

## Badania doświadczalne nad rolą układu adrenergicznego w kształtowaniu odpowiedzi bioelektrycznej siatkówki i kory wzrokowej

### II. Metodyka oraz charakterystyka zapisów ERG i WPW

W ostatnich latach technika komputerowa znalazła szerokie zastosowanie w budowie aparatury przeznaczonej do elektrodiagnostyki układu wzrokowego. Obecnie komputery używane są do badań elektretinograficznych (ERG), elektrookulograficznych (EOG) oraz wzrokowych potencjałów wywołanych (WPW)<sup>1, 2, 8-10, 15</sup>. Metodyka tych badań różni się od tradycyjnych sposobów rejestrowania biopotencjałów wzrokowych<sup>1, 2, 15</sup>.

Obecnie jest już dostępna dla polskich okulistów skomputeryzowana aparatura elektrofizjologiczna. Jednak do tej pory, w piśmiennictwie polskim, nie opisano sposobu wykonywania badań ERG i WPW na tego typu urządzeniach w warunkach doświadczalnych. Z tych to względów, w niniejszej pracy, podano szczegółową metodykę rejestrowania elektretinogramów oraz wzrokowych potencjałów wywołanych na jednym z najpopularniejszych zwierząt doświadczalnych, jakim jest królik.

Badania wykonywano systemem UTAS-E1000 firmy LKC-Systems (USA), używając oprogramowania 1.8Q (VRA, 1985). Opis aparatu i jego możliwości podano we wcześniejszych pracach<sup>8-10</sup>. Przebadano 52 króliki obu płci rasy zajęczej. Waga zwierząt wahała się w granicach 3,0-3,5 kg. Ponieważ środki znieczulające wpływają na krzywą ERG i WPW<sup>1</sup>, badania przeprowadzono bez znieczulenia ogólnego królików.

#### Badania elektretinograficzne

Przed badaniami ERG, zwierzęta umieszczano w typowej klatce do unieruchamiania królików<sup>6</sup>. Żrenice rozszerzano 1% tropikamidem, rogówki znieczulano 2% pantokainą. Elektrody czynne, typu „ERG-jet”, umieszczano na rogówce pod migotką. Iglowe elektrody bierne, wbijano w powieki dolne, a klipsowe elektrody uziemiające zakładano na ucho zwierzęcia. Po 30 minutowej adaptacji do ciemności głowę królika wsuwano do czaszy automatycznego fotostymulatora całopoloowego „Ganzfeld”. W warunkach adaptacji skotopowej (AS) stosowano po-

Tabela I

Fala	Adaptacja skotopowa				Adaptacja fotopowa			
	Bodziec		Adaptacja skotopowa		Adaptacja fotopowa		Flicker	
	Nieb.	Czerw.	Biały	Biały	PO	Biały	a	b
A (μV)								
Średnia	42	49	15	223	O <sub>1</sub> +O <sub>2</sub>	2	70	19
Odchyl. stand.	36	31	6	47	7	2	20	10
CK (ms)								
Średnia	71	71	15	37	O <sub>1</sub>	15	6	5
Odchyl. stand.	5	4	1	2	O <sub>2</sub>	26	34	1
					1	2		

Z II Kliniki Okulistycznej AM w Szczecinie, kierownik: prof. dr med. Olgierd Palacz

Reprint requests to: Dr med. Damian Czepita, ul. Przyjaciół Żołnierza 33 m. 19; 71-670 Szczecin, Poland

EXPERIMENTAL INVESTIGATIONS ON THE ROLE OF THE ADRENERGIC SYSTEM IN FORMATION OF THE BIOELECTRIC RESPONSE OF THE RETINA AND CEREBRAL CORTEX. II. METHODICS AND CHARACTERISTICS OF THE ERG AND VEP RECORDS

The author presents the method of performing computerized electroretinographic and visual evoked potentials in rabbits. Detailed characteristics of normal ERG and VEP records are presented. Discussed is the structure of the retina and of the visual pathways in the rabbit as well as the provenance of the particular peaks of the electroretinogram and visual evoked potential records.

HASŁA: układ adrenergiczny, elektretinogram, wzrokowe potencjały wywołane, królik

KEY WORDS: adrenergic system, electroretinogram, visual evoked potentials, rabbit

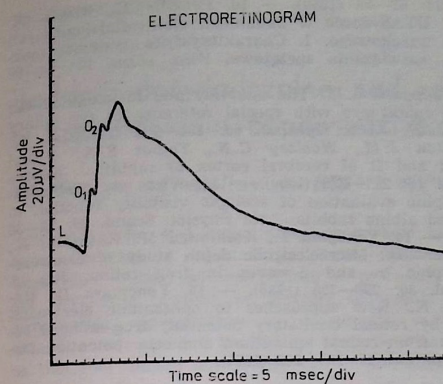
Jedynce błyski niebieskie, czerwone i białe. W adaptacji fotopowej (AF) używano bodźców świetlnych białych, pojedynczych oraz migocących o częstotliwości 30 Hz (Flicker ERG). Rejestrowano zapisy ERG z obu oczu jednocześnie. Oceniano elektretinogramy pojedyncze i uśrednione z 60-ciu odpowiedzi. Czulość: 5-20 μV/działkę. Filtry: dolnoprzepustowy - 500 Hz, górnoprzepustowy - 0,3 Hz.

W tab. I podano amplitudy (A) i czasy kulminacji (CK) uzyskiwanych fal ERG. Potencjały oscylacyjne (PO) analizowano metodą opisaną przez Yonemurę i Kawasaki<sup>15</sup>. Oryginalne zapisy elektretinograficzne przedstawiono na ryc. 1 i 2.

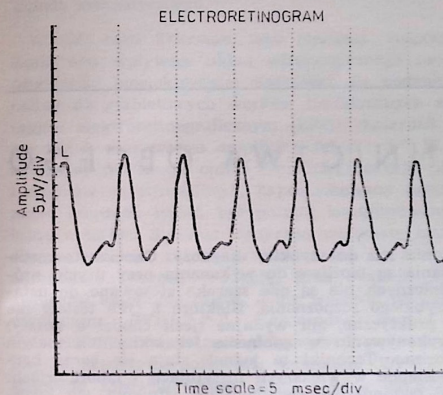
Królik posiada siatkówkę mieszaną, o wybitnej przewadze pręcików<sup>1, 4, 5, 7, 11, 12</sup>. W siatkówce królika istnieją czopki niebiesko- i zielonoczerwone<sup>7</sup>, a niektórzy badacze stwierdzili również obecność czopków wrażliwych na światło długofalowe (pomarańczowo-czerwone)<sup>4, 11</sup>. Inne

elementy siatkówki królika są podobnie wykształcone jak u człowieka<sup>11</sup>.

Powszechnie przyjmuje się, że fala a ERG jest wyrazem depolaryzacji członów zewnętrznych komórek receptorowych<sup>1, 2, 8</sup>. Po pobudzeniu światłem pręcików i czopków, w wewnętrznych warstwach siatkówki



Ryc. 1. ERG w AS po błyskach białych. Na wstępującym ramieniu fali b widoczne są PO (O<sub>1</sub> i O<sub>2</sub>).



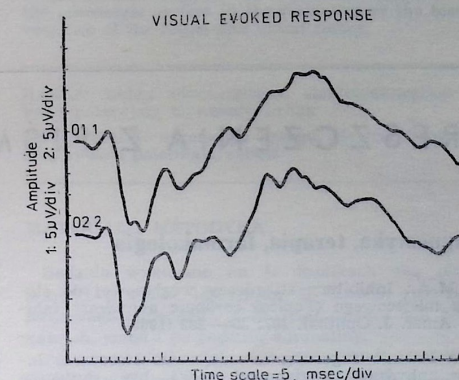
Ryc. 2. Flicker ERG w AF po błyskach białych.

Stosując oboczną stymulację, rejestrowano zapisy WPW z obu półkul mózgowych jednocześnie. Analizowano wzrokowe potencjały wywołane uśrednione ze 100-150 zapisów. Czulość: 2 μV/działkę. Filtry: dolnoprzepustowy - 70 Hz, górnoprzepustowy - 1 Hz. Próg odrzucania artefaktów: 100 μV.

Tabela II

Fala	A	B	C
A (μV)	Średnia 3	17	2
	Odchyl. stand. 5	8	10
CK (ms)	Średnia 19	33	62
	Odchyl. stand. 4	7	14

Amplitudy oraz czasy kulminacji rejestrowanych załamek WPW podano w tab. II. Poszczególne fale oznaczono zgodnie z nomenklaturą Babela i wspólr.<sup>1</sup>. Oryginalny zapis wzrokowych potencjałów wywołanych przedstawiono na ryc. 3.



Ryc. 3. WPW w AS po błyskach białych. O<sub>1</sub> - zapis z lewej, O<sub>2</sub> - zapis z prawej kory wzrokowej. Fala B w pozycji O<sub>1</sub> rozdwojona.

kształtowana jest fala b. Prawdopodobnie zależy ona od depolaryzacji komórek Müllera<sup>1, 2, 14</sup>. PO pochodzą z komórek amakrynowych i są one szczególnie wrażliwe na zaburzenia w ukrwieniu wewnętrznych warstw siatkówki<sup>1, 2, 12</sup>. Zastosowanie w AF bodźców świetlnych o częstotliwości 30 Hz prowadzi do uzyskania fotopowego zapisu ERG<sup>1, 2</sup>.

W przeprowadzonych doświadczeniach, po błyskach niebieskich i czerwonych, nie uzyskiwano wyraźnej fali a. Jest to prawdopodobnie związane z małą ilością czopków w siatkówce królika.

#### Badania wzrokowych potencjałów wywołanych

Podobnie jak w badaniach ERG przed badaniami WPW, żrenice zwierząt rozszerzano 1% tropikamidem i króliki umieszczano w tej samej klatce do unieruchamiania<sup>6</sup>. Dwie elektrody igłowe umieszczano podskórnym w okolicy obu pół wzrokowych Co I, w pozycji F, c, -5 wg Bocka i wspólr.<sup>2</sup>. Elektrode odniesienia wbijano podskórnym w miejscu skrzyżowania szwu wieńcowego ze strzałkowym. Klipsową elektrodę uziemiającą, zakładano na ucho królika. Po wsunięciu głowy królika do czaszy fotostymulatora „Ganzfeld”, w warunkach AS, używano bodźców świetlnych białych o częstotliwości 1 Hz.

Droga wzrokowa królika jest podobnie zbudowana jak u człowieka. Cechą charakterystyczną jest stosunkowo duża powierzchnia kory wzrokowej. Zajmuje ona znaczną część okolicy potylicznej i ciemieniowej mózgu królika. Ośrodki wzrokowe składają się z dwóch pół: większego Co I i mniejszego Co II. Do pola Co I dochodzą przede wszystkim włókna skrzyżowane (z przeciwległego oka). W polu Co II reprezentowane są głównie włókna nieskrzyżowane (z oka leżącego po tej samej stronie)<sup>1, 2, 12</sup>.

Fala A wzrokowych potencjałów wywołanych powstaje w wyniku dojścia potencjału czynnościowego (włóknami wzgórzowo-korowymi) do komórek Golgiego II typu w warstwie ziarnistej wewnętrznej kory wzrokowej. Załamek B jest wyrazem pobudzenia komórek piramidalnych oraz gwiaździstych dużych w obrębie pola wzrokowego. Fala C WPW to depolaryzacja komórek kory wzrokowej i jej najbliższych okolic. Załamki A i B zaliczane są do odpowiedzi pierwotnej z 17 pola Brodmanna, a fala C jest odpowiedzią wtórną<sup>1, 2</sup>.

#### PIŚMIENNICTWO

1. Babel J., Stangos N., Korol S., Spiritus M.: Ocular electrophysiology. A clinical and experimental study of



electro-retinogram, electro-oculogram, visual evoked response. (Thieme, Stuttgart 1977). — 2. Bock P.R., Pollock B.W., Fuchs A.M., von Schmude D.: Modified method for recording cortical and subcortical visually evoked potentials in the conscious rabbit with chronically implanted electrodes. *Arzneim.-Forsch.* 25: 1746—1755 (1975). — 3. Carr R.E., Siegel I.M.: Visual electrodiagnostic testing a practical guide for the clinician. (Williams and Wilkins, Baltimore 1982). — 4. Dodt E., Eleinius V.: Change of threshold during dark adaptation measured with orange and blue light in cats and rabbits. *Experientia* 16: 313—314 (1960). — 5. Hanitzsch R., Trifonow J.: Intraretinal abgeleitete ERG-Komponenten der isolierten Kaninchenhaut. *Vis. Res.* 8: 1445—1455 (1968). — 6. Miętkiewski E.: Kurs fizjologii doświadczalnej. (PZWL, Warszawa 1970). — 7. Nuboer J.F.W., van Nuys W.M., Wortel J.F.: Cone systems in the rabbit retina revealed by ERG-null-detection. *J. Comp. Physiol. A* 151: 347—352 (1983). — 8. Palacz O., Czepita D.: Współczesne możliwości diagnostyki elektrofizjologicznej z uwzględnieniem badań własnych. *Klin. oczna* 89: 77—80 (1987). — 9. Palacz O., Penkala K.: System UTAS-E1000 w badaniach elektrofizjologicznych układu wzrokowego. II. Oprogramowanie, praktyka kliniczna. *Klin.*

oczna 92: 67—68 (1990). — 10. Penkala K., Palacz O.: System UTAS-E1000 w badaniach elektrofizjologicznych układu wzrokowego. I. Charakterystyka systemu, możliwości, rozwiązania sprzętowe. *Klin. oczna* 92: 64—68 (1990).

11. Sheppard L.B.: The anatomy and histology of the normal rabbit eye with special reference to the ciliary zone. *AMA Arch. Ophthalmol.* 66: 896—904 (1961). — 12. Thompson J.M., Woolsey C.N., Talbot S.A.: Visual areas I and II of cerebral cortex of rabbit. *J. Neurophysiol.* 13: 277—288 (1950). — 13. Wirth A.: Electoretinographic evaluation of scotopic visibility function in cats and albino rabbits. *Acta Physiol. Scand.* 29: 22—30 (1953). — 14. Yanagida T., Koshimizu M., Kawasaki K., Yonemura D.: Microelectrode depth study of electroretinographic b- and d-waves in frog retina. *Jap. J. Ophthalmol.* 30: 298—305 (1986). — 15. Yonemura D., Kawasaki K.: New approaches to ophthalmic electrodiagnosis by retinal oscillatory potential, drug-induced responses from retinal epithelium and cone potential. *Docum. ophthalmol.* 48: 163—222 (1979).

Praca wpłynęła: 18.12.1987 (nr 5293).

## STRESZCZENIA Z PIŚMIENNICTWA OBCEGO

### 5. Diagnostyka, terapia, farmakologia

KASS M.A.: Inhibitory anhidryzy węglanowej do stosowania miejscowego (*Topical carbonic anhydrase inhibitors*). *Amer. J. Ophthalmol.* 107: 280—282 (1989).

Ostatnie badania sugerują, że miejscowo stosowane inhibitory anhidryzy węglanowej mogą być skuteczne jeśli do oka przeniknie wystarczająca ilość leku, taka, by osiągnąć aktywny poziom w nabolku rzęskowym. Donoszono o tym, że inhibitory anhidryzy węglanowej obniżają ciśnienie wewnątrzgałkowe kiedy stosowano je w oczach zwierząt. W ciągu ostatnich dwóch lat zauważono, że dwa nowe miejscowo stosowane inhibitory anhidryzy węglanowej zmniejszają ciśnienie wewnątrzgałkowe u pacjentów z jaskrą. Najbardziej obiecujący jest MK-927. Jednorazowe podanie tego leku obniżało ciśnienie wewnątrzgałkowe aż o 24,4%. Nie jest jasne czy MK-927 jest wystarczająco aktywny przy długotrwałym stosowaniu, aby uzasadniało to jego szeroko rozprzestrzenione użycie kliniczne. Wydaje się jednak prawdopodobne, że skuteczne, miejscowo stosowane, inhibitory anhidryzy węglanowej będą dostępne w niedalekiej przyszłości.

Joanna Stafiej

RAO N.A.: Laboratoryjne metody szybkiego rozpoznawania infekcji ocznych i perspektywy na przyszłość (*A laboratory approach to rapid diagnosis of ocular infections and prospects for the future*). *Amer. J. Ophthalmol.* 107: 283—291 (1989).

Metody szybkiego wykrywania czynników mikrobiologicznych i potwierdzenia klinicznej diagnozy są niezwykle ważne w umiejętnym postępowaniu w zapaleniach ocznych i infekcjach. Większość infekcji ocznych może być rozpoznana natychmiast przez techniki konwencjonalne i kilka technik nowych. Nowoczesne metody zawierają immunohistochemię, mikroskopię fluorescencyjną, próby odporności enzymatyczne, próby odporności radiologiczne i biologię molekularną. Te nowe techniki są wysoko czułe i dają wielkie możliwości wy-

korzystania ich do szybkiej diagnozy. Chociaż te metody badania są możliwe do wykonania przy użyciu próbek klinicznych nie są one szeroko stosowane do ustalania szybkiego rozpoznania. Niektóre z tych testów nie są ani praktyczne, ani wydajne (jeśli chodzi o koszty) przy wykonywaniu w gabinecie lekarskim lub małym laboratorium. Techniki te jednak stają się coraz bardziej dostępne w większych instytucjach i laboratoriach. Okuliści powinni być świadomi ich istnienia, ich zastosowania i ich ograniczeń w rozpoznawaniu infekcji ocznych.

Joanna Stafiej

### 8. Spojówka, rogówka, twardówka

MATSUDA M., MACRAE S.M., INABA M., MANABE R.: Wpływ noszenia twardych szkieł kontaktowych na śródbłonek rogówki w stożku rogówki po keratoplastyce przenikającej (*The effect of hard contact lens wear on the keratoconic corneal endothelium after penetrating keratoplasty*). *Amer. J. Ophthalmol.* 107: 246—251 (1989).

Używając bezpośredniego mikroskopu o szerokim polu autorzy ocenili morfologiczne cechy śródbłonka rogówki w 14 oczach u 14 pacjentów ze stożkiem rogówki, którzy stosowali polimetylmetakrylowe twarde soczewki kontaktowe przez przynajmniej 4 lata (średnio 71 miesięcy) po keratoplastyce przenikającej. Dokonano porównania z 14 oczami nie noszącymi soczewek kontaktowych u 14 pacjentów ze stożkiem rogówki odpowiednio dobranych pod względem wieku, długości okresu pooperacyjnego i innych zmiennych. Badanie śródbłonka u noszących soczewki kontaktowe wykazało znaczący wyższy współczynnik zmienny wielkości komórek i wyraźne zmniejszenie odsetka komórek sześciokątnych (pleomorfizm) ze znaczącym zmniejszeniem zagęszczenia komórek. Powód tych morfologicznych zmian pozostaje niejasny, ale może być związany z niedotlenieniem śródbłonka rogówki wywołanego soczewkami powodując zmniejszenie liczby komórek.

Joanna Stafiej

(cd. na str. 113)

## Badania doświadczalne nad rolą układu adrenergicznego w kształtowaniu odpowiedzi bioelektrycznej siatkówki i kory wzrokowej

### III. Wpływ adrenaliny na ERG i WPW królika

Przedstawione w I części pracy obserwacje kliniczne, farmakologiczne i elektrofizjologiczne, wskazują na współdziałanie układu autonomicznego w procesach widzenia. Wykazano również, że niektóre schorzenia układu wzrokowego spowodowane są dysfunkcją w obrębie układu współczulnego<sup>4</sup>. Dlatego też badania doświadczalne nad rolą układu adrenergicznego w procesach wzrokowych, oprócz znaczenia teoretycznego, mogą mieć znaczenie praktyczne zarówno w poznaniu patogenetycznej, jak też w diagnostyce chorób przebiegających z niedomogą układu sympatycznego.

W 1938 roku Therman, jako pierwszy, rozpoczął badania nad wpływem układu adrenergicznego na kształt odpowiedzi bioelektrycznej siatkówki. Po podaniu adrenaliny do grzbietowych worków limfatycznych żaby, w zapisie elektroretinograficznym (ERG) stwierdził redukcję fali b oraz wzrost amplitudy fali c i d<sup>11</sup>. W swojej następnej publikacji opisał odmienną reakcję pręcików i czopków na adrenalinę<sup>12</sup>. Zapoczątkowany przez Thermana kierunek badań był później kontynuowany przez kilku autorów. Stosując klasyczną metodykę badań, zaobserwowali oni różne zachowanie się fali a, b i c po adrenalinie (wzrost, redukcję, brak reakcji). Lek ten zwiększał amplitudę fali d, a nie wpływał na potencjały oscylacyjne (PO)<sup>4,13,14,15</sup>. Różnorodne wyniki otrzymano także w pracach dotyczących wpływu adrenaliny na wzrokowe potencjały wywołane (WPW). Zarejestrowano zarówno wzrost jak i spadek amplitudy załamek WPW<sup>4,16</sup>.

Ze względu na przedstawione rozbieżności wyników, przestarzała i mało dokładna metodyka wcześniejszych obserwacji oraz znaczenie układu współczulnego w procesie widzenia wykonano niniejsze doświadczenia. W pracy podjęto próbę odpowiedzi na pytanie, w jaki sposób układ adrenergiczny wpływa na czynność bioelektryczną siatkówki i kory wzrokowej.

Tabela I

Bodziec	Adaptacja skotopowa				Adaptacja fotopowa					
	Nieb.	Czerw.	Biały	Flicker	Biały	Flicker	a	b		
Fala	b	b	a	b	PO O <sub>1</sub> +O <sub>2</sub>	a	b	a	b	
Adrenalina	Średnia S.E.	48 9	57 6	13 1	234 11	4,8 1,0	1,0 0,4	69 4	21 2	10 1
Kontrola	Średnia S.E.	41 6	50 8	13 1	228 13	2,5 0,6	1,3 0,3	68 5	20 2	10 1

### WYNIKI

Z Kliniki Okulistycznej AM w Szczecinie, kierownik: prof. dr med. Olgierd Palacz

Reprint requests to: Dr med. Damian Czepita, ul. Przyjaciół Żołnierza 33 m. 19; 71-670 Szczecin, Poland

EXPERIMENTAL INVESTIGATIONS ON THE ROLE OF THE ADRENERGIC SYSTEM IN FORMATION OF THE BIOELECTRIC RESPONSE OF THE RETINA AND CEREBRAL CORTEX. III. THE INFLUENCE OF ADRENALIN ON THE ERG AND VEP IN RABBIT

The influence of adrenalin on the electroretinogram and visual evoked potentials in rabbit were checked. After application of adrenalin the ERG showed a flattening of the a-wave and an increase of the b-wave amplitude and of oscillating potentials. One observed also a reduction of the A and B peaks and an increase of the C-wave in visual evoked potentials. On the basis of the results obtained the author discusses the role of the adrenergic system in the formation of the bioelectric response of the retina and visual cortex.

HASEA: układ adrenergiczny, elektroretinogram, wzrokowe potencjały wywołane, królik

KEY WORDS: adrenergic system, electroretinogram, visual evoked potentials, rabbit

### MATERIAŁ I METODYKA

Badania wykonano na 10 królikach obu płci, rasy zajęczej, o wadze 3,0—3,5 kg. U każdego zwierzęcia rejestrowano odpowiedzi z obu siatkówek i obu pól wzrokowych, przed i po podaniu adrenaliny.

Przeprowadzono wstępne badania ERG i WPW, a następnie królikom wstrzykiwano podskórnie adrenalinę (Adrenalinum, Polfa, Warszawa) w dawce 0,15 mg/kg wagi ciała. Po upływie 30 minut od zastosowania leku ponownie wykonywano badania elektrofizjologiczne. W trakcie doświadczeń zwierzętom mierzono tętno oraz częstotliwość oddechów. Szczegółową metodykę badań ERG i WPW opisano w poprzedniej pracy<sup>4</sup>. Dane opracowano statystycznie testem różnic, przyjmując poziom istotności p<0,05.

Tab. I i II przedstawia amplitudy (µV) uzyskiwanych w adaptacji skotopowej (AS) i fotopowej (AF) fali ERG oraz WPW. Podano średnie arytmetyczne ± standardowy błąd średniej (S.E.).