

Ocenjevanje delovanja mrežnice s fotopično in skotopično elektroretinografijo*

Photopic and scotopic electroretinography for assessment of retinal function

Jernej Breclj**, Miran Brvar***

Deskriptorji
retinitis pigmentosa – diagnoza
elektroretinografija

Descriptors
retinitis pigmentosa – diagnosis
electroretinography

Izveček. Elektroretinogram je zapis električnega potenciala mrežnice, ki ga izzovemo s svetlobnim bliskom in posnamemo s površinsko elektrodo. Elektroretinografija je neinvazivna in objektivna preiskava, ki je – nestandardizirana – v klinični uporabi že vrsto let. Namen naloge je bil napraviti elektroretinografske posnetke v skladu s standardi, ki jih je priporočila Mednarodna organizacija za klinično elektrofiziologijo vida (ISCEV). Ob tem smo preizkusili še novo nekornealno elektrodo HK. Preiskali smo 40 zdravih prostovoljcev in 11 bolnikov z diagnozo retinitis pigmentosa. Kot aktivno elektrodo smo uporabili nekornealno elektrodo HK. Priprava bolnikov in tudi nastavitve parametrov elektroretinografskega sistema sta bili v skladu s standardi ISCEV-a. Normative za opazovane parametre elektroretinograma smo dobili iz meritev na skupini prostovoljcev. Elektroretinografske odzive bolnikov z diagnozo retinitis pigmentosa smo primerjali z odzivi zdravih preiskovancev. Preiskava se je izkazala kot uspešna za elektrofiziološko vrednotenje delovanja mrežnice. Prostovoljci in bolniki so nekornealno elektrodo HK dobro prenašali. Mislimo, da je elektroda dovolj stabilna in občutljiva za klinično uporabo v bliskovni elektroretinografiji.

Abstract. The electroretinogram demonstrates a flash-evoked potentials of the retina recorded by surface electrodes. Electroretinography is a noninvasive and objective, yet nonstandardised examination technique, which has been in clinical use for number of years. The aim of this study was to record electroretinographic responses according to ISCEV standards, and to test a new laboratory-produced non-corneal HK – loop electrode. Electroretinograms were recorded in 40 healthy volunteers and 11 patients with retinitis pigmentosa, using a non-corneal HK – loop electrode as the active electrode. The preparation of patients, as well as the parameters of the electroretinographic system were adjusted to comply with the ISCEV standards. Normative electroretinographic data obtained in a group of volunteers were compared with electroretinographic responses of the patients group. The method used in our study proved of great value in the electrophysiological assessment of the retinal function. Both, the volunteers and the patients found the non-corneal HK – loop electrode quite comfortable. Also, it proved stable and sensitive enough to ensure accurate flash electroencephalographic recording.

Uvod

Elektroretinografija (ERG) je ena od elektrofizioloških metod za vrednotenje delovanja celic človeške mrežnice: fotoreceptorjev, bipolarnih, Müllerjevih, horizontalnih in amakrinih celic. Pomembni lastnosti metode sta neinvazivnost in objektivnost. Pri ERG merimo s površinskimi elektrodami bioelektrične potencialne mrežnice, ki jih izzovemo z bliski. Fotopična ERG, pri kateri je mrežnica prilagojena na svetlobo, nam omogoča vred-

*Objavljeno je delo, ki je bilo nagrajeno s Prešernovo nalogo za študente v letu 1993.

**Jernej Breclj, štud. med., Univerzitetni inštitut za klinično nevrofiziologijo, Zaloška 7, 61105 Ljubljana.

***Miran Brvar, štud. med., Univerzitetni inštitut za klinično nevrofiziologijo, Zaloška 7, 61105 Ljubljana.

notenje delovanja čepnic in celic, ki so z njimi povezane. Pri skotopični ERG pa je mrežnica prilagojena na temo, tako da lahko ocenjujemo delovanje paličnic in celic, s katerimi so povezane. Čepnice so namreč na svetlobo mnogo manj občutljive kot paličnice.

Razlaga elektroretinograma temelji na poznavanju zgradbe in delovanja mrežnice, kar v nadaljevanju na kratko predstavljamo.

Zgradba mrežnice

Za mrežnico (slika 1) je značilna večslojna struktura petih tipov celic, ki so navpično in vodoravno povezane (1, 2). Sestavljena je iz treh celičnih plasti. V **zunani celični plasti** (ZCP) so jedra paličnic in čepnic. V **notranji celični plasti** (NCP) so bipolarne celice in dve vrsti interneuronov: na zunanji strani ležijo horizontalne celice, na notranji strani pa amakrine celice. V **ganglijski plasti** (GP) so jedra ganglijskih celic.

Slika 1. Zgradba mrežnice in odzivi posameznih nevronov mrežnice na svetlobni dražljaj. Na desni strani smo označili, iz katerih celic izvirata vala a, b in oscilatorni potenciali. Na levi strani so označene plasti mrežnice (kratice so razložene v besedilu). (Modificirano po Schmidt RF, Thews G, eds. Human Physiology (3)).

Celice vseh treh plasti so med seboj povezane s sinapsami. **Zunanja sinaptična plast** (ZSP) je med zunanjo in notranjo celično plastjo. Tu se stikajo fotoreceptorji in bipolarne celice, pa tudi horizontalne celice s fotoreceptorji, drugimi horizontalnimi celicami in bipolarnimi celicami. **Notranja sinaptična plast** (NSP) je med notranjo celično plastjo in ganglijsko plastjo. Tu se stikajo bipolarne celice in ganglijske celice. V tej plasti tvorijo sinapse tudi amakrine celice z bipolarnimi celicami, drugimi amakrinimi celicami in ganglijskimi celicami.

Fotoreceptorski elementi v mrežnici niso enakomerno razporejeni. Paličnic je v celotni mrežnici okoli 120 milijonov, vendar jih znotraj fovealnega predela ni. Najgostejše so 18 stopinj od optične osi. Čepnic je okoli 6 milijonov. Najgostejše so v kraju znotraj 20 minut

vidnega polja, proti obrobju pa se njihova gostota hitro manjša. Ganglijskih celic je približno 2 milijona.

Delovanje mrežnice

Fotoreceptorji

Paličnice vsebujejo vidni pigment rodopsin, ki ima absorpcijski maksimum pri 491 nm. Čepnice vsebujejo rdeči, zeleni in modri vidni pigment z absorpcijskimi maksimumi pri 440 nm, 530 nm in 568 nm. Paličnice omogočajo gledanje v mraku (skotopični vid), saj so na svetlobo 500-krat bolj občutljive kot čepnice, ki omogočajo barvni (fotopični) vid (4–6).

V temi je zunanji segment fotoreceptorja depolariziran, ker ciklični gvanozin monofosfat (cGMP) vzdržuje natrijeve kanalčke odprte. Membrana notranjega segmenta pa je prepustna predvsem za ione K^+ . V temi teče tako med zunanjim in notranjim segmentom ionski tok.

Absorpcija svetlobe povzroči fotoizomerizacijo vidnega pigmenta. To sproži zaporedje reakcij, ki vodijo v hidrolizo cGMP, zaradi česar se v zunanjem segmentu zmanjša prepustnost za ione Na^+ . Posledica tega je hiperpolarizacija fotoreceptorjev, ki se širi do sinaptičnega končiča fotoreceptorja. Zato se zmanjša sproščanje nevrottransmitterja (glutamat), ki se sicer v temi zaradi manjšega membranskega potenciala (-40 mV) stalno sprošča.

Bipolarne celice

Vzdraženje fotoreceptorjev s svetlobo povzroči depolarizacijo enega tipa bipolarnih celic. Ker reagirajo (seveda prek sinapse) na svetlobo, jih imenujemo na svetlobo občutljive bipolarne celice (angl. tip ON). Drugi tip bipolarnih celic se na svetlobni dražljaj odzove s hiperpolarizacijo in posledično inhibicijo. Svetloba torej zmanjša oziroma celo zavre njihovo aktivnost (angl. tip OFF).

Horizontalne celice

Horizontalne celice se na svetlobni blisk hiperpolarizirajo.

Amakrine celice

Amakrinih celic je več vrst. Nekatere se na svetlobni dražljaj odzovejo s hiperpolarizacijo, druge pa z depolarizacijo.

Ganglijske celice

So prve celice, ki ob vzdraženju s svetlobo prožijo prave akcijske potenciale. Vsi fotoreceptorji, ki so v povezavi s skupno ganglijsko celico, tvorijo receptivno polje. Ganglijske celice tipa ON se depolarizirajo, ko svetloba vzdraži osrednji del receptivnega polja, in hiperpolarizirajo, ko je vzdraženo njihovo obrobje. Ganglijske celice tipa OFF pa se vedejo ravno nasprotno.

Müllerjeve celice

So celice glije, ki vzdržujejo sestavo zunajcelične tekočine. Pri vzdraženju mrežnice s svetlobo se zaradi zvišane koncentracije ionov K^+ v zunajcelični tekočini depolarizirajo.

Elektroretinografija

Električne potenciale žabje mrežnice je posnel Holmgren leta 1865. Leta 1877 je De-war opisal uspešno elektroretinografsko meritev pri človeku. Moderna ERG se je začela po letu 1941, ko sta Riggs in Karpe neodvisno drug od drugega iznašla elektrodo v obliki kontaktne leče, ki se v modificirani obliki uporablja še danes (7). Kornealne elektrode so pri zaznavanju bioelektričnih potencialov mrežnice najbolj občutljive, vendar za preiskovanca neprijetne. Zaradi tega se uporabljajo tudi nekornealne elektrode, ki so sicer manj občutljive, vendar manj neprijetne (elektroda gold foil, elektroda DTL). Ena od njih je tudi domača elektroda HK (8).

Pred nekaj leti je Mednarodni odbor za standardizacijo izdal priporočila za fotopično in skotopično ERG (9), ki naj bi jih uporabljali v vseh elektroretinografskih laboratorijih. To bi omogočilo primerjavo meritev. Tudi v elektroretinografskem laboratoriju Univerzitetnega inštituta za klinično nevrofiziologijo v Ljubljani so se odločili, da bodo uvedli ERG v skladu s priporočili Mednarodnega odbora za standardizacijo. Dotlej so uporabljali samo eno vrsto meritev, ki so prikazovale delovanje celotne mrežnice (10).

Mednarodni odbor za standardizacijo priporoča, naj laboratoriji standardno zapisujejo in analizirajo naslednjih pet odzivov: maksimalni odziv, odziv čepnic, odziv paličnic, oscilatorne potenciale in odziv na draženje s frekvenco 30 Hz.

Maksimalni odziv

Maksimalni odziv posnamemo, ko z bliskom vzdražimo mrežnico, prilagojeno na temo; vzdražijo se paličnice pa tudi čepnice, saj so bliski dovolj močni in pogosti.

Maksimalni odziv sestavljata vala a in b (slika 2). Izvor vala a so fotoreceptorji, vala b pa Müllerjeve celice (5, 11). Val a je odraz prekinitve zunajceličnega ionskega toka med zunanjim in notranjim segmentom fotoreceptorja, do česar pride zaradi hiperpolariza-

Slika 2. Značilen maksimalni odziv z označenimi latencami in amplitudami, ki smo jih merili.

cije fotoreceptorja. Za nastanek vala b pa je pomembno povečanje koncentracije ionov K^+ v zunanji in notranji sinaptični plasti mrežnice. Povečanje nastane zaradi depolarizacije bipolarnih celic, vendar ni enakomerno. Koncentracija K^+ je veliko večja v zunanji sinaptični plasti. Višek zunajceličnih ionov K^+ vdre v Müllerjeve celice, ki se tako depolarizirajo, hkrati pa steče v njih ionski tok. Povratni ionski tok po zunajceličnem prostoru generira električno napetost, ki jo zaznamo kot val b. Odraža predvsem delovanje bipolarnih celic v notranji celični plasti.

Odziv čepnic

Pri snemanju odziva čepnic dražimo z bliskom mrežnico, ki je prilagojena na svetlobo. Vala a in b (slika 3) nastaneta na enak način kot pri maksimalnem odzivu, le da pri odzivu čepnic s svetlim ozadjem zavremo delovanje paličnic in s tem ločeno prikažemo delovanje čepnic in z njimi povezanih celic.

Slika 3. Značilen odziv čepnic z označenimi latencami in amplitudami, ki smo jih merili.

Odziv paličnic

Mrežnico, ki je prilagojena na temo, dražimo z oslavljenim bliskom. Na ta način selektivno in posredno prikažemo delovanje paličnic in z njimi povezanih celic (slika 4).

Slika 4. Značilen odziv paličnic z latencami in amplitudami, ki smo jih merili.

Oscilatorni potenciali

Oscilatorne potenciale snemamo tako, da mrežnico, prilagojeno na temo, dražimo z bliskom, vendar so parametri meritev drugače nastavljeni kot pri maksimalnem odzivu (tabela 1). Gre za nekaj visokofrekventnih potencialov z majhno amplitudo (12), ki so naloženi na val b pri maksimalnem odzivu (slika 5). Njihov glavni izvor so amakrine celice in mehanizem povratne zveze med amakrinimi celicami in bipolarnimi celicami.

Slika 5. Značilni oscilatorni potenciali z označenimi latencami in amplitudami, ki smo jih merili.

Odziv na draženje s frekvenco 30 Hz

V praksi ga imenujemo odziv 30 Hz (slika 6). Snemamo ga tako, da mrežnico, prilagojeno na svetlobo, dražimo z bliski s frekvenco 30 Hz. Tako selektivno prikažemo delovanje čepnic, ki imajo visoko časovno ločljivost (5). Odzivi paličnic so počasnejši in draženju s frekvenco 30 Hz ne morejo slediti.

Slika 6. Značilen odziv 30 Hz z označenimi latencami in amplitudami, ki smo jih merili.

Namen

Namen naloge je bil vpeljati v klinično rabo tako elektroretinografijo, ki omogoča preiskavo različnih delov mrežnice: fotoreceptorjev, bipolarnih celic, Müllerjevih celic in amakrinih celic pri fotopičnih in skotopičnih pogojih draženja. Sestavlja jo pet snemanj: odziv čepnic, odziv 30 Hz, odziv paličnic, maksimalni odziv in oscilatorni potenciali. Normativne vrednosti smo pridobili na zdravih prostovoljcih.

Doslej so bili vsi standardi v ERG pridobljeni s kornealnimi elektrodami, ki dajejo najboljše rezultate meritev, vendar so za preiskovanca neprijetne. V zadnjem času poskušajo uvesti v ERG za preiskovanca manj moteče nekornealne elektrode, od katerih pa ni še nobena dovolj preizkušena, da bi jo kot standardno uporabljali v kliničnem delu. Naš namen je bil tudi preizkusiti uporabnost nekornealne elektrode HK v bliskovni ERG. Metodo smo preverili v diagnostiki dednih degenerativnih obolenj mrežnice (retinitis pigmentosa).

Preiskovanci in metode

Preiskovanci

V raziskavo smo vključili 40 zdravih prostovoljcev (20 žensk in 20 moških, starih od 16 do 29 let; srednja starost moških kot tudi žensk je bila 22 let).

Vsi so imeli očesno ozadje brez bolezenskih sprememb in ostrino vida 1,0 po preizkusu na Snellenovih tabelah.

Priprava preiskovanca

Preiskovance smo najprej seznanili s potekom preiskave, nato pa so vsi podpisali izjavo o prostovoljnem sodelovanju. Raziskavo je odobrila Republiška komisija za medicinsko-etična vprašanja.

Širjenje zenic in lokalna anestezija očesa

Preiskovancu smo razširili zenice z midriatikom (tropicamid 0,5 %, 2 kapljici v vsako oko). Preden smo namestili elektrode, smo mu kanili v oko lokalni anestetik (oxyboprocain 0,4 %, 2 kapljici v vsako oko).

Namestitev elektrod

Aktivni elektrodi smo vstavili simetrično za spodnjo veko (slika 7). Prilepili smo ju z lepilnim trakom, da med meritvami ne bi izpadli.

Referenčni elektrodi smo namestili na kožo ob zunanjih očesnih kotih, ozemljitveno pa na glabelo. Kožo smo predhodno očistili z acetonom, elektrode smo prilepili z lepilnim trakom. Za izboljšanje prevajanja smo uporabili elektrodno pasto.

Merjenje impedance

Pred začetkom meritve je bila impedanca na elektrodah pod 10 k Ω .

Slika 7. Shematičen prikaz elektrode HK in njene lege med elektroretinografskimi meritvami (iz članka M. Hawline in B. Konca (8), z dovoljenjem avtorjev).

Potek preiskave

Po pripravi preiskovanca je meritev potekala po naslednjem vrstnem redu:

- pet minut prilagajanja na svetlobo: preiskovanec je gledal v ozadje stimulatorja, ki je rahlo modro obarvano in ima svetilnost 20 cd/m^2 ,
- snemanje odziva čepkov,
- snemanje odziva 30 Hz,
- dvajset minut prilagajanja na temo,
- snemanje odziva paličnic,
- snemanje maksimalnega odziva in
- snemanje oscilatornih potencialov.

Po končanem snemanju smo preiskovancu izmerili premer zenic (povprečno je znašal $8 \pm 1 \text{ mm}$), pogledali, če ima pordele oči, in mu v vsako oko kanili 2 kapljici antibiotika (Bivacyn). Preiskovanca smo povprašali, če se je med preiskavo močno solzil, če je mežikal in če so ga skelele oči.

Preiskava skupaj s pripravo je trajala od ene ure do ure in pol.

Oprema

Elektrode

Kot aktivno smo uporabili elektrodo HK (8), ki je zanka iz tanke žice iz plemenite kovine. Žica je izolirana s teflonom, v katerem so na treh mestih okenca za stik z zrkлом. Elektroda se prilagodi obliki zrkla.

Za referenčni in ozemljitveno elektrodo smo uporabili skodeličaste elektrode Ag/AgCl.

Po vsakem snemanju smo skodeličaste elektrode razkužili v raztopini dezinfekcijskega sredstva. Elektrode HK smo namočili v alkohol, potem pa sterilizirali v avtoklavu. En par elektrod smo uporabili pri približno desetih preiskovancih.

Bliskovna luč

Uporabljali smo dva stimulatorja. Bliskovna luč Ganzfeld BS-081 je v obliki kupole, ki jo povežemo na obraz. Omogoča draženje mrežnice z bliski različne jakosti in različno osvetlitev ozadja (tabela 1). Preiskovanec gleda v smeri rdeče lučke, ki je v kupoli, kar omogoča enakomerno osvetlitev mrežnice. Bliskovno luč Ganzfeld BS-081 smo uporabljali pri snemanju odziva čepnic, odziva paličnic, maksimalnega odziva in oscilatornih potencialov.

Bliskovna luč Grass 22D omogoča draženje mrežnice z visoko frekvenco bliskov. Preiskovanec gleda v luč, ki je oddaljena 30 cm od očesa (tabela 1). Prostor je osvetljen s sobno razsvetljavo. Bliskovno luč Grass 22D smo uporabljali pri snemanju odziva 30 Hz.

Ojačenje in zapis signala

Odzive smo ojačevali z ojačevalnikom Nicolet SM 2000. Povprečje smo računali in podatke analizirali na sistemu, ki so ga v skladu z mednarodnimi standardi izdelali na Univerzitetnem inštitutu za klinično nevrofiziologijo v Ljubljani (13).

Za posamezno vrsto meritev so v tabeli 1 prikazane: spodnja frekvenčna meja, zgornja frekvenčna meja, stopnja ojačenja, čas meritve, vzorčni čas, frekvenca draženja, število ponovitev, svetilnost ozadja in integralna svetilnost bliska.

Zapise meritev smo shranjevali na trdi disk in jih izrisali z risalnikom.

Analiza signalov

Vsak odziv smo snemali vsaj dvakrat. Dva ponovljiva zapisa smo na zaslonu sešteli in ju analizirali. Na vsakem posnetku smo označili značilne valove (slike 2, 3, 4, 5 in 6). Pri označevanju smo se zgledovali po različnih avtorjih (14, 15). Program za analizo je izpisal vrednosti amplitud in latenc.

Statistična obdelava

Statistično smo podatke obdelali s programom SPSS. Za vsako spremenljivko smo izračunali srednjo vrednost, standardno deviacijo, največjo in najmanjšo vrednost, koeficient variacije in določili 5. in 95. percentil.

Razlike vrednosti med levim in desnim očesom in med moškimi in ženskami smo ocenjevali s testom t.

Izsledki

Zdravi preiskovanci

V tabelah 2 in 3 so prikazane statistično obdelane vrednosti meritev pri 40 preiskovancih.

Tabela 1. Nastavitve parametrov pri posameznih elektroretinografskih meritvah. SFM – spodnja frekvenčna meja, ZFM – zgornja frekvenčna meja, ČAS MER – čas meritve, ČAS VZO – čas vzorčenja, FRE DRA – frekvenca draženja, ŠTE PON – število ponovitev, SVE OZ – svetilnost ozadja in SVE BL – integralna svetilnost bliska.

Meritvev	SFM Hz	ZFM Hz	Ojačitev	ČAS MER ms	ČAS VZO ms	FRE DRA Hz	ŠTE PON	SVE OZ cd/m ²	SVE BL cd.s/m ²	Stimulator in nastavitvev filtrov
Odziv čepnic	0,5	250	30000	200	0,4	3	50	20	1,46	Ganzfeld SF NDO
Odziv 30 Hz	1	70	12000	200	0,4	3	50	sobna razsve.	2,12	Grass 22D
Odziv paličnic	0,5	250	6000	200	0,4	0,5	20	0	0,0036	Ganzfeld SF ND2,6
Maksimalni odziv	0,5	250	6000	200	0,4	0,2	20	0	1,46	Ganzfeld SF NDO
Oscilator. potenciali	50	1500	30000	100	0,2	1/15	10	0	1,46	Ganzfeld SF NDO

Test t smo uporabili za ugotavljanje statistične razlike parametrov levega in desnega očesa pri moških in pri ženskah. Značilne razlike nismo ugotovili ($p > 0,05$), zato smo meritve obeh oči združili pri moških in pri ženskah. S testom t smo nato iskali še statistične razlike parametrov v elektroretinogramih moških in žensk. Našli smo jo le pri oscilatornih potencialih ($p < 0,05$).

Med meritvami so močnejše mežikali trije preiskovanci (7,5 %), desetim preiskovancem (25 %) pa so se oči močnejše solzile. Po preiskavi je imelo 8 preiskovancev (20 %) nekoliko pordele oči. Dve preiskovanki (5 %) sta dan po meritvi tožili, da ju skelijo oči.

Nihče od preiskovancev ni med meritvami odstopil od preiskave.

Bolniki z boleznijo retinitis pigmentosa

Retinitis pigmentosa (RP) je skupina progresivnih dednih bolezní, ki primarno prizadevajo fotoreceptorje in pigmentni epitelij. Za RP so značilne spremembe očesnega ozadja s skupki pigmenta, ki jih imenujemo kostne celice, zožene žile in bleada papila. Elektroretinografski odzivi so nenormalni, vidno polje se progresivno oži, bolniki imajo nočno slepoto (16).

RP se deduje na več različnih načinov: avtosomno recesivno, avtosomno dominantno in vezano na kromosom X.

ERG je pomembna preiskava za odkrivanje začetnih sprememb v delovanju mrežnice pri ljudeh, ki so z RP dedno obremenjeni in nimajo kliničnih znakov bolezní, oziroma so ti slabo izraženi (17). Skupaj z drugimi funkcijskimi testi uporabljamo ERG pri diagnostiki RP brez pigmentnih sprememb (RP sine pigmento) in pri drugih neznačilnih oblikah RP.

Tabela 2. Normativne vrednosti latenc pri zdravih preiskovancih.

ERG meritev	Val	Srednja vrednost	Standardna deviacija	Najmanjša izmerjena vrednost	Največja izmerjena vrednost	Število oči	Povp. -2SD	Povp. +2SD	Koefficient variacije
		(ms)	(ms)	(ms)	(ms)		(ms)	(ms)	
Maksimalni odziv	a	17,9	2,4	14,0	21,6	79	13,1	22,7	13,4
	b	41,7	2,5	35,6	47,6	79	36,7	46,7	6,0
Odziv paličnic	b	96,2	10,0	71,2	118,8	72	76,2	116,2	10,4
Odziv čepnic	a	14,6	0,8	12,4	16,0	79	13,0	16,2	5,5
	b	25,6	1,3	22,4	30,9	79	23,0	28,2	5,1
Oscilatorni potenciali	OP1	17,4	0,7	16,2	19,2	79	16,0	28,8	4,0
	OP2	23,5	0,7	21,8	24,9	79	22,1	24,9	3,0
	OP3	29,7	0,8	27,4	31,6	79	28,1	31,3	2,7
	OP4	36,5	1,1	33,8	38,8	74	34,3	38,7	3,0
	OP5	44,3	1,6	40,2	47,4	37	41,1	47,5	3,6
Odziv 30 Hz	b1	35,0	3,0	23,9	43,9	79	29,0	41,0	8,6
	b2	67,3	2,2	63,3	72,2	79	62,9	71,7	3,3

Tabela 3. Normativne vrednosti amplitud pri zdravih preiskovancih.

ERG meritev	Val	Srednja vrednost	Standardna deviacija	Najmanjša izmerjena vrednost	Največja izmerjena vrednost	Število oči	Percentili		Koefficient variacije
		(μ V)	(μ V)	(μ V)	(μ V)		5	95	
Maksimalni odziv	a	126,3	32,3	61,0	218,0	79	74,0	177,0	25,6
	b	234,6	58,1	133,0	411,0	79	145,0	349,0	24,8
	b/a	1,9	0,3	1,2	2,8	79	1,5	2,5	15,8
Odziv paličnic	b	132,7	47,6	56,0	286,0	72	60,3	217,8	35,9
Odziv čepnic	a	14,0	7,1	0,3	55,4	79	5,6	22,9	50,7
	b	69,2	20,0	27,8	107,9	79	32,9	101,7	28,9
Oscilatorni potenciali	OP1	38,4	11,6	15,4	67,4	79	21,9	61,6	30,2
	OP2	46,8	14,0	11,3	80,6	79	22,1	74,2	29,9
	OP3	26,5	13,9	2,2	65,3	79	4,0	57,9	52,5
	OP4	18,1	9,2	3,2	44,4	74	3,9	36,5	50,8
	OP5	11,0	4,5	1,8	20,4	37	2,3	18,3	40,9
Odziv 30 Hz	b1	38,1	14,7	9,3	74,5	79	15,6	64,1	38,6
	b2	34,8	13,8	7,9	68,1	79	13,2	59,5	39,7

ERG je občutljiva in objektivna preiskava pri odkrivanju prenašalk na kromosom X vezane recesivne oblike RP (18).

Pri napredovalih oblikah RP zadoščajo za diagnozo klinične preiskave. Dokler odzivi še niso ugasli, lahko ERG uporabljamo pri spremljanju poteka bolezni.

Bolniki z RP imajo maksimalni odziv, odziv paličnic in oscilatorne potenciale podaljšane in nižje (16, 19).

Pri oblikah RP, ki prizadenejo tudi čepnice, pa so daljše latence in manjše amplitude tudi v odzivu čepnic in odzivu 30 Hz.

Pri bolnikih, ki imajo vidno polje manjše od 8°, elektroretinografskih odzivov v večini primerov ne moremo izmeriti (16).

Bolnike z RP smo izbrali na podlagi kliničnih znakov: zoženega vidnega polja, nočne slepote, zoženega žilja mrežnice, sprememb pigmentacij očesnega ozadja v obliki kostnih celic in blede papile vidnega živca.

Bolnikov z RP je bilo 11 (4 moški in 7 žensk, starih od 16 do 63 let; srednja starost moških je bila 39 let, žensk pa 40 let). Pri bolnikih smo vzeli anamnezo, testirali ostrino vida, vidno polje in pregledali očesno ozadje.

Elektroretinografskih odzivov nismo zaznali pri šestih bolnikih. Pri štirih bolnikih so bili odzivi spremenjeni: odziv paličnic in oscilatorni potenciali so bili odsotni; pri maksimalnem odzivu, odzivu čepnic in odzivu 30 Hz so bile latence podaljšane in (ali) amplitude zmanjšane. Pri enem bolniku smo zaznali samo maksimalni odziv z zmanjšanimi amplitudami.

Na sliki 8 prikazujemo elektroretinografske posnetke dveh bolnikov s klinično potrjeno RP.

Slika 8. Prikaz dveh ponovljivih meritev na enem očesu pri dveh bolnikih z RP (stolpca B in C). Za primerjavo so na levi strani prikazane meritve pri zdravem preiskovancu (stolpec A).

Pri bolniku v stolpcu B sta pri odzivu čepnic podaljšani latenci valov a in b, amplitudi pa sta v mejah normale. Pri odzivu 30 Hz sta latenci valov b1 in b2 podaljšani, amplitudi pa zmanjšani. Odziva paličnic nismo zaznali. Pri maksimalnem odzivu sta podaljšani

latenci valov a in b, amplitudi pa sta v mejah normale. Oscilatornih potencialov nismo zaznali.

Pri bolnici v stolpcu C sta pri odzivu čepnic latenci podaljšani, amplitudi pa zelo zmanjšani. Pri odzivu 30 Hz sta latenci valov b1 in b2 podaljšani, amplitudi pa zmanjšani. Odziva paličnic nismo zaznali. Pri maksimalnem odzivu je latenca vala a v mejah normale, latenca vala b je podaljšana, amplitudi obeh valov pa sta zmanjšani. Oscilatornih potencialov nismo zaznali.

Bolnik z nočno slepoto

Pri bolnikih z RP je nočna slepota eden pogostejših simptomov. Zato prikazujemo na sliki 9 elektroretinografske odzive bolnika, ki ima prizadet samo nočni vid.

Slika 9. Posnetki pri bolniku s sumom na nočno slepoto. Prikazani sta dve ponovljivi meritvi na enem očesu za vseh pet odzivov. Na levi strani prikazujemo meritve pri zdravem preiskovancu.

Pri odzivu čepnic sta latenci in amplitudi valov a in b v mejah normale. Odziv 30 Hz je prav tako v mejah normale. Odziva paličnic nismo zaznali. Maksimalni odziv nima tipične oblike in močno zmanjšanih amplitud valov a in b. Pri oscilatornih potencialih smo zaznali, da so valovi OP1 do OP3 nižji, vendar z latencami v mejah normale.

Razpravljanje

Elektroretinografski laboratoriji po svetu uporabljajo različne elektrode in različne načine snemanja. Da bi ocenili svoje rezultate glede na rezultate drugih, smo se odločili, da bomo primerjali amplitude maksimalnega odziva, ki se v ERG najdlje in največkrat uporablja.

Šega in Jazbec (10), ki sta uporabljala kornealno elektrodo, sta pri maksimalnem odzivu dobila koeficient variacije za amplitude valov a in b od 24 % do 38 %; mi pa 25 %. Manjša variabilnost naših podatkov je verjetno posledica večjega števila povprečkov. Gjoeterberg (20) primerja v svoji raziskavi val b maksimalnega odziva pri treh tipih kornealnih elektrod, pri katerih se koeficient variacije giblje od 22 % do 26 %, in pri nekornealni elektrodi iz zlatega listka (gold foil) pri kateri je koeficient variacije 30 %. Variabilnost parametrov maksimalnega odziva, posnetega z elektrodo HK, je enaka kot pri posnetkih s kornealno elektrodo. Pri odzivu čepnic, paličnic, 30 Hz in oscilatornih potencialih, posnetih z elektrodami HK, so bili koeficienti variacije nekoliko višji kot pri maksimalnem odzivu, posnetem z isto elektrodo.

Amplitude maksimalnega odziva zdravih preiskovancev smo orientacijsko primerjali s podatki o amplitudah pri preiskovancih s sumom na okvaro mrežnice, ki pa so imeli normalne elektroretinografske odzive (7 bolnikov). Posneli so jih s kornealno elektrodo (tip Henkes) v enakih okoliščinah v laboratoriju na Univerzitetnem inštitutu za klinično nefiziologijo. Amplituda vala a je bila $191,6 \pm 56,5 \mu\text{V}$, vala b pa $311,3 \pm 117,9 \mu\text{V}$. V naši raziskavi je bila amplituda vala a $126,3 \pm 32,3 \mu\text{V}$, amplituda vala b pa $234,6 \pm 58,1 \mu\text{V}$, kar znaša 70 % vrednosti amplitud posnetih s kornealno elektrodo.

Celesia (21) je uporabljal kornealno elektrodo (Burian-Allen). Njegove normativne latence so za val a maksimalnega odziva $23,7 \pm 1,2 \text{ ms}$ (koeficient variacije (KV) 5 %), za val b pa $45,9 \pm 3,5 \text{ ms}$ (KV 8 %). Pri naših meritvah z nekornealno elektrodo HK je bila latenca vala a $17,9 \pm 2,4 \text{ ms}$ (KV 13 %), vala b pa $41,7 \pm 2,5 \text{ ms}$ (KV 6 %). Cringle in sodelavci (22) pišejo, da je latenca valov tem krajša, čim bliže je elektroda posteriornemu polu očesa. V skladu s to trditvijo so latence, izmerjene z elektrodo HK, ki leži bliže posteriornemu polu očesa, krajše kot tiste, izmerjene s kornealno elektrodo. Variabilnosti latenc vala b maksimalnega odziva, posnetega s kornealno elektrodo (21), in z našo nekornealno elektrodo HK, se skoraj ne razlikujeta. Nekoliko večjo variabilnost latenc vala a pri maksimalnem odzivu v naši raziskavi pripisujemo dejstvu, da oblika vala a pri vseh preiskovancih ni bila enaka. Mislimo, da je na obliko vala a vplival prvi oscilatorni potencial (OP1), ki ima podobno latenco. Pri latencah odziva paličnic, odziva čepnic, odziva 30 Hz in oscilatornih potencialih, posnetih z elektrodami HK, so bili koeficienti variacije od 3 % do 10 %.

Zaradi oblike in različne prevodnosti zrkla je električno polje na površini zrkla različno razporejeno. Zato na variabilnost amplitud elektroretinografskih odzivov vpliva mesto odjema (mesto stika okenc elektrode HK z zrkлом) električnih potencialov z zrkla, kar opisujejo za nekornealno gold foil elektrodo McAllan in sod. (23). Mislimo, da se mesto odjema med meritvijo ni bistveno spreminjalo. To so zagotovili lastnost elektrode HK, da se prilagodi obliki zrkla, pritrditev na kožo z lepilnim trakom, in naročilo preiskovancu

naj gleda le v smeri rdeče lučke v kupoli stimulatorja in naj čim manj mežika. Pred namestitvijo je treba elektrodo HK ročno nekoliko oblikovati. Pomembno je, kje elektrodo ukrivimo, saj s tem določimo mesto stika elektrodnih okenc z zrkлом. Priporočamo, da bi za oblikovanje elektrode uporabljali model, tako da bi bile elektrode vedno enako oblikovane.

Impedanca elektrod pomembno vpliva na variabilnost amplitud. Impedanco lahko pri referenčnih in ozemljitvenih elektrodah zmanjšamo z dodajanjem elektrodne paste in s praskanjem kože. Po priporočilih ISCEV-a naj bi bila impedanca manjša od 10 k Ω (9). Impedance elektrod HK po vstavitvi v oko ne moremo spreminjati.

Pri naših meritvah je impedanca elektrod HK znašala od 5 do 10 k Ω . Pri pregledu elektrod pod mikroskopom smo ugotovili, da so se na njih z rabo nabrale obloge, ki so verjetno povzročile povečanje impedance. Priporočamo, da se elektrode pred avtoklaviranjem očistijo z vatirano paličko; v avtoklavu se sicer obloge strdijo.

Po naših izkušnjah lahko en par elektrod uporabimo za 10 bolnikov, kar navajata tudi avtorja elektrode (8).

K variabilnosti rezultatov prispeva tudi različno sodelovanje preiskovancev. Imeli so razširjene zenice, zato jih je svetloba bliskov motila in manj motivirani so bolj pripravili oči kljub navodilom, naj jih imajo čim bolj odprte. Zato je bila pri njih površina osvetljene mrežnice manjša. Če bi uporabili blefarostat, bi variabilnost zaradi različne odprtosti oči izključili, vendar bi bila preiskava bolj neprijetna.

Lokalni anestetik zmanjša variabilnost elektroretinografskih meritev, saj zmanjša občutek draženja zrkla, s tem pa tudi solzenje in mežikanje. Z lokalnim anestetikom so naši preiskovanci elektrodo HK dobro prenašali, zato mislimo, da bi jo lahko uporabili za snemanje elektroretinografskih odzivov pri otrocih. Coupland in sod. (24) so primerjali uporabnost nekornealnih elektrod (DTL in PVA gel) in kožnih elektrod pri otrocih; prednost so dali kožni elektrodi. Nekornealnima elektrodama očitajo, da lahko povzročata poškodbe roženice, ker se je dotikata. Elektroda HK pa je oblikovana tako, da se roženice ne dotika, kar je njena prednost pred kornealnimi in drugimi nekornealnimi elektrodami. Prednost elektrode HK pred kožnimi elektrodami pa je, da je bolj občutljiva.

Na osnovi spremenjenega elektroretinograma razlikujejo dve obliki RP z različnima stopnjama prizadetosti sistema paličnic in sistema čepnic. Pogostejša je oblika, pri kateri je amplituda vala b pri skotopičnih pogojih snemanja bolj zmanjšana kot pri fotopičnih pogojih. To je oblika, pri kateri so bolj prizadete paličnice (oblika rod-cone). Ti bolniki imajo v anamnezi kot enega prvih simptomov slabši nočni vid (25). V zadnjem desetletju poročajo o bolnikih z drugo obliko RP, pri kateri so bolj prizadete čepnice (oblika cone-rod), in zato ti bolniki nimajo težav z nočnim vidom. Pri njih je amplituda vala b bolj zmanjšana pri fotopičnih pogojih snemanja kot pri skotopičnih (25).

V naši raziskavi smo elektroretinografske meritve napravili na bolnikih z RP. Pri 6 bolnikih nismo zaznali elektroretinografskih odzivov, ker je bolezen že zelo napredovala. Ti bolniki so imeli značilno spremenjeno očesno ozadje, nočno slepoto in močno, pod 15°, zoženo vidno polje.

Pet naših bolnikov je imelo elektroretinografske odzive spremenjene. Odziva paličnic pri tej skupini bolnikov nismo zaznali. To se ujema z njihovo navedbo, da ponoči slabše vidijo. Odzivi čepnic in odzivi 30 Hz so imeli podaljšane latence in zmanjšane amplitude, kar kaže na prizadetost sistema čepnic. Spremenjen je bil tudi maksimalni odziv, oscilatornih potencialov pa ni bilo mogoče izzvati. Bolezen teh bolnikov lahko uvrstimo v prvo, rod-cone obliko.

Čeprav je bila naša skupina bolnikov majhna, smo pri njih vendarle našli spremembe elektroretinograma, značilne za RP. S tem smo potrdili, da je metoda, skupaj s klinično preiskavo, občutljiva in selektivna za elektrofiziološko vrednotenje RP.

Zaključki

Metoda ERG se je izkazala kot uspešna pri vrednotenju fotopičnega in skotopičnega delovanja mrežnice. Primerna je za klinično rabo. Izdelani normativi bodo v pomoč pri vrednotenju rezultatov.

Variabilnost rezultatov, dobljenih z elektrodami HK, je podobna kot pri odzivih, posnetih s kornealnimi elektrodami. Amplitude so povprečno za tretjino manjše. Naše meritve pri bolnikih z RP so pokazale, da je elektroda občutljiva za elektrofiziološke spremembe mrežnice. Njena prednost pred drugimi elektrodami je, da jo preiskovanci dobro prenašajo. Mislimo, da je primerna za uporabo v klinični ERG.

Zdravi preiskovanci in bolniki so elektrodo dobro prenašali, zato menimo, da je elektroda HK primerna tudi za snemanje elektroretinografskih odzivov pri otrocih.

Z metodo skotopične in fotopične ERG in z uporabo elektrod HK nam je uspelo pri bolnikih s klinično dokazano boleznijo RP elektrofiziološko pokazati značilne spremembe.

Zahvala

Najlepše se zahvaljujema vsem, ki so pripomogli k nastanku tega dela:

- mentorjema, dr. sc. Jelki Breclj, dipl. biol., ki naju je uvedla v raziskovalno delo in ves čas strokovno vodila, in prof. dr. Martinu Janku, dr. med., za tehtne pripombe;
- asist. Marku Hawlini, dr. med., za okulistične preglede in koristne nasvete;
- inž. Ignacu Zidarju za statistično obdelavo podatkov in izdelavo slik;
- inženirjema Blažu Koncu in Milanu Grgiču za razlago in pomoč pri delu z elektroretinografskim sistemom;
- dr. sc. Borutu Peterlinu, dr. med., za informacije o genetičnem vidiku bolezni retinitis pigmentosa;
- nevrološkim asistentkam, posebno Tatjani Vidmar, za pomoč pri delu s preiskovanci;
- Milošu Kogejju za ureditev naloge;
- Urši Planinšec in Tonetu Žaklju za lektoriranje ter
- ostalemu osebju nevrofiziološkega inštituta za razumevanje in spodbudo pri delu.

Zahvaljujema se tudi vsem bolnikom in prostovoljcem za naklonjeni čas in sodelovanje.

Literatura

1. Kališnik M. *Oris histologije z embriologijo*. Ljubljana: Državna založba Slovenije, 1990: 371–3.
2. Kolb H. The neuronal organisation of the human retina. In: Heckenlively JR, Arden GB, eds. *Principles and practice of clinical electrophysiology of vision*. St. Louis: Mosby, 1991: 25–52.
3. Gruesser OJ, Gruesser-Cornehls U. The sense of sight. In: Schmidt RF, Thews G, eds. *Human physiology*. Berlin: Springer-Verlag, 1989: 237–76.
4. Štrucl M. Fiziologija živčevja. *Med Razgl* 1989; 28: Suppl 3: 44–53.
5. Falk G. Retinal physiology. In: Heckenlively JR, Arden GB, eds. *Principles and practice of clinical electrophysiology of vision*. St. Louis: Mosby, 1991: 69–84.
6. Ikeda H. Retinal mechanisms and the clinical electroretinogram. In: Halliday AM, Butler SR, Paul R, eds. *A textbook of clinical neurophysiology*. London: John Wiley & Sons, 1987: 569–94.
7. Henkes HE. A history of human electroretinography. *Dev Ophthalmol* 1984; 9: 11–9.
8. Hawlina M, Konec B. New noncorneal HK-loop electrode for clinical electroretinography. *Doc Ophthalmol* 1992; 81: 253–9.
9. Marmor MF, Arden GB, Nilsson SE, Zrenner E. Standard for clinical electroretinography. *Doc Ophthalmol* 1990; 73: 303–11.
10. Jazbec J, Šega S. Standardizacija parametrov elektroretinografskega odziva izzvanega z bliskovno žar-nico. Prešernova naloga. Ljubljana: Medicinska fakulteta Univerze Edvarda Kardelja, 1987.
11. Newman EA, Frishman LJ. The b-wave. In: Heckenlively JR, Arden GB, eds. *Principles and practice of clinical electrophysiology of vision*. St. Louis: Mosby, 1991: 101–11.
12. Karwoski C, Kawasaki K. Oscillatory potentials. In: Heckenlively JR, Arden GB, eds. *Principles and practice of clinical electrophysiology of vision*. St. Louis: Mosby, 1991: 125–8.
13. Grgič M, Konec B, Mihelin M, Zidar I. Electroretinographic system. *Zdrav Vestn* 1993; 62: Suppl 1: 105–8.
14. Marmor MF. An international standard for electroretinography. *Doc Ophthalmol* 1990; 73: 299–302.
15. Koth AC, Lovasic JV, Coupland SG. Variability in clinically measured photopic oscillatory potentials. *Doc Ophthalmol* 1989; 71: 381–95.
16. Berson EL. Retinitis pigmentosa: Some observations on the course. In: Heckenlively JR, Arden GB, eds. *Principles and practice of clinical electrophysiology of vision*. St. Louis: Mosby, 1991: 501–9.
17. Pearlman JT. Electroretinography and the diagnosis of retinitis pigmentosa. *Adv Exp Med Biol* 1977; 77: 25–9.
18. Sieving PA. Electroretinographic detection of female carriers (heterozygotes) of X-linked recessive re-tinitis pigmentosa. In: Heckenlively JR, Arden GB, eds. *Principles and practice of clinical electrophysiology of vision*. St. Louis: Mosby, 1991: 741–3.
19. Ponte F, Anastasi M, Lauricella MR. Retinitis pigmentosa and inner retina. Functional study by means of oscillatory potentials of the electroretinogram. *Doc Ophthalmol* 1990; 73: 337–46.
20. Gjoetterberg M. Electrodes for electroretinography. *Arch Ophthalmol* 1986; 104: 569–70.
21. Ceesia GG. Visual evoked responses. In: Owen JH, Davis H, eds. *Evoked potential testing*. Orlando: Grune, 1985: 1–54.
22. Cringle SJ, Alder V, Yu DY. The distribution of ERG potentials on the sclera in vivo and in vitro. *Clin Vision Sci* 1988; 2: 285–91.
23. McAllan A, Sinn J, Aylard GW. The effect of gold foil electrode position on the electroretinogram in human subjects. *Vision Res* 1989; 71: 427–33.
24. Coupland SG, Janáky M. ERG electrode in pediatric patients: Comparison of DTL fiber, PVA-gel, and non-corneal skin electrodes. *Doc Ophthalmol* 1989; 71: 427–33.
25. Heckenlively JR, Feldman K, Wheeler NC. Retinitis pigmentosa: Cone-rod degenerations: A comparison of clinical findings to electrophysiological parameters. In: Heckenlively JR, Arden GB, eds. *Principles and practice of clinical electrophysiology of vision*. St. Louis: Mosby, 1991: 510–27.

Program strokovnih sestankov SEKCIJE ZA KLINIČNO NEVROFIZIOLOGIJO SLOVENIJE za leto 1995

20.1.1995 ob 12. uri dr. Miro Mihelič, prof. dr. David B. Vodusek, dr. Zoran Rodi: Urodinamske preiskave v nevrologiji (III. predavalnica KC)

17.3.1995 ob 12. uri as. dr. Tomaž Žgor: Epiloptogeneza

21.4.1995 ob 12. uri dr. Dušan Butinar: Pomen akustičnih potencialov možganskega debla v klinični diagnostiki

19.5.1995 ob 12. uri dr. Marjan Mihelin: Površinske in igelne elektrode: standardi in vzdrževanje

16.6.1995 ob 12. uri prof. dr. Janez Sketelj: Dejavniki mikro okolja, ki vplivajo na regeneracijo aksonov po poškodbi perifernega živca (živalski model)

15.9.1995 ob 12. uri dr. Brane Šibanc: Značilnosti simpatičnega kožnega odziva in njegov klinični pomen

17.11.1995 ob 12. uri akad. prof. dr. Andrej O. Župančič: Odnos med nevrobiologijo in zavestjo

15.12.1995 ob 12. uri prof. dr. Martin Janko: Kompresijske in utesnitvene nevropatije: mehanizmi in elektromiografsko prepoznavanje