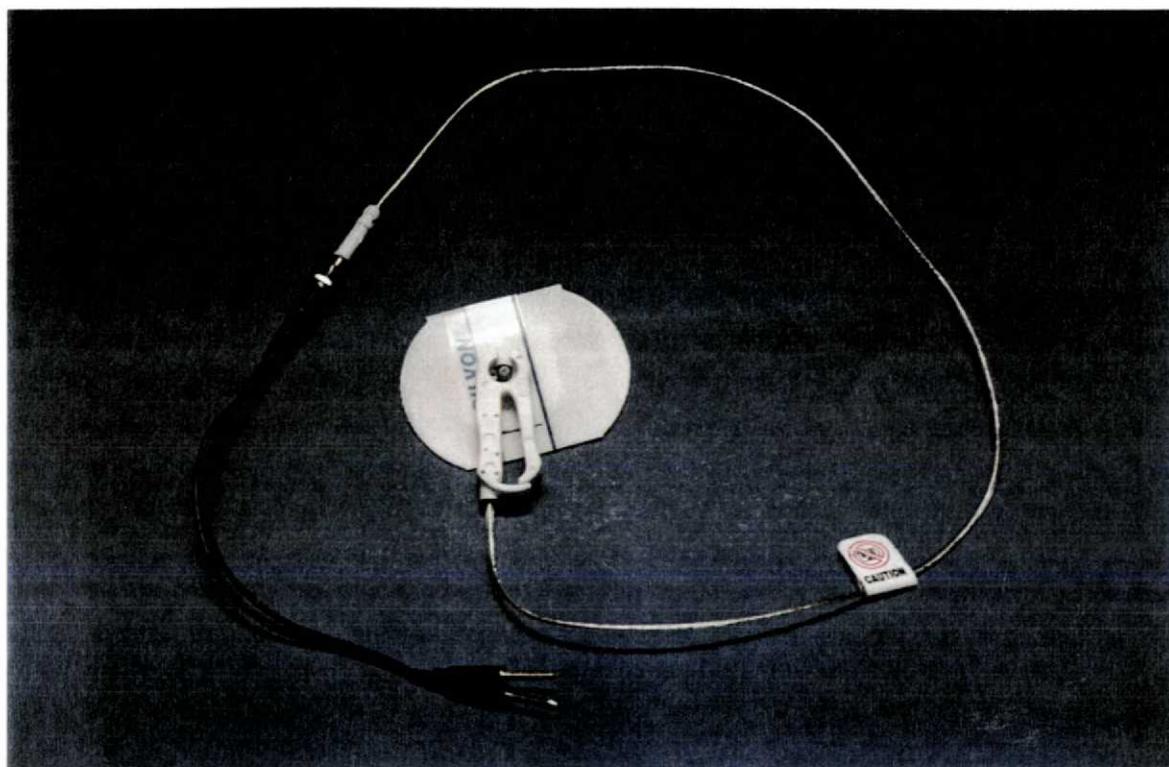
Foram preenchidos os dados sobre os olhos a serem testados: canal 1 (*channel 1*) para o olho direito (R) e canal 2 (*channel 2*) para o olho esquerdo (L).

2.9.5 Fixação dos eletrodos

Colocou-se o paciente em frente à cúpula de Ganzfeld, limpou-se a fronte e o lobo auricular com uma gaze embebida em álcool à 70 %.

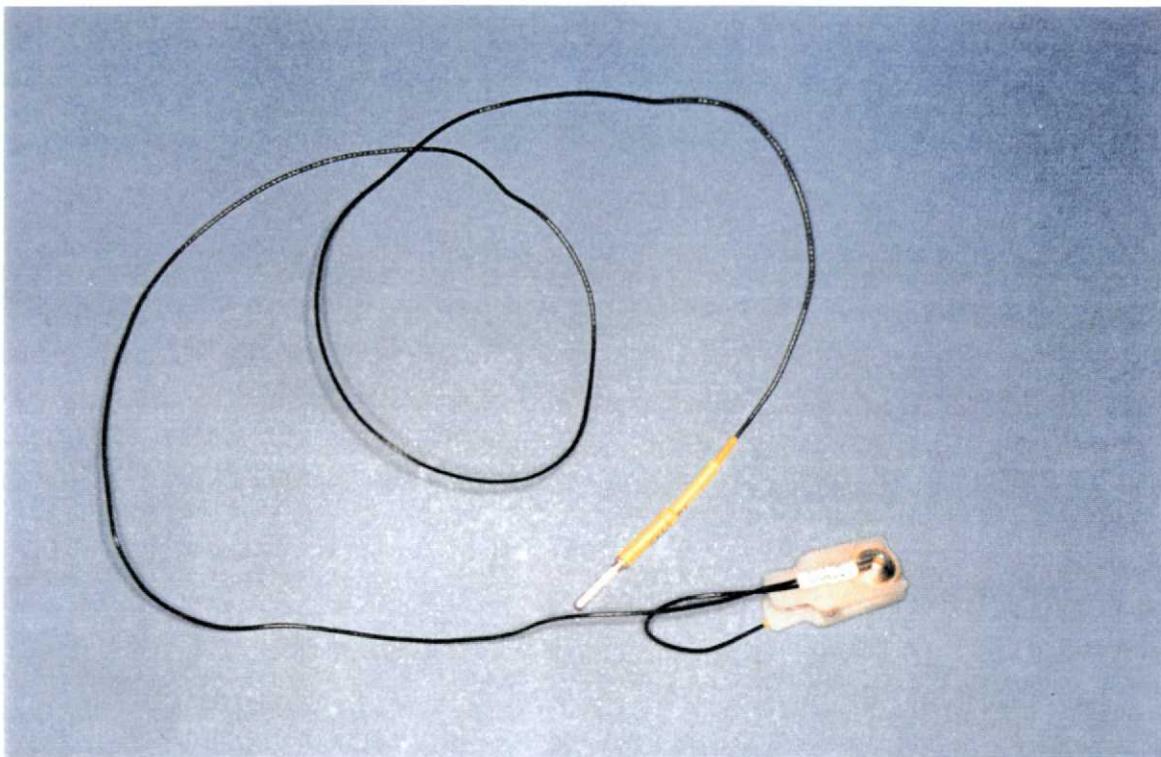
O eletrodo *EKG* (Silvon, NDM, Dayton - Ohio) foi colocado sobre a fronte do paciente, após o álcool ter secado. Colocou-se o pino conector do eletrodo *EKG* figura 10, e posteriormente conectou-se ao cabo do paciente na posição *R- e L-*.

Figura 10 – Eletrodo *EKG* conectado ao pino conector do eletrodo negativo.



Preencheu-se o eletrodo que se conecta com o lobo auricular com gel (figura 11), fixou-se o eletrodo no lobo auricular (usou-se o lobo auricular esquerdo) e ligou-se o conector no cabo do paciente na posição *GROUND*.

Figura 11 – Eletrodo neutro (*ground*).



Eletrodo neutro (*ground*) que se conecta a posição *ground* no cabo do paciente

Finalmente, *ERG Jet-electrodes* (lente de contato) (figura 12) foi conectado na posição *R+ e L+* no cabo do paciente.

Figura 12 – *ERG Jet-electrodes* (lente de contato).



ERG Jet-electrodes (lente de contato) que se conecta na posição $R+$ e $L+$ no cabo do paciente.

Antes de colocar os eletrodos sobre as córneas, os olhos do paciente foram anestesiados com colírio anestésico (Anestalcon 1%, Alcon).

As lentes foram preenchidas com metilcelulose à 2 % (Ophthalmos) e colocou-se o eletrodo $R+$ sobre a córnea direita e $R-$ sobre a córnea esquerda. Na figura 13 mostra o cabo do paciente com todos os eletrodos conectados e a figura 14 mostra os eletrodos conectados na paciente e ao cabo da paciente, e na figura 15 mostra a paciente na cúpula de Ganzfeld em posição de exame.

Figura 13 – Cabo do paciente com todos os eletrodos conectados.

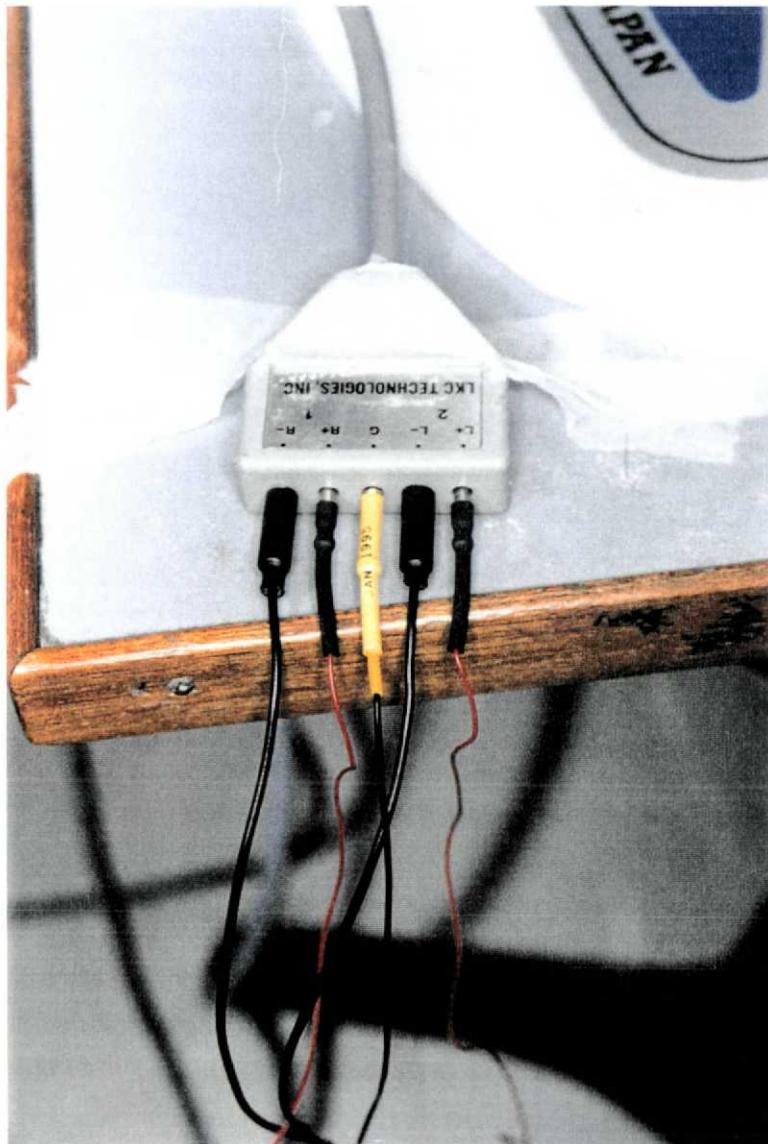


Figura 14 – Eletrodos conectados na paciente e ao cabo do paciente.



Figura 15 – Paciente em posição de exame na cúpula de Ganzfeld.



2.9.6 Realizando o Teste

Foi checada se a posição dos filtros da cúpula se encontra na posição correta. Para o ERG estandardizado, preconizado por MARMOR et al., (1989), e atualizado pelo ISCEV (1999), o primeira resposta do protocolo fixa-se o filtro em 24 dB ou 2,4 log. Todas as outras posições são fixadas em 0 dB no filtro da cúpula, que corresponde a posição W e W. A calibração da fonte emissora dos *flashes* luminosos (*grass flash*) foi de 1.586 cd-s/m², em acordo com o protocolo do ISCEV (1999).

Foi obtida uma boa linha de base retilínea com escotópico branco 24 db e amplificadores de 50 μ v/divisão. No exame em questão, a linha de base foi conseguida quando a medida de impedância era menor que 5 ohms. Se fosse maior que 5 ohms, é porque havia alta interferência. Se não fosse debelada a causa desta interferência, o paciente era examinado em outra oportunidade

Ao conseguir uma boa linha de base, teve início a realização do teste, selecionando *Record* e depois *Store* para gravar as ondas, o exame foi realizado das etapas 1 a 5.

Etapa 1 = escotópico, *flash* simples (24dB), resposta dos bastonetes – escotópico *b*.

Etapa 2 = escotópico, *flash* simples (0dB), resposta máxima – onda *a* e *b*.

Etapa 3 = escotópico, *flash* simples (0dB), potenciais oscilatórios.

Etapa 4 = fotópico, *flash* simples (0dB), resposta dos cones – fotópico *b*.

Etapa 5 = fotópico, 30 Hz *flicker* (0dB), reposta pura dos cones, resposta ao *flicker*.

Ao chegar na etapa 5 o teste estava finalizado. Então removiam-se as lentes e os eletrodos.

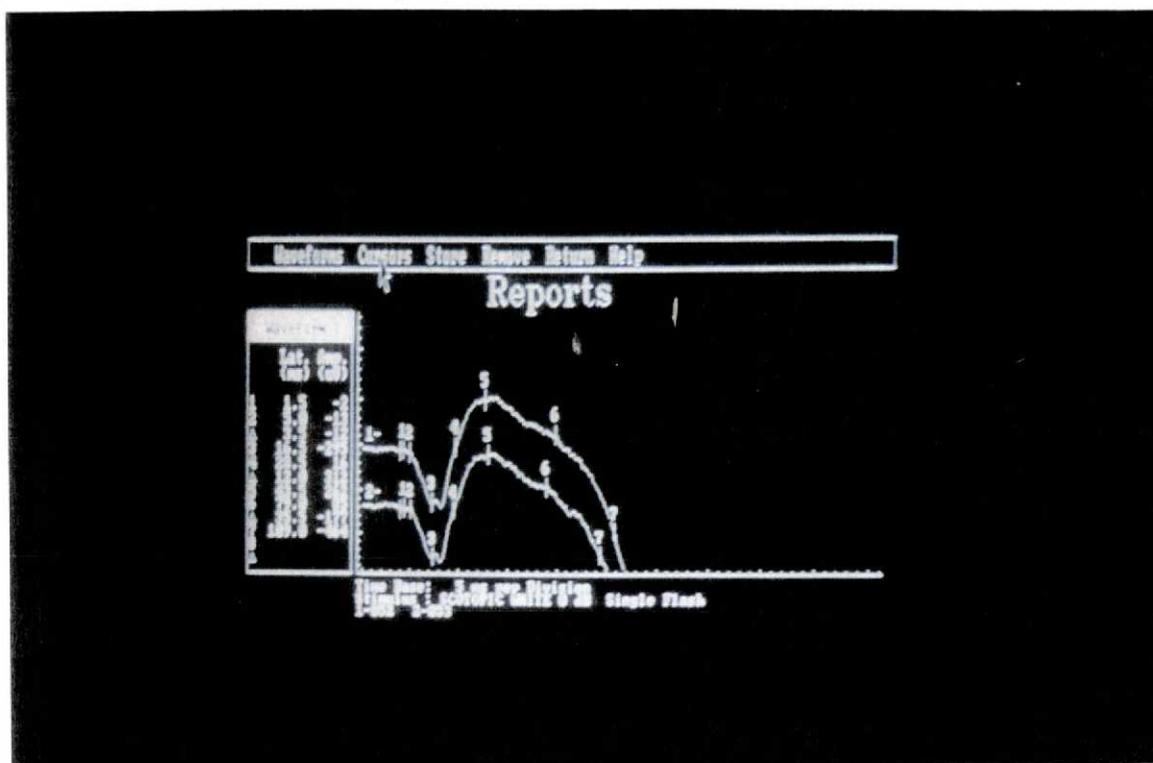
Neste ponto as informações estavam armazenadas e prontas para serem analisadas

As Etapas de 1 a 3 corresponde a fase escotópica e de 4 a 5, à fotópica. Na fase fotópica, foram realizadas modificações em relação ao protocolo do ISCEV (1999), que preconiza um período de adaptação ao claro de 10 minutos com a luz de fundo acesa na cúpula de Ganzfeld. A fim de obter resposta máxima aos cones, no exame em questão não houve este período de adaptação e a fase fotópica foi realizada imediatamente após a fase escura. Entretanto, a iluminação de fundo esteve presente, em acordo com BIRCH e ANDERSON (1992).

2.9.7 Análise do traçado eletrorretinográfico

O traçado eletrorretinográfico de cada paciente foi analisado pelo aparelho (EPIC 2000), determinando-se a amplitude (μV) e o tempo de culminação (ms) de cada etapa, que tem importância na avaliação quantitativa do ERG. Pelo programa do EPIC, basta colocar o cursor sobre a onda que o computador calcula automaticamente a amplitude e o tempo de culminação (figura 16).

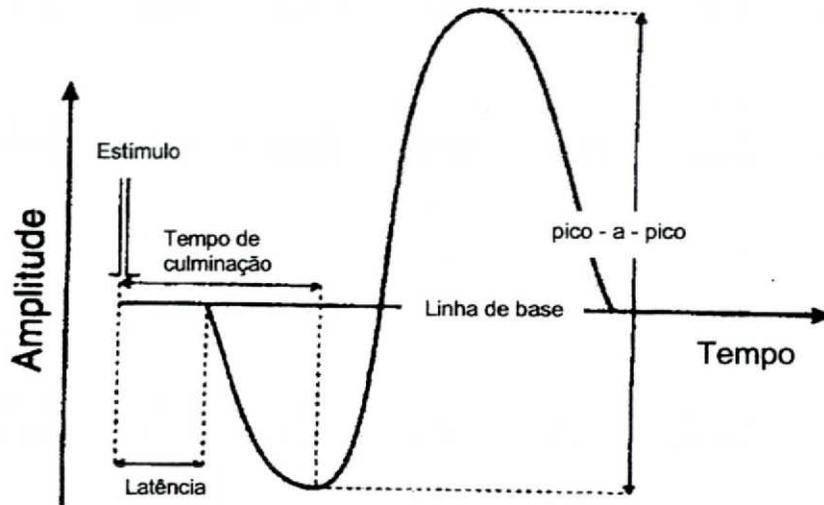
Figura 16 – Resultados do exame projetados na tela do EPIC-2000.



Cursors sobre as ondas para a determinação da amplitude e tempo de culminação.

A amplitude é definida como o ponto de altura máxima da onda (escotópico *b* e fotópico *b*) ou deflexão mínima (resposta máxima onda *a*) e deste para o ponto de altura máxima (resposta máxima - onda *b*). O tempo de culminação é definido como o tempo decorrido desde o estímulo até o ponto de deflexão mínima para a onda *a* e desde o estímulo até o pico máximo para a onda *b*. Latência é definida como o tempo decorrido do início do estímulo até o início da resposta. Exemplificamos essas definições na figura 17 na onda da resposta máxima (*a* e *b*).

Figura 17 – Definições de latência, tempo de culminação e amplitude.

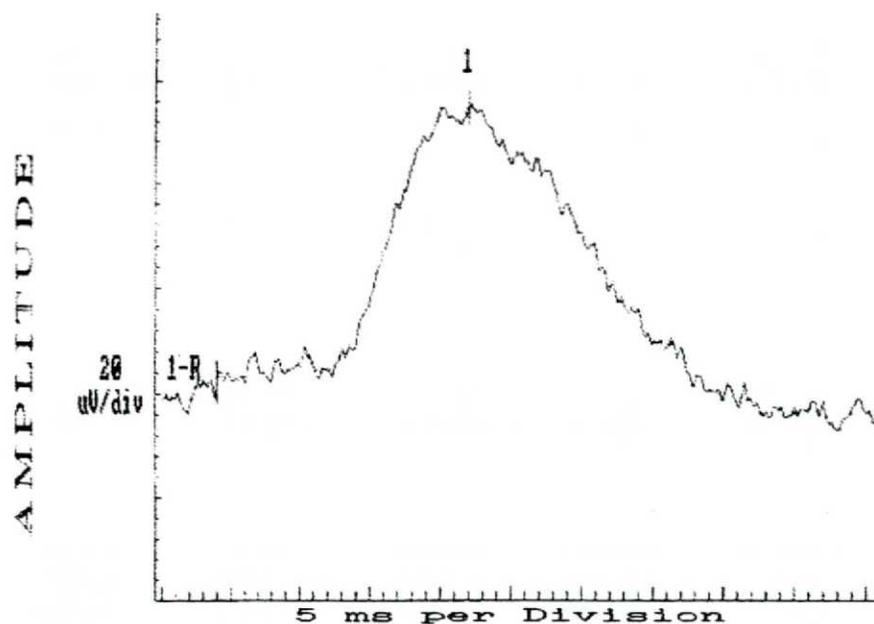


Mede-se a amplitude do ponto de deflexão mínimo (onda *a* da resposta máxima) e deste para o ponto de altura máxima (onda *b* da resposta máxima). O tempo de culminação é o tempo decorrido desde o estímulo até o ponto de deflexão mínima para a onda *a* e deste o estímulo até o pico máximo para a onda *b*. A latência é o tempo decorrido do início do estímulo até o início da resposta.

MILLER e NEWMAN, (1999)

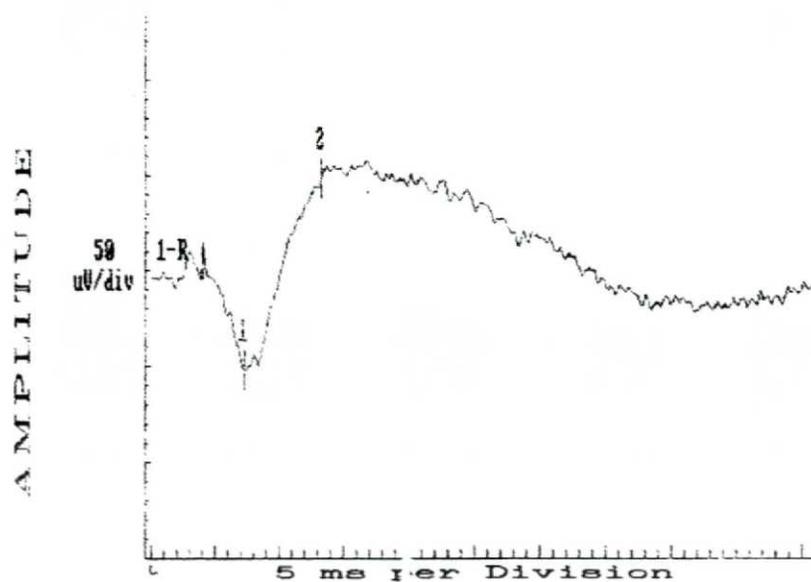
As ondas obtidas em cada fase foram analisadas através de cursores para determinar a amplitude e o tempo de culminação de cada onda. Na etapa 1 do ERG, o cursor foi colocado no ponto mais alto da onda (figura 18), na etapa 2, quando havia a onda *a1* e *a2*, o cursor foi colocado em *a1* (figura 19); idem em relação a onda *b*, quando havia a onda *b1* e *b2* (figura 20), na etapa 3, o cursor e os valores foram calculados automaticamente pelo EPIC 2000 (na função *analyse oscillatory potencial*) (figura 21), na etapa 4, o cursor foi colocado no ponto mais do primeiro pico da onda *b* fotópica (figura 22). Finalmente, na etapa 5, a análise foi feita automaticamente pelo EPIC (função *analyse flicker amplitude and time*). (figura 23).

Figura 18 – Etapa 1 do ERG: escotópico *flash* simples (24 dB), resposta dos bastonetes – escotópico *b*.



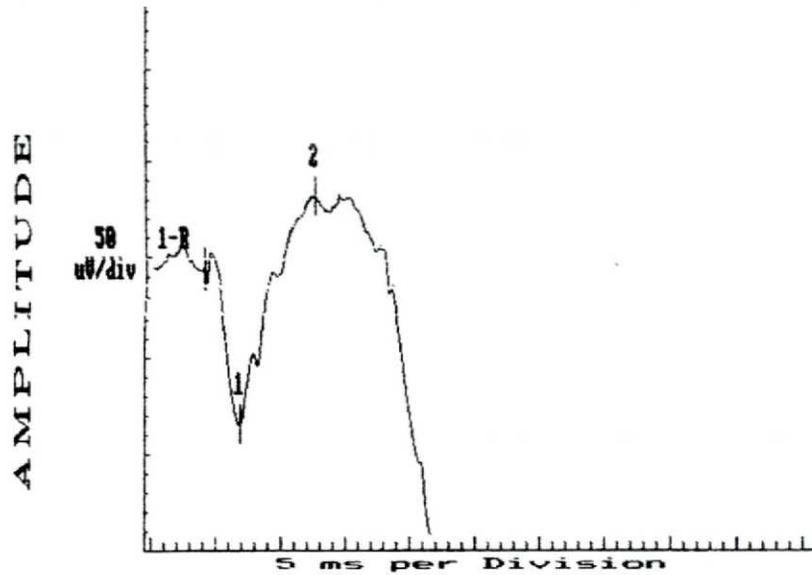
Paciente MHC, 43 anos, o cursor no ponto mais alto da onda *b* (1), para se determinar a amplitude (μv) e o tempo de culminação (ms). Escala $4\text{mm}=20\mu\text{v}/3\text{mm}=5\text{ms}$. (Polígrafo LKC Technologies EPIC-2000).

Figura 19 – Etapa 2 do ERG: escotópico, *flash* simples (0 dB), resposta máxima, cursor em *a1*.



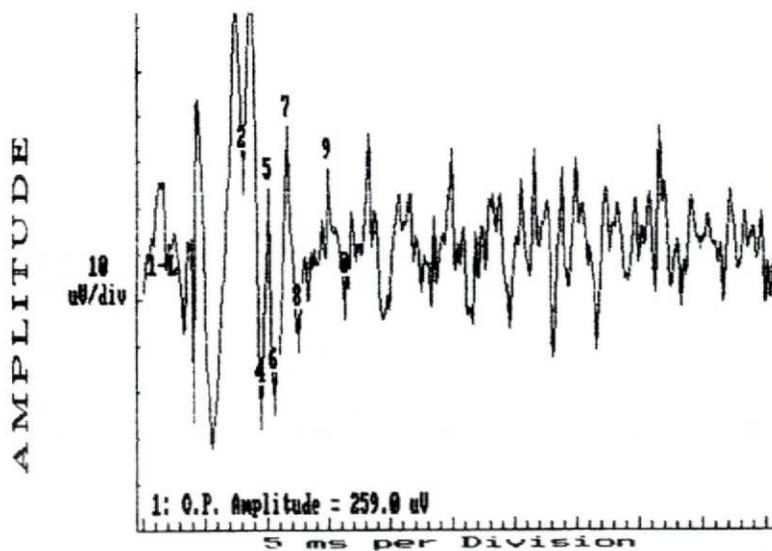
Paciente JJS, 27 anos, cursor em *a1* (1), para se determinar a amplitude (μv) e o tempo de culminação (ms). Escala $4\text{mm}=50\mu\text{v}/3\text{mm}=5\text{ms}$. (Polígrafo LKC Technologies EPIC-2000).

Figura 20 – Etapa 2 do ERG: escotópico, *flash* simples (0 dB), resposta máxima, cursor em *bl*.



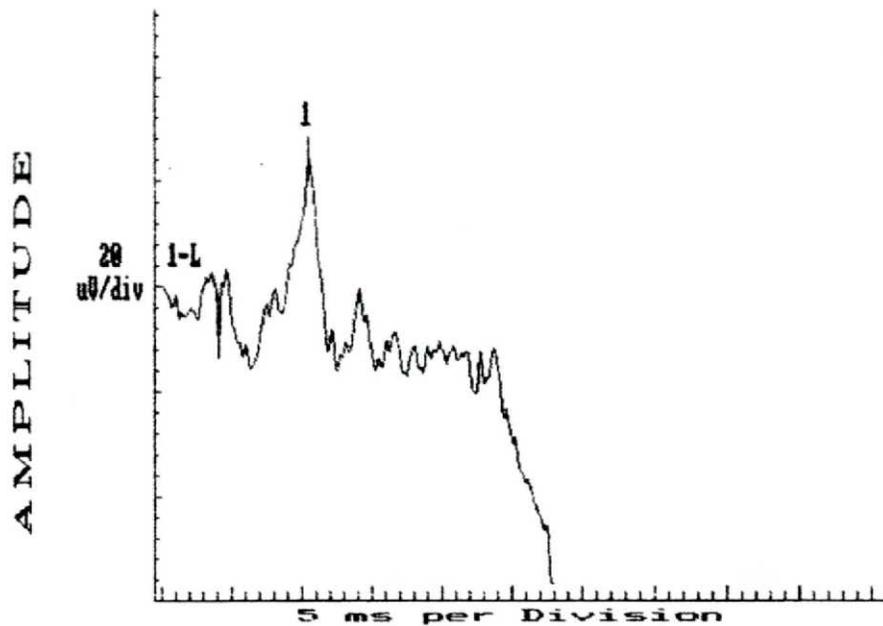
Etapa 2 (resposta máxima). Paciente KFC, 11 anos, cursor em *bl*(2), para se determinar a amplitude (μv) e o tempo de culminação (ms). Escala $4\text{mm}=50\mu\text{v}/3\text{mm}=5\text{ms}$. (Polígrafo LKC Technologies EPIC-2000).

Figura 21 – Etapa 3 do ERG: escotópico, *flash* simples, (0dB), potenciais oscilatórios.



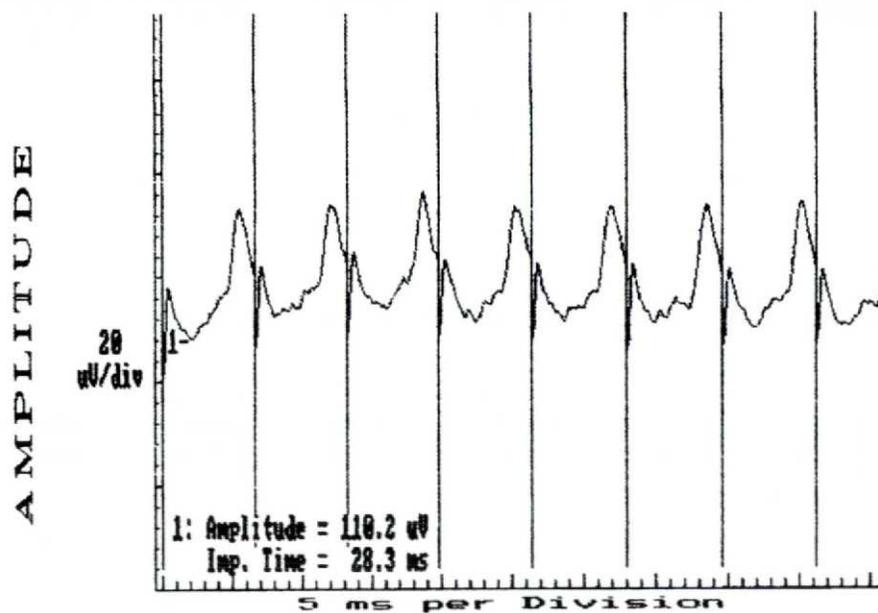
Paciente MHC, 43 anos, amplitude calculada automaticamente pelo EPIC 2000 (função *analyse oscillatory potentials*). Escala $1\text{cm}=10\mu\text{v}/3\text{mm}=5\text{ms}$. (Polígrafo LKC Technologies EPIC-2000).

Figura 22 – Etapa 4 do ERG: fotópico, *flash* simples (0dB), resposta dos cones – fotópico *b*.



Paciente MHC, 43 anos, cursor no ponto mais alto do primeiro pico da onda *b* (1), para se determinar a amplitude (μV) e o tempo de culminação (ms). Escala $4\text{mm}=20\mu\text{V}/3\text{mm}=5\text{ms}$. (Polígrafo LKC Technologies EPIC-2000).

Figura 23 – Etapa 5 do ERG: fotópico, 30 Hz *flicker* (0dB), resposta pura dos cones.



Paciente MHC, 43 anos, amplitude (μV) e tempo de culminação (ms) calculada automaticamente pelo EPIC 2000 (função *analyse flicker amplitude and time*). Escala $4\text{mm}=20\mu\text{V}/3\text{mm}=5\text{ms}$. (Polígrafo LKC Technologies EPIC-2000).

2.10 AVALIAÇÃO ESTATÍSTICA

Os valores da amplitude e o tempo de culminação analisados no EPIC 2000, foram avaliados estatisticamente, tendo como parâmetros a comparação entre grupos que foram divididos por faixa etária e por sexo.

Para a obtenção das análises estatísticas foram utilizados os seguintes testes: teste de hipótese: ANOVA e teste *t* de Student a 5 % de significância, análise de estatística descritiva: medidas de tendência central e de dispersão, correlação entre as variáveis e análise de gráficos.

Através do cálculo do coeficiente de correlação, foi investigada a correlação entre a amplitude e o tempo de culminação, para o OD e o OE e entre os sexos, para todas as etapas

Foi utilizado o teste *t* de Student a fim de verificar a existência de diferenças na média entre pacientes dos sexos masculino e feminino, separados por faixa etária em todas as etapas do ERG.

Foi utilizado a estatística descritiva: medidas de tendência central e dispersão e o teste *t* de Student, a fim de comparar as diferenças entre homens e mulheres por faixa etária.

A análise da variância (ANOVA) foi utilizada para testar as hipóteses de diferenças na média entre os sexos e os grupos separados por faixa etária em todas as etapas do ERG.

Para calcular as diferenças estatísticas entre os grupos por faixa etária e as respostas obtidas nas etapas do ERG, foi utilizado a estatística descritiva e o teste *t* de Student, e gráficos foram obtidos a partir destes resultados.

Calculado os intervalos de confiança para a média a 95 % de confiança sem e com estratificação por faixa etária

Os testes são considerados significativos à 5 % ($p < 0,05$) para a rejeição das hipóteses de igualdade.

3 RESULTADOS

Foram examinados 40 pacientes normais de 8 e 65 anos, utilizando-se o protocolo estandardizado de acordo com a atualização feita pelo ISCEV, (1999). Não foi avaliado a influência da raça, pois somente a paciente SPPB é negra. Os demais eram caucasianos. A lista dos pacientes e os resultados das amplitudes (μv) e tempo de culminação (ms) para os 5 passos do ERG *standard* encontram-se nos *Anexo 1 e 2*.

A distribuição dos pacientes por sexo e faixa etária foram calculadas de acordo com a tabela 1 e 2.

Tabela 1 – Média da faixa etária por sexo.

	Méd-M	Méd-M	Méd-M	Méd-M	Méd-F	Méd-F	Méd-F	Méd-F
	<20	<40	<60	>60	<20	<40	<60	>60
Idade	14,8	30	47,6	63,00	14,40	31,40	47,00	63,00
n	5	5	5	5	5	5	5	5

Tabela 2 – Média geral entre os sexos, desvio padrão e intervalo de confiança

	Méd-M	Méd-F	SD-M	SD-F	IC-M(95%)	IC-F(95%)	ICI-M	ICS-M	ICI-F	ICS-F
Idade	38,85	38,45	18,68	18,10	8,19	7,93	30,66	46,64	30,52	46,38
n	20	20								

Méd – média

M – masculino

F – feminino

SD – desvio padrão

IC – intervalo de confiança

ICI – intervalo de confiança inferior

ICS – intervalo de confiança superior

Quando a amplitude e o tempo de culminação foram avaliados por faixa etária para todas as etapas, houve grande correlação entre os testes e os olhos direito e esquerdo ($r=0,90$, tabela 3 e figura 24 do *flicker* de OD e OE). Para evitar duplicidade de dados do mesmo paciente, somente um dos olhos (OD) foi escolhido para os cálculos estatísticos seguintes.

Tabela 3 – Cálculo da correlação entre os olhos em todas as etapas do ERG.

Etapas do ERG		Corr. OD x OE
E0A	A	0,93
E0A	TC	0,94
E0B	A	0,96
E0B	TC	0,90
E24	A	0,89
E24	TC	0,85
F0	A	0,95
F0	TC	0,83
FL	A	0,86
FL	TC	0,91

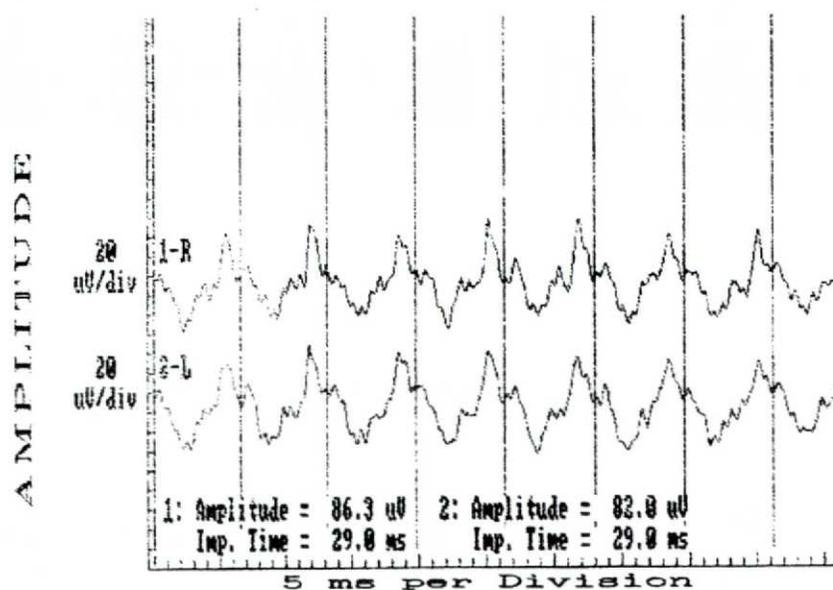
n = 40

E24 – Resposta escotópico *b*.EOA – Onda *a* da resposta máxima.EOB – Onda *b* da resposta máxima.

PO – Potenciais oscilatórios.

FO – Fotópico *b*.FL – Resposta de *flicker* 30 Hz.A – amplitude (μv).

TC – Tempo de culminação (ms)

Figura 24 – Exemplifica a alta correlação entre o OD e o OE ($r=0,90$), na etapa 5 do ERG fotópico, 30 Hz *flicker*.

Paciente JJS, 27 anos, mostra a alta correlação entre o OD (1-R) e o OE (2-L), ($r=0,90$) e as semelhanças entre as ondas do OD e do OE exemplifica essa correlação. Amplitude (μv) e tempo de culminação (ms). Escala 4mm=20 μv /3mm=5ms/IR=olho direito/Z-L=olho esquerdo. (Polígrafo LKC Technologies EPIC-2000).

Não houve diferença significativa quando se analisou a amplitude e o tempo de culminação entre a média de pacientes femininos e masculinos sem levar em conta a faixa

etária pelo teste *t* de student, a todas as etapas do ERG ($p < 0,05$). Houve uma fortíssima correlação ($r = 0,99$) entre os resultados obtidos por sexos (Tabela 4).

Tabela 4 – Média das idades por sexo e etapas do ERG. Amplitude (μv) e tempo de culminação (ms)

Etapas do ERG		Méd-M	Méd-F
E24	A	270,35	285,7
E24	TC	95,9	95,225
EOA	A	287,25	312,4
EOA	TC	17,7	16,8
EOB	A	266,4	269,75
EOB	TC	48,05	49,075
PO	A	260,35	286,09
F0	A	72,35	70,45
F0	TC	30,5	29,825
FL	A	73,78	85,825
FL	TC	26,625	28,29

E24 – Resposta escotópico *b*.

EOA – Onda *a* da resposta máxima.

EOB – Onda *b* da resposta máxima.

PO – Potenciais oscilatórios.

F0 – Fotópico *b*.

FL – Resposta de *flicker* 30 Hz.

A – amplitude (μv).

TC – Tempo de culminação (ms)

Por outro lado, quando houve a comparação entre os sexos, dentro dos grupos etários (tabela 5), houve diferença significativa em algumas faixas etárias (em negrito) e uma forte correlação ($r=0,96$). De maneira geral, há uma tendência de aumento da amplitude e tempo de culminação das ondas do ERG em mulheres (resposta escotópica *b*), amplitude de $395,80 \mu\text{v}$ para mulheres e $290 \mu\text{v}$ para homens abaixo de 20 anos para a onda *b* da resposta máxima e tempo de culminação de $94,50 \text{ ms}$ para mulheres e $92,80 \text{ ms}$ para homens na faixa etária 20-39 anos. Por não haver diferença na média entre os sexos no teste *t* de student (tabela 4), essas diferenças não foram consideradas. Conseqüentemente, todos os pacientes de ambos o sexos foram incluídos em grupos separados por faixa etária.

Tabela 5 – Comparação entre os sexos por faixa etária em todas as etapas do ERG. Amplitude (μv) e tempo de culminação (ms)

Etapas do ERG		MÉD-M	MÉD-M	MÉD-M	MÉD-M	MÉD-F	MÉD-F	MÉD-F	MÉD-F	t95% = 2,02			
		<20	<40	<60	>60	<20	<40	<60	>60	MXF<20	MXF<40	MXF<60	MXF>60
E24	A	290	290,4	290,8	210,20	395,80	265,60	281,25	210,25	-6,98	1,50	0,65	-0,01
E24	TC	96,9	92,8	96,2	97,70	92,70	94,50	95,50	96,00	3,22	-1,23	0,30	2,38
EOA	A	250,4	363,6	278,4	256,60	334,80	312,00	350,25	264,00	-6,68	4,36	-4,08	-0,54
EOA	TC	17,7	17,6	18,8	16,70	15,40	16,30	16,50	18,88	5,21	4,53	4,50	-5,76
EOB	A	282,6	298,8	277,2	207,00	393,40	212,20	260,00	212,50	-6,11	3,70	1,65	-0,36
EOB	TC	48,8	45,5	50,7	47,20	47,80	49,60	51,75	49,13	1,22	-7,10	-1,50	-1,80
PO	A	241,48	343,22	247,26	209,44	304,38	249,16	331,23	236,33	-4,03	4,50	-7,22	-1,59
F0	A	60	90,8	68,8	69,80	81,20	67,00	68,00	64,75	-5,79	2,94	0,15	0,94
F0	TC	29,9	30,9	32,4	28,80	29,70	29,60	31,38	28,75	0,52	4,93	2,13	0,10
FL	A	61,2	88,1	75,1	70,72	96,60	85,62	96,05	58,83	-4,51	0,38	-4,53	1,53
FL	TC	25,54	28,18	30,48	22,30	27,76	28,16	28,38	29,05	-2,93	0,09	9,23	-3,78
	n	10	10	10	10	10	10	10	10				

E24 – Resposta escotópico *b*.

EOA – Onda *a* da resposta máxima.

EOB - Onda *b* da resposta máxima.

PO – Potenciais oscilatórios.

FO - Fotópico *b*.

FL – Resposta de *flicker* 30 Hz.

A – amplitude (μv).

TC – Tempo de culminação (ms)

Houve ótima correlação ($r=0,99$) entre as faixas etárias e as respostas do ERG, com diferença significativa nas seguintes respostas à 5 % de significância ($p<0,05$): amplitudes da onda *b* escotópica (E24-A), onda *a* da resposta máxima (EOA-A), onda *b* da resposta máxima (EOB-A). Tempo de culminação da onda *b* da resposta máxima (EOB-TC), fotópico *b* (FO-TC) e *flicker* (FL-TC), (tabela 6 e Gráfico 1 a 5). Nota-se que a onda *b* tem maior amplitude a partir de 20 anos, com diminuição de 20-40 anos e discreto aumento de 40-60 anos, com queda na faixa etária > 60 anos (gráficos 1 e 2). A onda *a* da resposta máxima (EOA-A), potenciais oscilatórios (PO-A), fotópico *b* (FO-A) e *flicker* (FL-A) seguem com aumento da amplitude na faixa etária < 20 anos a 20-40 anos, com queda progressiva após esta idade, até patamares mínimos na faixa etária > de 60 anos (gráficos 2, 4 e 5).

Tabela 6 – Cálculo da diferença entre os grupos etários em todas as etapas do ERG.
Amplitude (μv) e tempo de culminação (ms).

Etapas do ERG		MÉD <20	MÉ <40	MÉD <60	MÉD >60	t(95%)					
						20x40	40x60	60x++	20x60	20x++	40x++
E24	A	342,9	278	281,9	209,3	3,42	-0,23	5,84	3,38	8,63	4,99
E24	TC	94,8	93,65	97,7	96,1	0,79	-1,88	0,80	-1,34	-1,06	-2,00
E0A	A	292,6	337,8	301,3	267,6	-2,95	2,06	1,85	-0,46	1,57	4,82
E0A	TC	16,55	16,95	17,9	17,6	-0,89	-1,98	0,57	-2,40	-2,12	-1,63
E0B	A	338	255,5	271,9	206,9	3,30	-0,81	4,83	3,68	6,60	2,21
E0B	TC	48,3	47,55	50,6	47,8	0,91	-3,79	2,78	-2,69	0,49	-0,25
PO	A	272,93	296,19	282,18	241,57	-1,08	0,68	2,12	-0,55	1,54	2,32
F0	A	70,6	78,9	69,9	66,2	-1,16	1,21	0,67	0,14	0,86	1,70
F0	TC	29,8	30,25	31,75	28,85	-1,23	-3,51	5,63	-4,20	2,04	3,27
FL	A	78,9	86,86	83,19	70,26	-0,97	0,59	1,77	-0,57	0,95	2,10
FL	TC	26,65	28,17	29,5	25,51	-2,47	-4,78	2,75	-4,48	0,73	1,84
	n	20	20	20	20						

E24 – Resposta escotópico *b*.

E0A – Onda *a* da resposta máxima.

E0B – Onda *b* da resposta máxima.

PO – Potenciais oscilatórios.

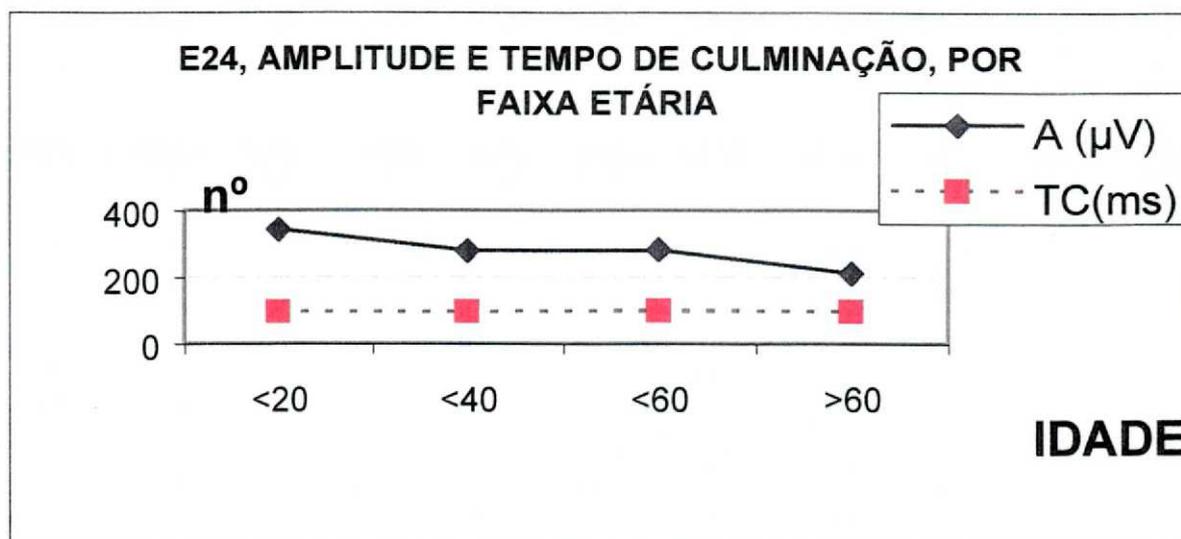
F0 – Fotópico *b*.

FL – Resposta de *flicker* 30 Hz.

A – amplitude (μv).

TC – Tempo de culminação (ms)

Gráfico 1 – Amplitude (μV) e o tempo de culminação (ms) para a resposta escotópica *b* (E 24) por faixa etária.



A – amplitude (μV)

L – tempo de culminação (ms)

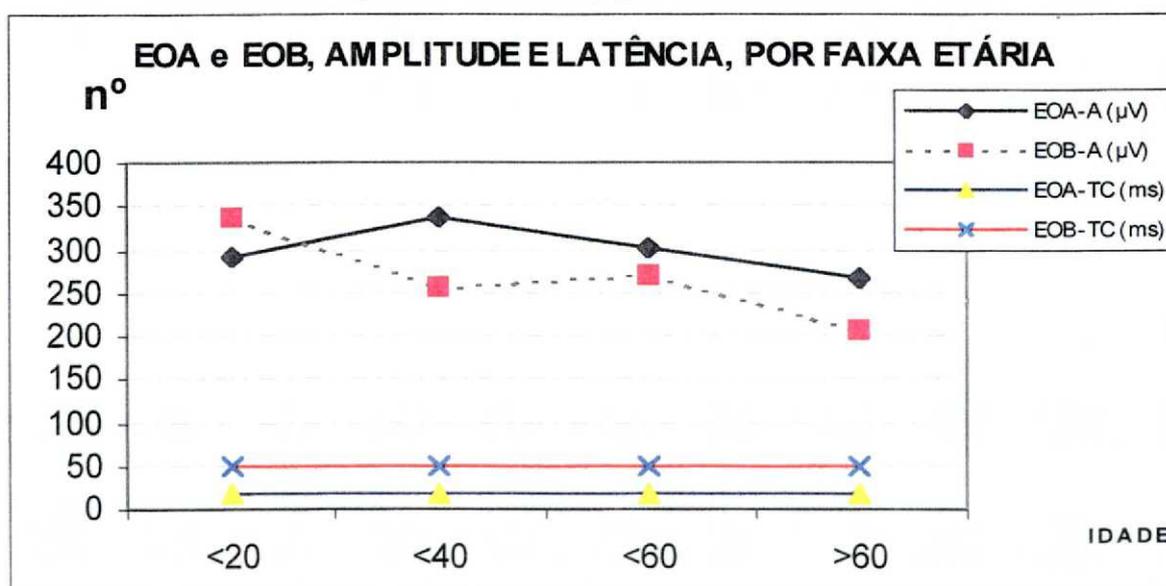
<20 – pacientes de < 20 anos

<40 – pacientes de 20 – 39 anos

<60 – pacientes de 40 – 59 anos

>60 - pacientes > 60 anos

Gráfico 2 – Amplitude (μV) e o tempo de culminação (ms) para a onda *a* e *b* da resposta máxima escotópica (EOA e EOB) por faixa etária.



A – amplitude (μV)

TC – tempo de culminação (ms)

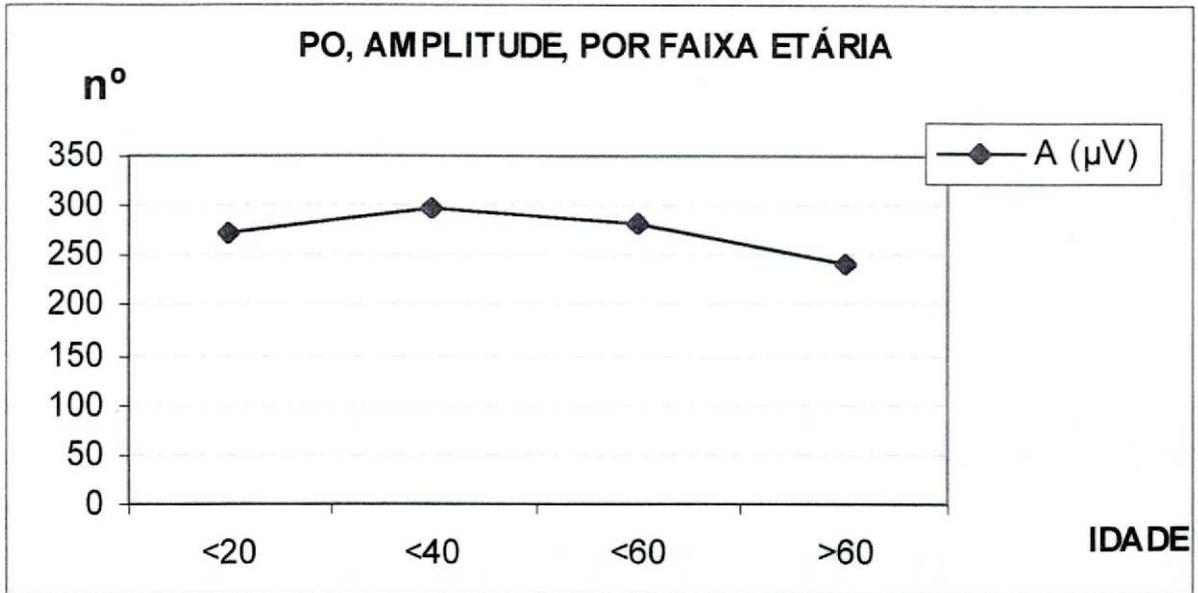
<20 – pacientes de < 20 anos

<40 – pacientes de 20 – 39 anos

<60 – pacientes de 40 – 59 anos

>60 - pacientes > 60 anos

Gráfico 3 – Amplitude (μv) e o tempo de culminação (ms) para a resposta aos potenciais oscilatórios (PO) por faixa etária.



A – amplitude (μv)

TC – tempo de culminação (ms)

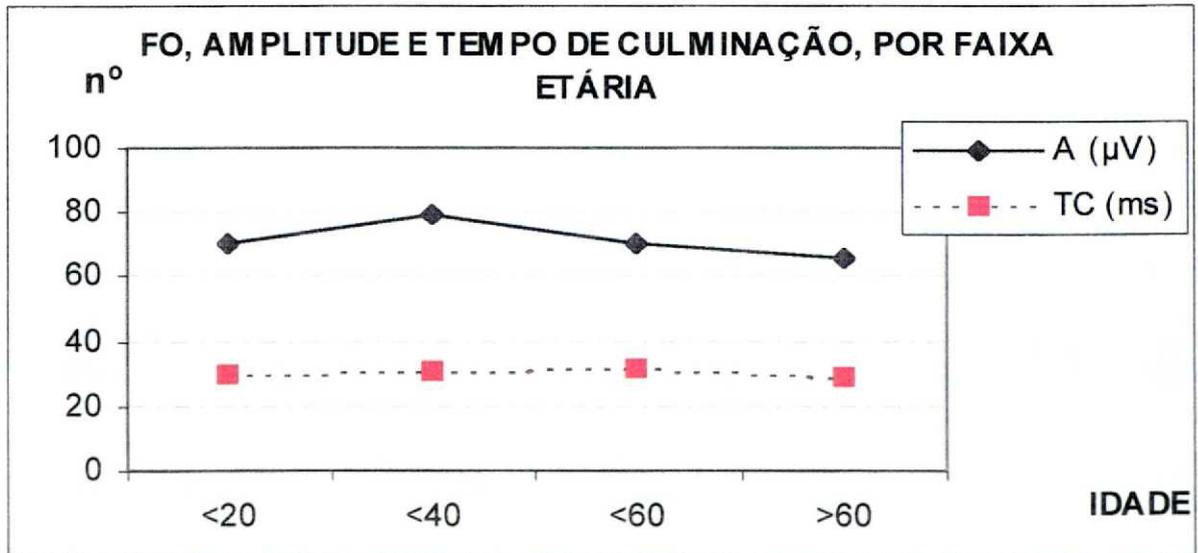
<20 – pacientes de < 20 anos

<40 – pacientes de 20 – 39 anos

<60 – pacientes de 40 – 59 anos

>60 - pacientes > 60 anos

Gráfico 4 – Amplitude (μv) e o tempo de culminação (ms) para a resposta fotópica b (FO) por faixa etária.



A – amplitude (μv)

TC – tempo de culminação (ms)

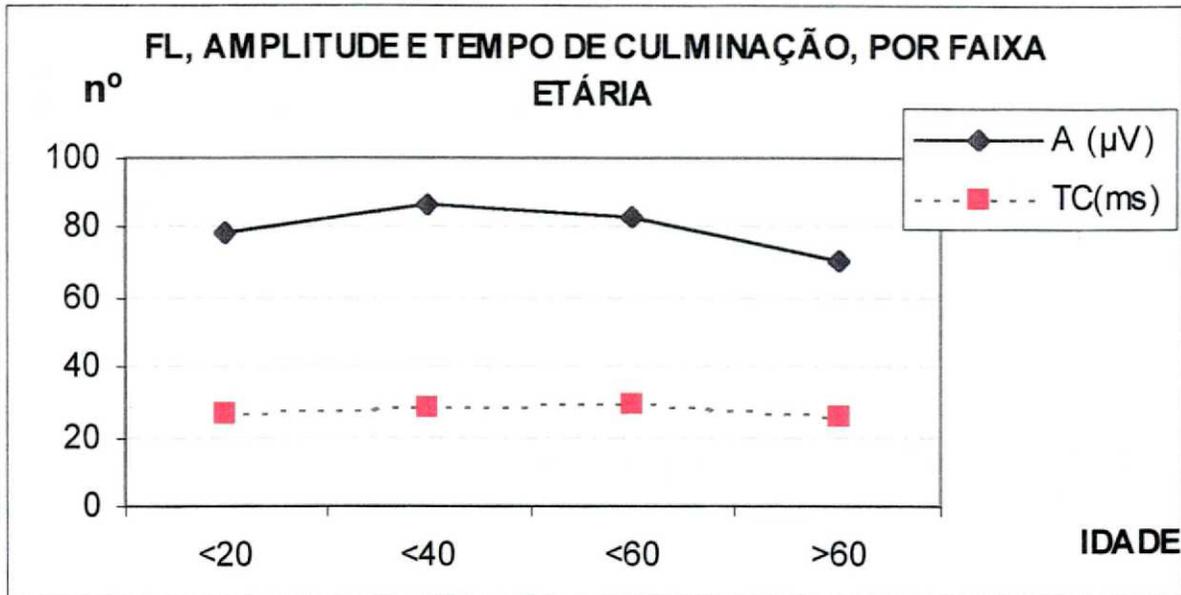
<20 – pacientes de < 20 anos

<40 – pacientes de 20 – 39 anos

<60 – pacientes de 40 – 59 anos

>60 - pacientes > 60 anos

Gráfico 5 – Amplitude (μv) e o tempo de culminação (ms) para a resposta ao *flicker* 30 Hz (FL) por faixa etária.



A – amplitude (μv)
 TC – tempo de culminação (ms)
 <20 – pacientes de < 20 anos
 <40 – pacientes de 20 – 39 anos
 <60 – pacientes de 40 – 59 anos
 >60 - pacientes > 60 anos

Quanto ao tempo de culminação, apesar de haver diferença significativa em alguns dos parâmetros analisados (EOB-TC, FO-TC e FL-TC), nota-se que houve pouca variação do traçado, quanto à idade, com aumento na faixa etária 40-60 anos, a partir de < 20 anos e queda discreta após os 60 anos (gráficos 5 e 6). As amplitudes e o tempo de culminação das 5 etapas de todos os pacientes foram submetidos a teste da análise da variância (ANOVA) e não houve diferença significativa ($p < 0,06$). Desta maneira foi estabelecido os limites de normalidade (intervalo de confiança de 95 %) da amplitude e tempo de culminação para as cinco etapas do ERG independente da faixa etária ($n=40$). (tabela 7). Como houve diferença significativa para alguns dados nas 5 etapas em relação as faixas etárias no teste *t* de Student (tabela 5) os limites de normalidade (intervalo de confiança de 95 %) para cada faixa etária ($n=10$) foi estabelecido (tabela 8). Os resultados mostram uma ótima correlação entre as faixa etárias e as etapas do ERG ($r=0,99$).

Tabela 7 – Limites de normalidade (intervalo de confiança de 95%) em todas as etapas do ERG, independente da faixa etária. Amplitude (μv) e tempo de culminação (ms).

Etapas do ERG		Média	Desvio padrão	ICI	ICS
E24	A	82,92	25,70	252,33	303,72
E24	TC	7,60	2,35	93,21	97,92
E0A	A	75,73	23,47	276,36	323,29
E0A	TC	2,14	0,66	16,59	17,91
E0B	A	97,22	30,13	237,95	298,20
E0B	TC	4,09	1,27	47,29	49,83
PO	A	88,93	27,56	245,66	300,78
F0	A	27,47	8,51	62,89	79,91
F0	TC	2,17	0,67	29,49	30,83
FL	A	31,33	9,71	72,14	91,56
FL	TC	2,34	0,73	27,44	28,89
IDADE		18,40	5,70	32,95	44,35
n = 40					

ICI – Intervalo de confiança inferior

ICS – Intervalo de confiança superior

E24 – Resposta escotópico *b*.

E0A – Onda *a* da resposta máxima.

E0B – Onda *b* da resposta máxima.

PO – Potenciais oscilatórios.

F0 – Fotópico *b*.

FL – Resposta de *flicker* 30 Hz.

A – amplitude (μv).

TC – Tempo de culminação (ms)

Tabela 8 – Limites de normalidade (intervalo de confiança de 95%) em todas as etapas do ERG por faixa etária. Amplitude (μv) e tempo de culminação (ms).

Etapas do ERG		Intervalo de confiança inferior				Intervalo de confiança superior			
		ICI<20	ICI<40	ICI<60	ICI>60	ICS<20	ICS<40	ICS<60	ICS>60
E24	A	12,00	27,16	43,44	61,82	17,20	34,24	49,76	63,58
E24	TC	286,73	229,09	238,91	186,39	399,07	326,91	324,89	232,21
E0A	A	90,75	89,59	90,27	93,52	98,85	97,71	105,13	98,68
E0A	TC	246,54	299,34	243,56	225,47	338,66	376,26	359,04	309,73
E0B	A	15,06	16,01	16,27	16,35	18,04	17,89	19,53	18,85
E0B	TC	273,83	181,48	242,97	162,81	402,17	329,52	300,83	250,99
PO	A	45,88	45,40	48,29	44,59	50,72	49,70	52,91	51,01
F0	A	222,89	227,88	240,14	179,30	322,97	364,50	324,22	303,84
F0	TC	57,86	54,01	54,75	50,71	83,34	103,79	85,05	81,69
FL	A	28,67	29,37	30,32	27,42	30,93	31,13	33,18	30,28
FL	TC	53,21	67,73	68,29	45,79	104,59	105,99	98,09	94,73
		24,32	27,55	28,60	19,89	28,98	28,79	30,40	31,13
n		10	10	10	10				
Total					n=40				

ICI – Intervalo de confiança inferior

ICS – Intervalo de confiança superior

E24 – Resposta escotópico *b*.

EOA – Onda *a* da resposta máxima.

EOB - Onda *b* da resposta máxima.

PO – Potenciais oscilatórios.

FO - Fotópico *b*.

FL – Resposta de *flicker* 30 Hz.

A – amplitude (μv).

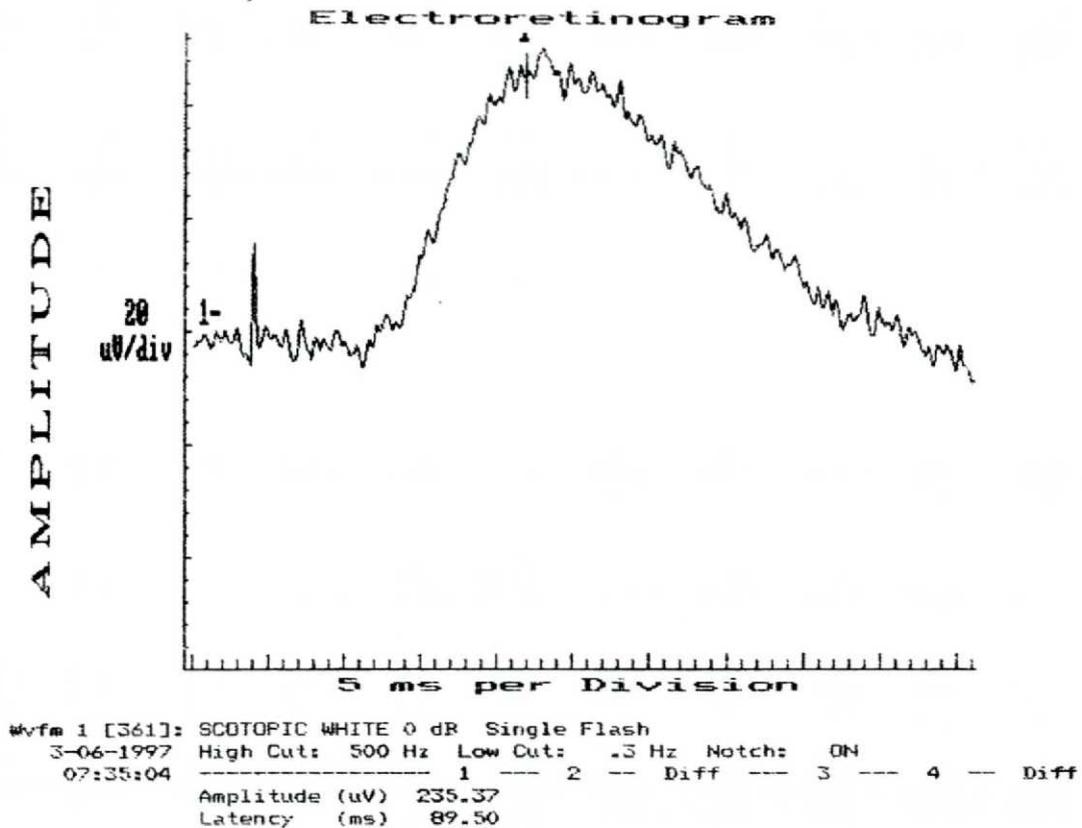
TC – Tempo de culminação (ms)

4 DISCUSSÃO

Outras técnicas, para a realização do ERG, têm sido empregadas, como a avaliação da resposta constante da amplitude que avalia a quantidade de luz necessária para alcançar o limiar de resposta como um índice de normalidade. Este método, citado anteriormente, foi aplicado por WEINSTEIN (1970), que demonstrou melhores resultados em algumas doenças como a retinite pigmentosa em comparação com o ERG utilizado. Entretanto, esta não é a técnica usualmente empregada pela maioria dos laboratórios que avaliam a amplitude e o tempo de culminação como valores na clínica eletrofisiológica.

Para avaliarmos o traçado eletrorretinográfico, as variáveis que importam são a amplitude e tempo de culminação, e não a latência (descrito em material e métodos), conforme mostra a figura 25.

Figura 25 – Resposta escotópica *b* (0 dB), demonstração da diferença entre latência e tempo de culminação.



No cursor 1, encontra-se a amplitude de 256,71 μv e latência de 90 ms. No entanto este valor não corresponde à latência e, sim, ao tempo de culminação. Ao avaliar-se as divisões em ms, encontrou-se que cada divisão equivale a 5 ms. Ao medir-se estes espaços, verificou-se que existe a seguinte correlação: 10 mm=18ms. Pelo cálculo de regra de três, chegou-se ao valor aproximado de 90 ms e latência de 36 ms. Logo tem-se que aquilo descrito corretamente com tempo de culminação, é impresso como latência no manual que acompanha o aparelho laudo EPIC-2000. Provavelmente, este engano fez com que PARANHOS, (1997), e COSTA, (1998), colocassem, em seus resultados como latência o que na realidade é tempo de culminação, variável que deve ser valorizada de acordo com vários autores. TAKAHASHI, (1993), e ISCEV, (1999).

A tabela 3 evidencia grande correlação entre o OD e OE, quanto à amplitude e ao tempo de culminação, em todas as respostas obtidas. Resultado semelhante foi encontrado por PETERSON, (1968); AYLWARD et al., (1990), e PARANHOS, (1997). É importante que sejam separados os olhos para que não haja duplicidade de dados porque o pesquisador pode aumentar artificialmente a amostra ao considerar os resultados dos dois olhos. No presente trabalho, como houve grande correlação entre os olhos, o OD foi escolhido para a realização dos cálculos estatísticos. A tabela 1 e 2, mostra que houve o balanceamento adequado entre as médias de idade do sexo masculino e do feminino para todas as faixas etárias, com média de 38,85 +/-8,19 anos para homens e 38,45 +/- 7,93 anos para mulheres.

Analisando-se a tabela 4, não houve diferença significativa para a média da amplitude e do tempo de culminação em todas as faixas etárias, separadas por sexo, concordância com os trabalhos de PARANHOS et al., (1997), e COSTA, (1998). TAKAHASHI, (1988), analisou, em separado os componentes do ERG (ondas *a* e *b*) para estímulos de diferentes intensidade em pacientes normais com estimulação luminosa pupilar, transescleral e paraocular e também não encontrou diferenças significativas, de modo geral, entre os dois sexos.

A presente pesquisa, na tabela 5, mostra que houve diferença significativa em algumas respostas, analisando-se a amplitude e tempo de culminação, por sexo dentro dos grupos etários. Há tendência de aumento da amplitude da onda *b* (escotópico 24 db e resposta máxima) em mulheres maior do que em homens (escotópico *b* <20 anos, 395,80 μ v em mulheres e 290 μ v em homens e onda *b* da resposta máxima < 20 anos, 393,40 μ v em mulheres e 282,6 μ v em homens). Este resultado é, também, relatado por vários autores: KARPE, (1945); VAINIO-MATTILA, (1951); ZEIDLER, (1959); PETERSON, (1968), e MARTIN e HECKENLIVELY, (1982). PETERSON, (1968), explica que o aumento da amplitude da onda *b* em mulheres deve-se, provavelmente, a fatores hormonais (vide revisão da literatura). PALLIN, (1969), que examinou mulheres com idade de 12 a 28 anos – acrescenta, a estes fatores hormonais, o comprimento do eixo ocular. Segundo este autor, as mulheres têm comprimento do eixo ocular menor que os homens, fato que implica em menor distância entre a lente de contato e a retina e explicaria a maior amplitude em mulheres. (apresentado na revisão da literatura).

Entretanto, as diferenças entre os sexos não foram consideradas, neste trabalho, devido ao número reduzido de pacientes que ficaria em cada grupo ($n=5$) e devido ao fato de não haver diferenças significativas na média geral entre homens e mulheres (tabela 4). No entanto, sugere-se que, posteriormente, seja aumentado o número de pacientes para que seja possível determinar estas diferenças. A mesma conduta tomou BIRCH et al., (1992), que, mesmo avaliando 229 pacientes e encontrando diferenças significativas na amplitude da onda *b* escotópica e fotópica entre homens e mulheres (maior em mulheres), devido à sobreposição de informações entre os dois sexos, não separou os pacientes por sexo na determinação do valor mínimo da amplitude e máximo do tempo de culminação para a normatização do ERG (discutido em detalhes na revisão da literatura).

Na tabela 6, todos os pacientes do sexo masculino e feminino foram incluídos em grupos divididos pela mesma faixa etária. A avaliação pelo teste *t* de Student demonstrou diferenças significativas a 5% na amplitude da onda *b* escotópica (E24-A), onda *a* da resposta máxima (EOA-A), onda *b* da resposta máxima (EOB-A). Tempo de culminação da onda *b* da resposta máxima (EOB-TC), fotópico *b* (FO-TC) e *flicker* (FL-TC). Nos gráficos 1 e 2, nos quais descreveu-se a onda *b* (escotópico *b* e onda *b* da resposta máxima), nota-se que a maior amplitude se situa na faixa etária < 20 anos, com diminuição subsequente na idade de 20-39 anos e discreto aumento de 40-60 anos e com queda máxima após os 60 anos. Portanto, é possível afirmar que a onda *b* diminui com a idade. (ZEIDLER, 1959; PETERSON, 1968; WELEBER, 1981; MARTIN e HECKENLIVELY, 1982; WRIGHT, 1985, e BIRCH et al., 1992). Nos gráficos 2-5 a onda *a* da resposta máxima (EOA-A), fotópico *b* (FO-A), potenciais oscilatórios (PO-A) e *flicker* (FL-A), verificou-se o aumento da amplitude na faixa etária de 40-60 anos, resultados compartilhados por MARTIN e HECKENLIVELY, (1982), e BIRCH et al., (1992). Quanto ao tempo de culminação não houve diferença significativa na onda escotópico *b* (E24-TC) na onda *a* da resposta máxima (EOA-TC). WELEBER, (1981), igualmente, não encontrou diferenças significativas no tempo de culminação das ondas *a* e *b*.

Houve diferença significativa no tempo de culminação da onda *b* da resposta máxima (EOB-TC), fotópico *b* (FO-TC) e *flicker* (FL-TC) com tendência de queda discreta após os 60 anos. MARTIN e HECKENLIVELY, (1982), referiram também a queda do tempo de culminação com a idade, mas para a onda *b*. Os nossos resultados demonstram que houve aumento do tempo de culminação com a idade até os 60 anos e com queda discreta após os 60 anos. Esta queda discreta pode ser relacionada à pequena faixa de variância da idade dos pacientes neste grupo (60-65 anos). Não foram incluídos pacientes acima de 65 anos pela dificuldade de se encontrar pacientes livres de patologias como catarata incipiente, retinopatia hipertensiva ou problemas retinianos que impedem o paciente atingir a acuidade visual de 20/25 em ambos os olhos, critério de exclusão utilizado neste trabalho. Conseqüentemente, os nossos resultados não são necessariamente contraditórios aos encontrados por BIRCH et al., (1992), o qual mostra que o tempo de culminação aumenta com a idade na resposta aos bastonetes (onda *b*), resposta máxima (onda *a* e *b*), fotópico *b* e *flicker* (vide revisão da literatura). Embora os indivíduos participantes no estudo de BIRCH e ANDERSON, fossem livres de doenças, características subclínicas patológicas não podem ser descartadas. Fatores como mudança na densidade óptica dos fotopigmentos e nos meios pré-retinianos podem

diminuir a amplitude com a idade, por reduzir a iluminação retiniana efetiva ao estímulo, resultando numa redução na sensibilidade que é consistente com o aumento do tempo de culminação da onda *b* da resposta dos bastonetes com a idade. DOREY et al., (1989), detectou aumento da atividade fagocítica e metabólica do EPR na mácula que causa uma acumulação de lipofucsina, levando a morte dos fotorreceptores com a idade, podendo ser um modelo na degeneração macular relacionada à idade e à doença de Stargardt. KEUNEN e MEEL, (1979), encontraram um significativo decréscimo da densidade e do tempo da regeneração dos pigmentos dos cones na fóvea após os 60 anos, através da densitometria retiniana. GAO e HOLLYFIELD, (1992), por outro lado, demonstraram que os fotorreceptores e células do EPR são mais vulneráveis à perda com a idade e que esta perda na fóvea é menor do que na periferia na retina. Estes fatores, em conjunto, podem contribuir para um maior declínio da amplitude do ERG com a idade.

Não houve diferenças significativas na análise da variância (ANOVA), em todas as etapas e em todas as faixas etária. Conclue-se que um cálculo com intervalo de normalidade da amplitude (ms) e tempo de culminação (μv) de 95 % é válido sem separação por faixa etária, como fez PARANHOS, (1997), e COSTA, (1998). Na comparação entre resultados, tendo sido usado aparelhos semelhantes, no cálculo do intervalo de confiança de 95 % sem fazer a separação por faixa etária ou por sexo os nossos resultados, na tabela 7, foram similares aos de PARANHOS et al., (1997), na fase escotópica (E24, EOA, EOB e PO). Na fase fotópica (FO e FL), ondas de amplitudes menores foram detectadas, devido a não adaptação ao claro por 10 minutos. Este procedimento é diferente do preconizado pelo ISCEV que recomenda o máximo estímulo luminoso na adaptação à luz. A mesma conduta tomou BIRCK (1992), por vários fatores, dentre os quais:

- 1- O protocolo usado neste trabalho tem sido usado por aproximadamente 20 anos por BERSON et al., (1969), e FISHMAN et al., (1988);
- 2- a resposta dos olhos adaptado ao escuro parecem ser melhor detecta em paciente com degeneração retiniana avançada;
- 3- o fotoestimulador não é estável quando é usado no *flicker*;
- 4- e o estímulo máximo é incomodativo aos pacientes adaptados ao escuro, especialmente naqueles com degenerações retinianas.

Há de se notar que PARANHOS, (1997), e COSTA, (1998), não separou os pacientes por faixa etária, variável que interferem no ERG, e que foram consideradas neste trabalho.

Obteve-se variações da normalidade no intervalo de confiança de 95 %, divididos por faixa etária para a amplitude (ms) e tempo de culminação (μv) de todas as etapas do ERG (tabela 8).

5 CONCLUSÕES

1. Há grande correlação entre os olhos direito e esquerdo.
2. Não houve diferença significativa na média entre o sexo masculino e feminino em todas as etapas do ERG.
3. Há diferença significativa entre as faixas etárias, com diminuição da amplitude com o aumento da idade nas ondas escotópica *b*, onda *a* e *b* da resposta máxima e aumento do tempo de culminação nas ondas *b* da resposta máxima, fotópico *b* e *flicker* até 60 anos.
4. Limites de normalidade em todas as etapas do ERG por faixa etária foram obtidas.

ANEXOS

ANEXO 1 - PROTOCOLO ATUALIZADO DO ISCEV, (1999)

Este protocolo é baseado nas modificações feita a partir do protocolo apresentado por MARMOR et al., (1989). Segundo o ISCEV cinco respostas estandardizadas são apresentadas:

1. Uma resposta devida aos bastonetes (em olhos adaptados ao escuro)-escotópico 24 dB.
2. Uma resposta máxima de olhos adaptados ao escuro-escotópico branco 0 dB.
3. Potenciais oscilatórios.
4. Uma resposta devida aos cones (em olhos adaptados ao claro por 10 minutos)-fotópico *b*.
5. Resposta a um estímulo rápido repetitivo (*flicker* 30 Hz).

Respostas específicas

1. *Resposta aos bastonetes*- Os autores recomendam que o paciente seja adaptado ao escuro por pelo menos 20 minuto antes de gravar as ondas. A resposta ao cone deveria ser a primeira onda gravada após a adaptação ao escuro, cujo intervalo é de 2 segundos entre os flashes, composto por estímulo branco de 2,5 log abaixo do escotopicamente calibrado flash estandardizado (SF).
2. *Resposta combinada máxima*- A resposta máxima é produzida por um luz branca (SF), no olho adaptado ao escuro. Os autores recomendam pelo menos 10 segundos entre os estímulos. A resposta é normalmente produzida por uma combinação do sistema de cones e bastonetes.
3. *Potenciais oscilatórios*- Os potenciais oscilatórios é obtido do olho adaptado ao escuro, usando a mesma luz branca (SF). O filtro *high-pass* deve ser fixado em 75 para 100 Hz. Os potenciais oscilatórios variam com a repetição do estímulo e pode haver mudanças após o primeiro estímulo. Para estandardizar a respostas, os autores recomendam que os flashes sejam disparados a cada 15 segundos do olho adaptado ao escuro e somente a segunda ou subsequente resposta deve ser gravada.
4. *Flash simples- resposta aos cones (fotópico b)*- Os autores propõem que se use o luz branca (SF) e os bastonetes devem ser suprimidos pela luz de fundo com luminosidade de

17 - 34 cd./m² medido na superfície da cúpula de Ganzfeld. Os autores recomendam que o paciente seja adaptado a luz por pelo menos 10 minutos antes de gravar a resposta aos cones. Os estímulos não devem ser repetidos com intervalo menor do que 0,5 segundos.

5. *Resposta ao flicker-30Hz-* A resposta ao *flicker* também é obtida com o estímulo SF, com as mesmas condições da iluminação de fundo que suprime a resposta aos bastonetes, depois de gravar a onda da resposta obtida do fotópico *b*. Gravar a resposta ao *flicker* após a adaptação ao claro diminui o desconforto do paciente e permite que a adaptação fotópica seja estandardizada. Os autores recomendam com ênfase que os flashes sejam apresentados por um índice de aproximadamente 30 estímulos por segundo (30 Hz), e o índice escolhido deveria ser constante para este laboratório. O primeiro estímulo do *flicker* pode ser uma onda obtida por resposta simples ao flash, então a primeira onda deveria ser descartada até condições estáveis sejam alcançadas.

Tecnologia básica

Difusão da luz- Estimulação de campo total (cúpula de Ganzfeld) deveria ser usada. Com flashes focais, a área da retina iluminada não é uniforme e sua extensão é desconhecida.

Eletrodos- Eletrodos com contato na córnea ou perto da conjuntiva bulbar são com ênfase recomendados para se gravar as ondas na cúpula de Ganzfeld. Isto inclui eletrodos em lentes de contato e fibras condutivas. A superfície corneana deve ser protegida durante o exame com solução não irritante e hipoalergênica e solução condutora que seja relativamente não viscosa (não mais viscoso do que a solução 0,5 % de metil celulose). Soluções mais viscosas podem atenuar a amplitude das ondas do ERG. Colírios anestésicos é necessário quando se for aplicar a lente de contato.

Eletrodos de referência- O eletrodo de referência pode ser incorporado na lente de contato ou fazer contato com a conjuntiva (eletrodo bipolar). Como alternativa, os eletrodos podem ser colocados perto de cada bordo orbitário do lado temporal ou sobre a fronte.

Características dos eletrodos de referência da pele- A pele deve ser preparada com limpeza adequada e um gel ou substância condutora adequada usada para assegurar boa condução elétrica. Eletrodos na pele usados como referência ou fio terra deve ter 5 Kohms, ou menos de impedância medidos entre 10 e 100 Hz.

Estabilidade dos eletrodos- A voltagem da linha de base na ausência de estímulo luminoso deve ser estável.

Limpeza dos eletrodos- Os autores recomendam que os eletrodos sejam adequadamente limpos e esterelizados após o uso para prevenir a transmissão de infecções. A limpeza deve ser feita de acordo com o protocolo do fabricante.

Fontes de luz

Duração do estímulo- Um sistema estandardizado é baseado no estímulo de curta duração menor do que o tempo de integração dos fotorreceptores. Então, o estímulo luminoso deve consistir de flashes com a máxima duração de 5 ms.

Comprimento da onda do estímulo- Filtros coloridos são usados por alguns laboratórios para aumentar a separação da respostas aos cones e bastonetes, mas isto não faz parte do protocolo estandardizado. Os autores recomendam somente o uso de luz branca para a resposta estandardizada.

Intensidade do estímulo- Um sistema estandardizado é definido quando produz um estímulo de intensidade na superfície da cúpula de Ganzfeld de 1.5-4.5 potópico $\text{cd}\cdot\text{m}^{-2}$ (candela por metro quadrado). Em unidades fotométrica $3,43 \text{ cd}\cdot\text{m}^{-2} = 1 \text{ fL}$ (foot-lambert). Um flash nesta intensidade será chamada de flash estandard (SF).

Iluminação de fundo- O estimulador deve ser capaz de produzir um iluminação de fundo de 17-34 cd/m^{-2} (5 to 10 fL) através da cúpula.

Ajuste da luz e calibração

Ajustamento do estímulo e intensidade da luz de fundo- Os autores recomendam que a fonte do flash seja capaz de gerar 2 unidade log acima do SF e atenuar a intensidade de 6 unidades log abaixo do SF.

Estímulo e calibração da luz de fundo- A intensidade do estímulo produzido por cada flash na superfície da cúpula de Ganzfeld deve ser documentado pelo fabricante ou usuário, idealmente usando um fotômetro colocado na localização dos olhos. O fotômetro também deve gravar a intensidade da iluminação de fundo. É recomendado que o fabricante dos estimuladores forneça o fotômetro adequado para cada equipamento.

Recalibração - A saída da luz da cúpula varia com o tempo pela mudança no tubo do flash, fonte de força, linha de voltagem, lâmpada de luz da iluminação de fundo, sistema de atenuação e da pintura da cúpula. Um estabilizador pode minimizar a variação de voltagem na linha.

Equipamento de gravação eletrônica

Amplificadores- Os autores recomendam que a faixa dos amplificadores e preamplificadores variem de 0.3 para 300 Hz que pode ser ajustado para os potenciais oscilatórios e outras necessidades especiais. Os autores recomendam que a impedância de entrada dos preamplificadores seja de pelo menos 10 Mohms. Os amplificadores devem ser de CA (corrente alternada), porque o de CD (corrente descontínua) produzem respostas idênticas mas é extremamente difícil de ser usado.

Mostra das ondas e médias- Os autores recomendam que o equipamento grave a onda final sem atenuações, resultado das ampliações. Boa resolução pode ser obtida por osciloscópio ou sistema computadorizados. Nos sistemas computadorizados é importante que as respostas sejam mostradas no momento do exame, para que o operador possa continuamente monitorar a estabilidade da resposta e fazer ajustes durante a realização dos testes.

Protocolo clínico

Dilatação da pupila- A máxima dilatação é recomendada para todas as respostas do ERG.

Pré-adaptação à luz ou ao escuro- O protocolo recomenda adaptação por 20 minutos no escuro antes de gravar a resposta aos bastonetes e 10 minutos ao claro antes de gravar a resposta aos cones. Se a lente de contato for usada, o tempo de uso pode ser diminuído, adaptando-se antes o paciente ao escuro e adaptando a lente sob luz vermelha no final da adaptação ao escuro.

Pré-exposição à luz- É recomendado que a angiofluoresceinografia e a retinografia seja evitadas antes da realização do ERG, mas se o paciente for submetido à tais exames, um período de adaptação de uma hora é necessária.

Fixação- Um ponto de fixação deve ser incorporado dentro da cúpula. Um olho estável é importante porque o movimento ocular altera a posição dos eletrodos e produzem artefatos elétricos.

ANEXO 2 - TABELAS COM RESULTADOS DE TODAS AS ETAPAS DO ERG, PACIENTES NORMAIS POR IDADE E SEXO (n=40), AMPLITUDE (uv)

PACIENTE	RVM-01		RCS-02		ECA-03		OSA-04		IG-05		LT-06		JMS-07		IL-08		DS-09		LMP-10		JAF-11		OFL12		JJS-13		JAJ-14		OIL-15		SMS-16		MCS-17						
	1	2	1	2	1	2	1	2	1	2	1	2	1	2	1	2	1	2	1	2	1	2	1	2	1	2	1	2	1	2	1	2							
E24	A	OD	295	300	286	296	273	440	382	555	300	302	399	239	292	251	36	38	24	28	223	271	251	27	27	36	38	24	28	223	271	251	27	27	36	38			
E24	TC	OD	106	90	95	93	100,5	96,5	101	93,5	84	88,5	92	92	93,5	94,5	92	92	92	93,5	92	92	92	92	92	92	92	92	92	92	92	92	92	92	92	92	92		
E24	A	OE	330	357	255	329	203	423	344	612	220	410	404	244	235	282	330	242	316	316	316	316	316	316	316	316	316	316	316	316	316	316	316	316	316	316	316		
E24	TC	OE	107,5	90,5	90	98,5	96	97,5	101,5	93	83	90	91,5	94,5	93,5	93	92,5	109	109	109	109	109	109	109	109	109	109	109	109	109	109	109	109	109	109	109	109	109	
E0A	A	OD	227	316	266	203	240	315	279	357	264	459	438	324	313	345	398	336	277	277	277	277	277	277	277	277	277	277	277	277	277	277	277	277	277	277	277	277	
E0A	TC	OD	16,5	15	16,5	23	17,5	15,5	16	15,5	15	15	17,5	18,5	16,5	16	19,5	17	15	15	15	15	15	15	15	15	15	15	15	15	15	15	15	15	15	15	15	15	
E0A	A	OE	220	305	248	225	242	295	246	365	315	412	396	300	323	342	373	352	280	280	280	280	280	280	280	280	280	280	280	280	280	280	280	280	280	280	280	280	
E0A	TC	OE	16,5	15	15,5	23	16	15	16,5	15,5	16	15	17	18	19	16	19	16,5	14,5	14,5	14,5	14,5	14,5	14,5	14,5	14,5	14,5	14,5	14,5	14,5	14,5	14,5	14,5	14,5	14,5	14,5	14,5	14,5	
E0B	A	OD	282	264	298	335	234	403	337	602	302	323	510	288	286	191	219	105	299	299	299	299	299	299	299	299	299	299	299	299	299	299	299	299	299	299	299	299	299
E0B	TC	OD	42	52	51,5	51	47,5	46,5	47,5	52,5	42	50,5	45,5	44	49,5	45,5	43	53,5	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50
E0B	A	OE	330	279	284	309	224	405	321	633	307	355	498	290	279	234	244	121	307	307	307	307	307	307	307	307	307	307	307	307	307	307	307	307	307	307	307	307	307
E0B	TC	OE	43	52	53	48	45	44,5	48	52,5	46,5	47	46	43,5	47,5	44,5	40	54,5	49	49	49	49	49	49	49	49	49	49	49	49	49	49	49	49	49	49	49	49	
PO	A	OD	291	356,1	245,7	145,2	169,4	385	197,7	303,3	302,9	333	499	450,6	190	320,7	256,3	321,6	153,9	153,9	153,9	153,9	153,9	153,9	153,9	153,9	153,9	153,9	153,9	153,9	153,9	153,9	153,9	153,9	153,9	153,9	153,9	153,9	
PO	A	OE	252,4	341,5	224,1	192,7	174,9	356,7	327,6	328,4	254,3	348,5	462	425,4	206	348,5	243,2	319,1	271,2	271,2	271,2	271,2	271,2	271,2	271,2	271,2	271,2	271,2	271,2	271,2	271,2	271,2	271,2	271,2	271,2	271,2	271,2	271,2	
F0	A	OD	62	46	78	36	78	82	63	69	109	83	93	93	55	155	58	10	93	93	93	93	93	93	93	93	93	93	93	93	93	93	93	93	93	93	93	93	
F0	TC	OD	29,5	29,5	32,5	26,5	31,5	29	30	32	29,5	28	31	31	28,5	32,5	31,5	30	28	28	28	28	28	28	28	28	28	28	28	28	28	28	28	28	28	28	28	28	
F0	A	OE	60	43	84	44	88	75	58	73	118	90	72	107	67	145	38	12	84	84	84	84	84	84	84	84	84	84	84	84	84	84	84	84	84	84	84	84	
F0	TC	OE	27,5	29,5	32,5	27	31	29	34	33,5	31	28,5	30,5	30,5	30	30,5	31	30	27	27	27	27	27	27	27	27	27	27	27	27	27	27	27	27	27	27	27	27	
FL	A	OD	82,7	83,7	59,5	-16	96,1	97,1	78,8	74,9	79,8	152,4	106	72	86,3	92,7	83,9	94,9	49,8	49,8	49,8	49,8	49,8	49,8	49,8	49,8	49,8	49,8	49,8	49,8	49,8	49,8	49,8	49,8	49,8	49,8	49,8	49,8	
FL	TC	OD	26,7	27,5	29,3	16,5	27,7	25,9	29,5	28,3	28,6	26,5	26,8	29,5	29	26,7	28,9	27,8	29	29	29	29	29	29	29	29	29	29	29	29	29	29	29	29	29	29	29	29	
FL	A	OE	72,7	62,7	14,1	-12	102,2	92,4	51,7	68,8	91	163,2	95,4	85	82	94,1	82	98,3	74,6	74,6	74,6	74,6	74,6	74,6	74,6	74,6	74,6	74,6	74,6	74,6	74,6	74,6	74,6	74,6	74,6	74,6	74,6		
FL	TC	OE	27,1	28,7	34,5	17	27,3	26,1	31	28,6	28,2	26,4	27,2	28,3	29	27,3	28,9	27,7	27,6	27,6	27,6	27,6	27,6	27,6	27,6	27,6	27,6	27,6	27,6	27,6	27,6	27,6	27,6	27,6	27,6	27,6	27,6		

TEMPO DE CULMINAÇÃO (ms).

CFP-18	MVT-19	IS-20	VFO-21	LFC-22	JCC-23	PMD-24	PAP-25	AOV-26	MHC-27	SPB-28	JVF-29	IBO-30	ABE-31	ACA-32	REF-33	EW-34	FBM-35	APP-36	NCO-37	IVI-38	VDE-39	DOZ-40
2	2	2	1	1	1	1	1	2	2	2	2	2	1	1	1	1	1	2	2	2	2	2
33	34	38	42	43	47	49	57	40	43	46	47	52	61	62	64	64	64	60	62	63	63	64
330	113	344	196	423	320	280	235	240	335	305	197	288	193	188	229	264	177	201	140	230	220	251
96,5	81,5	92,5	114	90,5	86,5	89,5	101	114	84,5	109,5	84,5	103,5	99,5	96	95,5	97,5	100	88,5	93,5	103	92,5	95
247	128	314	196	394	267	308	246	313	313	249	239	295	195	182	176	184	199	169	140	193	220	239
95,5	81,5	92	116	91	82	90	103,5	83	100,5	101	104,5	95	94,5	101	96,5	97	97	88	91	99	97,5	97
229	316	402	158	293	430	323	188	220	423	380	300	298	279	179	382	183	260	337	210	227	310	309
15,5	18,5	15,5	20	17	16,5	17	23,5	19	15	19,5	16,5	15	17,5	17,5	18	17	13,5	17	21	16,5	18	20
209	331	380	188	305	376	377	185	450	364	325	280	280	254	159	377	233	275	349	206	208	257	265
15,5	18	15,5	19	16,5	16	17,5	23,5	14,5	19	16	16	16	17,5	17,5	17,5	17	13	16	22,5	17,5	17,5	19
202	111	344	218	273	287	322	286	293	335	241	181	283	314	180	243	253	45	184	243	210	169	228
50,5	44,5	49,5	56,5	45	48,5	53	50,5	45,5	53,5	49	50,5	54	56	50	44,5	49,5	36	45,5	49,5	50	49,5	47,5
183	107	323	172	295	285	320	316	249	249	244	228	299	266	220	251	244	24	134	249	186	173	230
50,5	43,5	48	58,5	45	48,5	47	51	52	48,5	51,5	52	52	52,5	50,5	46,5	49	34,5	43,5	48,5	48,5	48	48
237	218,7	314,8	169	284	339	245	200,2	261	283	325,7	317,1	399,4	260,5	132,2	203,9	111,2	339	423	332	162,2	189,4	262
231	254,4	317	196	244	302	271	226,8	259	287,7	295,5	409	232,2	232,2	142,1	166	121,5	306	433	346	217,9	202,3	237,3
58	57	117	25	76	89	101	53	83	94	70	39	69	74	87	109	50	29	54	43	84	84	48
31	29	30	32,5	30,5	34	35,5	29,5	30	34,5	32	30	29	25,5	31	30	28	29,5	29,5	32	27,5	25	30,5
64	54	103	20	63	89	107	56	91	82	56	36	59	77	91	117	57	28	48	50	74	89	36
29	29,5	28,5	32,5	33	35,5	36	26,5	29	34,5	32	31	29,5	29	31,5	30	28,5	29,5	30,5	33	27,5	24	30
69,3	55,1	159	62,7	53,2	122	83,7	53,7	72,2	110	104,9	75,4	93,7	118,5	51,7	113,4		70	114	48	68,5	28,3	90,5
28,2	28,6	27,2	31,6	29,8	31,1	30,1	29,8	29,1	28,3	28,3	30,2	26,7	29,8	29,1	27,6		25	27,4	29,3	28,4	29,6	28,9
76,1	52,9	129,5	76,8	72,4	100	90,5	39,8	75,9	101	95,4	90,5	84,6	84,6	39,8	80,2		76,6	115	50,7	57,8	27,1	85,9
28,1	29	27,4	30,5	29,1	31,3	29,6	30,9	28,2	28,4	29,5	27,2	30,6	30,6	29,9	28,3		25,5	27,1	30,2	28,8	29,2	28,7

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. ADRIAN, E.D. Rod and cone response in the human eye. **Nature**, v.54, p.361-362, 1944.
2. ADRIAN, E.D. The electrical response of the human eye. **J. Physiol.**, v.104, p.84-104, 1945.
3. ADRIAN, E.D. Rod and cone components in the electric response of the eye. **J. Physiol.**, v.105, p.24, 1946.
4. AYLWARD, G.W.; JEFFREY, B.G & BILLSON, F.A. – Normal variation and the effect of age on the parametric analysis of the intensity – response series of the scotopic electroretinogram, including the scotopic threshold response. **Clin. Vision Sci.**, v.5, p.353-362, 1990.
5. BERSON, E.L.; GOURAS, P.; HOFF, M. Temporal aspects of the electroretinogram. **Arch. Ophthalmol.**, v.81, p.207-214, 1969.
6. BERSON, E.L.; GOURAS, P.; GUNKEL, R.D. Rod response in retinitis pigmentosa, dominantly inherited. **Arch. Ophthalmol.**, v.80, p.58-67, 1968.
7. BIRCH, D.G. & ANDERSON, J.L. – Standardized full-field electroretinography. Normal values and their variation with age. **Arch. Ophthalmol.**, v.110, p.1571-1576, 1992.
8. BRESNICK, G.H.; KORTH, K.; PALTA, M. Electroretinographic oscillatory potentials predict progression of diabetic retinopathy. **Arch. Ophthalmol.**, v.102, p.1307-1311, 1984.
9. BRESNICK, G.H.; PALTA, M. Predicting progression to severe proliferative diabetic retinopathy. **Arch. Ophthalmol.**, v.105, p.810-814, 1987.
10. BROWN, K.T & MURAKAMI, M. – A new receptor potential of the monkey retina with no detectable latency. **Nature**, v.201, p.626-628, 1964.
11. Von BRUCKE, E.T.; GARTEN, S. Zur vergleichenden Physiologie der Netzhautströme. **Pflugers Arch. Ges. Physiol.**, v.120, p.290-348, 1907.
12. BRUNETTE, J.R. Clinical electroretinography. Part 1: Foundations. **Can. J. Ophthalmol.**, v.17(4), p.143-149, 1982.
13. BRUNETTE, J.R. The Human electroretinogram during dark adaptation. **Arch. Ophthalmol.**, v.82, p.491-498, 1969.
14. BURIAN, H.M.; ALLEN, L. A speculum contact lens electrode for electroretinography. **Electroenceph Clin. Neurophysiol.**, v.6, p.509-511, 1954.

15. COBB, W.A.; MORTON, H.B. A new component of the human ERG. **J. Physiol.**, v.123, p.36-37, 1954.
16. COSTA, R.H.M.; TAKAHASHI, W.Y. .; DIAS, N.T. Normatização do eletrorretinograma.. **Rev. Bras. Oftal.**, v.57(5), p.375-378, 1998.
17. DANTAS, A.M.; MELO, A.C.F.; ZANGALLI, A.L.; MELARA, C.H. Eletrorretinografia (ERG), eletro-oculografia (EOG) e potencial occipital evocado (POE): Princípios básicos. **Rev. Bras. Oftal.**, v.32(3), p.303-322, 1973.
18. DANTAS, A.M.; CÂMARA, A.G & POLETTI, S. Electro-oculograma (EOG), eletrorretinograma (ERG) e potencial occipital provocado (POP) para médicos. **Rev. Bras. Oftalm.**, v.45(4), p. 149-157, 1986.
19. DANTAS, A.M. Eletrorretinografia. In: DANTAS, A.M.; COSTA, J.G.C.; PACINI NETO, L.; YAMANE, R.; ELIAS, C.A. **Biblioteca Brasileira de Oftalmologia. Eletrofisiologia Ocular.** 1ª ed. Rio de Janeiro: Editora Cultura Médica, p.227-259, 1995.
20. DECLERCQ, S.S. The coating agent on the corneal contact lens in electroretinography. **Am. J. Ophthalmol.**, v.83(2), p.267-271, 1977.
21. DEWAR, J. & MCKENDRICK, J. On the physiological action of light. **J. Anat. Physiol.**, v.7, p.275, 1873
22. DEWAR, J. The physiological action of light. **Nature**, v.15, p.433-435, 1877.
23. DOREY, C.K.; WU, G.; EBENSTEINS, D.; GARSD, A.; WEITER, J.J. Cell loss in the aging retina. **Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.**, v.30, p.1691-1699, 1989.
24. DU BOIS-REYMOND, E. **Untersuchungen über die tierische elektrizitat.**, Berlin, ed. G. Reuner, 1849.
25. EITHOVEN, W & JOLLY, W.A The form and magnitude of the electrical response of the eye to stiulation by light at various intesitis. **Q. J. Exp. Physiol.**, v.1, p.373, 1908.
26. EPIC 2000 - ELECTROPHYSIOLOGIC PERSONAL INTERFACED COMPUTER – 2000: (EPIC 2000): **Operations manual version 3.10.** SEVERNS, M. ; LEIGHT, J.; POWERS, M.; KHADJENOURI, D. Gaithersburg, LKC Technologes, Inc. 1994.
27. FISHMAN, G.A, FARBER, M.D & DERLACKI, D.J. X-linked retinitis pigmentosa : profile of clinical findings. **Arch. Ophthalmol.**, v.106, p.369-375, 1988.
28. FRANKLIN, J.B. Electroretinography. **South Med. J.**, v.59, p.448-452, 1966.
29. GALLOWAY, N.R. Electrodiagnosis. In: Walch, T.J. **Neuro-ophthalmology – Clinical signs and sympton.** Philadelphia: Lea & Febiger, 1992, cap.12, p.353-396.

30. GAO, H.; HOLLYFIELD, J.G. Aging of the human retina. **Invest Ophthalmol. Vis. Sci.**, v.33, p.1-17, 1992.
31. GONÇALVES, E. (a). Eletrorretinografia. In: **Anais XVI Congresso Brasileiro de Oftalmologia**. Campina, São Paulo., p.513-523, 1971.
32. GONÇALVES, E. (b). Confronto eletrorretinográfico. In: **Anais do XVI Congresso Brasileiro de Oftalmologia**. Campinas, São Paulo., p.398-411, 1971
33. GONÇALVES, E.R & ORÉFICE, F. Eletrofisiologia nas uveítes. In: Oréfice, F. & Belfort Jr, R.: **Uveítes**. 1^a. Ed. São Paulo: Editora Roca, p.117-136, 1987.
34. GOTCH, F. Further observations on the photoelectric responses of the frog's eyeball. **J. Physiol.**, v.30, p.1, 1903.
35. GOURAS, P. Rod and cone independence in the electroretinogram of the dark adapted monkey's perifovea. **J. Physiol.**, v.187, p.784-793, 1966.
36. GOURAS, P. Symposium on electrophysiology. Electroretinography:some basic principles. **Invest. Ophthalmol.**, v.72, p.104-110, 1970.
37. GRANIT, R. The components of the retinal action potential in mammals and their relation to the discharge in the optic nerve. **J. Physiol.**, v.77, p.207-240, 1933.
38. HARGRAVE, P.A.; McDOWELL, J.H. Rhodopsin and phototransduction: a model system for G protein-linked receptors. **FASEB J.**, v.6, p.2323-2331, 1992.
39. HARTLINE, H.K. The electrical response to illumination of the eye in intact animals, including the human subject and in decerebrate preparations. **Am. J. Physiol.**, v.73, p.600-612, 1925.
40. HOLMGREN, F. Method att objectivera affecten av ljusintyck pa retina. **Upsala Lakaref forbU.**, v.1, p.177, 1865-1866, 1865.
41. INTERNATIONAL SOCIETY FOR CLINICAL ELECTROPHYSIOLOGY OF VISION (ISCEV). MARMOR, M.F .; ZRENNER, E. **Standard, Recommendations and Guidelines**. Standard for clinical electroretinography. (1999 update).
42. KARPE, G. The basis of clinical electroretinography. **Acta Ophthalmol.**, suppl.21, p.1-118, 1945.
43. KELNEN, J.E.E.; VAN NORREN, D.; VAN MEEL, GJ. Density of foveal cone pigments at older age. **Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.**, v.28, p.985-991, 1979.
44. KESLSEY, J.H. Clinical electroretinography. I. **Br. J. Ophthalmol.**, v.51, p.356-357, 1967.
45. KRILL, A.E. The electroretinogram and electro-oculogram: clinical applications. **Invest Ophthalmol.**, v.9, p.600-617, 1970.