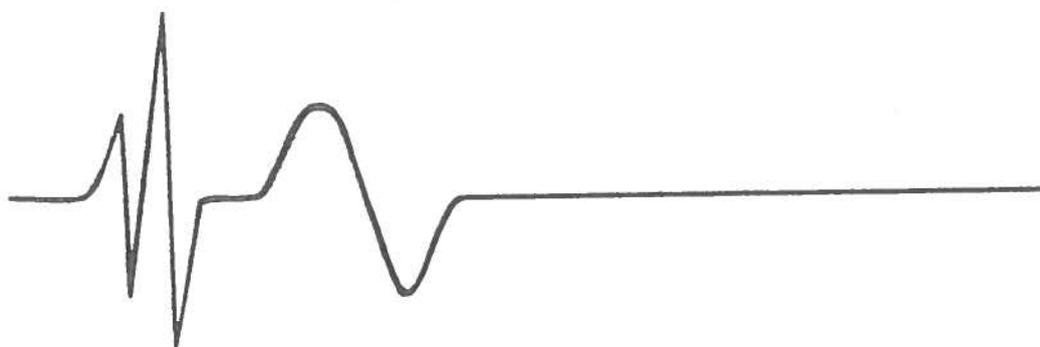


quaderni di

NEUROFISIOPATOLOGIA



a cura di

N. Accornero e O. Mecarelli

Potenziali evocati alle soglie del 2000

Numero 4 - 1999

I.P. SERVICE EDITRICE

I POTENZIALI BIOELETTRICI RETINICI

F. Pierilli (1), D. Olzi (2), V. Parisi (2)

(1) Istituto di Clinica delle Malattie Nervose e Mentali, Università di Roma «La Sapienza», Viale dell'Università 30, 00161 Roma. IRCCS Neuromed, Pozzilli (IS).

(2) Cattedra di Clinica Oculistica, Università di Roma «Tor Vergata» c/o Complesso Integrato Columbus, Via della Pineta Sacchetti 506, 00168 Roma.

INTRODUZIONE

La retina è considerata parte integrante del Sistema Nervoso Centrale in quanto prende origine dall'ectoderma neurale.

Dal punto vista anatomico-funzionale, la retina è formata da differenti tipologie cellulari che hanno il compito di trasdurre lo stimolo luminoso in impulso elettrico e di trasmettere l'informazione visiva fino al Nucleo Genicolato Laterale del Talamo (LGN).

Lo stimolo visivo, dopo aver attraversato i mezzi diottrici oculari (cornea, umore acqueo, cristallino, e vitreo), raggiunge le cellule fotorecettoriali che sono in stretto rapporto con l'epitelio pigmentato. Questo resintetizza i pigmenti visivi fotosensibili e fagocita l'estremità esterna dei fotorecettori facilitandone il ricambio.

I fotorecettori retinici sono di due tipi: bastoncelli e coni. I bastoncelli sono in grado di rilevare stimoli luminosi di bassa intensità e con frequenza inferiore ai 12 Hz, mentre i coni mediano la visione dei colori, consentono una maggiore risoluzione temporale (sono responsivi a stimoli luminosi con frequenza fino a 55 Hz) e spaziale

(nell'uomo sono in grado di distinguere frequenze spaziali fino a 60 cicli/grado).

A livello dei fotorecettori avviene il meccanismo di fototrasduzione: la luce innesca una cascata di eventi biochimici che avranno come risultato finale l'iperpolarizzazione della membrana cellulare.

La successione degli eventi può essere così riassunta:

- 1) attivazione delle molecole di pigmento (modificazione conformazionale del retinale)
- 2) ↓ [GMPc] intracitoplasmatica
- 3) chiusura dei canali GMPc-dipendenti
- 4) iperpolarizzazione

L'iperpolarizzazione dei fotorecettori determina una liberazione di neurotrasmettitori che attivano, depolarizzandole, altre classi di cellule retiniche (cellule di interconnessione: bipolari, orizzontali ed amacrine) che a loro volta trasmettono l'impulso nervoso alle cellule ganglionari i cui assoni costituiscono le fibre del nervo ottico.

Il "campionamento retinico", cioè il rapporto tra fotorecettori e cellule ganglionari, varia in relazione all'eccentricità dalla fovea. Nella periferia retinica il campionamento è di 1/300 e pertanto le cellule ganglionari sono formate da grandi corpi cellulari e possiedono assoni di grande calibro (Cellule Magnocellulari, MC); nella fovea il campionamento è di 1/1 per cui le cellule ganglionari sono formate da piccoli corpi cellulari e possiedono assoni di calibro ridotto (Cellule Parvicellulari, PC).

Ogni cellula ganglionare riceve pertanto l'informazione visiva da un numero diverso di fotorecettori che determinano il "campo recettivo" della cellula ganglionare. I campi recettivi hanno tre importanti caratteristiche:

- 1) Sono circolari: nella fovea (max. acuità) sono piccoli, con un centro che si estende solo per pochi minuti d'arco; invece alla periferia della retina (bassa acuità) i corpi sono più grandi con centri di 3-5°;
- 2) Il centro e la periferia hanno attività antagoniste;
- 3) Le cellule gangliari analizzano l'informazione attraverso due vie poste in parallelo, ON- OFF.

Anche le cellule bipolari sono organizzate sull'antagonismo cen-

tro-periferia che può essere centro-ON o centro-OFF. Le bipolari vengono stimulate dai coni con un solo neurotrasmettitore, il glutammato, che inibisce le centro-ON (depolarizzando) ed eccita le centro-OFF (iperpolarizzando) (1).

Attraverso opportune metodiche di stimolazione, è possibile registrare nell'animale, come nell'uomo, l'attività bioelettrica delle diverse classi di cellule che costituiscono la complessa architettura retinica. L'insieme di tale metodiche prende il nome di "Elettroretinografia".

L'ELETTRORETINOGRAMMA (ERG)

IL segnale elettroretinografico riflette la funzionalità delle diverse classi cellulari retiniche (2).

Il processo biochimico che viene innescato dalla luce negli strati retinici esterni (epitelio pigmentato-fotorecettori), con conseguente attivazione degli strati retinici intermedi (cellule amacrine, bipolari, interplexiformi) ed interni (cellule ganglionari), determina una variazione transiente del potenziale bioelettrico retinico. Tale variazione raggiunge la superficie corneale come potenziale di massa, passando attraverso il vitreo e il segmento anteriore che fungono come conduttori passivi.

Posizionando un elettrodo sulla cornea (esplorante) e uno sull'altro occhio o sullo scalpo (referente), si può registrare una differenza di potenziale che viene definita "potenziale di riposo"; la presenza di uno stimolo visivo genera una modulazione del potenziale di riposo che riflette l'attività elettrica delle differenti tipologie di cellule retiniche.

Registrazione del segnale elettroretinografico:

Per la registrazione del segnale elettroretinografico è necessario prendere in considerazione i seguenti elementi (3):

- 1) l'ambiente
- 2) il paziente

- 3) lo stimolo visivo
- 4) l'acquisizione ed elaborazione del segnale.

1) L'Ambiente

Per eseguire correttamente un esame elettroretinografico è necessario assicurarsi di non essere esposti a sorgenti di disturbo nelle vicinanze, come ambulatori radiologici, ascensori, ecc. o di provvedere alla schermatura dell'ambiente.

2) il Paziente

È necessario spiegare al paziente gli scopi dell'esame e come verrà effettuato, ciò aumenterà la compliance del paziente e quindi le possibilità di buona riuscita dell'esame. Nel caso di stimolazione da flash, è indispensabile che le pupille siano uniformemente dilatate: è sufficiente una midriasi ottenuta con tropicamide all'1% con eventuale aggiunta di fenilefrina. Prima di iniziare è necessaria una buona anestesia di superficie ed un adattamento al buio.

3) Lo stimolo visivo

Lo stimolo visivo può essere fornito da lampi di luce, espressione di variazioni di intensità e di lunghezza d'onda dell'energia elettromagnetica nello spettro visibile (flash), o da in modello strutturato costituito da barre o scacchi che si alternano in modo cadenzato nel tempo (pattern).

Caratteristiche dello stimolo flash:

La stimolazione da flash consiste in una presentazione diffusa di un flash di luce prodotto da una lampada allo xenon di uno stroboscopio. Quella più usata è di tipo "Ganzfeld", che prevede l'utilizzo di una cupola illuminata da flash per fare in modo che l'occhio riceva una

quantità di luce costante per tutte le posizioni dello sguardo. A garantire la costanza della quantità di luce di stimolazione durante l'esame, è il principio della sfera di Ulbricht (se solo un'area ristretta della cupola viene illuminata direttamente dal flash, tutta la sfera sarà illuminata uniformemente).

Considerando la diversità tra le strumentazioni, è importante stabilire degli standard riguardo l'intensità ottimale dello stimolo visivo. In linea di massima il filtro più adatto per l'ERG dinamico è il WK 99, mentre per l'ERG scotopico il WK 47B. Quest'ultimo è utilizzato anche per la saturazione dei bastoncelli con luce diffusa se si vuole escludere la risposta scotopica per evidenziare l'attività fotopica.

Caratteristiche dello stimolo pattern:

Il pattern è un tipo di stimolo utile per svolgere indagini localizzate, in quanto è capace di stimolare specificatamente i neuroni del campo di stimolazione. I parametri che determinano lo stimolo strutturato (scacchiera o barre) sono: frequenza spaziale, Luminanza, contrasto e frequenza temporale.

Frequenza spaziale: È definita come il numero di cicli (un elemento bianco più uno nero) per grado di angolo visivo. La dimensione del singolo elemento della scacchiera può essere misurata anche in angolo visivo sotteso dall'occhio del soggetto esaminato. Nei soggetti normali, la risposta retinica presenta un'ampiezza massima per frequenze comprese tra 1,5 e 3 cicli per grado, diminuendo per frequenze spaziali superiori e inferiori.

Luminanza: Misurata in candele per m²; mediante il calcolo della media della luminanza massima e minima, misurata al centro e alla periferia del campo stimolato, si determina la luminanza globale. La riduzione di tale luminanza porta ad un aumento di latenza e una riduzione di ampiezza dei potenziali bioelettrici retinici.

Contrasto: È definito come il rapporto di luminanza tra gli elementi bianchi e neri del pattern espresso dalla formula $(L_{max} - L_{min}) / (L_{max} + L_{min})$.

Frequenza temporale: La sua variazione evoca risposte sostanzialmente differenti. Con basse frequenze, sotto i 3 Hz, si ottiene una risposta transiente (misurata in termini di ampiezza e latenza), con la

capacità del sistema stimolato di recuperare la propria attività di base prima dello stimolo successivo. Con frequenze elevate, sopra i 6 Hz, si ottiene la risposta stazionaria (steady-state, analizzata con l'analisi di Fourier), in modo da far oscillare il sistema stimolato alla stessa frequenza di stimolazione.

4) Acquisizione ed elaborazione del segnale

Elettrodi Sono conduttori metallici che trasferiscono il segnale bioelettrico ai circuiti d'ingresso degli amplificatori. L'applicazione dell'elettrodo alla cute è un punto critico per una buona acquisizione; per evitare l'impedenza del contatto si usano paste conduttrici sopra la zona di cute precedentemente pulita e sgrassata con cura. Esistono elettrodi reversibili in cui gli elettroni ceduti dal metallo si ricombinano con gli ioni della cute, come quelli in Ag/AgCl (i più usati); e quelli non reversibili quali quelli a coppetta d'argento. Ci sono anche elettrodi a contatto caratterizzati da un gancio in platino che viene interposto tra palpebra e cornea, che hanno caratteristiche di acquisizione notevolmente migliori e particolarmente indicati per l'ERG da flash.

Amplificatori Moltiplicano il voltaggio del segnale registrato. Il problema del segnale amplificato è il rumore di fondo che viene attenuato utilizzando amplificatori ad ingresso differenziato (amplificano i potenziali in maniera differente rispetto al rumore).

Filtri Servono a ridurre la componente dei rumori in entrata che, per la caratteristica degli amplificatori di evitare la distorsione, mantengono l'ampiezza e la fase. Vengono utilizzati filtri passa-basso e filtri passa-alto (generalmente 1-100 Hz).

Acquisizione Per l'elaborazione, i segnali elettrofisiologici necessitano una conversione analogico-digitale. La velocità di campionamento del segnale (frequenza di campionamento) deve essere almeno doppia della frequenza del segnale per mantenere la quantità di informazione. Un secondo parametro della conversione analogico-digitale è il tempo di analisi, cioè il tempo nel quale il convertitore rimane in funzione.

Elaborazione Serve ad aumentare il rapporto segnale-rumore della registrazione agendo sul rumore che non è stato eliminato né dall'amplificazione differenziale né dal filtraggio. L'abbassamento del

livello di rumore a valore medio nullo può essere ottenuto con la media sincrona (averaging). Con questa tecnica, il rapporto segnale-rumore migliora proporzionalmente alla radice quadrata del numero delle somme dei singoli segnali.

Trattamento Una volta ripulito dal rumore, il segnale può subire: filtraggio digitale, autocorrelazione, analisi di frequenza. L'autocorrelazione evidenzia l'esistenza delle ripetitività, cioè se il valore del segnale in un punto dipende più o meno strettamente dai valori dei punti precedenti. L'analisi di frequenza con trasformata rapida di Fourier (FFT) consiste nella scomposizione del segnale in bande di frequenza attraverso prodotti algebrici tra coppie di punti corrispondenti nel segnale e in sinusoidi a frequenza determinata.

Fonti di errore Oltre a quelle della strumentazione, ne esistono molte altre difficili da codificare. Un ruolo importante è occupato dagli artefatti da movimento. È necessario quindi valutare costantemente le curve e scartare le registrazioni che appaiono non attendibili. Fondamentale per evitare errori è rispettare i tempi di adattamento e utilizzare stimoli adeguati allo scopo prefisso.

L'ERG DA FLASH

È fondamentale aver presente che l'ERG da flash è una risposta di massa, ovvero la risultante della somma dei vari potenziali che originano delle due popolazioni di fotorecettori in seguito all'eccitamento luminoso (2).

I metodi classici di registrazione separata dei due sistemi sono: elettroretinografia statica, dinamica, ed il flicker ERG.

Elettroretinografia statica: Prevede la stimolazione in condizioni di adattamento fotopico e, successivamente, in adattamento scotopico. Per l'ERG fotopico si usano stimoli bianchi di media intensità (1 joule) in un ambiente con luminanza di fondo fotopica. Per avere risultati standard, è norma che le condizioni di adattamento siano costanti. Si otterrà così una risposta puramente fotopica perché l'occhio è adattato

alla luce e perché lo stimolo raggiunge la soglia di eccitamento dei coni. Per l'ERG scotopico, si fa adattare il paziente per almeno 15 minuti e poi si procede a stimolazione con luce blu a bassa intensità. La risposta sarà puramente scotopica in quanto l'occhio è adattato al buio e lo stimolo non raggiunge la soglia di eccitamento dei coni.

Elettroretinografia dinamica: Con tale metodica è possibile seguire l'evoluzione del tracciato durante le diverse fasi dell'adattamento, ed evidenziare separatamente sullo stesso tracciato sia l'attività del sistema fotopico che quella del sistema scotopico.

Flicker ERG: È una metodica usata per ottenere una risposta più strettamente maculare, poiché la fusione dei coni maculari avviene a frequenze più alte di quelli extramaculari. La stimolazione si fa con luce intermittente di sufficiente frequenza e si avrà la percezione dello sfarfallio (flicker). Se si aumenta la frequenza di stimolazione sopra un certo valore (frequenza critica di fusione), lo sfarfallio è sostituito da sensazione di luce continua. La frequenza critica di fusione, secondo la legge di Ferry-Portes, è proporzionale al logaritmo della luminanza dello stimolo; con intensità molto elevate, la frequenza critica di fusione raggiunge i valori massimi compresi tra 50 e 60 Hz. Il tracciato apparirà come una successione di onde con morfologia variabile in funzione dell'intensità, delle caratteristiche spettrali dello stimolo, della frequenza, e dello stato di adattamento retinico. L'ampiezza diminuisce con l'aumentare della frequenza, fino alla frequenza critica di fusione quando si avrà il completo appiattimento del tracciato. La frequenza critica di fusione diminuisce andando dalla zona a predominanza dei coni a quella a predominanza dei bastoncelli, con picco massimo, quindi, nella regione maculare. Con il flicker, quindi, si possono ottenere risposte selezionate dai due sistemi, naturalmente rispettando i livelli di intensità della stimolazione e l'adattamento.

La risposta elettroretinografica da stimolo flash

I generatori del segnale elettroretinografico sono riportati nella Figura 1. Esempio di tracciati elettroretinografici da flash sono riportati nella Figura 2 e 3.

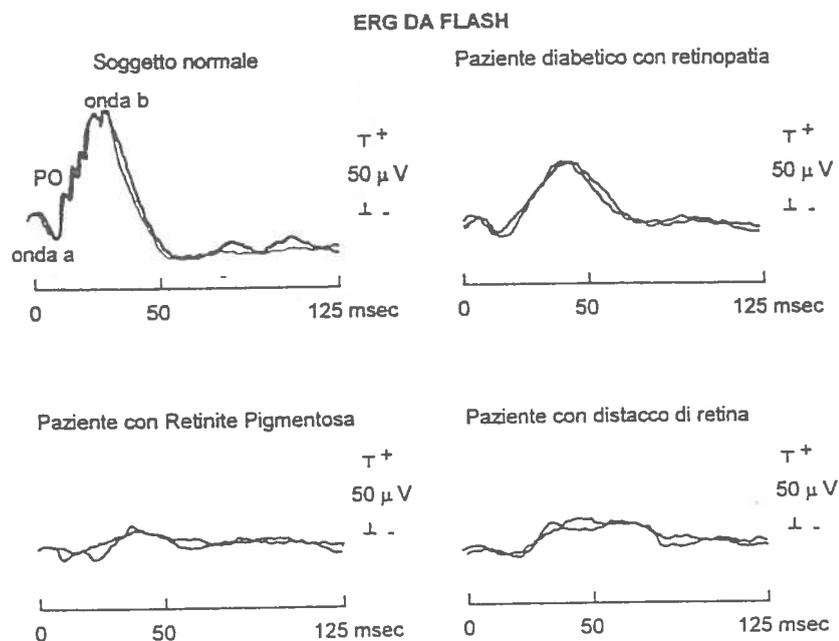


Figura 2 - Figura 2: Esempi di tracciati ERG da stimoli Flash in un soggetto di controllo ed in condizioni patologiche.

pigmenti che con le loro modificazioni causano spostamenti di cariche nella molecola, ed è proporzionale alla quantità di pigmento eccitato.

Onda "a" È una deflessione negativa, inizio della componente P-III di Granit. La P-III non è evidenziabile perché coperta dalla successiva onda "b".

Onda "b" La più studiata e più clinicamente importante, indice di funzione retinica, ed espressione indiretta delle variazioni dell'attività neurale, probabilmente attraverso le cellule del Muller (4-6). L'iperpolarizzazione dei fotorecettori stimola la depolarizzazione delle cellule bipolari ON, che danno vita ad un incremento della $[K^+]$ extracellulare nello strato plessiforme esterno. Qui le cellule del Muller

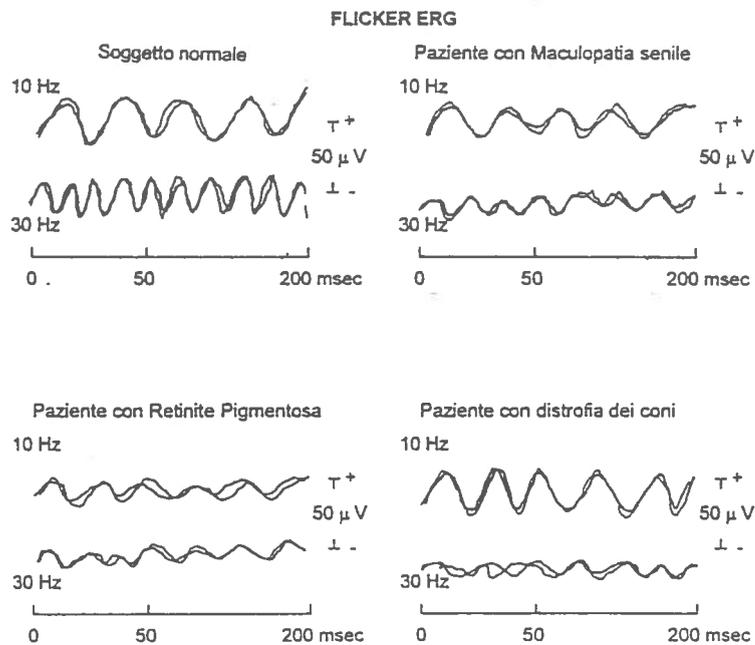


Figura 3 - Esempi di tracciati ERG da stimoli Flash ad alta frequenza temporale (Flicker) in un soggetto di controllo ed in condizioni patologiche.

sono molto sensibili al K^+ , quindi si depolarizzano rapidamente, incanalando intracellularmente l'eccesso di K^+ verso il vitreo (7). Questa variazione di corrente è un evento sicuro negli anfibi (3), ma non nei mammiferi, per i quali è stato proposto un meccanismo "va e vieni" ("push-pull") riguardo all'origine dell'onda b fotopica (8). Tale modello fa riferimento all'interazione di due meccanismi con opposta polarità tra le cellule bipolari depolarizzanti e iperpolarizzanti, e le cellule orizzontali. La genesi dell'onda b può essere spiegata isolando farmacologicamente le cellule iperpolarizzanti, e notando un guadagno della popolazione delle cellule depolarizzanti. La natura transitoria dell'onda b è interpretata da questo modello con l'iperpolarizzazione dei neuroni di secondo ordine che ne tronca il meccanismo di origine.

Potenziali oscillatori Sono fino a 7 piccole onde sovrapposte all'onda b, ma con origine distinta (verosimilmente dalle varie sottopopolazioni delle cellule amacrine). Hanno soglia più elevata dell'onda b, e per questo sono più facilmente evidenziabili nell'occhio parzialmente adattato alla luce. Ciò viene realizzato con flashes piuttosto intensi ad intervalli regolari di circa 10 sec (9-11).

Onda "c" È una deflessione positiva a crescita lenta, successiva all'onda b. Registrata dal vitreo e dalla cornea, riflette la somma algebrica di due componenti con andamento temporale simile ma polarità opposta: l'iperpolarizzazione dell'ERP che determina la componente PIII (parte rapida) e la risposta da parte delle cellule del Muller distali al decremento della $[K^+]$ nello spazio subretinico (parte lenta) (12,13).

Applicazioni cliniche

L'ERG da flash, pur rappresentano una risposta retinica di massa, è un esame diagnostico fondamentale nella diagnosi di svariate patologie retiniche che interessano le differenti componenti fotorecettoriali. Variazioni dell'ERG da flash (sia come aumento del tempo di latenza delle onde a e b che come riduzione di ampiezza dell'onda b) si rilevano nella retinite pigmentosa, nel distacco di retina, nelle tossicopatie, nelle uveiti, nelle acromatopsie, nella cecità notturna congenita, nelle distrofie dei coni, nell'amaurosi congenita di Leber. In alcune retinopatie che coinvolgono in modo specifico la regione maculare (Malattia di Stargardt, degenerazione vitelliforme di Best, maculopatia legata all'età), si possono osservare modificazioni del Flicker-ERG ed in particolare quello registrato con stimoli con frequenza maggiori di 30 Hz. Nelle patologie retiniche su base vasculopatica (diabete, ipertensione arteriosa, vasculopatie), riveste particolare importanza la valutazione dei Potenziali Oscillatori, che anche nelle fasi iniziali di tali patologie risultano essere ridotti in ampiezza. (14,15 per una revue delle applicazioni cliniche dell'ERG da Flash).

Le applicazioni cliniche dell'ERG da Flash sono riportate nella Tabella 1.

Tabella 1 - caratteristiche degli esami elettroretinografici e loro applicazioni cliniche

ESAME	GENERATORI	CARATTERISTICHE DELLA RISPOSTA	ANORMALIE DEL TRACCIATO IN:
ERG da Flash	Strati retinici esterni (Epitelio pigmentato, fotorecettori, cellule bipolari, cellule amacrine, cellule di Muller)	onda a onda b onda c	retinite pigmentosa, distacco di retina, retinopatie tossiche, amaurosi di Leber, acromatopsia, cecità notturna congenita, distrofie dei coni, vasculopatie, trombosi vena centrale retinica, occlusione arteria centrale retinica, uveiti
Potenenziali Oscillatori	sottopopolazioni di cellule amacrine	Piccole onde presenti sull'onda b	retinopatie ischemiche (diabete, ipertensione), forme gravi di glaucoma; distacco di retina
Flicker ERG	10-20 Hz: bastoncelli 30-40 Hz: coni	Onde sinusoidali in funzione della frequenza di stimolazione	retinite pigmentosa, distacco di retina, retinopatie tossiche, amaurosi di Leber, acromatopsia, cecità notturna congenita, distrofie dei coni, maculopatie, Malattia di Stargardt, maculopatia di Best, degenerazione maculare senile
ERG da pattern	Strati retinici interni (cellule e fibre ganglionari)	N35, P50, N95	maculopatie, Malattia di Stargardt, maculopatia di Best, degenerazione maculare senile, diabete, glaucoma, neuriti ottiche, Morbo di Parkinson
ERG Focale	Strati retinici interni (2P e 2F) ed esterni (2F e 1F) della regione maculare	Onde sinusoidali in funzione della frequenza di stimolazione	maculopatie, Malattia di Stargardt, maculopatia di Best, degenerazione maculare senile diabete, glaucoma, neuriti ottiche.

ERG DA PATTERN

La risposta del PERG è attribuita all'attività bioelettrica degli strati retinici più interni (cellule e fibre ganglionari, 16). Ciò deriva dalla considerazione che, dopo la sezione del nervo ottico (nel gatto e nella scimmia), si ha una progressiva riduzione dell'ampiezza del PERG in un periodo di tempo coincidente con la degenerazione walleriana delle cellule ganglionari, mentre l'ERG da flash che rimane invariato. E' in dubbio la partecipazione degli elementi preganglionari al PERG; tale partecipazione è legata a elevati livelli di luminanza mentre altri contemplanò due differenti risposte, una legata a variazioni locali di luminanza e l'altra allo stimolo strutturato (17,18)

Stimoli visivi con frequenze spaziali elevate (>2 cicli/grado) evocano risposte massimali nella fovea, mentre frequenze spaziali basse (<2 cicli/grado) stimolano la retina periferica.

La risposta elettroretinografica da stimolo pattern

I generatori del segnale elettroretinografico sono riportati nella Figura 1. Esempi di tracciati PERG sono riportati nella Figura 4.

Il PERG transiente è costituito da una piccola onda negativa che precede una larga onda positiva seguita da un'ampia componente negativa. Tali picchi vengono contrassegnati con la lettera che indica la polarità del picco e la cifra che indica il tempo di culminazione del picco stesso (N35, P50 e N95).

La valutazione clinica si basa sull'analisi della latenza dell'onda P50 e sull'ampiezza picco-picco N35-P50 e P50-N95.

Il PERG steady-state è costituito da una onda sinusoidale che, analizzata attraverso la FFT, presenta la massima ampiezza sull'armonica di frequenza doppia rispetto a quella di stimolazione: nel caso di stimolazione ad 8 Hz, l'armonica con ampiezza massima sarà quella rilevata a 16 Hz (II Armonica). La valutazione clinica si basa sulla valutazione dell'ampiezza e della fase della seconda armonica.

ERG DA PATTERN

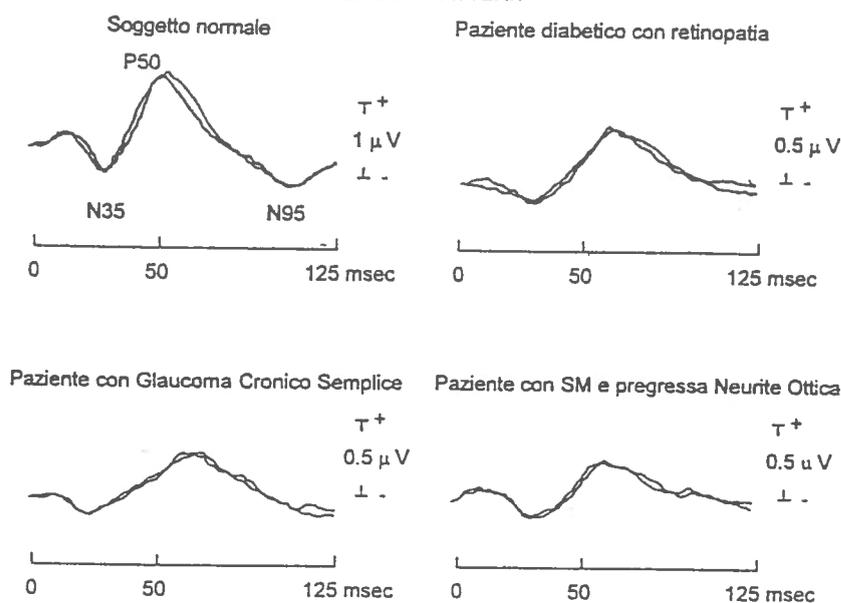


Figura 4 - Esempi di traccati ERG da stimoli Pattern in un soggetto di controllo ed in condizioni patologiche.

Applicazioni cliniche

In clinica il PERG mostra una riduzione di ampiezza ed un aumento del tempo di latenza della componente P50 in diverse patologie che coinvolgono gli strati interni retinici.

Nella malattia glaucomatosa (19-23), dove si riscontra un ERG da flash normale, il PERG è alterato precocemente, cioè quando ancora non sono visibili i segni oftalmoscopici (escavazione del nervo ottico) e perimetrici (riduzione delle isoptere periferiche e presenza di scotomi arciformi) legati all'aumento della pressione intraoculare.

In differenti forme di maculopatie il PERG presenta una riduzione di ampiezza ed un aumento del tempo di latenza della componente P50 perché le cellule ganglionari vanno incontro ad inattivazione, non

ricevendo la normale eccitazione dai fotorecettori, dalle cellule bipolari, dalle cellule orizzontali, e dalle cellule amacrine, importanti nella trasmissione del potenziale (24).

Il PERG è precocemente alterato nella malattia diabetica, dove è possibile evidenziare disfunzioni degli strati interni retinici in assenza di retinopatia e dopo solo sei mesi dall'insorgenza della malattia (25).

La registrazione simultanea di PERG e Potenziali Evocati Visivi permette nella sclerosi multipla di evidenziare diversi quadri patologici come la demielinizzazione del nervo ottico (PERG normale con allungamento del "tempo retino-corticale"), il grave interessamento dell'assone con degenerazione retrograda del nervo ottico (PERG e PEV anormali), blocco totale della trasmissione del nervo ottico (PERG normale e PEV totalmente destrutturato) o la demielinizzazione del nervo ottico con parziale interessamento dell'assone (PERG ridotto in ampiezza e aumento del "tempo retino-corticale") (26,27).

Inoltre, il PERG è alterato in quelle patologie in cui esiste un'alterazione dei meccanismi di neurotrasmissione intraretinica, come nel Morbo di Parkinson (28).

Le applicazioni cliniche dell'ERG da Pattern sono riportate nella Tabella 1.

L'ELETTRORETINOGRAMMA FOCALE (FERG)

Il FERG è un test obiettivo capace di indagare la funzionalità di aree retiniche localizzate, usato principalmente in fisiologia e in clinica, per valutare la regione maculare o foveale (19). Anche l'ERG da pattern presenta natura focale ma differisce per proprietà e generatori.

La risposta elettroretinografica da stimolo focale

I generatori del segnale elettroretinografico sono riportati nella Figura 1. Esempio di tracciato FERG sono riportati nella Figura 5.

Il FERG è generato da una modulazione luminosa sinusoidale ad

ERG FOCALE

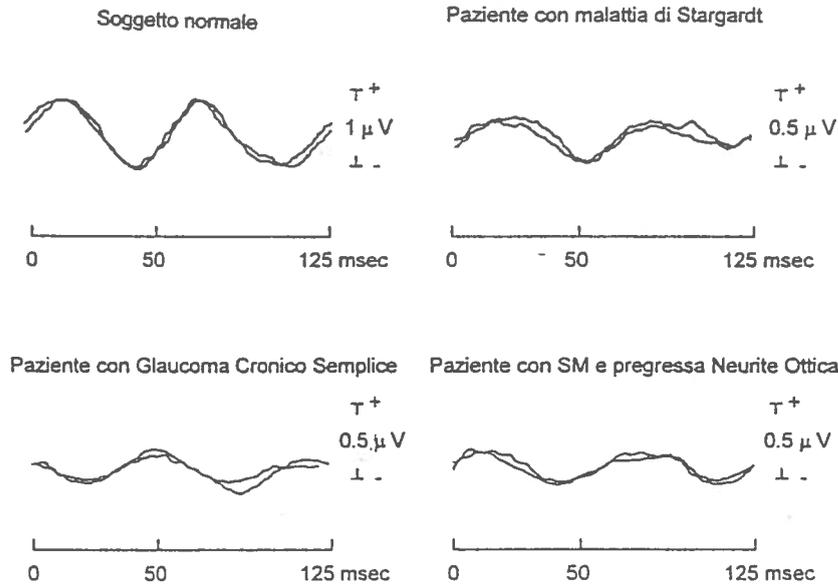


Figura 5 - Esempi di tracciati ERG Focale da stimoli Pattern in un soggetto di controllo ed in condizioni patologiche.

alta frequenza temporale (flicker ad 8 e 30 Hz) o attraverso uno stimolo strutturato ad alta frequenza temporale (barre sinusoidali ad 8 Hz). Lo stimolo visivo deve essere presentato sulla retina centrale e pertanto non deve superare le dimensioni di 9x9 gradi e deve essere posto su un campo di luminosità uniforme che ha il compito di adattare la retina periferica.

Nella registrazione dell'ERG focale si devono tenere in considerazione due differenti problemi: il fenomeno dello stray-light e la registrazione di potenziali di ampiezza molto piccola (intorno al microvolt).

La stray-light consiste nella riflessione e diffusione dello stimolo luminoso con effetto eccitatorio per aree retiniche al di fuori di quella stimolata; ciò implica la contaminazione della risposta. Questo può essere minimizzato mantenendo la retina periferica ad un livello di illuminazione costante (p.es. utilizzando uno stimolo pattern a lumi-

nanza media costante), in modo tale che la stray-light contribuisca solo in misura dell'1% al FERG. Le tecniche che si usano impiegano uno stimolo circondato da un background luminoso adattante (30-36).

I problemi legati alla ridotta ampiezza dei segnali retinici focali è stato risolto usando approcci matematici di analisi del segnale che, aggiunti al convenzionale averaging (media correlata): Fast Fourier Transform, Discrete Fourier Transform, filtrazione digitale, e filtrazione selettiva a banda stretta (con un amplificatore lock-in). In aggiunta, l'analisi di cross correlazione è stata applicata per isolare risposte retiniche generate da un sistema multi-input, in cui ogni stimolo è modulato secondo una sequenza binaria specifica, pseudorandom. Questo approccio è basato sul presupposto che il sistema retinico si comporti, almeno in parte, linearmente; questo permette di descrivere accuratamente la risposta ad un impulso temporale in una specifica regione della retina. Queste metodiche permettono l'isolamento delle componenti armoniche d'interesse, forniscono un rapporto segnale/rumore notevolmente migliore, e una stima precisa delle caratteristiche di fase a ampiezza del segnale, indipendenti dalle proprietà dell'onda (37-39).

Il segnale FERG si presenta con una forma approssimativamente sinusoidale che è dominata da una componente con la stessa frequenza della stimolazione, chiamata prima armonica (1F) o componente fondamentale. Inoltre c'è una seconda componente (seconda armonica) 2F, che è presente nella frequenza doppia di stimolazione.

Nel caso di stimolazione con variazione di luminanza modulata alla frequenza temporale di 30 Hz, avremo una risposta massima nella armonica della stessa frequenza di stimolazione (1F); nella stimolazione con variazione di luminanza o da barre sinusoidali modulate in contrasto alla frequenza temporale 8 Hz, si otterrà una risposta di ampiezza massima nell'armonica di frequenza doppia rispetto a quella di stimolazione (rispettivamente 2F e 2P).

La 1F del flicker ERG è generata principalmente dagli elementi dello strato retinico esterno; la 2F sembra essere generata da elementi degli strati retinici interni ma comunque con un contributo degli elementi preganglionari; la 2P ha origine dagli strati retinici più interni (cellule e fibre ganglionari) (40-44).

Applicazioni cliniche

Il FERG è stato diffusamente applicato per valutare disfunzioni maculari legate sia ai processi normali di invecchiamento che quelli associati a patologie retiniche. Molti studi hanno evidenziato che l'ampiezza del FERG diminuisce in funzione dell'età, tuttavia si nota un processo di invecchiamento selettivo sulla funzione dei coni maculari, in quanto solo l'ampiezza del FERG foveale (e non quella parafoveale) è inversamente proporzionale all'età: dopo aver corretto per cambiamenti di dimensione pupillare, è stata dimostrata una riduzione dell'ordine del 6% per decade tra i 20 e 80 anni (45,46).

Tra le varie patologie maculari, numerosi studi effettuati sulla malattia di Stargardt hanno evidenziato una alterazione funzionale che coinvolge non solo gli strati retinici esterni ma anche quelli interni della regione maculare (47-50).

Nella retinite pigmentosa esiste una correlazione tra l'ampiezza del FERG e l'acuità visiva dei pazienti. Nei soggetti con preservata acuità visiva, le perdite del FERG sono ristrette alle alte frequenze temporali; tuttavia è possibile evidenziare perdite di ampiezza anche a frequenze temporali basse ed intermedie riducendo la profondità di modulazione dello stimolo. Nei pazienti con malattia avanzata si osservano alterazioni estese all'intero range di frequenze temporali esaminate. Questo aspetto è stato valutato in modo più dettagliato comparando le soglie elettroretinografiche di contrasto con quelle psicofisiche. È stata dunque suggerita una riduzione del numero di coni maculari con attività normale dei fotorecettori rimanenti (51,52).

Nelle maculopatie legate all'età, la sensibilità del FERG nel rilevare disfunzioni maculari è accettabile solo nei pazienti con acuità minore dello 0.5 o in pazienti con una forma essudativa unilaterale, dove si evidenzia una variazione del tempo implicito in assenza di una anomalia dell'ampiezza. Si hanno riduzioni di ampiezza soltanto in occhi con lesioni più estese di 300 μm , e la riduzione è in funzione della dimensione della lesione. Nei pazienti con lesioni unilaterali è stata rilevata una correlazione tra anomalie del FERG e successivo sviluppo di un foro maculare a tutto spessore. E' dunque certo il valore predittivo del FERG per quanto riguarda lo sviluppo di successive

lesioni nelle forme unilaterali, ma non è certo per le forme essudative (53).

Nella corioretinopatia sierosa centrale come nell'edema maculare cistoide la registrazione dell'ERG focale ha permesso di monitorizzare l'andamento della patologia, acquisendo così un notevole valore predittivo ai fini prognostici (54).

Anomalie del FERG sono state rilevate in patologie che interessano più selettivamente gli strati interni della retina, come per esempio nella retinoschisi congenita X-linked dove si hanno anomalie dei potenziali oscillatori e delle onde b, ma non dell'onda a, e in occhi senza concomitante disfunzioni dell'epitelio pigmentato (29).

Nei fori lamellari interni è stata riportata un'anormalità della 2F, mentre nei fori a pieno spessore si ha una perdita di entrambe le armoniche (55).

Anomalie selettive del FERG (2F) sono state individuate nel glaucoma (56-58), nella sclerosi multipla (27-59), nel diabete (60), e nelle compressioni del nervo ottico (29), suggerendo che il FERG possa essere un utile complemento all'ERG da pattern nelle patologie che influenzano gli strati retinici interni.

Le applicazioni cliniche dell'ERG Focale sono riportate nella Tabella 1.

Considerazioni conclusive

- L'elettroretinogramma riflette l'attività bioelettrica retinica.
- Con opportune metodiche di stimolazione e registrazione permette di valutare in modo selettivo la funzionalità degli strati retinici esterni (sia nella componente bastoncellare che in quella dei coni), intermedi ed interni sia dell'intera retina che della regione maculare.
- L'Elettroretinografia, essendo una metodica semeiologica obiettiva, non invasiva e ripetibile nel tempo, costituisce un ottimo strumento semeiologico per la diagnosi ed il monitoraggio nel tempo di svariate patologie retiniche.

BIBLIOGRAFIA

- 1) Saraux H e Biais B. Manuale di fisiologia oculare. Ed. Masson, 1986.
- 2) Armington JC. The Electroretinogram. New York, Academic Press, 1974.
- 3) Cordella M, Franchi A: Elettrodiagnosi dell'apparato visivo. Ed. Ghedini, 1983
- 4) Newman EA, Odette LL. Model of electroretinogram b-wave generation: a test of the K hypothesis. *J. Neurophysiol.* 1984; 51:164-182.
- 5) Newman EA, Frishman LJ. The b-wave. In: Heckenlively JR, Arden GB, Eds. Principles and Practice of Clinicale Electrophysiology of Vision. St.Louis: Mosby Year book, 1991.
- 6) Wen R, Oakley B. K-evoked Muller cell depolarization generates b-wave of electroretinogram in toad retina. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 1990; 87: 2117-2121
- 7) Steinberg RH, Oakley II B, Niemeyer G. Light-evoked changes in (K)_o in retina of intact cat eye. *J. Neurophysiol* 1980; 44: 897-921
- 8) Sieving PA, Murayama K, Naarendorp F. Push-pull model of the primate photopic electroretinogram: a role for hyperpolarizing neurons in shaping the b-wave. *Vis. Neurosci.* 1994; 11: 519-532
- 9) Speros P, Price J. Oscillatroy potentials. History, techniques and potential use in the evaluation of disturbances of retinal cirulation. *Survey Ophthalmol.* 1981; 25: 237-252
- 10) Wachtmeister L. Oscillatory potential recording. In: Heckenlively JR, Arden GB, Eds. Principles and Practice of Clinical Electrophysiology of Vision. St.Louis: Mosby Year book, 1991; Chapter 41, 322-327
- 11) Karwoski C, Kawasaki K. Oscillatory potentails. In: Heckenlively JR, Arden GB, Eds. Principles and Practice of Clinical Electrophysiology of Vision. St.Louis: Mosby Year book, 1991; Chapter 16; 125-128
- 12) Kaneko A, Murakami M. Subcomponents of PIII in cold-blooded vertebrate retina. *Nature* 1966; 5031:103-104
- 13) Steinberg RH, Linsenmeir RA, Griff ER. Retinal pegment epithelial cell contributions to the electroretinogram and electrooculogram. In: Osborne NN, Chader GJ, Eds. Progres in Retinal Research. New York: Pergamon Press, 1985; Vol.4: 33-66
- 14) Neimeyer G. Components of te Electroretinogram: physiological and clinīcal aspects. In Cordella M e Ponte F, Eds. Attualità in tema di elettrofisiologia della visione. Editoriale I.N.C. Roma, 1994; 8-19.
- 15) Ponte F e Anastasi M. I potenziali oscillatori dell'ERG In Cordella

M e Ponte F, Eds. Attualità in tema di elettrofisiologia della visione. Editoriale I.N.C. Roma, 1994; 8-19.

16) Maffei L, Fiorentini A. Electroretinographic response to alternating gratings before and after section of the optic nerve. *Science*, 1981; 211: 953-954

17) Sherman J. Simultaneous pattern reversal electroretinograms and visual evoked potentials in diseases of the macular and optic nerve. *Ann. N.Y. Acad. Sc.* 1982; 388: 214-226

18) Sherman J, Richardson V. What is the origin of the pattern reversal electroretinogram in humans? *Invest. Ophthalmol. Vis. Sc.* 1983 supp.22: 138

19) Bobak P, Bodis-Wollner I, Harnois C et al. Pattern electroretinograms and visual evoked potentials in glaucoma and multiple sclerosis. *Am.J.Ophthalmol.* 1983; 96: 72-83

20) Marx MS, Bodis-Wollner I, Lustgarten JS and Podos SM (1988) Electrophysiological evidence that early glaucoma affects foveal vision. *Doc. Ophthalmol.*, 1988; 67:281-301.

21) O'Donoghue E, Arden GB, O'Sullivan F et al. The pattern electroretinogram in glaucoma and ocular hypertension. *Br. J. Ophthalmol.*, 1992; 76:387-394.

22) Pfeiffer N, Tillmon B, Bach M. Predictive value of the pattern electroretinogram in high-risk ocular hypertension. *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.*, 1993; 34:1710-1715.

23) Parisi V. Neural conduction in the visual pathways in ocular hypertension and glaucoma. *Graefe's Arch. Clin. Exp. Ophthalmol.*, 1997, 235:136-142.

24) Kaufman D, Celesia GG, Madison WI. Pattern ERG and retinocortical time: a new method for the diagnosis of optic nerve and macular disease. *Neurology* 1983; 33 supp 2: 184-192
25) Parisi V, Uccioli L, Monticone G et al. Electrophysiological assessment of visual function in IDDM patients. *Electroencephalogr. Clin. Neurophysiol.* 1997; 104: 171-79

26) Kaufman D, Celesia GG. Simultaneous recording of pattern electroretinogram and visual evoked responses in neurophthalmologic disorders. *Neurology* 1985; 35: 644-651

27) Parisi V, Pierelli F, Restuccia R et al. VEP after photostress response in multiple sclerosis patients previously affected by optic neuritis. *Electroencephalogr. Clin Neurophysiol.* 1998; 108:73-79.

28) Bodis-Wollner I, Marx MS, Mitra S et al. Visual dysfunction in Parkinson's disease. *Brain*, 1987; 110: 1675-1698.

29) Parisi V, Falsini B. Electrophysiological evaluation of the macular cone system: focal electroretinography and visual evoked potential after photostress. *Sem. in Ophthalmol.* 1998; 4: 178-88

- 30) Asher J. The electroretinogram of the blind spot. *J. Physiol.* 1951; 20: 112-140
- 31) Brindley GS, Westheimer G. Spatial properties of the human electroretinogram. *J. Physiol.* 1965; 179: 518-537
- 32) Jones R, King-Smith PE, Loffing DH et al. Stray-light contribution to the focal electroretinogram. *Clin. Vis. Sci.* 1986; 1:153-160
- 33) Biersdorf WR, Diller DA. Local electroretinogram in macular degeneration. *AM. J. Ophthalmol.* 1969; 68: 296-303
- 34) Biersdorf WR. The clinical utility of the foveal electroretinogram: a review. *Doc. Ophthalmol.* 1990; 73: 313-325
- 35) Seiple WH, Siegel IM, Carr RE et al. Objective assessment of temporal modulation transfer function using the focal ERG. *Am.J. Optom. Physiol. Optics* 1986; 63: 1-6
- 36) Sutter EE, Tran D, The field topography of ERG components in man. The photopic luminance response. *Vision Res.* 1992; 32: 433-446
- 37) Standberg MA, Ariel MA. Hand-held two channel stimulator ophthalmoscope. *Arch Ophthalmol.* 1977; 95: 1881-1882
- 38) Fadda A, Falsini B, Neroni M, et al. Development of personal computer software for a visual electrophysiology laboratory. *Comput. Methods Programs Biomed.* 1989; 28: 45-50
- 39) Nelson JI, Seiple WH, Kupersmith NJ et al. Lock-in signal retrieval techniques for swept-parameter visual stimulation. *J. Clin. Neurophysiol.* 1985; 1: 409-415
- 40) Bush RA, Sieving PA. Inner retinal contribution to the primate photopic fast flicker electroretinogram. *Optom. Soc. Am.* 1996; 13: 557-65
- 41) Porciatti V, Moretti G, Ciavarella P et al. The second harmonic of the electroretinogram to sinusoidal flicker: spatio-temporal properties and clinical application. *Doc. Ophthalmol.* 1993; 84: 39-46
- 42) Baker CL, Hess RF. Linear and non-linear components of human electroretinogram. *J. Neurophysiol.* 1984; 51: 952-67
- 43) Porciatti V, Falsini B, Fadda A et al. Steady-state analysis of the focal ERG to pattern and flicker: relationship between ERG components and retinal pathology. *Clin. Vis. Sci.* 1989; 4: 323-332
- 44) Seiple W, Holopigian K. Nonlinearities in the focal electroretinogram. *Clin. Vis. Sci* 1991; 6: 413-21
- 45) Birch DG, Fish GE. Focal cone electroretinograms: aging and macular disease. *Doc. Ophthalmol.* 1988; 69: 211-20
- 46) Bagolini B, Porciatti V, Falsini-B et al. Macular and electroretinogram as a function of age of subjects. *Doc. Ophthalmol.* 1988; 70: 37-43
- 47) Standberg MA, Hanson AH, Berson EL. Foveal and parafoveal cone

electroretinograms in juvenile macular degeneration. *Ophthalmic Pediatrics and Genetics* 1983; 3: 83-87

48) Bagolini B, Porciatti V, Falsini B et al. Simultaneous foveal and parafoveal electroretinograms in hereditary degeneration of the central retina. *Doc. Ophthalmol.* 1989; 71: 435-43

49) Seiple WH, Siegel IM, Carr RE et al. Evaluating macular function using the focal ERG. *Invest. Ophthalmol. Vis Sci.* 1986; 27: 1123-130

50) Kretschman U, Seeliger MW, Ruether K et al. Multifocal electroretinography in patients with Stargardt's macular dystrophy: *Br J. Ophthalmol.* 1998; 82: 267-275

51) Sandberg MA, Jacobson SG, Berson EL. Foveal cone electroretinogram in retinitis pigmentosa and juvenile macular degeneration. *Am. J. Ophthalmol.* 1979; 80: 702-707

52) Seeliger MW, Kretschmann U, Apfelsedt-Sylla E et al. Multifocal electroretinography in retinitis pigmentosa. *Am. J. Ophthalmol.* 1998; 125: 214-226

53) Biersdorf WR. Temporal factors in the foveal ERG. *Curr. Eye Res.* 1981/2 1:717-722.

54) Miyake Y, Shiroyama M, Ota I et al. Local macular electroretinographic responses in idiopathic central serous chorioretinopathy. *Am. J. Ophthalmol.* 1988; 106: 546-550

55) Falsini B, Minella A, Buzzonetti L, et al. Macular electroretinograms to flicker and pattern stimulation in lamellar macular holes. *Doc. Ophthalmol* 1992; 79: 99-108

56) Falsini B, Colotto A, Porciatti V, et al. Macular flicker and pattern ERGs are differently affected in ocular hypertension and glaucoma. *Clin. Vis Sci.* 1991; 6: 422-29

57) Holopigian K, Seiple W, Greenstein VC. Electrophysiological evidence for other retinal deficits in primary open angle glaucoma. *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.* 1993; 34 (suppl): 1269

58) Vaegan, Buckland L. The spatial distribution of ERG losses across the posterior pole of glaucomatous eyes in multifocal recordings. *Aust. N.Z. J. Ophthalmol.* 1996; 24: 28-31

59) Falsini B, Bardocci A, Porciatti V et al. Macular dysfunction in multiple sclerosis revealed by steady-state flicker and pattern ERGs. *Electroencephalogr Clin Neurophysiol.* 1992; 83: 53-59

60) Ghirlanda G, Di Leo MAS, Caputo S et al. Detection of inner retina dysfunction by steady-state focal electroretinogram pattern and flicker in early IDDM. *Diabetes.* 1991; 40: 1122-27