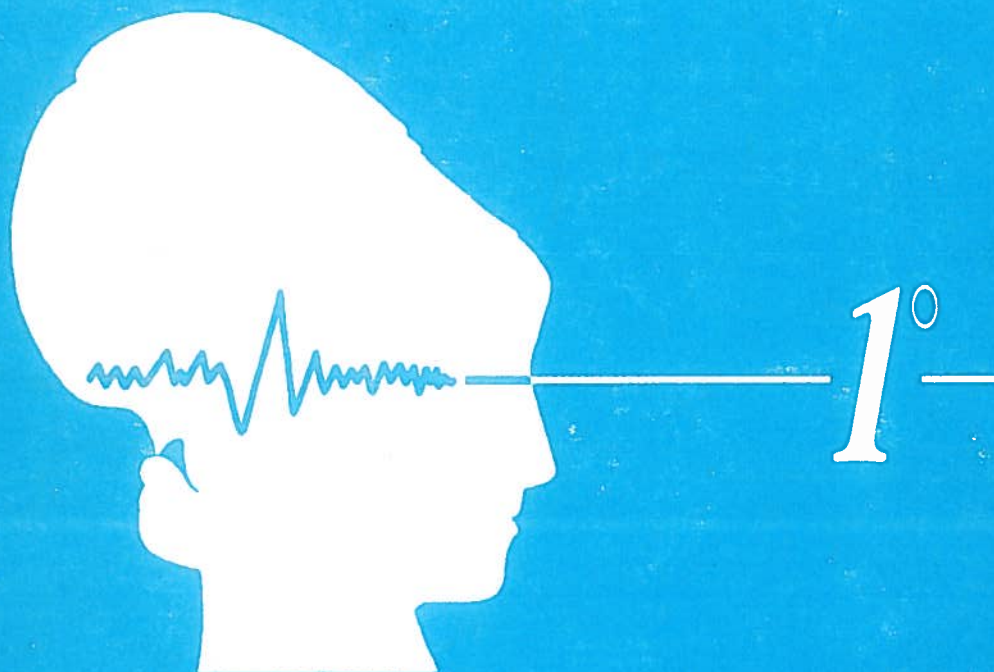


INCONTRI – DIBATTITO DI OFTALMOLOGIA



**NEUROFISIOLOGIA DELLA VISIONE:  
DALLA SPERIMENTAZIONE ALLA CLINICA**

FONDAZIONE  
PER L'OFALMOLOGIA  
G.B. BIETTI



CLINICA OCULISTICA  
DELL'UNIVERSITÀ  
DI ROMA  
TOR VERGATA



*Roma, 20 Giugno 1992*



ASPETTI ELETTOFISIOLOGICI  
DEL SISTEMA DOPAMINERGICO RETINICO NELL'UOMO  
SELETTIVITA' DELLE FUNZIONI D1 E D2

Stanzione P., Traversa R., Pierantozzi M., Semprini R.,  
Parisi V.\*, Spanedda F.

Clinica Neurologica Università di Roma, Tor Vergata.  
\* Clinica Oculistica Università di Roma, Tor Vergata.

L'Elettroretinogramma (ERG) è un potenziale elettrico registrato in prossimità dei globi oculari, espressione dell'attività della complessa rete neuronale retinica.

Il PERG è stato impiegato per valutare gli effetti dell'invecchiamento fisiologico e patologico sui neuroni retinici. Con l'età, la latenza del PERG tende ad aumentare mentre l'ampiezza si riduce, in particolare per le frequenze spaziali più alte (62).

Anomalie del PERG sono state recentemente descritte in pazienti affetti da Morbo di Parkinson (6, 10, 36, 47). Interessantemente, molti studi hanno descritto un recupero funzionale dopo terapia con L-Dopa, suggerendo che anche il deficit visivo possa essere correlato ad un deficit di una funzione dopaminergica all'interno della retina (5, 6, 38, 50, 51).

Ancora poco chiari sono i tipi di trasmettitori implicati ai vari livelli dei canali "on-off" e delle vie laterali della retina. In linea di massima, nella retina sembrano essere presenti gli stessi meccanismi neurochimici dell'encefalo. Lungo le vie verticali di trasmissione si trovano sostanze di natura eccitatoria rapida come il glutammato e l'aspartato con i relativi recettori. Altre sostanze eccitatorie come l'acetilcolina e trasmettitori ad effetto inibitorio come il GABA e la glicina sono state descritte a vari livelli. Inoltre, sostanze ad effetto modulatorio più fine come catecolamine o neuropeptidi sono presenti nell'ambito delle vie laterali e ricorrenti. In particolare la dopamina sembra svolgere un ruolo peculiare nelle sinapsi elettriche tra cellule orizzontali (44). Gli studi effettuati da Piccolino e coll. (44, 45), hanno evidenziato come, nella tartaruga, la attivazione del recettore dopaminergico, posto sulle cellule orizzontali, controlli la possibilità del segnale di diffondere nelle cellule orizzontali vicine e quindi nei canali "on-off" circostanti. In assenza di dopamina, la maggior diffusione del segnale determinerà una minor concentrazione in senso spaziale della informazione. Al contrario la attivazione delle sinapsi dopaminergiche, producendo la chiusura delle "gap-junction" tra cellule orizzontali, concentrerà l'informazione in un

singolo canale incrementando il rapporto risposta-rumore di fondo, ed accentuando la sensibilità a differenze di luminanza anche modeste che interessino canali vicini. In sostanza l'effetto della attivazione del sistema dopaminergico delle cellule orizzontali produrrà un aumento della sensibilità al contrasto.

Da quanto sopra detto si comprende come le caratteristiche fisiche dello stimolo, in termini di frequenza spaziale e temporale e livello di contrasto, siano determinati per evidenziare la funzionalità della trasmissione dopaminergica. Le risposte a stimoli di elevata intensità luminosa od alto contrasto saranno difficilmente modificati da alterazioni della funzione dopaminergica che ha capacità di modulazione più fini delle risposte.

Conseguentemente le caratteristiche spaziali e temporali del pattern di stimolazione sono "critiche" per rivelare la disfunzione visiva nel Morbo di Parkinson. Un pattern reversal con barre a profilo sinusoidale è stato descritto come il più adatto allo studio della funzione dopaminergica con metodiche elettrofisiologiche (55).

Fisiologicamente l'ampiezza del PERG registrabile nell'uomo dipende da varie caratteristiche del pattern: innanzitutto dalla luminanza media dello stimolo (con una caduta lineare dell'ampiezza che si riduce a zero per valori di luminanza inferiori ad 1 candela/m<sup>2</sup>), a dimostrazione che il segnale del PERG è dominato dal sistema dei coni (29). Anche l'ampiezza del campo visivo occupato dallo stimolo ha importanza, perchè la risposta cresce linearmente con l'aumentare dell'area retinica stimolata (29). Altro importante parametro è il contrasto tra gli elementi del pattern (calcolata come la differenza di luminanza tra gli elementi chiari e quelli scuri:  $C = (L_{max} - L_{min}) / (L_{max} + L_{min}) \times 100$ ): l'ampiezza del PERG aumenta in maniera lineare con il contrasto (29). L'ampiezza del segnale PERG dipende anche dalla frequenza spaziale e temporale dello stimolo. La risposta del PERG è più ampia per frequenze spaziali medie (2-6 cicli per grado c/g) con decremento per frequenze spaziali minori o maggiori, ove per ciclo per grado si intende il numero di coppie di elementi chiari e scuri presenti in ogni grado di angolo visivo (29). Stimolazioni più eccentriche, di aree extrafoveali, determinano un picco di ampiezza del PERG a frequenze spaziali più basse (14, 15, 16). Ciò è dovuto alle differenti dimensioni dei campi recettivi di tipo antagonistico delle cellule retiniche post-recettoriali, che sono più piccoli nella fovea e progressivamente di diametro maggiore in sede parafoveale e periferica (per una estesa revisione della materia vedi 62).

Per quanto riguarda la frequenza temporale (ossia i cicli al secondo, dove un ciclo corrisponde a due inversioni con ritorno al pattern iniziale) la risposta è massima per

stimoli a frequenze basse (1-2 Hz) o medio-alte (8 Hz) (29). Alle basse frequenze temporali (1-2 cicli al secondo) si ottiene una risposta transiente (transient PERG). Questa è caratterizzata da un'onda trifasica con un prima componente negativa a 30-35 ms, seguita da una deflessione positiva principale di circa 50 ms ed un'ultima onda negativa intorno ai 95 ms. Tali onde sono definite, secondo la convenzione più seguita, come N35, P50, N95.

I parametri presi in considerazione nell'analisi del PERG transient sono la latenza al picco e l'ampiezza della componente principale positiva P50, calcolata come differenza N35/P50 o come P50/N95. A frequenze temporali maggiori (6-10 Hz) la risposta assume un aspetto sinusoidale costante, noto come "steady-state PERG", con un periodo corrispondente al doppio della frequenza di stimolo in Hz, in pratica pari al numero di inversioni del pattern (29).

Il PERG steady-state è di dimensioni minori del transient, ma presenta il vantaggio di poter essere analizzato in maniera del tutto quantitativa, sottoponendo il segnale ad analisi spettrale mediante trasformata di Fourier. Questa fornisce valori di ampiezza e fase per ogni componente dello spettro di frequenza, che a loro volta vengono riportati su diagrammi angolari in cui l'asse radiale indica l'ampiezza del segnale in microvolts e quello circolare indica la fase espressa in gradi (58, 62). L'ampiezza del PERG soprattutto steady-state dipende fortemente dalla dimensione degli elementi del pattern (frequenza spaziale) con un picco di ampiezza del PERG tra i 4-8 c/g per stimolazione foveale.

L'alterazione del PERG e del PEV in pazienti con Morbo di Parkinson, è evidente alle medie frequenze spaziali (42, 51) a basso contrasto di stimolo (5,43) ed alle medie frequenze temporali (38). La risposta ai medesimi parametri di stimolo è risultata essere alterata anche negli studi psicofisici su pazienti parkinsoniani (6). Tutti questi dati suggeriscono che un deficit dopaminergico alteri la peculiare funzione di sintonia (tuning) del sistema visivo umano provocando una diminuzione selettiva di sensibilità al contrasto e un deficit elettrofisiologico alle medie frequenze spaziali e temporali (4). Il quadro sopra descritto sembra adattarsi bene alla funzione della dopamina descritta negli studi di base sopra citati.

L'ordine del deficit visivo si presume quindi sia nella retina dove cellule dopaminergiche sono state descritte in molti vertebrati (18, 19), incluso l'uomo (9, 22). Gli elementi dopaminergici sono stati identificati con le cellule amacrine (17, 46) e interplexiformi (13), entrambe implicate nei circuiti laterali e ricorrenti della retina. Fibre e recettori dopaminergici sono stati descritti in entrambi gli strati plessiformi, esterno ed interno (12, 39, 61). Come per il SNC (33, 49) i recettori dopaminergici vengono classificati

come D1 e D2 sulla base della differente sensibilità ai vari ligandi, e differente attività sul secondo messaggero intracellulare cAMP (12, 31, 39, 48). Comunque, il ruolo di questi due sottotipi nella retina umana è per il momento sconosciuto. Sconosciuto è anche il sottotipo di recettore coinvolto nell'alterazione visiva del Morbo di Parkinson. Comunque, le caratteristiche spazio-temporali delle anomalie visive descritte nel Morbo di Parkinson, fornisce un appropriato modello per studiare gli effetti delle sostanze che agiscono sui recettori dopaminergici.

Una prima cruciale dimostrazione dovrebbe essere quella della riproducibilità del deficit visivo dei soggetti parkinsoniani, mediante la somministrazione di antagonisti dopaminergici a soggetti normali. Studi psicofisici hanno già dimostrato la possibilità di alterare la sensibilità al contrasto in soggetti normali mediante la somministrazione di agenti agonisti od antagonisti dopaminergici. Tale possibilità dovrebbe essere anche dimostrata da un punto di vista elettrofisiologico. In particolare, data la peculiarità del deficit visivo dei parkinsoniani e le caratteristiche delle risposte retiniche a secondo delle modalità di stimolazione impiegata, tale possibilità dovrebbe essere dimostrata per quanto riguarda la risposta retinica a stimoli a tipo pattern reversal.

Tale possibilità è stata dimostrata in recenti studi per quanto concerne la risposta a stimoli transient (2,, 3, 26, 52). Tutti questi studi sono tuttavia stati parziali sia nel tipo di stimolo utilizzato, che non copriva uno spettro sufficientemente vasto da descrivere correttamente la sovrapponibilità con il deficit del parkinsoniano, sia nella specificità recettoriale delle sostanze utilizzate, dal momento che non si trattava mai di agenti selettivi per i D1 od i D2 recettori. L'utilizzazione di sostanze con tali caratteristiche potrebbe fornire importanti indicazioni nella patofisiologia recettoriale della disfunzione visiva del Morbo di Parkinson, ove si dimostrasse la possibilità di mimare lo spettro delle alterazioni del Morbo di Parkinson ai differenti tipi di stimoli visivi.

Ligandi selettivi D1 non sono al momento disponibili per gli studi sull'uomo, mentre un'antagonista D2 selettivo (L-Sulpiride) è normalmente usato nella terapia dei disordini depressivi e psicotici. Considerando quanto sopra detto il paragone degli effetti di una antagonista D2 con quelli di un antagonista aspecifico D1 e D2 potrebbe portare interessanti informazioni sulla natura recettoriale del deficit dopaminergico coinvolto nella genesi dei disturbi visivi del Morbo di Parkinson.

Lo scopo di questo studio è di paragonare gli effetti della sulpiride e dell'alooperido sul PERG in soggetti normali.

Al fine di valutare quale tipo di blocco recettoriale (selettivo o non selettivo), possa riprodurre il pattern stimolo-dipendente delle anomalie del PERG osservare nel Morbo di Parkinson, sarà necessario studiare l'effetto di tali farmaci sulle risposte retiniche a varie frequenze spaziali e temporali.

#### METODI

Sono stati esaminati 36 volontari sani, tra 24 e i 35 anni di età con una acuità normale o corretta (20/25 Snellen) nell'occhio studiato, il diametro pupillare tra 3 e 5 mm. e la pressione endoculare nei limiti dei valori normali. Barre verticali chiare e scure sono state presentate come stimoli su di uno schermo TV alla distanza di 115 cm. all'occhio studiato, sottendendo un campo visivo di 12 gradi. Per ottenere una frequenza spaziale di 4 c/g, il soggetto era posto ad una distanza di 240 cm., riducendo la grandezza del campo a 5,2 gradi. L'ampiezza dei potenziali retinici prodotti a 4 c/g era ridotta proporzionalmente alla diminuzione dell'area retinica stimolata (29). La luminanza media dello schermo era di 100 cd/m<sup>2</sup> e il contrasto tra le barre del 97%. Tre frequenze spaziali (0.25, 1 e 4 c/g) sono state presentate ai soggetti esaminati in ordine casuale. Ogni soggetto è stato esaminato con la stessa sequenza prima e dopo il farmaco. Sono state utilizzate sia stimolazioni transiet che steady-state per ogni frequenza spaziale esaminate con una frequenza di inversione rispettivamente di 1 e 7.5 Hz. L'acquisizione dei dati è stata ottenuta mediante un sistema multicanale di analisi dei dati (Brain Analyzer). Per la registrazione del segnale dell'ERG è stato posizionato un elettrodo in fibra di argento nel fornice palpebrale inferiore ed un elettrodo di riferimento a coppetta posto sulla tempia ipsilaterale (7, 54). Il segnale steady-state è stato analizzato con la trasformata di Fourier (FFT) con una risoluzione in frequenza di 1Hz. Il rapporto dell'ampiezza della risposta della seconda armonica con la media dei valori osservati tra 3 e 50 Hz è stato utilizzato come rapporto segnale-disturbo (e solo valori più alti di 3 sono stati inclusi nello studio). Ogni prova sperimentale consisteva in due sedute di registrazione, effettuate prima e dopo la somministrazione del farmaco. In 18 soggetti (età media 28,2 anni +/- 2,5 S.D.) venivano somministrati 100 mg di L-sulpiride i.m. con registrazione dopo 30 minuti. Ad altri 18 soggetti venivano invece somministrati 0.5 mg/kg di aloperidolo per os con registrazione dopo 120 minuti in corrispondenza con il picco ematico del farmaco (21, 52). La pressione endoculare è stata monitorizzata in 5 soggetti prima e dopo la somministrazione di sulpiride e, in altri 5 soggetti, prima e dopo aloperidolo durante il tempo di registrazione. Non sono state osservate

variazioni significative per nessuno dei due farmaci. La media della pressione endoculare cambiava da 12,8 mmHg +/- 0,8 S.D. a 12,7 mmHg +/- 0,7 S.D. dopo sulpiride e da 12,9 mmHg +/- 0,6 S.D. a 12,8 mmHg +/- 0,9 S.D. dopo aloperidolo.

L'analisi statistica dei dati elettrofisiologici è stata effettuata per mezzo dello Student t-test corretto con il test di Bonferroni per confronti multipli. L'analisi delle variazioni di fase è stata effettuata mediante il test di Hotelling (Zar 1984).

## RISULTATI

### SOMMINISTRAZIONE DI SULPIRIDE

La registrazione dei PERG e dei PEV è stata effettuata in 18 soggetti prima e dopo la somministrazione i.m. di 100 mg di sulpiride.

#### 1) Stimolazione steady-state (7,5 Hz).

La somministrazione di sulpiride induce il decremento dell'ampiezza della risposta del PERG rispettivamente dell'1,2% (+/- 34,0 S.D.), del 14,1% (+/- 48,6 S.D.) e del 26,4% (+/- 27,7 S.D.). Esempi di PERG registrati con successiva analisi di Fourier sono dati rispettivamente nelle figure 1 e 2. L'analisi statistica, con il t-test corretto con il test di Bonferroni per confronti multipli, non ha dato una significatività tra le risposte PERG pre e post a 0,25 c/g (diminuzione da 1,37 uV +/- 0,43 DS, a 1,28 uV +/- 0,39 S.D.); la differenza tra le risposte a 1c/g (diminuzione da 1,26 uV +/- 0,59 S.D., a 0,87 uV +/- 0,41 S.D.) ha una significatività statistica di  $p=0,05$ ; le risposte a 4 c/g (diminuzione da 0,63 uV +/- 0,26 S.D., a 0,45 uV +/- 0,22 S.D.) avevano una significatività di  $p=0,01$ . La figura 3 riassume la percentuale di differenze osservate nei risultati del PERG alle differenti frequenze spaziali e temporali utilizzate. Da notare il progressivo incremento dell'effetto della sulpiride sulla risposta steady-state in funzione della frequenza spaziale. Non sono state trovate modificazioni statisticamente significative delle fasi del PERG; nè tra l'ampiezza e la fase del PEV pre e post sulpiride. La figura 4 mostra la percentuale di differenze osservate nei risultati del PEV alle differenti frequenze spaziali e temporali utilizzate.

#### 2) Stimolazione transient (1 Hz).

L'incremento di latenza dell'onda P50 osservata dopo somministrazione di sulpiride era di 5,9 ms a 0,25 c/g, corrispondente all'11,3% (+/- 14,8 S.D.). La latenza si modificava da 53,6 ms (+/- 3,6 S.D.) a 59,5 ms (+/- 6,9 S.D.).



Il ritardo medio ad 1c/g è stato di 3.4 ms corrispondente ad 6.6% (+/- 9.3 S.D.). La latenza cambiava da 55.8 ms (+/- 4.7 S.D.), a 59.2 ms (+/- 2,7 S.D.). L'incremento a 4c/g era di 3.7 ms corrispondente al 7.1% (+/- 11.2 S.D.). La latenza si modificava da 60.6 ms (+/- 6,2 S.D.) a 64.3 ms (+/- 4.3 S.D.). La figura 5 mostra una risposta PERG alla stimolazione transient a differenti frequenze spaziali, prima e dopo somministrazione di sulpiride. Le differenze tra la media delle latenze del PERG, prima e dopo sulpiride, sono state analizzate per mezzo del t-test corretto con il test di Bonferroni per confronti multipli, sono statisticamente significative con  $p = 0.02$  a  $0.25$  c/g. A  $1$  c/g era statisticamente significativa con  $p = 0.01$ , a  $4$  c/g vi era una  $p = 0.05$ . Nessuna variazione delle ampiezze del PERG è statisticamente significativa. La variazione delle latenze e delle ampiezze dei PEV non sono risultate statisticamente significative. La figura 3 riassume la percentuale di differenze ottenute dopo somministrazione di sulpiride. Da notare il comportamento opposto delle risposte transient e di quelle steady-state alle differenti frequenze spaziali.

#### SOMMINISTRAZIONE DI ALOPERIDOLO

Sono state effettuate registrazioni del PEV e PERG in 18 soggetti prima e dopo (90-120 minuti, vedi Forsman ed Olman, 1977) la somministrazione orale di  $0.05$  mg/kg di aloperidolo).

##### 1) Stimolazione steady-state (7.5 Hz)

L'aloferidolo induce una diminuzione dell'ampiezza del PERG rispettivamente del 12.3% (+/- 28.4 S.D.), 11.9% (+/- 32.5 S.D.) e del 16.0% (+/- 48.0 S.D.). Esempi di tracciati PERG con trasformata di Fourier, pre o post aloperidolo, sono dati rispettivamente nella figura 6 e 7. L'analisi statistica effettuata per mezzo del t-test corretto con il test di Bonferroni per stimare il decremento delle risposte retiniche, mostrava una significatività delle risposte PERG a  $0.25$  c/g con  $p = 0.05$  (diminuzione da  $2.13$  uV +/-  $0.62$  S.D., a  $1.76$  uV +/-  $0.053$  S.D.) e per le risposte PERG a  $1$  c/g con  $p = 0.06$  (diminuzione da  $1.78$  uV +/-  $0.61$  S.D. a  $1.49$  uV +/-  $0.51$  S.D.), mentre la differenza a  $4$  c/g (diminuzione da  $0.73$  uV +/-  $0.28$  S.D. a  $0.59$  uV +/-  $0.32$  S.D.) non è statisticamente significativa. La figura 8 riassume la percentuale delle differenze osservate nelle risposte PERG alle differenti frequenze spaziali e temporali. Da notare che l'aloferidolo ha un effetto sulle risposte PERG opposto a quello della sulpiride in rapporto alla frequenza spaziale.

Le fasi del PERG non erano modificate in modo statisticamente significativo.

I valori medi delle ampiezze e delle fasi del PEV alle varie frequenze spaziali non erano modificate in modo

statisticamente significativo.

## 2) Stimolazione transient (7.5 Hz).

L'incremento osservato nella latenza dell'onda P50 post aloperidolo, era di 3.5 ms a 0.25 c/g, corrispondente al 6.8% (+/- 8.6 S.D.). Il ritardo medio a 1 c/g era di 4.8 ms corrispondente all'8.5% (+/- 7.6 S.D.). Quello a 4 c/g era di 3.1 ms corrispondente al 5.2% (+/- 6.3 S.D.). La variazione della latenza a 0.25 c/g andava da 52.1 ms (+/- 3.5 S.D.) a 55.6 ms (+/- 5.5 S.D.), a 1 c/g da 57.2 ms (+/- 3.4 S.D.) a 62.0 ms (+/- 4.5 S.D.), a 4 c/g da 61.7 ms (+/- 4.5 S.D.) a 64.8 (+/- 4.7 S.D.). La figura 9 mostra una risposta PERG transient per differenti frequenze spaziali esaminate, pre e post aloperidolo. Le differenze tra le latenze medie del PERG prima e dopo somministrazione di aloperidolo sono state analizzate per mezzo del t-test corretto con il test di Bonferroni. Ne è risultata una significatività con  $p=0.02$  a 0.25 c/g,  $p=0.001$  a 1 c/g e  $p=0.01$  a 4 c/g. Nessuna delle variazioni di ampiezza del PERG era statisticamente significativa.

Le variazioni della latenza ed ampiezza del PEV non erano statisticamente significative. La figura 8 riassume le percentuali di differenza osservate nelle risposte PERG transient post aloperidolo, mentre la figura 10 mostra le percentuali di differenza osservate nei risultati del PEV alle varie frequenze spaziali e temporali utilizzate pre e post aloperidolo.

## DISCUSSIONE

I nostri dati sulle variazioni del PERG e PEV da sulpiride e aloperidolo, indicano due principali conclusioni:

1) un antagonista selettivo D2 riproduce le caratteristiche del deficit del PERG osservato nei pazienti con Morbo di Parkinson, facendo diminuire selettivamente la risposta alle medie frequenze spaziali di stimolo (1 e 4 c/g) senza alcun effetto sulle basse frequenze spaziali (0.25 c/g). Al contrario l'alooperidolo non sembra influenzare la risposta retinica steady-state in un modo correlato alla frequenza spaziale.

2) la frequenza temporale di modulazione ha un ruolo critico: mentre a 7.5 Hz è evidente un effetto frequenza-spaziale dipendente della sulpiride, la risposta retinica transient (1 Hz) non è influenzata in modo frequenza-spaziale dipendente da entrambi gli antagonisti D2 e D1-D2.

A nostra conoscenza questi risultati forniscono il primo quadro del possibile ruolo dei recettori dopaminergici nella retina umana. I dati mostrano che il blocco dei

recettori D2 con sulpiride riproduce l'alterazione stimolo specifica del PERG osservata nelle scimmie trattate con MPTP o iniezioni intravitreali di 6-OHDA (23, 24) e nei pazienti parkinsoniani studiati per mezzo dei test psicofisici (6, 10). Precedenti studi del PERG in pazienti con Morbo di Parkinson hanno fornito risultati non completamente sovrapponibili, probabilmente perchè raramente è stato esplorato un completo spettro spazio temporale di stimolazioni. In particolare, la maggior parte dei risultati sono stati ottenuti con stimolazioni transient (25, 41, 51), mentre l'unico studio steady-state utilizzava un pattern a scacchiera (11) che non permette una precisa valutazione della frequenza spaziale di stimolo (4).

E' ampiamente accettato che il PERG generato nella retina interna (1, 37) sia modulato in base alla frequenza spaziale, mostrando un'ampiezza più elevata nelle risposte alle medie frequenze spaziali, con un declino alle basse e alle alte frequenze spaziali di stimolazione (15, 29, 62). La perdita di questa funzione di sintonia nei parkinsoniani (4) è stata correlata al deficit dopaminergico nella retina (27, 40) che probabilmente causa una disfunzione delle attività delle cellule ganglionari. I nostri risultati conducono all'ipotesi che i recettori D2 siano necessari alla funzione di sintonia spaziale del pattern visivo negli uomini. I sottotipi D2 sembrano essere coinvolti nel funzionamento di passabanda della risposta retinica alle medie frequenze temporali di stimolo (7.5 Hz), prodotta dalle cellule ganglionari.

La perdita della funzione di sintonia spaziale di questa risposta sembra essere il più importante deficit della funzione visiva nel Morbo di Parkinson, e lo stesso tipo di disturbo è riprodotto all'antagonista D2 nei soggetti normali.

Al contrario il blocco D2 non influenza la risposta retinica allo stimolo transient (1 Hz) in modo frequenza spaziale dipendente. Questa risposta si presume sia prodotta dalle cellule gangliari alle medie frequenze spaziali, e da tutti gli elementi con selettività spaziale dell'area retinica stimolata, alle basse frequenze spaziali (15). Quindi il blocco D2 produce effetti sia sulla sola risposta della retina interna (cellule ganglionari) sia su quella mista dovuta alle basse frequenze temporali.

I risultati osservati dopo la somministrazione di aloperidolo sono meno specifici sia sulla risposta transient che steady-state probabilmente a causa della proprietà di antagonista non selettivo di tale composto. Tali risultati sono concordi con i dati precedenti più parziali concernenti la possibilità di alterare le risposte PERG attraverso il blocco aspecifico della trasmissione dopaminergica nell'uomo (2, 3, 52). La risposta allo stimolo steady-state (7.5 Hz) è ridotta dall'alooperidolo a 0.25 c/g e 1 c/g mentre non è influenzata in modo statisticamente significativo a 4 c/g.

Quindi se è presente un'azione frequenza-spaziale dipendente questa è di tipo filtro passa alto. Questo è un comportamento completamente differente rispetto a quello della sulpiride che selettivamente taglia le medie frequenze spaziali, e non ricalca il deficit osservato nel Morbo di Parkinson.

Le cellule ganglionari con campi recettivi più grandi si suppone siano localizzate in aree retiniche più eccentriche rispetto alle cellule con campi recettivi più piccoli (20, 28, 34, 35), e il picco della risposta alle varie frequenze spaziali si sposta verso frequenze più basse per stimoli indirizzati ad aree più eccentriche (14, 15, 16, 20, 57). Nel nostro protocollo sperimentale, l'area retinica stimolata utilizzando 0.25 c/g e 1 c/g era di 11° 55', mentre, era solo di 5° 42' utilizzando 4 c/g corrispondente approssimativamente alla fovea. Considerando che l'aloiperidolo, antagonista D1 e D2, interferisce con la risposta originante da un'area retinica più ampia ma non con quelle dalla fovea, e che al contrario un antagonista selettivo D2 interferisce principalmente con le risposte derivanti dall'area della fovea, ciò potrebbe indicare una differente distribuzione dei sottotipi recettoriali dopaminergici in relazione ad aree foveali ed extrafoveali.

La risposta transient è influenzata dallo aloiperidolo a tutte le frequenze spaziali testate senza alcuna specificità come osservato anche per la sulpiride.

E' interessante notare che la risposta alla stimolazione transient viene alterata da entrambe le sostanze in modo non dipendente dalla frequenza spaziale. Tale risposta è ritenuta non essere selettiva degli strati interni della retina (cellule ganglionari) ma essere espressione della attività di tutti gli elementi sensibili al contrasto distribuiti nei vari strati retinici. Considerando che entrambi le sostanze studiate hanno effetti similari su questa risposta, sembra possibile ipotizzare che non esista una distribuzione preferenziale dei sottotipi dei recettori dopaminergici in relazione agli strati retinici.

I recettori D2 nella retina umana sono espressi dalle cellule dello strato nucleare interno, plessiforme esterno, plessiforme interno e dallo strato delle cellule gangliari (53). La loro localizzazione autoradiografica è stata riportata o limitata a entrambi gli strati plessiformi (12) o diffusa a tutti gli strati retinici (61). Al momento non è disponibile nessun altro dato circa la distribuzione regionale dei sottotipi dei recettori dopaminergici. Quindi una più precisa interpretazione dei dati attuali attende studi recettoriali più dettagliati nei primati.

I nostri dati mostrano che i composti studiate influenzano le risposte PERG ma non quelle dei PEV. Dati precedenti (52) hanno già mostrato la sensibilità del PERG ai bloccanti dopaminergici e la relativa insensibilità del PEV.

Per quanto riguarda le variazioni del PERG dopo somministrazione di farmaci, l'ampiezza e la latenza del potenziale sono modificate da entrambi i composti, ma non la fase. Questo risultato mostra che la latenza della P50 e la fase dello steady-state non possono essere espressione degli stessi processi retinici. In accordo con questa visione, i dati suggeriscono che differenti generatori retinici possano essere coinvolti nella risposta transient e steady-state (62). Un'alternativa o concomitante spiegazione potrebbe essere l'ampia dispersione angolare di questi parametri nella popolazione, che risurrebbe la sensibilità dei test statistici.

In conclusione il blocco dei recettori D2 nella retina umana produce un modello di deficit visivo che da un punto di vista elettrofisiologico appare simile a quello osservato nel Morbo di Parkinson. La modulazione temporale steady-state sembra essere più efficace nel rilevare queste alterazioni. Quindi, con appropriata selezione dei parametri di stimolazione, il PERG sembra fornire un valido strumento "in vivo" per accertare i meccanismi dopaminergici e lo stato funzionale dei recettori dopaminergici nella retina.

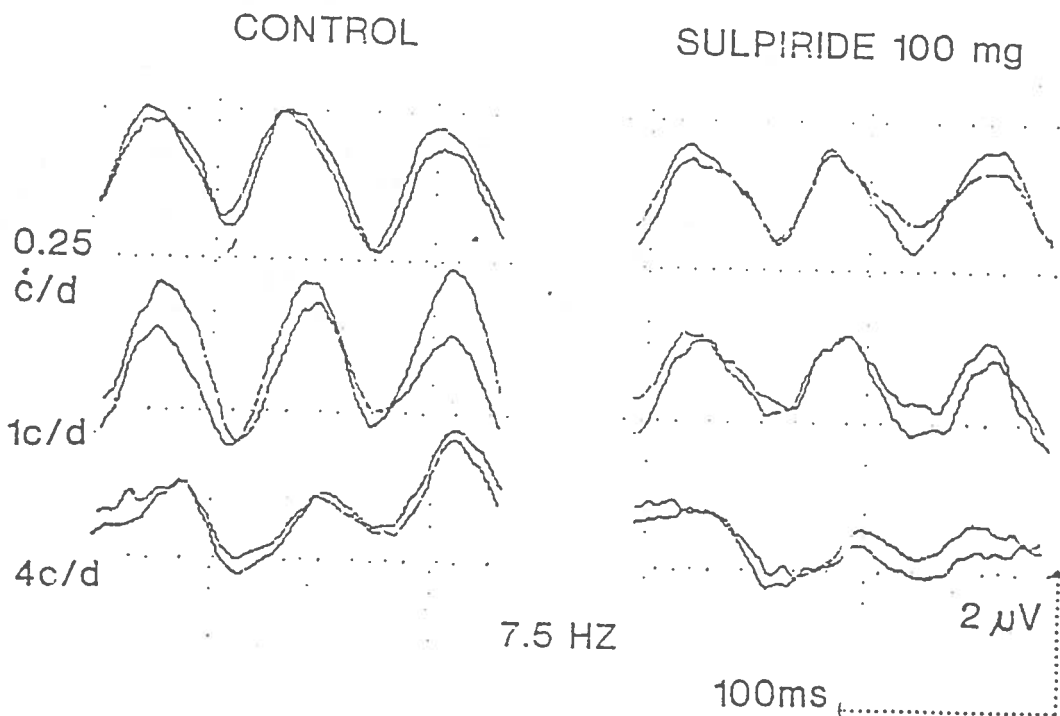


Fig.1. Effetto della sulpiride (100 mg i.m.) sulla ampiezza dei potenziali retinici nella modalità a steady-state a 0.25 (traccia superiore), 1 (traccia mediana), e 4 (traccia inferiore) c/d in uno stesso soggetto. Le tracce raffigurate derivano dalla media di 500 risposte ripetute due volte. Nella parte sinistra è mostrato il controllo, nella destra le tracce ottenute dopo somministrazione di sulpiride. Si noti il decremento della ampiezza delle risposte a 4 c/d post-sulpiride.

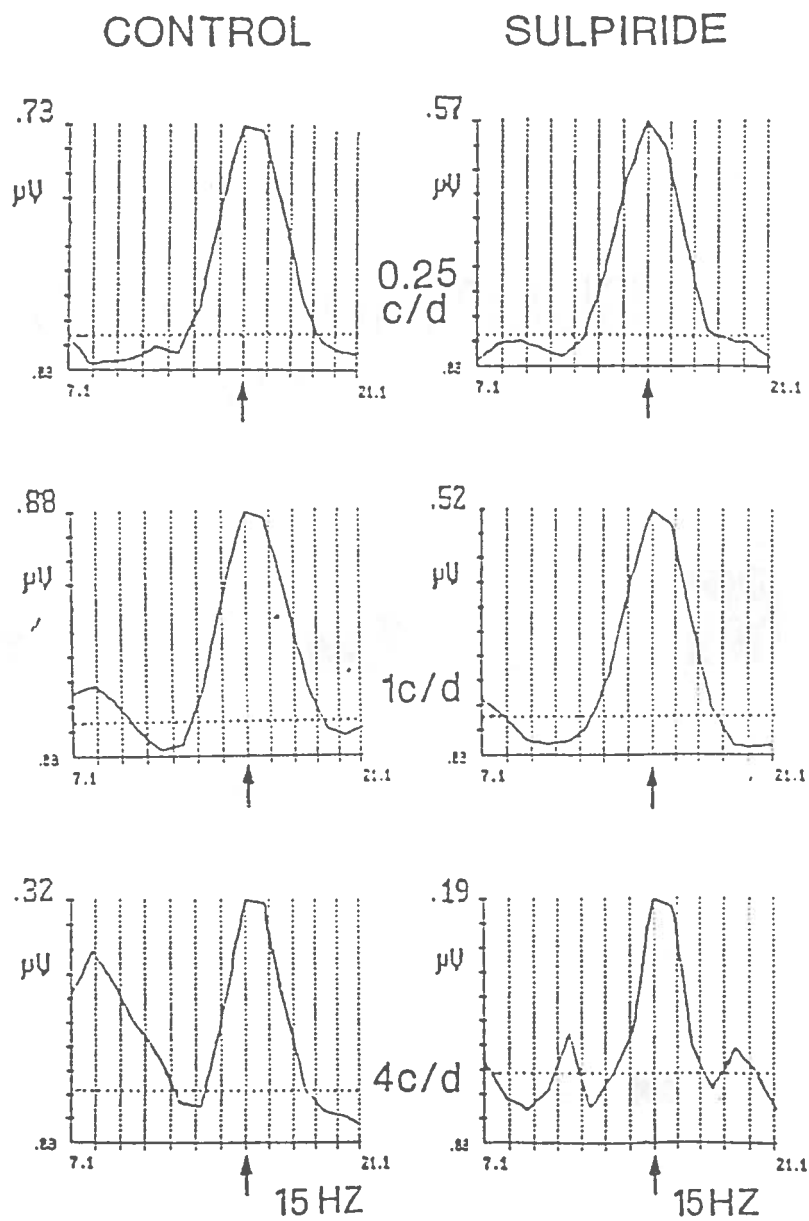


Fig.2. Analisi di Fourier di singole tracce PERG prima e dopo somministrazione di sulpiride alle tre frequenze spaziali utilizzate. A sinistra è mostrato il controllo, a destra la condizione post-sulpiride. Le frecce indicano la frequenza di seconda armonica (15 Hz). La linea tratteggiata il livello del valore medio di ampiezza tra 3 e 50 Hz. La somministrazione di sulpiride causa un decremento dell'ampiezza dipendente dalla frequenza spaziale utilizzata (maggiore decremento a 1 e 4 c/d, minore a 0.25 c/d)

# SULPIRIDE 100 MG PERG

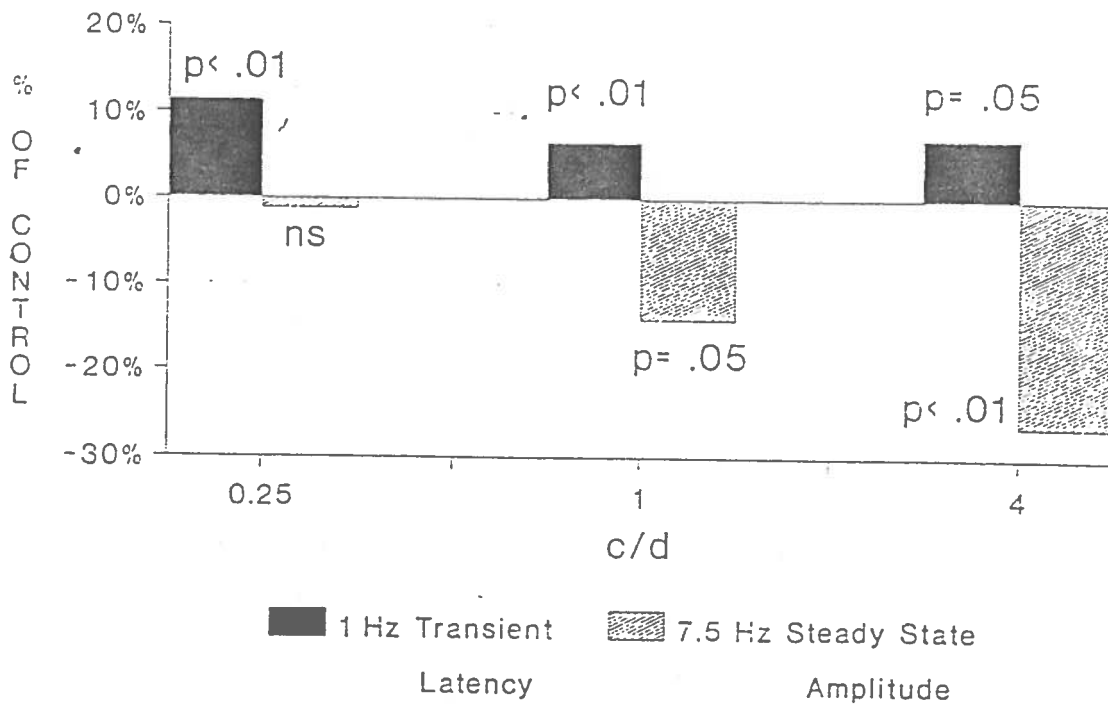


Fig.3. Cambiamenti percentuali della ampiezza dei PERG steady-state e della latenza dell'onda P50 alla stimolazione transient dopo somministrazione di sulpiride. Nella parte inferiore della figura è illustrata la percentuale di cambiamento della ampiezza delle risposte steady-state. Nella parte superiore la percentuale di cambiamento della latenza dell'onda P50 delle risposte transient.



# SULPIRIDE 100 MG VEP

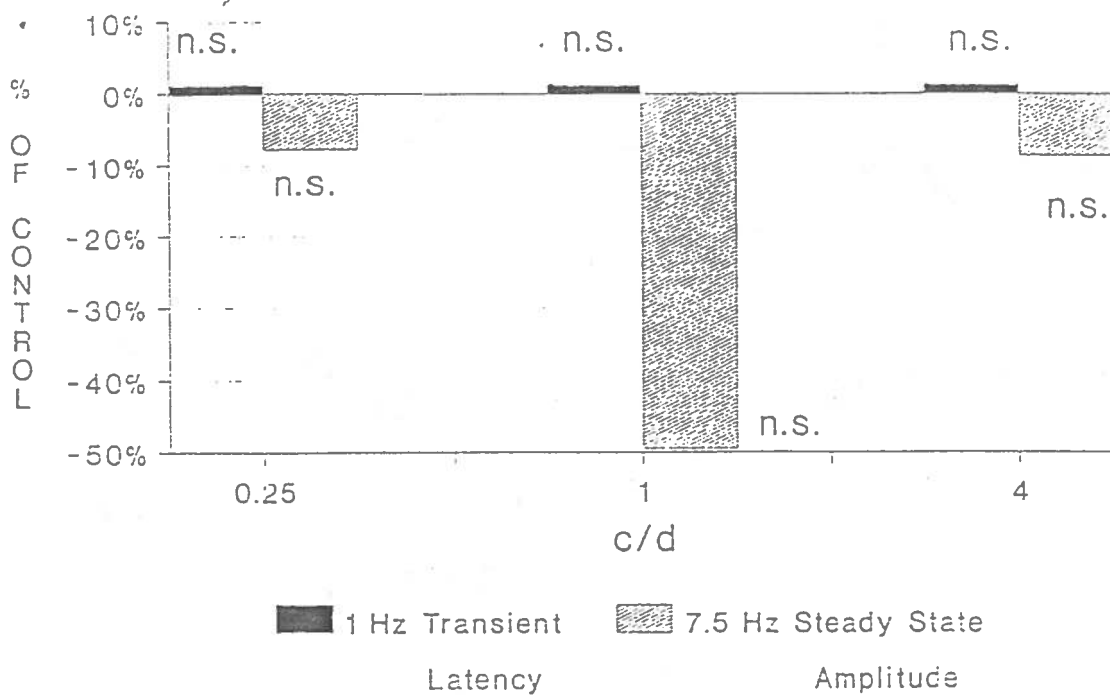


Fig.4. Cambiamento percentuale della ampiezza dei Potenziali Evocati Visivi alla stimolazione steady-state (parte inferiore) e della stimolazione transient (parte superiore) dopo somministrazione di sulpiride.

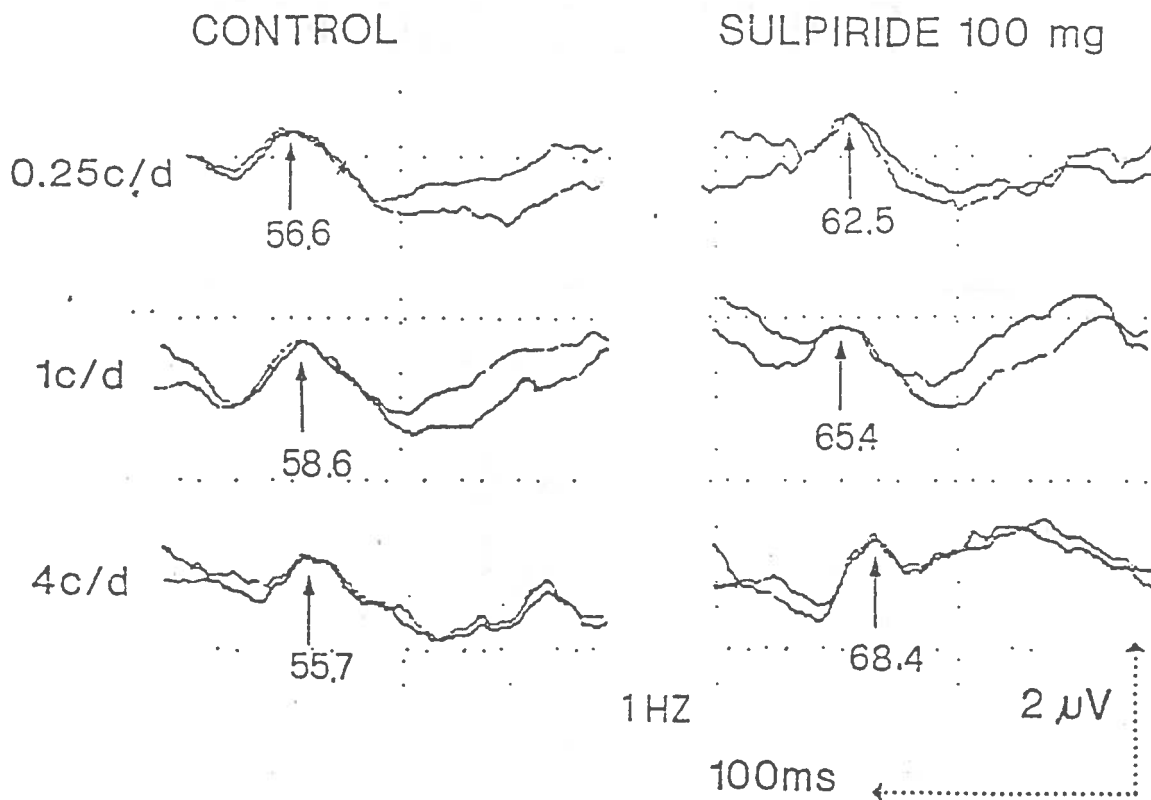


Fig.5. Effetti della somministrazione di 100 mg i.m. di sulphiride su latenza ed ampiezza dei PERG transient a 0.25,1 e 4 c/d, ottenuti dalla sovrapposizione di due tracce ottenute dalla media di 100 trials. La latenza della P50 è indicata dalle frecce. A sinistra il controllo, a destra i tracciati pcst-sulpiride. Si noti come la latenza dei PERG sia aumentata in tutte le frequenze spaziali studiate dopo somministrazione di sulphiride.

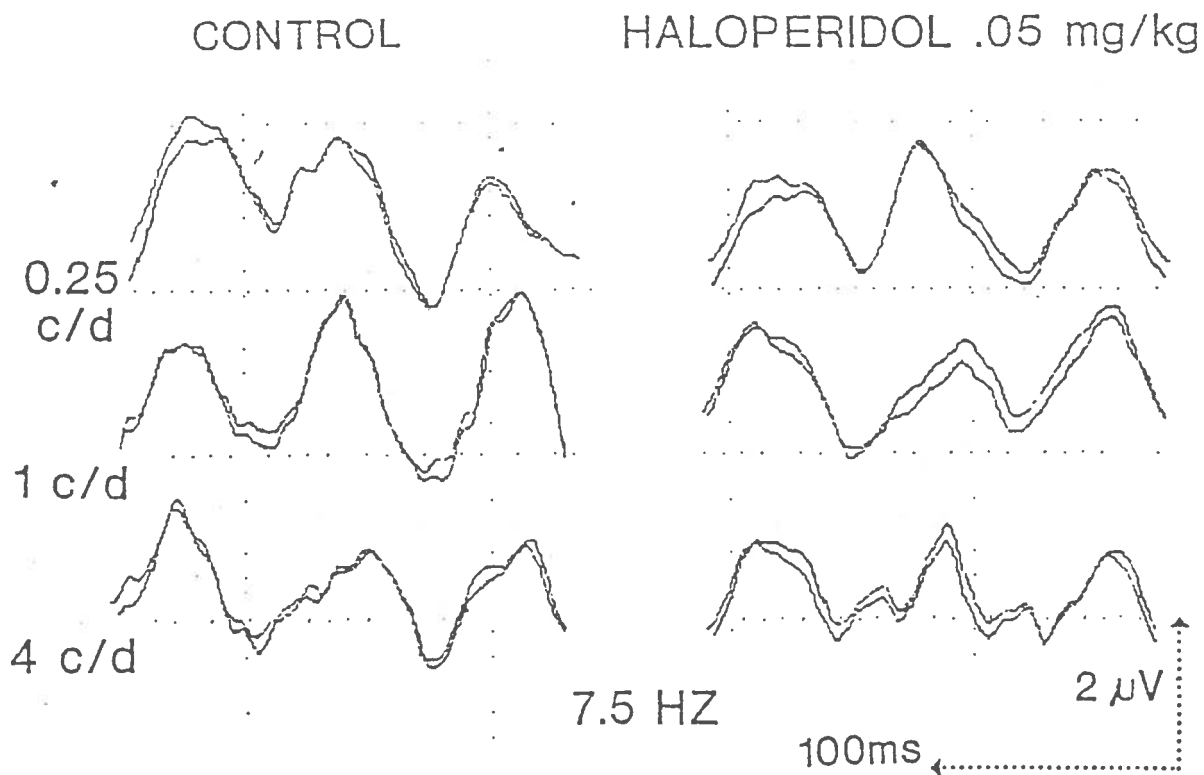


Fig.6. Effetto della somministrazione di aloperidolo (0.05 mg/kg) sulla ampiezza delle risposte retiniche steady-state a 0.25 (tracce superiori), 1 (tracce mediane) e 4 (tracce inferiori) c/d. A sinistra: controllo, a destra somministrazione di aloperidolo (0.05 mg/kg). Si noti la diminuzione della ampiezza delle risposte che non assume un pattern dipendente dalle frequenze spaziali studiate.

CONTROL

HALOPERIDOL

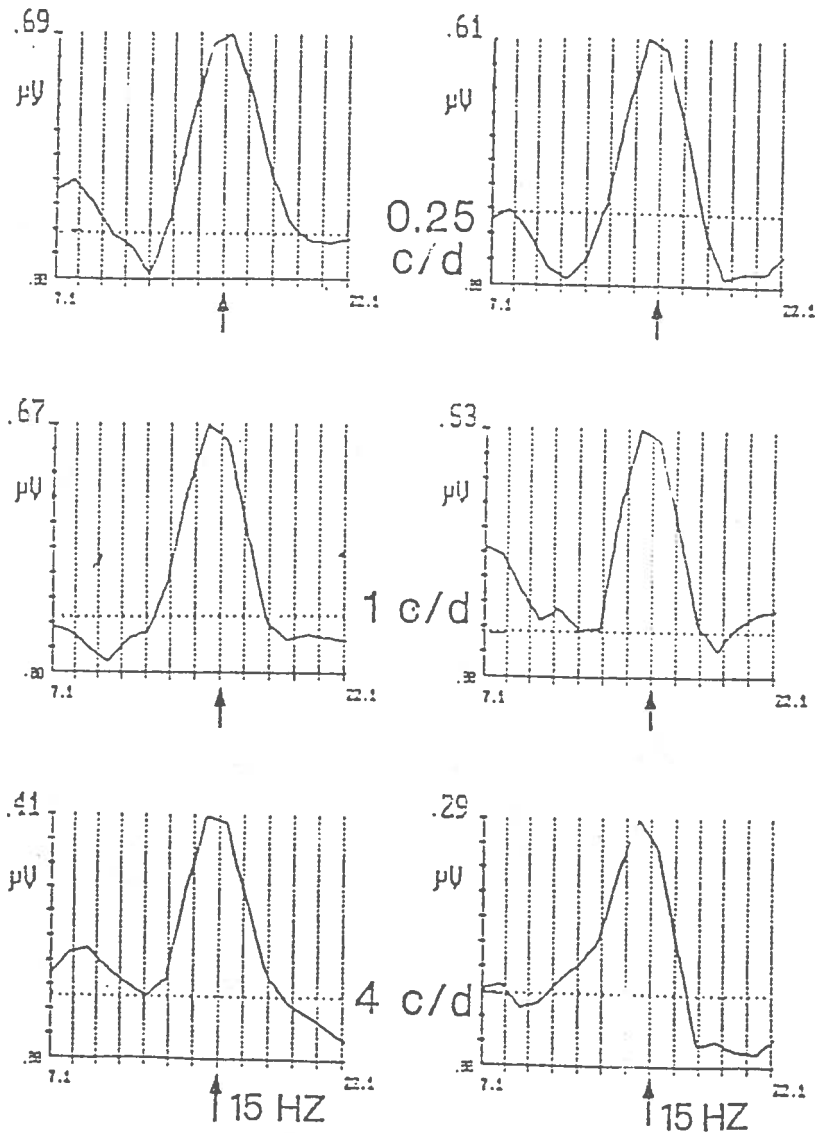


Fig.7. Analisi di Fourier di singoli tracciati PERG steady-state prima e dopo somministrazione di aloperidolo, in un soggetto, nelle frequenze spaziali studiate. A sinistra: controllo, a destra somministrazione di aloperidolo. Le frecce indicano la frequenza di seconda armonica di 15 Hz. Si noti la diminuzione della ampiezza delle risposte steady-state non dipendente dalle frequenze spaziali utilizzate, al contrario delle analoghe risposte post-sulpiride.

## HALOPER. .05 MG/KG PERG

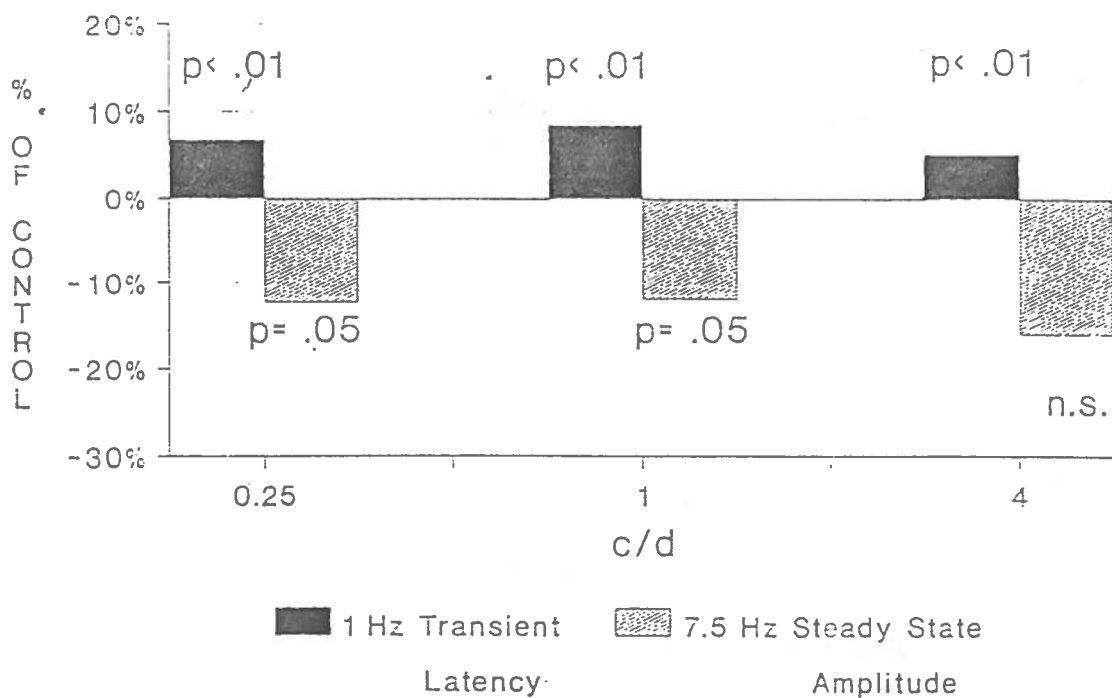


Fig.8. cambiamenti percentuali della ampiezza dei PERG steady-state e della latenza dell'onda P50 alla stimolazione transient dopo somministrazione di alopridolo. Nella parte inferiore della figura è illustrata la percentuale di cambiamento della ampiezza delle risposte steady-state. Nella parte superiore la percentuale di cambiamento della latenza dell'onda P50 delle risposte transient.

# HALOPER. .05 MG/KG VEP

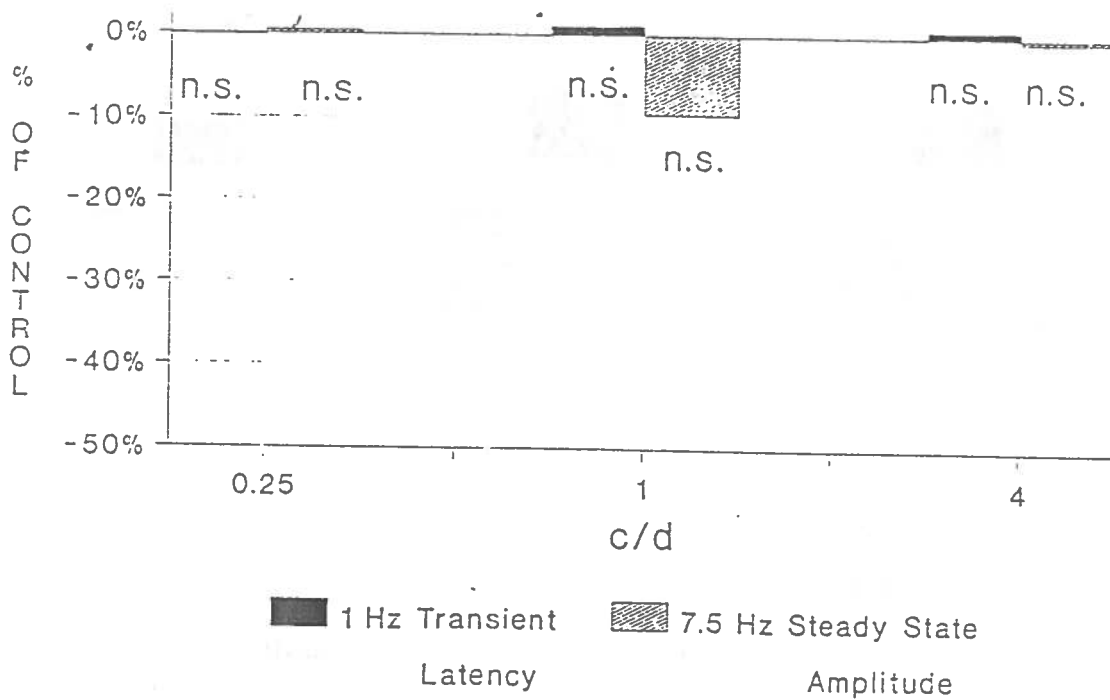


Fig.9. Cambiamento percentuale della ampiezza dei Potenziali Evccati Visivi alla stimolazione steady-state (parte inferiore) e della stimolazione transient (parte superiore) dopo somministrazione di aloperidolo.

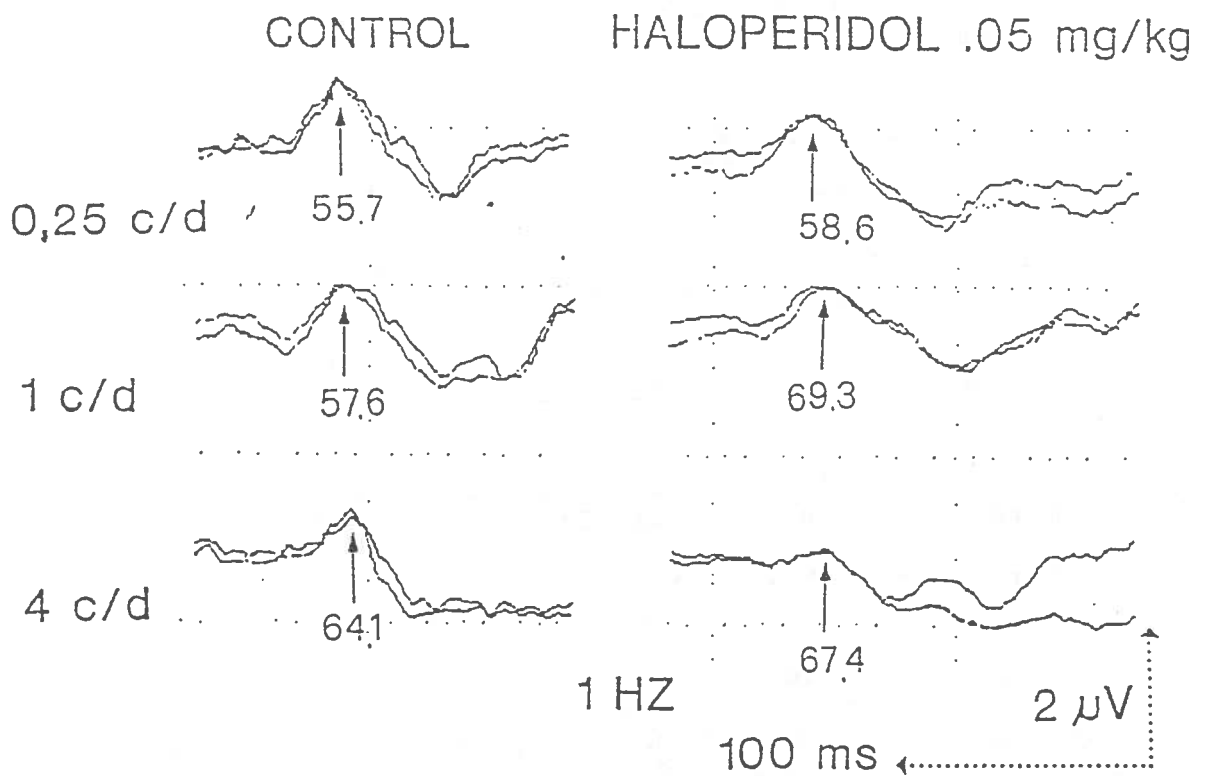


Fig.10. Effetti della somministrazione di 0.05 mg/kg orali di aloperidolo su latenza ed ampiezza dei PERG transient a 0.25,1 e 4 c/d, ottenuti dalla sovrapposizione di due tracce ottenute dalla media di 100 trials. La latenza della P50 è indicata dalle frecce. A sinistra il controllo, a destra i tracciati post-sulpiride. Si noti come la latenza dei PERG sia aumentata in tutte le frequenze spaziali studiate dopo somministrazione di aloperidolo.

## BIBLIOGRAFIA

- 1) Baker C.L., Hess R.F., Olsen B.T. and Zrenner E. Current source density analysis of linear and nonlinear components of the primate electroretinogram. *J. Physiol.* 407: 155-176; 1988.
- 2) Bartel P., Blom M., Robinson E., Van der Meyden C., Sommers D.O., and Beker P. Effects of chlorpromazine on pattern and flash ERGs and VEPs compared to oxaxepan and placebo in normal subjects. *Electroenceph. clin. Neurophysiol.* 77: 330-339; 1990.
- 3) Bartel P., Blom M., Robinson E., Van der Meyden C., Sommers D.O., and Beker P. Effect of levodopa and haloperidol on flash and pattern ERGs and VEPs in normal human. *Doc. Ophthalmol.* 76: 55-64; 1990.
- 4) Bodis-Wollner I. Visula deficit related to dopamine deficiency in experimental animals and Parkinson's disease patients. *Trend Neurosci.* 13: 296-302; 1990.
- 5) Bodis-Wollner I. and Yahr M. Measurement of visual evoked potentials in Parkinson's disease. *Brain*, 101: 661-671; 1987.
- 6) Bodis-Wollner I. Marx M.S., Mitra S., Bobak P., Mylin L. and Yahr M. Visual disfunction in Parkinson's disease. *Brain* 110: 1675-1698; 1987.
- 7) Berninger T.A. The pattern electroretinogram and its contamination. *Clin Vis. Sci.* 2: 257-283; 1986.
- 8) Berninger T.A. and Arden G.B. The pattern electroretinogram. *Eye* 2: S257-S283; 1988.
- 9) Borb H.O., Fehske K.J., Muller W.E., Norb A. and Wollert U. The demonstration of several neurotransmitters and drug receptors in human retina. *Comparative Biochemistry and Physiology*, 72: 117-119; 1982.
- 10) Bulens C., Meerwaldt J.D., Van der Vildt G.J. and Keemink C.J. Contrast sensitivity in Parkinson's disease. *Neurology* 36: 1121-1125; 1986.
- 11) Calzetti S., Franchi A., Taratufolo G. and Groppi E. Simultaneous VEP and PREG investigation in early Parkinson's disease. *J. Neurol. Neurosurg. Psychiat.* 53: 114-117; 1990.



- 12) Denis P., Nordmann J.P., Elena P.P., Laroche L. and Lapalus P. Autoradiographic localization of retinal dopaminergic receptors in man. Functional implications. Bull. Soc. Ophthalmol. Fr. 89: 807-810; 1989.
- 13) Dowling J.E. and Ehinger B. Synaptic organization of the amine-containing intrplexiform cells of the goldfish and Cebus monkey retina. Science, 188: 270-273; 1975.
- 14) Drasdo N., and Cox W. Local luminance effects of degraded pattern stimulation. Clinical Vis. Sci. 14: 317-325; 1987.
- 15) Drasdo N., Thompson D.A., Thompson C.M. and Edwards L. Complementary components and local variations of the pattern electroretinogram. Invest. Ophthalmol. Vis. Sci. 28: 158-162; 1987.
- 16) Drasdo N., Cox W. and Thompson D.A. The effects of image degradation on retinal illuminance and pattern responses to checkerboard stimuli. Docum. Ophthalmol. 66: 267; 1987b.
- 17) Ehinger B. Neurotransmitter system in the retina. Retina 2: 305-321; 1982.
- 18) Ehinger B. Functional role of dopamine in the retina Prog. Retinal Res. 2: 213-232; 1983.
- 19) Ehinger B. and Dowling J.E. Retinal neurocircuitry and transmission. In Handbook of Chemical neuroanatomy. Edited by A. Bjorklund, T. Hkfelt and L.W. Swanson. Amsterdam, Elsevier, vol 5, pp. 389-446; 1987.
- 20) Enroth-Cugell C. and Robson J.G. The contrast sensitivity of retinal ganglion cells of the cat. Journal of Physiology, London, 187: 517-552; 1966.
- 21) Forsman A. and Ohman R. Applied pharmacokinetics of haloperidol in man. Curr. Ther. Res. 21: 396-411; 1977.
- 22) Frederick J.M., Rayborn M.E., Laties A.M., Lam D.M.K. and Hollyfield J.G. Dopaminergic neurons in the human retina. J. Comp. Neurol. 210: 65-79; 1982.
- 23) Ghilardi M.F., Bodis-Wollner I., Onofrij M., Marx M.S. and Glover A.A. Spatial frequency-dependent abnormalities of the pattern electroretinogram and visual evoked potentials in a parkinsonian monkey model. Brain 11: 349-357; 1988.

- 24) Ghilardi M.F., Marx M.S., Bodis-Wollner I., Camras C.B. and Glover A.A. The effect of intraocular 6-hydroxydopamina on retinal processing of primates. *Ann. Neurol.* 25: 357-364; 1989.
- 25) Gottlob I., Schneider E., Heider W. and Skandies W. Alterations of visual evoked potentials and electriretinograms in Parkinson's disease. *Electroenceph. Clin. Neurophysiol.* 66: 349-357; 1987.
- 26) Gottlob I., Wehaupt H. and Vass C. Effects of levodopa on the human luminance electroretinogram. *Investigation Ophthalmol. Vis. Sci.*, 31: 1252-1258; 1990.
- 27) Harnois C. and Di Paolo T. Decreased dopamine in the retinas of patients with Parkinson's disease. *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.* 31: 2473-2475; 1990.
- 28) Harter M.R. Evoked cortical responses to checkerboard patterns: effects of check size as a function of retinal eccentricity. *Vis. Res.* 10: 1365-1376; 1970.
- 29) Hess R.F. and Baker C.L. Human pattern evoked electroretinogram. *J. Neurophysiol.* 51: 939-951; 1984.
- 30) Holopigian K., Snow J., Seiple W. and Siegle I. Variability of pattern electroretinogram. *Doc. Ophthalmol.* 70: 103-115; 1983.
- 31) Kamp C. The dopamine system in the retina. Retinal transmitter and modulator: model for the brain. Ed Morgan W.W.C.R.C. Press Boca Raton, Fl, pp. 1-32; 1985.
- 32) Kay S. and Murple S.L. Spectrum analysis. A modern prospective. *I.E.E. Proc.*, 69: 1380-1419; 1991.
- 33) Keabian J.M. and Calne D.B. Multiple receptors for dopamine. *Nature*, London, 277: 93-96; 1979.
- 34) Kuffler S.W. Neurons in the retina: organization, inhibition and excitation problems. *Cold Spring Harbor Symposium. Quant. Biol.* 17: 281-292; 1952.
- 35) Kuffler S.W., Nicholls J.G. and Martin A.R. *From Neuron to Brain: a Cellular Approach to the Function of the Nervous System.* 2nd. Edition, Sunderland Mass, Sinauer; 1984.
- 36) Koppersmith M.J., Shakin E., Siegel I.M. and Lieberman A. Visual system abnormalities in patients with Parkinson's disease. *Arch. Neurol.* 39: 284-286; 1982.

- 37) Maffei L. and Fiorentini A. Electroretinographic responses to alternating gratings before and after section of the optic nerve. *Science*, 211: 953-955; 1981.
- 38) Marx M., Bodis-Wollner I., Bobak B., Hornais C., Mylin L. and Yar M. Temporal frequency-dependent changes in Parkinson's disease. *Vision. Res.* 26: 185-193; 1986.
- 39) McGonigle P., Wax M.B. and Molinoff P.B. Characterization of binding sites for 3H-spiroperidol in human retina. *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.* 29: 687-694; 1988.
- 40) Nguyen-Legros J. Functional neuroarchitecture of the retina: hypothesis of the dysfunction of retinal dopaminergic circuitry in Parkinson's disease. *Surg. Radiol. Anat.* 10: 137-144; 1988.
- 41) Nightingale S., Mitchell K.W. and Howe J.W. Visual evoked cortical potentials and pattern electroretinograms in Parkinson's disease and control subjects. *J. Neurol. Neurosurg. Psychiat.* 49: 1280-1287; 1986.
- 42) Onofrij M., Ghilardi M.F., Basciani M. and Gambi D. Visual evoked potentials in Parkinson's and dopamine blockade reveal a stimulus dependent dopamine function in humans. *J. Neurol. Neurosurg. Psychiat.* 49: 1150-1159; 1986.
- 43) Peppe A., Stanzione P., Pierelli F., Stefano E., Rizzo P.A., Tagliati M. and Morocutti C. Low contrast stimuli enhance PERG sensitivity to the visual dysfunction in Parkinson's disease. *Electroenceph. Clin. Neurophysiol.* 1992 in press.
- 44) Piccolino M., Neyton J. and Gerschenfeld H.M. Decrease of gap junction permeability induced by dopamine and cyclic adenosine 3':5' - monophosphate in horizontal cells of turtle retina. *J. Neurosci.* 4: 2477-2488; 1984.
- 45) Piccolino M., Demontis G., Witkovsky P., Bodis-Wollner I. and Mirolli M. D1 and D2 dopamine receptors involved in the control of electrical transmission between retinal horizontal cells. *Symposium in Neuroscience* pp. 1-12; 1987.
- 46) Pourcho R.G. Dopaminergic amacrine cells in the cat retina. *Brain Research*, 252: 101-109; 1982.
- 47) Regan D. and Neima D. Low contrast letter charts in early diabetic retinopathy, ocular hypertension, glaucoma and Parkinson's disease. *Br. J. Ophthalm.* 68: 885-889; 1984.

- 48) Schorderet M. and Nowak J.Z. Retinal dopamine D1 and D2 receptors: characterization by binding or pharmacological studies and physiological functions. *Cell Mol. Neurobiol.* 10: 303-325; 1990.
- 49) Seeman P. Nomenclature of central and peripheral dopaminergic sites and receptors. *Biochem Pharmacol.* 16: 2563-2568; 1982.
- 50) Sollazzo D. Influence of l-dopa/carbidopa on pattern reversal VEP: behavioural difference in primary and secondary Parkinsonism. *Electroenceph. Clin. Neurophysiol.* 47: 305-307; 1984.
- 51) Stanzione P., Pierelli F., Peppe A., Stefano E., Rizzo P.A., Morocutti C. and Bernardi G. Pattern visual evoked potentials and electroretinogram abnormalities in Parkinson's disease: effects of l-dopa therapy. *Clin. Vis. Sci.* 4: 115-127; 1989.
- 52) Stanzione P., Tagliati N., Silvestrini M., Porcu S. and Bernardi G. Haloperidol delays pattern electroretinograms more than visual evoked potentials in normal human. a pharmacological tool in Parkinson's disease pathophysiology. *Clin. Vis. Sci.* 6: 137-147; 1991.
- 53) Stormann T.M., Gdula D.G., Weiner D.M. and Brann M.R. Molecular cloning and expression of dopamine D2 receptor from human retina. *Mol. Pharmacol.* 37: 1-6; 1990
- 54) Tan C.B., King P.J.L. and Chiappa K.J. Pattern ERG: effect of reference electrode site, stimulus mode and check size. *Electroenceph. Clin. Neurophysiol.* 74: 11-18; 1989.
- 55) Tartaglione A., Pizio N., Bino G., Spadavecchia L. and Favale E. VEP changes in Parkinson's disease are stimulus dependent. *J. Neurol. Neurosurg. Psychiat.* 47: 305-307; 1984.
- 56) Teranishi T., Nigishi K. and Kato S. Regulatory effects of dopamine on spatial properties of horizontal cells in carp retina. *J. Neurosci.* 4: 1271-1280; 1984.
- 57) Thompson D.A. and Drasdo N. Computation of the luminance and pattern component of the bar pattern electroretinogram. *Docum. Ophthalmol.* 66: 233-244; 1987.
- 58) Tomoda H., Celesia G.G. and Cone Toleikis S. Effect of spatial frequency on simultaneous recorded steady-state pattern electroretinograms and visual evoked potentials. *Electroenceph. Clin. Neurophysiol.* 80: 81-88; 1991.

59) Witkovsky P., Stone S. and Trachina D. Photoreceptors to horizontal cell synaptic transfer in the Xenopus retina: modulation by dopamine ligands and circuit model for interactions of rod and cone inputs. J. Neurophysiol. 62: 864-881; 1989.

60) Zar J.K.. Biostatistical Analysis. Prentice-Hall, Englewood Cliffs, NJ, USA 310-328; 1974.

61) Zarbin M.A., Wamsley J.K., Palacios J.M. and Zuhar M.J. Autoradiographic localization of high affinity GABA, benzodiazepine, dopaminergic, adrenergic and muscarinic cholinergic receptors in the rat, monkey and human retina. Brain Res. 374: 75-92; 1986.

62) Zrenner E. The physiological basis of the pattern electroretinogram. Progress in Retinal Res. 9: 427-464; 1989.

