

2m11.2952.2

Université de Montréal

Effets de la dopamine sur la fonction rétinienne du lapin

**Par
Frédéric Huppé-Gourgues**

**Centre de recherche en sciences neurologiques
Département de Physiologie
Faculté de Médecine**

**Mémoire présenté à la faculté des études supérieures
En vue de l'obtention du grade de maîtrise
En Sciences Neurologiques**

Décembre, 2001

©, Frédéric Huppé-Gourgues, 2001



W

4

U58

2002

V.057

Page d'identification du jury

Université de Montréal
Faculté des études supérieures

Ce mémoire intitulé :
Effets de la dopamine sur la fonction rétinienne du lapin

Présenté par :
Frédéric Huppé-Gourgues

A été évalué par un jury composé des personnes suivantes :

Dr. Maurice Ptito	président du jury
Dr. Christian Casanova	directeur de recherche
Dr. Pierre Lachapelle	membre du jury

Table des Matières

Table des Matières	i
Table des Figures	iii
Table des Abréviations	v
Résumé	vi
Abstract	vii
Remerciements	viii
INTRODUCTION	1
1. La dopamine	1
1.1 Phénomènes pré-synaptiques.	3
1.1.1 Synthèse Daergique	3
1.1.2 Relâche de la DA	4
1.1.3 Régulation	5
1.1.4 Recapture de la DA	6
1.1.5 Voies de dégradation	6
1.2 Phénomènes post synaptiques	8
1.2.1 Les récepteurs D1	9
1.2.2. Les récepteurs D2	10
1.2.3 Interaction entre récepteurs	11
2. Le système visuel	13
2.1 La rétine	13
2.1.1 Organisation radiale	13
2.1.1 Organisation latérale	14
2.2 Électrorétinogramme et les cellules DA de la rétine	16
2.3 Rôle de la DA rétinienne dans les fonctions visuelles	19
2.3.1 L'onde <i>a</i>	20
2.3.2 L'onde <i>b</i>	20
2.3.3 L'onde <i>c</i>	22
2.3.4 Les potentiels oscillatoires	22
3. Fonction visuelle et DA	23
3.1 Effets de la DA sur les mécanismes rétiniens	23
3.1.1 Couplage des Horizontales	23
3.1.2 Remplacement des disques	24
3.1.3 Mouvement des pigments de l'épithélium	25
3.1.4 Mouvement rétinomoteur	25
3.2 Évidences du rôle de la DA dans la fonction visuelle rétinienne	25
3.2.1 Étude d'ERG	26
3.2.2 Étude chez l'humain.	26

4. Buts et hypothèses	27
MATÉRIEL ET MÉTHODES	28
1. Les animaux	28
2. La préparation	28
3. Les enregistrements	30
4. Les stimulations	31
5. Les injections	32
6. Histologie	34
7. Protocole expérimental et analyse statistique	35
RESULTATS	37
1. Contribution des récepteurs D1	37
1.1 Agonistes D1 : SKF38393, A77636.	37
1.1.1 SKF38393	37
1.1.2 A77636	53
1.2 Antagoniste D1 : SCH23390	56
2. Contribution des récepteurs D2	58
2.1 Agoniste : norpropylapomorphine (NPA)	58
2.2 Antagoniste : sulpiride	61
DISCUSSION	65
1. Résumé des résultats	65
2. Considérations Méthodologiques	66
3. Agoniste D1	68
3.1 Impact des agonistes D1 sur l'onde b.	68
3.2 Impact des agonistes D1 sur l'onde a	72
3.3 Impact des agonistes D1 sur l'onde c	72
4. Antagoniste D1	73
5. Agoniste D2	77
6. Antagoniste D2	78
7. Conclusion	79
Bibliographie	83

Table des Figures

Figure 1, Schéma de la synthèse de la DA.	2
Figure 2, Les voies de dégradation de la DA.	7
Figure 3, Récapitulatif des effets des différents agonistes et antagonistes sur l'activité de l'adenylate cyclase.	12
Figure 4, Circuit des connections entre les différentes cellules rétinienne.	15
Figure 5, Composantes de l'ERG.	21
Figure 6, Exemples d'effet sur l'ERG lors d'une injection de SKF38393.	38
Figure 7, Exemple du déroulement temporel de l'amplitude de l'onde b suite à une injection de SKF38393.	38
Figure 8, Exemple du déroulement temporel de l'amplitude de l'onde b suite à une injection de SKF38393.	39
Figure 9, Déroulement temporel des changements d'amplitude de l'onde b suite aux injections de 1mg/100µl de SKF38393.	41
Figure 10, Effet individuel du SKF38393 sur l'amplitude de l'onde b.	42
Figure 11, Effet du SKF38393 sur la latence de l'onde b.	44

Figure 12, Effet du SKF38393 sur l'amplitude de l'onde a.	46
Figure 13, Effet du SKF38393 sur la latence de l'onde a.	47
Figure 14, Effet du SKF38393 sur l'amplitude de l'onde c.	48
Figure 15, Effet du SKF38393 sur la réduction de l'onde b en fonction de la condition lumineuse.	50
Figure 16, Effet du SKF38393 sur la réduction de l'onde b en fonction de la condition lumineuse.	51
Figure 17, Effets du SCH23390 sur l'amplitude de l'onde b.	55
Figure 18, Effets du NPA sur l'amplitude de l'onde b.	58
Figure 19, Effets du NPA sur l'amplitude de l'onde b en fonction de la concentration.	59
Figure 20, Effets du NPA sur l'amplitude de l'onde b en fonction de la condition lumineuse.	61
Figure 21, Effet de la Sulpiride sur l'amplitude de l'onde b.	62

Table des Abréviations

AMPA	acide α -amino-3-hydroxy-5-methylisoxazole-4-propionic
ARN	Acide ribonucléique
ATP	adenosine tri phosphate
Calcium	Ca ⁺⁺
cAMP	adénosine mono phosphatique cyclique
cd/m ²	candela par mètre carré
ChAT	choline acetyl transférase
COMT	Cathécol-O-Méthyle transférase
DA	Dopamine
DOPAC	acide dihydroxyphenylacetic (DOPAC)
ERG	Électrorétinogramme
É.t.	Écart type
F	test anova
G	protéine G telle G _s G _a G _i G _o
GABA	acide λ aminobutyric
GLT1	transporteur glutamique
HIOMT	hydroxyindole-O-méthyltransférase (HIOMT)
HPLC	high pressure liquid chromatography
HVA	acide homovanillique (HVA).
Hz	hertz
i.o.	intra oculaire
i.v.	intra veineux
iGluR	récepteur glutaminergique ionotropique
IP3	phosphoinositol (IP3)
IPL	Couche interplexiforme
ISCEV	International Society for Clinical Electrophysiology of Vision
K+	ion potassium
MAOb	monoamines oxydases B
mg	milligramme
mGluR	récepteur glutamatergique métabotropique
n	nombre de sujets expérimentaux utilisé lors du calcul statistique
Na+	ion sodium
NMDA	n- méthyl d-aspartate
NPA	norpropylapomorphine
OP	Potentiels oscillatoires
OPL	Couche plexiforme externe
P	seuil de signification statistique
PKA	phospho Kinease A
PNR	réponses négatives proximales
s.c.	sous cutanée
t	test t pairé
TH	tyrosines hydroxylases (TH)
TH ⁺	Immunoréactivité positive à la tyrosine hydroxylase

Résumé

Il a été démontré que l'apomorphine (un agoniste mixte des récepteurs D1/D2) réduit l'amplitude de l'onde *b* de l'électrorétinogramme (ERG) (Jagadeesh & Sanchez 1981). La présente étude s'inscrit dans un cadre plus large visant à comprendre le rôle de la dopamine (DA) rétinienne dans la fonction visuelle. Nous cherchons à déterminer l'effet de ligands des récepteurs D1 et D2 sur les composantes de l'ERG et sa latence. Sur des lapins anesthésiés, l'onde *a* et *b* sont comparées avant et après l'injection et entre l'œil testé et l'œil contrôle. Nous avons injecté le SKF38393, SCH23390, Norpropylapomorphine et la sulpiride. Le SKF38393 réduit (moyenne : 62%) l'amplitude de l'onde *b* sans affecter les autres composantes tout comme la sulpiride (moyenne 40%) mais cette dernière avec un décours temporel plus long. Nos résultats suggèrent que la DA module l'amplitude de l'onde *b* par l'activation des récepteurs D1. La sulpiride pourrait agir via les autorécepteurs en réduisant modifiant la relâche de DA endogène.

Supporté par :

Fond FCAR-FRSQ-Santé (Bourse de Maîtrise F. Huppé-Gourgues)
CRSNG 194670-98 (C. Casanova)

Mots Clefs :

Neurosciences, Vision, Rétine, Dopamine, Electrorétinogramme, lapin, SKF38393, SCH23390, Norpropylapomorphine (NPA), Sulpiride.

Abstract

It has been shown that apomorphine (a mixed D1/D2 receptor agonist) reduces the amplitude of the electroretinogram (ERG) *b*-wave (Jagadeesh & Sanchez 1981). As part of a project aiming to better understand the role of DA in visual function, we investigated the effects of D1 and D2 ligands on the *b*-wave amplitude and implicit time in anaesthetised rabbits. ERG variables were compared between pre and post-injection and between tested and controlled eye. We inject SKF38393, SCH23390, Norpropylapomorphine and sulpiride. SKF38393 reduced (average : 62%) the amplitude of the *b*-wave without affecting other components as well as Sulpiride (average 40%) but the latter had a longer time course (4 to 6 hours post-injection). Our results suggest that the DA modulation of the *b*-wave rely on the activation of D1 receptors. Sulpiride may act on the autoreceptors to reduce the amount of released endogenous DA.

Support by :

Fond FCAR-FRSQ-Santé (Bourse de Maîtrise F. Huppé-Gourgues)

NSERC 194670-98 (C. Casanova)

Key words :

Neurosciences, Vision, Retina, Dopamine, Electroretinogramme, rabbit, SKF38393, SCH23390, Norpropylapomorphine (NPA), Sulpiride.

L'auteur désire aussi remercier son directeur de recherche Christian Casanova pour ses conseils éclairés et ses critiques constructives (même si quelques fois on a envie de les prendre personnel). Merci spécial à la responsable du laboratoire des neurosciences de la vision Karine Minville, notre mère supérieure à tous qui nous a tout appris et couvert toutes nos gaffes. Merci à mon frère d'ERG Gino Coudé étudiant au Ph.D. pour son apport en caféine et surtout son soutien moral lors des expérimentations. Merci à la gang du labo, les semaines d'expériences ne serait pas les mêmes sans cet esprit d'équipe.

Merci aux professeurs Dr.Ward et Dr.Godboult de l'Université du Québec à Trois-Rivières qui m'ont encouragé à suivre ma voie, la recherche.

Je désire remercier le Fonds de Recherche en Santé du Québec pour son soutien financier sous forme de bourse de maîtrise (FRSQ-FCAR-Santé) lors de la réalisation de cette étude.

D'un point de vue plus personnel, merci à Nancy d'avoir survécu aux semaines de 90 heures, surtout à l'humeur qui vient avec.

INTRODUCTION

1. La dopamine

On attribue à la DA un rôle clef dans différentes maladies du système nerveux tel que le syndrome de parkinson et la schizophrénie. Le premier serait en partie dû à une perte de neurones dopaminergiques du striatum et de la substance noire. Alors que la schizophrénie résulterait d'un excès de DA dans la partie mésolimbique du cerveau.

La DA fait partie du groupe des catécholamines dont font aussi partie la noradrénaline et l'adrénaline. La DA est la plus simple des catécholamines, la noradrénaline comme l'adrénaline sont des produits de la DA suite à d'autres transformations enzymatiques. La DA est le résultat de la transformation successive de la tyrosine par les enzymes tyrosines hydroxylases (TH), aromatique *l*-amino acide décarboxylase.

(voir Figure 1).

La DA se trouve dans la grande famille des amines biogènes. Les amines biogènes qui comprennent toutes les catécholamines en plus d'inclure la sérotonine et l'histamine.

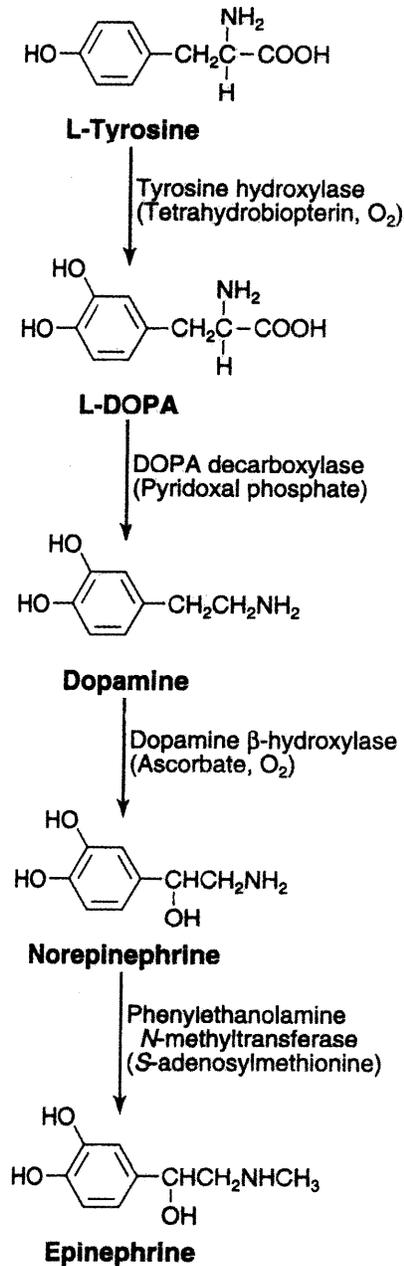


Figure 1, Schéma de la synthèse de la DA.

La TH transforme la *l*-Tyrosine en *l*-dopa. Sous l'action de la dopa décarboxylase la *l*-dopa devient la DA. Les étapes ultérieures permettent la synthèse des autres catécholamines. Copie tirée de Siegel *et al.* (1999)

L'information présentée dans cette section est basée sur l'article de revue suivant : Djamgoz et Wagner 1992, et les livres suivants Nester *et al.* 2001, Cooper *et al.* 1996, Feldman *et al.* 1997, Sigel *et al.* 1999. Les références spécifiques seront données dans le texte.

1.1 Phénomènes pré-synaptiques.

1.1.1 Synthèse DAergique

Notre compréhension des mécanismes modulant le taux de dopamine nous vient d'études portant plus spécifiquement sur l'enzyme limitant de la synthèse dopaminergique, qui est la TH. On observe chez cet enzyme une variation circadienne qui n'est pas attribuable à un mécanisme extra-rétinien (Iuvone *et al.* 1986).

Le facteur influençant l'activité de la TH le mieux compris est l'éclairement. Ainsi, on observe une corrélation entre le niveau d'éclairement et l'activité de la TH (Proll *et al.* 1982). Le taux de TH est plus de 2 à 4 fois supérieure en condition photopique (correspondant à la vision diurne) qu'en condition scotopique (vision nocturne). Cette hausse de TH survient dans la première minute suivant l'apparition de lumière (Iuvone *et al.* 1978; Burnside *et al.* 1989). Cependant, la hausse est transitoire et retourne à un niveau moindre

mais légèrement plus élevé qu'à la noirceur (Kirsh *et al.* 1989). Cette hausse peut être contrée de manière dose dépendante par un agoniste spécifique au récepteur GABA_A (Morgan *et al.* 1980; Kamp *et al.* 1981; Proll *et al.* 1983) et semble dépendante du Ca⁺⁺ (Kirsh *et al.* 1989). D'autres substances comme l'adrénaline, la glycine et la DA elle-même ont un effet négatif sur la synthèse de la DA (Witkovsky *et al.* 1992).

Le taux de base de la TH à l'obscurité peut être modulé par la glycine et le glutamate via les récepteurs quisqualates (Morgan *et al.* 1983).

1.1.2 Relâche de la DA

La DA est entreposée dans les vésicules larges à cœurs denses typiques des neurotransmetteurs. La relâche de DA est dépendante du Ca⁺⁺ (Dubrochovich *et al.* 1981). Plusieurs substances peuvent moduler la relâche de la DA, tel le GABA.

De manière plus globale, on note une augmentation du taux de DA synaptique lors du passage de l'obscurité à la lumière (Drujan *et al.* 1985). De même, le passage répété de l'obscurité à la lumière peut cumuler l'augmentation de DA, c'est pourquoi l'utilisation de «flicker» (stimulation visuelle stroboscopique) visuel permet d'augmenter de 4 à 5 fois le taux de DA endogène (Kirsh *et al.* 1987).

1.1.4 Régulation

Un type de récepteurs DAergiques situé sur la partie pré-synaptique servirait d'autorécepteur. Le rôle de l'autorécepteur est de moduler la synthèse et la relâche de DA en fonction de la DA extracellulaire. Le blocage des autorécepteurs augmente donc l'activité de l'enzyme TH (Cohen *et al.* 1981).

La lumière modifie l'efficacité de la TH en diminuant le coefficient de liaison de la TH vers le cofacteur petridine sans toutefois modifier la vitesse de réaction enzymatique. L'exposition chronique à la lumière augmente la vitesse de réaction enzymatique sans modifier le coefficient de liaison de la TH avec son cofacteur petridine (Iuvone *et al.* 1978). L'auteur de cette étude propose que les changements à court terme soient relatifs aux changements d'affinité alors que les changements à long terme seraient dus à l'augmentation de la quantité d'enzymes disponibles.

L'efficacité intracellulaire de certains récepteurs DAergiques peut être modulée selon l'utilisation par l'habituation des récepteurs. Cette régulation obéit à un décours temporel défini (Bates *et al.* 1991). L'obscurité prolongée provoque une hypersensibilité des récepteurs pour la dopamine. Ce phénomène peut laisser croire à un processus de régulation à la hausse de l'affinité des récepteurs ou de leur nombre (Vu Van *et al.* 1993).

1.1.3 Recapture de la DA

La recapture de la DA se fait grâce aux DAT (dopamine transporter) qui sont hautement spécifiques à la DA. L'immunohistologie des DATs montre une concordance avec la localisation des lieux de synthèse de la DA. Le système de recapture de la DA synaptique peut fonctionner pour la capture comme pour la relâche selon les gradients de concentration (Nester *et al.* 2001).

1.1.4 Voies de dégradation

Il existe deux voies de dégradation de la DA soit via les monoamines oxydases B (MAOb) soit via les Cathécol-O-Méthyle transférase (COMT). La dégradation de la DA par l'une ou l'autre des voies a pour résultat la transformation de la DA en acide homovanillique (HVA). (voir Figure 2).

- *Voie MAOb* : La principale voie de dégradation de la DA se fait par les MAOb. Les MAOb sont surtout responsables de la dégradation de la DA à l'intérieur du neurone pré-synaptique des molécules de DA non vésiculaires. La DA relâchée sera dégradée en acide dihydroxyphénylacetic (DOPAC).

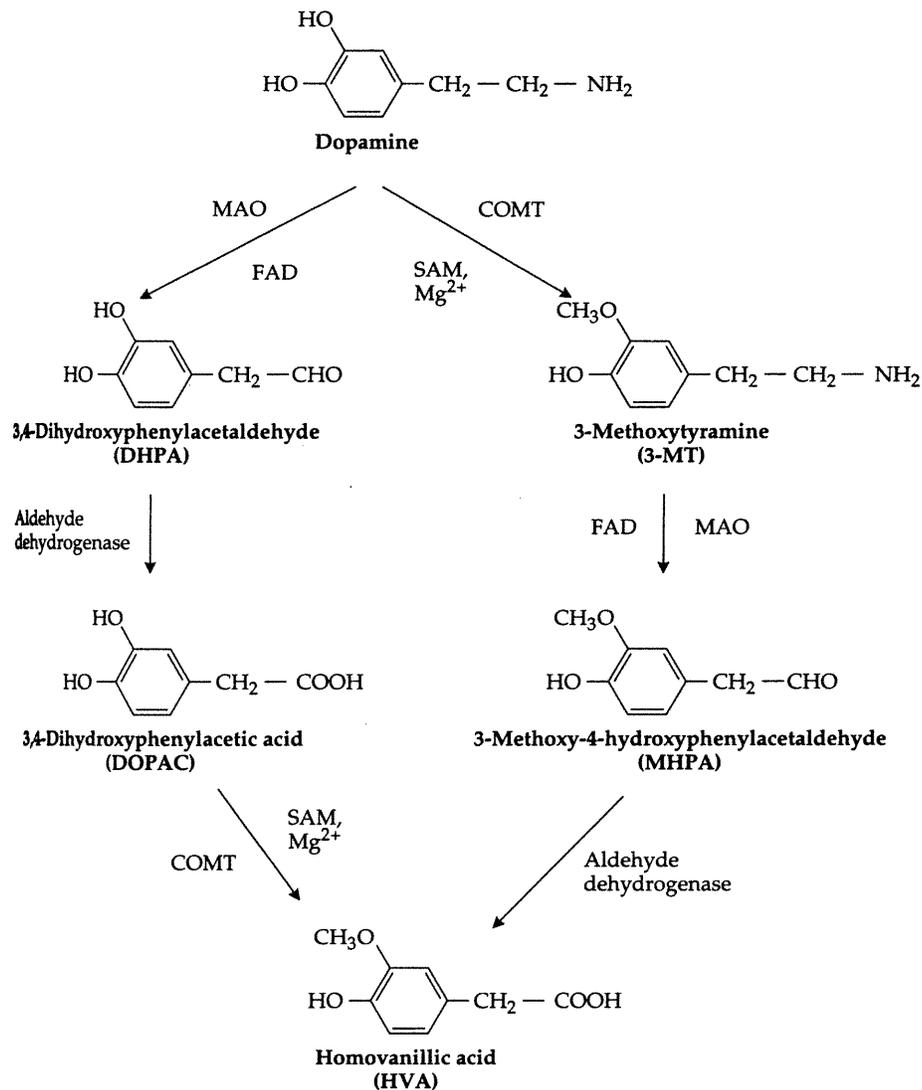


Figure 2, Les voies de dégradation de la DA.

À droite la voie de dégradation via les COMT, à gauche la voie via les MAO. Plusieurs des enzymes impliqués dans l'une des voies le sont aussi dans l'autre voie. La distinction entre les voies se fait surtout grâce résidus transitoires de chacune des voies. Copie tiré de Feldman *et al.* (1997).

- *Voie COMT* : La seconde voie de dégradation de la DA se fait par catalyse via les COMT. Cette voie est impliquée dans la dégradation de la DA restante dans la fente synaptique ainsi qu'à l'intérieur du neurone post-synaptique.

1.2 Phénomènes post synaptiques

Il existe deux types de récepteur soit les D1 et les D2. La dopamine montre une affinité d'un ordre de grandeur supérieur avec les D1 qu'avec les D2 (micro molaire vs. pico molaire respectivement). La DA aurait un effet trans-synaptique en plus d'avoir des effets paracrines à l'intérieur de la rétine. La DA pourrait agir de façon paracrines sur les photorécepteurs (Yang *et al.* 1988; Vizi *et al.* 1987; Witkovsky *et al.* 1992).

Les effets de la dopamine sur les cellules post synaptiques peuvent être de plusieurs natures. Ainsi, la DA n'entraîne pas de changement dans le potentiel membranaire, mais potentialise le courant entrant induit par le glutamate, en particulier des récepteurs kainates, et augmente la probabilité d'ouverture des canaux glutamatergiques (Knapp *et al.* 1987; Knapp *et al.* 1990).

1.2.1 Les récepteurs D1

La famille des récepteurs D1 comprend les récepteurs D1 et D5. Le gène codant pour ces récepteurs ne possède pas d'intron (section du gène non-codante excisée ultérieurement lors de la synthèse protéique) (Cardineaud *et al.* 1998). Les récepteurs D1 ont plusieurs effets physiologiques tels la stimulation de la voie intracellulaire du phosphoinositol (IP3), la stimulation de certaines protéines G (Gs) et augmentent l'activité de l'adenylate cyclase entraînant une augmentation de la concentration intracellulaire d'adénosine monophosphate cyclique (AMPc) et modifiant l'équilibre calcique. Le profil d'hydrophobicité du récepteur D1 ressemble au récepteur *b*-adrenergique en particulier dans la zone de liaison avec la protéine G (Dearry *et al.* 1990). Les récepteurs D1 augmentent les conductances ioniques sodiques, cependant cet effet serait indirect. Les récepteurs D1 influencent plusieurs autres récepteurs comme les récepteurs glutamatergiques, et certains types de canaux calciques (Pfeiffer-Linn *et al.* 1993).

L'immunohistochimie des cellules amacrines révèle plusieurs colocalisations des récepteurs D1a et des transporteurs glutaminergiques GLT1 (Veruki *et al.* 1996). On retrouve aussi des colocalisations des récepteurs D1 avec la choline acétyltransférases (ChAT) qui est un indice de la synthèse de sérotonine.

1.2.2. Les récepteurs D2

La famille des récepteurs D2 comprend les récepteurs D2, D3 et D4 qui sont obtenus par épissage alternatif. Lors de la synthèse protéique deux isoformes des D2 peuvent être obtenus en une forme courte et une forme longue (Van Tol *et al.* 1998). Contrairement aux récepteurs D1, les récepteurs D2 proviennent de gènes possédant plusieurs introns (Sokoloff *et al.* 1995). Les effets cellulaires de l'activation des récepteurs D2 sont contraires à l'activation des D1. Les D2 diminuent l'activité de la voie phosphoinositol (Canico *et al.* 1983) ainsi que l'activité de l'adénylate cyclase. L'activation des récepteurs D2 entraîne plusieurs modifications car en plus de l'action directe sur le récepteur D2 les autorécepteurs moduleront la synthèse et la relâche de DA endogène. La relâche de DA endogène affectera à la fois les récepteurs D1 et D2 (voir Figure 3).

Les D2 agissent via les protéines Gi et/ou Go. En plus, les D2 agissent directement sur certains canaux ioniques potassiques et diminuent la conductance de certains canaux calciques (Schofield *et al.* 1983; Williams *et al.* 1990). De façon indirecte, les D2 affecteront les enzymes phospholipases C (Malgaroli *et al.* 1988). Les effets engendrés par l'activation des récepteurs D2 sont très diversifiés.

La différence majeure dans la structure moléculaire des canaux D1 et D2 se trouve dans la longueur de la troisième boucle intracellulaire ainsi que dans la longueur de la queue du côté carboxyle (Dearry *et al.* 1990; Grandy 1989). Les récepteurs D2 ont une affinité différente pour la DA dans l'ordre du micro-molaire alors que les autorécepteurs aussi de type D2 ont une affinité plus élevée dans l'ordre du nano-molaire.

1.2.3 Interaction entre récepteurs

En plus des effets opposés rapportés précédemment sur le taux de l'AMPc, les récepteurs D1 et D2 sont en interactions synergiques et coopératives sur d'autres aspects de la régulation. Dans certaines circonstances, l'action d'un récepteur peut être potentialisé par le récepteur de l'autre type (Daly & Waddington 1992).

2. Le système visuel

Bien que le système visuel occupe une grande proportion des structures cérébrales nous nous concentrons sur le premier stade de la vision, la rétine. La DA est utilisée dans le cerveau et dans certaines régions reliées à la vision. Nous préférons utiliser le modèle rétinien pour étudier les effets de la DA, car ce modèle permet une meilleure accessibilité aux cellules neuro-modulatrices.

2.1 La rétine

La rétine possède cinq familles de cellules organisées de façon très spécifique. On considère la rétine comme une partie du système nerveux central malgré quelle soit à l'extérieure de l'encéphale et la moëlle épinière. L'origine de la rétine provient des mêmes structures embryonnaires que le reste du système nerveux central. La rétine utilise les mêmes modes et les mêmes substances que ce dernier pour traiter l'information.

2.1.1 Organisation radiale

L'organisation radiale de la rétine représente la voie directe entre la stimulation d'un photorécepteur et l'envoi du message vers les zones

visuelles du cerveau. Cette voie comporte trois types de cellules les photorécepteurs, les bipolaires et les cellules ganglionnaires (voir Figure 4). L'arrivée de photons hyperpolarisent de manière proportionnelle le photorécepteur via une cascade enzymatique de nucléotide cyclique. Cette hyperpolarisation réduira la libération d'acide aminée excitatrice glutamatergique par le photorécepteur. La réponse des bipolaires peut alors être de deux types : hyperpolarisante ou dépolarisante. Communément, on appelle les bipolaires de type « on » ou type « off ». Les bipolaires libèrent ensuite du glutamate sur les cellules ganglionnaires. Ces dernières produiront les potentiels d'actions qui seront envoyés aux aires visuelles du cerveau.

2.1.1 Organisation latérale

La rétine possède deux types de cellules qui modulent les signaux visuels transigeant par la voie radiale. Le premier type est la cellule horizontale située entre les photorécepteurs et les bipolaires, ensemble les trois types de cellules forment des triades synaptiques (voir Figure 4). Le rôle des cellules horizontales est de moduler la transmission entre le photorécepteur et la

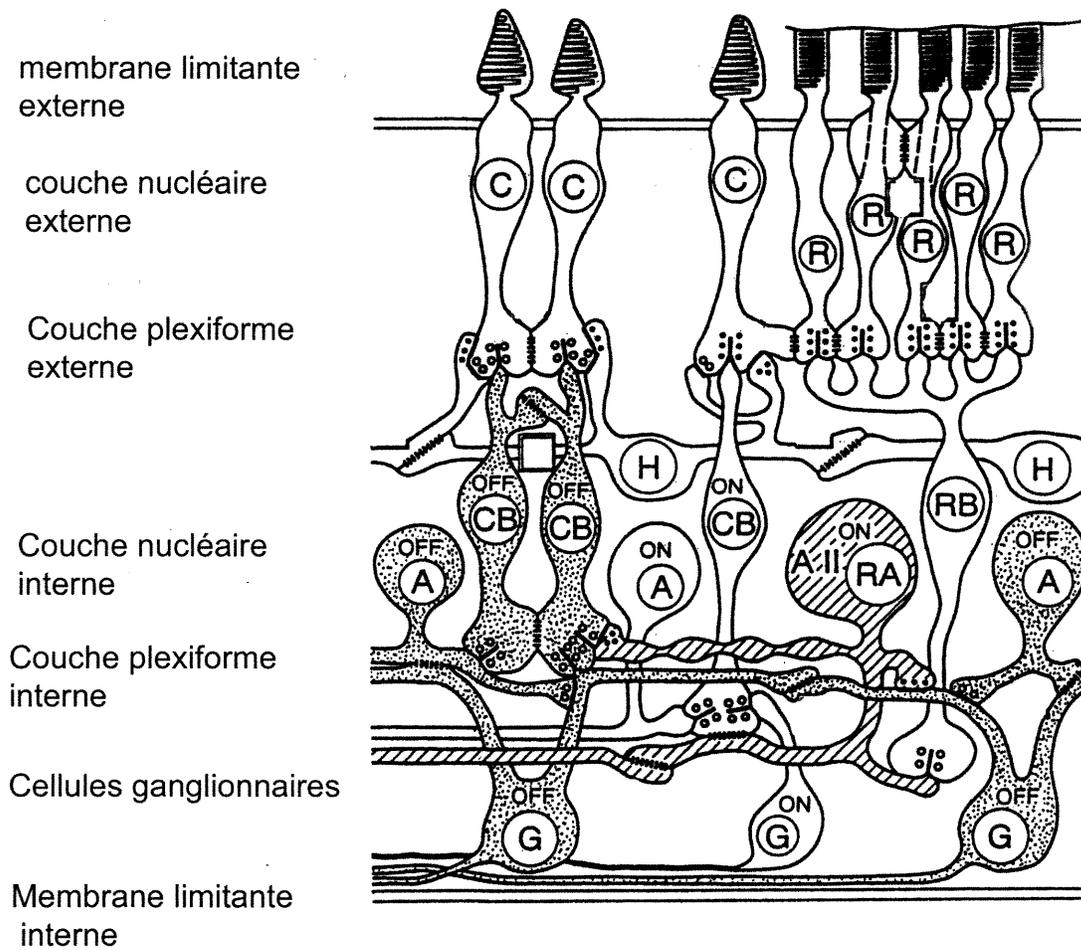


Figure 4, Circuit des connexions entre les différentes cellules rétiniennes. Les points noirs représentent des terminaux synaptiques inhibiteurs. Les points vides représentent des connexions excitatrices. C : cônes, R : bâtonnets, H : cellules horizontales, CB : bipolaires des cônes, A : cellules amacrine, G : cellules ganglionnaires. Adapté de Cook & Becker (1995)

cellule bipolaire. Par leurs interactions latérales, les cellules horizontales peuvent moduler les voies des autres photorécepteurs à proximité et seraient à la base de la périphérie des champs récepteurs des cellules bipolaires et de l'antagonisme entre le centre et la périphérie.

Le deuxième type est la cellule amacrine qui est située entre les bipolaires et les ganglionnaires. Il existe plusieurs types de cellules amacrines. Les amacrines jouent un rôle de modulation latérale comme les cellules horizontales. Toutefois, les amacrines sont plus diversifiées, elles utilisent comme neurotransmetteurs le GABA, la glycine, l'acétylcholine, la sérotonine ainsi que la DA qui fait l'objet de cette étude. Chez certaines espèces comme le lapin, les cellules amacrines pourraient aussi participer à la détection du mouvement des stimuli visuels (Brunken & Daw, 1988).

2.2 Électrorétinogramme et les cellules DA de la rétine

C'est dans les années 50 que Duner *et al.* révèlent la présence de catécholamine dans la rétine. Il semble que ces catécholamines se retrouvent dans la rétine de plusieurs espèces allant des poissons aux primates. Cependant, on ne note pas de tendance évolutive claire mais toutes les espèces hautes dans la phylogénèse utilisent des catécholamines dans leur rétine (Djamgoz *et al.* 1992).

Afin de trouver la localisation des cellules DAergiques, il est d'usage d'effectuer l'immunohistochimie non pas contre la DA elle-même mais contre l'enzyme TH. La distribution des cellules répondant positivement au marquage histologique dirigé contre la TH montre que la distribution des cellules TH⁺ suit celle des cellules ganglionnaires (Nguyen-Legros *et al.* 1988). Plus précisément, on trouve de moins en moins de cellules marquées TH⁺ en périphérie. Chez les primates, la répartition des cellules TH⁺ suit la distribution des bâtonnets (Majani *et al.* 1984).

Les cellules TH⁺ projettent à la couche OPL et IPL (voir Figure 4) (Ehinger *et al.* 1987; Nguyen-Legros *et al.* 1988) et ses projections sont plus marquées vers l'IPL. Toutefois, dans la rétine la DA peut aussi agir de façon paracrine (Vizi *et al.* 1984; Witkovsky *et al.* 1992). Les seules cellules dopaminergiques de la rétine sont les amacrine et chez certaines espèces les interplexiformes. (Nguyen-Legros *et al.* 1997 : Wassle *et al.* 1989)

On connaît peu l'effet de la DA sur les cellules bipolaires. Les analyses immunohistologiques révèlent que la couche interplexiforme interne réagit aux anticorps dirigés contre les récepteurs dopaminergiques D1 (Nguyen-Legros *et al.* 1997). Ces études démontrent que les récepteurs D1 ont plutôt tendance à se retrouver sur les bipolaires des cônes que les bipolaires des bâtonnets.

Il existe des interactions entre les cellules DA et les autres cellules amacrines. En particulier, les amacrines glycinergiques AII reçoivent des projections massives des amacrines dopaminergiques (Kolb 1990). Les amacrines AII sont aussi impliquées dans la voie rétinienne des bâtonnets. L'immunohistochimie révèle la présence de récepteurs D1 et D2 dans la couche ganglionnaire de la rétine (Tran *et al.* 1992). Ces résultats sont confirmés par la présence d'ARN messager des récepteurs D1b et D2 dans les cellules ganglionnaires de plusieurs espèces (Prunte *et al.* 1992 ; Wagner *et al.* 1993).

La DA produit un effet similaire à la lumière sur les potentiels membranaires des photorécepteurs (Hedden *et al.* 1978). Dans les bâtonnets, la DA provoque l'hyperpolarisation en modifiant la performance des pompes Na^+/K^+ ATPasiques (Shulman *et al.* 1996). Cependant, la DA aurait moins d'effet sur les bâtonnets que sur les cônes (Witkovsky *et al.* 1992). Ainsi, la DA supprime l'apport des bâtonnets au profit des cônes. Il semble que les deux types de récepteurs dopaminergiques seraient impliqués dans le processus de prédominance des bâtonnets sur les cônes (Witkovsky *et al.* 1989). Toutefois, les récepteurs D2 seraient plus impliqués dans l'hyperpolarisation à cause de leur action sur les pompes Na^+/K^+ ATPasiques.

Les cellules de Müller sont des cellules gliales impliquées dans la régulation des ions libres dans la rétine. Les cellules de Müller sont surtout impliquées dans la régulation des ions potassiques. Chez de nombreuses espèces, l'immunohistologie montre la présence de récepteurs D2 sur les cellules de Müller (Wagner *et al.* 1993). Les récepteurs D2 sont présents chez toutes les cellules de Müller et module la résistance membranaire (Biderman *et al.* 1995).

2.3 Rôle de la DA rétinienne dans les fonctions visuelles

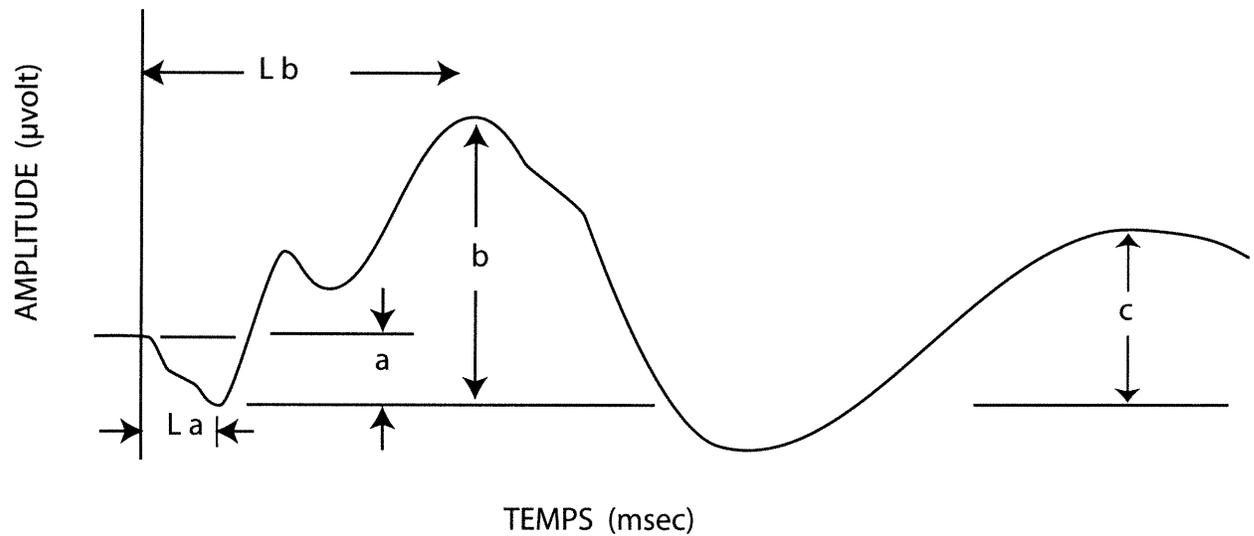
Il existe plusieurs méthodes d'investigation des fonctions visuelles de la rétine. L'ERG est l'un de ces moyens en permettant d'enregistrer les signaux électriques émis par la rétine suite à une stimulation visuelle. L'ERG est connu depuis près d'un siècle. L'enregistrement des signaux se fait à l'aide d'électrodes posées sur la cornée ou la sclère. L'ERG est la réponse électrique de l'œil suite à la stimulation d'un éclair lumineux qui peut être de type *flash* (un éclair), *pattern* (stimulation de la rétine partie par partie) ou *flicker* (stimulation stroboscopique). Il est possible en faisant varier la luminance du fond et l'intensité des éclairs d'isoler la réponse des cônes ou des bâtonnets. Le tracé de l'ERG au flash est typique et peut se décomposer en différentes composantes (voir Figure 5).

2.3.1 L'onde *a*

La première composante de l'ERG est une onde négative appelée l'onde *a*. Cette onde négative se subdivise en deux sous-composantes soit une composante qui apparaît rapidement et une apparaissant quelques centièmes de seconde plus tard (Armington *et al.* 1952). On attribue l'onde *a* à l'hyperpolarisation des photorécepteurs suite à la stimulation visuelle.

2.3.2 L'onde *b*

La deuxième composante de l'ERG est l'onde *b* qui consiste en une fluctuation positive de grande amplitude du tracé électrophysiologique. On attribue l'onde *b* aux cellules de Müller. L'enregistrement intracellulaire des cellules de Müller montre un décalage temporel concordant à celui de l'onde *b* (Miller & Dowling 1970). La destruction de la couche nucléaire interne supprime l'onde *b* sans affecter l'onde *a* (Gouras *et al.* 1965). L'onde *b* est en lien directe avec l'intensité de la stimulation. Toutefois, autant l'activation du système des cônes que des bâtonnets permettent d'obtenir ultérieurement l'onde *b*.



- L a Latence de l'onde a
- L b Latence de l'onde b
- a Amplitude de l'onde a
- b Amplitude de l'onde b
- c Amplitude de l'onde c

Figure 5, Composantes de l'ERG.

Le tableau 5 permet de résumer les principales composantes de l'ERG flash ainsi que leurs mesures respectives. La ligne verticale représente le moment où l'éclair est produit. La première déflexion est l'onde a. La remontée jusqu'au point maximum représente l'onde b. L'onde c survient plus tardivement. Adapté de Jagadeesh & Sanchez (1984)

L'onde *b* provient des cellules de Müller, cependant on croit que la réponse des cellules de Müller serait sous-jacente à l'activité des cellules bipolaires. Ainsi, les cellules de Müller serviraient à dispersé les courants potassiques engendrés par les cellules bipolaires (Dick & Miller 1978; Klein *et al.* 1978).

2.3.3 L'onde *c*

La troisième composante de l'ERG est l'onde *c* caractérisée par une déflexion positive du tracé d'amplitude moyenne dont le décours temporel est lent. L'onde *c* provient de l'épithélium pigmentaire de la rétine. L'enregistrement de l'épithélium pigmentaire suite à une stimulation lumineuse correspond à l'onde *c* observée dans le tracé des ERGs correspondants (Steinberg *et al.* 1970).

2.3.5 Les potentiels oscillatoires

Les potentiels oscillatoires (OP) sont une succession d'oscillations rapides d'amplitudes faibles qui se superposent à l'onde *b* de l'ERG. Le nombre d'oscillations varient selon les espèces. Le lieu où sont produits les OPs ne fait pas l'unanimité. Toutefois, il est connu que les OPs proviennent de sources post-synaptiques aux photorécepteurs car les OP sont supprimés

suite au blocage de la transmission synaptique des photorécepteurs (Yonemura *et al.* 1979). Certains des OPs sont en étroite relation avec l'amplitude de l'onde *b* et entretiennent des liens corrélacionnels évidents (Lachapelle *et al.* 1990).

3. Fonction visuelle et DA

Comme nous l'avons présenté précédemment la DA a des effets multiples sur plusieurs des cellules impliquées dans le traitement de l'information visuelle. La DA ne semble pas occuper un rôle de «driver», mais plutôt de modulateur en ce qui concerne le traitement de l'information visuelle exécuté par la rétine.

3.1 Effets de la DA sur les mécanismes rétinien

3.1.1 Couplage des Horizontales

Les connexions entre les cellules horizontales sont des synapses électriques qui permettent le passage des ions d'une cellule à l'autre, harmonisant ainsi leurs potentiels membranaires. Le couplage des cellules horizontales de la rétine permet une meilleure intégration latérale en vision nocturne. Ainsi, l'inhibition latérale réduite il sera plus facile de percevoir les photons. L'injection de colorant dans une cellule horizontale couplée à ses voisines révèle un réseau qui permet le passage du colorant entre les cellules

(Gerscherfeld *et al.* 1982) formant un réseau appelé syncytium ou s-space (Teranishi *et al.* 1983). La DA amène le découplage des cellules horizontales (Hampson *et al.* 1994). Toutefois, selon (Weiler *et al.* 2000) le couplage horizontal serait le propre d'une condition d'éclairage mésopique.

La DA influencerait le découplage via les récepteurs D1 par la voie AMPc-PKA (phosphokinease a) du moins chez les non-mammifères (Lasater *et al.* 1985; O'Connor *et al.* 1989; Teranishi *et al.* 1983). La modulation des synapses électriques se fait par la phosphorylation (McMahon *et al.* 1989). En obscurité complète, on observerait aussi un découplage des cellules horizontales indépendant des processus dopaminergiques (Weiler *et al.* 2000).

3.1.2 Remplacement des disques

Le taux de remplacement des disques varie selon un rythme circadien. Ainsi, chez les mammifères le remplacement dans les bâtonnets se fait en condition photopique alors que le remplacement des cônes se fait à l'obscurité (LaVail *et al.* 1980).

La DA a un effet inhibiteur sur le remplacement des disques, en particulier sur celui effectué à l'obscurité. Il semble que cette inhibition s'effectue via l'activation des récepteurs D1 (Nguyen-Legros *et al.* 1996).

3.1.3 Mouvement des pigments de l'épithélium

Les pigments de l'épithélium pigmentaire peuvent modifier leurs formes afin de se glisser entre les photorécepteurs afin de les protéger de lumière trop intense. La DA modulerait cette action (Nguyen-Legros *et al.* 1993; Dearry *et al.* 1990) via les récepteurs D2 (Dearry *et al.* 1988).

3.1.4 Mouvement rétinomoteur

Les mouvements rétinomoteurs consistent à retirer les photorécepteurs du foyer optique de l'œil. On retrouve de tels mouvements chez le règne des poissons chez qui l'adaptation pupillaire n'a pas lieu. La DA serait le médiateur des mouvements rétinomoteurs induit par la lumière (Dearry *et al.* 1989). L'injection d'antagonistes spécifiques aux récepteurs D2 empêche les mouvements rétinomoteurs. L'injection de DA entraîne des mouvements rétinomoteurs sans égard à la condition lumineuse (Dearry *et al.* 1989).

3.2 Évidences du rôle de la DA dans la fonction visuelle rétinienne

Les principaux effets de la DA sur la vision sont le changement de couplage des cellules horizontales ainsi que les changements des conductances glutamatergiques (Witkovsky *et al.* 1992 ; Knapp *et al.* 1990). La DA modifie également le fonctionnement des cellules de Müller qui modulent les courants

potassiques. Il est établi que les courants potassiques sont impliqués dans la genèse de l'onde *b* de l'ERG (Miller 1973 : Newman 1980).

3.2.1 Étude d'ERG

Le blocage de la dopamine entraîne une perte d'amplitude de l'onde *b* de l'ERG et réduit l'amplitude du premier OP (Holopigian *et al.* 1994). Une autre étude (Citron *et al.* 1985) montre que la diminution de la DA rétinienne augmente la latence de l'onde *b* et augmente l'amplitude des OP, cet effet est réversible par l'administration d'apomorphine. La destruction des cellules dopaminergiques augmente l'amplitude de l'onde *a* et *b* de l'ERG en particulier lors de stimulation de faible intensité (Oliver *et al.* 1987). L'injection d'agoniste mixte (apomorphine) de la DA réduit l'amplitude de l'onde *b* sans affecter les autres composantes, alors que l'injection d'antagoniste de la famille des récepteurs D1 produit l'effet inverse (Jagadeesh & Sanchez 1981). Ainsi, la DA semble réduire l'amplitude de l'onde *b*.

3.2.2 Étude chez l'humain.

Certaines pathologies nous renseignent sur le rôle de la DA dans la vision. Le syndrome de Parkinson est caractérisé par une perte des cellules dopaminergiques des noyaux gris centraux et une diminution de la DA

rétinienne. Cette diminution peut atteindre 50% (Harnois & DiPaolo 1990). On note chez ces mêmes sujets une augmentation de la latence dans les potentiels évoqués visuels rétiniens et corticaux (Bodis-Wollner *et al.* 1978) et une perte de sensibilité aux contrastes (Bodis-Wollner *et al.* 1997; Gottlob *et al.* 1987). Les sujets parkinsoniens traités avec le lévodopa ont des ERGs semblables à ceux des sujets sains (Jaffe *et al.* 1987). Des résultats similaires ont été obtenus chez des sujets sains à qui on administre le lévodopa (Domenici *et al.* 1985).

4. Buts et hypothèses

Il est donc établi que la DA participe au traitement de l'information visuelle par rétine. Comme l'ont démontré Jagadeesh & Sanchez (1984) les substances DAergiques l'activité globale de la rétine mesurée par l'électrorétinographie : L'apomorphine, un agoniste mixte des récepteurs D1 et D2, réduit l'amplitude de l'onde *b*. Le but de cette étude est de préciser la nature des récepteurs impliqués dans cette réduction de l'onde *b*. En utilisant le même modèle animal que Jagadeesh & Sanchez (1984) nous tenterons dans un premier temps de déterminer quels agonistes spécifiques aux récepteurs D1 et D2 produit une baisse de l'onde *b* telle qu'observée après l'injection d'apomorphine. Dans un second temps, l'effet d'antagonistes spécifiques aux mêmes récepteurs afin de préciser davantage le rôle des récepteurs DAergique.

MATÉRIEL ET MÉTHODES

1. Les animaux

Les expériences sont réalisées sur des lapins pigmentés. Le poids des animaux varie entre 2.5 et 3.5 kilogrammes. Les lapins sont gardés à l'animalerie de l'Université et maintenus dans un cycle jours/nuits de 12 heures. Les procédures expérimentales débutent le matin vers 8 heures afin de maintenir le niveau de dopamine endogène à des niveaux équivalents entre les animaux.

2. La préparation

Les animaux sont d'abord pesés afin de calculer les doses d'anesthésiques à utiliser. Une injection de pré-anesthésique Atravet (0.5 mg/Kg) est administrée à l'animal 30 minutes avant l'anesthésie. Cette première injection est additionnée d'Iso atropine (0.1 mg/Kg) afin de réduire les sécrétions trachéales. L'animal est ensuite restreint dans une boîte de contention (Harvard Apparatus). Après avoir rasé le poil de l'oreille de l'animal, un cathéter 10G est inséré dans la veine orbitale. Une dose de 1.5 g/Kg i.v (Uréthane 25 % dans une solution de saline stérile pour injection) est administrée par le cathéter. Le niveau d'anesthésie est surveillé par la

vérification des réflexes et réajusté au besoin avec une dose de rappel d'anesthésique. De la Xylocaine (chlorhydrate de lidocaine) est injectée s.c. aux points de pression ainsi qu'aux endroits d'incision.

Une trachéotomie est pratiquée et une canule trachéale y est insérée. L'animal est ensuite installé dans un appareil stéréotaxique afin d'immobiliser la tête. L'animal est paralysé par l'injection de galamine triethiodide (0.01g/Kg/h) et ensuite ventilé mécaniquement (Ugo Basile pump). Un capnomètre mesure le taux de CO₂ qui est maintenu entre 25 et 35 mm/hg par l'ajustement de volume et du rythme respiratoire de la pompe. Nous enregistrons l'électrocardiogramme par des électrodes s.c. situées de chaque côté de la cage thoracique de l'animal. La température rectale de l'animal est constamment enregistrée et maintenue entre 37 et 38 °c par une plaque chauffante placée sous l'animal. Les manipulations décrites sont en accord avec les règles éthiques d'utilisation d'animaux du CCPA.

Les paupières sont dégagées afin de permettre ultérieurement les injections directement dans le vitrée à travers de la sclère. Une goutte iso atropine et de mydrifrin permettent une dilatation maximale de l'iris pour une longue durée, quelques rappels seront faits au besoin. Quelques gouttes ophtalmiques de sodium carboxymethylcellulose 1% (Celluvisc, Allergan) préviennent le dessèchement de la cornée. Les signaux électriques de la

rétine sont enregistrés par une électrode de type Jet (Nicolet Biomedical, Madison, Wisconsin) posée sur la cornée.

3. Les enregistrements

Les signaux transmis à quatre amplificateurs (P511AC, Grass) permettent ainsi d'obtenir simultanément les ERGs et OPs pour un même œil. En accord avec les paramètres prescrit par l'International Society for Clinical Electrophysiology of Vision (ISCEV) (Marmor et al. 1999) l'amplification des signaux d'ERG est de 5000 avec des bandes passantes de 1 à 1000 Hz. Les paramètres d'amplifications des OPs sont 10 000 avec des bandes passantes de 100 à 300 Hz. Les électrodes de référence sont mises s.c. sur la tête de l'animal. Afin de capter d'éventuels bruits électrostatiques l'appareil stéréotaxique est recouvert d'une cage de faraday avec mise à terre.

Les signaux amplifiés sont envoyés vers un convertisseur analogue/digital (1401plus, CED, Cambridge, UK). Ils sont ensuite transmis à un ordinateur personnel où ils sont traités par le logiciel Signal 2.03 (CED, Cambridge, UK) qui permet de faire la moyenne des ERGs.

4. Les stimulations

Afin de stimuler la rétine de manière iso lumineuse les yeux sont recouverts de demi-sphères translucides (demi balles de ping-pong). De plus, les demi-sphères permettent de garder plus d'humidité à proximité de l'œil ce qui évite le dessèchement trop rapide de la cornée.

La stimulation visuelle provient d'un flash (PS33Plus, Grass) d'une durée de 10 μ sec. Le flash standard défini par l'ISCEV se situe à une intensité entre 1.5 et 3 cd/sec/m².

En condition scotopique, nous ajoutons un filtre neutre de 3 log afin de réduire l'intensité de l'éclair pour une intensité à l'intérieur de la demi-sphère de 0.1 cd/sec/m². Afin d'obtenir un arrière plan scotopique l'appareil stéréotaxique est recouvert d'un rideau opaque noir cachant toutes les sources de lumières. La fréquence de stimulation est de 0.1 hz et le nombre de flash limité à 5. L'éclair en condition mésopique est de 2 cd/m² et le fond est de 13 cd/m². La fréquence de stimulation est de 0.5 hz, le nombre de flash est de 15. L'intensité de l'éclair en condition photopique est choisie afin qu'elle produise 80% de l'amplitude maximale de l'ERG. Le nombre d'éclair en condition photopique est de 30 et la fréquence de stimulation est de 1 Hz en condition photopique.

Un délai de 0.03231 seconde est ajouté entre les éclairs afin d'éviter d'entrer en phase avec le 60 Hz des appareils électriques situés dans la pièce. Ce délai est calculé par le temps d'oscillation de la fréquence à neutraliser divisé par le nombre d'échantillon (sweep). Le déclenchement des éclairs est sous le contrôle du programme d'acquisition via le convertisseur analogue/digital.

L'enregistrement et le déclenchement des éclairs sont gérés par le logiciel d'acquisition Signal. Nous avons conçu une série de routines programmées dans le logiciel d'acquisition afin qu'il puisse suivre des protocoles d'enregistrements de manière autonome. Ainsi, pour toutes les conditions, le logiciel fera l'acquisition d'enregistrements tous les 15 minutes. La routine est modifiée selon la condition lumineuse afin d'adapter le nombre d'éclairs et le délai entre les éclairs.

5. Les injections

Les substances neuro actives proviennent de Sigma-Aldrich et RBI-Sigma. Nous avons utilisé deux types d'agonistes des récepteurs D1, le SKF38393 qui est un agoniste partiel et le A77363 qui est un agoniste spécifique, ainsi qu'un antagoniste, le SCH23390. Afin de caractériser la participation des récepteurs D2 nous avons utilisé l'agoniste norpropylapomorphine et l'antagoniste *l*-Sulpiride.

L'injection est pratiquée en perçant la sclère environ 2 à 3 mm du limbe et environ 3 mm caudal à l'axe vertical de l'œil. Les injections sont réalisées à l'aide d'une seringue graduée de 250 μ l (Hamilton) muni d'une aiguille 30G1/2 (BD). Lors des injections, un œil reçoit la substance pharmacologique dissoute et l'autre œil reçoit la même quantité du véhicule seul. Les substances étaient dissoutes dans l'eau stérile pour injection à l'exception de la sulpiride qui devait être dissoute dans l'acide chlorhydrique (0.1 normalité). Lors d'injection de sulpiride l'œil contrôle ne reçoit que l'acide chlorhydrique. Les doses injectées sont de 0.0001 à 1 mg/100 μ l.

Préalablement au début des tests comparatifs de l'effet de la saline et de l'eau stérile ont été effectués afin de déterminer lequel des deux solvants avait le moins d'effet sur les signaux rétinien. Nous avons opté pour l'eau stérile pour injection comme véhicule que nous utiliserons pour toutes les injections suivantes.

Afin d'évaluer quels types de manipulations mécaniques pouvaient subir l'œil sans observer de changement dans les signaux de l'ERG. Nous avons observé que la pression sur la sclère n'affecte que peu l'ERG, tout comme le fait d'enlever et de replacer les électrodes Jets. Ces tests nous permettent de savoir à quel point nous pouvons manipuler l'œil durant les expériences.

Afin de vérifier les sites d'injections, nous avons effectué quelques expériences en injectant un colorant bleu (Chicago Sky Blue, Sigma).

Burke & Potter 1987 ont montré qu'un agoniste de la classe des apomorphines (dont fait partie le NPA) produit une mydriase et qu'un autre agoniste de la même famille produit une constriction pupillaire. Lors des expériences courantes il est difficile de vérifier constamment le diamètre pupillaire. Afin de s'assurer que les effets pharmacologiques observés ne sont pas dus à une constriction pupillaire, nous avons effectué quelques tests avec des pupilles artificielles. Ces expériences contrôles ont été effectuées avec des électrodes de type fibre DTL, car il n'existe pas d'électrode Jet muni de pupille artificielle. Les électrodes DTL permettent l'utilisation simultanée de pupille artificielle. Ces contrôles ont permis d'exclure cette variable, les résultats ont été similaires à ceux observés lors des expériences régulières. Nous avons utilisé les électrodes DTL seulement lors de ces expériences car elles sont moins appropriées à la durée et aux stress mécaniques des injections intra-oculaires.

6. Histologie

Suite aux expérimentations, les animaux sont euthanasiés par surdose d'anesthésique volatile (Halothane) 5% conjointement avec une surdose de penthiobarbital i.v. (Eutanyl) 2ml. Les globes oculaires sont ensuite prélevés.

Une coupe axiale au scalpel de la sclère permet de mettre à jour l'humeur vitrée et la rétine. Nous pouvons alors déterminer grossièrement le site d'injection et voir si le cristallin ou la rétine ont pu être grossièrement endommagés. Grâce à cette vérification nous avons pu constater que le NPA à des concentrations trop élevées produisaient un précipité dans le vitrée.

7. Protocole expérimental et analyse statistique

Avant de procéder aux injections, nous prenons des ERGs à toutes les 15 minutes, simultanément les deux yeux, durant au moins deux heures afin d'établir l'amplitude de base de chaque œil. Dans les cas où la variation entre les ERGs est trop importante, les données étaient rejetées avant que les ERGs se stabilisent, durant 2 heures. L'enregistrement d'ERG stable durant ces deux heures permet de déterminer l'amplitude de base des ERGs.

Lors de chaque injection de la substance neuro-active, nous injectons aussi le même volume du véhicule dans l'œil controlatéral. Les données en provenance de l'œil contrôle nous permettent d'éliminer la fluctuation attribuable aux stress biomécaniques des injections, d'avoir une mesure des variations naturelles des ERG et de soustraire les variations dues aux changements métaboliques de l'animal. Les expériences durent en moyenne 30 heures.

Les ERG sont analysés grâce au logiciel d'acquisition Signal (version 2.03 CED Electronic Cambridge, UK). Les données sont ensuite mises en commun dans une feuille de calcul Excel 2000 (Microsoft, Nevada). Pour les fins d'analyse statistique, les données des ERG obtenus aux quinze minutes sont regroupées par heure. Les données des injections sont ensuite comparées de manière individuelle avec les contrôles correspondant par des tests t pairés et des Anovas oneway (SPSS Windows 10.0, Chicago, IL).

RESULTATS

1. Contribution des récepteurs D1

1.1 Agonistes D1 : SKF38393, A77636.

1.1.1 SKF38393

Onde b : L'injection de SKF38393 intraoculaire provoque une diminution d'amplitude de l'onde *b*. Cette baisse survient dans les trois premières heures post- injections. L'effet du SKF38393 n'est que transitoire et on note une récupération de 100 % de la réponse initiale après 8 heures post-injection. L'exemple présenté dans les figures 6 et 7 est typique des résultats que nous avons observés. La Figure 6 nous montre, en rouge, les tracés d'enregistrement d'ERG avant l'injection de 1mg/100µl de SKF38393, lors de l'effet maximal du SKF38393 ainsi qu'après récupération. Les tracés bleus sont les enregistrements provenant de l'œil controlatéral qui a reçu l'injection du véhicule seul. Les enregistrements sont pris simultanément à ceux de l'œil qui a reçu l'injection de SKF38393.

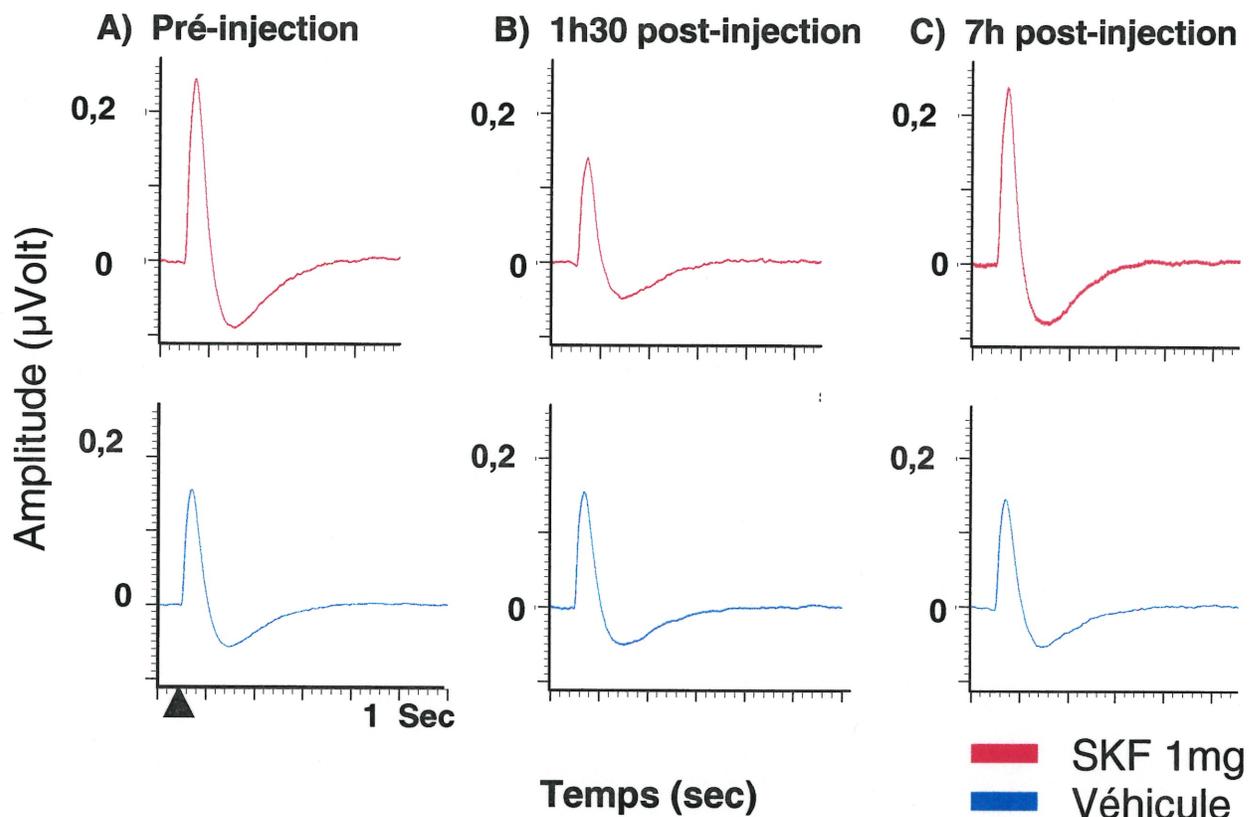


Figure 6 : Exemples d'effet sur l'ERG lors d'une injection de SKF38393. Exemple d'ERG obtenu après l'injection de 1mg/100 μ l de SKF38393 intra-oculaire. Le tracé obtenu avant l'injection du SKF38393 (A). Le tracé d'ERG obtenu une heure trente après l'injection (B). On peut noter une perte d'amplitude de l'onde b. Le tracé d'ERG reprend l'amplitude initiale 7 heures après l'injection (C). Les exemples d'ERG présentés ■ sont ceux obtenus de l'œil qui a reçu l'injection du véhicule. Les enregistrements sont obtenus au même moment que ceux de l'œil traité ■. On note l'absence d'effet significatif lors de l'injection du véhicule seul. Le triangle noir représente l'apparition de l'éclair.

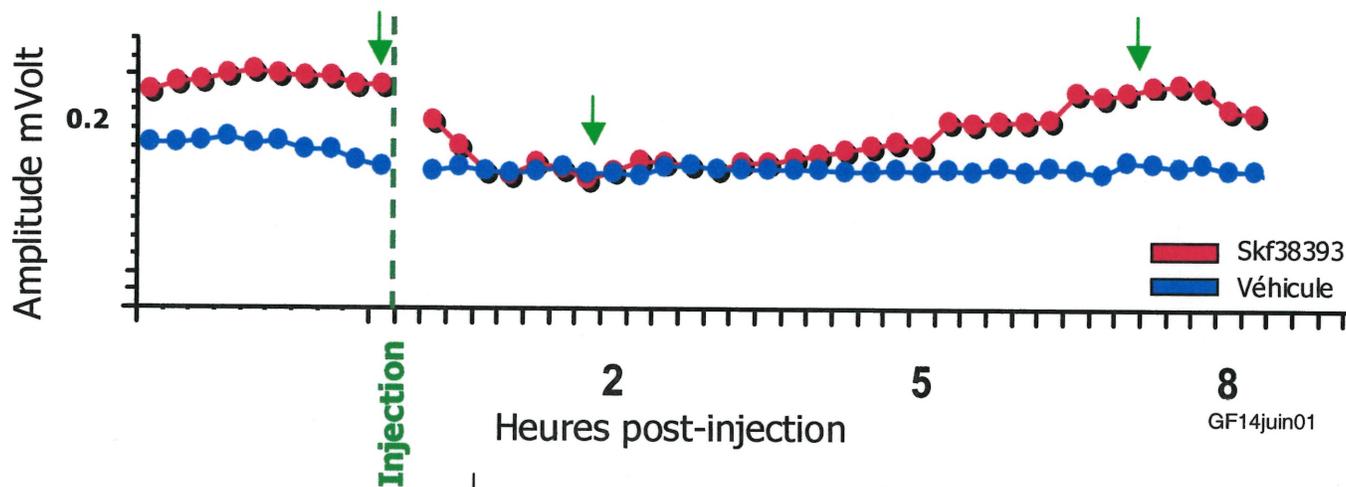


Figure 7 : Exemple du déroulé temporel de l'amplitude de l'onde b suite à une injection de SKF38393. Tirée de la même expérience que l'exemple précédent, cette figure nous illustre les variations d'amplitude de l'onde b en fonction du temps. Chaque point représente un enregistrement à toutes les quinze minutes.

L'injection intra-oculaire de 1mg/100 μ l SKF38393 entraîne une baisse d'amplitude de l'onde b ■. La diminution est de 40% de l'amplitude initiale et survient 1 heure et demi après l'injection. Dans cet exemple, on observe une récupération de 95% de l'amplitude pré-injection après 8 heures. L'œil ■ contrôle reçoit 100 μ l d'eau stérile pour injection. Les flèches vertes → indiquent le moment où les ERGs présentés dans la fig. 1 ont été enregistrés.

La figure 7 montre le décours temporel de l'effet du SKF38393 sur l'amplitude de l'onde *b*. L'effet du SKF38393 s'installe graduellement après l'injection et atteint un plateau après une heure. La récupération débute après trois heures post-injection et se poursuit jusqu'à huit heures post-injection. L'œil contrôle reste stable tout au long de l'expérience et n'est pas affecté par l'injection du véhicule. Les flèches vertes de la figure 2 indiquent le moment où les échantillonnages présentés dans la figure 1 ont été tirés.

Le regroupement de toutes les injections permet d'isoler l'effet pharmacologique réel du SKF38393. La Figure 8 présente les amplitudes normalisées des 24 injections de 1mg/100µl de SKF38393. Tel que décrit dans l'exemple précédent (fig 6) ont note le même décours temporel. Ainsi, durant la première heure post-injection on note une diminution significative de l'amplitude de l'onde *b* (73.9% de la réponse initiale, écart type (É.t.) 17%) par rapport au véhicule ($t = -2.56$, $p = 0.017$). L'effet maximal se retrouve après deux heures post-injection (61.9% É.t. 18%, $t = -3.12$, $p = 0.005$). De plus, durant la troisième et quatrième heure la réduction de l'amplitude de l'onde *b* est encore significative (62.3% É.T. 19%, $t = -3.56$, $p = 0.002$ et 66.0% É.t. 19%, $t = -2.46$, $p = 0.02$). Après huit heures le niveau de l'effet des injections de SKF38393 semble se dissiper. L'amplitude de l'onde *b* retourne au niveau de l'œil contrôle.

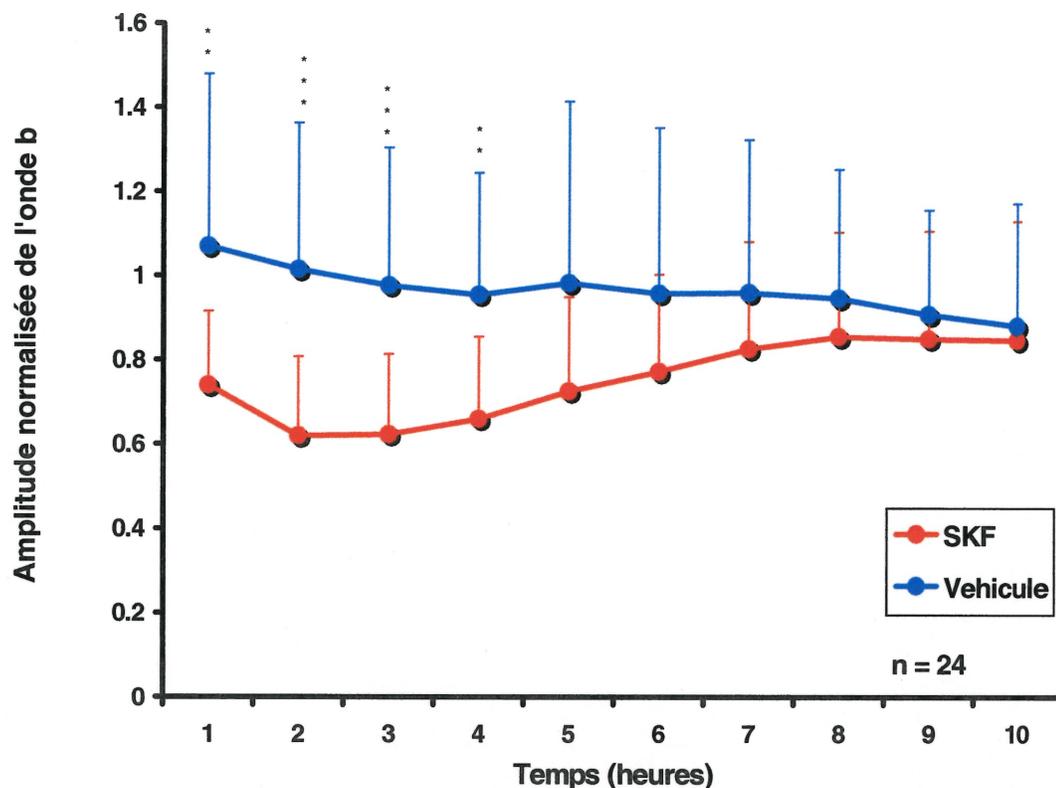


Figure 8 : Décours temporel des changements d'amplitude de l'onde b suite aux injections de 1mg/100 μ l de SKF38393. Mises ensemble les données normalisées des 24 injections de 1mg/100 μ l de SKF38393 nous montrent l'effet du SKF38393 sur l'amplitude de l'onde b en fonction du temps post-injection. En comparant l'ensemble des données concernant les yeux qui ont reçu le SKF38393 avec celles obtenues des yeux ayant servi de contrôle, on note des différences significatives. Pour les enregistrements effectués de une heure à quatre heures post-injection. L'amplitude de l'injection de SKF38393 et celle du contrôle sont similaires après huit heures post-injections. Pour toutes les figures, les seuils de signification statistique sont représentés par * $p < 0.1$, ** $0.1 < p < 0.05$, *** $p < 0.01$ obtenu par des tests-t pairés. Dans tous les graphiques les barres d'erreurs représentent les écart types de chaque distribution.

Les valeurs individuelles des données de la figure 8 sont présentées dans la figure 9. Ainsi, dans la partie A de la figure 9, on constate que l'effet de réduction de l'onde *b* deux heures post-injection de 1mg/100µl reflète une tendance observable dans la presque totalité des 24 injections (23/24). Dans le même sens, la partie B de la figure 9 montre que la récupération est observable dans la plupart des cas expérimentaux (18 des 19 injections). L'injection de SKF38393 augmente l'amplitude de l'onde *b*. Seule une expérience n'obéit à cette réduction de l'onde *b* représentés par la ligne pointillée dans la figure A et B. Ainsi, les effets de réduction et de récupération ne sont pas dus à quelques données extrêmes, mais représentent une tendance observable pour presque toutes les injections.

Nos résultats indiquent que les injections de 1mg/100µl de SKF38393 n'ont pas d'effet sur la latence de l'onde *b* de l'ERG. Ainsi, dans la figure 10 on constate que le SKF38393 n'a pas modifié de façon significative la latence normalisée de l'onde *b*.

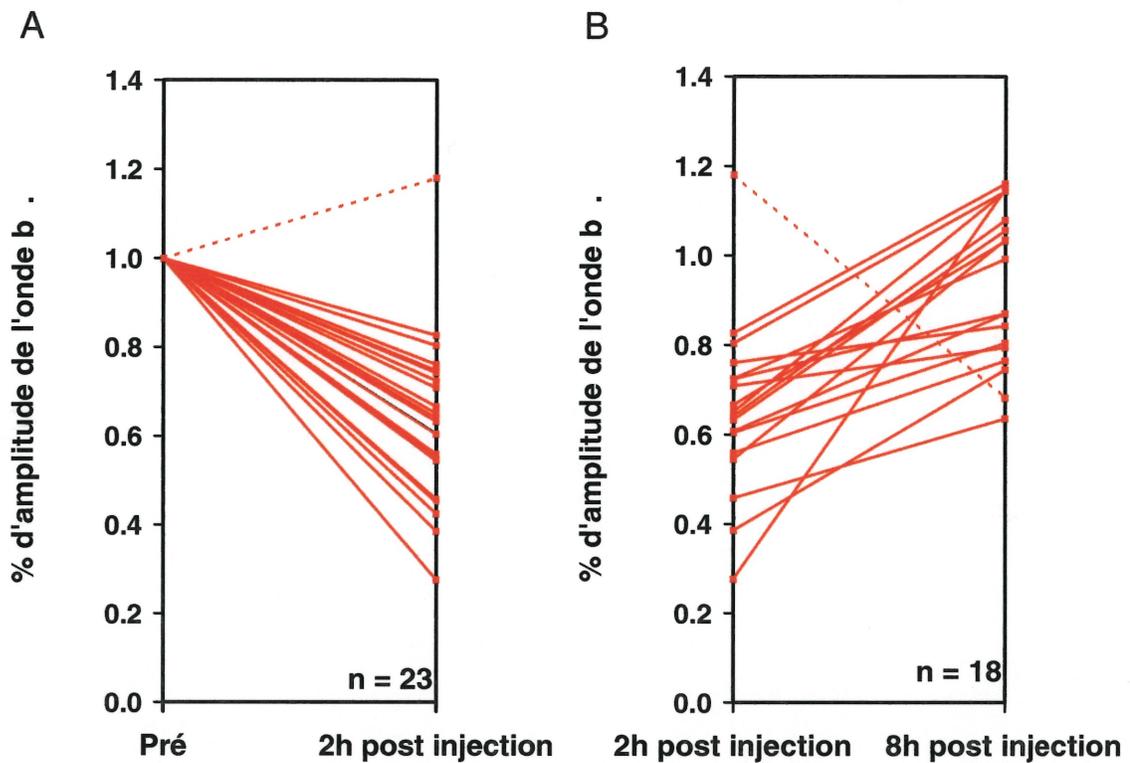


Figure 9 : Effet individuel du SKF38393 sur l'amplitude de l'onde b. En A, la représentation de chacun des effets normalisés de l'injection de SKF38393 1mg/100 μ l avant et 2 heures après l'injection. Toutes les injections ont entraîné une perte d'amplitude de l'onde b sauf une, celle représentée par la ligne pointillée.

La récupération, en B, de 2 heures à 8 heures post-injection. On constate que la plupart des injections ont récupéré après huit heures sauf une, celle représentée par la ligne pointillée.

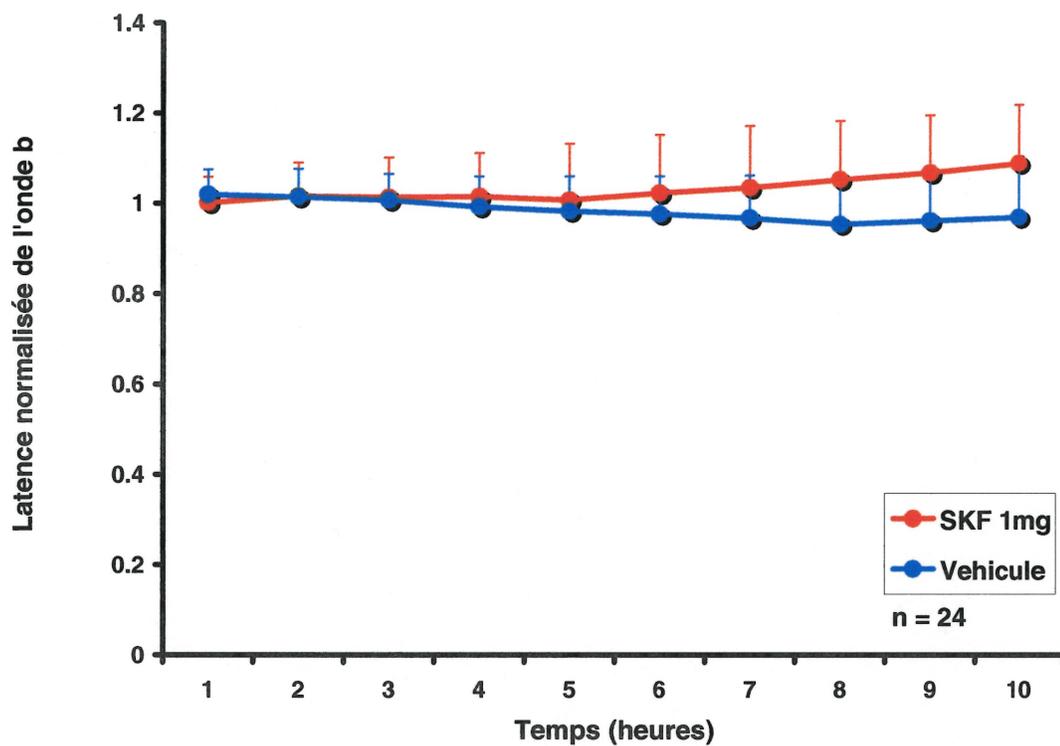


Figure 10 : Effet du SKF38393 sur la latence de l'onde b. Les injections normalisées (n=24) de 1mg/100 μ l de SKF38393 ■ augmentent légèrement la latence de l'onde b alors que les données des injections du véhicule ne varient pas ■ .

Onde a : Les injections de SKF38393 n'ont pas modifié de façon significative les composantes de l'ERG comme l'amplitude de l'onde *a* ou la latence de cette même onde reste semblable. Comme l'illustre la figure 11 on observe pas de changements significatifs de l'amplitude de l'onde *a* suites aux injections de SKF38393. L'analyse de la latence (temps de culmination) de l'onde *a* n'a pas révélé de changements significatifs comme le montre la figure 12. On note une légère tendance du SKF38393 à augmenter graduellement la latence.

Onde c : Tel que démontré à la figure 12, aucune tendance concernant l'effet du SKF38393 sur l'amplitude de l'onde *c* ne ressort. Les quelques variations observées dans la courbe de réponse du SKF38393 se retrouvent aussi dans la courbe des injections contrôles.

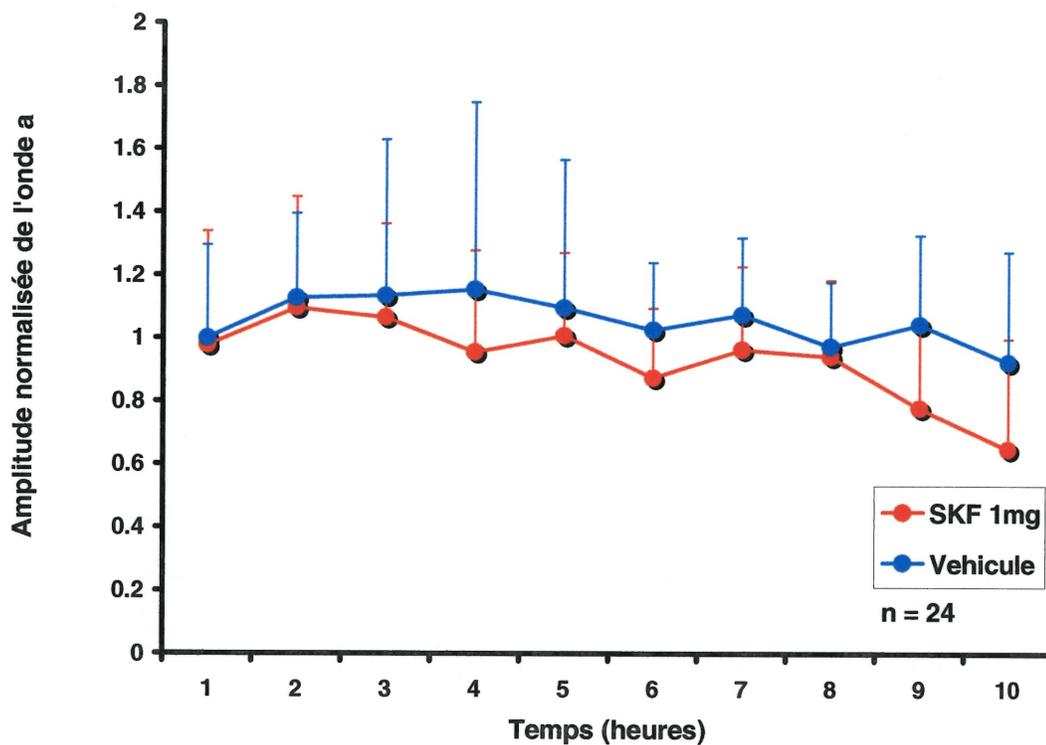


Figure 11 : Effet du SKF38393 sur l'amplitude de l'onde a. Les injections normalisées (n=24) en valeurs absolues des injections de 1mg/100 μ l SKF38393 ■ n'ont pas modifié de façon significative l'amplitude de l'onde a comparativement aux injections du véhicule seul ■.

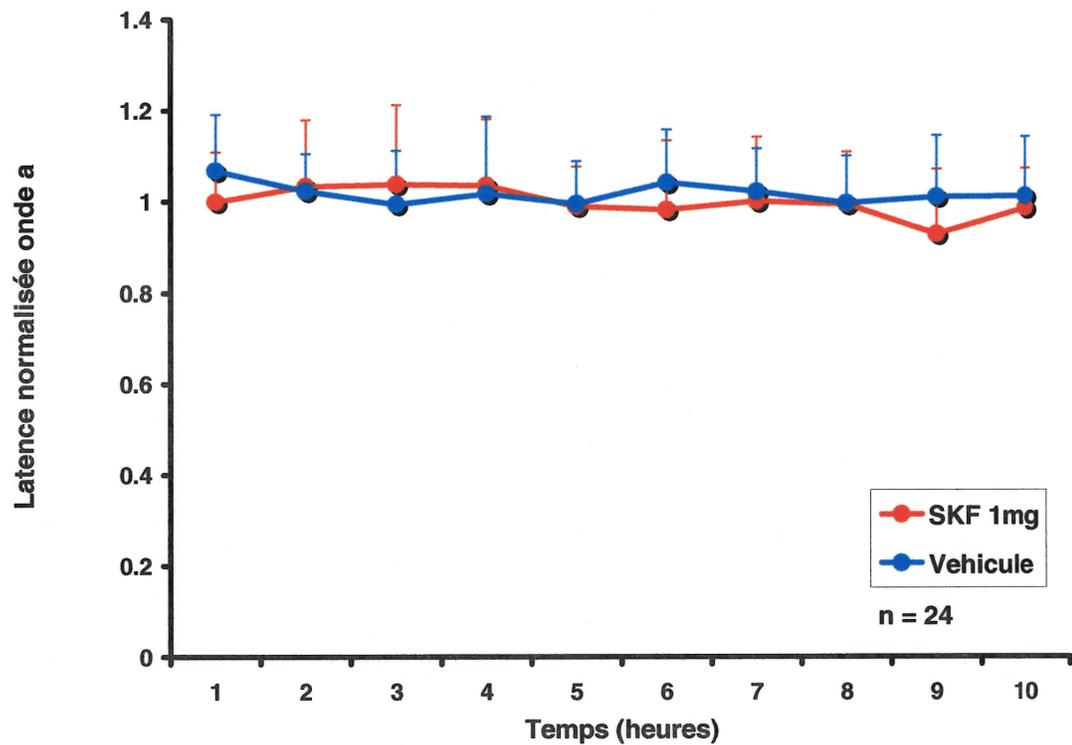


Figure 12 : Effet du SKF38393 sur la latence de l'onde a. L'injection de 1mg/100 μ l de SKF38393 n'ont pas modifié de façon significative la latence de l'onde a comparativement aux injections de véhicule seul .

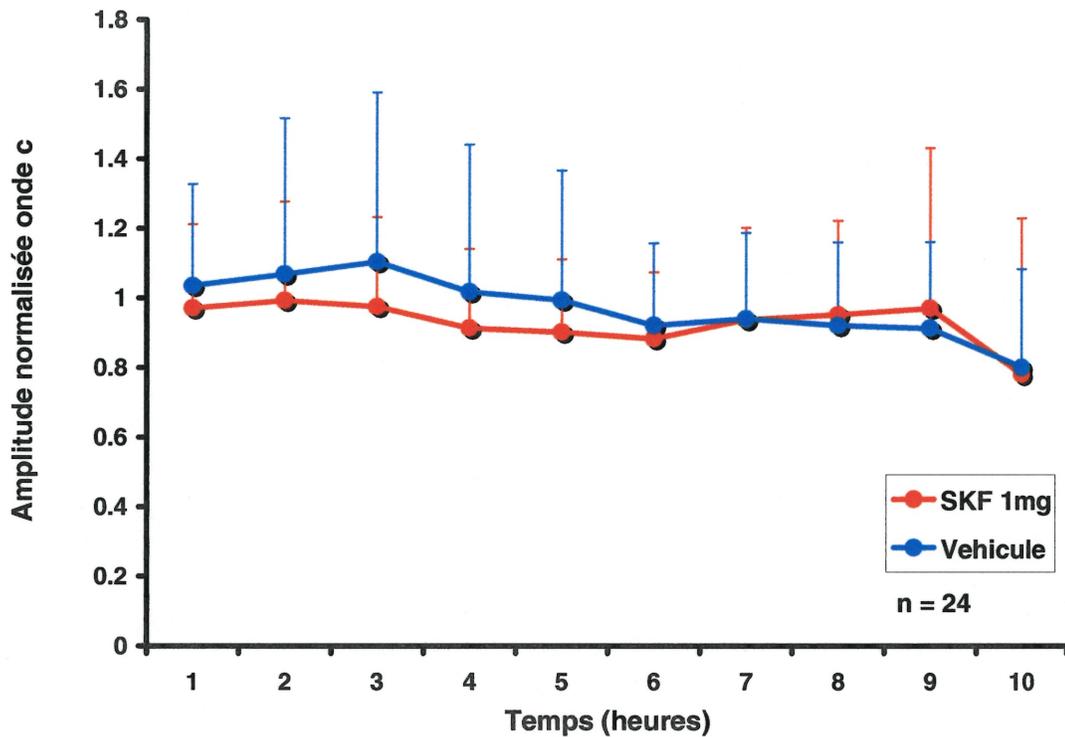


Figure 13 : Effet du SKF38393 sur l'amplitude de l'onde c. Les injections normalisées de 1mg/100 μ l de SKF38393 n'ont pas eu d'effets significatifs sur l'amplitude de l'onde c. L'amplitude de l'onde c suite aux injections de SKF38393 semble suivre le même court que l'amplitude obtenu de l'œil contrôle .

Dose réponse : Bien que notre échantillonnage ne concerne que deux doses, il existe une tendance selon laquelle l'effet de réduction de l'onde *b* par le SKF38393 augmente en fonction de la concentration injectée. Seules les différences entre le groupe contrôle et les injections de 1mg/100µl sont statistiquement significatives (Oneway Dunn's $p < 0.05$) comme le montre la figure 14. L'effectif est de 32 injections pour la colonne des contrôles, 24 injections pour la colonne de 1mg/100µl et de 6 injections pour la colonne de 0.1mg/100µl.

Condition lumineuse : Afin de déterminer si le SKF38393 agit sur la voie utilisée par les cônes ou les bâtonnets nous avons effectué les enregistrements en condition photopique pour isoler la réponse des cônes et en condition scotopique afin d'isoler la réponse des bâtonnets. La figure 15 nous montre l'effet du SKF38393 sur l'onde *b* selon les différentes conditions d'éclairage. On note qu'à dose équivalente (1mg) la condition mésopique ($n=9$) est celle où la réduction de l'onde *b* est la plus importante. En effet, on note que l'amplitude post-injection s'établit à 55% (É.t. 15%) de l'amplitude pré-injection pour la condition mésopique, contre 73% (É.t. 25%) en condition photopique et 65% (É.t. 15%) pour la condition scotopique. Ainsi, en condition scotopique ($n=6$) ou photopique ($n=9$), le SKF38393 semble moins affecter l'onde *b*. Il faut cependant noter la grande variabilité ces résultats, les différences entre les groupes ne sont pas significatives (Anova oneway, $F = 1.49$, $p = 0.247$)

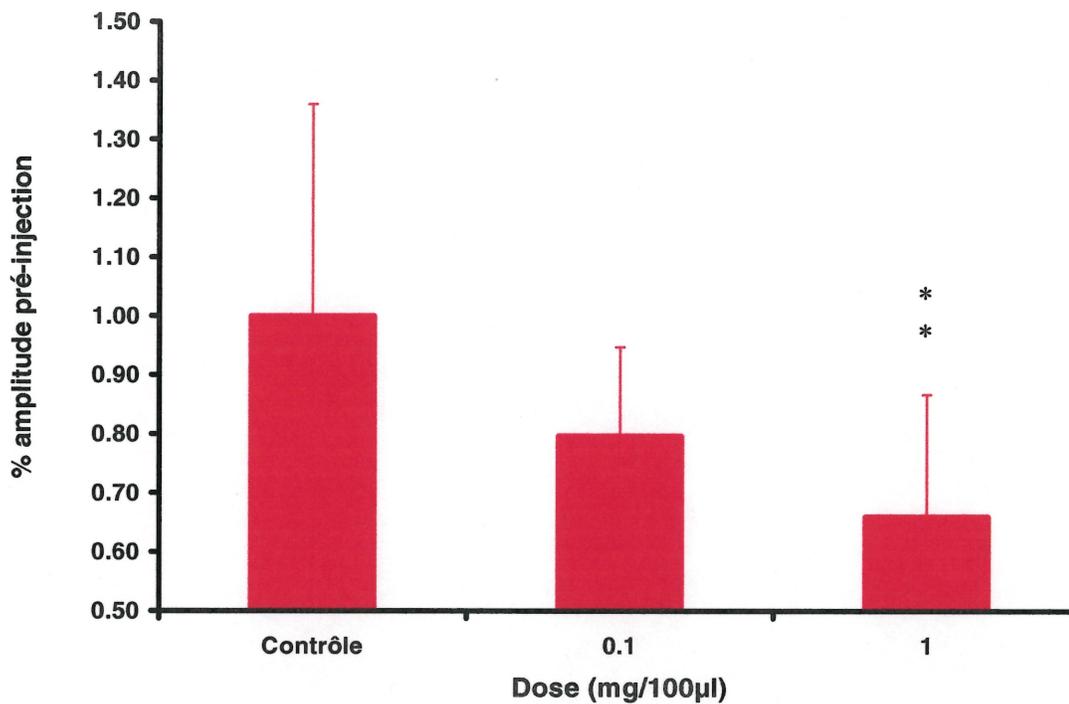


Figure 14 : Effet de la concentration du SKF38393 sur l'amplitude de l'onde b. L'effet observé du SKF38393 sur l'amplitude de l'onde b semble dépendre de la dose injectée. Ainsi, à deux heures post-injection une dose de 0.1mg/100µl produit moins d'effet que les doses de 1mg/100µl. Le seuil de signification statistique de cette figure est obtenu par Anova oneway * $p < 0.1$, ** $0.1 < p < 0.05$, *** $p < 0.01$, Les barres d'erreur représentent les écarts-types.

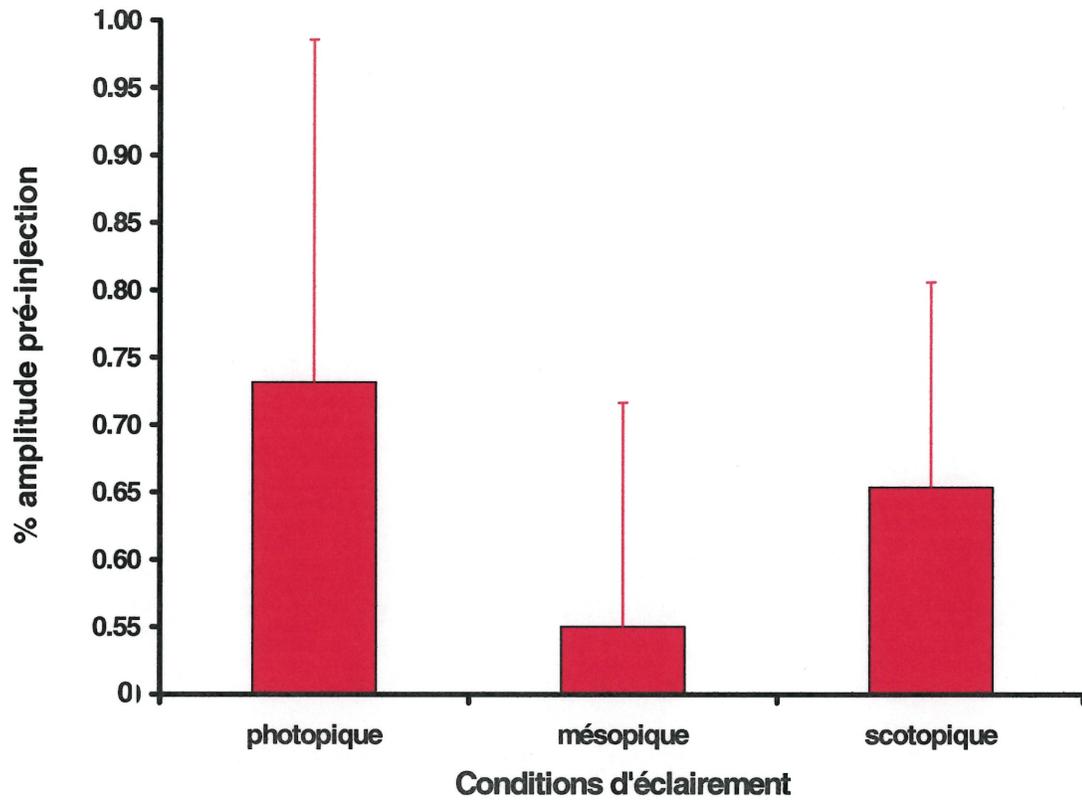


Figure 15 : Effet du SKF38393 sur la réduction de l'onde b en fonction de la condition lumineuse. Les effets présentés ici sont issus des données prises deux heures post-injection. Il semble que la condition mésopique soit celle où l'effet est maximal.

1.1.2 A77636

Afin de confirmer l'effet observé par les injections de l'agoniste partielle des récepteurs D1 SKF38393, nous avons essayé un autre agoniste plus puissant (full-agonist), le A77636. Le composé est plus spécifique aux récepteurs D1 que l'est SKF38393. La figure 16 montre l'effet du A77636 sur l'amplitude de l'onde b. On note une diminution d'amplitude très lente et régulière durant les dix premières heures post-injection. La réduction est de l'ordre de 27 % de la réponse initiale et nous n'avons pas noté de récupération même après une attente de 22 heures.

La figure 17 nous montre un exemple de l'effet du A77636 sur les différentes composantes des signaux rétiniens. On constate que le A77636 affecte l'amplitude de l'onde b tel que démontré par les tracés en rouge représentant l'enregistrement pré-injection et 7 heures post-injection. Un nombre restreint d'injection de A77636 ($n = 4$) a été effectuée, ce qui ne permet pas d'attendre les critères de signification statistique et de conclure de façon définitive quant au profil d'action de cet agoniste. Malgré tout, il semble que l'action du A77636 (27% de l'amplitude initiale, É.t. 3%) soit plus prononcée que celle du SKF38393 (62%, É.t. 19%). Pour des questions méthodologiques seulement des temps de récupération de 8, 10, 14 et 20 heures ont été réalisés. Ce qui explique l'absence de barres d'écart type entre la 14 et la 20^{ième} heures post injection.

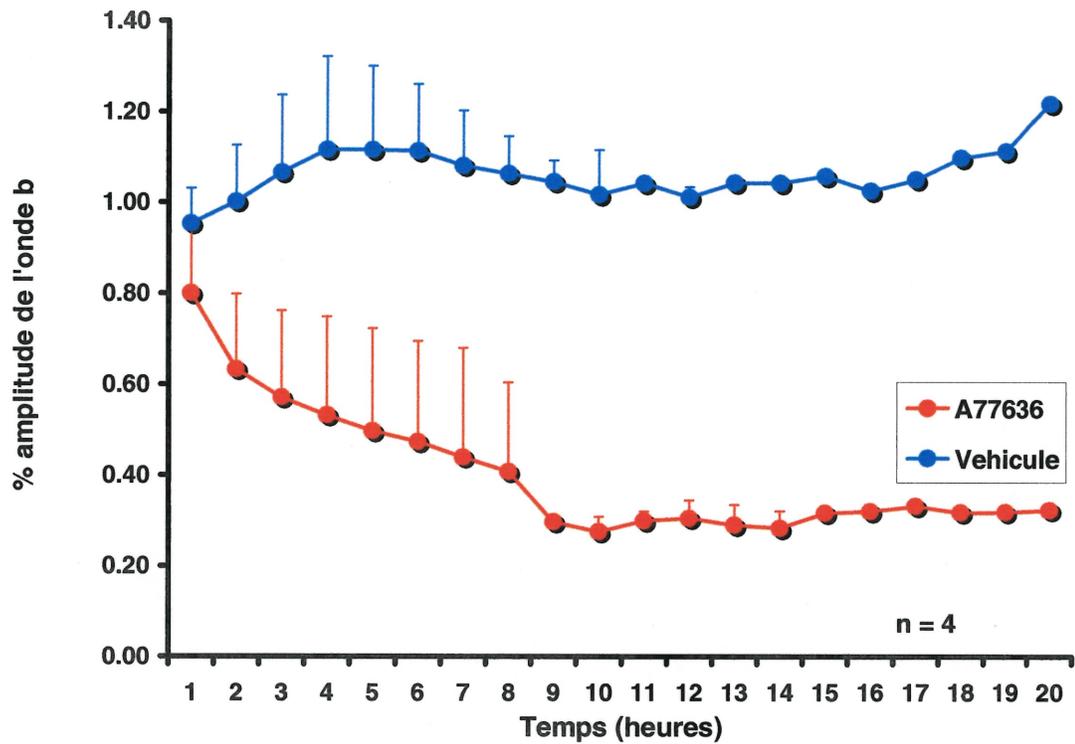


Figure 16 : Effet du A77636 sur l'amplitude de l'onde b. Les données normalisées (n=4) des injections de 1mg/100 μ l de A77636 ■ montrent une réduction de l'amplitude de l'onde b.

Les données provenant de l'œil contrôle ■ restent stables suite aux injections. L'effet du A77636 s'installe en 10 heures et ne semble pas récupérer après un délai de 20 heures.

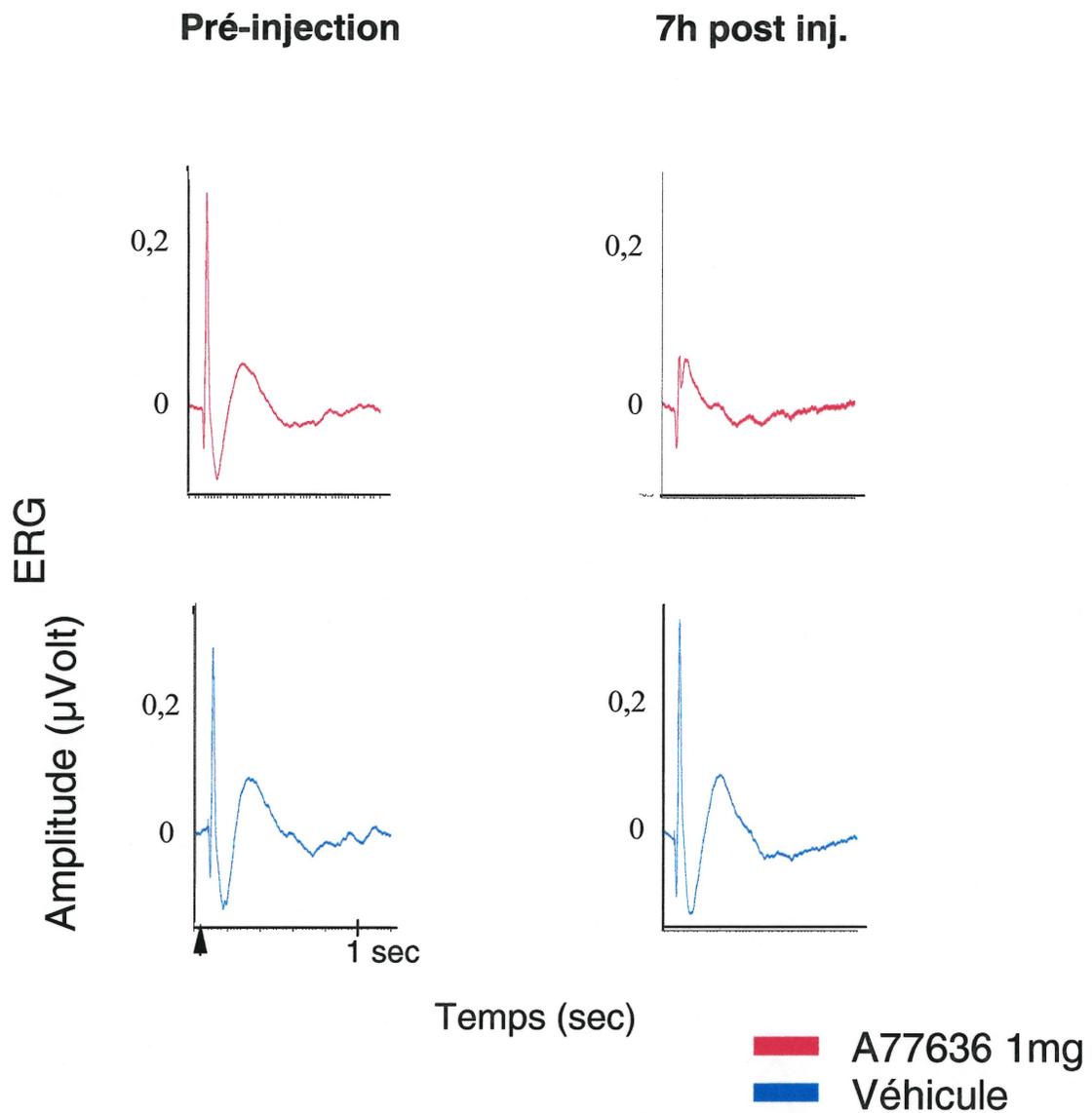


Figure 17 : Exemples d'effets du A77636 sur l'ERG. Dans la première colonne les enregistrements avant injection et dans la deuxième colonne 7 heures post-injection. L'injection de A77636 ■ entraîne une réduction de l'onde b alors que l'injection contrôle ■ n'entraîne pas de changement significatif.

1.2 Antagoniste D1 : SCH23390

Les injections de l'antagoniste des récepteurs D1, le SCH23390, tendent à réduire l'amplitude de l'onde *b*. Comme le montre la figure 18, les différences observées lors d'injection de 1mg/100µl ont réduit de façon significative l'amplitude de l'onde *b*. À une heure post-injection ($t = -2.61$, $p = 0.047$), et à deux heures post-injection ($t = -3.47$, $p = 0.018$). Les différences les plus marquées apparaissent après trois heures ($t = -4.39$, $p = 0.007$) et quatre heures post-injection ($t = -6.29$, $p = 0.003$). On observe des différences significatives jusqu'à cinq heures post-injection ($t = -4.04$, $p = 0.016$). Le blocage des récepteurs D1 produit une perte d'amplitude de l'onde *b*.

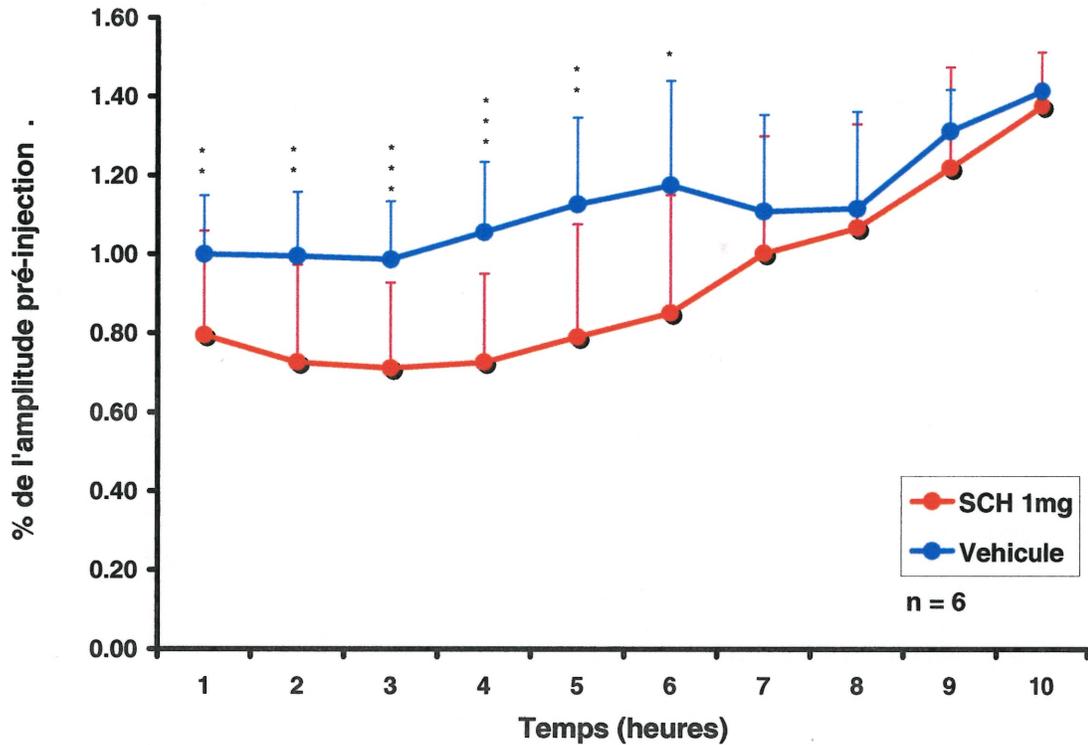


Figure 18 : Effets du SCH23390 sur l'amplitude de l'onde b. Les données normalisées des (n=6) injections de 1mg/100 μ l de SCH23390 ■ montrent une réduction de l'amplitude de l'onde b.

Les différences entre les injections de SKF38393 comparées à celle du véhicule ■ sont statistiquement significatives dès la première heure post-injection et restent jusqu'à 5 heures post-injection.

2. Contribution des récepteurs D2

Le deuxième volet, de notre hypothèse, est d'évaluer le rôle des récepteurs D2 dans la réduction de l'onde *b* observable lors d'injection d'agoniste mixte aux récepteurs D1 et D2. Pour ce faire nous avons effectué des injections d'un agoniste DAergique spécifique aux récepteurs D2 le norpropylapomorphine (NPA) et un antagoniste la sulpiride.

2.1 Agoniste : norpropylapomorphine (NPA)

Les injections de NPA n'ont pas affecté de façon significative l'amplitude de l'onde *b*. La figure 19 présente le décours temporel de l'effet des injections de NPA. Les injections cumulées dans la figure 19 comprennent toutes les injections de 1 mg/100µl de NPA sans égard à la condition lumineuse car les résultats obtenus selon les conditions lumineuses étaient similaires.

Afin de vérifier si l'absence d'effet pouvait être reliée à l'utilisation d'une dose insuffisante, nous avons varié la quantité de NPA injectée de 0.0001mg/100µl à 1 mg/100µl. Les injections de NPA n'ont pas eu d'effets significatifs dans toute la gamme des doses injectées. La figure 20 représente l'amplitude de l'onde *b* à deux heures post-injection pour différentes doses injectées de NPA.

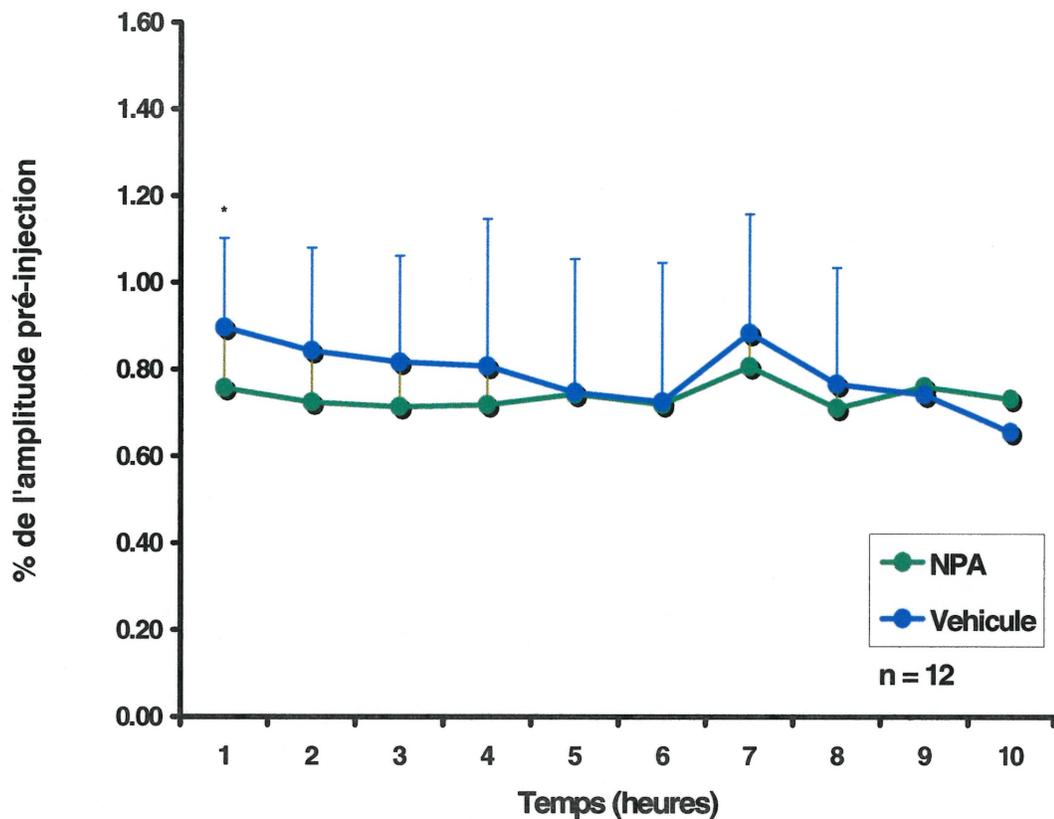


Figure 19 : Effets du NPA sur l'amplitude de l'onde *b*. Les injections normalisées (n=12) de 1mg/100 μ l de NPA ■ montrent peu de changement dans l'amplitude de l'onde *b*. Comparativement aux injections de véhicules ■ on ne note pas de changement significatif. Durant la première heure, on note que le NPA a tendance à l'amplitude de l'onde *b*. Ces différences entre l'œil qui reçoit le NPA et celui qui reçoit le véhicule ne sont pas significatives au test-t pairé.

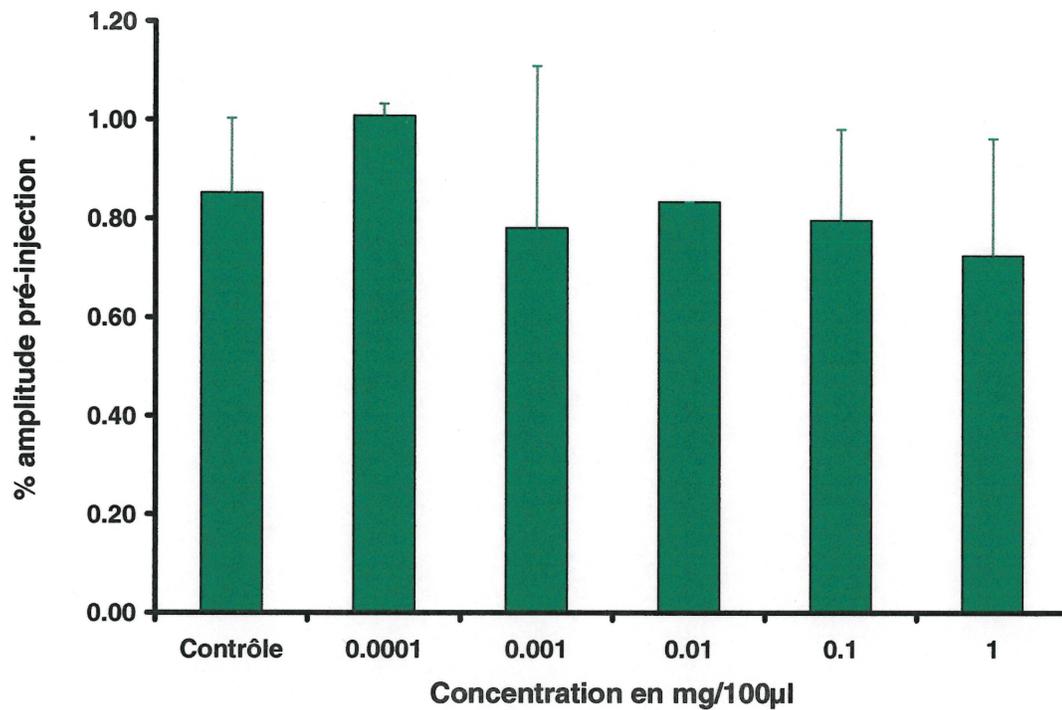


Figure 20 : Effets du NPA sur l'amplitude de l'onde b en fonction de la concentration. Malgré les différentes doses utilisées allant de 0.0001 à 1mg/100µl nous n'avons pas constaté de réduction significative de l'onde b. Les variations selon les concentrations n'entraînent pas plus de variation que la variation à l'intérieure du groupe des injections contrôles. Le nombre d'injections pour les différents groupes sont 1mg/100µl : n = 10, 0.1mg/100µl : n = 8, 0.01mg/100µl : n = 1, 0.001mg/100µl : n = 4, 0.0001mg/100µl : n = 3.

Nous avons testé différentes conditions d'éclairages. La figure 21 montre l'effet de l'injection de 1mg de NPA sur la réduction de l'onde *b* deux heures post-injection en fonction de la condition lumineuse.

Ainsi, peu importe la concentration du NPA et/ou la condition lumineuse nous n'avons pu observer de changement d'amplitude de l'onde *b*. Individuellement, certaines injections aux doses les plus élevées (1 mg/100µl) ont produit un léger effet de réduction sur l'onde *b*. Dans les expériences où nous injecté des doses de 1mg/100µl, à l'histologie nous avons retrouvé des traces de précipité blanc aux sites d'injections. .

2.2 Antagoniste : sulpiride

Comme le démontre la figure 21, l'injection de sulpiride entraîne une diminution de l'onde *b*. Cette diminution est lente et graduelle. L'amplitude minimale est atteinte après 6 heures et cette l'amplitude post-injection est de (40 %, É.t 12%) de la réponse initiale. La récupération est aussi très lente et nécessite au moins 18 heures post-injection.

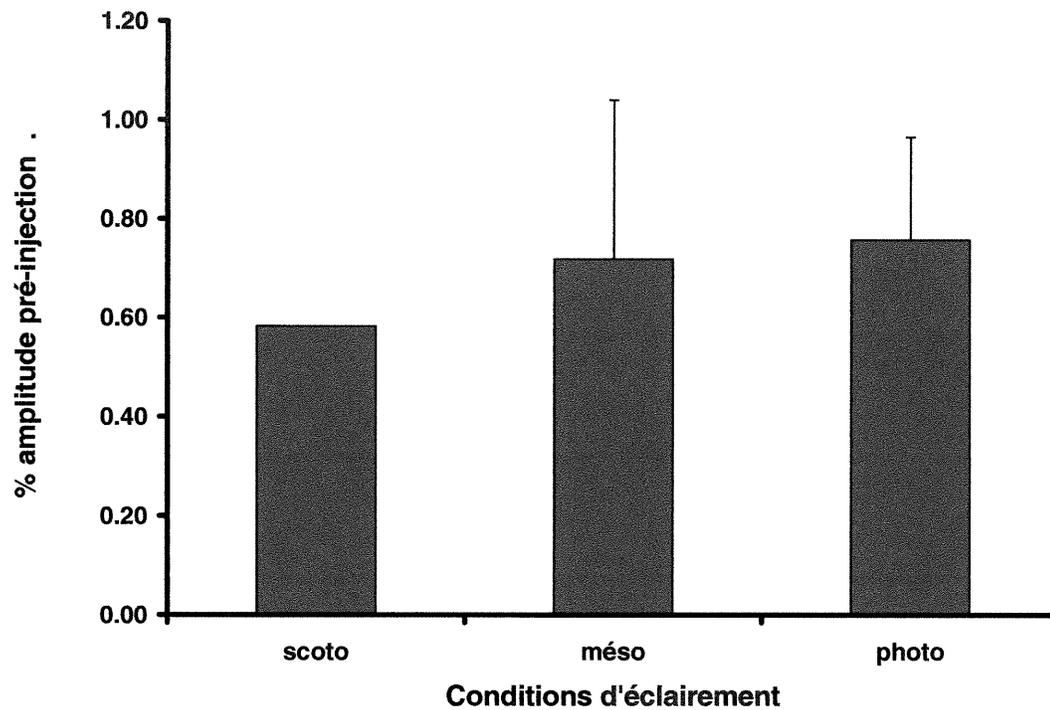


Figure 21 : Effets du NPA sur l'amplitude de l'onde b en fonction de la condition lumineuse. On ne note pas de différences entre les injections de 1mg/100 μ l de NPA selon le type de condition d'éclairément. Le nombre d'injection dans chacun des groupes sont inégaux scotopique : n = 1, mésopique : n = 4 et photopique : n = 4.

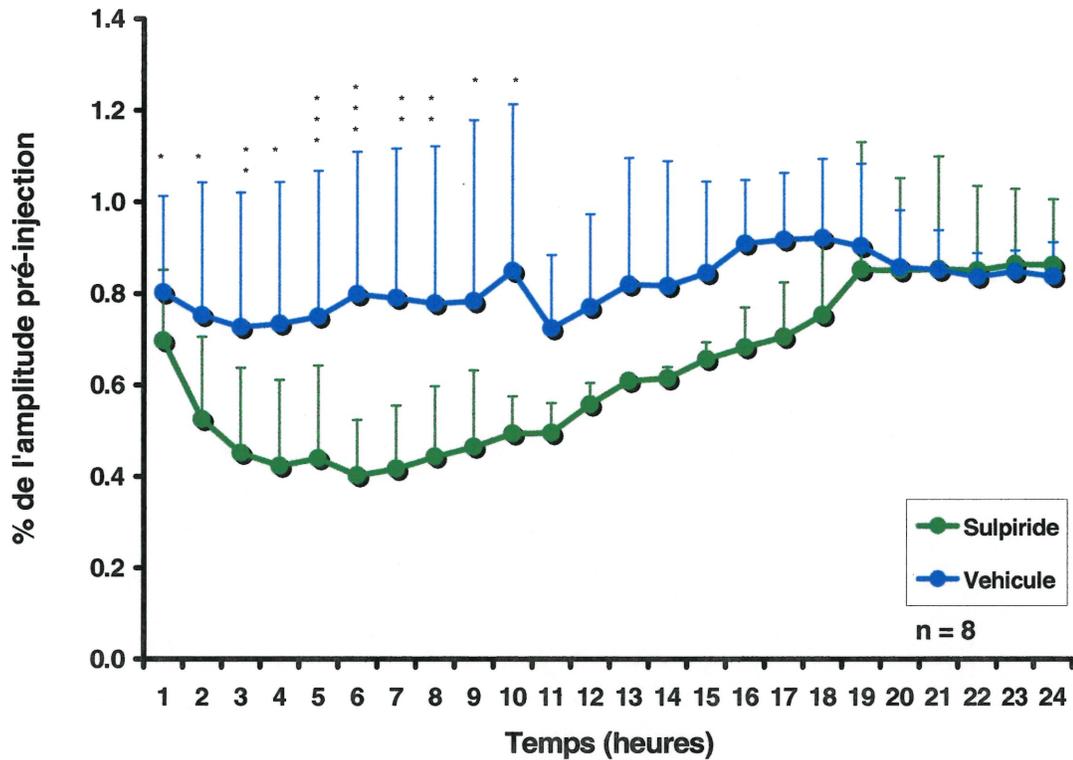


Figure 21 : Effet de la Sulpiride sur l'amplitude de l'onde b. Les injections de sulpiride (n=8) ■ réduisent l'amplitude de l'onde b. Cette diminution est significative de la trois heures post-injection jusqu'à neuf heures post-injection. On note une récupération lente à partir de sixième heure post-injection. La récupération atteindra le niveau de l'œil contrôle ■ après vingt heures post-injection.

L'effet de la sulpiride devient statistiquement significatif 4 heures post-injection ($t = -2.44$, $p = 0.045$). Cette différence s'accroît à la sixième heure ($t = -4.22$, $p = 0.006$), et à la septième heure ($t = -3.93$, $p = 0.008$) et reste significative jusqu'à 9 heures post-injection (8h : $t = -3.14$, $p = 0.089$, 9h : $t = -2.51$, $p = 0.046$).

DISCUSSION

1. Résumé des résultats

Nos résultats suggèrent que les récepteurs dopaminergiques D1 sont impliqués dans les processus de régulation de l'onde *b* par la DA. Ainsi, les agonistes des récepteurs D1 entraînent une diminution de l'amplitude de l'onde *b* et ce, autant par l'utilisation du SKF38393 que du A77636. Ces changements sont constants et les profils d'effets pharmacologiques restent semblables. L'effet des agonistes D1 n'entraîne pas de modification des autres composantes de l'ERG comme la latence ou l'amplitude de l'onde *a*.

L'effet du SKF38393 est dépendant de la dose injectée mais ne semble pas dépendre des conditions d'éclaircissements. La récupération suite aux injections de SKF38393 était assez rapide et rejoignait l'amplitude pré-injection. Toutefois, les injections de l'agoniste D1, le A77636, ont produit une perte d'amplitude de l'onde *b* considérable et nous n'avons pas constaté de récupération ultérieure, malgré une attente de 24 heures. L'antagoniste D1 utilisé, le SCH23390, produit également une réduction de l'amplitude de l'onde *b*, avec un décours temporel du même ordre que les injections de SKF38393.

Du côté des récepteurs D2, les injections de l'agoniste NPA n'ont pas produit d'effets significatifs, peu importe le temps post-injection, la concentration particulière et la condition d'éclairement. Toutefois, la sulpiride utilisée comme antagoniste D2 a provoqué un effet de réduction de l'onde *b* avec un décours temporel lent et une récupération très lente.

2. Considérations Méthodologiques

Les injections intraoculaires ont l'avantage de permettre d'injecter des doses élevées de substances DAergiques sans entraîner trop d'effets périphériques. D'autres études utilisaient la voie systémique pour administrer les substances DAergiques qui produisaient des changements métaboliques difficiles à quantifier. Par exemple, Jagadeesh et Sanchez (1981) injectaient l'apomorphine par voie intra veineuse et, par conséquent, réduisaient ainsi le rythme cardiaque. Les injections intraoculaires offrent l'avantage de distinguer les effets systémiques des effets rétiniens. Aussi, les effets systémiques se répercuteraient sur les deux yeux, alors que l'effet du ligand ne concernera que l'œil témoin.

Afin de distinguer les effets pharmacologiques de ceux d'un éventuel stress mécanique comme la hausse de pression intra-oculaire attribuable à l'injection, la procédure se doit d'inclure les deux yeux. Ainsi, pour toutes injections d'un ligand, l'œil controlatéral doit recevoir le même volume de

véhicule afin de fournir une mesure de contrôle à chacune des injections. Nous pouvons croire que le stress biomécanique imposé par l'injection n'est pas la cause de la perte d'amplitude de l'onde *b*. Un effet dû au stress mécanique de l'injection aurait été visible rapidement après l'injection et aurait produit un effet de même amplitude et de même latence dans les enregistrements de l'œil qui n'a reçu que le véhicule.

Les injections intraoculaires sont cependant beaucoup plus risquées que les injections systémiques. D'abord, il faut une certaine expérience afin de ne pas injecter dans le cristallin ou endommager la rétine. Nous avons donc pratiqué plusieurs injections contrôle avant le début des expérimentations. Ensuite, on ne connaît pas le coefficient de diffusion des différentes substances injectées de même que l'on ne peut être certain que le site d'injection est toujours à la même distance de la rétine.

Plusieurs des premières expériences ont dû être écartées car nous avons suivi le protocole expérimental d'un autre projet, la présente étude devait être le complément de cette première étude. Cette première étude ne rencontrait pas les normes des conditions d'éclairement de l'ISCEV. Nous avons donc rejeté nos propres résultats et ceux de ce premier projet.

Notre protocole expérimental nécessite des temps post-injections pouvant aller jusqu'à plus de 30 heures. Afin de standardiser notre procédure

d'enregistrement sur de longues périodes nous avons dû automatiser l'acquisition des données. Cette automatisation nous obligea à apprendre le langage de programmation utilisé par notre logiciel d'acquisition. Le langage utilisé est une version hybride de plusieurs langages courants. Nous avons donc dû apprendre le Turbo Pascal, le C++ et quelques notions de Visual Basic.

3. Agoniste D1

Le premier volet de notre question de départ est de déterminer l'effet des récepteurs D1 sur l'amplitude de l'onde *b*. Nos résultats ont montré que l'agoniste des récepteurs D1 le SKF38393 et l'agoniste A77636 réduisent de façon significative l'amplitude de l'onde *b*.

3.1 Impact des agonistes D1 sur l'onde *b*.

Nous avons démontré que le SKF38393 entraîne une réduction de l'amplitude de l'onde *b*. Le site d'action du SKF38393 sont les récepteurs D1 et l'immunoréactivité montre la présence de récepteurs de la famille D1 sur les cellules bipolaires des cônes et des bâtonnets chez le rat, souris, et hamster (Nguyen-Legros *et al.* 1997 : Veruki & Wassle 1996).

Il est maintenant connu que les récepteurs DA ont des effets sur différentes cascades intracellulaires. À titre d'exemple, sur la régulation de la protéine

DARPP32. L'immunohistologie a démontré la présence de la protéine DARPP32 dans la couche nucléaire interne (Meister *et al.* 1991). Cette protéine est importante à plus d'un titre. Activée par la voie D1-cAMP-PKA la DARPP32 elle intervient dans la phosphorylation et la déphosphorylation de différents canaux ioniques comme les canaux sodiques et GABA_A et l'effet antagoniste sur les canaux calciques (N, P, et L) et glutamatergiques (AMPA, NMDA) (voir Greengard 2001 pour la revue). Toutefois, l'effet global de ces changements sur le potentiel de repos de la membrane cellulaire reste à déterminer.

Une autre hypothèse afin d'expliquer l'effet du SKF38393 sur la réduction de l'amplitude de l'onde *b* est celle de la rétroaction négative des cellules horizontales sur les photorécepteurs. Les photorécepteurs libèrent du glutamate sur les canaux métabotropiques glutamatergiques (mGluR) des bipolaires comme mode de communication normale. Les cônes libèrent du glutamate sur les récepteurs ioniques glutamatergiques (iGluR) des cellules horizontales. L'activation des iGluR dépolarise les cellules horizontales qui en retour libèrent du GABA sur le segment interne du photorécepteur. Ce GABA inhibera le photorécepteur qui libère moins de glutamate sur la bipolaire diminuant ainsi l'amplitude de l'onde *b*. Le lien synaptique entre les amacrines dopaminergiques et les cellules horizontales reste à vérifier. La DA est de potentialise de 2.5 fois l'action du glutamate sur les récepteurs des

canaux iGluR (Knapp & Dowling, 1987) ce qui produirait la rétroaction négative.

Dans le fonctionnement normal de la rétine, le mécanisme de rétroaction négative s'annule de lui-même. Le retour du GABA sur le photorécepteur diminue le glutamate relâché sur la cellule bipolaire et collatéralement diminue le glutamate relâché sur la cellule horizontale, la boucle de rétroaction s'arrête alors (Kleinschmidt & Dowling, 1975). L'injection d'agoniste dopaminergique garderait actif la potentialisation du glutamate et permettrait la réduction d'amplitude de l'onde *b*. Cependant, ce mécanisme d'action entraînerait des modifications dans l'amplitude de l'onde *a*. Nos résultats n'ont pas montré de tels changements.

Nous pouvons supposer que le A77636 affecte l'amplitude de l'onde *b* sensiblement par les mêmes mécanismes que ceux mis en évidence lors des injections de SKF38393. L'utilité des injections de A77636 est de confirmer les résultats obtenus avec le SKF38393. Rappelons que le SKF38393 est un agoniste partiel des récepteurs D1. Ainsi, le SKF38393 ne peut produire la réponse biologique maximale des récepteurs D1. De son côté, le A77636 est une molécule récemment développée dans les années 1990 pour laquelle peu de littérature est disponible. Contrairement au SKF38393, nous n'avons pas observé de récupération suite aux injections de A77636. Ceci est en

accord avec les travaux de Lin *et al.* (1996) qui ont montré que le A77636 se lie de façon moins réversible que le SKF38393 aux récepteurs D1.

Nos résultats dans les différentes conditions lumineuses suggèrent que le SKF38393 n'a pas un effet dépendant préférentiellement des voies utilisées par un des deux types de photorécepteurs.

La latence de l'onde *b* ne présente pas de changements significatifs suite à l'injection de SKF38393. Jagadeesh et Sanchez (1981) avaient obtenu des résultats semblables avec un agoniste mixte des récepteur D1 et D2, l'apomorphine.

L'immunohistologie montre aussi que les cellules de Müller possèdent sur leurs parties externes des récepteurs D1 (Nguyen-Legros *et al.* 1987). De plus, des conductances glutamatergiques ainsi que GABAergique ont été mises en évidence chez les cellules de Müller (Brew & Attwell 1987 ; Malchow *et al.* 1989). Ces conductances pourraient aussi intervenir dans le processus de production de l'onde *b*. Le protocole expérimental employé dans la présente étude ne permet pas de distinguer l'effet attribuable aux cellules bipolaires de celui induit par les cellules de Müller.

3.3 Impact des agonistes D1 sur l'onde a

Les injections de SKF38393 ont entraîné une baisse d'amplitude de l'onde *b*, indiquant que l'activation des récepteurs D1 affecte la rétine au-delà des photorécepteurs puisque l'onde *a* n'est pas affectée. Ces résultats concordent avec ceux de Jagadeesh et Sanchez (1981), concernant les injections d'apomorphines. Cela nous montre que la réduction de l'onde *b* observée n'est pas attribuable à une constriction pupillaire qui, elle, réduirait toutes les composantes de l'ERG. Ce dernier point est important car les agonistes de la dopamine ont des effets documentés sur les variations de diamètre pupillaire. À titre d'exemple, il existe un mydriatique dopaminergique qui a été essayé pour la clinique, l'ibopamine (Corbet *et al.* 1994). Comme contrôle supplémentaire montrant que nos résultats ne sont pas dus à une constriction pupillaire, nous avons effectué des injections de SKF38393 en utilisant des pupilles artificielles. Ces données n'ont pas été présentées individuellement, mais ont été comptées avec les autres injections sans pupilles artificielles car l'effet était similaire.

3.4 Impact des agonistes D1 sur l'onde c

Nos résultats n'indiquent pas de changements significatifs d'amplitude de l'onde *c*. L'onde *c* provient d'un processus tardif dans le traitement de l'information visuelle effectué par la rétine comme l'épithélium pigmentaire et peut-être les cellules ganglionnaires. Dans nos conditions expérimentales, le

SKF38393 n'affecte pas de façon perceptible à l'ERG l'épithélium pigmentaire ou les cellules ganglionnaires. Certains auteurs ont toutefois démontré des effets de la DA sur les cellules ganglionnaires (Jensen & Daw, 1986) qui seraient médiées par les récepteurs D1. Le signal des ganglionnaires est plus facilement perceptible avec des techniques de «ERG pattern» qui consiste en l'illumination et l'enregistrement successif par petites zones de la rétine. Ce qui pourrait expliquer pourquoi dans nos conditions expérimentales on ne note pas de changement d'amplitude de l'onde *c*.

4. Antagoniste D1

Les injections d'antagoniste des récepteurs D1 ont produit une réduction significative de l'onde *b*. Les effets de l'antagoniste SCH23390 sont de moins grande amplitude que ceux observés lors des injections de l'agoniste SKF38393.

Nos résultats obtenus sur la diminution de l'amplitude de l'onde *b* par le SCH23390 concordent avec ceux de Marmor *et al.* (1988). Marmor *et al.* (1988) ont injecté i.m. du SKF38393 et du SCH23390 à des lapins. Seul le SCH23390 a entraîné une réduction de l'onde *b*. Le mode d'administration i.m. peut induire un biais selon l'indice de liposolubilité des substances

injectées. Ainsi une substance plus liposoluble aura plus de chance de traverser la barrière hémato-rétinienne.

D'autres études comme Schneider & Zrenner (1991) ont montré, sur des préparations isolées de chat, des résultats exactement inverse. L'injection de fluphenazine (antagoniste D1) amène une augmentation de l'amplitude de l'onde *b* en condition scotopique. Paradoxalement, la même étude montre qu'un antagoniste D1 (fluphenazine), D2 (Sulpiride) ou mixte D1 et D2 (halopéridol) produit le même effet d'augmentation de l'onde *b*.

Il est surprenant de constater dans nos résultats que l'activation ou la désactivation d'un même récepteur amène la réduction de l'onde *b*. Il est aussi surprenant que les résultats de Schneider & Zrenner (1991) montrent que la désactivation des D1 ou des D2 ont le même effet d'augmentation de l'onde *b*. Compte tenu de l'effet opposé de ces récepteurs sur les différentes cascades intracellulaires, comme l'adénylate cyclase, semble donc tout aussi paradoxale.

Dans le fonctionnement normal de la rétine la DA inhibe l'activité des cellules All. Les cellules All sont glycinergiques, leur rôle est d'inhiber d'autres cellules comme les cellules bipolaires «off» et ganglionnaires «off» des cônes. Le SCH23390 permet d'enlever l'inhibition DAergique normale des

amacrine AII. La perte d'inhibition DAergique des AII produit plusieurs effets, comme la perte d'inhibition des cellules bipolaires «off» des cônes et l'inhibition des cellules bipolaires «on» des cônes (Vaney *et al.* 1991). L'inhibition des bipolaires «on» des cônes produirait la perte d'amplitude de l'onde *b*. Il est établi que les cellules amacrines dopaminergiques projettent sur les cellules amacrines AII (Oyster *et al.* 1985).

Il est connu que les photorécepteurs, chez certaines espèces, sont liés par des synapses électriques (Copenhagen & Owen 1976; Raviola & Gilula 1973; Schwartz 1975). Il est aussi connu que les photorécepteurs possèdent des récepteurs dopaminergiques. Il est possible que le SCH23390 se lie aux récepteurs des photorécepteurs. L'effet de l'ouverture des canaux entre les photorécepteurs modifierait la probabilité de réponse du photorécepteur lors de stimulation faible. L'effet d'un photon (quanta) serait dès lors diffusé dans le groupement de cellules photo réceptrices ce qui empêcherait les photorécepteurs d'hyper polariser normalement. Cependant, ce mécanisme d'action entraînerait une modification de l'amplitude de l'onde *a* et subséquemment de l'onde *b*. Nos résultats n'ont pas montré de tels changements.

Une autre possibilité est que dans nos conditions expérimentales représente une situation non-écologique. Par exemple, l'utilisation d'un antagoniste D1 alors que les récepteurs D2 seraient stimulés par la DA endogène,

provoquent une situation conflictuelle entre les différentes voies de signalisation intracellulaire. Lors du fonctionnement normal de la rétine, il serait exceptionnel d'observer l'effet de l'inhibition des D1 lorsque les récepteurs D2 seraient stimulés. Cette situation non-écologique est pourtant possible. Lors de nos expériences nous injectons du SCH23390 qui bloque les récepteurs D1 alors que les récepteurs D2 peuvent être stimulés par la DA endogène.

Compte tenu du nombre limité d'injections ($n = 6$), nos résultats d'injections de SCH23390 sont à relativiser. Dans le même sens, l'effet de réduction de l'onde *b* n'a été significatif que lors de 4 des 6 injections. Afin de mieux comprendre l'effet du SCH23390 d'autres expériences seraient nécessaires. Par exemple, varier les conditions d'éclairement afin de savoir si l'effet est dépendant d'une voie spécifique à un type de photorécepteur. D'autres concentrations seraient aussi à considérer lors d'études futures car les présents résultats ne concernent que des injections de 1mg/100 μ l. L'utilisation d'une dose unique ne nous permet pas de nous prononcer sur l'effet de doses inférieures sur l'onde *b*. L'avancement de nos résultats ne nous permet pas d'exclure la possibilité que la dose utilisée soit neurotoxique.

5. Agoniste D2

Les résultats obtenus lors d'injections de NPA n'ont pas produit de changements significatifs d'amplitude de l'onde *b*. Toutefois, jusqu'à 10 heures post-injections nous ne notons aucune différence significative perceptible à l'ERG, et ce malgré la diversité des concentrations utilisées. Nos résultats n'ont pas montré d'effets du NPA dépendant d'une condition d'éclairement particulière. Il apparaît que le NPA n'a pas d'effet peu importe la condition d'éclairement. Selon notre hypothèse de départ, nous nous attendions à une diminution de l'amplitude de l'onde *b* suite aux injections de NPA car l'immunohistochimie (Biderman *et al.* 1995) montre que les cellules de Müller possèdent aussi des récepteurs D2. Il est connu que les cellules de Müller sont impliquées dans la production de l'onde *b*. Cependant, nos résultats ont plutôt montré que le NPA n'a pas d'effet sur l'amplitude de l'onde *b*.

Le NPA active les récepteurs D2 qui eux diminuent l'activité de l'adénylate cyclase. En plus, le NPA active les autorécepteurs qui diminuent la synthèse et la relâche de DA endogène (voir tableau 3). Cette diminution de relâche de DA endogène diminue l'activation des D1 et diminuera l'activation de l'adénylate cyclase. La diminution de relâche de DA endogène diminuera l'activation des D2 et augmentera l'activité de l'adénylate cyclase. L'effet net des ces changements résulterait en une diminution de l'activité de l'adénylate

cyclase. Il est possible qu'au repos l'adenylate cyclase soit déjà à un niveau d'activation bas. Dans cette condition, une diminution induite par les récepteurs D2 n'aurait que peu d'effets.

Une autre possibilité est que les récepteurs D2 ne soient simplement pas impliqués dans les processus de production de l'onde *b*. Le rôle de ces récepteurs pourrait être exclusivement utilisé dans d'autres processus rétiniens comme les mouvements des pigments de l'épithélium.

Toutefois, avant de conclure que l'activation des récepteurs D2 n'amène pas de changement d'amplitude de l'onde *b*, de contrôler l'activation des autorécepteurs grâce à des agonistes et antagonistes leur étant spécifique.

6. Antagoniste D2

Nos résultats ont montré que l'antagoniste des récepteurs D2 a produit une plus forte réduction de l'onde *b* que l'agoniste partiel SKF38393. L'amplitude de l'effet observé et les temps de récupération suggèrent que l'effet de la sulpiride relève de mécanismes pouvant provenir de processus différents de ceux observés lors des injections de SKF38393 comme un effet sur le taux de synthèse de la DA.

La sulpiride produit une réduction d'amplitude de l'onde *b* pouvant s'expliquer par son action sur l'adenylate cyclase (Tableau 3). Ainsi, la sulpiride inhiberait directement les récepteurs D2 permettant d'augmenter l'activité de l'adenylate cyclase. La sulpiride active également les récepteurs D1 via l'augmentation de la synthèse et la relâche de DA endogène par l'inhibition des autorécepteurs. Ces derniers permettant aussi d'augmenter l'activité de l'adenylate cyclase. L'activation de la synthèse et de la relâche de DA endogène pourrait expliquer pourquoi le décours temporel plus long et l'amplitude de l'effet de la sulpiride est plus marquée que lors d'injection de SKF38393. Afin de confirmer cette hypothèse, il faudrait établir les taux de DA endogène au moment où l'effet de la sulpiride produit l'effet maximal sur la réduction de l'onde *b* par chromatographie (HPLC).

Toutefois, la littérature rapporte des résultats contradictoires à nos résultats. Jagadeesh *et al.* (1980) montrent que des injections i.v. de chlorpromazine (antagoniste D2) augmentent l'amplitude de l'onde *b*.

7. Conclusion

Nous croyons que les agonistes D1 (SKF38393 et A77636) réduisent l'amplitude de l'onde *b* par l'inhibition des cellules bipolaires ou des cellules de Müller. L'antagoniste des récepteurs D1 (SCH23390) réduit l'amplitude de

l'onde *b*. L'hypothèse que nous retenons pour expliquer l'effet du SCH23390 est celle de la désinhibition des cellules amacrines AII. L'agoniste D2 (NPA) ne produit pas d'effet sur l'onde *b*, il est possible que l'effet agoniste du NPA sur les récepteurs D2 soit supprimé par l'effet collatéral du NPA sur les autorécepteurs ou que les récepteurs D2 ne sont pas impliqués dans la genèse de l'onde *b*. L'antagoniste des récepteurs D2 (sulpiride) aurait un effet par son action indirecte sur les récepteurs D1. L'effet de la sulpiride en plus d'inhiber les récepteurs D2 inhiberait les autorécepteurs augmentant la synthèse et la relâche de DA endogène. La DA endogène pourrait entraîner un effet de réduction de l'onde *b* par son action sur les récepteurs D1.

D'autres expériences seraient nécessaires afin de vérifier certaines des hypothèses avancées. Dans un premier temps, il serait nécessaire d'effectuer encore quelques injections de A77636 afin que les effets très forts observés atteignent les seuils de signification statistique (ces expériences sont en cours). Il serait important d'effectuer quelques injections de SCH23390 dans les autres conditions d'éclairement afin de raffiner l'explication concernant l'effet du SCH23390. Il serait nécessaire de mesurer le taux de DA endogène suite aux injections de sulpiride, ce qui permettrait d'évaluer l'importance des autorécepteurs dans la régulation de la relâche de la DA.

D'autres expériences pourraient faire suite à la présente étude. Des variantes de l'ERG pourraient être explorées. Par exemple, l'utilisation de «flicker» qui est une forme d'ERG utilisant des flashes répétés à fréquence rapide. Cette technique s'est avérée être plus sensible aux variations de la DA (Marmor *et al.* 1988). L'utilisation de l'«ERG pattern» permet de mieux quantifier les changements dans les oppositions centre-périphéries des champs récepteurs (Bodis-Wolner & Tzelepi, 1998). Afin d'isoler quelle cellule est principalement affectée par nos manipulations, l'enregistrement des réponses négatives proximales (PNRs) pourrait être utile. Cette mesure permet d'enregistrer, grâce à une micro-pipette insérée à la frontière de la couche nucléaire interne et la couche interplexiforme interne, la réponse des amacrine.

Afin d'effectuer de meilleures dissections pharmacologiques, il serait nécessaire de déterminer les K_d et K_i par scintillation des substances utilisées puisque peu de données sont présentement disponibles. Pour tester certaines des hypothèses présentées, il faudrait manipuler directement les taux de cAMP par l'injection de 8-bromo-cAMP (qui est une forme de cAMP diffusible à travers des membranes cellulaires). Il serait important d'isoler l'action des autorécepteurs par des agonistes et antagonistes spécifiques à ces récepteurs. Des injections d'agonistes mixtes suite à l'injection d'antagonistes spécifiques permettraient d'isoler les récepteurs étudiés en réduisant l'interaction possible avec d'autres récepteurs.

En conclusion, nous avons démontré que l'effet de l'apomorphine sur la réduction de l'amplitude de l'onde *b* montrée par Jagadeesh & Sanchez (1984) proviendrait exclusivement de l'activation des récepteurs D1. Cette activation des récepteurs D1 peut se faire par des agonistes D1 ou par des antagonistes D2 via possiblement les autorécepteurs.

Bibliographie

- Bares M, Caron M, & Raymond J. (1991) Desensitization of DA1 dopamine receptors. *Am. J. Physiol.* 260(6) : F937 - 947
- Besharse J. C., Iuvone P. M. & Pierce M. E., (1988) Regulation of rhythmic photoreceptor catabolism: a role for post-receptor neurons. *Prog. Retinal Res* 7 : 21 - 61
- Biederman B., Fröhlich E., Grosche J., Wagner H. J., & Reichenbach A. (1995) mammalian muller cells express functional D2 dopamine receptor. *NeuroReport* 6(4) : 609 - 612.
- Bodis-Wollner I., Marx M. S., Mitra S., Bobak P., Myelin L. and Yahr M. (1987) Visual dysfunction in Parkinson's disease-loss in spatio-temporal contrast sensitivity. *Brain* 110 : 1675-1698
- Brew H., & Attwell D., (1987) *Nature* (London) 327 : 707-709
- Burke JA., & Potter DE., (1987) Apomorphine derivatives affect ocular function in diverse ways. *Current eye Res.* 6(10) : 1227 – 1236
- Cahill GM., & Besharse JC., (1991) Circadian regulation of melatonin in the retina of *xenopus laevis* : limitation by serotonin availability. *J neurochem* 54 : 716 - 719
- Cardinaud B., Gilbert j. M., Liu F., Sugamori K. S., Vincent j. D., Niznik, H. B., and Vernier P. (1998) Evolution and origin of the diversity of dopamine receptors in vertebrates. *Adv. Pharmacol* 42 : 936 – 940
- Citron M., Erinoff L., Rickman D. W. and Brecha N. C. (1985) Modification of electroretinograms in dopamine depleted retinas. *Brain Res.* 345 : 186 – 191
- Clark D., White FJ., (1987) D1 dopamine receptor – the search for a function : a critical evaluation of the D1/D2 dopamine receptor classification and its functional implications. *Synapse* 1(4) : 347-388
- Cohen J. C., Hadjiconstantinou M. and Neff N. H. (1983) Activities of dopamine containing cells of retina: Light. *Brain res* 31 ; 260(1) : 125 – 127

- Cooper JR., Bloom FE., Roth RH., (1996) The biochemical basis of the neuropharmacology. 7eds Oxford University Press : New-York
- Cook JE., & Becker DL., (1995) Gap junctions in the vertebrate retina. *Microscopy res. and tech.*, 31 : 408 - 419
- Copenhagen DR., & Owen WG., (1976) Coupling between rod photoreceptors in a vertebrate retina. *Nature* 260 : 57 – 59
- Corbett MC., Buckley SA., & Richards AB., (1994) Ibopamine : a new preoperative mydriatic for cataract surgery. *Eur Journ. Ophtalmol.* 4(1) : 29 – 34
- Daly SA & Waddinton JL., (1992) New classes of selective D-1 dopamine receptor antagonist provide further evidence for two direction of D-1:D-2 interaction *Neurochem Int* 20 :135s - 139s
- Deary A. and Burnside B., (1989) Light-induced dopamine release from teleost retinas acts as a light adaptive signal to, the retinal pigment epithelium. *J. Neurochem.* 53, 870 – 878
- Deary A., Edelman J.L., Miller S., & Burnside B., (1990) Dopamine induces light-adaptive retinomotor movements in bullfrog cones via D2 receptors and in retinal pigment epithelium via D1 receptors. *J. Neurochem.* 54, 1367 – 1378
- Dick E, Miller RF (1978) Light-evoked potassium activity in mudpuppy retina : its relationship to the b-wave of the electroretinogram *Brain res* 154 : - 388
- Djamgoz MBA, & Wagner HJ., (1992) Localization and function of dopamine in the adult vertebrate retina *Neurochem Int* 22(2) : 139 – 191
- Dowling JE., (1987) The retina : an approachable part of the brain. The Belknap press of Harvard University press. Cambridge
- Dubocovich M. L., (1988) Role of melatonin in retina. *Prog. Retinal Res* 7 : 129 - 151
- Dubrochovich ML, Weiner N., (1981) Modulation of the stimulation-evoked release of 3HDopamine in the rabbit retina *J. Pharmacol Expl Ther* 224 : 634 - 639
- Duner H., von Euler US., & Pernow B., (1954) Catecholamines and substance P in mammalian eye. *Acta Physiol. Scand.* 66 : 123-128

- Ehinger B. & Dowling J. E., (1987) Retinal neurocircuitry, and transmission. In: Handbook of Chemical Neuroanatomy Björklund A, Hökfelt T and Swanson L W, eds Vol. 5., Part 1, pp, 389-446. Elsevier Science Publ. B.V., Amsterdam.
- Feldman RS., Meyer JS., & Quenzer LF., Principles of neuropsychopharmacology. Sinauer Associates Inc, Sunderland Massachusetts.
- Gerschenfeld H. M., Newton J., Piccolino M. and Witkovsky P. (1982) L-horizontal cells of the turtle: network organization and coupling modulation. Biomed. Res. 3 : 21-32
- Ghilardi M, Bodis-Wollner I, Onofrij M, Marx M & Glover A. (1988) Spatial frequency-dependent abnormalities of pattern electroretinogram and visual evoked potentials in a parkinsonian monkey model. Brain 111 : 131 – 149
- Gillette MA., & Dacheux RF., (1994) GABA and glycine-activated currents in the rod bipolar cell of the rabbit retina. Journ. Neurophysiol. 74 : 856-875
- Gottlob I, Schneider E, Heider W & Skrandies W. (1987) Alteration of visual evoked potentials and electroretinogram in patients with Parkinson's disease. Electroencepha. Clin. Neurophysiol 66 : 349 - 357
- Gouras P., & Carr RE., (1965) Light induced DC response of monkey retina before and after central retinal artery interruption. Invest Ophtal 381
- Grandy D, Marchionni M, Makan H, Stofko R, Alfano M, Frothingam L, Fisher J, Burke-Howie K, Bunzow J, Servier A, & Civelli O., (1989) Cloning of the cDNA and gene for human D2 dopamine receptor Proc nat acad sci USA 86 : 9762 - 9766
- Grenngard, P. (2001) The neurobiology of slow synaptic transmission, Science 294 : 1024-1028
- Hamm H. E. & Menaker M., (1980) Retinal rhythms in chicks: Circadian variation in melatonin and serotonin N-acetyltransferase activity. Proc. nat. Acad. Sci. U.S.A. 77 : 4998 - 5002
- Hampson E. C. G. M., Weiler R., & Vaney D. 1. (1994) pH-gated dopaminergic modulation of horizontal cell gap junctions in mammalian retina. Proc. R. Soc. Lond. B 255 : 67 - 72

- Hedden WL, & Dowling JE., (1978) The interplexiform cell system II: Effects of the dopamine on goldfish retina neurones. *Proc R soc lond B biol sci* 13 ; 201(1142) : 27 - 55
- Holopigian, Clewer, Seiple & Kupersmith (1994) The effect of dopamine blockade on the human flash electroretinogram. *Doc Ophtal.* 96(1) : 1 - 10
- Iuvone & Rauch A (1983) Alpha2-adrenergic receptor influence tyrosine hydroxylase activity in retinal dopamine neurons. *Life sci* 33 : 2455 - 2466
- Iuvone M, Avendano G, Butler B & Adler R (1990) Cyclic AMP-dependent induction of serotonin n-acetyltransferase activity in photoreceptor enriched chick retinal cell cultures : characterization and inhibition by dopamine. *J neurochem* 55 : 673 – 682
- Iuvone PM, Galli C, & Garrison-Gund CK., (1978) Light stimulate tyrosine hydroxylase activity and dopamine synthesis in retinal amacrine neurons *Science* 202 : 901 - 902
- Iuvone PM., (1986) Evidence for a D2 dopamine receptor in frog retina that decreases cyclic AMP accumulation and serotonin N-acetyltransferase activity. *Life sci* 38 : 331 - 342
- Jackson (1989) Dopamine D2 agonist-induced behavioural depression is reversed by dopamine D1 agonists. *J Neural transm* 75(3) : 213 – 20
- Jaffe M., Bruno G., Campbell G, Lavine RA, Karson CN, Weinberger DR., (1987) Ganzfeld electroretinogram finding in parkinsonism untreated patients and the effect of levodopa intravenous infusion. *Jour. Neurol. Neurosurg. Psychiatry.* 50 (7) : 847 – 852
- Jaffe MJ., Levinson PD., Zimmlichman R., Cien JC., Karsin CN., deMonasterio FM., (1987) The effect of metoclopramide on the ganzfeld electroretinogram. *Vision Res.* 27 : 1693-1700
- Jagadeesh JM., Sanchez R., (1981) Effects of apomorphine on the rabbit electroretinogram. *Invest Ophtalmol Vis Sci* 81 : 620
- Jagadeesh JM., Lee HC., Salazar-Bookaman M., (1980) Influence of chlorpromazine on the rabbit electroretinogram. *Invest. Ophtalmol. Vis. Sci.* 19 : 1449

- Jensen R. J. and Daw N. W., (1984) Effects of dopamine antagonists on receptive fields of brisk cells and directionally selective cells in the rabbit retina. *J. Neurosci* 4, 2972 - 2985
- Jensen R.J., & Daw N.W., (1986) Effect of dopamine and its agonists and antagonists on the receptive fields properties of ganglion cells in the rabbit retina. *Neuroscience* 17(3) : 837-855
- Kamp CW, Morgan WW (1981) Gaba antagonists enhanced dopamine turnover in the rat retina in vivo. *Europ Journ Pharmacol.* 69 : 273 - 279
- Kirsch M., Wagner H.-J. & Douglas R. H., (1989) Rods trigger light adaptive retinomotor movements in all spectral cone types of a teleost fish. *Vision Res* 29 : 396
- Kleinschmidt J., & Dowling J.E., (1975) Intracellular recordings from geko photoreceptors during light and dark adaptation. *J Gen Physiol* 66 : 617 – 648
- Knapp A., G. Schmidt K. F. & Dowling J. E., (1990) Dopamine modulates the kinetics of ion channels gated by excitatory amino acids in retinal horizontal cells. *Proc. nat. Acad. Sci. U.S.A* 87 : 767 - 771
- Knapp A.G. & Dowling J. E., (1987) Dopamine enhances excitatory amino acid gated conductance in retinal horizontal cells. *Nature* 325 : 437 – 439
- Kolb H., Cuenca N., Wang H. H., & De Korver L. (1990) The synaptic organization of the dopaminergic amacrine cell in the cat retina. *J. Neurocytol* 19 : 343 - 366
- Lacey M.G., Mercuri N.B., & North R.A., (1987) Dopamine acts on D2 receptors to increase potassium conductance in neurones on the rat substantia nigra zona compacta. *J Physiol* 392 : 239 – 255
- Lachapelle P., Benoit Guité Tran & Molochnikoff S., (1990) The effect of iodoacetic acid on the electroretinogram and oscillatory potential in rabbit. *Docu Ophtal* 75 : 7 - 14
- Lasater E. M. & Dowling J. E., (1985) Dopamine decreases conductance of the electrical junctions between cultured retinal horizontal cells. *Proc. Nat. Acad. Sci. USA* 82 : 3025 - 3029
- Levitt M, Spector S, Sjoerdsma A & Udenfriend S (1965) Elucidation of the rate limiting step in noradrenaline biosynthesis in the perfused guinea pig heart. *J pharm expl res* 148 : 399 - 402

- Lin CW., Bianchi BR., Miller TR., Stashko MA., Wang SS., Curzon P., Bednarz L., Asin KE., & Britton DR., (1996) Persistent activation of the dopamine D1 receptor contributes to prolonged receptor desensitization : studies with A-77636. *Journ. Pharmacol. Exp. Ther.* 276(3) : 1022-1029
- Liu Y. & Lasater E. M. (1994) Calcium current in turtle retinal ganglion cells. 2. Dopamine modulation via a cyclic AMP-dependent mechanism *J. Neurophysiol* 71 : 743 - 752
- Maguire G. & Hamasaki D. 1. (1994) The retinal dopamine network alters the adaptational properties of retinal ganglion cells in the cat. *J. Neurophysiol* 72 : 730 - 741
- Malchow RP., Quian H., & Ripps H., (1989) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 86 : 4326-4330
- Marmor MF, Hock P, Schechter G, Pfefferbaum A, Berger PA, Maurice R (1988) Oscillatory potentials as a marker for dopaminergic disease. *Doc Ophthalmol.* Jul;69(3):255-61
- Marmor MF, Zrenner E. (1999 update) Standard for clinical electroretinography. *Doc Ophthalmol* 1998;97:143-156
- Meister B., Arvidsson U., Hemmings HC. Jr., Greengard P., & Hokfelt T., (1991) Dopamine and adenosine 3'-5'-monophosphate (cAMP) regulated phospho protein of Mr 32,000 (DARPP32) in the retina of cat, monkey and human. *Neurosciences Letters.* 131 : 66-70
- Miller RF., & Dowling JF., (1970) *Journ of Neurophysiol.* 33 : 323-341
- Miller RF., (1973) Role of K⁺ in generation of b-wave of electroretinogram. *J neurophysiol* 36(1) : 28 – 38
- Morgan W. W. & Kamp C. W., (1980) A GABAergic influence on the light-induced increase in dopamine turnover in the dark adapted rat retina. *J. Neurochem* 34, 1082 – 1086
- Morgan W. W. and Kamp C. W. (1993) The effects of strychnine and bicuculline on dopamine synthesis of dark-maintained rats. *Brain Res.* 278 : 362 – 369
- Nester EJ, Hyman SE & Malenka RC, (2001) *Molecular neuropharmacology : A fondation for clinical neuroscience* McGraw Hill

- Newman EA (1980) Current source-density analysis of the b-wave of frog retina. *J neurophysiol* 43(5) : 1355-66
- Nguyen-Legros J., (1988) Morphology and distribution of catecholaminergic neurons in mammalian retina. *Prog retinal Res* 7 : 113 - 147
- Nguyen-Legros J., Chanut E., Versaux-Botteri C., Simon A., & Trouvin j. H. (1996) Dopamine inhibits melatonin synthesis in photoreceptor cells through a D2-like receptor subtype in the rat retina: biochemical and histochemical evidence. *J. Neurochem* 67 : 2514 - 2520
- Nguyen-Legros J., Simon A., Caillé I., & Bloch B (1997) Immunocytochemical localization of the dopamine D1 receptors in the retina of mammals. *Vis. Neurosciences.* 14 : 547-551
- Nguyen-Legros J., Versaux-Botteri C., & Savy C., (1997) Dopaminergic and GABAergic retinal cell. populations in mammals. *Micr. Res. Tech* 36 : 26 - 42
- Olivier, Jolicoeur, Lafond Drumheller & Brunette (1987) Effects of retinal dopamine depletion on the rabbit electroretinogram *Docu Ophtal.* 66 : 359 - 371
- Oyster CW., Takahashi ES., Cilluffo M., & Brecha NC., (1985) Morphology and distribution of the tyrosine hydroxylase-like immunoreactive neurons in the cat retina. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 82 : 6335 - 6339
- Pfeiffer-Linn C. & Lasater E. M., (1993) Dopamine modulates in a different fashion T-type and L-type calcium current in bass retinal horizontal cells. *J. Gen. Physiol* 102 : 277 – 294
- Proll M. A., Kamp C. W. & Morgan W. W., (1982) Use of liquid chromatography with electrochemistry to measure effects of varying intensities of white light on DOPA accumulation in rat retinas. *Life Sci.* 30, 11 - 19
- Proll MA., Morgan MW., (1983) Use of GABA transaminase inhibitor and a Gaba uptake inhibitor to investigate the influence of Gaba neurones on dopamine-containing amacrine cells of the rat retina *J pharm exp ther* 227 : 627 – 630
- Raviola E., & Gilula NB., (1973) Gap junctions between photoreceptor cells in the vertebrate retina. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 70 : 1677 – 1681

- Schneider T, Zrenner E. (1991) Effects of D-1 and D-2 dopamine antagonists on ERG and optic nerve response of the cat. *Exp. Eye. Res.* Apr;52(4):425-30
- Schoffield JG., (1983) Use of a trapped fluorescent indicator to demonstrate effects of throliberin and dopamine on cytoplasmic calcium concentration in bovine anterior pituitary cells. *FEBS Lett.* 159 : 79 – 82
- Schwartz EA., (1975) Rod-rod interaction in the retina of the turtle. *J Physiol. (London)* 246 : 617 – 638
- Siegel GJ., Agranoff BW., Albers RW., Fischer SK., & Uhler MD., *Basic neurochemistry : molecular, cellular and medical aspects* 6em Ed. Lippincott Raven.
- Sokoloff P & Schwartz JC., (1995) Novel dopamine receptors half a decade later. *Trends in Pharmacol Sci* 16(8) : 270 - 275
- Steinberg RH, Schmidt R, & Brown KT., (1970) Intracellular responses to light from cat pigment epithelium : origin of the electroretinogram c-wave *Nature* 227 : 728
- Teranishi T., Negishi K. & Kato S. (1983) Dopamine modulates S-potential amplitude and dye-coupling between external horizontal cells in carp retina. *Nature* 301 : 243 – 246
- Tran VM., & Dickman M (1992) Differential localization of dopamine D1 and D2 receptors in rat retina. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* Apr;33(5):1620-6.
- Thier P. and Aider V. (1984) Action of iontophoretically applied dopamine on cat retinal ganglion cells. *Brain Res.* 292,109-121
- Tran V. T. and Dickman M., (1992) Differential localization of dopamine D1 and D2 receptors in rat retina. *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.* 33 : 1620 – 1626
- Van Tol H. H. M. (1998) Structural and functional characteristics of the dopamine D4 receptor. *Adv. Pharmacol* 42 : 486 - 490
- Vaney DI., Young HM., Gynther IC., (1991) The rod circuit in the rabbit retina. *Vis. Neuroscience* 7 : 141 – 154
- Veruki M. L. and Wässle H. (1996) Immunohistochemical localization of dopamine D1 receptors in rat retina. *Euro Journ of Neuro* 8 : 2286 - 2297

- Veruki ML., Wassle H., (1996) Immunohistochemical localization of dopamine D1 receptor in rat retina. *Euro. Journ. Neurosci.* 8 : 2286-2297
- Wagner HJ., Luo BG., Ariano MA., Sibley DR., & Stell WK., (1993) Localisation of D2 dopamine receptors in vertebrate retina with anti-peptide antibodies. *J Comp Neurol* 331(4): 469 – 481
- Weiler R., Potteck M, He S., & Vaney DI., (2000) Modulation of coupling between retinal horizontal cells by retinoic acid and endogenous dopamine. *Brain Res Rev* 32(1) : 121 - 129
- Williams P., MacVicar B., & Pittman Q., (1990) Synaptic modulation by dopamine of calcium currents in rat pars intermedia. *J Neuroscience* 10 : 757 – 763
- Witkovsky P., & Dearry A., (1992) Functional roles of dopamine in the vertebrate retina *Prog in retinal res* chap 10 p 247-292
- Witkovsky P., Stone S., & Tranchina D., (1989) Photoreceptor to Horizontal cell synaptic transfer in the *Xenopus* retina: modulation by dopamine ligands and a circuit model for interactions or rod and cone inputs. *J. Areuro physiol* 62 : 846 – 881
- Yamada M. and Saito T. (1988) Effects of dopamine on bipolar cells in the carp retina. *Biomed. Res.* 9 Supp 2 : 125-130
- Yang X-L., Tornqvist K. & Dowling J. E., (1988) Modulation of cone horizontal cell activity in the teleost fish retina. I Role of interplexiform cells and dopamine in regulating light responsiveness. *J. Neurosci* 8, 2269 - 2278
- Yonemura D, Kawasaki K., (1979) New approaches to ophthalmic electro diagnosis by retinal oscillatory potential, drugs-induced responses from retinal pigment epithelium and cone potential *Doc Ophtal.* 48 : 163 – 222
- Zigmond, M. J. (1994) Chemical transmission in the brain: homeostatic regulation and its functional implications. Bloom, F., Editor. *Neuroscience: from the molecular to the cognitive.* Elsevier Science B.V.; : 115 – 122