

CAPITOLO 18

Potenziali elettrooculografici, elettronistagmografici ed elettroretinografici

Contenuti:

18.1 L'occhio	2
18.2 La retina	3
18.3 Trasduzione fotoelettrica retinica	8
18.4 Elettrooculografia	11
18.4.1 Risposta saccadica	12
18.4.2 Risposta nistagmografica	13
18.5 Esami elettrofunzionali del sistema visivo	13
18.5.1 Elettroretinografia	13
18.5.2 Potenziali evocati visivi	14
18.6 Potenziali elettroretinografici.....	15
18.6.1 Genesi del potenziale ERG	15
18.6.2 Tecnica di esecuzione della registrazione ERG.....	17
18.6.3 Segnali ERG.....	20

18.1 L'occhio

La visione è un fenomeno molto complesso, che si sviluppa con una sequenza di eventi successivi ed è attuato dall'apparato visivo, di cui l'occhio è il *recettore* periferico. Quest'organo per la sua struttura anatomica ha la proprietà di concentrare sulla *retina* i segnali luminosi che provengono dall'ambiente esterno e di ritrasmetterli sotto forma di impulsi nervosi all'area della corteccia cerebrale deputata alla visione, nella quale nasce la sensazione visiva.



Fig. 20.1 Vista esterna dell'occhio umano.

Chiuso anteriormente dalla *palpebra*, l'occhio è dotato di un diaframma (*iride*, attraversato dalla *pupilla*), che si contrae e si dilata automaticamente a seconda dell'intensità luminosa, e di una lente elastica (*crystallino*), tenuta sospesa da muscoli che ne modificano la forma, e quindi la lunghezza focale, per la messa a fuoco di oggetti situati a differenti distanze. Una membrana di tessuto connettivale, la *sclera*, è disposta in modo da formare una parete che delimita una cavità, nella quale si trova una sostanza intercellulare amorfa detta *corpo vitreo* (o *umor vitreo*). La *retina* è costituita da uno strato di cellule nervose che rivestono il fondo e le pareti dell'occhio. In corrispondenza del cristallino, davanti ad esso ma separata da uno spazio (contenente l'*umor acqueo*), si trova la *cornea*, che svolge principalmente mansioni di tipo protettivo. Le differenti strutture oculari sono evidenziati in modo schematico nella Fig. 20.2.

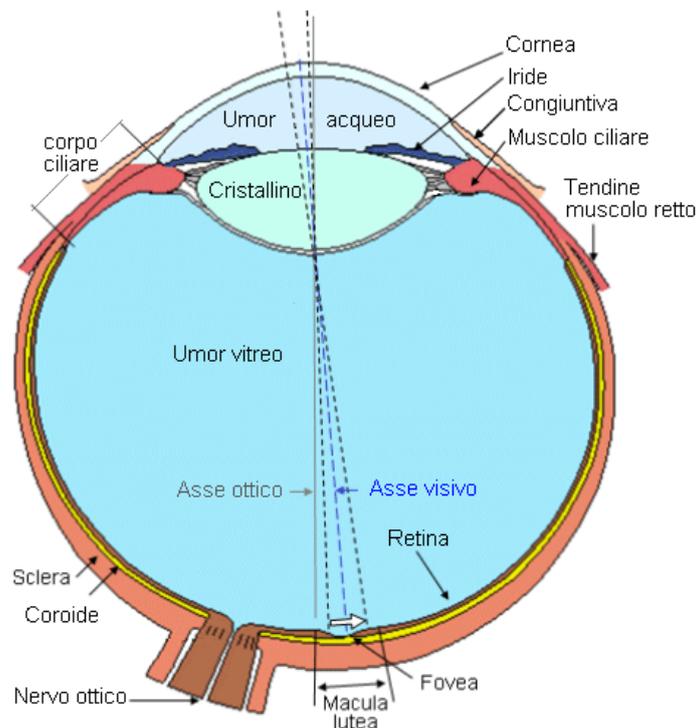


Fig. 20.2 Struttura dell'occhio umano.

L'*umor acqueo* è un liquido incolore, limpido e trasparente come l'acqua (da ciò il termine *acqueo*) prodotto dall'attività secretiva e filtrante dell'epitelio ciliare. Esso occupa la camera anteriore dell'occhio. Il *cristallino* è detto anche più comunemente *lente*, perché costituisce effettivamente una lente biconvessa di forma variabile, capace di modificare la propria curvatura (mediante l'azione dei muscoli ciliari) e quindi il suo potere rifrattivo, rendendo così possibile la cosiddetta *accomodazione*. Il *corpo vitreo* occupa da solo circa i tre quarti dell'intero volume del globo oculare; ha una consistenza assimilabile ad un gel relativamente viscoso.

Il *bulbo oculare* è in fin dei conti semplicemente una struttura progettata per ospitare e rendere disponibili alla retina immagini nitide del mondo esterno. La luce entra nell'occhio attraverso la cornea e l'iride e viene convogliata attraverso il cristallino sulla retina, ove si forma una piccola immagine capovolta del mondo esterno (Fig. 20.3).

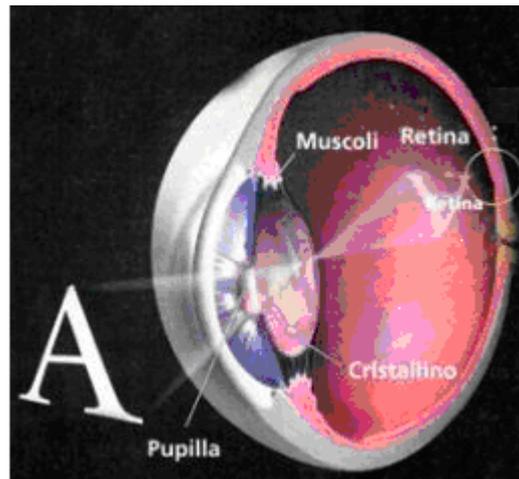


Figura 20.3 Effetto di capovolgimento delle immagini ad opera del cristallino (adattata da: <http://www.carla146.it/07documenti/colore/pagine/08pc01.htm>)

L'occhio è in grado di adattarsi a differenti livelli di illuminazione, poiché l'iride può cambiare dimensioni fornendo un foro di ingresso il cui diametro può variare da circa 2 ad 8 mm, al decrescere dell'intensità luminosa.

18.2 La retina

Si consideri un raggio di luce che colpisce l'occhio. Esso incontrerà successivamente: la cornea, l'umor acqueo, il cristallino, il corpo vitreo e terminerà quindi sulla retina (Fig. 20.4). La retina costituisce l'elemento di trasduzione fotoelettrica, ossia la struttura adibita alla trasformazione degli stimoli luminosi in segnali elettrici che si propagano lungo il nervo ottico fino alla corteccia visiva.

Il fascio di luce che giunge alla retina non colpisce subito le cellule nervose deputate alla trasduzione fotoelettrica, ma deve prima attraversare altre fibre e cellule nervose situate in strati interni della retina stessa. Per comprendere questo succedersi di passaggi è necessario chiarire alcuni aspetti strutturali della retina. La *retina* infatti è formata da un sottile strato di tessuto nervoso (avente spessore pari a circa mezzo millimetro) che ha una struttura assai complessa, costituita in realtà da più strati, in ciascuno dei quali vengono a distribuirsi differenti tipi di cellule nervose.

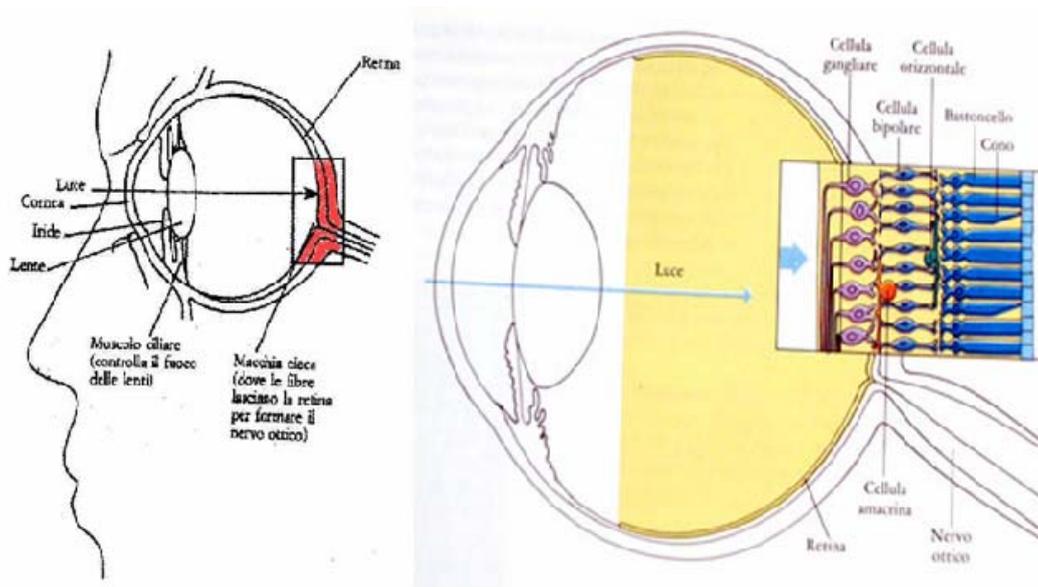


Fig. 20.4 Localizzazione e organizzazione della retina all'interno dell'occhio

Ad un primo esame, la retina appare come un disordinato insieme di neuroni, tanto da dare l'impressione di una rete (da ciò deriva il nome *retina*). Tuttavia, ad un'indagine più attenta essa rivela una precisa ed ordinata correlazione interneurale. I neuroni retinici sono analoghi ad una qualsiasi cellula neuronale, essendo costituiti da un corpo cellulare (soma), da un prolungamento dendritico (dendrite) ad azione "centripeta" (ossia che trasmette informazioni dall'esterno del neurone verso il proprio corpo cellulare) e da un prolungamento assonale (assone o neurite) ad azione "centrifuga" (ossia che trasmette dal corpo cellulare verso altri neuroni). La retina consta di sette strati (Fig. 20.5): i tre strati più scuri contengono i corpi cellulari, mentre i quattro strati più chiari contengono assoni e dendriti.

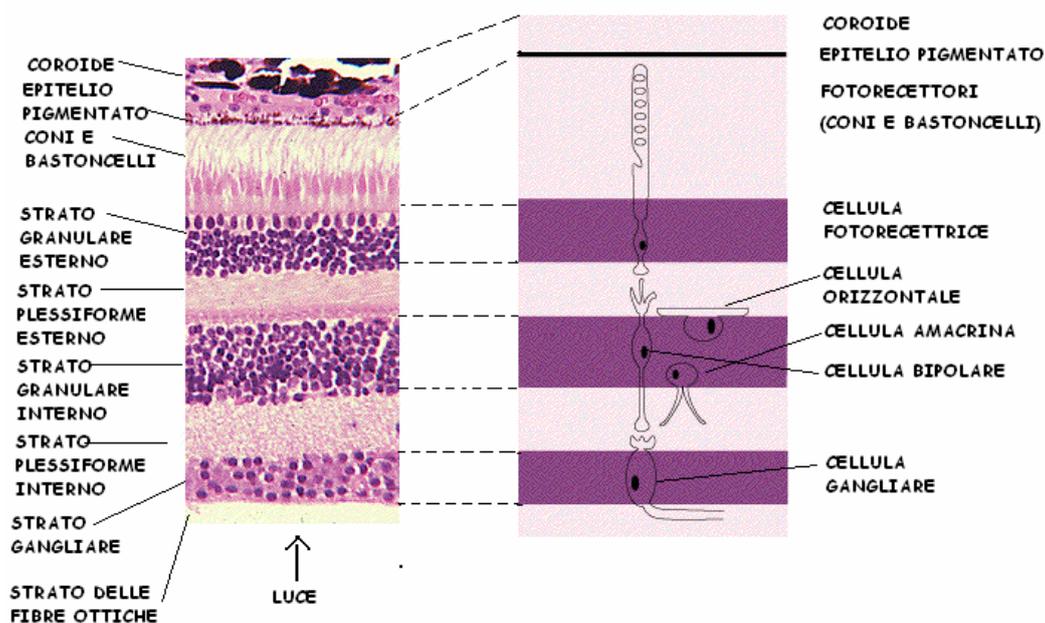


Fig. 20.5 Struttura multistrato della retina (adattata da: <http://thalamus.wustl.edu/course/eyeret.html>)

I dendriti qualificati a raccogliere l'input luminoso sono quelli appartenenti alle cosiddette *cellule di fotorecezione* (o *fotorecettori*). Tali cellule sensoriali sensibili alle radiazioni luminose sono localizzate nello strato più interno della retina. I raggi luminosi devono quindi passare attraverso tutta la retina prima di giungere ad eccitare i fotorecettori. Essi sono a contatto con lo strato dell'epitelio pigmentato, che fornisce loro un apporto metabolico continuo. Inoltre, l'epitelio pigmentato ha una funzione di protezione ottica della retina contro sovraesposizioni. Infatti, tale tessuto è di solito molto scuro perché le sue cellule contengono granuli di melanina; questo pigmento assorbe fotoni dispersi, prevenendo la loro riflessione indietro sui fotorecettori. Ciò permette di evitare immagini secondarie e di proteggere i fotorecettori da un'eccessiva esposizione alle radiazioni luminose. Gli assoni delle cellule di fotorecezione trasmettono l'input luminoso ai dendriti di una seconda classe di neuroni retinici, detti *cellule bipolari*; queste sono affiancate da due tipologie di interneuroni, chiamati *cellule orizzontali* e *cellule amacrine*. I neuroni bipolari, in seconda battuta, trasferiscono l'informazione attraverso i propri neuriti ai dendriti di una terza classe di neuroni retinici, detti *cellule gangliari*, i cui assoni non sono altro che il tratto iniziale delle fibre (in numero maggiore ad 1 milione) del *nervo ottico* (Fig. 20.6).

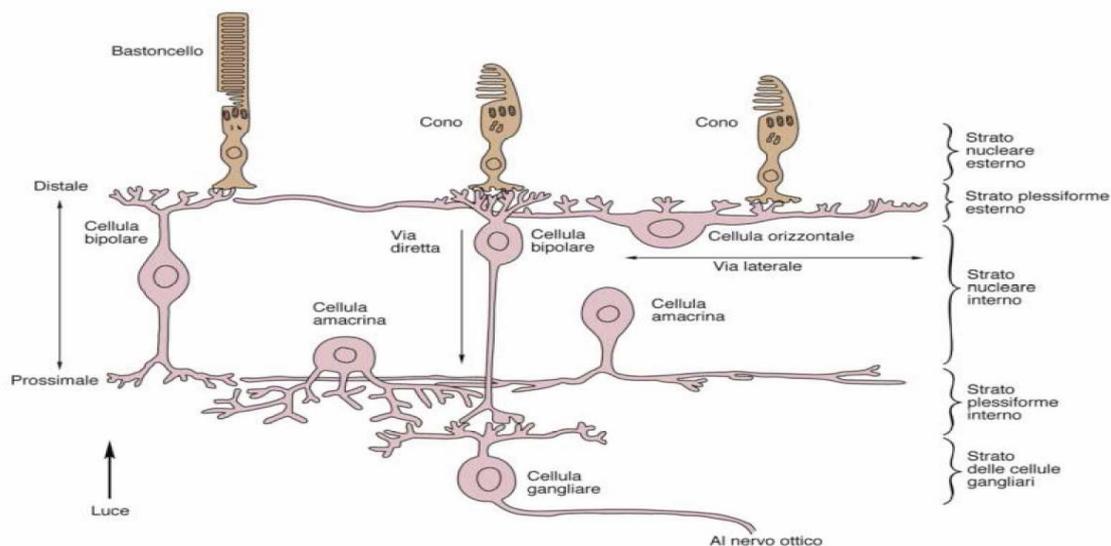


Fig. 20.6 Disposizione degli strati della retina

Queste classi di neuroni costituiscono quindi una via verticale diretta verso il nervo ottico. Gli strati che separano le differenti componenti cellulari sono anatomicamente ben distinti. La regione che contiene le sinapsi tra le cellule di fotorecezione e i dendriti delle cellule bipolari ed orizzontali è nota come *strato plessiforme esterno*. La regione in cui bipolari e cellule amacrine si connettono alle gangliari è invece chiamata *strato plessiforme interno*. Infine, le regioni che contengono i corpi cellulari prendono il nome di *strato granulare interno*, *esterno* e *gangliare* (Fig. 20.5). Il neurotrasmettitore (mediatore chimico) impiegato nelle vie verticali della retina, dalle cellule di fotorecezione alle bipolari e alle gangliari, è il *glutammato*.

Le prime strutture destinatarie dello stimolo luminoso, ossia i *dendriti* dei primi neuroni di fotorecezione, costituiscono i veri e propri *fotorecettori* deputati alla trasduzione fotoelettrica. Tuttavia, si precisa che spesso vengono indicati come fotorecettori non i dendriti delle cellule di fotorecezione, bensì tali cellule nella loro interezza (come sin qui inteso). In base alle loro caratteristiche morfologiche e funzionali, i fotorecettori si dividono in due grandi gruppi: i *coni* e i *bastoncelli* (Fig. 20.7).

I *bastoncelli*, così detti per la loro forma allungata, sono molto numerosi (circa 130 milioni nella retina umana). Essi risultano molto sensibili alla luce, tanto da rispondere ad intensità luminose estremamente basse (dell'ordine di 2-3 fotoni). Tuttavia i bastoncelli presentano alcuni difetti, tra cui:

- 1) in presenza di intensità luminose medio-alte presentano tendenza alla saturazione, che ne impedisce la funzione di trasduzione fotoelettrica.
- 2) non risultano sensibili ai colori, ossia a differenti lunghezze d'onda.

I bastoncelli sono pertanto sensibili solo a livelli molto bassi di luce e sono responsabili della visione crepuscolare e notturna o in ambienti poco illuminati (*visione scotopica*). Questo tipo di visione sostanzialmente manca di colori (monocromatica) ed è caratterizzata dal bianco, dal nero e da sfumature di grigio. La popolazione dei bastoncelli occupa tutta la retina, fatta eccezione per una piccola regione centrale di 2 millimetri di diametro (che ospita esclusivamente i coni) detta *fovea* (Fig. 20.2); la quota percentuale dei bastoncelli aumenta quanto più ci si allontana da quest'area, tanto da risultare massima all'estrema periferia della retina.

I *coni*, così chiamati per la loro forma appuntita, rispetto ai bastoncelli sono molto meno numerosi (circa 7 milioni) e molto meno sensibili. Essi operano soltanto in presenza di luce (*visione fotopica*) e permettono la percezione dei colori. La popolazione dei coni è massimamente concentrata nell'area centrale della retina (fovea), mentre è praticamente assente nelle regioni periferiche. La quota percentuale della loro ricopertura della retina diminuisce infatti quanto più ci si allontana dall'area centrale. L'effettiva distribuzione dei coni è stata descritta recentemente [Roorda A., Williams D.R. (1999). The arrangement of the three cone classes in the living human eye. *Nature*, 397, 520-522.]. I *coni* sono distinti in tre classi, ognuna contenente un differente *pigmento fotosensibile*, chiamato *iodopsina*. I tre pigmenti presentano un massimo di assorbimento di radiazione luminosa a lunghezze d'onda pari a 564, 534 e 420 nm, come rappresentato in Fig. 20.8 [Wyszecki G., Stiles W.S. (1982). *Color Science: Concepts and Methods, Quantitative Data and Formulae*, 2nd ed., New York: Wiley Series in Pure and Applied Optics.]. Le tre tipologie di coni vengono rispettivamente chiamate *rosso*, *verde* e *blu*, prendendo tale nome non dal colore del rispettivo pigmento, ma dal tipo di colore al quale quest'ultimo risulta massimamente sensibile. Tale terminologia è tuttavia impropria, in quanto le lunghezze d'onda sopra citate corrispondono in realtà rispettivamente al *giallo-verde*, al *blu-verde* e al *violetto*. I recettori sono indicati rispettivamente anche come recettori ρ , γ e β , o anche come recettori L (long), M (medium) e S (short) in relazione alla lunghezza d'onda (Fig. 20.8).

Secondo la teoria della visione dei colori, la luce di ogni lunghezza d'onda può essere percepita mediante una combinazione delle tre lunghezze d'onda fondamentali: rosso, verde, blu. Coerentemente con tale principio, i coni permettono quindi una visione a colori.

I *bastoncelli*, indicati con R (Rods), possiedono un solo tipo di pigmento chiamato *rodopsina*, il cui spettro di assorbimento della luce ha un massimo a circa 498 nm (Fig. 20.8).

Data la collocazione e la distribuzione dei bastoncelli al di fuori della fovea, la visione di un oggetto al buio è più facile se non lo si fissa direttamente. I coni invece, sono in grado di fornire immagini colorate di alta qualità, ma rispondono soltanto in condizioni di illuminazione opportuna. È questa ad esempio la ragione della difficoltà nella visione crepuscolare, essendo in tali condizioni l'intensità luminosa ancora troppo alta per i bastoncelli ed ancora insufficiente per i coni.

Le *cellule bipolari* sono meno numerose dei fotorecettori; il rapporto numerico con i coni va da 1/1 a livello della fovea, fino a 1/7 a livello della periferia retinica, mentre il rapporto numerico con i bastoncelli è di 1/50. Questa organizzazione permette ai bastoncelli di far sentire a valle il loro debole segnale, mediante una *sommazione* di stimoli convogliati verso singole cellule bipolari. La sproporzione numerica tra i fotorecettori e le bipolari si ripresenta anche fra queste ultime e le cellule gangliari; infatti un numero variabile di cellule bipolari si collega con una sola cellula gangliare, fatta eccezione per la fovea dove il rapporto è di 1/1. Pertanto, solo nella fovea ad ogni cono corrisponde una cellula bipolare ed una cellula gangliare. Questo rapporto privilegiato 1/1 lungo tutta la catena neuronale diretta è alla base della visione distinta nella regione centrale della retina.

Le *cellule gangliari* danno infine origine a due tipi diversi di fibre nervose per i segnali che provengono dai bastoncelli o dai coni. Lo scena osservata non può essere percepita nella sua interezza in tutti i suoi dettagli contemporaneamente, bensì soltanto un oggetto alla volta risulta nitidamente riconoscibile; ciò avviene perché la regione foveale è molto piccola e, di conseguenza, solo una piccola porzione della scena, che di volta in volta circonda l'osservatore, è apprezzabile in modo soddisfacente (immagine ottica foveale), mentre tutto il resto è indistinto e confuso (immagini ottiche extrafoveali e periferiche). La percezione del mondo è quindi soddisfacente solo per gli oggetti di volta in volta fissati, la cui immagine si forma sulla fovea; in tal senso, la visione è una successione d'immagini, di piccoli frammenti visivi, che tuttavia costituiscono i tasselli di un mosaico che viene assemblato dal cervello. Senza la messa a punto cerebrale, la visione avrebbe un carattere episodico, discontinuo, saltellante, casuale; il cervello svolge un'operazione di memoria, mettendo insieme le singole immagini foveali e conferendo loro un'integrità.

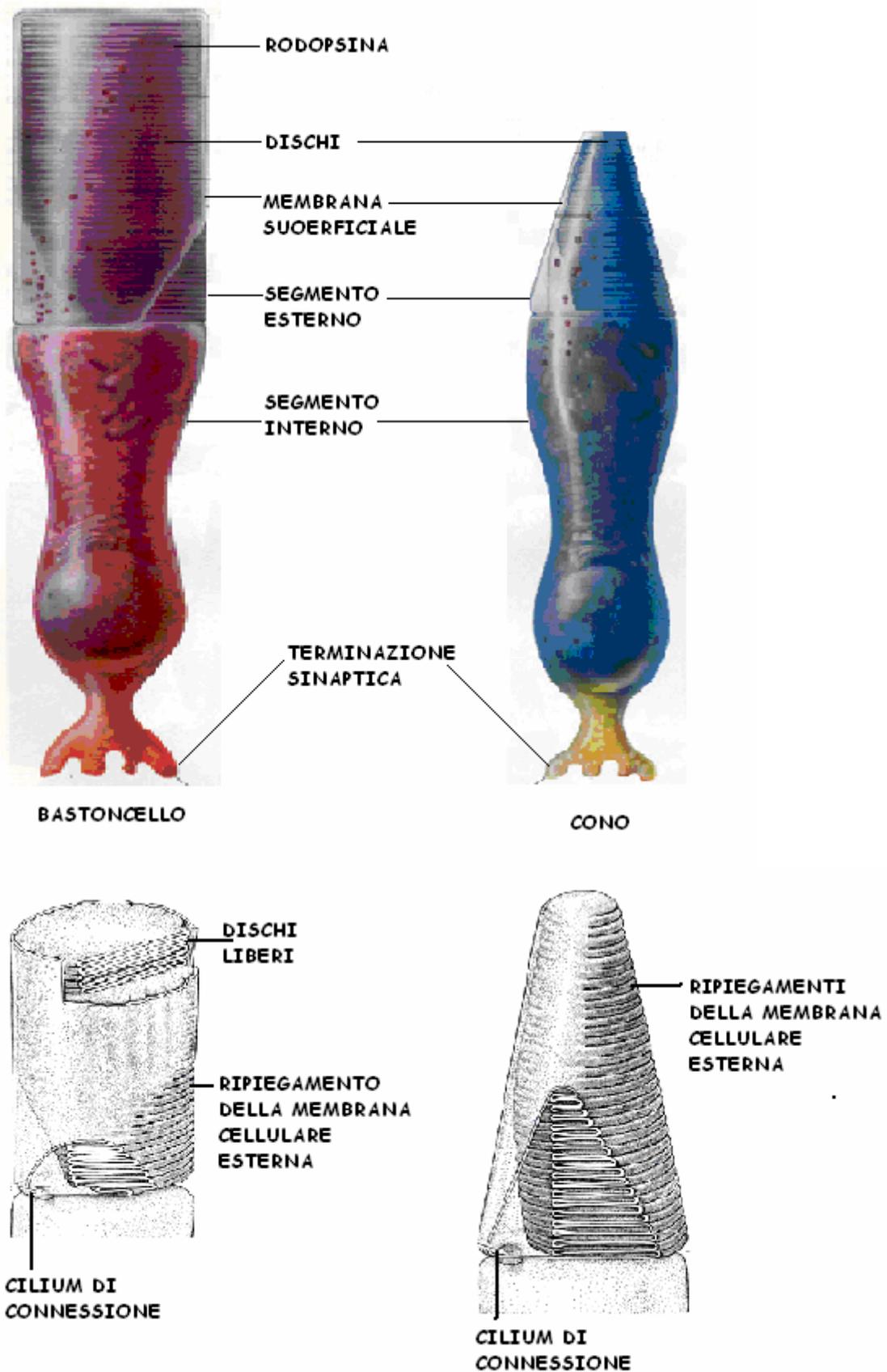


Fig. 20.7 Schema della struttura di bastoncelli e coni (adattata da: www.ofthalmologiuniversitari.it/anatomia.html)

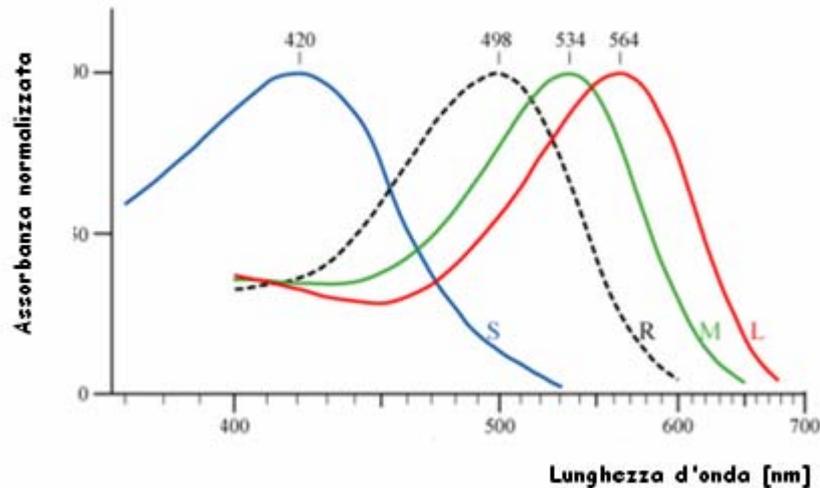


Fig. 20.8 Spettri di assorbimento dei coni (S, M e L) e dei bastoncelli (R) umani.

18.3 Trasduzione fotoelettrica retinica

In condizioni di buio, i segmenti esterni dei fotorecettori presentano canali di membrana Na^+ e K^+ in stato di apertura (ossia alta conduttanza). L'ingresso all'interno della cellula di ioni Na^+ , che seguono il proprio gradiente elettrochimico, genera attraverso la membrana cellulare dei fotorecettori una corrente, detta *dark current*, diretta dal segmento esterno verso quello interno. Parallelamente, si ha un flusso di ioni K^+ dall'interno verso l'esterno delle cellule, anch'essi spinti dal proprio gradiente elettrochimico. I gradienti transmembrana degli ioni Na^+ e K^+ sono mantenuti dall'attività della pompa Na^+/K^+ .

Il processo di trasduzione fotoelettrica, ossia la conversione di uno stimolo luminoso in un segnale elettrico in grado di propagarsi fino alla corteccia visiva, inizia a livello dei recettori e procede lungo le successive connessioni neurali retiniche nel modo di seguito descritto.

In corrispondenza di una stimolazione luminosa, l'assorbimento dei fotoni a livello del segmento esterno dei fotorecettori determina la fotoattivazione delle molecole dei pigmenti fotosensibili in essi contenuti. L'attivazione di un pigmento fotosensibile determina una cascata di trasformazioni biochimiche (non riportate in questa sede), che hanno un esito determinante: la chiusura (più precisamente, una riduzione della conduttanza) dei canali Na^+ a livello delle membrane cellulari dei segmenti esterni dei fotorecettori. Tuttavia, tali processi non influiscono né sulla chiusura dei canali K^+ , né sull'attività della pompa sodio/potassio che continua a svolgere la medesima funzione e nel medesimo modo (capitolo 3). Tali fattori concorrono pertanto a determinare una iperpolarizzazione dei fotorecettori. In particolare, sia i coni che i bastoncelli rispondono con una variazione di potenziale correlata all'intensità luminosa, anche se i bastoncelli hanno una risposta più lenta.

Al crescere dell'intensità della stimolazione luminosa, la progressiva chiusura dei canali Na^+ , concomitante all'inalterata funzionalità della pompa sodio/potassio, determina una progressiva diminuzione del flusso in ingresso di Na^+ , ossia della *dark current* (per una stimolazione luminosa sufficientemente intensa tutta la *dark current* può essere soppressa). Conseguentemente, al crescere dell'intensità luminosa aumenta l'iperpolarizzazione. Ciò permette una codifica dell'intensità della stimolazione luminosa in termini di ampiezza dell'iperpolarizzazione indotta. Le relative variazioni del potenziale di membrana dei fotorecettori si manifestano come una risposta graduale, con caratteristiche tipiche di un *potenziale elettrotonico*. In altre parole, i fotorecettori rispondono alla stimolazione luminosa non con la generazione

di un potenziale di azione, bensì con una graduata modulazione d'ampiezza di un potenziale elettrotonico; ciò permette una maggiore sensibilità alle variazioni luminose.

Cessata la stimolazione luminosa, i canali Na^+ si riaprono (aumento della conduttanza), andando a ristabilisce l'usuale valore del potenziale di membrana cellulare del fotorecettore. I coni, tuttavia, tornano ai valori di riposo 10 volte più rapidamente dei bastoncelli.

Per indagare gli effetti del potenziale elettrotonico, indotto dalla stimolazione luminosa, sulla successione di neuroni retinici che seguono in cascata i fotorecettori, è opportuno precisare alcuni aspetti relativi all'organizzazione e al funzionamento di questi neuroni. Le cellule fotorecetrici possono essere connesse (mediante sinapsi che impiegano glutammato) sia a cellule bipolari, sia a cellule orizzontali (Fig. 20.9). Il neurotrasmettitore glutammato viene continuamente liberato, a livello delle sinapsi, sia in condizioni di buio che di luce. In generale, il neurotrasmettitore viene rilasciato nella regione postsinaptica in quantità minore o maggiore a seconda che la cellula presinaptica (fotorecetrica, orizzontale o bipolare) sia, rispettivamente, inibita (ossia iperpolarizzata) o eccitata (ossia depolarizzata). Le cellule fotorecetrici, orizzontali e bipolari rispondono alle rispettive stimolazioni inibitorie o eccitatorie (variazioni di luce per le fotorecetrici e variazioni di glutammato presinaptiche per le orizzontali e bipolari) con potenziali di membrana sempre di tipo elettrotonico; ossia, anche in caso di depolarizzazione, tali cellule non arrivano mai a generare potenziali d'azione. Tali potenziali elettrotonici determinano, a loro volta, variazioni di glutammato postsinaptiche.

Le cellule fotorecetrici risultano eccitate (depolarizzate, anche se elettrotonicamente) o inibite (iperpolarizzate) rispettivamente da condizioni di buio o di luce.

Le cellule orizzontali possiedono recettori per il glutammato inibitorii; ciò significa che esse risultano inibite (iperpolarizzate) o eccitate (depolarizzate, anche se elettrotonicamente) da concentrazioni di glutammato rispettivamente alte o basse.

Le cellule bipolari possono essere invece di due tipologie distinte: 1) bipolari con recettori glutammato inibitorii (come le cellule orizzontali); 2) bipolari con recettori glutammato eccitatorii, ossia bipolari che risultano eccitate (depolarizzate, anche se elettrotonicamente) o inibite (iperpolarizzate) da concentrazioni di glutammato rispettivamente alte o basse. I due differenti tipi di bipolari prendono il nome di *cellule a centro ON* e *cellule a centro OFF*, rispettivamente, per i motivi che saranno chiariti tra breve.

Le cellule gangliari hanno un diverso comportamento elettrico. Esse presentano un'attività elettrica continua, che consiste nella generazione di treni di impulsi costituiti da potenziali d'azione, trasmessi dal nervo ottico alla corteccia visiva. La frequenza di scarica (*firing rate*) di tali impulsi viene modulata dall'ampiezza graduale dei potenziali elettrotonici presinaptici generati dalle cellule bipolari. Si ha così una conversione della codifica di trasmissione del segnale, passando da una modulazione di ampiezza (di potenziali elettrotonici) ad una modulazione di frequenza (di potenziali d'azione). In particolare, un'eccitazione o un'inibizione di una cellula bipolare determina un'eccitazione o un'inibizione della cellula gangliare ad essa connessa, la quale incrementa o diminuisce, rispettivamente, la propria frequenza di scarica.

Fatte tali premesse, veniamo dunque ad analizzare il processo di fototrasduzione nella sua interezza. La stimolazione luminosa determina, come sopra descritto, un'iperpolarizzazione dei fotorecettori, ossia ha su di essi un effetto inibente. Ciò causa una diminuzione della quantità di glutammato rilasciata verso le cellule sia bipolari che orizzontali. La risposta delle cellule orizzontali sarà univoca, mentre la risposta delle bipolari sarà di tipo differente, a seconda che si tratti di cellule a centro OFF o cellule a centro ON. La Fig.20.9 esemplifica in modo schematico la situazione, mostrando, per ciascuna delle due popolazioni di cellule, gli effetti di tre differenti condizioni di stimolazione luminosa dei recettori.

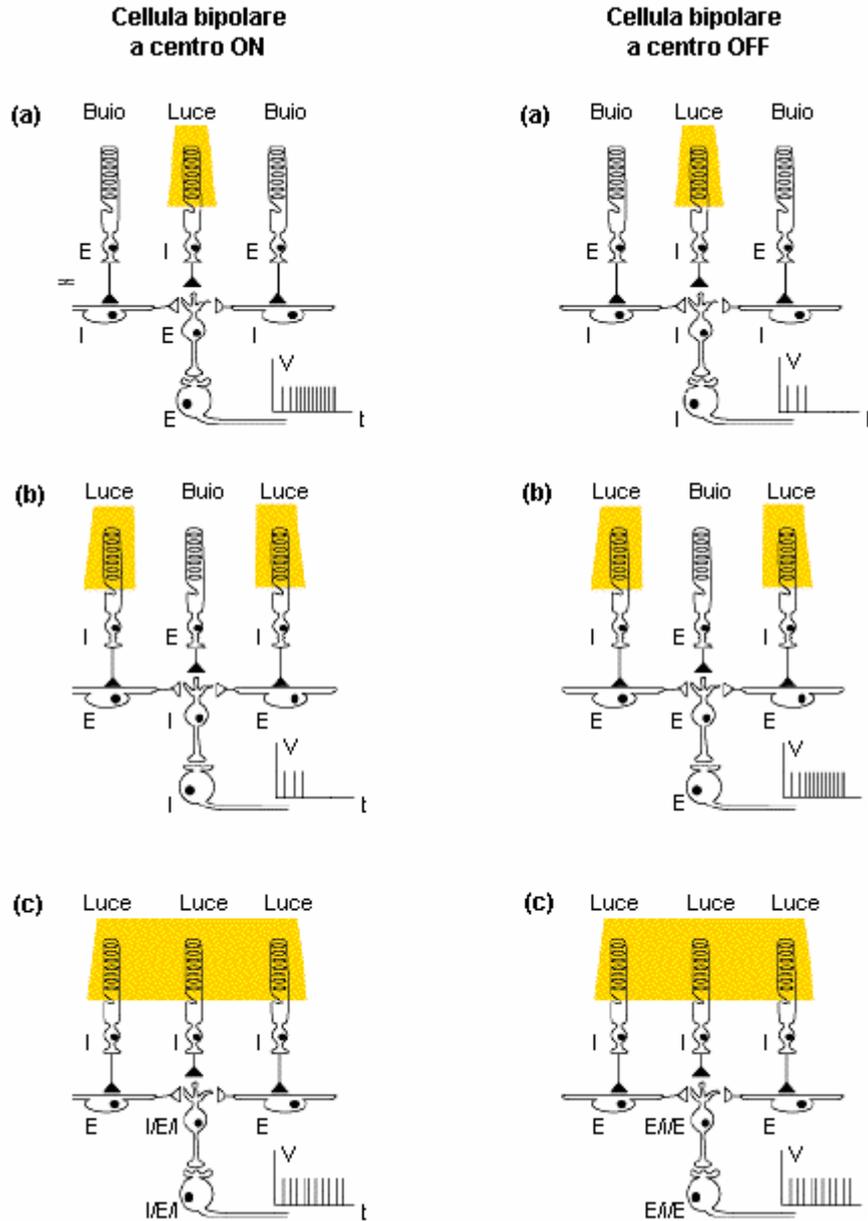


Fig. 20.9 Rappresentazione schematica di tre fotorecettori connessi a due cellule orizzontali laterali e ad una cellula bipolare centrale, a sua volta legata ad una cellula gangliare. Le lettere E (eccitazione) e I (inibizione) evidenziano gli effetti di tre differenti condizioni (a, b, c) di stimolazione luminosa dei recettori, nel caso di cellule bipolari a centro OFF e a centro ON (adattata da: <http://thalamus.wustl.edu/course/eyeret.html>).

I tre casi (a, b, c) rappresentati in Fig. 20.9 possono essere descritti nel modo di seguito riportato.

Nel caso a (stimolazione del solo recettore centrale), i due recettori laterali eccitati inibiscono le due cellule orizzontali, le quali tendono ad eccitare o ad inibire la bipolare centrale, a seconda che essa sia, rispettivamente, di tipo ON o OFF; contemporaneamente, la bipolare stessa tende ad essere eccitata (se ON) o inibita (se OFF) dalla inibizione del recettore centrale. Ne risulta che la cellula bipolare è complessivamente eccitata (se ON) o inibita (se OFF). Conseguentemente, anche la gangliare ad essa connessa risulta eccitata o inibita, andando quindi ad aumentare o a diminuire la propria frequenza di scarica (Fig. 20.9a).

Nel caso b (stimolazione dei soli due recettore laterali), i due recettori laterali inibiti eccitano le due cellule orizzontali, le quali tendono ad inibire o ad eccitare la bipolare centrale, a seconda che essa sia, rispettivamente, di tipo ON o OFF; contemporaneamente, la bipolare stessa tende ad essere inibita (se ON) o eccitata (se OFF) dalla eccitazione del recettore centrale. Ne risulta che la cellula bipolare è

complessivamente inibita (se ON) o eccitata (se OFF). Conseguentemente, anche la gangliare ad essa connessa risulta inibita o eccitata, andando quindi a diminuire o ad aumentare la propria frequenza di scarica (Fig. 20.9b).

Nel caso c (stimolazione di tutti i recettori), i due recettori laterali inibiti eccitano le due cellule orizzontali, le quali tendono ad inibire o ad eccitare la bipolare centrale, a seconda che essa sia, rispettivamente, di tipo ON o OFF; contemporaneamente, la bipolare stessa tende ad essere eccitata (se ON) o inibita (se OFF) dalla inibizione del recettore centrale. Ne risulta che la cellula bipolare presenta uno stato complessivo intermedio tra inibizione pura ed eccitazione pura, indicato schematicamente in figura con I/E/I (per bipolare ON) o E/I/E (per bipolare OFF). Conseguentemente, anche la gangliare ad essa connessa risulta nello in uno stato intermedio di tipo I/E/I o E/I/E, settando quindi un valore intermedio per la propria frequenza di scarica (Fig. 20.9c).

In ciascuno dei tre casi esaminati, si osserva dunque che, a parità di condizioni di stimolazione, le due differenti tipologie di popolazioni cellulari presentano un comportamento duale, sebbene i fotorecettori mostrino lo stesso tipo di risposta alla luce. Tale differenza risulta di fondamentale importanza per la discriminazione di alcune caratteristiche salienti delle immagini osservati, quali forme, contrasti, bordi, ecc. Per comprendere tale aspetto, è sufficiente estendere al caso bidimensionale la rappresentazione schematica di Fig. 20.9, osservando che il cosiddetto *campo recettivo* delle cellule gangliari (ossi la porzione di area visiva sottesa dalla cellule) può essere immaginato come un *anello*: infatti, nel caso di cellule bipolari a centro ON, le gangliari vengono massimamente eccitate quando è illuminata l'area del cerchio contenuto all'interno di un anello (Fig. 20.9a); dualmente, nel caso di cellule bipolari a centro OFF, le gangliari vengono massimamente eccitate quando è illuminata l'anello circostante (Fig. 20.9b). Tali stimolazioni caratterizzate da un netta separazione tra zone illuminate e non determinano la massima risposta eccitatoria o inibitoria delle cellule gangliari, le quali generano treni di impulsi con frequenza di scarica massima o minima, riuscendo pertanto a fornire una discriminazione netta dell'informazione visiva. Differentemente, una luce diffusa determina scarse risoluzioni.

Per tale motivo, molto spesso le cellule gangliari che risultano eccitate da una illuminazione del centro del proprio campo recettivo e inibite da una illuminazione della periferia di esso, sono definite *a centro ON*, esattamente come le relative cellule bipolari. Viceversa, le gangliari, che rispondono in modo duale, sono definite *a centro OFF* per lo stesso motivo. In realtà, quindi, più in generale risulta evidente che tali denominazioni sono probabilmente più appropriate per l'intero sistema, costituito dalla connessione delle diverse tipologie cellulari. Le cellule ON e OFF attivano rispettivamente la cosiddetta *via ON* (immagini luminose su sfondo scuro) e *via OFF* (immagini scure su sfondo luminoso) del processo visivo.

Un funzionamento di questo tipo rappresenta quindi il primo passo del processo visivo necessario per la definizione dei contorni e dei contrasti tra luce e buio. A livello della corteccia visiva, l'informazione portata dai segnali delle cellule gangliari viene ulteriormente elaborata: insiemi di punti luminosi su sfondi scuri (o viceversa) vengono aggregati in linee, le quali vengono combinate in curve, il cui accostamento fornisce superfici, fino alla formazione dell'immagine vera e propria.

In estrema sintesi, il processo di trasduzione fotoelettrica retinica comprende quindi l'insorgenza e la trasmissione di potenziali elettrotonici, a livello dei primi recettori, e di potenziali d'azione, a livello delle cellule gangliari terminali. L'attività fotoelettrica combinata di tutti i fotorecettori determina nel conduttore volumetrico costituito da tutti i tessuti oculari e periorbitali l'insorgenza di un segnale elettrico rilevabile anche superficialmente, rappresentato dal cosiddetto potenziale elettroretinografico, descritto nel seguito.

18.4 Elettrooculografia

L'occhio è sede di un potenziale elettrico, pressochè indipendente da stimolazioni luminose (può essere rilevato con l'occhio in totale oscurità o chiuso). Esso può essere descritto con un dipolo fisso avente polo positivo sulla cornea e polo negativo sulla retina. Per tale motivo, la relativa differenza di potenziale è definita come *corneo-retinica*. Essa è dell'ordine di 1 mV. L'origine di tale differenza di potenziale è attribuita a processi metabolici che avvengono nella retina. Questa differenza di potenziale e la rotazione dell'occhio permettono la misura, mediante una coppia di elettrodi periorbitali superficiali, di un segnale noto come *potenziale elettrooculografico* (EOG).

I movimenti dell'occhio producono infatti una rotazione del dipolo che dà origine a differenze di potenziale oscillanti, rilevabili superficialmente. Questi segnali sono utilizzabili come misura del movimento oculare. A tale scopo, per effettuare una registrazione elettrooculografica da entrambi gli occhi si utilizzano 5 elettrodi cutanei (ad esempio di tipo a coppetta): due coppie di elettrodi vengono posizionate a livello del canto temporale e nasale di entrambi gli occhi, mentre l'elettrodo di terra è fissato al centro della fronte. Il soggetto è seduto, col mento appoggiato ad una mentoniera. La Fig. 20.10 illustra la misura dei movimenti orizzontali degli occhi eseguita mediante una coppia di elettrodi posizionati sui canti esterni dei due occhi.

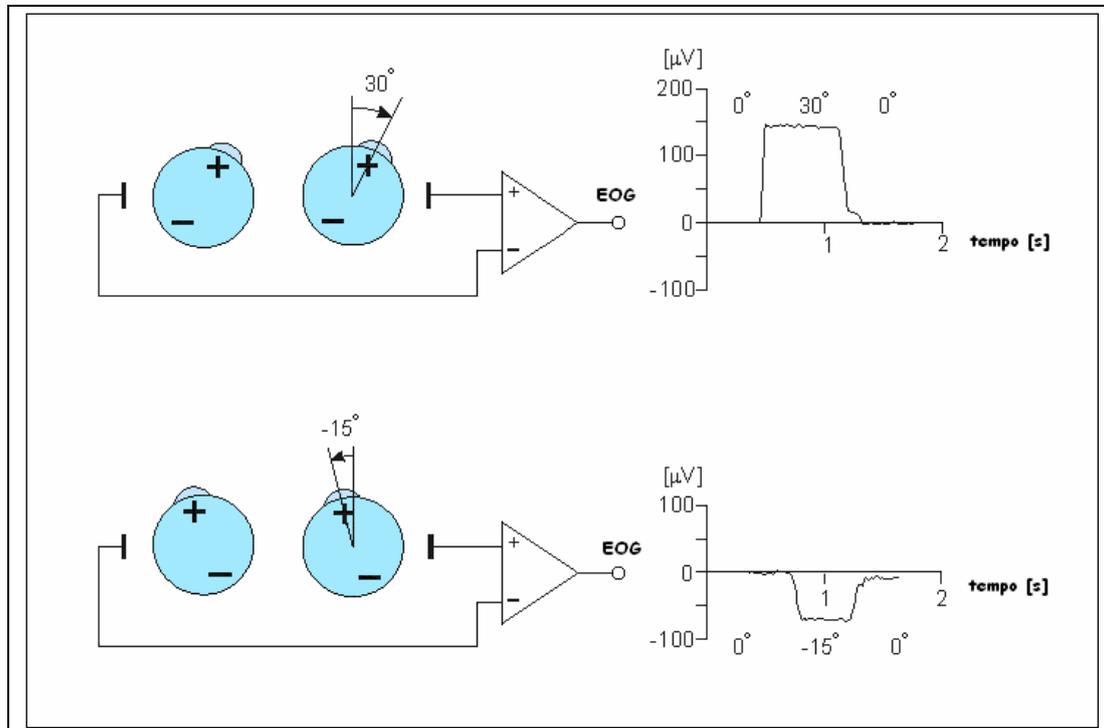


Fig. 20.10 Schematizzazione della genesi del potenziale elettrooculografico indotto da rotazioni orizzontali oculari

Con l'occhio a riposo gli elettrodi sono allo stesso potenziale e non si registra nessun segnale. Una rotazione dell'occhio causa invece una differenza di potenziale; in particolare, l'elettrodo che si affaccia sul lato verso il quale avviene la rotazione diventa positivo relativamente al secondo elettrodo. La calibratura del segnale può essere realizzata facendo guardare al paziente due punti che individuano un angolo noto e registrando l'EOG concomitante. Tipicamente si ottiene un'accuratezza di $\pm 2^\circ$, con rotazioni massime pari a $\pm 70^\circ$. La linearità della risposta peggiora progressivamente per angoli superiori a circa 30° . L'ampiezza tipica del segnale varia nel range $5\text{-}20 \mu\text{V}/^\circ$.

L'elettrooculografia presenta sia vantaggi che svantaggi rispetto ad altri metodi per la determinazione del movimento dell'occhio. Gli svantaggi più importanti sono relativi al fatto che il potenziale corneo-retinico può essere influenzato da svariati fattori, come ad esempio luce e affaticamento. Di conseguenza, è necessario calibrare frequentemente il sistema di registrazione. I vantaggi di questa tecnica includono registrazioni caratterizzate da minima interferenza con possibili attività del paziente e possibilità di eseguire l'indagine in oscurità totale e/o con gli occhi chiusi.

L'elettrooculogramma risulta utile per studiare la risposta saccadica e la risposta nistagmografica oculare, di seguito descritte.

18.4.1 Risposta saccadica

Si definiscono movimenti *saccadici*, o semplicemente *saccadi*, salti rapidi dell'occhio da un punto di fissazione ad un altro. La velocità può variare considerevolmente nel range $20\text{-}700 \text{ }^\circ/\text{s}$. L'analisi elettrooculografica permette di seguire efficacemente questa particolare tipologia di rapidi movimenti

oculari. Nel seguire un bersaglio in movimento con variazioni di posizione repentine, gli occhi accelerano rapidamente, raggiungendo la velocità massima circa a metà strada dall'obiettivo. Il movimento dell'occhio solitamente non sorpassa l'obiettivo ed è pertanto necessario un'ulteriore piccola saccade per raggiungerlo. Il sorpasso dell'obiettivo è raro nei soggetti normali. Parecchi fattori quali affaticamento, patologie, droghe e alcohol influenzano le saccadi, così come anche altre tipologie di movimenti oculari.

18.4.2 Risposta nistagmografica

Si definiscono movimenti *nistagmografici* (o semplicemente *nistagmi*) piccoli movimenti oscillatori involontari dei globi oculari. Anche tale classe di movimenti oculari risulta efficacemente indagabile mediante tecnica elettrooculografica. I segnali registrati prendono il nome di *potenziali elettronistagmografici*. La risposta dipende sia dal *sistema visivo* che dal *sistema vestibolare* e fornisce utili informazioni cliniche su ognuno di essi. In base dell'origine del movimento nistagmico, esso è classificabile in due tipologie: *nistagmo vestibolare* e *nistagmo optocinetico*. Essi sono brevemente descritti di seguito.

Nistagmo vestibolare

La nistagmografia rappresenta un'utile tecnica di indagine clinica del sistema vestibolare. Il sistema vestibolare percepisce il movimento della testa mediante segnali generati dai recettori situati nei labirinti dell'orecchio interno. In circostanze normali, il sistema oculomotore sfrutta l'input vestibolare per spostare gli occhi in modo da compensare movimenti del corpo e della testa. Se la funzionalità del sistema vestibolare viene ad essere alterata, i segnali trasmessi al sistema oculomotore saranno errati. La confusione apportata all'individuo può causare, ad esempio, vertigini; pertanto, per un individuo che soffre di vertigini questo esame può contribuire ad identificare se queste possano essere dovute a disfunzioni vestibolari. I movimenti compensativi inadeguati dell'occhio possono essere riconosciuti da un operatore esperto. L'indagine deve essere effettuato in assenza di fissazione visiva, poiché essa sopprime i movimenti vestibolari dell'occhio. Pertanto, essa è solitamente effettuata al buio o con l'occhio del paziente chiuso.

Nistagmo optocinetico

Una seconda tipologia di movimento nistagmici nasce nel caso in cui il soggetto sia in posizione stazionaria, mentre l'obiettivo si muova rapidamente rispetto ad esso. In una situazione di questo tipo, il sistema oculomotore cerca di mantenere l'obiettivo a fuoco sulla fovea retinica. Quando l'obiettivo non può più essere rintracciato, un riflesso saccadico sposta l'occhio su un nuovo obiettivo. Questo movimento prende il nome di *nistagmo optocinetico*. Tipicamente i movimenti registrabili in tali situazioni appaiono come segnali a dente di sega.

18.5 Esami elettrofunzionali del sistema visivo

Gli esami elettrofunzionali del sistema visivo permettono valutazioni della funzionalità di differenti strutture che compongono la via nervosa visiva (retina, nervo ottico, vie ottiche e corteccia cerebrale occipitale). Fra i vari esami elettrofunzionali rivestono particolare importanza l'elettroretinogramma (ERG) per lo studio delle varie componenti retiniche ed i potenziali evocati visivi (PEV) per lo studio delle vie ottiche.

18.5.1 Elettroretinografia

L'esplorazione elettrofisiologica della funzionalità della retina avviene mediante l'elettroretinografia (ERG). Essa consiste in una misurazione della risposta bioelettrica retinica ad uno stimolo visivo. Quest'ultimo può essere costituito da un flash di luce stroboscopia (in tal caso la misura è detta ERG da flash) o da un pattern strutturato su un monitor televisivo in cui sono presenti barre o scacchi bianchi e neri che si alternano in

modo cadenzato nel tempo (in tal caso la misura è detta PERG o ERG da Pattern). L'ERG da flash è espressione della funzionalità degli strati retinici più esterni (epitelio pigmentato e fotorecettori), mentre il PERG è generato dagli strati retinici più interni (cellule gangliari).

L'ERG da flash è caratterizzato da una serie di onde a polarità alternata tra cui riconosciamo l'onda *a*, l'onda *b* ed i Potenziali Oscillatori (PO). Nel PERG è possibile identificare una successione di picchi, che vengono contrassegnati con una lettera indicante la polarità (P, N – positiva, negativa) e una cifra indicante il tempo di latenza, ossia il tempo (in millisecondi) che intercorre tra la presentazione dello stimolo visivo e la comparsa del picco sul tracciato elettroretinografico (N35, P50, N95).

L'ERG da flash costituisce una risposta di massa dell'intera retina. Il contributo fornito dalla regione maculare alla genesi di questa risposta elettrofisiologica da parte può essere considerato trascurabile; la funzionalità maculare può essere invece valutata attraverso una particolare registrazione del segnale elettroretinografico: l'ERG focale.

18.5.2 Potenziali evocati visivi

L'esplorazione elettrofisiologica della funzionalità delle vie ottiche può essere eseguita mediante i Potenziali Evocati Visivi (PEV). Essi sono definiti come le variazioni dei potenziali bioelettrici della corteccia occipitale evocati da stimoli visivi secondo le modalità discusse in precedenza (capitolo 18). Essi consistono quindi in una manifestazione di complessi eventi neurosensoriali legati a fenomeni di trasduzione fotoelettrica e di trasmissione dell'impulso nervoso lungo le vie visive, operati dai fotorecettori retinici fino alla corteccia cerebrale occipitale. Lo stimolo visivo può essere fornito sia da un flash che da un pattern. Il PEV da pattern è caratterizzato da una serie di onde a polarità alternata fra le quali è possibile distinguere dei picchi che, analogamente al PERG, vengono definiti con una lettera indicante la polarità e una cifra indicante il tempo di latenza (N75, P100, N145).

L'aumento del tempo di latenza e la riduzione di ampiezze delle varie onde PEV rappresenta il corrispettivo elettrofisiologico di un rallentamento della conduzione nervosa lungo le vie ottiche. Questo aspetto, patologico, può essere ascritto a vari fattori, tra cui un interessamento primario dei fotorecettori retinici, delle cellule gangliari, o della regione maculare, o ad un ritardo di conduzione a livello del sistema nervoso centrale, cioè tra retina e corteccia visiva. La conduzione dell'impulso nervoso tra le cellule gangliari e la corteccia visiva può essere valutata elettrofisiologicamente tramite la registrazione simultanea di PEV e PERG. In particolare la differenza tra il tempo di latenza della componente P100 del PEV (espressione della risposta occipitale) e il tempo di latenza della componente P50 del PERG (espressione della massima attività delle cellule gangliari) viene indicato come tempo di conduzione retinocorticale (RCT).

ERG e PEV permettono di evidenziare precocemente alterazioni funzionali a carico delle varie strutture delle vie ottiche. Inoltre, essendo metodiche semeiologiche non invasive e ripetibili nel tempo, forniscono l'opportunità di diagnosticare e monitorizzare nel tempo svariate patologie dell'apparato visivo. Le applicazioni cliniche di tali esami elettrofisiologici sono riportate in Tab. 20.1

Tab. 20.1 Principali applicazioni cliniche dei test elettrofisiologici del sistema visivo

Biopotenziale	Sorgente bioelettrica	Impieghi clinici
ERG da flash	Retina esterna (Epitelio pigmentato, fotorecettori, cellule bipolari e amacrine)	Retinite pigmentosa; Distacco della retina; Trombosi VCR; Occlusione ACR; Diabete; AIDS; Ipertensione; Emalopia carenziale; Distrofia dei coni; Albinismo
ERG da Pattern	Retina interna (cellule gangliari)	Glaucoma; Diabete; Sclerosi multipla; Distroidismi; Malattie connettivali; M. di Parkinson; Forme tossiche, traumatiche, compressive, flogistiche del nervo ottico.
ERG Focale	Macula	Maculopatie congenite (Strargadt, Best); Edema maculare cistoide; Corioretinopatia sierosa centrale; Degenerazione maculare senile; Distrofia maculare.
PEV	Vie ottiche	Malformazioni congenite; Neuriti ottiche; Papilla da stasi; Traumi; Ambliopia; Compressioni neoplastiche; Malattie degenerative e vascolari.

18.6 Potenziali elettroretinografici

Nel 1849 Du Boys Reymond dimostrò che una corrente si propaga dalla cornea al polo posteriore dell'occhio di un vertebrato ponendo questo a contatto con due elettrodi connessi con un galvanometro. Il relativo potenziale di riposo nei vertebrati è dell'ordine di 1mV in una polarità positiva della cornea rispetto al polo posteriore oculare. Nel 1865 il fisiologo svedese Frithiof Holmgren riuscì a dimostrare che una corrente elettrica poteva essere derivata dall'occhio di rana all'inizio e al termine di uno stimolo luminoso. Tale corrente era ascrivibile ad una variazione di potenziale che andava a perturbare il valore di riposo. Poco tempo dopo, risultati simili furono segnalati da Dewar (1876), il quale dimostrò che l'illuminazione attraverso la pupilla, precedentemente coperta, era in grado di causare un esile movimento di un galvanometro, connesso tra la cornea e la parte posteriore dell'occhio. Questa attività elettrica indotta dalla luce nell'occhio è oggi nota come *elettroretinogramma* (ERG). Sottoponendo la retina a luce artificiale (flash), di varia intensità si hanno rapide variazioni del potenziale: questi cambiamenti opportunamente acquisiti (come descritto nel seguito) costituiscono l'elettroretinogramma. L'ERG deriva dalla somma algebrica dell'attività elettrica delle diverse risposte dello strato dei fotorecettori e cellule bipolari che costituiscono la retina. Si tratta quindi di un cosiddetto potenziale di massa o field potential (ERG massivo o ERG globale).

Gotch (1903) fu il primo a riportare che la risposta dell'occhio ad un flash è caratterizzata da due onde; in una prima fase la cornea diventa negativa rispetto al polo posteriore oculare e successivamente appare un'onda positiva di ampiezza più larga.

Più tardi Einthoven e Jolly (1908) separarono la risposta ERG in tre onde: la prima onda negativa, che compare immediatamente dopo uno stimolo luminoso, segue poi un'onda positiva e infine una terza onda, più lenta, anch'essa positiva. Il lavoro di questi autori costituisce la base dell'analisi ERG usata oggi.

Le tre onde sono chiamate *a*, *b* e *c*. Una quarta onda *d* positiva può essere registrata al termine del flash.

L'andamento complessivo di una risposta ERG è riportato nel seguito.

Nel 1933, Ragnar Granit pubblicò un studio particolareggiato delle componenti ERG nel gatto, che egli chiamò componenti P-I, P-II e P-III. L'analisi delle componenti di Granit ha subito variazioni durante il corso degli anni; tuttavia essa è rimasta la base per la comprensione dell'ERG, tanto che per il suo lavoro Ragnar Granit vinse il premio Nobel per la Fisiologia e Medicina nel 1967.

18.6.1 Genesi del potenziale ERG

Nel sistema nervoso l'informazione nasce e si trasmette grazie all'attività elettrica cellulare; pertanto, al fine di verificare l'integrità cellulare e la corretta funzionalità di ogni componente del sistema, è utile studiarne l'attività elettrica. Il segnale elettrico prodotto da una singola cellula nervosa è però troppo piccolo per poter essere registrato al di fuori dell'occhio. Tuttavia, grazie all'orientamento parallelo dei vari gruppi cellulari è possibile rilevare all'esterno dell'occhio un potenziale, il cui valore di riposo subisce, a fronte di una adeguata stimolazione retinica con una sorgente luminosa, variazioni registrabili superficialmente, note come elettroretinogramma.

Le risposte ERG sono registrate con elettrodi extracellulari. A seconda della posizione dell'elettrodo attivo esplorante si possono avere misure caratterizzate da un grado di invasività considerevolmente diverso. Nella comune tecnica di uso clinico l'elettrodo attivo è posizionato sulla cornea o sulla congiuntiva, mentre un elettrodo di riferimento è posto sulla tempia. Tuttavia per scopi di ricerca su cavie gli elettrodi possono essere posizionati nel vitreo o a diversi livelli nella retina. La registrazione extracellulare dell'attività elettrica di tessuto vivente è resa possibile quando correnti elettriche passano lungo percorsi resistivi di una matrice extracellulare. Un esempio di corrente elettrica extracellulare nella retina vertebrata è la propagazione della corrente 'dark' dai segmenti interni a quelli esterni dei fotorecettori. Nella retina dei vertebrati, i fotorecettori sono sistemati in parallelo e perciò le loro correnti 'dark' si sommano, generando una corrente radiale extracellulare dallo strato nucleare interno verso l'epitelio pigmentato. Similmente, correnti extracellulari da tutti i tipi di cellule retiniche si sommano solamente se sono dirette radialmente. Al contrario le correnti laterali si annullano a vicenda poiché la conformazione laterale retinica è completamente simmetrica.

Perciò, quando una stimolazione luminosa omogenea è indirizzata sull'intera retina, si formano soltanto correnti extracellulari radiali. Queste correnti seguono due diverse vie: intraretinica ed extraretinica come mostrato schematicamente in Fig. 20.11. La corrente I_i segue un percorso locale che rimane completamente all'interno della retina, mentre la corrente I_e esce dalla retina, attraversa il vitreo, il cristallino, la cornea e ritorna alla retina attraverso la sclera, la coroide e l'epitelio pigmentato. La corrente che segue la via extraretinica può essere registrata in modo non invasivo, con elettrodi extraoculari (Fig. 20.11).

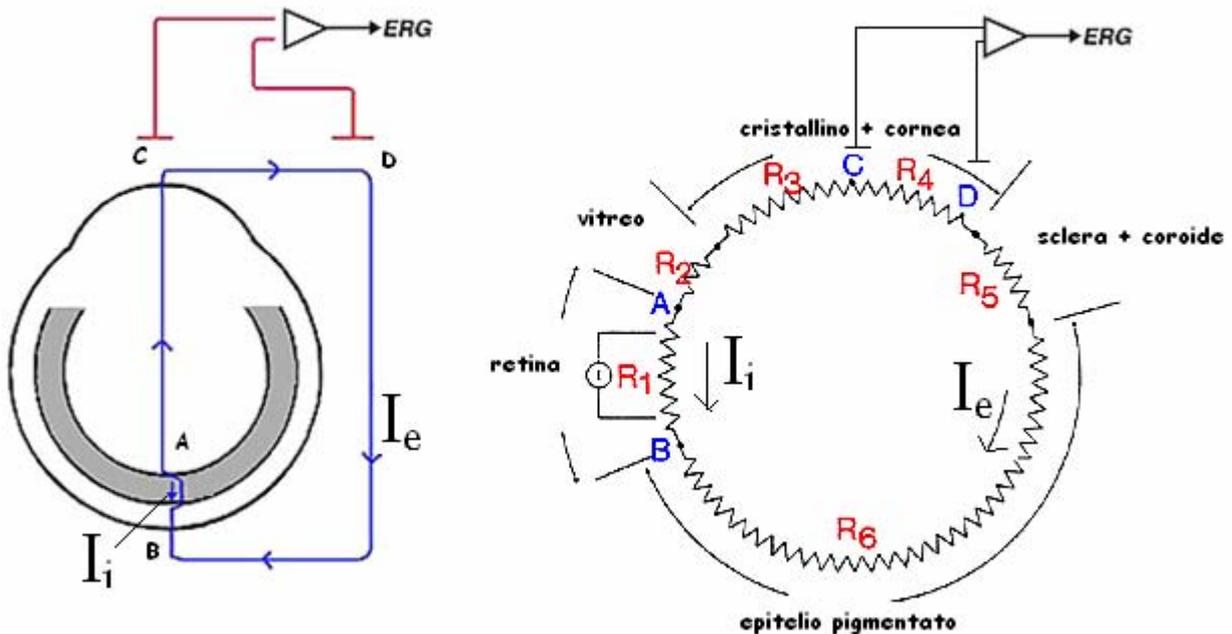


Fig. 20.11 Circuito elettrico equivalente dell'occhio: rappresentazione schematica dei percorsi resistivi delle correnti extracellulari indotte da uno stimolo luminoso. I_i rappresenta la corrente locale all'interno della retina, mentre I_e la corrente che lascia la retina attraverso il vitreo, il cristallino e la cornea e ritorna alla retina attraverso la sclera, la coroide e l'epitelio pigmentato. L'ERG nell'uomo è registrato nel tratto CD.

Dal circuito elettrico equivalente di Fig. 20.11, ogni tessuto (retina, vitreo, cristallino, sclera, coroide, epitelio pigmentato) è rappresentato da una resistenza elettrica. I resistori sono stati rappresentati con una lunghezza proporzionale alla effettiva resistenza. Si osservi che all'epitelio pigmentato compete la resistenza più grande. La differenza di potenziale $V_A - V_B$ è indipendente dalla via seguita dalla corrente e pertanto può essere calcolata sia per via intraretinica che extraretinica.

$$I_i R_1 = I_e (R_2 + R_3 + R_4 + R_5 + R_6) \tag{20.1}$$

Dato che $(R_2 + R_3 + R_4 + R_5 + R_6) > R_1$, la corrente I_A intraretinica deve essere maggiore della extraretinica, ossia $I_i > I_e$. Una misura diretta della sorgente dielettrica (equivalente ad un generatore di tensione) a cavallo della retina (AB) fornirebbe la massima risposta registrabile. Tuttavia ciò non è evidentemente possibile nel caso di indagini cliniche su esseri umani. Si devono pertanto usare elettrodi attivi e di riferimento posizionati in sede extraoculare. Se tali elettrodi sono disposti come indicato in Fig. 20.11 nei punti C e D, la differenza di potenziale tra di essi è data da :

$$V_{ERG} = V_C - V_D = I_e R_4 = I_i R_1 - I_e (R_2 + R_3 + R_5 + R_6) \tag{20.2}$$

Tale grandezza quantifica l'elettroretinogramma (ERG) come differenza di potenziale relativa all'attività elettrica indotta da uno stimolo luminoso. In generale, quando la funzione retinica si deteriora, tale attività elettrica si riduce: le correnti I_i ed I_e risultano inferiori e quindi l'ERG è ridotto, indicando la presenza di una patologia retinica.

Tuttavia è opportuno sottolineare che anche l'entità delle diverse resistenze e ancor più, i rapporti tra di esse possono influenzare l'ERG misurato con elettrodi extraoculari. Infatti la divisione della corrente retinica indotta dalla luce nei due percorsi intra- ed extra-retinici dipende dalle relative resistenze delle due vie. In particolare dall'equazione (20.1), possiamo derivare la seguente relazione:

$$I_i/I_e = (R_2 + R_3 + R_4 + R_5 + R_6)/R_1 \quad (20.3)$$

Qualunque cambiamento in una delle resistenze causerà un cambiamento nell'intensità della corrente nella via extraretinica e pertanto l'ERG potrà variare indipendentemente dalla funzione retinica. Di conseguenza, è necessario conoscere le diverse resistenze e i fattori che le influenzano per utilizzare correttamente l'informazione ERG.

Variazioni nella distribuzione delle resistenze possono determinare variazioni di ampiezza nelle risposte ERG in differenti specie e tra differenti individui all'interno di una stessa specie. L'importanza delle resistenze dei tessuti oculari è ad oggi ben documentata, anche da dati clinici. Ad esempio è noto come l'ERG possa essere ridotto significativamente in pazienti che hanno subito vitrectomia e iniezione di silicone nel vitreo. Poiché il silicone agisce da isolante elettrico, la relativa alta resistenza causa una riduzione della corrente I_e , e quindi dell'ampiezza dell'ERG. Un valido studio sugli effetti sui potenziali ERG dovuti a variazioni della disomogeneità dei mezzi conduttivi oculari è riportata in [The Effects of Variations of the Conducting Media Inhomogeneities on the Electroretinogram Michael J. Doslak; Robert Plonsey; Cecil W. Thomas

IEEE Transactions on Biomedical Engineering, Vol. BME-27 (2), 88-94, 1980.]

18.6.2 Tecnica di esecuzione della registrazione ERG

Per eseguire un test elettroretinografico è opportuno preventivamente dilatare la pupilla mediante l'instillazione di farmaci midriatici. La dilatazione della pupilla favorisce un maggiore coinvolgimento della retina durante la stimolazione luminosa. Durante il test è opportuno assicurarsi dell'immobilità del paziente, per evitare movimenti pupillari e oculari volontari o involontari che comportano artefatti ed interferenze nella registrazione. L'equipaggiamento necessario per l'esecuzione del test è costituito da una sorgente luminosa flash (lampada allo Xenon), un diffusore della luce (cupola di Ganzfeld, Fig. 20.13), un apparecchio di registrazione (elettrocardiografo) e tre elettrodi.

Il primo elettrodo (detto esplorante o attivo o di registrazione o di lavoro) può essere di tipo corneale o congiuntivale, a seconda della sede di posizionamento. Esistono differenti tipologie di elettrodi atti a tale scopo. La Fig. 20.12 mostra un sistema ERG mentre la Fig. 20.14 riassume le tipologie di elettrodi più comuni. Il secondo elettrodo (di riferimento) è di tipo cutaneo ed è posizionato a livello della tempia. Il terzo elettrodo (di terra) è applicato sulla fronte o sull'orecchio. I potenziali d'azione sviluppati in seguito alla stimolazione luminosa vengono registrati dall'elettroretinografo ed evidenziati graficamente.

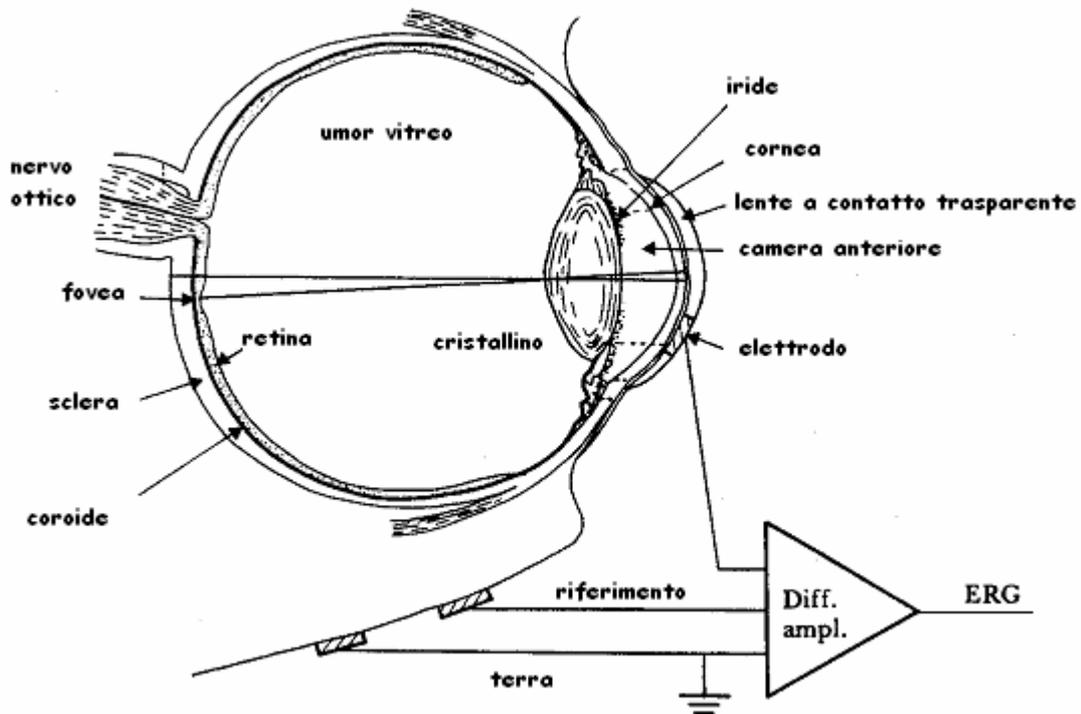


Fig. 20.12 Principi di misurazione di una risposta di Erg con un elettrodo corneale (adattato da: Webster J. G. Ed., Medical Instrumentation: Application and Design - 3rd ed, New York: J. Wiley & Sons, 1998).

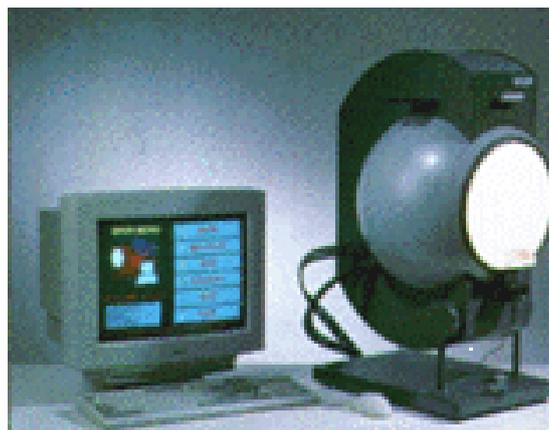


Fig. 20.13. Cupola di Ganzfeld.

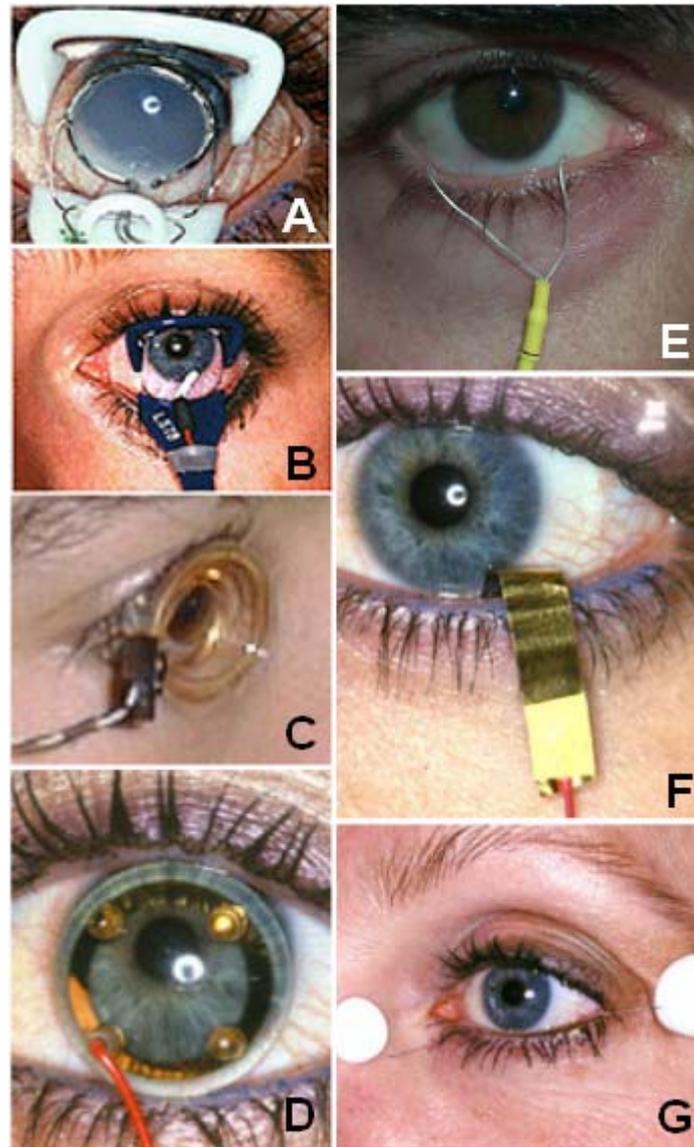


Fig. 20.14. Tipologie di elettrodi più comuni per prove di Erg: (A-D) elettrodi corneali; (E-G) elettrodi di congiuntivali (da: [F. Carpi e F. Tomei, “Non-invasive electroretinography”, *Biomedicine & Pharmacotherapy*, Vol. 60 (8), pp. 375-379, 2006]).

La retina può essere stimolata sia dopo un adattamento al buio (scotopico), sia dopo un adattamento alla luce (fotopico). La stimolazione luminosa può essere variata in intensità e colore (frequenza), in modo da risultare selettiva per l'attività dei bastoncelli o dei coni, rispettivamente.

Infatti, come precedentemente discusso, la risposta primaria all'adattamento alla luce riflette la funzione dei coni, mentre a seguito all'adattamento al buio si ha quella dei bastoncelli.

La stimolazione luminosa rapida o ERG di tipo flicker è altamente specifica per la funzione dei coni.

La tecnica di esecuzione dei test elettroretinografici è regolamentata dagli standard redatti (e periodicamente aggiornati) della International Society for Clinical Electrophysiology of Vision (ISCEV) [www.iscev.org]. Tali standard definiscono i dettagli delle tecniche di registrazione ed i valori dei parametri di stimolazione e registrazione dei segnali, da seguire nella pratica clinica [Standard: Marmor M. F., Holder G. E., Seeliger M. W., Yamamoto S. Standard for clinical electroretinography (2004 update). *Doc. Ophthalmol* 2004; 108: 107–114.]. A titolo di esempio, la Tab. 20.2 riporta i valori dei parametri più significativi per un test ERG da flash.

Tab. 20.2. Parametri di stimolazione e registrazione per ERG da flash secondo lo standard ISCEV.

Durata max del flash	5 ms
Durata adattamento al buio	20 min
Temperatura di colore* del flash	7000 °K
Intensità del flash (alla superficie del diffusore di Ganzfeld)	1.5 – 3.0 cd s/m ²
Luminanza di sottofondo	17 - 34 cd/ m ²
Numero di flash che costituiscono una sequenza di stimolazione (da mediare)	10
Intervallo tra sequenza di stimolazione	>10 s
Banda passante di acquisizione	0.3-300 Hz

* Si definisce Temperatura di colore di una sorgente di luce la temperatura alla quale un corpo nero emetterebbe, in corrispondenza del suo picco di emissione (determinato dalla legge di Wien), una radiazione alla stessa lunghezza d'onda della sorgente luminosa.

18.6.3 Segnali ERG

Si supponga di fornire ad una retina una stimolazione luminosa a gradino (ossia da buio a luce duratura). Entro pochi millisecondi dall'inizio della stimolazione, è possibile registrare un tracciato elettroretinografico costituito da differenti componenti, come rappresentato in Fig. 20.15. La prima variazione elettrica consiste in un segnale di piccola ampiezza noto come potenziale precoce di recettore (ERP- Early Receptor Potential). L'ampiezza dell'ERP risulta proporzionale alla quantità di pigmento visivo presente a livello dei coni e dei bastoncelli. All'onda ERP fra i 10 e i 100 ms (ordini di grandezza) seguono l'onda *a* (negativa) e l'onda *b* (positiva). L'onda *a* è spesso definita anche potenziale tardivo di recettore (LRP – Late Receptor Potential). Dopo alcuni secondi dall'inizio della stimolazione compare l'onda *c* (positiva). Dopo circa 5-10 minuti dall'inizio della stimolazione si ha il massimo assoluto della risposta (noto come light peak) che rappresenta la prima di una serie di oscillazioni, note come potenziali oscillatori (OP), caratterizzate da un periodo di 30 min e un'ampiezza progressivamente decrescente che si estingue a circa 2 ore dall'inizio della stimolazione. L'onda *a*, generata dai fotorecettori, permette di studiare separatamente coni e bastoncelli, rispettivamente nella modalità fotopica e scotopica di stimolazione. In particolare, l'assorbimento di luce da parte delle molecole di pigmento visivo nei sistemi esterni dei fotorecettori, riduce, a seguito della chiusura dei canali cationici, la corrente 'dark', dando luogo ad una corrente 'light' che si manifesta come onda *a*. L'onda *b* riflette l'attività delle cellule bipolari. L'onda *c* è probabilmente prodotta dall'epitelio pigmentato. Infine, gli OP sembrano essere legati all'attività delle cellule amacrine.

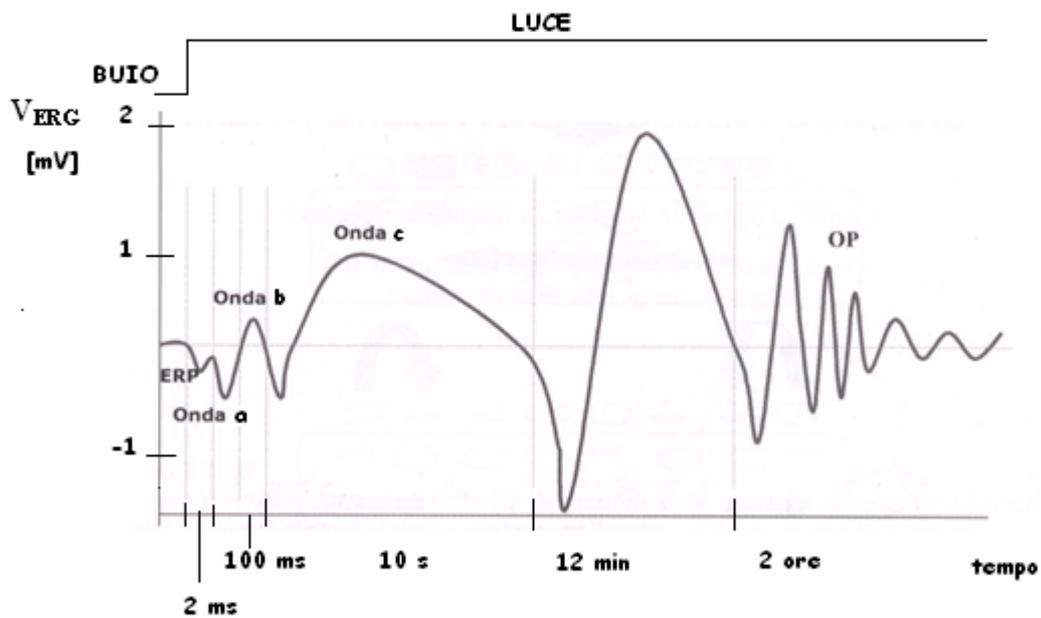


Fig. 20.15 Schematizzazione delle onde ERG (tracciato su scale temporali differenti) che costituiscono la risposta ad uno stimolo luminoso duraturo.

Nell'ERG da flash di uso clinico si misurano tipicamente soltanto due componenti: l'onda *a* e l'onda *b*.

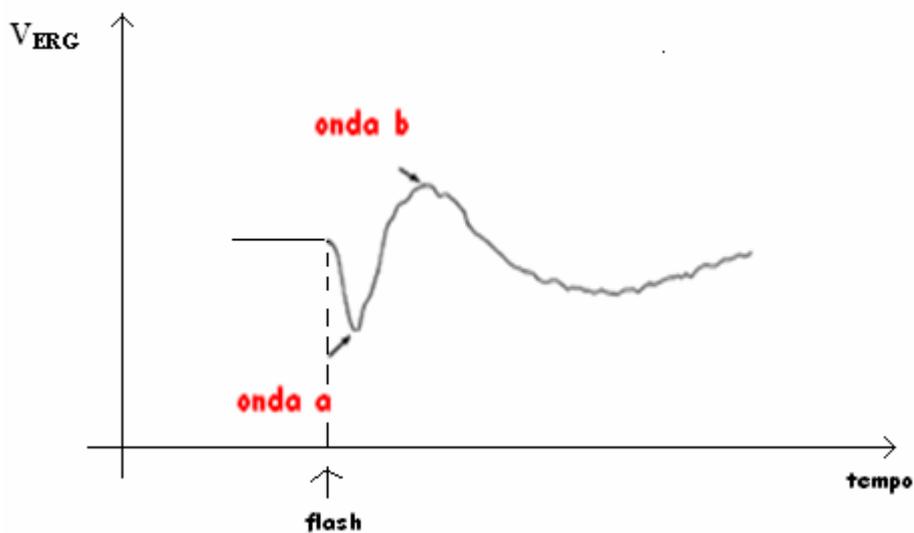


Fig. 20.16 Segnale ERG tipico di uso clinico

La risposta è valutata analizzando i seguenti parametri principali di tale forma d'onda (Fig. 20.15):

1. l'ampiezza dalla linea di base alla depressione negativa dell'onda *a* e l'ampiezza dell'onda *b* misurata dalla depressione dell'onda *a* al seguente picco dell'onda *b* stessa;

2. il tempo che intercorre dal flash al picco negativo dell'onda *a* e quello dal flash al picco positivo dell'onda *b*. Tali tempi, espressioni della latenza del picco (time-to-peak) sono definiti tempi impliciti.

Questi parametri dell'ERG cambiano con l'intensità dello stimolo luminoso e con lo stato di adattamento alla luce. All'aumentare dell'intensità luminosa l'onda *a* e l'onda *b* tipicamente aumentano di ampiezza. Inoltre, più intenso è lo stimolo, più veloce è la risposta ERG e più corti sono i time-to-peak di entrambe le onde. L'analisi ERG, basata soltanto sulle misure di ampiezza, può portare a conclusioni errate se la pupilla non è dilatata al massimo. Lo scambio di informazioni fra laboratori che usano differenti condizioni di registrazione è stato sempre problematico. L'unico modo per aggirare questa difficoltà è confrontare il rapporto fra onda *a* e l'onda *b* in una serie di risposte ERG.

Questa analisi è basata sulla conoscenza della fisiologia retinica e l'origine dell'onde ERG.

Se l'onda *a* riflette l'attività nei fotorecettori e l'onda *b* proviene dai neuroni post-sinaptici, allora la trasmissione normale del segnale nella retina distale sarà espressa dal rapporto normale fra onda *b* e onda *a*. Questo tipo di analisi può anche aiutare a capire la sede dell'alterazione. Se l'alterazione è localizzata a livello dei fotorecettori e non coinvolge le zone più prossimali sarà espressa da un'anormale ampiezza dell'onda *a*, ma normale rapporto onda-*b*/onda-*a*.

In opposizione, un difetto nella trasmissione del segnale nello strato esterno plessiforme (OPL) mostrerà un'anormale rapporto onda-*b* / onda-*a*, ma le ampiezze delle onde ERG possono persino essere aumentate. Pazienti con alta miopia hanno risposte ERG al di sotto della norma a causa della funzione ridotta dei fotorecettori. Tuttavia, il valore dell'onda-*b*, che indica la trasmissione del segnale è normale.