

Institut "Jožef Stefan", Ljubljana, SLOVENIJA
1001 Ljubljana, Jamova 39 / P.O.B. 3000 /
Telefon: +386 1 477-3900
Telefaks: +386 1 477-3191, +386 1 251-9385

IJS – DP 10963

D. Pahor, S. Trpin, A. Beharić:

*Oddelek za očesne bolezni, Univerzitetni klinični center Maribor,
Ljubljanska 5, 2000 Maribor*

J. Turk, D. Ponikvar, J. Pirš:

Institut Jožef Stefan, Jamova 39, 1000 Ljubljana

Analiza signalov vidnega živca

Projekt L7-2392: ZAŠČITA OČI

Maribor, Ljubljana, 12. 3. 2012

1. UVOD - Elektrofiziologija

Delavci so pri varjenju izpostavljeni močnim svetlobnim bliskom, ki lahko povzročijo začasno neobčutljivost mrežnice za svetlobne dražljaje – zaslepitev.

Po izpostavitvi mrežnice svetlobi, pride v fotopigmentu, ki se nahaja v za svetlobo občutljivih celicah mrežnice - fotoreceptorjih, do konformacijske spremembe. To sproži zaporedje dogodkov, ki vodijo do hidrolize cGMP(ciklični gvanozin-monofosfat), zaradi česar se v zunanjem segmentu fotoreceptorja zmanjša prepustnost za natrijeve ione. Posledica teh dogodkov je hiperpolarizacija fotoreceptorjev in zmanjšanje izločanja nevrottransmitorja (glutamat) v sinaptično špranjo z bipolarno celico. Vzdraženje fotoreceptorjev tako povzroči depolarizacijo za svetlobo občutljivih bipolarnih celic (ON-tip) in hiperpolarizacijo in s tem inhibicijo drugega tipa bipolarnih celic (OFF-tip). Signal na mrežničnem nivoju modulirajo še horizontalne in amakrine celice, nato pa se prenese do ganglijskih celic, ki po vzdraženju sprožijo akcijske potenciale.

Regeneracija fotopigmenta po močni, dolgotrajni osvetlitvi traja 60 do 80 sekund. V tem času je mrežnica slabše občutljiva za ponovne svetlobne dražljaje, kar se kaže kot zaslepitev. S pomočjo objektivnih in neinvazivnih elektro-fizioloških metod smo preučevali vpliv intenzivne spreminjajoče se svetlobe, ki nastaja pri varjenju, na funkcijo mrežnice

V raziskavi smo najprej ugotavljali, katera elektro-fiziološka metoda je najprimernejša za kvantitativno meritev zaslepitve.

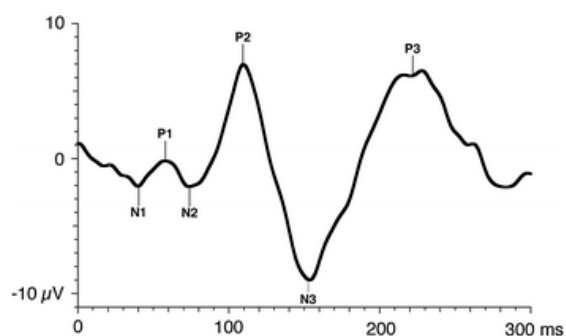
Zaslepitev smo merili z naslednjimi elektro-fiziološkimi metodami:

1. Bliskovni vidni evocirani potenciali (FVEP-flash VEP)
2. Slikovni vidni evocirani potenciali (PVEP-pattern VEP)
3. Slikovni elektro-retinogram (PERG-pattern ERG)

FVEP

Snemanje vidnih evociranih potencialov (VEP) je elektro-fiziološka metoda, s katero preučujemo delovanje vidne poti. VEP so odraz električne aktivnosti vidne skorje po draženju mrežnice z bliskovnim ali slikovnim dražljajem. FVEP potencial je sestavljen iz serije zaporednih negativnih in pozitivnih valov, od katerih je najbolj jasen in stalen P 2 val (slika 1). Njegovo amplitudo merimo od dna vala N 2 do vrha vala P 2.

Preiskovanec je med meritvami udobno sedel v zatemnjeni tihi izolirani sobi. Potenciale smo snemali s kožno elektrodo nameščeno v medialni ravnini nad predelom vidne možganske skorje, 5 cm nad inionom. Referenčna elektroda je bila nameščena na mestu Fz standardnega EEG sistema, ozemljitev pa na ušesni mečici. Dražili smo vsako oko posebej s standardnim dražljajem po ISCEV standardu (bliskovni stimulus 3 cd s m-2, frekvenca 1 Hz). Za snemanje in ojačevanje signalov smo uporabljali aparaturo Tomey EP-1000.



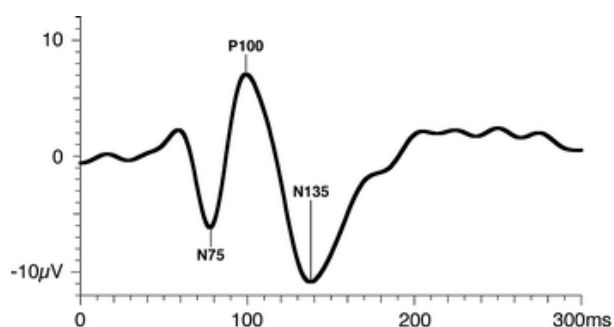
Slika 1.: FVEP

V eksperimentu smo posneli povprečje 8 zaporednih FVEP na preiskovanem očesu. Nato smo preiskovano oko zaslepili s 30 sekundnim osvetljevanjem mrežnice z oftalmoskopom. Takoj po koncu oslepitve smo ponovno posneli 8 zaporednih FVEP na preiskovanem očesu. Omenjen protokol smo ponovili 2x in izračunali povprečje amplitud vala P 2 pred in po zaslepitvi. V rezultatih ni bilo statistično pomembne razlike.

Sklepamo, da FVEP ni dovolj senzitivna elektro-fiziološka metoda za ugotavljanje zaslepitve človeške mrežnice.

PVEP

PVEP so odraz električne aktivnosti vidne skorje po draženju mrežnice s slikovnim dražljajem. Standardni PVEP potencial je sestavljen iz treh valov: N 70, P100 in N145 (slika 2). Najbolj zanesljivo merilo za vrednotenje sprememb potenciala predstavlja val P 100. Njegova amplituda je sicer pri normalni populaciji precej različna, je pa neposredno odvisna od ostrine vida in je tako primerna za ugotavljanje zaslepitve. Njegovo amplitudo merimo od dna vala N 75 do vrha vala P 100.



Slika 2.: PVEP

Preiskovanec je med meritvami udobno sedel v zatemnjeni tihi izolirani sobi. Potenciale smo snemali s kožno elektrodo nameščeno v medialni ravnini nad predelom vidne možganske skorje, 5 cm nad inionom. Referenčna elektroda je bila nameščena na mestu Fz standardnega EEG sistema, ozemljitev pa na ušesni mečici. Dražili smo vsako oko posebej. Za slikovni dražljaj smo uporabljali izmenjujoče bele in črne kvadrate razporejene v šahovnico. Standardna hitrost izmenjevanja belih in črnih kvadratov

je 2 obrate/sekundo (2 Hz). Standardna velikost dražilnega polja je 20 stopinj vidnega kota, standardna velikost kvadratkov je 1 stopinja vidnega kota.

Za snemanje in ojačevanje signalov smo uporabljali aparaturo Tomey EP-1000.

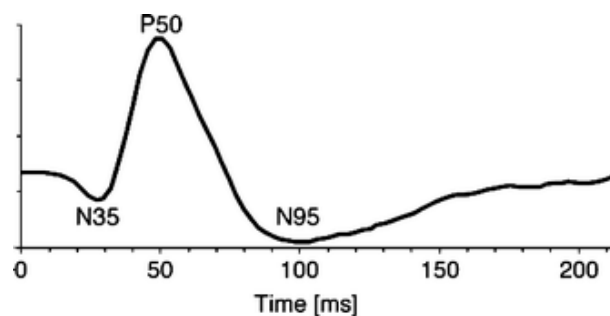
Opravili smo meritve PVEP pred in takoj po zaslepitvi s 30 sekundnim osvetljevanjem mrežnice z oftalmoskopom. Meritev predstavlja povprečje 10 zaporednih amplitud vala P100 (trajanje meritve 10 s). Povprečje amplitude vala P 100 v treh zaporednih meritvah pred zaslepitvijo znaša 11,2 μV , po zaslepitvi pa 7,3 μV .

Ugotavljamo, da je povprečje amplitud vala P100 po zaslepitvi s 30 sekundnim osvetljevanjem mrežnice z oftalmoskopom za 35% nižje kot pred zaslepitvijo. Po zaslepitvi s kratkimi bliski razlike v amplitudi vala P 100 pred in po zaslepitvijo niso bile statistično različne.

PERG

Elektro-retinografija je elektro-fiziološka metoda za vrednotenje delovanja celic mrežnice: fotoreceptorjev, bipolarnih celic, Mullerjevih celic, horizontalnih in amakrinih celic ter ganglijskih celic.

Slikovni elektro-retinogram je električni odziv mrežnice makule na časovno spreminjajočo se slikovno draženje. Normalen prehodni PERG potencial je sestavljen iz začetne manjše negativne komponente z latenco 35 ms (N 35), kateri sledi mnogo višja pozitivna komponenta latence 45-60 ms (P 50) (slika 3). Pozitivna komponenta nato ponovno prehaja v negativno komponento latence 90-100 ms (N 95). Amplitude valov se merijo od dna predhodne komponente do vrha merjene komponente.



Slika 3.: PERG

Kljub intenzivnim temeljnim in histološkim raziskavam izvora slikovnega ERG še ni uspelo v celoti pojasniti. Na podlagi kliničnih izkušenj, pri katerih so ugotovili, da sta pri različnih bolezenskih procesih komponenti P 50 in N 95 slikovnega ERG različno prizadeti, se je oblikovalo mnenje, da vsaj delno izvirata v različnih slojih mrežnice. Izvor vala N95 naj bi bile ganglijske celice, val P50 pa naj bi zrcalil aktivnost bolj distalnih plasti.

Preiskovanec je med meritvami udobno sedel v zatemnjeni tihi izolirani sobi. Potenciale smo snemali z očesa preiskovanca z DTL elektrodami, ki so bile nameščene v spodnji veznični vrečki očesa. Referenčne elektrode so bile nameščena 1 cm za zunanjim očesnim kotom, ozemljitev pa na ušesni mečici. Potenciale smo snemali iz obeh oči hkrati.

Za slikovni dražljaj smo uporabljali izmenjujoče bele in črne kvadrate razporejene v šahovnico. Standardna hitrost izmenjevanja belih in črnih kvadratov je 4 obrate/sekundo (2 Hz). Standardna

velikost dražilnega polja je 20 stopinj vidnega kota, standardna velikost kvadratkov je 1 stopinja vidnega kota. Za snemanje in ojačevanje signalov smo uporabljali aparaturo Tomey EP-1000.

V naslednjih eksperimentih smo preizkušali vpliv števila ponovitev, različne velikosti kock slikovnega dražljaja in različne hitrosti zamenjave belih in črnih kvadratkov v slikovnem dražljaju na amplitudo vala P 50:

1.PERG: povprečna amplituda vala P 50 (μV) v 80 ponovitvah (standardna velikost kocke, zamenjava 1,5 Hz)

meritev	Desno oko	Levo oko
1	5,0	5,4
2	6,6	6,5
3	5,5	5,6
4	6,4	6,2
5	5,3	5,4
povprečno	5,76	5,82

2.PERG: povprečna amplituda vala P 50 (μV) v 30 ponovitvah (standardna velikost kocke, zamenjava 1,5 Hz)

meritev	Desno oko	Levo oko
1	6,0	5,6
2	5,5	4,9
3	5,2	4,4
povprečno	5,56	4,96

3.PERG: povprečna amplituda vala P 50 (μV) v 20 ponovitvah (standardna velikost kocke, zamenjava 1,5 Hz)

meritev	Desno oko	Levo oko
1	6,2	6,5
2	5,2	7,4
3	6,7	5,6
povprečno	6,03	6,50

4.PERG: povprečna amplituda vala P 50 (μv) v 80 ponovitvah (2X standardna velikost kocke, zamenjava 1,5 Hz)

meritev	Desno oko	Levo oko
1	6,3	7,0
2	5,6	5,6
3	6,3	7,4
4	5,9	4,9
povprečno	6,07	6,22

5.PERG: povprečna amplituda vala P 50 (μv) v 80 ponovitvah (2X standardna velikost kocke, zamenjava 0,5 Hz)

meritev	Desno oko	Levo oko
1	5,0	4,9
2	7,5	5,6
3	5,7	4,7
povprečno	6,06	5,06

Glede na dosedanje eksperimente predvidevamo, da bo amplituda vala P 50 še bolj občutljiv kazalec zaslepitve kot je amplituda vala P 100 pri PVEP.

2. Preliminarne meritve

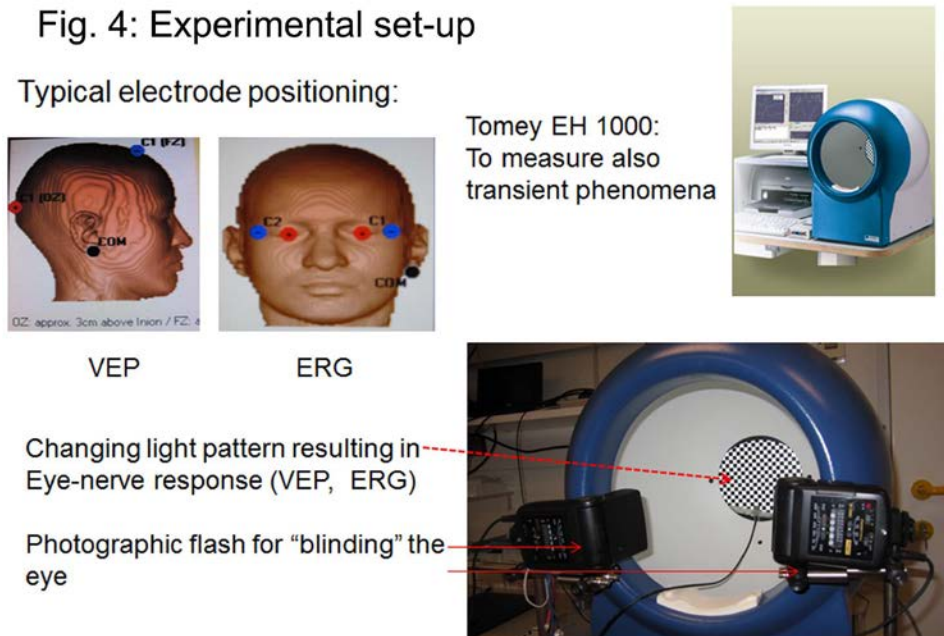
Merjenje dinamike evociranih potencialov, ki nastajajo na očesni mrežnici, je zahtevno, saj so ti električni signali zelo šibki. Zato so morali eksperimenti potekati v laboratorijih, kjer so vsakršne zunanje motnje izključene do največje možne mere. Zlasti so nezaželene električne in magnetne motnje s frekvenco električnega omrežja in njenih mnogokratnikov \leftrightarrow v frekvenčnem območju merjenih električnih potencialov vidnega živca!

K zmanjšanju zunanjih motenj veliko prispevata sinhronizacija eksperimenta z omrežno frekvenco ter zlasti digitalna adaptivna filtracija omrežnih motenj v kontrolnem računalniku.

Na ta način je izboljšano razmerje signal/šum tako, da eksperiment ni več omejen na statična merjenja (n.pr.: standardne klinične analize), ampak ga je mogoče razširiti tudi na merjenja dinamičnih, prehodnih pojavov (začasna zaslepljenost, ...). Dodatna (vzporedna) merilna veja, ki omogoča meritve prehodnih pojavov in ki je bila dograjena k osnovni klinični napravi Tomey EP 1000 iz UKC Maribor, je opisana v:

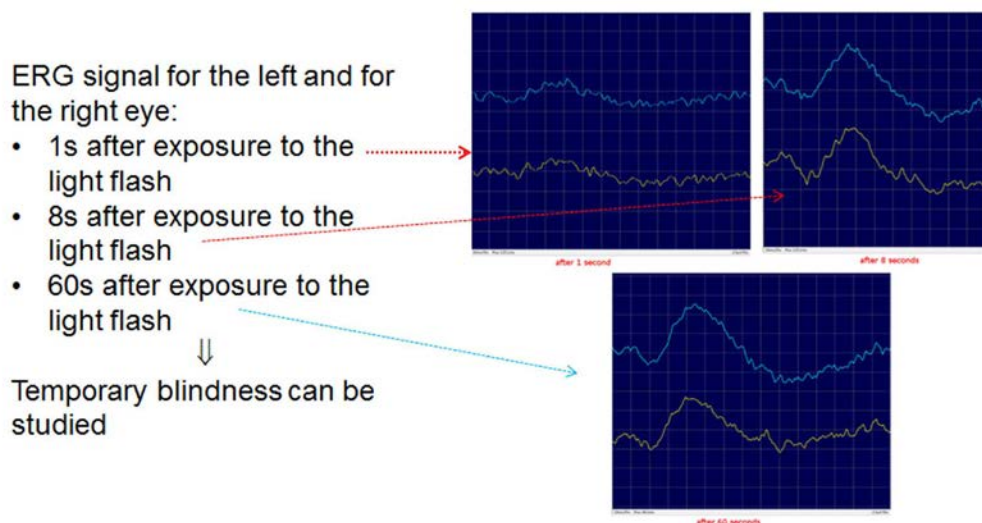
- Delovnem poročilu IJS: *Elektronski sistem za merjenje signalov vidnega živca* ([COBISS.SI-ID 25662503](#))
- Magistrskem delu: *Adaptivno filtriranje VEP in ERG signalov v okolju LabView* ([COBISS.SI-ID 9465172](#))

Z uporabo zgoraj omenjenega »ISO svetlobnega izvora« in nove, hitre elektronske veje za ojačenje in merjenje električnih signalov na izhodu »predojačevalnika Tomey EP 1000« je bila opravljena vrsta meritev evociranih signalov vidnega živca, kot posledica močnih svetlobnih impulzov (n.pr.: VEP, Pattern VEP, Pattern ERG). Klinična merilna naprava ter postavitve elektrod sta prikazana na sliki 4:



Raziskave (podrobneje opisane na strani 4) kažejo, da zajem »evociranega« potenciala neposredno na mrežnici očesa (Pattern ERG) omogoča zaznavanje pojavnega začasnega zaslepljenosti – glej Sliko 5

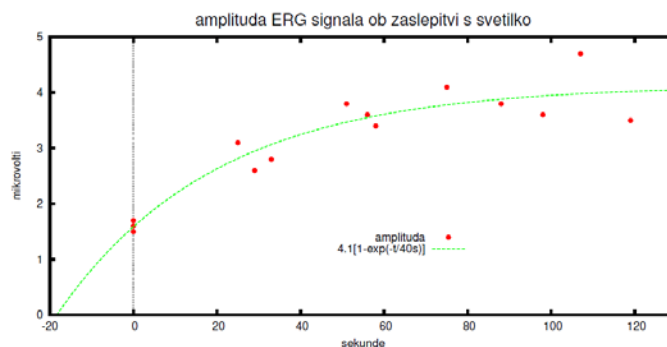
Fig. 5: Visually evoked potentials (PERG) at different times after the light pulse



Treba se je zavedati, da je signal, kot ga zajemajo merilne elektrode (glej Sliko 4) sestavljen iz več, v principu močno različnih prispevkov:

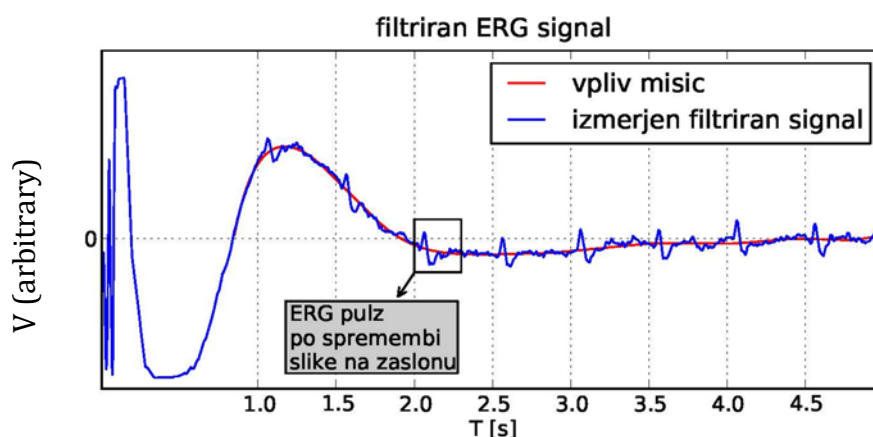
- ERG, odvisen od svetlobe, ki pada na mrežnico, kar pomeni, da ni odvisen samo od intenzitete svetlobe in občutljivosti mrežnice ampak tudi od velikosti zenice (glej str. 4)
- Električna polja mišic samega očesa (spreminjanje zenice, utrip veke).

Pri statičnih meritvah, kot se praviloma izvajajo pri klasičnih medicinskih analizah občutljivosti mrežnice in transporta signala po vidnem živcu je seveda mogoče zagotoviti, da se oko ne spreminja. Tako je električni signal, kot ga zajemajo elektrode zgolj pravi ERG signal, ki je sorazmeren trenutni občutljivosti očesne mrežnice (glej sliko 6):



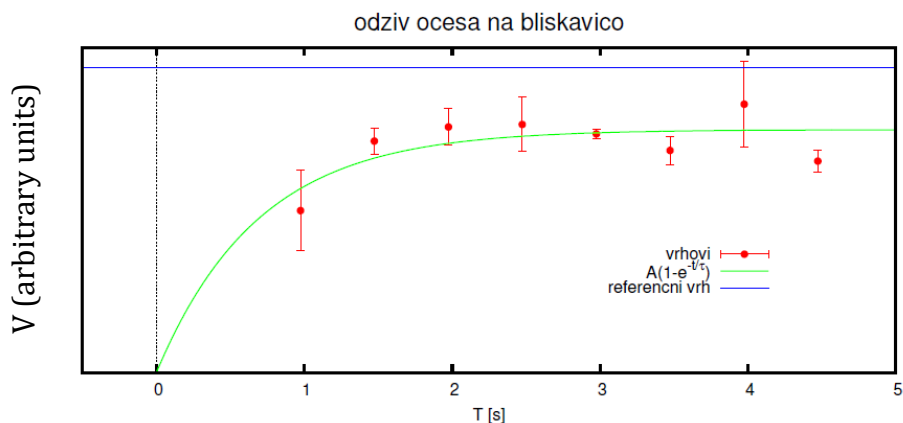
Slika 6: Meritev naraščanja občutljivosti mrežnice po 30s trajajočem osvetljevanju z ISO standardnim svetlobnim izvorom (oddaljenost 20cm – svetlobna intenziteta 3000 Lx), ki je začasno povzročilo popolno zaslepitev. Ob različnih časih po takem osvetljevanju je bil izmerjen »pattern-ERG« signal s klinično medicinsko napravo Tomey EP 1000. Začasna zaslepljenost izginja s časovno konstanto ~ 40s.

Interpretacija ERG signalov pri obremenitvi očesa z močnimi svetlobnimi impulzi je seveda mnogo bolj kompleksna! Zaradi močne svetlobne obremenitve se pojavijo v ERG signalu vsi zgoraj omenjeni efekti in ne zgolj samo »začasna zaslepljenost« (Slika 7). Spreminjanje merilnega vzorca (slika 4) se ponavlja s frekvenco 2 Hz in je sinhronizirano s svetlobnim impulzom tako, da je mogoče hkratno povprečevanje signala pri različnih zakasnitvah od svetlobnega impulza (pri času T=0).



Slika 7: Dinamične meritve dela »pattern ERG« signala, po močnem svetlobnem impulzu in, ki ustreza evociranemu potencialu na mrežnici (n.pr.: slika 5) ↔ posledica spreminjanje merilnega vzorca (n.pr.: šahovnica; slika 4).

Povprečne vrednosti 128 ponovitev dela »pattern ERG« signalov (posebej označenih na sliki 7), ki so posledica spreminjanja merilnega vzorca (Slika 4), je prikazana na Sliki 8:



Slika 8: Odvisnost relevantnega dela PERG signala (posledica spreminjanja merilnega vzorca) od zakasnitve po svetlobnem impulzu.

Časovna odvisnost relevantnega dela ERG signala, prikazana na Sliki 8, nakazuje, da takoj po svetlobnem blisku prihaja do začasne zaslepljenosti, ki izginja s časovno konstanto ~ 1 s.

Pri tem se je vsekakor treba zavedati, da na »relevantni del ERG signala, kot je prikazan na sliki 8, še vedno vplivata tako svetlobna občutljivost očesne mrežnice, kot tudi velikost očesne zenice, ki določa koliko svetlobe lahko pride do mrežnice.

Dejstvo je, da je dinamika ERG signalov, kot so prikazani na sliki 8, zelo podobna dinamiki očesne zenice in prilagajanju očesne leče na sliko, ki nastaja na očesni mrežnici zaradi spreminjanja merilnega vzorca. Edina možnost, da se te pojave medsebojno loči je, da se blokira vsakršno »mehansko« spreminjanje očesa med meritvijo ERG signala po svetlobnem impulzu. To je mogoče učinkovito storiti z uporabo sredstev za stabilizacijo zenice (kapljice za mrtvičenje očesa????), kot se uporabljajo pri kliničnih oftalmoloških preiskavah notranjosti očesa.

Preliminarne meritve PERG signalov na mrežnici pri testnih osebah, pri katerih je bilo oko blokirano s standardnimi sredstvi za stabilizacijo zenice, so pokazale, da v okviru merske napake PERG signali ne kažejo začasne zaslepljenosti zaradi svetlobnih impulzov, kot nastajajo pri varjenju. Doseženi rezultati z veliko verjetnostjo potrjujejo, da težave, ki jih varilci ob svetlobnih bliskih, kot nastajajo med varjenjem, vsekakor imajo, ne izvirajo od začasne zmanjšane občutljivosti očesne mrežnice.

Vzporedne raziskave pojava paslike (»after-image«) in kontrastne občutljivosti z veliko verjetnostjo potrjujejo, da je mogoče probleme pri delu varilcev (brez zaščitne čelade) pojasniti s tema dvema parametroma – Rezultati raziskav so podrobneje opisani v poročilu IJS-DP 11228 (COBISS.SI-ID [26518823](#)).

Priloge:

1. *Klinična evalvacija zaščite oči z aktivnimi LCD zaščitnimi varilskimi filtri*; (COBISS.SI-ID [26518823](#))
2. *Elektronski sistem za merjenje signalov vidnega živca* (COBISS.SI-ID [25662503](#))
3. *Adaptivno filtriranje VEP in ERG signalov v okolju LabView* (COBISS.SI-ID [9465172](#))
4. *Active LCD light filters-summary presentation*; EU project »Hierarchy«: Workshop, Aachen, D, March 20th 2012 (COBISS.SI-ID [26505511](#))