

# 合理选择视网膜电图检查指标 客观了解内层视网膜的功能

雷博

400016 重庆医科大学附属第一医院眼科 眼科学重庆市重点实验室 重庆市眼科研究所

通信作者:雷博,Email:bolei99@126.com

DOI:10.3760/cma.j.issn.2095-0160.2016.04.001

**【摘要】** 视网膜的解剖结构和生理功能非常复杂,目前临床上视网膜功能的客观评估主要依靠视网膜电图(ERG)。对主要累及外层视网膜的疾病,ERG 可以准确判断病变所处的组织学部位,但对主要位于内层视网膜,即视细胞突触以后的视网膜病变,视觉电生理检查的辨识度尚远不及于外层视网膜,这是因为内层视网膜神经传导通路较长、内层视网膜也受外层视网膜视觉信号传入变化的影响以及视杆系统和视锥系统的反应存在相互影响,因此客观了解内层视网膜的功能是一个难点。近 20 年来,一些新的能够用于检测内层视网膜功能的 ERG 检测技术,如振荡电位(OPs)、ON-OFF 反应、明视负波反应(PhNR)、暗视阈值反应(STR)等已用于临床,这些 ERG 指标主要起源于双极细胞、无长突细胞和视网膜神经节细胞,是评估内层视网膜疾病的有用工具。临床眼科医师应充分了解这些 ERG 检测指标在内层视网膜疾病诊疗中的临床意义,从而更好地指导临床诊疗工作。

**【关键词】** 视网膜电图记录法;人;视网膜神经细胞/生理学;视功能;视网膜疾病/诊断

**基金项目:** 国家自然科学基金项目(81271033、81470621);重庆市科委自然科学基金项目(2014pt-sy10002);国家临床重点专科眼科建设项目

**Towards objective assessment of the inner retinal functions** Bo Lei

Department of Ophthalmology, The First Affiliated Hospital, Chongqing Medical University, Chongqing Key Laboratory of Ophthalmology, Chongqing Eye Institute, Chongqing 400016, China

Corresponding author: Bo Lei, Email: bolei99@126.com

**【Abstract】** Retinal anatomic structure and physiology function are very complex. Electroretinogram (ERG) is currently the only objective assessment for retinal function. There are groups of devastating diseases characterized by affecting the inner retinal functions. However, compared with its advantages in evaluating the outer retina function, ERG is less sensitive in judging the inner retinal function. The decrease of sensitivity is mainly associated with the crosstalk between the rod and cone systems in the longer visual signal pathways. In the past twenty years, new recording techniques in ERG analysis including oscillatory potentials, ON-OFF responses, photopic negative responses and scotopic threshold response have been developed. These ERG components are generated from the bipolar cells, amacrine cells or retinal ganglion cells and are becoming novel tools to assess the function of the inner retina. Ophthalmologists should fully understand the clinical significance of these ERG components in assessing inner retinal function to better guide the diagnosis and treatment of retinal diseases.

**【Key words】** Electroretinography; Humans; Retinal neurons/physiology; Visual function; Retinal diseases/diagnosis

**Fund program:** National Natural Science Foundation of China (81271033, 81470621); Natural Science Foundation of Chongqing City (2014pt-sy10002); Ophthalmology Construction Project of State Clinical Key Specialty of China

从生理学的角度出发,以视网膜视细胞的突触为外层(即视细胞层)和内层(包括双极细胞层、内丛状层和视网膜节细胞层)。闪光视网膜电图

(electroretinogram, ERG) 是发现时间最长、应用范围最广、临床价值最大、对其机制了解最多的一项视功能检查手段,可在细胞水平逐层、逐列地了解视网膜的功能状态<sup>[1-3]</sup>。从对视功能进行解析的敏感度和准确度来说,ERG 对视网膜外层的解析度要明显高于内层,这是因为视觉信号的传导是沿着从外层到内层的次序进行的。视网膜外层的信号很少受到视网膜内层信号的影响,而视网膜内层的信号却受视网膜外层传入信号的影响和制约。另外,视觉信号传导过程中视杆系统和视锥系统之间的相互影响在内层视网膜中体现得更多、更强,这使得 ERG 信号的构成更为复杂<sup>[4]</sup>。

目前,我们对视网膜外层功能的了解主要凭借对 ERG a 波的测量。ERG a 波主要反映视网膜外层,即视细胞层的功能,暗适应 ERG a 波可反映视杆细胞和视锥细胞的混合功能,明适应 ERG a 波则主要反映视锥细胞和部分视锥系统 OFF 的功能。对主要累及外层视网膜的疾病,如视网膜色素变性 (retinitis pigmentosa, RP)、视杆或视锥细胞营养不良等疾病,ERG 可以精确地判断疾病是否累及视杆细胞和/或视锥细胞。然而,有许多视网膜疾病主要累及内层视网膜,如青光眼、早期糖尿病视网膜病变 (diabetic retinopathy, DR)、视网膜中央静脉阻塞、视网膜中央动脉阻塞、视网膜劈裂等。充分了解疾病状态下内层视网膜的客观功能变化在眼科,乃至神经科的临床诊疗过程和基础研究中具有重要意义,也因此有着日益增长的大量需求。但由于视网膜解剖构成及生理功能的复杂性,给研究者们客观、准确地了解内层视网膜的功能变化带来了挑战。

能够反映内层视网膜功能的 ERG 成分包括 b 波、ON-OFF 反应、振荡电位 (oscillatory potentials, OPs)、明视负波反应 (photopic negative response, PhNR) 和暗视阈值反应 (scotopic threshold response, STR)。此外,图形 ERG (pattern ERG, PERG) 也能部分地反映内层视网膜功能。

## 1 ERG b 波

无论是暗适应 ERG 还是明适应 ERG, b 波都是 ERG 的主要成分,正常情况下也是 ERG 中最大的反应波形<sup>[2]</sup>。b 波是继 a 波之后振幅较大的一个正向波,主要起源于视网膜双极细胞,主要反映视网膜内核层的功能。ERG b 波主要由两类反应极性相反的细胞,即对光反应呈正向的 ON-双极细胞和对光反应呈负向的 OFF-双极细胞所产生的反应复合而成。

视杆细胞系统只有正向的 ON-双极细胞,所以暗

适应低刺激光条件下,即 ISCEV 标准暗适应 0.01 时,所记录的 ERG b 波反映的是视杆系统 ON-双极细胞的功能,其方向也总是正向的。暗适应强刺激光条件下,即国际视觉电生理学会 (International Society for Clinical Electrophysiology of Vision, ISCEV) 标准暗适应 10 时所记录的 ERG b 波反映的是包括视杆系统 ON-双极细胞、视锥系统 ON-双极细胞和视锥系统 OFF-双极细胞的复合功能。因为视杆系统和视锥系统的 ON-双极细胞所产生的反应大于视锥系统的 OFF-双极细胞所产生的反应,因此此时 b 波也为正向波。

视锥系统的双极细胞包括 2 种类型,即视锥系统 ON-双极细胞和视锥系统 OFF-双极细胞,对光刺激产生方向相反的 2 种波形<sup>[5]</sup>。明适应强刺激光条件下,即 ISCEV 标准明适应 10 时,视杆系统的功能被压抑,所表现的 b 波是视锥系统 ON-双极细胞和视锥系统 OFF-双极细胞的复合反应。虽然起源于不同的双极细胞,但因为 ON-双极细胞的反应占据主导地位,因此所记录的明适应视锥系统 ERG 的 b 波也表现为正向波<sup>[6]</sup>。因此,若发现 ERG b 波下降,尤其是选择性下降,即可以断定视网膜内核层 ON-双极细胞功能障碍,结合不同的记录条件可进一步判断功能障碍是发生在视杆系统还是视锥系统,此时可以考虑进行 ON-OFF 反应的检查项目。

## 2 ON-OFF 反应

在 ISCEV 最新修订的临床 ERG 国际标准化检查中提及了 ON-OFF 反应<sup>[7]</sup>,在记录明适应 ERG 时,若将刺激光的时间延长至 100 ~ 400 ms,即可将视锥系统 ON-双极细胞和视锥系统 OFF-双极细胞的反应分离<sup>[8]</sup>,分别在刺激的开始和结束时产生 2 个正向的波,称为 b 波和 d 波。这种特征性的改变是视锥系统 ON-双极细胞和视锥系统 OFF-双极细胞对光反应的极性和时间差决定的,目前仅在人类和非人类灵长类动物中发现了这种特征性的反应<sup>[6]</sup>。

当患者常规暗适应和明适应 ERG a 波正常而 b 波相对下降时,应该考虑检查 ON-OFF 反应,因为先天性静止性夜盲、肿瘤相关视网膜病变、视网膜劈裂症、杜兴肌萎缩等疾病会导致特异性 ON-双极细胞,包括视杆系统双极细胞和视锥系统 ON-双极细胞功能障碍,出现 ERG ON 反应 (b 波) 下降但 OFF 反应 (d 波) 正常。

## 3 OPs

OPs 是叠加在 b 波上升支上的若干个高频率的小

波,分别源于视杆系统和视锥系统,但其 OPs 的具体产生机制目前尚不清楚,一般认为其产生于视网膜内层双极细胞、无长突细胞和视网膜神经节细胞及其之间的神经连接,因此 OPs 反映的是视网膜内层的功能。OPs 可以由不同强度的光刺激所引发,强光刺激下诱发的波形更为明显,因此临床上常分析暗适应 3.0 情况下记录的 OPs,此时得到的是视锥细胞和视杆细胞诱发的 OPs 的总和。进行 OPs 分析时需要将其从复合的 ERG 信号中分离出来,提取的方法主要有 2 种:一种是在记录 ERG 时直接设定相应的记录参数,从而得到 OPs,如 ISCEV 标准;另一种是从已记录的混合 ERG(暗适应 3.0)信号中提取。无论应用何种方法,提取 OPs 时要正确设置包括滤波器的通频带和阶等参数,否则所得 OPs 反应中难免混杂有低频率的 a 波和 b 波成分,影响 OPs 的测量和分析<sup>[9-11]</sup>。

除了要分析 OPs 的振幅和潜伏期两项指标以外,OPs 还有另外一个独特的指标,即 OPs 的频率。利用傅里叶转换技术可以方便地对 OPs 的频谱进行分析,即析出 OPs 中各个频率的成分<sup>[9-11]</sup>。在人和动物的研究中均发现,不同物种、不同背景光和不同强度刺激光所诱导的 OPs 的频谱均不同,人视杆系统来源的 OPs 的频率约为 125 Hz,视锥细胞来源的 OPs 的频率约为 80 Hz<sup>[10]</sup>。在以视杆系统功能为主的小鼠和大鼠等动物中,暗适应 OPs 主峰频率为 100 ~ 110 Hz,明适应 OPs 主峰频率约为 65 Hz<sup>[6,10-11]</sup>。目前虽然已有少量关于疾病状态下 OPs 频率反应变化的报道,但 OPs 频率改变与视功能关系的研究还不多。

OPs 最早用于评估 DR 患者的视网膜功能<sup>[12]</sup>。研究发现,DR 患者早期当 ERG a 波和 b 波记录正常时即可出现 OPs 波幅的下降,提示 OPs 在检测某些内层视网膜病变时是较灵敏的指标。

#### 4 PhNR

早期在对恒河猴的明适应 ERG 进行分析和研究过程中发现了一种慢负相电位波,后来称之为 PhNR<sup>[13-14]</sup>。PhNR 引发自视锥系统,但因为内层视网膜中视杆系统和视锥系统之间有一定的解剖联系和功能上的相互影响,因此不能完全排除视杆系统的贡献。PhNR 通常紧随 b 波,但是如果光刺激间期足够长,它可能还会尾随 d 波出现。目前认为 PhNR 可能产生于视网膜神经节细胞,但在低等动物,如鼠类中又被发现与无长突细胞的功能活动有关<sup>[15]</sup>。目前,PhNR 主要用于与视网膜神经节细胞和视神经功能相关疾病,如青光眼的研究中。在恒河猴实验性青光眼模型中发现,视

野缺损尚不严重时 PhNR 的振幅即降低或者消失,而此时 a 波和 b 波并无明显异常。因为恒河猴的视网膜与人的视网膜在解剖结构和生理功能方面相似度极高,所以认为 PhNR 可能对青光眼等影响视网膜神经节细胞疾病的功能检测有较高的价值。近来,PhNR 已用于视网膜疾病和神经眼科学疾病的临床诊断中<sup>[12,16]</sup>,据报道,在青光眼、视神经萎缩、视网膜中央静脉阻塞、药物中毒等患者中均可检测到 PhNR 振幅的明显下降<sup>[17]</sup>。

#### 5 STR

STR 是在充分暗适应的条件下给予非常低强度的光刺激所记录到的具有长潜伏期、小振幅的一个负向波<sup>[18]</sup>。STR 起源于视杆系统,1986 年首次在猫眼中发现。因为引发这一反应的刺激光强接近暗视觉的阈值,因此命名为 STR。STR 是由内层视网膜产生的,研究表明其可能与无长突细胞以及神经节细胞有关。目前认为,STR 是评价内层视网膜功能的一个有用指标,但是由于 STR 信号振幅很小,并且记录条件比较苛刻,因此比较难以记录。另外,不同物种间 STR 差异较大,一般在猫和猴中比较容易记录到经典的负向 STR,在鼠类 STR 却主要表现为一个潜伏期约为 200 ms 的负向波,然而足够强度的刺激光也可以引起一个小的附加的正向成分,该成分潜伏期约为 100 ms,可比 b 波反应提前约 30 ms。目前,有关 STR 与人类疾病关系的研究报道还不多。

#### 6 充分了解 ERG 的记录方法及其在内层视网膜疾病中的诊断作用

在临床实践和基础研究中,对内层视网膜功能的客观评估有着很高的实际需求。ERG 是目前可以客观检测视网膜功能的检查手段和可行的无创检查方法,但是由于视网膜的解剖结构和生理功能特别复杂,视觉电生理检查对内层视网膜视功能活动和异常的辨识度远不如其对外层视网膜那样清楚。近 20 年来,随着视觉电生理记录技术的不断进步,已相继发现一些 ERG 的成分可以特异性地反映内层视网膜的功能状态。通过目标需求以及深入了解分析 ERG 成分的起源,可以合理选择检测内层视网膜功能的 ERG 指标,从而为临床和基础研究工作提供可靠的和客观的参考依据。

#### 参考文献

[1] 雷博. 如何出具视网膜电图视功能诊断报告[J]. 中华眼科杂志,



- 2013, 49 (12) : 1145–1147. DOI: 10. 3760/cma. j. issn. 0412-4081. 2013. 12. 020.
- [2] 雷博. 视觉电生理学的临床解析及研究方向[M]//崔浩,王宁利. 眼科学. 2 版. 北京:人民卫生出版社,2014:197–202.
- [3] 黄时洲,吴德正. 重视眼底形态和功能的综合分析,提高眼底病的诊疗水平[J]. 眼科研究,2007,25(12):897–899.  
Huang SZ, Wu DZ. Diagnosis values of ocular fundus morphological and functional examinations in fundus disease [J]. Chin Eye Res, 2007, 25(12):897–899.
- [4] Lei B. Rod-driven OFF pathway responses in the distal retina: dark-adapted flicker electroretinogram in mouse[J/OL]. PLoS One, 2012, 7(8): e43856 [2016-01-08]. <http://journals.plos.org/plosone/article?id=10.1371/journal.pone.0043856>. DOI:10.1371/journal.pone.0043856.
- [5] Sieving PA, Murayama K, Naarendorp F. Push-pull model of the primate photopic electroretinogram: a role for hyperpolarizing neurons in shaping the b-wave[J]. Vis Neurosci, 1994, 11(3):519–532.
- [6] Lei B. The ERG of guinea pig (Cavis porcellus): comparison with I-type monkey and E-type rat[J]. Doc Ophthalmol, 2003, 106(3):243–249.
- [7] McCulloch DL, Marmor MF, Brigell MG, et al. ISCEV Standard for full-field clinical electroretinography (2015 update) [J]. Doc Ophthalmol, 2015, 130(1):1–12. DOI:10.1007/s10633-014-9473-7.
- [8] Lei B, Bush RA, Milam AH, et al. Human melanoma-associated retinopathy (MAR) antibodies alter the retinal ON-response of the monkey ERG in vivo [J]. Invest Ophthalmol Vis Sci, 2000, 41(1):262–266.
- [9] 郑昌伟,雷博. 视网膜电图振荡电位的提取及定量技术的进展[J]. 中华眼视光学与视觉科学杂志, 2013, 15(6):382–384. DOI:10.3760/cma. j. issn. 1674-845X. 2013. 06. 017.  
Zheng CW, Lei B. Extraction and measurement of electroretinogram oscillatory potentials[J]. Chin J Optom Ophthalmol Vis Sci, 2013, 15(6):382–384. DOI:10.3760/cma. j. issn. 1674-845X. 2013. 06. 017.
- [10] 银娟萍,雷博,彭惠,等. 人类视网膜电图暗适应及明适应振荡电位的参数特征[J]. 南方医科大学学报, 2011, 31(12):2057–2060. DOI:44-1627/R. 20111209. 1751. 010.  
Yin JP, Lei B, Peng H, et al. Characteristics of dark-adapted and light-adapted oscillatory potentials in human electroretinogram [J]. J Southern Med Univer, 2011, 31(12):2057–2060. DOI:44-1627/R. 20111209. 1751. 010.
- [11] Lei B, Yao G, Zhang K, et al. Study of rod- and cone-driven oscillatory potentials in mice[J]. Invest Ophthalmol Vis Sci, 2006, 47(6):2732–2738. DOI:10.1167/iovs.05-1461.
- [12] 张姗姗,陈长征,杨安怀,等. 视网膜电图 PhNR 和 OPs 在非增生型 DR 中的变化特点[J]. 眼科研究, 2009, 27(10):898–901.  
Zhang SS, Chen CZ, Yang AH, et al. Changes of PhNR and OPs in patients with nonproliferative diabetic retinopathy [J]. Chin Ophthalmic Res, 2009, 27(10):898–901.
- [13] Viswanathan S, Frishman LJ, Robson JG, et al. The photopic negative response of the flash electroretinogram in primary open angle glaucoma[J]. Invest Ophthalmol Vis Sci, 2001, 42(2):514–522.
- [14] Viswanathan S, Frishman LJ, Robson JG, et al. The photopic negative response of the macaque electroretinogram: reduction by experimental glaucoma[J]. Invest Ophthalmol Vis Sci, 1999, 40(6):1124–1136.
- [15] Machida S, Raz-Prag D, Fariss RN, et al. Photopic ERG negative response from amacrine cell signaling in RCS rat retinal degeneration[J]. Invest Ophthalmol Vis Sci, 2008, 49(1):442–452. DOI:10.1167/iovs.07-0291.
- [16] 冯超,杨安怀,陈长征,等. 视网膜中央静脉阻塞黄斑水肿玻璃体腔注射曲安奈德后视网膜电图视负向反应变化[J]. 中华实验眼科杂志, 2011, 29(8):730–733. DOI:10.3760/cma. j. issn. 2095-0160. 2011. 08. 015.  
Feng C, Yang AH, Chen CZ, et al. Changes of photopic negative response after intravitreal injection of triamcinolone acetonide for macular edema caused by central retinal vein occlusion [J]. Chin J Exp Ophthalmol, 2011, 29(8):730–733. DOI:10.3760/cma. j. issn. 2095-0160. 2011. 08. 015.
- [17] Machida S. Clinical applications of the photopic negative response to optic nerve and retinal diseases [J/OL]. J Ophthalmol, 2012, 397178 [2016-02-15]. <http://www.hindawi.com/journals/joph/2012/397178/>. DOI:10.1155/2012/397178.
- [18] Sieving PA, Nino C. Scotopic threshold response (STR) of the human electroretinogram [J]. Invest Ophthalmol Vis Sci, 1988, 29(11):1608–1614.

(收稿日期:2016-02-20)

(本文编辑:尹卫靖)

读者·作者·编者

## 本刊对医学研究中知情同意和医学伦理学描述的要求

根据国际医学期刊编辑委员会提供的“生物医学期刊投稿统一要求”的表述,本刊对作者撰写稿件时关于“知情同意”和“医学伦理学”的描述提出如下要求:

(1) 知情同意 在未事先获得知情同意的情况下,患者有隐私不被侵犯的权力。患者的身份信息,包括姓名、来源、住院号等均不应该以文字、图片或家系信息的方式在出版物上公开,除非这些信息对于本研究是必需的,如需在出版物上显示,应征得患者(或者父母、监护人)签署的书面同意书。

发表的文章中应该省略不必要的患者个人信息,但难以做到完全匿名时(如在照片中掩盖患者的眼部,不足以保护患者的隐私权),应提供知情同意的信息。如果用改变患者的身份特征(如遗传家系等)以保护患者隐私权的方法,作者应该确保这些改变不影响研究的科学性,并且编辑应在文中对此予以说明。

(2) 医学伦理学 以人体为实验对象的研究,作者应该提及试验步骤是否符合相应的负责机构、国家委员会或 1975 年赫尔辛基宣言(2005 年修订)的医学伦理学标准。如果研究过程对是否符合赫尔辛基宣言有疑问或存在一定的问题,作者应当做出客观说明并解释研究的合理性,提交已通过审查机构的批准情况。以动物为实验对象的研究,作者应当说明是否遵循当地的相关机构、学会(国内或国外)及国家实验动物保护和指南。

(本刊编辑部)