

Localización mediante electrorretinografía multifocal de las áreas retinianas alteradas en la retinosis pigmentaria

LOCALIZATION BY MULTIFOCAL ELECTRORETINOGRAPHY OF DAMAGED RETINAL AREAS IN RETINITIS PIGMENTOSA

José Antonio Sáez Moreno (1,2), Raquel Gutiérrez Zúñiga (1), Luís Felipe Canaval Parra (1), Inmaculada Concepción Domínguez Hidalgo (1,3), José Manuel Rodríguez Ferrer (1,4)

1) Laboratorio de Neurociencia Visual y Cognitiva. Instituto de Neurociencias. Universidad de Granada

2) Servicio de Neurofisiología Clínica. Hospital Universitario San Cecilio. Granada

3) Servicio de Oftalmología. Hospital Universitario San Cecilio. Granada

4) Departamento de Fisiología. Facultad de Medicina. Universidad de Granada

Resumen

La electrorretinografía multifocal es una nueva técnica que permite obtener un mapa topográfico de la actividad eléctrica de la retina, lo que la hace especialmente útil para el estudio de las distrofias retinianas, como es el caso de la retinosis pigmentaria. El objetivo de este trabajo ha sido analizar la retina de 12 pacientes con retinosis pigmentaria mediante esta técnica. Se utilizó como estímulo una matriz de 61 hexágonos, con cambios de luminancia, que subtende 60° de ángulo visual. En todos los pacientes, la densidad eléctrica de las respuestas registradas fue inferior a la obtenida en personas con visión normal. Sólo en un paciente se obtuvieron respuestas en todas las áreas estimuladas. En el resto de los pacientes se observaron áreas sin respuesta. El número de estas áreas varió según el tipo y severidad de la enfermedad. Estos resultados muestran la utilidad de la electrorretinografía multifocal para determinar objetivamente el grado y localización de las alteraciones degenerativas de la retina en los pacientes de retinosis pigmentaria.

Palabras clave: Retinosis pigmentaria, electrorretinografía multifocal, mfERG.

Abstract

The multifocal electroretinography is a new technique that allows the obtaining of a topographic map of electrical activity of the retina that is especially useful for the study of retinal dystrophies, such as the retinitis pigmentosa. The aim of this work was to analyze the retina of 12 patients with retinitis pigmentosa through this method. A stimulus pattern of 61 hexagons, with changes in luminance that subtends 60° of visual angle, was used. In all the patients, the densities of the recordings were lower than normal. Only in one patient, responses were obtained in all areas stimulated. In the rest, we found unresponsive areas that varied according to the type and severity of the disease. These results show the usefulness of multifocal electroretinography to determine the extent and location of the retinal degeneration of the patients.

Key words: retinitis pigmentosa, multifocal electroretinography, mfERG.

1. Introducción

La retinosis pigmentaria (RP) consiste en un grupo heterogéneo de distrofias hereditarias de la retina caracterizadas por una pérdida inicial de los fotorreceptores y alteración del

epitelio pigmentario, seguida de una progresiva degeneración y atrofia de la retina en todas sus capas. La RP afecta a una entre 3.500 y 4.000 personas en el mundo (1). En España, el número de afectados supera los 15.000 y se estima en 500.000 las personas portadoras de los genes defectuosos y, por

tanto, posibles trasmisores de esta enfermedad (2).

Existen diferentes formas clínicas de RP. En la forma de RP denominada bastón-cono, la más frecuente, los bastones son los fotorreceptores más afectados. En un estadio temprano, se caracteriza por ceguera nocturna y reducción concéntrica del campo visual. A medida que avanza la enfermedad se afectan los conos, produciéndose pérdida de la agudeza visual y alteración en la visión de colores (3). En el tipo de RP denominado cono-bastón, existe una alteración simultánea de conos y bastones. Esta variante muestra en un estadio temprano una mayor pérdida del campo visual central. Sin embargo, los síntomas visuales son panretinianos y a menudo incluyen pérdida de la visión nocturna y del campo visual periférico (3). El grado de afectación visual es variable para ambas formas, siendo posible la ceguera en la fase más avanzada. A parte de las formas típicas de RP, donde las alteraciones están restringidas a la retina, existen formas complejas o sindrómicas en las que los pacientes tienen alteraciones asociadas no oculares como son los síndromes de Usher, Bardet-Biedl, Refsum, Bassen-Kornzweig y Kearns-Sayre o las enfermedades de Batten, Alstrom y la mucopolisacaridosis (1, 3).

La genética de la RP es compleja y el número de mutaciones descritas se incrementa continuamente con nuevos hallazgos (3, 4). Hasta el momento, se han identificado 59 genes relacionados con la RP (4). Estos genes codifican proteínas que juegan un papel importante en diversos aspectos de la fisiología visual como es la fototransducción, el ciclo visual, así como la transcripción y/o estructura de los fotorreceptores. La RP muestra diversos patrones de herencia y algunos genes parecen tener más de un modo de transmisión. Las estimaciones de los tipos de herencia de la RP varían según los diversos estudios y oscilan entre 20-41% para los casos de herencia autosómica recesiva, 15-20% los de autosómica dominante, 10-22% ligada al cromosoma X, mientras que el 12-55% restante sería para formas esporádicas, no asociadas a historia familiar, y catalogadas como simples (4-6). La edad de comienzo, el grado de progresión y la presencia o ausencia

de enfermedades oculares asociadas están frecuentemente relacionados con el modo de herencia, pero la apariencia clínica puede variar incluso para una misma mutación entre los miembros de una familia o entre distintas familias (4).

El diagnóstico y tipificación electrofisiológico de la RP se realiza habitualmente mediante el electrorretinograma Ganzfeld (ERG) que analiza de forma objetiva el estado funcional de los fotorreceptores (7). La actividad de los bastones se mide mediante estímulos lumínicos estandarizados tras un periodo de adaptación a la oscuridad y la de los conos mediante estímulos lumínicos de mayor intensidad tras un periodo de adaptación a la luz. A diferencia del ERG que mide la actividad global de los fotorreceptores, Sutter y Tran desarrollaron en 1992 una nueva técnica denominada electrorretinografía multifocal (mfERG) y que consiste en la estimulación local simultánea de diferentes áreas de la retina central permitiendo la obtención de un mapa topográfico con la actividad eléctrica de dichas zonas (8). Se utiliza como estímulo un patrón de 61, 103 o 241 hexágonos, de mayor superficie cuanto más periféricos, que alternan de blanco a negro de forma pseudo-randomizada y que se presentan en una pantalla de luminancia constante. De cada área estimulada se obtiene un registro que consiste en una onda bifásica con un componente negativo inicial (N1) seguido de un pico positivo (P1). El componente N1 está producido por la despolarización de las células bipolares tipo ON, mientras que el pico P1 depende de la despolarización de las células bipolares tipo

ON y OFF y de la recuperación de las células bipolares tipo ON, por este orden (9). Al tratarse de una prueba topográfica, además de la amplitud y latencia de onda se obtiene la densidad de la respuesta retiniana de cada hexágono expresada en nanovoltios por grado al cuadrado. Aun cuando las señales obtenidas mediante mfERG se denominan habitualmente como respuestas, conviene señalar que estas no son potenciales eléctricos obtenidos directamente de las áreas retinianas, sino que son inferencias matemáticas derivadas de una función de correlación cruzada entre la señal obtenida y

el patrón que aparece en la pantalla. Es importante destacar que debido al alto nivel de luminancia y a la alta frecuencia de estimulación utilizados, la mfERG estudia principalmente la actividad de los conos. En resumen y a diferencia de técnicas precedentes, la mfERG permite un análisis topográfico detallado de la actividad eléctrica de la retina y la localización de las áreas alteradas (10, 11). El objetivo de este trabajo ha sido estudiar la retina de pacientes con RP mediante la técnica de mfERG, disponible en nuestro Laboratorio de Neurociencia Visual y Cognitiva, del Instituto de Neurociencias de la Universidad de Granada. Conocer lo más detalladamente posible el estado funcional de la retina de los pacientes de RP es especialmente relevante ya que puede orientar la aplicación de los futuros tratamientos que puedan desarrollarse para esta enfermedad.

2. Materiales y métodos

Sujetos

Participaron en este estudio 3 voluntarios sanos (3 mujeres, de edades comprendidas entre 30 y 70 años), utilizados como sujetos control y 12 pacientes de RP (11 mujeres y 1 varón, de edades comprendidas entre 20 y 61 años), previamente diagnosticados de RP por los servicios de Oftalmología y de Neurofisiología Clínica del Hospital Universitario San Cecilio de Granada. Ninguno de los pacientes presentaba otra patología visual asociada. Todos los sujetos dieron su conformidad para participar en este estudio.

Electrorretinografía multifocal (mfERG)

La evaluación de la retina mediante mfERG se realizó con el equipo Diagnosys (Diagnosys LLC, Lowell MA, USA) y se llevó a cabo siguiendo las recomendaciones de la International Society for Clinical Electrophysiology of Vision (12).

Los participantes (pacientes y controles) se sentaron a 33 cm de la pantalla de estimulación. El estímulo utilizado fue una matriz de 61 hexágonos que subtiende 60° en la retina. Los filtros utilizados fueron de 10 Hz y 100 Hz. Los estímulos se proyectaron en un monitor LCD, con una secuencia m de 14 bits a 75 Hz. La cadencia de los estímulos está diseñada de manera que cada hexágono tiene aproximadamente un 50% de probabilidades de ser blanco o negro en cada pantalla. La luminancia de los hexágonos blancos fue de 800 cd/m², la de los negros 0 cd/m² y la del fondo fue de 400 cd/m². Las señales eléctricas se obtuvieron mediante electrodos corneales de fibra DTL (Diagnosys LLC, Lowell MA, USA) y se amplificaron con una frecuencia de muestreo de 1.200Hz. La respuesta correspondiente a cada región de la retina se obtuvo mediante un análisis kernel de orden 1 de la relación existente entre la fluctuación del campo eléctrico y los cambios de luminancia de cada hexágono. Esta respuesta consiste en una onda bifásica con una deflexión negativa inicial denominada N1, seguida de un pico positivo denominado P1. En los sujetos control y en tres pacientes de RP, en los que se obtuvieron respuestas en la mayoría de los hexágonos, también se realizó un análisis agrupando las 61 respuestas en 5 anillos concéntricos, tal como se muestra en la figura 1.

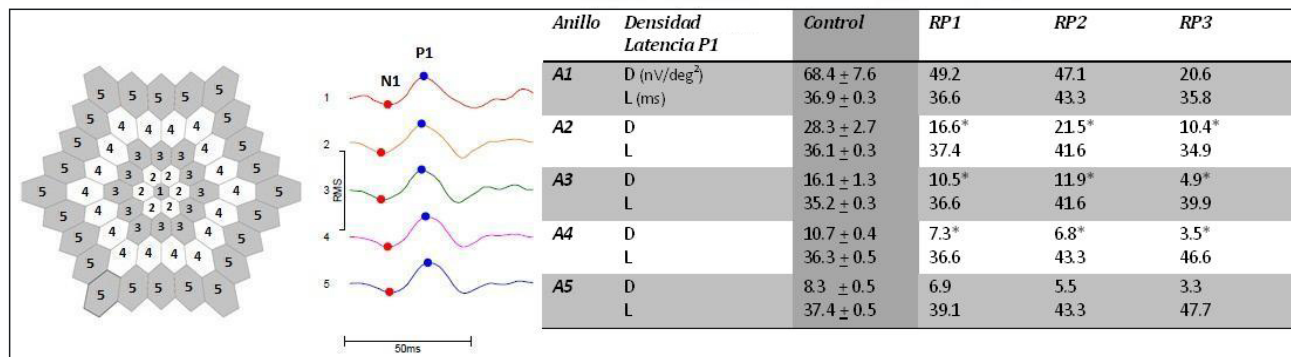


Figura 1. A la izquierda se muestra un diagrama con los hexágonos que pertenecen a cada anillo con su correspondiente número. Los anillos se numeran de 1 a 5, desde el central al más periférico. En el centro, se muestra el promedio de ondas para cada anillo. El cursor señala la localización del pico negativo (N1) y el pico positivo (P1). A la derecha se muestra una tabla con los valores de densidad eléctrica y latencia de P1 para cada anillo (filas). La tercera columna muestra la media ± el error estándar de los valores del grupo control y las siguientes los valores de los pacientes RP1-3. (*p<0.05). A = anillo, D = densidad, L = latencia de P1.

La onda que se obtiene en cada anillo es un promedio de las ondas que lo integran, salvo para el anillo 1 (A1), que corresponde a la respuesta del hexágono central (hexágono 31). Se midió la latencia (ms) y amplitud (nV) de la onda P1 para cada respuesta individual. También se determinó la densidad eléctrica (nV/deg^2) para cada anillo.

Los resultados se analizaron mediante el paquete estadístico SPSS, usando el test T-Student para variables independientes y corresponden al ojo con los mejores registros.

3. Resultados

El análisis por anillos en los sujetos control (Fig. 1) mostró que la densidad del campo eléctrico decrece progresivamente desde el anillo A1 al A5, siendo esta significativamente menor ($p < 0.002$).

Las latencias de P1 obtenidas en los diferentes anillos no mostraron diferencias significativas. En la figura 2A se muestran las respuestas de cada uno de los 61 hexágonos de un sujeto control y la representación tridimensional de la densidad eléctrica.

Los pacientes RP1-3 mostraron registros detectables en todos los anillos pero con densidades inferiores a los controles (Fig. 1). Esta reducción fue significativa en los anillos A2-4 ($p < 0.05$). De los tres pacientes, RP2 mostró un retraso de la latencia de P1 en todos los anillos y RP3 en los tres anillos más periféricos (anillos A3-5, Fig. 1). A diferencia de los sujetos control, los pacientes RP1-3 mostraron algunos hexágonos con registros anormales de morfología polifásica.

En el caso del paciente RP2, como se muestra en la figura 2B y que se utiliza como ejemplo, se observaron ondas polifásicas en el tercio inferior de la retina, y que se presenta como una zona de muy baja densidad en la porción inferior de la representación tridimensional.

En los pacientes RP4-12 sólo se obtuvieron respuestas en algunos de los hexágonos estimulados, como se ejemplifica en la figura 3, por lo que no fue posible el análisis por anillos. Así pues, en estos casos se analizó el trazado eléctrico hexágono a hexágono. En base a la localización de las respuestas analizables

encontradas, estos 9 pacientes se clasificaron en dos grupos.

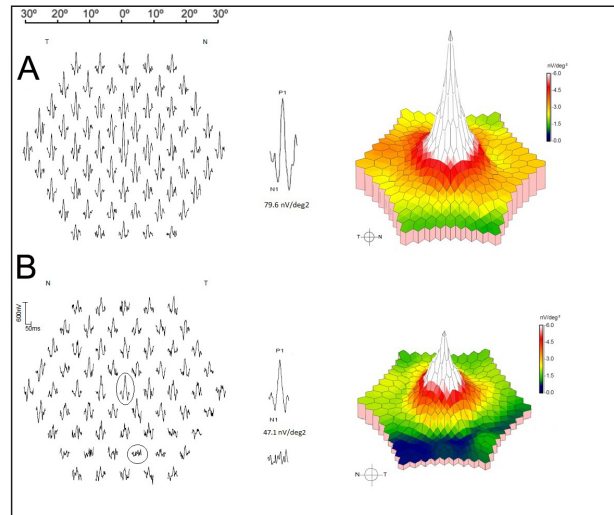


Figura 2: (A) En la izquierda se muestran los 61 trazados del mfERG del ojo derecho de uno de los participantes control. En la parte superior se muestran los grados de ángulo visual. En el centro se muestra una ampliación del registro correspondiente al hexágono 31 (central) indicando la densidad eléctrica del mismo. A la derecha se muestra la representación tridimensional en función de la densidad eléctrica.

(B) Resultados del ojo izquierdo del paciente RP2, afecto de RP sectorial. En el trazado (izquierda) se observan ondas bifásicas en los dos tercios superiores, mientras que en el tercio inferior las ondas son polifásicas anormales. En el centro se muestran dos ampliaciones. La superior corresponde al hexágono 31 y la inferior corresponde a una onda polifásica. En la representación tridimensional (derecha) se aprecia la zona inferior de mínima densidad.

El primer grupo lo integraron los pacientes RP4-9, en los que se encontró una onda bifásica N1-P1 en el hexágono 31 (foveal) y, en tres de los pacientes, en algunos hexágonos adyacentes, pertenecientes a los anillos A2 y A3 (Tabla 1 y Fig. 4A). La mejor respuesta se obtuvo en el hexágono 31, produciendo un pico central rodeado de zonas con muy baja densidad en la representación tridimensional (Fig. 3). La densidad del hexágono central fue inferior a la de los controles ($p < 0.0001$) y la latencia de P1 se mantuvo dentro de los límites de la normalidad (Tabla 1).

El segundo grupo estuvo constituido por los pacientes RP10-12, en los que no se registraron ondas bifásicas en el hexágono central y sólo se pudieron observar ondas analizables en algunas zonas aisladas de la retina parafoveal estimulada. En el paciente RP10 se encontraron 4 ondas de morfología bifásica en los hexágonos 34 y 52 del anillo

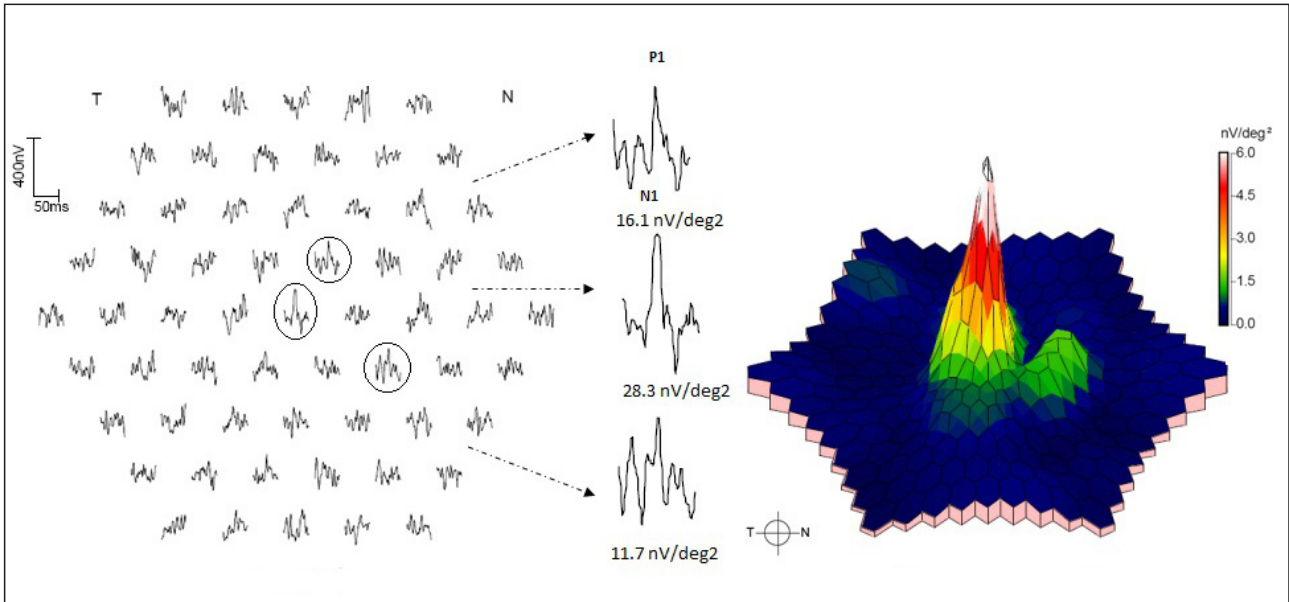


Figura 3. A la izquierda se muestran los 61 trazados del mfERG del ojo derecho del paciente RP5. En el centro y de arriba a abajo se muestran las ampliaciones de aquellas ondas en las que fue posible distinguir un componente bifásico N1-P1. En la representación tridimensional (derecha) se observa el pico foveal de actividad junto con una pequeña zona adyacente de funcionalidad con menor densidad.

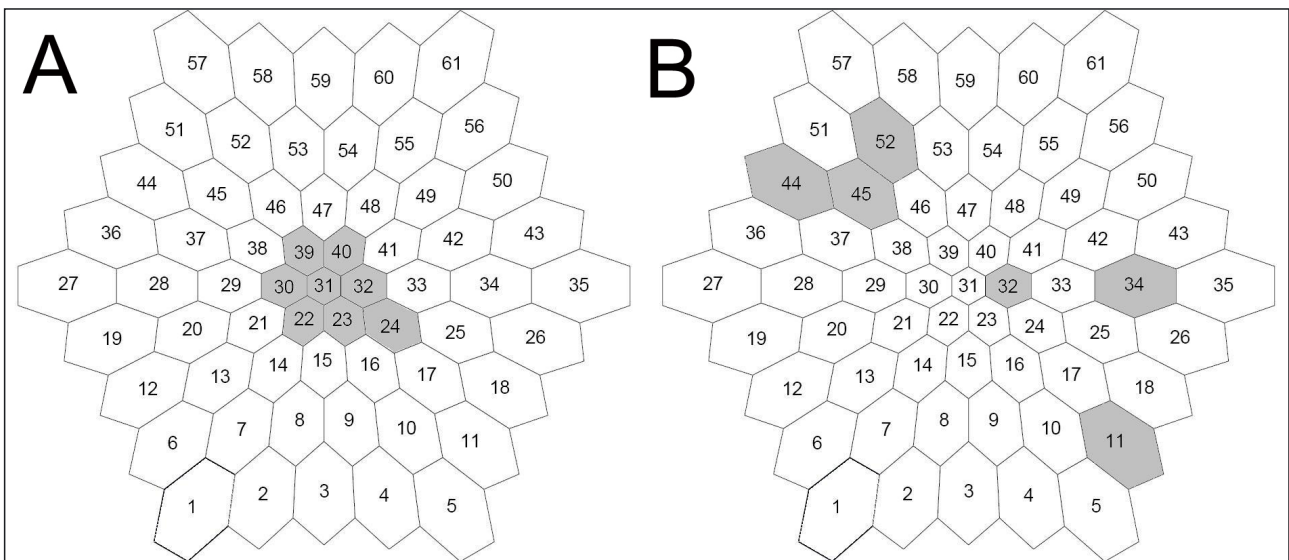


Figura 4. Diagramas de los 61 hexágonos usados como estímulos. A) Los hexágonos sombreados son aquellos que indujeron ondas bifásicas en los pacientes RP4-9. En estos pacientes se obtuvieron ondas analizables en el hexágono 31 (central) y en algunos hexágonos adyacentes, pertenecientes a los anillos A2 y A3. B) Aparecen sombreados los hexágonos correspondientes a los pacientes RP10-12, que mostraron ondas de morfología bifásica en hexágonos parafoveales aislados.

Pacientes	Densidad	Latencia	Hexágonos
RP4	21.7**	31.6	30, 32
RP5	22.2**	35.8	22, 23, 32, 39
RP6	28.3**	34.9	40, 24
RP7	29.6**	30.8	-
RP8	23.6**	33.3	-
RP9	19.3**	36.6	-

A4 y en los hexágonos 11 y 44 del anillo A5. En los pacientes RP11 y RP12 sólo se encontró una onda de morfología normal en el hexágono 32 (anillo A2) y en el 45 (anillo A4), respectivamente (figura 4B).

Tabla 1. Resultados correspondientes a los pacientes RP4-9. Se muestran los valores de densidad (nV/deg²) y latencia (ms) de P1 para el hexágono central H31, así como los hexágonos de los anillos A2-A5 en los cuales se obtuvieron ondas bifásicas. (**p<0.0001).

4. Discusión

La electroretinografía multifocal es un nuevo método que, a diferencia de las técnicas electrofisiológicas precedentes, permite obtener un mapa de la actividad eléctrica de la retina externa, principalmente fotorreceptores y células bipolares.

En nuestro estudio, de cada sujeto se analizaron 61 áreas retinianas, bien individualmente o agrupadas en 5 anillos concéntricos. Como se muestra en la figura 1, la densidad eléctrica obtenida en sujetos control es máxima en el anillo central A1 y va disminuyendo progresivamente hasta el anillo más periférico A5 debido a la disminución de la densidad de los fotorreceptores desde la región foveal a las zonas parafoveales retinianas. Nuestros resultados en sujetos normales muestran valores de densidad y latencia de P1 similares a los descritos por otros autores (10, 11, 13, 14). En comparación con los sujetos control, los pacientes RP1-3, con respuestas registrables en todos los anillos, mostraron valores de densidad inferiores a los controles. Estos resultados concuerdan con estudios previos en RP y muestran que la reducción de la densidad eléctrica es el hecho más característico de la mfERG en estos pacientes (10, 13, 14, 15). Lyons y Severns (16) han establecido unos límites de normalidad de los cocientes de densidad entre el anillo A1 y el resto de anillos, siendo estos 2.6, 4.5, 6.9 y 7.7 para los cocientes A1/A2-A1/A5, respectivamente. Valores superiores a los mencionados se consideran anormales. Aplicando este tipo de análisis, el paciente RP1 muestra valores superiores a los normales en los cocientes A1/A2 y A1/A3, el paciente RP2 en los cocientes A1/A4 y A1/A5, mientras que RP3 muestra valores normales en todos los cocientes.

Estos datos muestran una disminución heterogénea de la densidad de los diferentes anillos entre los pacientes de RP. También se observaron diferencias entre los pacientes con respecto a la latencia de P1. Así, mientras que RP1 mostró valores normales, RP2 mostró retrasos de la latencia de P1 en todos los anillos y RP3 en los anillos más periféricos. Estas diferencias entre pacientes pueden atribuirse al alto grado de variabilidad interindividual que presenta la latencia de P1.

En este sentido, recientemente Maiti *et al.* (17) han mostrado en pacientes de RP retrasos significativos en las latencias de P1 en los anillos A2 y A3 pero no en los más periféricos, como había sido descrito previamente (14). A diferencia del paciente RP1, en el que se observaron ondas bifásicas en los 61 hexágonos, en los pacientes RP2 y RP3 los registros correspondientes a los hexágonos del tercio inferior presentaron una morfología anormal polifásica, que se refleja como una zona inactiva en la representación tridimensional (Fig. 2B). Estos dos pacientes corresponden a un tipo especial de RP denominada sectorial, no muy frecuente y que no se incluye en los estudios con mfERG consultados.

En los pacientes RP4-12, la mayoría de las respuestas de los hexágonos analizados mostraron una morfología anormal de aspecto polifásico, encontrándose respuestas con morfología bifásica solo en algunos hexágonos aislados, variando estos según los pacientes. Este tipo de registro multifocal refleja un estado avanzado de la enfermedad. La presencia de registros con ondas bifásicas en áreas dispersas de la retina indica una función preservada de los conos de dichas áreas. Las diferencias entre los pacientes de RP en la localización de áreas con funcionalidad preservada puede deberse a la variabilidad interindividual de la densidad de conos en la retina. Así, se ha estimado que la densidad de conos de la fóvea varía entre 100.000 y 320.000 conos/mm² en sujetos normales (18). Además, pueden influir las variaciones debidas a una diferente degeneración de fotorreceptores asociada a la edad (19) y a la duración y/o gravedad de la enfermedad (13).

En la actualidad no existe tratamiento para la RP. No obstante, diversas estrategias terapéuticas están siendo investigadas con el objetivo de frenar la evolución de la RP o de restaurar la pérdida de visión (20). Así, para la fase inicial de la enfermedad y con el objetivo de frenar la degeneración de los fotorreceptores, se están investigando diversas terapias génicas o farmacológicas que corrijan las alteraciones que las mutaciones causantes de la RP producen en el ciclo visual. Otras líneas de investigación tratan de evitar la muerte de los fotorreceptores mediante factores neurotróficos o antiapoptóticos que reduzcan la producción de sustancias retinotóxicas y que limiten el daño oxidativo.

Finalmente, y para fases más avanzadas de la enfermedad, se están investigando las posibilidades terapéuticas de implantes de tejido retiniano o de células madre.

En la mayoría de estos tratamientos se requiere la aplicación intravítrea o subretiniana de cápsulas que liberen los agentes terapéuticos. En este sentido, cuando estos tratamientos estén disponibles para su aplicación en humanos, la identificación previa mediante mfERG de las áreas de actividad preservada y alterada en la retina de los pacientes de RP será clave para guiar la aplicación adecuada del tratamiento elegido, así como para la evaluación posterior de su eficacia.

5. Conclusión

La mfERG es una de las técnicas más avanzadas que existen en la actualidad para el estudio electrofisiológico de la retina. Su mayor ventaja frente a las técnicas precedentes radica en que permite localizar las áreas anómalas de la retina.

Nuestros resultados muestran que los pacientes con RP se caracterizan por una disminución generalizada de la densidad eléctrica de las áreas analizadas. En formas especiales de RP, se observan áreas con registros anormales que afectan a un sector de la retina y en los casos más graves sólo se registran respuestas en áreas aisladas de la retina.

Finalmente, el presente estudio muestra la existencia de una gran variedad interindividual en la topografía de las alteraciones retinianas producida por la RP, un aspecto que deberá ser tenido en cuenta en la aplicación de futuros tratamientos de esta enfermedad.

Referencias

1. Pagon R, Daiger S. Retinitis Pigmentosa Overview. En: GeneReviews. Ed. Universidad de Washington. 2005, [<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK1417>].
2. Fernández E. En: Retinosis Pigmentaria: preguntas y respuestas. Ed. Universidad Miguel Hernández de Elche. 2007.
3. Phelan JK, Bok D. A brief review of retinitis pigmentosa and the identified retinitis pigmentosa genes. *Mol Vis* 2000; 6:116-124.
4. Chang S, Vaccarella L, Olatunji S, Cebulla C, Christoforidis J. Diagnostic Challenges in Retinitis Pigmentosa: Genotypic Multiplicity and Phenotypic Variability. *Curr Genomics* 2011; 12:267-275.
5. Siemiatkowska A, Arimadyo K, Moruz LM, Astuti G, Castro-Miro M, Zonneveld MN. Molecular genetic analysis of retinitis pigmentosa in Indonesia using genome-wide homozygosity mapping. *Mol Vis* 2011; 17:3013-3024.
6. González-del Pozo M, Borrego S, Barragán I, Pieras JJ, Santoyo J, Matamala N, Naranjo B, Dopazo J, Antiñolo G. Mutation screening of multiple genes in spanish patients with autosomal recessive retinitis pigmentosa by targeted resequencing. *PLoS ONE* 2011; 6:1-8, e27894.
7. Marmor MF, Zrenner E. Standard for clinical electroretinography. International Society for Clinical Electrophysiology of Vision. *Doc Ophthalmol* 1999; 97:143-156.
8. Sutter EE, Tran D. The field topography of ERG components in man-I: the photopic luminance response. *Vision Res* 1992; 32:433-446.
9. Hood DC, Odel JG, Chen CS, Win BJ. The multifocal electroretinogram. *J Neuro-Ophthalmol* 2003; 23:225-235.
10. Nagy D, Schönfisch B, Zrenner E, Jägle H. Long-Term Follow-up of Retinitis Pigmentosa Patients with Multifocal Electroretinography. *IOVS* 2008; 49:4664-4671.
11. Moschos MN, Moschos MM, Apostolopoulos M, Mallias JA, Bouros C, Theodossiadis GP. Assessing hydroxychloroquine toxicity by the multifocal ERG. *Doc Ophthalmol* 2004; 108:47-53.
12. Hood DC, Bach M, Brigell M, Keating D, Kondo M, Lyons JS, Marmor MF, McCulloch DL, Palmowski-Wolfe AM. ISCEV standard for clinical multifocal electroretinography. *topography of multifocal electroretinograms. IOVS* 1998; 39:718-723.
16. Lyons JS, Severns ML. Detection of early hydroxychloroquine retinal toxicity enhanced by ring ratio analysis of multifocal electroretinography. *Am J Ophthalmol* 2007; 143:801-809.
17. Maiti A, Uparkar M, Natarajan S, Borse N, Walinjar J. Principal components' analysis of multifocal electroretinogram in retinitis pigmentosa. *Indian J Ophthalmol* 2011; 59:353-357
18. Hendrickson AE, Yuodelis C. The morphological development of the human fovea. *Ophthalmology* 1984; 91:603-612.
19. Panda-Jonas S, Jonas JB, Jakobczyk-Zmija. Retinal photoreceptor density decreases with age. *Ophthalmology* 1995; 102:1853-1859.
20. Sahni JN, Angi M, Irigoyen C, Semeraro F, Romano MR, Permezziani F. Therapeutic challenges to retinitis pigmentosa: from neuroprotection to gene therapy. *Curr Genomics* 2011; 12:276-284.