

ATTI

LXVI

**CONGRESSO DELLA
SOCIETÀ OFTALMOLOGICA ITALIANA**



L'APPORTO ESOGENO DI NERVE GROWTH FACTOR (NGF) PREVIENE LA PERDITA DI NEURONI BINOCULARI NEL RATTO STRABICO

V. Parisi, L. Domenici, M. Fagiolini, L. Maffei

Istituto di Neurofisiologia del CNR, Via S. Zeno, 51 - PISA

RIASSUNTO

Hubel e Wiesel hanno dimostrato che le cellule corticali visive in grado di rispondere ad entrambi gli occhi, sono notevolmente ridotte di numero se durante il primo periodo dello sviluppo postnatale del sistema visivo (periodo critico) è presente una disparità tra le immagini che si formano sulle due retine.

Abbiamo formulato l'ipotesi che la perdita dei neuroni binoculari possa essere dovuta a fenomeni competitivi tra le fibre provenienti dal genicolato per un fattore neurotrofico rilasciato dai neuroni corticali.

Per verificare questa ipotesi abbiamo provocato, all'inizio del periodo critico, una disparità retinica inducendo chirurgicamente uno strabismo convergente in ratti pigmentati. Al termine del periodo critico, abbiamo valutato la distribuzione in classi di dominanza oculare dei neuroni visivi di ratti normali, di ratti strabici e di ratti strabici trattati con iniezioni intraventricolari di NGF per tutto il periodo critico.

Nel ratto strabico si osservava una forte diminuzione dei neuroni binoculari, mentre nel ratto strabico trattato con NGF era presente una distribuzione simile a quella del ratto normale. In conclusione, l'apporto esogeno di NGF previene, nel ratto, la perdita di neuroni binoculari provocata dallo strabismo chirurgicamente indotto.

Parole chiave: Ratto. Strabismo. Corteccia visiva. Fattori neurotrofici.

SUMMARY

Hubel and Wiesel demonstrated that when the input from the two eyes are not balanced during the critical period, as in monocular deprivation and in artificial strabismus, the great majority of binocular of cortical neurons become monocular. This effect is thought to be dependent upon competitive activity dependent interactions between lateral geniculate (LGN) afferents to visual cortical neurons. We advanced the hypothesis that LGN afferents compete for a neurotrophic factor released by target neurons.

To test this hypothesis we induced an artificial strabismus in rats at the beginning of the critical period. We then assessed the ocular dominance distribution in control strabismic rats and in strabismic rats treated with repeated intraventricular injections of NGF throughout the whole critical period. The artificial strabismus was induced by sectioning the lateral rectus muscle under chloral hydrate anaesthesia. The ocular dominance distribution of visual cortical neurons was assessed at the end of the critical period by extracellular recordings using a micropipette inserted in the binocular portion of the visual cortex. The results show that rats raised with an esotropia present a dramatic reduction of binocular neurons while esotropic NGF treated rats show an ocular dominance distribution similar to normal. We conclude that an exogenous supply of NGF was able to prevent the effects induced by artificial strabismus in rats.

Key words: rat, strabismus, visual cortex, neurotrophic factors.

Atti del LXXI Congresso della S.O.I. - Roma, 5-8 dicembre 1991

Introduzione

Le caratteristiche funzionali ed anatomiche delle aree corticali vengono acquisite progressivamente durante lo sviluppo.

Prima dell'apertura degli occhi (nel ratto e nel gatto al giorno 14 di vita postnatale, nelle scimmie al momento della nascita) l'innervazione dell'area visiva primaria da parte delle fibre provenienti dalle lamine ipsi e contro del nucleo genicolato laterale (LGN) è diffusa e la maggiorparte delle cellule corticali è sotto il controllo di entrambi gli occhi. In seguito si riscontra una segregazione delle fibre che porta ad una organizzazione dei neuroni corticali in colonne di dominanza oculare (1-3).

Secondo il modello proposto da Hubel e Wiesel (2), basato su osservazioni sperimentali ottenute nel gatto, la segregazione sarebbe dovuta a processi competitivi che porterebbero al prevalere di determinati terminali su altri: quelli sconfitti si ritirerebbero determinando una riduzione di sovrapposizione ed un maggiore raggruppamento di quelli rimanenti (processo di formazione delle colonne).

I meccanismi che sottostanno a questi processi sono indipendenti dalla visione delle forme che a questo stadio nel gatto, è ancora fortemente immatura.

La visione delle forme e quindi un'interazione attiva con l'ambiente comporta un ulteriore affinamento delle proprietà funzionali ed anatomiche dei neuroni delle aree visive corticali.

I neuroni subiscono un modellamento dei loro campi recettivi (in genere diventano più piccoli) e

acquisiscono selettività per l'orientamento e per la direzione di movimento degli stimoli visivi. Anche le colonne di dominanza oculare vanno incontro a modificazioni successive con un'ulteriore riduzione della sovrapposizione dei terminali e quindi del numero di cellule binoculari (per una review vedi 4).

Qualsiasi tipo di manipolazione o di patologia che comporti una perdita della visione binoculare nell'uomo come nella scimmia, nel gatto e nel ratto nel primo periodo dello sviluppo postnatale (periodo critico) determina un'alterazione permanente della circuiteria a livello delle aree corticali visive (5-8).

Per esempio quando gli stimoli visivi provenienti dai due occhi non cadono su punti corrispondenti delle due retine, i neuroni che ricevono un ingresso funzionale da entrambi gli occhi (cellule binoculari) appaiono drasticamente ridotti (9).

In termini di attività elettrica, l'alterata corrispondenza retinica provocherebbe un'asincronia tra la scarica elettrica delle fibre afferenti ai neuroni visivi corticali guidati dall'occhio normale e da quello strabico. Solo i neuroni la cui scarica sia tra loro correlata stabilizzano le loro sinapsi.

I meccanismi che controllano i processi competitivi a livello della corteccia visiva dei mammiferi non sono ancora conosciuti sebbene numerose teorie siano state proposte (per una review vedi 10).

Nel presente lavoro abbiamo formulato l'ipotesi che le afferenze alla corteccia visiva possano competere per un fattore neurotrofico la cui produzione e/o rilascio sia attività-dipendente.

Il normale apporto di questo fatto-

re neurotrofico comporterebbe la stabilizzazione funzionale ed anatomica delle sinapsi corticali visive.

Abbiamo verificato questa ipotesi incrementando in ratti resi strabici durante il periodo critico i livelli endogeni di "nerve growth factor" (NGF), in modo da attenuare o eliminare gli effetti della competizione. Il NGF è un fattore neurotrofico ben caratterizzato, la cui azione a livello del Sistema Nervoso Periferico e del Sistema Nervoso Centrale (11) è ben nota.

Dati recenti dimostrano, inoltre, che sia il NGF che il suo recettore sono presenti nel sistema visivo del ratto e della scimmia (12-16).

I risultati indicano che somministrazioni esogene di NGF prevengono gli effetti causati dallo strabismo chirurgicamente indotto.

Materiali e metodi

Abbiamo utilizzato, nel nostro esperimento, 17 ratti pigmentati "Long Evans". Di questi, 5 erano ratti normali di controllo, e 12 erano ratti in cui era stato indotto chirurgicamente uno strabismo convergente.

L'intervento chirurgico era effettuato in un solo occhio e consisteva nella tenotomia del muscolo retto esterno nel punto di inserzione sclerale a 2 mm dal limbus. In tutti i ratti, tale intervento veniva effettuato immediatamente dopo l'apertura degli occhi, cioè al giorno 14 di vita postnatale (P14).

Dei 12 ratti resi strabici, 5 non sono stati trattati, 5 sono stati trattati con iniezioni intraventricolari di una soluzione contenente B-NGF e 2 (ratti di controllo) con una soluzione contenente citocromo C, molecola

con stesso punto isoelettrico dell'NGF che viene normalmente utilizzata come sostanza di controllo (17).

Il trattamento con NGF o con citocromo C è iniziato a P14 ed è continuato a giorni alterni per un mese (P45). È questo, infatti, il periodo critico della plasticità corticale visiva nel ratto. Ciò è stato dimostrato sia con studi di comportamento, che con studi anatomici (18,19).

Il B-NGF (Fidia Research Laboratories, Abano Terme) era preparato in soluzione salina di 1-1.6 ug/ul ed il volume iniettato era di 2 ul. Il citocromo C era in soluzione salina 1 ug/ul ed il volume iniettato era di 2 ul.

Le iniezioni di B-NGF e di citocromo C venivano effettuate intraventricolarmente, tramite una microsiringa connessa ad una cannula (calibro 27) inserita 1 mm lateralmente alla linea mediana ed 1 mm posteriormente al bregma.

In alcuni ratti è stato effettuato nel sito di iniezione, un marcaggio con "Pontamina sky blue", al fine di dimostrare che l'iniezione fosse effettuata effettivamente all'interno del ventricolo laterale.

La diffusione dell'NGF è stata valutata applicando una piccola striscia di circa 1 mm² di fibrina (Zimospuma, Baldacci Farmaceutica, Pisa) imbevuta con NGF iodinato (attività specifica 64.1 uCi/ug) sulla superficie corticale corrispondente al bregma. La diffusione era approssimativamente di 3 mm dal bregma in 24 ore (20).

Durante l'intervento chirurgico, e durante le iniezioni di NGF o citocromo C, l'animale era posto in stato di anestesia generale con etere.

Registrazione dei singoli neuroni di corteccia visiva

Al termine del periodo critico (P45) abbiamo valutato l'effetto dello strabismo e del relativo trattamento con NGF o citocromo C mediante registrazioni extracellulari da singoli neuroni della corteccia visiva primaria.

A tal fine abbiamo utilizzato la seguente metodica.

Ciascun ratto veniva sottoposto ad anestesia generale con iniezione intraperitoneale di uretano (7 cc/kg, soluzione al 20%, Sigma). Una volta anestetizzato, il ratto veniva fissato in un apparato stereotassico e gli occhi, tramite anellini di metallo applicati intorno al bulbo, venivano riportati al normale allineamento, eliminando l'angolo di strabismo presente. Tale angolo è stato valutato intorno alle 8-10 diottrie prismatiche.

Successivamente veniva inserita una micropipetta piena di soluzione di NaCl (3 M) nella porzione binoculare della corteccia visiva primaria (Area binoculare 17 o area OC1B).

Le registrazioni venivano effettuate dapprima nella corteccia controlaterale all'occhio strabico e successivamente nella corteccia ipsilaterale all'occhio strabico.

Le condizioni dei ratti era monitorizzata tramite ECG; la temperatura corporea era mantenuta costante intorno ai 38 gradi.

Lo stimolo visivo era costituito da barre luminose proiettate su uno schermo riflettente oppure da reticoli di diversi orientamenti, frequenze spaziali e contrasto, generati da un computer (Kyber) su un display (HP 1300A).

Una volta isolata una cellula della

corteccia visiva, se ne valutava la localizzazione del campo recettivo, la sua orientazionalità e la sua risposta alla stimolazione dell'uno e dell'altro occhio.

Veniva definita come "orientazionale" una cellula in grado di rispondere ad un determinato orientamento dello stimolo visivo ma non ad uno stimolo di orientamento ortogonale al precedente e come "non orientazionale" una cellula in grado di rispondere sia ad un determinato orientamento che al suo ortogonale.

Per ciascuna cellula veniva valutata la classe di dominanza oculare: infatti le cellule della corteccia binoculare possono rispondere esclusivamente a stimoli visivi presentati dall'occhio controlaterale (classe 1), prevalentemente a stimoli dell'occhio controlaterale (classi 2-3), in modo uguale a stimoli di entrambi gli occhi (classe 4), prevalentemente a stimoli dell'occhio ipsilaterale (classi 5-6) o a stimoli presentati esclusivamente all'occhio ipsilaterale (classe 7). Erano considerate cellule "non classificabili" quelle che non rispondevano allo stimolo visivo.

Per ciascun ratto abbiamo preso in considerazione l'indice di controlateralità (rapporto percentuale del numero di cellule di classe 1-2-3 rispetto al numero totale di cellule responsive), l'indice di binocularità (rapporto percentuale 2-3-4-5-6/totale) e l'indice di ipsilateralità (rapporto percentuale 5-6-7/totale).

La distribuzione in classi di dominanza oculare osservata nei ratti normali, strabici, in quelli strabici trattati con NGF o citocromo C è stata valutata statisticamente mediante l'analisi della varianza (ANOVA).

In alcune cellule di ratti normali,

strabici e strabici trattati con NGF, sono state determinate le curve di risposta a reticoli di diversa frequenza spaziale. Questa era misurata in cicli/grado (per cicli/grado si intende il numero di periodi del reticolo contenuti in un grado di angolo visivo). Le barre del reticolo, il cui contrasto era mantenuto intorno al 40%, si alternavano in modo cadenzato nel tempo alla frequenza temporale di 0.5-1 HZ.

Per ogni cellula è stata valutata la risposta in spikes/sec in relazione alle diverse frequenze spaziali di stimolazione. La risposta veniva mediata "on line" e analizzata mediante l'analisi spettrale di Fourier.

La risposta di un singolo neurone corticale è modulabile nel tempo ed il periodo di modulazione può coincidere (prima armonica) o essere doppio (seconda armonica) rispetto alla frequenza di inversione del reticolo. L'ampiezza dell'armonica principale veniva considerata come ampiezza della risposta. Per ciascuna frequenza spaziale veniva valutato il rapporto tra l'ampiezza del segnale (armonica principale) in presenza di stimolo visivo e l'ampiezza del rumore. Il rumore era valutato misurando la scarica della singola cellula in assenza di stimolo visivo.

Risultati

Nella figura 1 sono riportate le distribuzioni in classi di dominanza oculare dei neuroni registrati nella corteccia visiva primaria dei ratti normali, dei ratti strabici, dei ratti strabici trattati con NGF o citocromo C. La corteccia in esame era controlaterale all'occhio strabico.

Gli indici di controlateralità, ipsilateralità e binocularità sono riportati nella tabella 1.

Nel ratto normale (Fig. 1A) è presente una distribuzione in classi di dominanza oculare che riflette la prevalenza delle fibre crociate rispetto a quelle dirette (21): infatti i neuroni corticali dominati dall'occhio controlaterale sono il 65.8%, mentre quelli dominati dall'occhio ipsilaterale sono solo il 10.6%. È da rilevare che il 76.6% delle cellule risponde a stimoli provenienti da entrambi gli occhi, in accordo con quanto già dimostrato da precedenti studi (22,23).

Nel ratto reso strabico durante il periodo critico (Fig. 1B) si osserva, rispetto al normale, una significativa riduzione dei neuroni binoculari (indice di binocularità: 30.3%; $F [1,8] = 108; P < 0.01$). Si ha inoltre un aumento delle cellule di classe 1, 5-6 e 7 ed una riduzione di quelle di classe 2. Tuttavia tali modificazioni risultavano essere statisticamente influenti sugli indici di controlateralità ed ipsilateralità (indice di controlateralità: 71.6%, $F (1,8) = .355, P > 0.05$; indice di ipsilateralità: 25%, $F (1,8) = 2.57, P > 0.05$).

Nel ratto reso strabico e trattato con NGF durante il periodo critico (Fig. 1C), abbiamo osservato come la perdita della binocularità sia prevenuta dal trattamento con NGF. Infatti l'indice di binocularità è del 72.9% e pertanto statisticamente non differente ($F [1,8] = 3.15; P > 0.05$) rispetto al normale.

L'indice di controlateralità (67.6%) e quello di ipsilateralità (12.6%) non differivano statisticamente ($P > 0.05$) rispetto a quelli del normale.

Si può concludere, quindi, che nei

ratti strabici il trattamento con NGF conserva una distribuzione normale, in classi di dominanza oculare, dei neuroni corticali.

Nel ratto reso strabico e trattato durante il periodo critico con citocromo C (Fig. 1D) si osserva una distribuzione in classi di dominanza oculare sovrapponibile a quella del ratto strabico non trattato, con diminuzione significativa delle cellule binoculari (indice 36%; $F [1.5] = 135, P < 0.01$).

Nella figura 2 sono riportate le distribuzioni delle classi di dominanza oculare dei ratti strabici non trattati (A) e dei ratti strabici trattati con NGF (B) osservate nella corteccia ipsilaterale all'occhio reso strabico. Nei ratti strabici la distribuzione era pressochè uguale a quella osservata nella corteccia controlaterale all'occhio strabico, mentre nei ratti strabici trattati con NGF la distribuzione poteva considerarsi simile a quella osservata del ratto normale.

Al fine di valutare se lo strabismo o il trattamento con NGF abbiano potuto modificare le proprietà funzionali dei neuroni visivi, abbiamo valutato alcune proprietà specifiche di questi, come l'orientazionalità e la risposta a stimoli visivi di diversa frequenza spaziale.

L'orientazionalità non è modificata dalla presenza di strabismo o dal trattamento con NGF. Infatti le cellule non orientazionali registrate nei ratti strabici ed in quelli strabici trattati con NGF non aumentano significativamente rispetto a quelle del ratto normale. Infatti nel ratto normale le cellule non orientazionali sono il $33 \pm 5\%$, nel ratto strabico il $31 \pm 3\%$ e nel ratto strabico trattato con NGF sono il $33 \pm 7\%$ (Fig. 3).

Le curve di risposta dei singoli

neuroni corticali a stimoli di diversa frequenza spaziale registrate in ratti normali, strabici e strabici con NGF sono riportate nella figura 4.

Le curve osservate nel ratto trattato con NGF sono sostanzialmente sovrapponibili a quelle del ratto normale, per cui è evidente che il trattamento con NGF non altera la selettività per le frequenze spaziali dello stimolo. Nei ratti strabici le cellule tendono a rispondere ad un intervallo di frequenze spaziali più ampio del normale. Il numero di cellule registrate è però troppo piccolo per trarre definitive conclusioni su questo specifico punto.

Discussione e conclusioni

Nel ratto pigmentato lo strabismo esoforico chirurgicamente indotto all'inizio del periodo critico, provoca una notevole riduzione dei neuroni binoculari della corteccia visiva primaria. Ciò risulta essere in accordo con quanto già osservato nel gatto (9,24-27) e nella scimmia (28,29).

Gli effetti dello strabismo sono uguali sia nella corteccia controlaterale che ipsilaterale all'occhio reso strabico e quindi lo sbilanciamento tra le afferenze provenienti dai due occhi provoca lo stesso effetto su entrambe le cortecce.

Nel ratto reso strabico e trattato con NGF si osserva una distribuzione in classi di dominanza oculare dei neuroni visivi uguale a quella osservata nel ratto normale; ciò si verifica sia nella corteccia controlaterale che in quella ipsilaterale all'occhio reso strabico. Quindi il trattamento con NGF previene la perdita dei neuroni binoculari indotta dallo strabismo.

Quanto da noi osservato non può essere ascrivibile ad effetti aspecifici, quali quelli causati dalla manipolazione dell'animale durante il trattamento con le iniezioni intraventricolari. Infatti i ratti strabici e trattati con citocromo C presentano le stesse caratteristiche dei ratti strabici non trattati. Sembra inoltre da escludere che somministrazioni ripetute di NGF abbiano potuto avere effetti tossici sui neuroni corticali: proprietà specifiche dei neuroni della corteccia visiva, quali l'orientazionalità e la selettività per determinate frequenze spaziali, non risultano essere alterate dal trattamento con NGF.

Anche la deprivazione monoculare effettuata durante il periodo critico è stata utilizzata per studiare i fenomeni plastici che caratterizzano la corteccia visiva dei mammiferi (6-8). In questo caso il forte sbilanciamento di input a favore dell'occhio non deprivato determina una diminuzione dei neuroni guidati dall'occhio deprivato e di quelli binoculari, mentre si osserva un aumento dei neuroni guidati dall'occhio non deprivato. Recentemente è stato dimostrato in questo laboratorio (20, 30-32), che gli effetti indotti dalla deprivazione monoculare effettuata durante il periodo critico sono totalmente prevenuti da somministrazioni esogene di NGF.

I risultati ottenuti con il trattamento con NGF in ratti deprivati ed in ratti strabici, fanno ipotizzare che esista una precisa interazione tra l'attività elettrica delle fibre afferenti alla corteccia e la produzione e/o rilascio da parte della cellula target di fattore neurotrofico (NGF).

Secondo questo modello, le fibre più attive in termini di attività elet-

trica disporrebbero del NGF rilasciato dalla cellula target. L'assunzione di NGF permetterebbe la stabilizzazione strutturale e funzionale delle sinapsi.

Tuttavia lo stato attuale della ricerca sulla interazione tra fattori neurotrofici e plasticità visiva corticale lascia diversi punti che dovranno essere approfonditi da ulteriori studi di biologia molecolare. Infatti non è ancora ben definita la localizzazione delle cellule corticali in grado di sintetizzare e rilasciare NGF e la distribuzione delle fibre che presentano il recettore per il NGF; inoltre è da comprendere ulteriormente il ruolo dei fattori neurotrofici nei meccanismi che presiedono alla stabilizzazione delle sinapsi corticali.

Ci sembra però importante sottolineare che è possibile modulare mediante somministrazione esogena di NGF i fenomeni di formazione e stabilizzazione delle sinapsi durante il periodo critico.

Questi risultati, oltre ad aprire nuove prospettive nella comprensione dei fenomeni presenti durante lo sviluppo del sistema visivo, potrebbero avere implicazioni terapeutiche nella prevenzione degli effetti ambliopici che molteplici patologie oculari sono in grado di produrre.

Ringraziamenti: Si ringraziano la Prof. N. Berardi e il Dott. T. Pizzorusso per aver contribuito alla realizzazione di questo lavoro; il Sig. G. Cappagli per l'assistenza tecnica; i Dr. D. Burr e C. Morrone per aver elaborato il software per l'acquisizione dei segnali bioelettrici; la Fidia s.p.a. per aver donato il NGF.

Tabella 1

Ratto Trattamento	N Cellule	Indice di Controlat.	Indice di Ipsilater.	Indice di Binocular.
NOR1 non trattati	22	.77	.05	.73
NOR2 non trattati	33	.69	.09	.75
NOR3 non trattati	32	.69	.09	.78
NOR4 non trattati	23	.52	.17	.82
NOR5 non trattati	31	.61	.12	.77
Media e SD (\pm)		.66 \pm .09	.11 \pm .04	.77 \pm .03
ST1 Tenotomia R.L.	34	.42	.53	.41
ST2 Tenotomia R.L.	24	.95	.00	.21
ST3 Tenotomia R.L.	19	.68	.31	.26
ST4 Tenotomia R.L.	25	.72	.24	.24
ST5 Tenotomia R.L.	43	.79	.16	.39
Media e SD (\pm)		.71 \pm .19	.25 \pm .19	.30 \pm .09
		F (1,8)=.34	F (1,8)=2.58	F (1,8)=1.15
		P>0.05	P>0.05	P<0.01
NGF1 T.R.L. + ngf	28	.75	.10	.68
NGF2 T.R.L. + ngf	29	.69	.10	.72
NGF3 T.R.L. + ngf	22	.50	.27	.73
NGF4 T.R.L. + ngf	30	.76	.06	.73
NGF5 T.R.L. + ngf	28	.68	.10	.78
Media e SD (\pm)		.67 \pm .10	.13 \pm .08	.73 \pm .03
		F (1,8)=.10	F (1,8)=.27	F (1,8)=.3.64
		P>0.05	P>0.05	P>0.05
CIT1 T.R.L. + cit	40	.67	.27	.40
CIT2 T.R.L. + cit	25	.80	.16	.32
Media e SD (\pm)		.73 \pm .09	.21 \pm .07	.36 \pm .05
		F (1,5)=1.0	F (1,5)=6.29	F (1,5)=15.4
		P>0.05	P>0.05	P<0.01

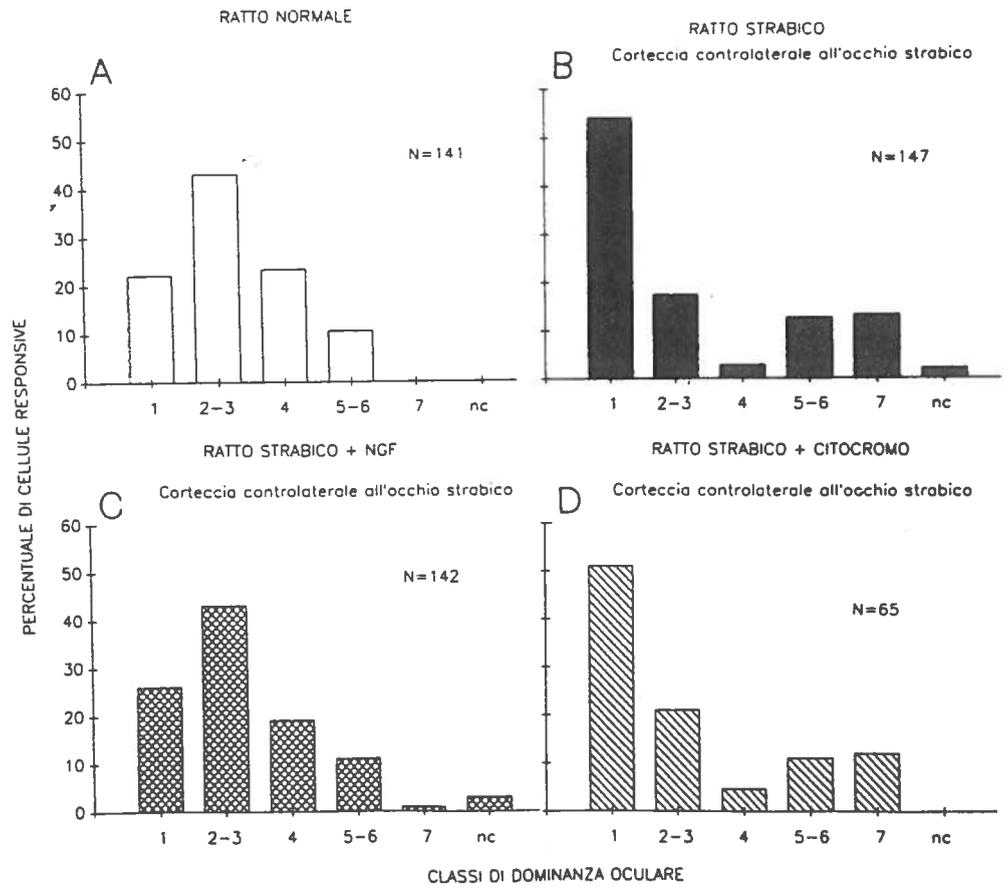


Figura 1

Distribuzione in classi di dominanza oculare dei neuroni della corteccia visiva del ratto normale (A), del ratto strabico (B), del ratto strabico trattato con NGF (C) e del ratto strabico trattato con citocromo C (D). Le singole cellule sono state registrate nella corteccia contralaterale all'occhio strabico (area visiva primaria, porzione binoculare). I neuroni di classe 1 sono guidati esclusivamente dalla stimolazione dell'occhio contralaterale; i neuroni di classe 2-3 sono binoculari e guidati preferenzialmente dall'occhio contralaterale; i neuroni di classe 4 sono guidati in modo uguale dai due occhi; i neuroni di classe 5-6 sono binoculari e guidati preferenzialmente dall'occhio ipsilaterale; i neuroni di classe 7 sono guidati esclusivamente dalla stimolazione dell'occhio ipsilaterale. Erano considerate come "non classificabili (nc)" quelle cellule che non rispondevano allo stimolo visivo. Nel ratto strabico ed in quello trattato con citocromo C si osserva, rispetto al ratto normale una riduzione delle cellule di classe 4 (neuroni binoculari) ed un aumento delle cellule di classe 1 e 7 (neuroni esclusivamente monoculari). Nel ratto strabico e trattato con NGF la distribuzione è uguale a quella del ratto normale.

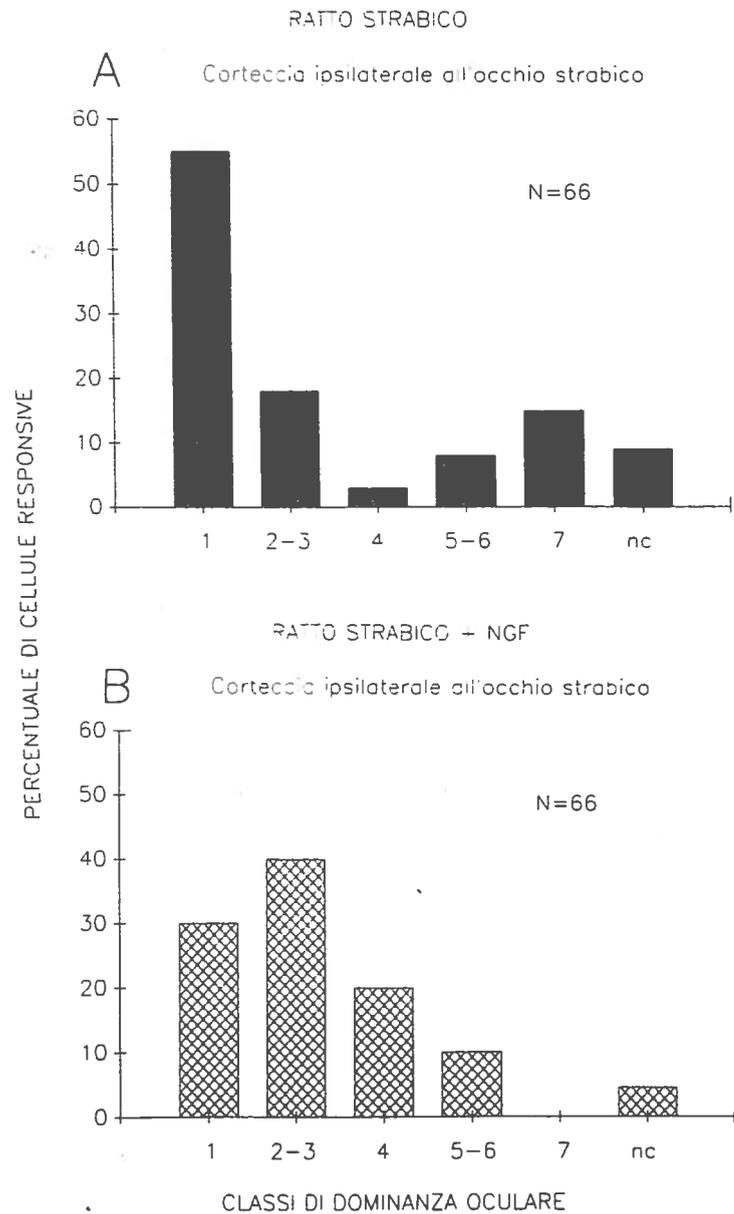


Figura 2

Distribuzione in classi di dominanza oculare dei neuroni visivi del ratto strabico (A) e del ratto strabico trattato con NGF (B). I singoli neuroni venivano registrati nella corteccia ipsilaterale all'occhio strabico e venivano classificati secondo lo stesso criterio utilizzato per la corteccia controlaterale. In questa corteccia si osserva nel ratto strabico una riduzione dei neuroni di classe 4 ed un aumento di quelli di classe 1 e 7. Nel ratto strabico trattato con NGF si rileva, rispetto allo strabico non trattato, un aumento dei neuroni binoculari (classe 4) ed una riduzione di quelli esclusivamente monoculari (classi 1 e 7), con una distribuzione simile a quella del ratto normale.

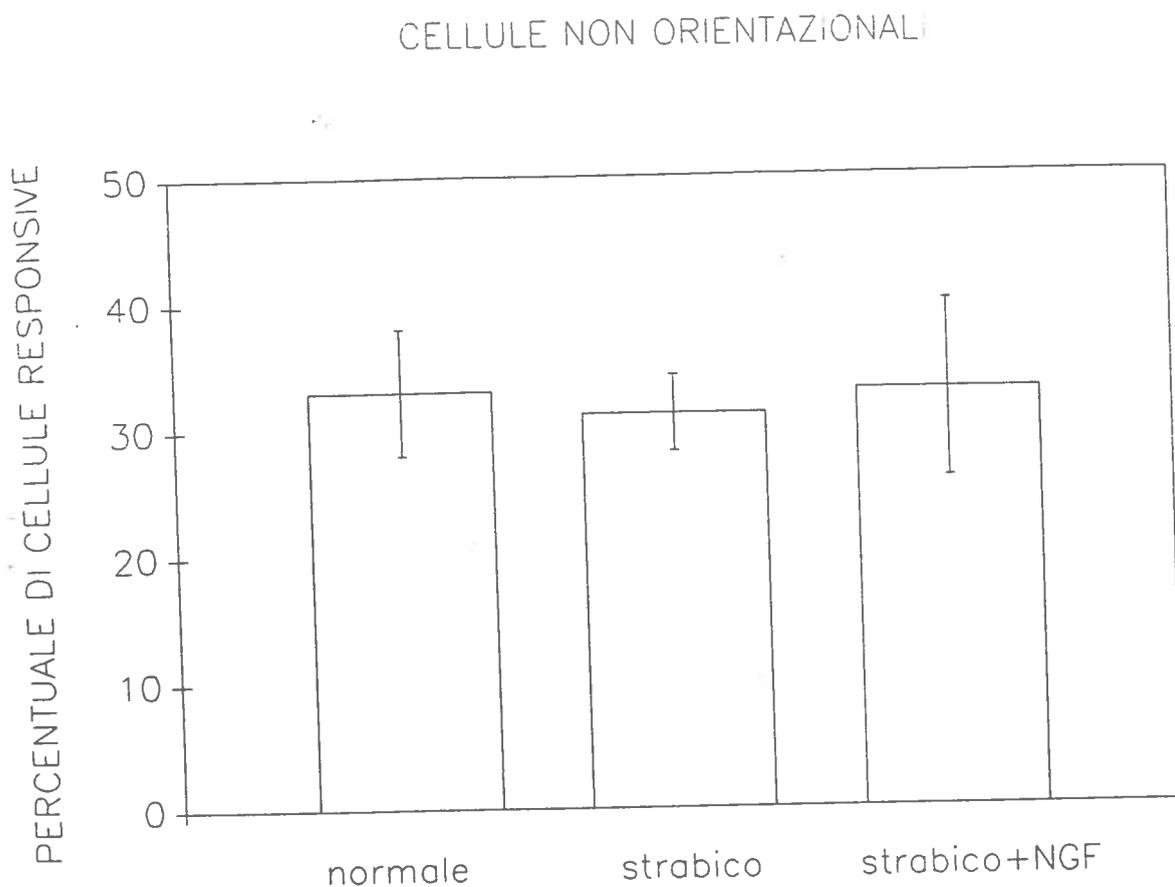


Figura 3

L'istogramma riporta la percentuale di cellule non orientazionali sul totale di cellule responsive del ratto normale, strabico e strabico trattato con NGF. I singoli neuroni visivi hanno la proprietà di rispondere in modo selettivo ad uno stimolo luminoso presentato con un preciso orientamento. Venivano, pertanto, classificate come "orientazionali" le cellule in grado di rispondere ad un determinato orientamento dello stimolo visivo ma non al suo ortogonale e come "non orientazionali" le cellule in grado di rispondere ad un determinato orientamento ed al suo ortogonale. Il numero totale di cellule registrate era di 141 nel ratto normale, 147 nel ratto strabico e 142 nel ratto strabico trattato con NGF. La percentuale delle cellule non orientazionali non varia significativamente tra i ratti normali, gli strabici e gli strabici trattati con NGF.

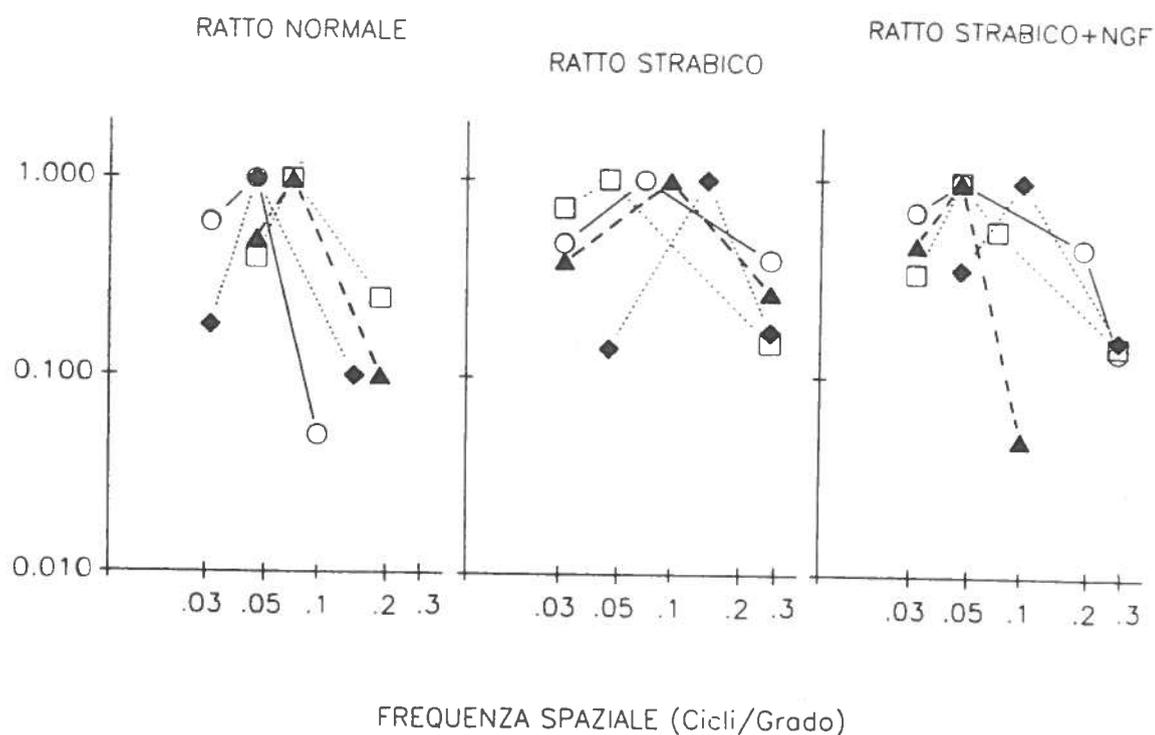


Figura 4

Curve di risposta dei neuroni corticali visivi in funzione della frequenza spaziale dello stimolo. Le registrazioni dei singoli neuroni venivano effettuate nella corteccia visiva primaria. Per ciascuna frequenza spaziale la risposta di ogni cellula era rappresentata dalla modulazione in frequenza della sua scarica. Per ogni cellula sono state prese in esame le risposte relative a tre frequenze spaziali: la frequenza spaziale in grado di dare la risposta di massima ampiezza (picco) e la frequenza spaziale più bassa e più alta in grado di dare una risposta diversa dal rumore. Nella ascissa sono riportate le diverse frequenze spaziali di stimolazione. Le risposte alle altre frequenze spaziali sono state normalizzate in rapporto all'ampiezza del picco. Per ogni singola cellula è stato utilizzato lo stesso simbolo. Nel ratto normale i neuroni visivi rispondono selettivamente ad alcune frequenze spaziali; nel ratto strabico si osserva un più rapido intervallo di risposta, mentre nel ratto strabico trattato con NGF le curve sono più simili a quelle osservate nel ratto normale.

Bibliografia

1. Hubel DH and Wiesel TN. Receptive fields of cells in striate cortex of very young, visually inexperienced kittens. *J. Neurophysiol.* 26:994-1002, 1963.
2. Hubel DH and Wiesel TN. Receptive fields, binocular interaction and functional architecture in the cat's visual cortex. *J. Physiol.* 160:106-154, 1962.
3. LeVay S, Stryker MP and Shatz CJ. Ocular dominance column and their development in later IV of the cat's visual system. *J. Comp. Neurol.* 179:223-244 1978.
4. Kalil RE. Formazione di sinapsi durante lo sviluppo del cervello. *Le Scienze* 258:34-43, 1990.
5. Stafford CA. Critical period plasticity for visual function: Definition in monocularly deprived rats using visually evoked potentials. *Ophthalm. Physiol. Opt.* 4:95-100, 1984.
6. Dräger UC. Observations on monocular deprivation in mice. *J. Neurophysiol.* 41:28-42, 1978.
7. LeVay S, Wiesel TN and Hubel DH. The development of ocular dominance columns in normal and visually deprived monkeys. *J. Comp. Neurol.* 191:1-51, 1980.
8. Wiesel TN and Hubel DA. Single cell responses in striate cortex of kittens deprived of vision in one eye. *J. Neurophysiol.* 26:1003-1017, 1963.
9. Hubel DH and Wiesel TN. Binocular interaction in striate cortex of kittens reared with artificial squint. *J. Neurophysiol* 28:1041-1059, 1965.
10. Schatz CJ. Impulse activity and patterning of connections during CNS development. *Neuron*, 5:745-756, 1990.
11. Levi-Montalcini R. The Nerve-Growth Factor 35 years later. *Science* 237:1154-1162, 1987.
12. Large TH, Bodary SC, Clegg DO, Weskamp G, Otten U. and Reichardt LF. Nerve growth factor gene expression in the developing rat brain. *Science* 234:352-355, 1986.
13. Cremisi F, Domenici L, Pizzorusso T, Lombardo A, Bozzi Y, Maffei L and Barsacchi G. Role of NGF in the developing visual system of the rat. *ABCD Abstracts*, In press, 1991.
14. Hayashi M, Yamashita A and Shimizu K. Nerve Growth Factor in the primate Central Nervous System: regional distribution and ontogeny. *Neuroscience* 36:683-689, 1990.
15. Pioro EP and Cuello AC. Distribution of nerve growth factor receptor-like immunoreactivity in the adult rat central nervous system. Effect of colchicine and correlation with the cholinergic system-I. Forebrain. *Neuroscience* 34:57-87, 1990.
16. Vantini G, Schiavo N, Di Martino A, Polato P, Triban C, Callegaro L, Toffano G and Leon A. Evidence for a physiological role of Nerve Growth Factor in the Central Nervous System of neonatal rats. *Neuron* 3:267-273, 1989.
17. Hendry IA. In vivo administration of Nerve Growth Factor. In *Nerve Growth Factors* (ed. Rush R.A.) IBRO Handbook Series Vol.

12 John Wiley & Sons, 1989. New York.

18. Rothblat LA and Schwartz ML. The effect of monocular deprivation on dendritic spines in visual cortex of young and adult albino rats: evidence for a sensitive period. *Brain Res.* 161:156-161, 1979.

19. Rothblat LA, Schwartz ML and Kasdan PM. Monocular deprivation in the rat: evidence for an age-related defect in visual behavior. *Brain Res.* 158:456-460, 1978.

20. Domenici L, Berardi N, Carmignoto G, Vantini G and Maffei L. Nerve growth factor (NGF) prevents the amblyopic effects of monocular deprivation. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* In press., 1991.

21. Polyak P. The vertebrate visual system. 1957. University Chicago Press.

22. Burne RA, Parnavelas JG and Lin CS. Response properties of neurons in the visual cortex of the rat. *Exp. Brain Res.* 53:374-383, 1984.

23. Parnavelas JG, Burne RA and Lin CS. Receptive field properties of neurons in the visual cortex of the rat. *Neurosci. Lett.* 27:291-296, 1981.

24. Chino YM, Shansky MS, Jankowski WL and Banser FA. Effects of rearing kittens with convergent strabismus on development of receptive-field properties in striate cortex neuron. *J. Neurophysiol.* 50:265-286, 1983.

25. Holopigian K and Blake R. Spatial vision in strabismic cats. *J. Neurophysiol.* 50:287-296, 1983.

26. Kalil RE, Spear PD and Langsetmo A. Response properties of striate cortex neurons in cats raised

with divergent or convergent strabismus. *J. Neurophysiol.* 32:514-537, 1984.

27. Van Sluyters RC and Levitt FB. Experimental strabismus in the kitten. *J. Neurophysiol.* 43:686-699, 1990.

28. Crawford MLJ and von Noorden GK. The effects of short-term experimental strabismus on the visual system in macaca mulatta. *Invest. Ophthalmol. & Vis Sci* 18: 496-505, 1979.

29. Baker FH, Grigg P and von Noorden GK. Effects of visual deprivation and strabismus of the response of neurons in the visual cortex of the monkey, including studies on the striate and prestriate cortex in normal animals. *Brain Res.* 66:185-208, 1974.

30. Berardi N, Carmignoto G, Cremisi F, Domenici L, Maffei L, Parisi V and Pizzorusso T. NGF prevents the change in ocular dominance distribution induced by monocular deprivation in the rat visual cortex. *J. Physiol.* 434: 14P, 1991.

31. Berardi N, Carmignoto G, Domenici L and Maffei L. Intravitreal NGF injections prevent the effects of monocular deprivation in the rat. *J. Physiol.* 422: 9P, 1990.

32. Maffei L, Berardi N, Carmignoto G, Cellerino A, Domenici L, Fiorentini A and Pizzorusso T. Role of neurotrophic factors in the plasticity of the mammalian visual system. In *Proceedings of the retina research symposia*. MIT press, In press.