

4. Material und Methoden

4.1. Ableittechnik für die Elektroretinographie (ERG)

Für die klinische Elektroretinographie (ERG) wurde 1989 ein Standard für diese elektrophysiologische Untersuchungsmethode von der Internationalen Gesellschaft für klinische Elektrophysiologie des Sehens (ISCEV) erarbeitet⁹⁻¹¹. Für die folgenden fünf häufig verwendeten Reizantworten wurde das vereinheitlichte Protokoll festgelegt. Ein ERG nach ISCEV-Standard (letztes Update 1999¹¹) soll enthalten:

1. Eine Stäbchenantwort (am dunkeladaptierten Auge)
2. Eine Maximalantwort (ebenfalls am dunkeladaptierten Auge)
3. Oszillatorische Potentiale
4. Eine Zapfenantwort
5. Antworten auf schnell wiederholte Reize (Flimmern)

4.1.1. Klinisches Protokoll

4.1.1.1. Vorbereitung des Patienten

Für die ERG-Untersuchung soll der Patient eine maximale Mydriasis aufweisen. Ist diese eingeschränkt oder nicht möglich, soll die Pupillengröße zum Zeitpunkt der Ableitung dokumentiert werden.

Zu Beginn der Untersuchung sollen die Ableitungen mit Dunkeladaptation durchgeführt werden. Hierfür ist eine min. 20 minütige Dunkeladaptation erforderlich. Falls Kontaktlinsenelektroden benutzt werden können diese im Rotlicht eingesetzt werden. Der Patient sollte jedoch nicht direkt in das Licht sehen.

Falls Fluoreszenzangiographien oder Fundusphotographien vor der ERG-Untersuchung stattgefunden haben, soll eine einstündige Dunkeladaptation erfolgen.

Das genaue Fixieren durch den Patienten ist nicht unbedingt erforderlich. Falls der Patient den angebotenen Fixierpunkt nicht erkennt, kann dieser einfach aufgefordert werden, geradeaus zu schauen und die Augen ruhig zu halten.

4.1.1.2. ERG-Messung und Aufzeichnung

Sowohl die Amplitude als auch die Gipfelzeit der registrierten ERG-Signale werden ausgewertet. Aus praktischen Gründen werden am häufigsten die B-Wellen-Amplituden der Stäbchenantwort, der maximalen Mischantwort und der Zapfen auf Einzelblitze sowie die B-Wellen-Gipfelzeiten der Zapfenantwort auf Einzelblitze oder der 30-Hz-Flimmer-Antwort beurteilt. Die Amplitude der A-Welle wird von der Grundlinie bis zum tiefsten Punkt der A-Welle gemessen; die B-Welle von der A-Wellen-Senke bis zum B-Wellen-Gipfel und die Gipfelzeit der B-Welle vom Beginn des Blitzes bis zum Gipfel der B-Welle.

4.1.2. Beschreibung der Standardantworten

- **Stäbchenantwort**

Nach der Dunkeladaptation werden die Stäbchenantworten gemessen, da die Stäbchen am empfindlichsten auf eine Helladaptation reagieren. Der dem Standard entsprechende Reiz ist ein abgeschwächter weißer Blitz, dessen Reizstärke 2,5 logarithmische Einheiten unterhalb des weißen Standardblitzes liegt. Ein zeitlicher Mindestabstand von 2 Sekunden zwischen den Blitzen wird empfohlen. (siehe Abb. 4.1; Kurve a)

- **Maximale Mischantwort (Stäbchen-Zapfenantwort)**

Die Maximalantwort wird durch einen weißen Standardblitz im dunkeladaptierten Auge hervorgerufen. Ein Intervall von 10 Sekunden zwischen den Blitzen ist vorgeschrieben. An dieser Antwort sind

normalerweise eine Kombination von Zapfen- und Stäbchensystem beteiligt.
(siehe Abb. 4.1; Kurve b)

- **Oszillatorische Potentiale**

Oszillatorische Potentiale werden zumeist durch einen weißen Standardblitz am dunkeladaptierten Auge abgeleitet. Sie können auch am helladaptierten Auge abgeleitet werden, haben dann jedoch kleinere Amplituden. Die oszillatorische Potentiale sind abhängig von der Reizwiederholungsrate und ändern sich nach dem ersten Reiz. Es wird empfohlen zwischen den Einzelblitzen 15 Sekunden bei dunkeladaptiertem und 1,5 Sekunden bei helladaptiertem Auge an freiem Reizintervall zu lassen und den Beginn der ersten Auswertung oder Mittelung erst nach dem zweiten Reiz zu beginnen.
(siehe Abb. 4.1; Kurve c)

- **Zapfenantwort auf Einzelblitze**

Der weiße Standardblitz wird als Reiz vorgeschlagen. Mit einer Hintergrundbeleuchtung von 17 bis 34 $\text{cd}\cdot\text{m}^{-2}$ (5 bis 10 fL) werden die Stäbchenantworten unterdrückt und es können stabile reproduzierbare Zapfenantworten gemessen werden. Der Patient soll 10 Minuten an die Hintergrundhelligkeit zum Zeitpunkt der Messung adaptiert sein. (siehe Abb. 4.1; Kurve d)

- **30-Hz-Flimmerantworten**

Flimmerlichtantworten müssen mit Standardblitzen nach der Aufzeichnung der Einzelblitz-Zapfenantworten bei der gleichen Stäbchen-hemmenden Hintergrundleuchtdichte abgeleitet werden. Es wird empfohlen eine Reizfrequenz von 30 Blitzen pro Sekunde zu verwenden und die ersten Reizantworten zu verwerfen, da so stabile Bedingungen erreicht werden.
(siehe Abb. 4.1; Kurve e)

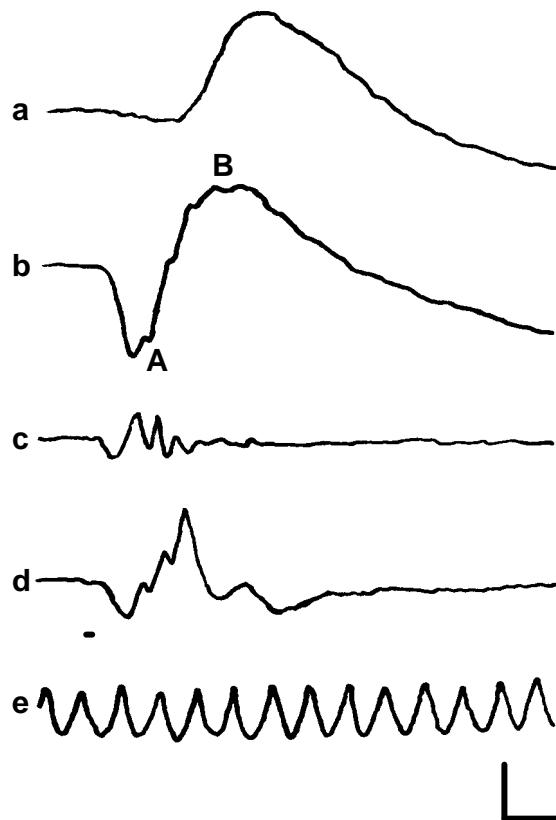


Abb. 4.1: Standard-ERG: Ableitungen bei Dunkeladaptation mit Einzelblitz geringer (a) und maximaler Leuchtdichte (b) und wie b. mit spezieller Filterung für oszillatorische Potentiale (c). Ableitungen bei Helladaptation mit Einzelblitz maximaler Leuchtdichte (d) und 30 Hz Flimmerlicht (e). Die Kalibrierung beträgt vertikal 200 μV für alle Ableitungen außer d. (100 μV), horizontal 20 ms für Einzelblitzableitungen und 50 ms für die Flimmerlichtableitung. A: A-Welle, B: B-Welle.

4.2. ERG-Ableitung des Studienlabors

Das Untersuchungsprotokoll des Studienlabors beachtet den Standard der ISCEV^{9, 10} und wurde um einige schwächere Lichtreize bei Dunkeladaptation zur Erstellung einer Amplitudenintensitätsfunktion sowie um drei farbige Lichtreize erweitert. Die Ableitung erfolgt mittels einer Jet Hornhautelektrode mit einer Referenzelektrode an der ipsilateralen Schläfenseite. Zur Registrierung des ERGs dient ein NICOLET SPIRIT (Fa. NICOLET, Madison USA). Die obere Grenzfrequenz beträgt 1000 Hz, die untere Grenzfrequenz 1 Hz. Für die Darstellung der oszillatorischen Potentiale wird die untere Grenzfrequenz auf 100 Hz angehoben. Als Reizgerät dient das NICOLET Ganzfeld (Fa. NICOLET), das die Einstellung verschiedener Adaptationsleuchtdichten und die Verwendung von weißen Lichtreizen und den

Einsatz variabler Farbfilter ermöglicht. Als Farbfilter werden die KODAK Wratten Filter für blau (KODAK Wratten #47, 47A, 47B, maximale Transmission bei 445 nm) und rot (KODAK Wratten #26, 630 nm) und grün (KODAK Wratten #61, 538 nm) eingesetzt.

Nach 30minütiger Dunkeladaptation und mit einer maximalen medikamentösen Mydriasis (Phenylephrin 2,5 % und Tropicamid 0,5 % Augentropfen) erfolgt die Registrierung bei Dunkeladaptation gleichzeitig an beiden Augen. Die Stimulusdauer beträgt 0,1 ms. Es wird zunächst eine Reizantwort mit schwachem blauen Lichtreiz und dann mit drei weißen Lichtreizen ansteigender Leuchtdichte abgeleitet. Bei der Reizung mit maximaler Leuchtdichte ($10,0 \text{ cd}\cdot\text{s}/\text{m}^2$) werden über zwei weitere Kanäle die oszillatorischen Potentiale aufgezeichnet. Nach 10minütiger Helladaptation wird bei einem Umfeld von $30 \text{ cd}/\text{m}^2$ mit maximaler Intensität nacheinander mit blauen, grünen, roten und weißen Reizen eine Antwort abgeleitet. Die 30 Hz Flimmerlichtantwort wird bei Helladaptation abgeleitet. Eine Mittelung wird nicht durchgeführt. Die Vorbereitungszeit beträgt ca. 35 Minuten (Dunkeladaptation), die Untersuchungszeit, bei der die Kontaktlinse getragen wird beträgt ca. 30 Minuten. Als Meßparameter werden für alle Ableitungen die Amplituden und Latenzen der A- und B-Wellen bestimmt. Außerdem wurden ON- und OFF-Antworten mit langen Lichtreizen abgeleitet.

4.3. Ableitung der ON- und OFF-Antworten

Um die ON- und OFF-Antworten der Bipolarzellen getrennt darstellen zu können, wurden ein modifizierter RETIPORT-ERG-Stimulator (Fa. Roland Consult, Brandenburg) für die Helladaptation und langdauernde Lichtreize verwendet. Die Lichtreize wurden mit einer roten und einer parallelen Anordnung von 4 grünen LEDs ausgelöst. Die LEDs sind durch eine Diffusor-Scheibe abgeschirmt. Die Reizdauer betrug 200 und 250 ms in der Vorstudie (rot 200 ms: $1193 \text{ cd}\cdot\text{s}\cdot\text{m}^{-2}$, 250 ms: $1448 \text{ cd}\cdot\text{s}\cdot\text{m}^{-2}$; grün 200 ms: $293 \text{ cd}\cdot\text{s}\cdot\text{m}^{-2}$, 250 ms: $362 \text{ cd}\cdot\text{s}\cdot\text{m}^{-2}$). Pro Ableitung werden 128 Reizantworten gemittelt.

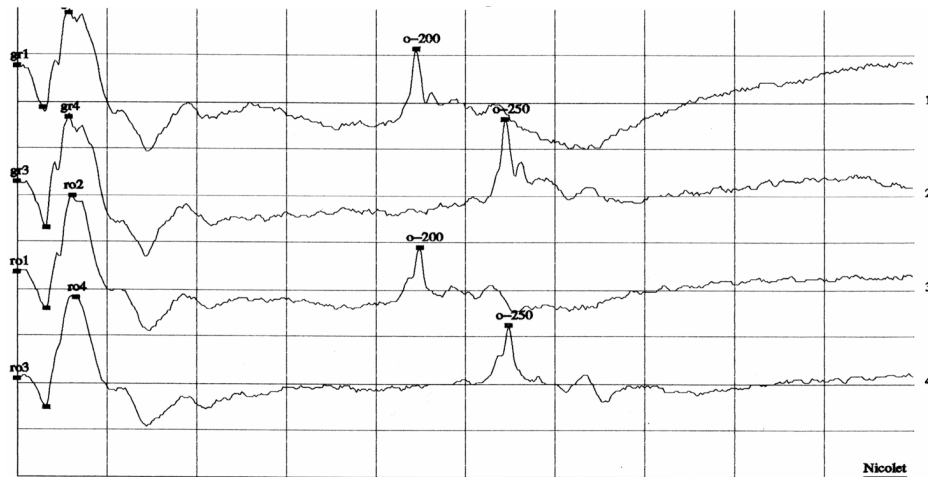


Abb. 4.2: Empfindlichkeit und Zeitbasis pro Einheit der Kurven 1- 4: $y = 24,83 \mu\text{V}$; $x = 50 \text{ ms}$. Hier das LED-ERG als Summe von 128 Reizen mit Umfeld einer gesunden Probandin.

Zunächst wurden Normalwerte von 26 Probanden ermittelt (14 männliche und 12 weibliche Probanden im Alter von 25 ± 8 Jahren). Ein Refraktionsfehler von $\pm 2 \text{ dpt}$ wurde toleriert. Der Visus, das Farbsehen sowie das Standard-ERG waren bei allen Probanden normal. Für die Auswertung der ON- und OFF-Antworten sind die Amplituden und die Latenzen der Antworten interessant.

Bei der Betrachtung der Ergebnisse fällt auf, daß der Median der OFF-Antwort-Latenz bei beiden Reizdauern und Farbreizen 22 ms beträgt und nur eine geringe interindividuelle Varianz besteht. Die Latenz der ON-Antwort zeigt eine größere interindividuelle Abweichung von 12 ms bei grünem Lichtreiz und 13 ms bei rotem Lichtreiz. Der Median der ON-Latenz beträgt 32,0 ms bzw. 32,5 ms.

In dieser Studie wurden nur grüne Lichtreize bei allen Patienten genutzt.

Auch die intraindividuelle Varianz wurde im Verlauf bestimmt. Bei einem Probanden wurde die Untersuchung insgesamt 10 mal durchgeführt. Mit dem modifizierten LED-Stimulator ließen sich die ON- und OFF-Antworten der Bipolarzellen verlässlich und reproduzierbar ableiten. Verglichen mit anderen ERG-Parametern ist die inter- und intraindividuelle Variation der OFF-Antwort-Latenzen sehr gering.

Da sich zwischen den Ergebnissen in der Probandengruppe bei 200 ms und 250 ms Reizdauer keine signifikanten Unterschiede der OFF-Antwort feststellen ließen, wurde bei einem Großteil der Patienten darauf verzichtet beide Reizdauern abzuleiten und nur die Reizdauer von 200 ms wurde verwendet.

4.4. Patienten

Für diese Studie, die mit Unterstützung der Deutschen Forschungsgemeinschaft (DFG Ke442/7-1) durchgeführt wurde, sind Patienten mit Netzhautdegenerationen oder der möglichen Differentialdiagnose Netzhautdegeneration untersucht worden. Dies waren in den Jahren 1995 und 1996 sowie Anfang 1997 zusammen 272 Patienten. Unter den Diagnosen waren sowohl hereditäre Netzhautdystrophien als auch Netzhautdegenerationen mit den verschiedensten Ursachen.