



HAL
open science

Évaluation de l'impact de l'usage régulier de cannabis sur le fonctionnement rétinien par la mesure de l'électrorétinogramme

Thomas Schwitzer

► **To cite this version:**

Thomas Schwitzer. Évaluation de l'impact de l'usage régulier de cannabis sur le fonctionnement rétinien par la mesure de l'électrorétinogramme. Médecine humaine et pathologie. Université de Lorraine, 2016. Français. NNT : 2016LORR0163 . tel-01501693

HAL Id: tel-01501693

<https://theses.hal.science/tel-01501693v1>

Submitted on 4 Apr 2017

HAL is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.



AVERTISSEMENT

Ce document est le fruit d'un long travail approuvé par le jury de soutenance et mis à disposition de l'ensemble de la communauté universitaire élargie.

Il est soumis à la propriété intellectuelle de l'auteur. Ceci implique une obligation de citation et de référencement lors de l'utilisation de ce document.

D'autre part, toute contrefaçon, plagiat, reproduction illicite encourt une poursuite pénale.

Contact : ddoc-theses-contact@univ-lorraine.fr

LIENS

Code de la Propriété Intellectuelle. articles L 122. 4

Code de la Propriété Intellectuelle. articles L 335.2- L 335.10

http://www.cfcopies.com/V2/leg/leg_droi.php

<http://www.culture.gouv.fr/culture/infos-pratiques/droits/protection.htm>



UNIVERSITÉ
DE LORRAINE

Ecole Doctorale BioSE (Biologie-Santé-Environnement)

Thèse

Présentée et soutenue publiquement pour l'obtention du titre de

DOCTEUR DE L'UNIVERSITE DE LORRAINE

Mention : « Sciences de la Vie et de la Santé »

Par Thomas SCHWITZER

**Evaluation de l'impact de l'usage régulier de cannabis sur le fonctionnement rétinien
par la mesure de l'électrorétinogramme**

Le 07 Novembre 2016

Membres du jury :

Présidente :

Madame Karine ANGIOI-DUPREZ

Professeur, Service d'ophtalmologie, CHRU Nancy, Nancy

Rapporteurs :

Monsieur Arthur KALADJIAN

Professeur, Pôle Psychiatrie Adultes, CHRU Reims, Reims

Monsieur Mircea POLOSAN

**Professeur, Pôle Psychiatrie et Neurologie, CHRU Grenoble,
Grenoble**

Examineurs :

Monsieur Raymund SCHWAN

**Professeur, EA 7298 Université de Lorraine, Nancy
Directeur de thèse**

Monsieur Vincent LAPREVOTE

**Docteur, EA 7298 Université de Lorraine, Nancy, Co-directeur
de thèse**

Madame Anne GIERSCH

**Directeur de recherche, INSERM U1114, Université de
Strasbourg, Strasbourg**

Monsieur Frédéric LIMOSIN

**Professeur, Département de Psychiatrie, Hôpital Corentin
Celton, AP-HP, Issy-les-Moulineaux**

Monsieur Benoit TROJAK

**Docteur, Département de Psychiatrie et d'Addictologie, CHU
Dijon, Dijon**

EA 7298, Interactions gènes-risques environnementaux et effets sur la santé (INGRES), Université de Lorraine, Faculté de médecine, 9 avenue de la Forêt de Haye, 54505 Vandœuvre-lès-Nancy, FRANCE
UMR_S 1114, Neuropsychologie cognitive et physiopathologie de la schizophrénie, Clinique Psychiatrique, Hôpital civil de Strasbourg, 1 place de l'hôpital, 67 000 Strasbourg, FRANCE

REMERCIEMENTS

A mon jury,

Vous me faites l'honneur d'évaluer ce travail de thèse. Veuillez trouver ici le témoignage de toute ma reconnaissance et de mon profond respect.

A Monsieur le Professeur Raymund Schwan,

Je n'oublierai jamais notre rencontre, il y a déjà quelques années lors du séminaire de première année. Depuis, vous m'avez permis de partager tant d'expériences scientifiques et cliniques toutes aussi riches les unes que les autres et qui m'ont apporté tant de plaisir et de passion. Je vous exprime ici toute ma reconnaissance et mon plus grand respect, je vous remercie pour votre soutien sans faille, vos nombreux encouragements et toute la confiance que vous me témoignez. J'espère poursuivre cette très belle histoire longtemps à vos côtés.

A Monsieur le Docteur Vincent Laprévote,

Je te suis infiniment reconnaissant pour tout ce que tu m'as transmis pendant toutes ces années, tes grandes qualités scientifiques dont j'ai essayé de m'inspirer. J'ai tant appris à tes côtés. Merci pour ton encadrement sans faille, toujours au plus proche de ce travail mais aussi pour ta gentillesse, ton écoute et ta grande disponibilité (je sais, je me répète ☺). Je garderai également toujours en tête ta philosophie et tes nombreuses citations : "retina rules the world" ☺

A Madame le Docteur Anne Giersch,

Malgré la distance, vous avez été très proche de ce travail, en portant un œil toujours bienveillant et pertinent sur l'avancement de nos réflexions. Vos remarques ont toujours été décisives pour nos travaux. Merci aussi pour votre grande gentillesse, votre disponibilité et pour les opportunités que vous m'avez données.

A Madame le Professeur Karine Angioi-Duprez,

Je vous adresse toute ma reconnaissance pour m'avoir ouvert les portes de votre spécialité et de votre service. Merci de m'avoir toujours réservé un accueil chaleureux. Vos qualités humaines et scientifiques ont toujours été un exemple et vos conseils importants pour moi.

*À Floriane,
Ma bibiche, Mon ptimachin, Ma carcasse*

Que le temps est passé depuis la 2^{nde} 9 où l'on n'aurait jamais pensé en arriver là, alors que tout le reste est resté. Pour ton amour sans faille, ta patience, ta gentillesse, ton soutien et toutes tes précieuses et nombreuses relectures (en français bien sûr) ainsi que ta connaissance approfondie des logiciels informatiques. Merci de m'avoir permis de réaliser ce travail et de m'avoir soutenu.

À mes parents,

Vous m'avez toujours encouragé à faire de longues études et m'en avez donné la possibilité. Merci de m'avoir transmis toutes les valeurs nécessaires à la réalisation de ce travail.

A mon frère Mathias et à Alexandra,

A tous mes collègues pour tout ce qu'ils m'ont appris et pour leur accueil à chaque fois chaleureux.

A ceux d'Archambault : aux deux Karine, Anne-Claire, Matthieu, Sandra, Adélie, Frédéric, et aux Drs Myriam Tadri et Pénélope Favier pour leur accueil chaleureux, leur bienveillance, leur bonne humeur mais surtout pour les connaissances spécifiques qu'elles m'ont enseignées.

A ceux de l'unité A : Stéphanie, Camille, Aurélie, Laëtitia, Marie, Stéphanie, Gilles, Thibault, Mélanie, Didier, Benoit, Véronique pour leur accueil dans ce nouvel univers pas si terrible.

A ceux de l'unité C : Estelle, Mélanie, Brigitte, Nadine, Diana, Marielle, Jean-Charles, Anne et en particulier au Dr Jérôme Lerond pour toutes les connaissances qu'il m'aura enseignées, pour sa gentillesse et pour la confiance qu'il m'a témoignée et l'autonomie qu'il m'a donnée.

A ceux de l'unité 2 : Véronique, Valérie, Claude, Séverine, Sandrine, Adrien, Audrey et bien sûr au Dr Karima Zaghzi qui pendant un an m'aura permis, sous son regard bienveillant, de parfaire mon autonomie et d'approfondir ma pratique.

A ceux de Ravenel : Guillaume, Gaylor, Elise, Fred....

A ceux de causa map : Maxence, Florent, Eve, Coline, Anne-Laure, Laura, Julien....

A tous mes amis pour toutes les soirées qui ont permis de se changer les idées.

A Joffrey, Fréd, Maxime, Florent, François, Natacha, Catherine, Margaud, Aline, Pauline, Rémi, Elsa, Pauline, Fred, Nico, Pierre, Julien, Sophie, Julien, Solène, Greg....

TABLE DES MATIERES

| | |
|--|------------|
| PREAMBULE | 13 |
| <u>LISTE DES PUBLICATIONS ET ACTES DE CONGRES EN RAPPORT AVEC CE TRAVAIL DE THESE</u> | 16 |
| 1. ARTICLES PUBLIES DANS DES REVUES A COMITE DE LECTURE | 16 |
| 2. ARTICLES SOUMIS, EN REVISION OU EN PREPARATION | 16 |
| 3. COMMUNICATIONS ORALES ET AFFICHEES EN CONFERENCE | 17 |
| <u>I. INTRODUCTION</u> | 19 |
| <u>II. CANNABIS ET SYSTEME ENDOCANNABINOÏDE</u> | 21 |
| 2.1 CANNABIS | 21 |
| 2.1.1 <i>Données épidémiologiques</i> | 21 |
| 2.1.2 <i>Formes et modes de consommation</i> | 24 |
| 2.1.3 <i>Effets immédiats et à long terme</i> | 26 |
| 2.1.4 <i>Troubles de l'usage du cannabis</i> | 30 |
| 2.1.5 <i>Accompagnement thérapeutique</i> | 32 |
| 2.1.6 <i>Cannabinoïdes exogènes</i> | 35 |
| 2.2 LE SYSTEME ENDOCANNABINOÏDE | 37 |
| 2.2.1 <i>Les récepteurs endocannabinoïdes</i> | 37 |
| 2.2.2 <i>Les ligands endocannabinoïdes</i> | 41 |
| 2.2.3 <i>Les enzymes</i> | 44 |
| 2.2.4 <i>Fonctionnement du système cannabinoïde</i> | 45 |
| Article 1. | 50 |
| <i>“The cannabinoid system and visual processing: a review on experimental findings and clinical presumptions”</i> | 50 |
| <u>III. NEURORETINE: STRUCTURE ET FONCTION</u> | 69 |
| 3.1 ARCHITECTURE FONCTIONNELLE RETINIENNE | 69 |
| 3.1.1 <i>Physiologie rétinienne</i> | 69 |
| 3.1.2 <i>Les photorécepteurs</i> | 73 |
| 3.1.3 <i>La phototransduction</i> | 78 |
| 3.1.4 <i>Les cellules bipolaires</i> | 81 |
| 3.1.5 <i>Les cellules ganglionnaires</i> | 83 |
| 3.1.6 <i>Voies rétino-corticales</i> | 85 |
| 3.1.7 <i>Neurotransmission rétinienne</i> | 87 |
| Article 2. | 92 |
| <i>“The endocannabinoid system in the retina: from physiology to practical and therapeutic applications”</i> | 92 |
| 3.2 MESURES ANATOMIQUES | 108 |
| 3.2.1 <i>Tomographie par cohérence optique</i> | 108 |
| 3.3 MESURES FONCTIONNELLES | 112 |
| 3.3.1 <i>Electrorétinogramme pattern</i> | 113 |

| | |
|---|------------|
| 3.3.2 Electrorétinogramme flash | 115 |
| 3.3.3 Electrorétinogramme ON-OFF | 120 |
| 3.3.4 Electrorétinogramme multifocal | 122 |
| 3.3.5 Electrooculogramme | 128 |
| IV. PROBLEMATIQUE | 131 |
| <hr/> | |
| V. DE L'INTERET DES EXPLORATIONS RETINIENNES EN SANTE MENTALE AUX ALTERATIONS RETINIENNES CHEZ LES CONSOMMATEURS DE CANNABIS | 135 |
| <hr/> | |
| 5.1 INTERET DES MESURES ELECTROPHYSIOLOGIQUES RETINIENNES | 135 |
| Article 3. | 137 |
| “The emerging field of retinal electrophysiological measurements in psychiatric research: A review of the findings and the perspectives in major depressive disorder” | 137 |
| Article 4. | 149 |
| “Commentary: Anatomical constitution of sense organs as a marker of mental disorders” | 149 |
| 5.2 MODIFICATIONS FONCTIONNELLES ET ARCHITECTURALES CHEZ LES CONSOMMATEURS DE CANNABIS | 155 |
| Article 5. | 156 |
| “Transient retinal dysfunctions after acute cannabis use” | 156 |
| Article 6. | 165 |
| “Diagnostic and Therapeutic Challenges. Mysterious blebs” | 165 |
| Article 7. | 176 |
| “When cannabis strikes the retina: Ganglion cells dysfunctions in regular cannabis users” | 176 |
| Autres anomalies de la fonction rétinienne chez les usagers réguliers de cannabis | 207 |
| VI. DISCUSSION GENERALE | 235 |
| <hr/> | |
| 6.1 SYNTHESE DES RESULTATS | 235 |
| 6.2 PERSPECTIVES | 244 |
| VII. CONCLUSION | 254 |
| <hr/> | |
| VIII. ANNEXES | 256 |
| <hr/> | |
| Annexe 1 : Autre publication en lien avec le travail de thèse | 256 |
| Annexe 2 : Méthodologie de l'étude Causa Map | 259 |
| IX. BIBLIOGRAPHIE | 265 |
| <hr/> | |

PREAMBULE

Cette thèse a été rédigée selon un format qui pourra peut-être surprendre et c'est pour cette raison que je tenais à en donner les motivations dans ces premières lignes. Bien qu'il soit rare mais reconnu des instances universitaires, ce format dit « thèse sur article » présente aussi bien des revues de littérature que des articles originaux, des cas cliniques ou des commentaires. En raison du caractère émergent et peu diffusé du sujet de cette thèse, nous avons dû dans un premier temps rassembler les données de la littérature que nous avons publiées sous forme de plusieurs revues de littérature. Le corpus de publication présenté ici traduit donc la démarche scientifique que nous avons suivie tout au long de ce travail et qui présente une cohérence propre que cette thèse nous permet de reproduire ici. Ce format traduit également l'investissement, la passion et la curiosité présents tout au long de ce travail, qui ont amené au large choix méthodologique utilisé pour l'investigation et l'exploration mais également pour la diffusion des connaissances. Afin que ce travail soit le plus fluide possible, je me suis attaché à présenter chacun des différents articles par ses points forts ainsi que le cheminement de nos réflexions. La psychiatrie est une discipline éminemment clinique et transdisciplinaire qui sollicite des connaissances philosophiques, psychologiques, médicales et neuroscientifiques. Le sujet de cette thèse s'inscrit dans le domaine des neurosciences aux confins de la psychiatrie, de l'ophtalmologie et de la neurologie. Ce travail de thèse a d'abord consisté en une synthèse des connaissances théoriques portant sur les mécanismes physiopathologiques sous-jacents aux effets du cannabis sur la fonction visuelle puis sur les techniques d'exploration électrophysiologiques rétiniennes pertinentes pour la recherche en santé mentale. Ces données nous ont permis d'orienter les protocoles utilisés et de valider les hypothèses physiopathologiques. Au fur et à mesure de l'avancée de nos réflexions, ces travaux ont fait l'objet de publications ou de communications scientifiques qui sont présentées telles qu'elles ont été publiées dans cette thèse, dont la plupart ont été réalisées en étroite

collaboration avec des ophtalmologues et des neuroscientifiques, montrant le caractère transdisciplinaire de ce travail.

LISTE DES PUBLICATIONS ET ACTES DE CONGRES EN RAPPORT AVEC CE TRAVAIL DE THESE

1. ARTICLES PUBLIÉS DANS DES REVUES A COMITÉ DE LECTURE

1. Schwitzer T, Robert MP, Giersch A, Angioi-Duprez K, Ingster-Moati I, Pon-Monnier A, Schwan R, Laprevote V. Transient retinal dysfunctions after acute cannabis use. *Eur Addict Res.* 2016 Jul 5;22(6):287-291.
2. Schwitzer T, Schwan R, Angioi-Duprez K, Ingster-Moati I, Lalanne L, Giersch A, et al. The cannabinoid system and visual processing: A review on experimental findings and clinical presumptions. *Eur Neuropsychopharmacol J Eur Coll Neuropsychopharmacol.* janv 2015;25(1):100-12.
3. Schwitzer T, Lavoie J, Giersch A, Schwan R, Laprevote V. The emerging field of retinal electrophysiological measurements in psychiatric research: A review of the findings and the perspectives in major depressive disorder. *J Psychiatr Res.* 10 sept 2015;70:113-20.
4. Schwitzer T, Schwan R, Angioi-Duprez K, Giersch A, Laprevote V. The Endocannabinoid System in the Retina: From Physiology to Practical and Therapeutic Applications. *Neural Plast.* 2016;2016:2916732.
5. Schwitzer T, Schwan R, Bernardin F, Jeantet C, Angioi-Duprez K, Laprevote V. Commentary: Anatomical constitution of sense organs as a marker of mental disorders. *Front Behav Neurosci.* 2016;10:56.
6. Faure C, Schwitzer T, Hansen C, Randhawa S. Diagnostic and Therapeutic Challenges. *Retina Phila Pa.* 14 mars 2016;
7. Laprevote V, Schwitzer T, Giersch A, Schwan R. Flash electroretinogram and addictive disorders. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry.* 2 janv 2015;56:264.

2. ARTICLES SOUMIS, EN RÉVISION OU EN PRÉPARATION

8. Schwitzer, T., Schwan, R., Albuissou, E., Giersch, A., Ingster-Moati, I., Lalanne, L., Angioi-Duprez, K., Laprevote, V. When cannabis strikes the retina: ganglion cells dysfunctions in regular cannabis users. Soumis
9. Schwitzer, T., Schwan, R., Giersch, A., Albuissou, E., Angioi-Duprez, K., Laprevote, V. Looking into the brain through the retinal ganglion cells in psychiatric diseases: a review of evidences. *En préparation*

3. COMMUNICATIONS ORALES ET AFFICHÉES EN CONFÉRENCE

1. Schwitzer T, Schwan R, Giersch A, Laprevote V [Orale]. Disrupted retinal function in regular cannabis users. *11th Conference on cognitive neuropsychiatry (NEUREX), 29-31 March 2016, Strasbourg, France.*
2. Schwitzer T, Schwan R, Giersch A, Laprevote V [Poster]. Spectaculaires dysfonctions rétiniennes chez les usagers réguliers de cannabis. *10^e Congrès International de l'Albatros, Paris, 1-3 Juin 2016*
3. Schwitzer T, Schwan R, Giersch A, Laprevote V [Poster]. Retinal anomalies in schizophrenia patients and regular cannabis users: a potential way to a biological marker? *5th Biennial Schizophrenia International Research Society Conference (SIRS), 2-6 April 2016, Florence, Italia.*
4. Schwitzer T, Schwan R, Giersch A, Laprevote V [Poster]. Alterations in retinal processing in regular cannabis users. *24th European congress of Psychiatry (EPA), 12-15 March 2016, Madrid, Spain.*
5. Schwitzer T, Schwan R, Giersch A, Laprevote V [Poster]. The retinal pathways as a model to understand brain damages in cannabis users. *28th European congress of NeuroPsychoPharmacology (ECNP), 29-01 September 2015, Amsterdam, The Netherlands. European Neuropsychopharmacology, Volume 25, Supplement 2, September 2015, Pages S347-S348.*
6. Schwitzer T, Giersch A, Schwan R, Angioi K, Ingster-Moati I, Laprevote V [Poster]. Anomalies de la fonction rétinienne chez les usagers réguliers de cannabis. *13^e Congrès de l'Encéphale, 21-23 Janvier 2015, Paris, France.*
7. Schwitzer T, Ingster-Moati I, Angioi K, Giersch A, Schwan R, Laprevote V [Poster]. Impaired retinal processing in regular cannabis users: potential benefit of electroretinogram as a biomarker. *6^e Congrès Français de Psychiatrie, 26-29 Novembre 2014, Nantes, France. European Psychiatry, Volume 29, Issue 8, Supplement, November 2014, Pages 529-530*
8. Schwitzer T, Angioi K, Ingster-Moati I, Giersch A, Schwan R, Laprevote V [Poster]. L'électrorétinogramme comme un possible marqueur des dysfonctions rétiniennes chez les usagers de cannabis. *8^e Congrès International de l'Albatros, 5-6 Juin 2014, Paris, France.*

I. INTRODUCTION

Une des difficultés majeures actuelles dans les domaines de la clinique et de la recherche en psychiatrie et en neurosciences est la difficulté d'accéder au fonctionnement du cerveau. Il existe donc un besoin de développer de nouvelles approches permettant d'étudier d'une manière indirecte les fonctions neurologiques et les mécanismes cérébraux impliqués dans l'apparition des troubles psychiatriques et addictifs (1–5). Dans les dernières décennies, il y a eu un effort important qui a été réalisé dans la recherche en psychiatrie pour permettre le développement de marqueurs biologiques et fonctionnels à la fois utiles comme aides diagnostiques et thérapeutiques mais également comme méthodes d'approche de la pathogénèse des maladies mentales ou permettant un dépistage précoce (6–18).

Dans ce contexte, la fonction visuelle, et plus particulièrement la fonction rétinienne, apparaît comme une mesure indirecte pertinente du fonctionnement cérébral car la rétine est une extension anatomique et développementale du système nerveux central. Les sections suivantes décrivent les principales données de la littérature concernant le cannabis et le système cannabinoïde ; la rétine et son implication dans les premiers stades du traitement de l'information visuelle, le fonctionnement des cellules rétiniennes ainsi que les principales mesures disponibles pour étudier leurs propriétés anatomiques et fonctionnelles. Ensuite, la problématique est présentée, puis les parties suivantes présentent la pertinence de l'étude de la fonction rétinienne en santé mentale et les principales anomalies structurales et fonctionnelles détectées chez les consommateurs de cannabis. Enfin, une discussion générale permettra de mettre en perspectives les principaux résultats qui y sont synthétisés avec les données actuelles de la littérature et d'évoquer les perspectives pour les travaux futurs. La conclusion tirera les enseignements de ce travail.

II. CANNABIS ET SYSTÈME ENDOCANNABINOÏDE

2.1 CANNABIS

2.1.1 Données épidémiologiques

Le cannabis figure parmi les substances addictives les plus répandues dans les pays industrialisés (19,20). Aux Etats-Unis, la prévalence sur la durée de vie de la consommation de cannabis est estimée à 42% et la prévalence sur l'année précédant l'étude est évaluée à 21,5% (19). En Europe, environ 75,5 millions de personnes âgées de 15 à 64 ans ont rapporté avoir déjà fumé du cannabis au moins une fois dans leur vie et 23 millions d'européens ont utilisé le cannabis dans l'année précédent l'étude (20). En France, pays qui se situe en tête des pays européens concernant la consommation de cannabis au cours du mois écoulé, le cannabis représente avec le tabac et l'alcool, une des substances psycho-actives les plus consommées (20–22). Parmi les 11-75 ans, si l'on prend les chiffres estimés sur une année (pour 2010), il y aurait 13,4 millions d'expérimentateurs de cannabis en France dont 3,8 millions seraient des usagers dans l'année, 1,2 million des consommateurs réguliers et 550 000 des consommateurs quotidiens (21). Les hommes sont plus représentés que les femmes avec un sex-ratio à 2,6 hommes pour 1 femme et les consommateurs ont principalement entre 15 et 30 ans et sont également répartis entre les tranches d'âge 15-20, 21-24 et 25-29 ans (22).

Néanmoins, les consommations sont très aléatoires entre les consommateurs, notamment concernant la quantité consommée qui peut varier de quelques joints à plusieurs dizaines de joints par semaine (données françaises) (23). Ainsi, près de 850 000 personnes consommeraient du cannabis dix fois ou plus dans le mois et 450 000 en consommeraient quotidiennement (23). La majorité des consommateurs, environ 60%, consomment du cannabis tous les jours et moins de 10 % d'entre eux n'en consomment qu'une à deux fois par semaine (23). Il est important d'évaluer les consommations en séparant celles ayant lieu la

semaine de celles ayant lieu le week-end car les circonstances de consommation sont différentes. En fin de semaine, le nombre de joints consommés augmente en raison du temps libre plus important, d'un nombre plus grand d'occasions et de la diminution des contraintes. Néanmoins, cette consommation de fin de semaine reste proportionnelle à la consommation de la semaine qui est multipliée par deux ou par trois le weekend. De plus, les consommateurs réguliers fument également davantage en soirée, la nuit et de manière festive. Les consommations de cannabis s'inscrivent donc principalement dans des moments conviviaux entre amis, même si elles peuvent également se faire lors de moments seuls. Les lieux privilégiés restent le domicile, les lieux festifs et la rue pour les consommations épisodiques mais également, en proportion moindre, pendant des moments de travail ou d'études (23).

L'usage régulier de cannabis concerne essentiellement les populations adolescentes ou adultes jeunes (21–23) avec l'âge moyen de début des consommations de cannabis aux alentours de 15,6 ans chez les consommateurs réguliers, qui ont commencé à consommer plus tôt que les consommateurs occasionnels (22,23). Les populations particulièrement concernées par le cannabis sont donc les lycéens et à moindre échelle les collégiens (24,25). En effet, le lycée et le collège représentent des lieux où l'adolescent passe la majorité de son temps et où il va faire ses premières expériences. Cela concerne aussi le cannabis. En effet, un lycéen sur deux affirme avoir déjà fumé du cannabis, les garçons plus que les filles même si les proportions restent à peu près identiques (51% contre 46%) (24). Le passage du collège au lycée constitue une étape cruciale dans les premières expérimentations du cannabis et dans la phase d'initiation des consommations de cannabis. 41 % des élèves ont déjà expérimenté le cannabis en seconde contre 24 % en troisième, soit quasiment deux fois plus (24,25). Néanmoins, si les consommations restent marginales de la 6^{ème} à la 4^{ème}, elles commencent à

s'accroître à partir de la classe de 3^{ème} où un adolescent sur quatre déclare avoir consommé du cannabis (25). Ces données sont importantes puisqu'elles peuvent permettre à ces populations à risque de bénéficier de campagnes de prévention et/ou de soins.

Les consommations de cannabis représentent un problème grave de santé publique qui peut être à l'origine de conséquences sanitaires et de décès. Ces risques sont majorés par la perception qu'ont les usagers du cannabis. En effet, alors que l'héroïne, la cocaïne, l'ecstasy, ou les champignons hallucinogènes sont perçus comme dangereux en cas de consommations isolées ou dès la première consommation, le cannabis, tout comme le tabac et l'alcool, ne sont considérés comme dangereux que lorsque l'usage est quotidien ou pluriquotidien (23). De ce fait, plus d'1 consommateur régulier de cannabis sur 5 considère que le cannabis n'est jamais dangereux (23). De plus, le nombre de personnes prises en charge pour des consommations problématiques de cannabis augmente fortement depuis les années 2000. Environ 40 000 personnes sont reçues en consultation pour un trouble de l'usage du cannabis chaque année en France (21). Par ailleurs, le cannabis peut être également responsable de décès, notamment lors d'accidents de la route intervenus sous l'emprise du cannabis. On estime qu'environ 200 décès par an sont dus à des accidents de la route et sont liés à l'usage de cannabis et que la conduite sous l'influence du cannabis augmenterait de 1,8 % le risque d'être responsable d'un accident mortel de la route (21).

Le cannabis est une drogue largement répandue, notamment chez les populations adolescentes ou adultes jeunes. C'est une substance qui bénéficie de différentes formes pour la consommation ainsi que de plusieurs modes de consommation. Ces éléments sont importants à considérer puisqu'ils vont influencer les effets et les dommages produits par les consommations de cannabis.

2.1.2 Formes et modes de consommation

L'herbe, la résine et l'huile de cannabis représentent les trois modes principaux de consommation du cannabis. L'herbe (marijuana, ganja, beuh) est un mélange séché de feuilles, de tiges et d'extrémités résineuses des plants femelles. En France et dans la plupart des pays européens, elle se fume généralement avec du tabac, roulés en cigarettes coniques (appelées joints ou pétards) (22,23). La résine (haschisch, hasch, shit, chichon) est, quant à elle, obtenue à partir des extrémités résineuses fleuries de la plante, obtenue par pressage. Elle peut se trouver sous formes différentes de plaques compressées de couleur verte, brune ou jaune selon les régions de production comme la barrette, les boulettes ou briques. Elle se fume également sous forme de joint associé généralement avec du tabac (22,23). Un autre mode de consommation moins connu et moins répandu est l'huile de cannabis qui se présente sous la forme d'un liquide noirâtre, gras et onctueux. Une macération de haschisch et d'alcool permet de l'obtenir. Très concentrée en principes actifs, son utilisation reste rare en France (22,23). Le taux de THC moyen contenu dans la résine se situe actuellement aux alentours de 10 % (contre 7 % en 2000), et peut parfois être bien supérieur et atteindre 30 % (23). Le taux de THC retrouvé dans l'herbe de cannabis est beaucoup plus difficile à analyser en raison de la différence entre les plantes, les modes de culture, les types de culture, la fraîcheur de la plante et son patrimoine génétique. En moyenne, il est compris entre 7 et 10 % et peut atteindre également 30 % (23).

Les principales voies de consommation sont l'inhalation et la voie orale, mangé ou bu (22,23). Ces dernières restent très marginales et épisodiques. Les choix des modes de consommation s'orientent par la quantité de cannabis disponible et par les sensations de goût et d'arômes recherchés. A côté du mode de consommation traditionnel par inhalation, qui est

celui du joint, il existe un mode de consommation par pipe à eau ou bang. Il s'agit dans la plupart des cas d'une bouteille plastique remplie d'eau au tiers. Dans celle-ci est percé un orifice d'où sort un tuyau dont une extrémité va au fond de la bouteille et l'autre est reliée à une douille constituant l'endroit où le mélange tabac-cannabis est stocké. Les effets obtenus avec ce système sont plus impressionnants et plus puissants. 1/3 des consommateurs de cannabis en ont eu recours au cours du mois écoulé (23). Le cannabis, quand il est consommé par voie orale, est préparé et intégré dans un aliment ou une boisson. L'aliment le plus répandu est le space cake, qui est un gâteau qui comprend du cannabis (23). La voie orale procure plus d'effets que la voie inhalée car le temps de digestion de l'aliment contenant le THC peut durer plusieurs heures.

Quelque soit la forme ou le mode de consommation du cannabis, les effets immédiats peuvent être différenciés de ceux à long terme. Dans ce travail sont relatés les effets consécutifs à l'inhalation de cannabis qui est le mode de consommation le plus fréquent.

2.1.3 Effets immédiats et à long terme

Les effets immédiats ou à long terme du cannabis sont principalement dus à son principal constituant, le THC (26). Ces effets dépendent directement du dosage en THC du produit cannabique consommé et peuvent être dus à d'autres des constituants qui entrent dans la combustion lorsque le cannabis est fumé, comme le goudron par exemple (27). Enfin, les produits ajoutés au cannabis de façon intentionnelle (produits de coupe, substances psycho-actives) ou involontaire (contaminants : herbicides, moisissures) peuvent également être responsables de manifestations symptomatiques. Le mode de consommation -inhalé ou absorbé par voie orale- et la fréquence des consommations -usage occasionnel, régulier ou quotidien-, influent également sur ses effets. De ce fait, on différencie les effets aigus qui sont dus à une consommation épisodique des effets à long terme dus à une imprégnation cannabique et résultants de consommations chroniques (28). En rapport avec le sujet de ce travail, sont décrits ici uniquement les effets psycho-actifs des consommations de cannabis.

Il est souvent rapporté par les consommateurs que le cannabis est consommé à visée anxiolytique pour se détendre mais il est peu reconnu qu'il peut également être responsable d'états anxieux aigus assimilés à de véritables attaques de panique et qualifiés de « Bad Trip » (29). Ces états surviennent généralement lors des premières consommations, apparaissent quelques minutes après celles-ci et durent plusieurs heures. Ils sont de survenue brutale et se caractérisent par une anxiété intense, associée à la peur de devenir fou, de perdre le contrôle ou de mourir. Le sujet a une sensation de danger imminent et est conforté dans cette impression par des symptômes physiques, notamment cardio-vasculaires, tels que les palpitations. Ces états peuvent également induire un syndrome de dépersonnalisation, de déréalisation, une impression irréaliste de l'environnement et une forte angoisse. Une fatigue,

des troubles du sommeil et une humeur dépressive se retrouvent également fréquemment associés. Ces signes sont spontanément résolutifs mais présentent le risque de se pérenniser dans le temps avec le développement de troubles anxieux ou dépressifs ou de passages à l'acte suicidaires (30,31).

Les consommations de cannabis peuvent également entraîner une ivresse cannabique (32), état souvent recherché par les consommateurs. Ce terme décrit un état transitoire pouvant suivre une consommation de cannabis, concerne plus souvent le cannabis fumé et intervient quelques heures après sa prise. Cette ivresse est caractérisée par un état d'euphorie onirique, de bien-être et se conclut le plus souvent par une somnolence. Il peut également entraîner des perturbations neuropsychiques comme la modification des perceptions sensorielles telles que l'hypersensibilité aux bruits, aux odeurs et à la lumière et des distorsions temporelles-spatiales (33). Des troubles attentionnels et mnésiques, une dépersonnalisation, une déréalisation, des hallucinations auditives ou visuelles et un sentiment de persécution peuvent se retrouver. A travers ces distorsions perceptives, le sujet garde contact avec la réalité et a conscience que ces effets sont irréels et attribuables au cannabis. Ces signes peuvent persister pendant un mois après une consommation de cannabis. Néanmoins, il est important de dire qu'en réalité la différenciation des états d'ivresse cannabique et des états psychotiques transitoires est difficile à discerner sur le plan clinique. Certains effets immédiats du cannabis rentrent dans le cadre d'une psychose cannabique (pharmaco-psychose ou intoxication aiguë à forme psychotique). Elle est caractérisée essentiellement par la présence d'idées délirantes de persécution et d'hallucinations qui s'inscrivent dans une profonde instabilité de l'humeur et sont à séparer des distorsions perceptives pouvant constituer les signes immédiats d'une intoxication cannabique.

Les effets à long terme du cannabis sont essentiellement représentés par le risque de troubles mentaux et de dépendance (28). En effet, les consommations régulières de cannabis sont associées à un risque plus important de développer un trouble dépressif ou un trouble anxieux (31) même si la causalité directe n'a pas été établie à ce jour. De plus, les consommations régulières de cannabis sont associées à un risque accru de troubles psychotiques, dont la schizophrénie, dans une sous-population spécifique à risque présentant des facteurs de vulnérabilité (34–37). Quand la maladie est présente, les consommations de cannabis aggravent l'évolution des troubles, et l'exposition au cannabis chez les consommateurs jeunes accélère et déclenche l'entrée dans le processus pathologique (38). Toutes ces causalités sont à considérer avec prudence puisqu'il existe d'autres facteurs associés au développement de troubles mentaux et que certains facteurs sont associés à la fois au risque de consommation de cannabis et au développement de troubles mentaux. Bien que bien moindres que ceux causés par l'usage de tabac, les consommations de cannabis entraînent des phénomènes de dépendance. Il est communément admis que plus les consommations sont débutées précocement et plus elles sont réalisées dans un contexte d'isolement, plus le risque de voir s'installer une dépendance est grande (39). Elle se reconnaît à certains signes qui sont caractéristiques : la tolérance et l'impossibilité de s'abstenir de consommer sont les premiers signes révélateurs de dépendance au cannabis. Les signes de sevrage à l'arrêt peuvent eux aussi témoigner d'une dépendance au cannabis comme l'anxiété, l'irritabilité, la colère, l'agressivité, l'agitation, les troubles du sommeil, les nausées et les troubles de l'appétit avec une perte de poids (40). La survenue de ces symptômes intervient quelques jours après l'arrêt du cannabis et ils peuvent durer plusieurs semaines. Plus la fréquence des consommations de cannabis est grande, plus leur probabilité de survenue est importante. De plus, les consommations régulières réalisées tôt augmentent le

risque de dépendance au cannabis et celui de la consommation d'autres substances psychoactives (41).

Enfin, même si ce n'est pas une entité clinique distincte dans la nosographie, le syndrome amotivationnel peut être observé chez les consommateurs réguliers et fait suite à un usage chronique et prolongé de cannabis (42). Il correspond à une perte d'envie pour les choses de la vie quotidienne et à une apathie. L'activité du consommateur est alors diminuée et il ressent une perte d'énergie, une grande fatigabilité que ce soit psychique ou physique, un effacement des affects et des troubles de la concentration et de la mémoire. Le sujet est passif et désintéressé pour les activités quotidiennes qu'elles soient professionnelles, scolaires ou personnelles. De ce fait, l'isolement social du sujet est de plus en plus prégnant, ce qui ne fait que renforcer les troubles.

En dehors des effets des consommations de cannabis, les consommateurs peuvent présenter des troubles de l'usage du cannabis, véritables entités nosographiques et diagnostiques.

2.1.4 Troubles de l'usage du cannabis

En dehors des consommations de cannabis qui ne constituent pas un trouble psychiatrique ni addictologique, la nouvelle version du Manuel Diagnostique et Statistique des troubles mentaux (DSM), actuellement la cinquième édition (DSM-5) propose une classification pour les troubles liés au cannabis (43). Celle-ci est divisée selon les parties suivantes : trouble de l'usage du cannabis, intoxication au cannabis, sevrage au cannabis, autres troubles induits par le cannabis et trouble non spécifique lié au cannabis. Nous traiterons ici uniquement des troubles de l'usage du cannabis. Selon le DSM-5, les critères diagnostiques sont :

A. Mode d'usage problématique du cannabis conduisant à une altération du fonctionnement ou une souffrance cliniquement significative, caractérisé par la présence d'au moins 2 des manifestations suivantes, durant une période de 12 mois :

1. Le cannabis est souvent pris en plus grande quantité ou sur une période de temps plus longue que prévue initialement.
2. Il existe un désir persistant ou des efforts infructueux d'arrêter ou de contrôler l'usage du cannabis.
3. Une grande partie du temps est dédiée aux activités nécessaires pour obtenir du cannabis, consommer du cannabis ou récupérer des effets du cannabis.
4. Il existe un besoin, un fort désir ou une envie de consommer du cannabis.
5. Des consommations régulières de cannabis sont responsables d'un manquement pour accomplir les principales obligations au travail, à l'école ou à la maison.

6. Il existe une consommation continue de cannabis malgré des problèmes sociaux ou interpersonnels persistants ou récurrents causés ou exacerbés par les effets du cannabis.
7. Les principales activités sociales, professionnelles ou de loisirs sont abandonnées ou diminuées à cause de l'usage du cannabis.
8. Il existe des usages récurrents du cannabis dans des situations où cela est physiquement dangereux.
9. L'usage de cannabis est poursuivi malgré la connaissance d'avoir un problème physique ou psychologique persistant ou récurrent qui est susceptible d'avoir été causé ou exacerbé par le cannabis.
10. Il existe une tolérance définie par l'une ou l'autre des propositions suivantes :
 - a. Un besoin d'augmenter considérablement les quantités de cannabis pour avoir une intoxication ou les mêmes effets.
 - b. Des effets considérablement diminués avec une utilisation continue de la même quantité de cannabis.
11. Il existe un sevrage au cannabis défini par l'une ou l'autre des propositions suivantes :
 - a. Le syndrome de sevrage caractéristique au cannabis
 - b. Le cannabis (ou une substance similaire) est pris pour soulager ou éviter les symptômes de sevrage.

Devant un trouble de l'usage du cannabis, le clinicien peut, malgré l'absence de thérapie médicamenteuse validée, proposer des stratégies thérapeutiques personnalisées et adaptées à chaque patient selon les données actuelles de la littérature.

2.1.5 Accompagnement thérapeutique

Il n'existe, malheureusement, à ce jour, pas de thérapeutique médicamenteuse validée pour l'arrêt du cannabis. Certains traitements médicamenteux peuvent être utilisés dans les troubles de l'usage de cannabis mais leur prescription, ni recommandée ni validée, se fait en dehors des Autorisations de Mise sur le Marché (AMM) (pour une revue, voir (44)). Peu d'essais cliniques randomisés en double aveugle versus placebo ont étudié leur efficacité (44). Parmi ces essais, peu montrent des résultats positifs. La N-acétylcystéine (NAC) pourrait représenter une molécule intéressante (45,46). Selon cette étude, la NAC favoriserait la diminution des consommations de cannabis et l'abstinence au cannabis (45,46). La gabapentine permettrait également une diminution de la consommation de cannabis par rapport au placebo mais serait responsable d'effets secondaires importants (47). Bien d'autres molécules ont été étudiées comme par exemple la fluoxétine qui est bien tolérée mais qui ne montre pas d'efficacité supérieure au placebo (48–50). De la même manière, le divalproate montre des résultats contradictoires sur son efficacité alors que sa tolérance semble être mauvaise en raison d'effets secondaires trop nombreux ou invalidants, conduisant ainsi à une mauvaise observance thérapeutique (51,52). Il apparaît aujourd'hui que ces molécules ne doivent pas être prescrites en pratique courante dans les troubles de l'usage du cannabis mais éventuellement en cas d'échec des thérapies comportementales (pour une revue, voir (44)).

Alors que des traitements de substitution existent pour la dépendance à la nicotine, le traitement de substitution pour le cannabis est une possibilité évoquée dans la littérature (44). Il s'agit d'agonistes cannabinoïdes agissant essentiellement sur les récepteurs cannabinoïdes CB1 et CB2 (5). Une diminution des symptômes de sevrage a été montrée dans les premiers

jours d'abstinence chez les consommateurs réguliers de cannabis après l'administration de différentes doses de dronabinol, un cannabinoïde synthétique (51,53–55). Des cas d'abstinence au cannabis ont même été décrits suite à l'utilisation de dronabinol chez des patients dépendants au cannabis (56). D'autres cannabinoïdes synthétiques, Nabilone et Nabiximols, diminueraient également les symptômes de sevrage au cannabis (57–59). Ces traitements peuvent être des alternatives thérapeutiques intéressantes mais des études supplémentaires sont nécessaires pour mieux juger de leur efficacité sur la diminution des consommations de cannabis et sur l'abstinence au cannabis. Le vaporisateur est également à considérer comme perspective thérapeutique car il contient un liquide qui est chauffé puis vaporisé et peut être utilisé avec du cannabis, dont la préparation qui n'est pas commercialisée, peut être préparée par les usagers. Bien qu'il s'agisse d'une consommation illégale en France, en permettant une consommation à la demande et en maintenant les rituels associés aux consommations, il pourrait permettre d'agir sur la dépendance comportementale et ainsi réduire les consommations (60). L'innocuité ou la dangerosité des produits issus de la vaporisation n'est pas encore clairement établie. Pour la cigarette électronique, il pourrait se former lors de la vaporisation à haute température de très fortes doses de formaldéhyde (61). Le risque cancérigène serait alors supérieur à celui induit par les consommations de cigarettes standards. Néanmoins, les données sont actuellement insuffisantes pour conclure sur leur efficacité et sur leur innocuité.

Les interventions thérapeutiques les plus répandues concernant les troubles de l'usage du cannabis sont essentiellement des interventions comportementales comme les thérapies cognitivo-comportementales, les entretiens motivationnels, la thérapie de soutien, les interventions familiales et la gestion des risques (62).

Les principaux composés à l'origine des effets immédiats et à long terme du cannabis, des troubles de l'usage du cannabis, et desquels sont dérivés certains traitements pharmacologiques comme les traitements de substitution, sont les cannabinoïdes exogènes dont le cannabis est la principale source.

2.1.6 Cannabinoïdes exogènes

Le cannabis est une source naturelle de cannabinoïdes issu d'un genre de plantes comprenant plusieurs espèces (*Cannabis sativa*, *C. indica*, *C. ruderalis*) (63–65). Les cannabinoïdes exogènes sont les constituants terpenophénoliques de la plante de cannabis qui a été utilisée depuis des millénaires pour ses effets psychotropes. Leur concentration varie selon la plante utilisée et sa forme, la zone de production, les éléments de la plante et l'adjonction de produits de coupe. Par exemple, l'herbe de cannabis contient moins de cannabinoïdes que le haschisch. De manière générale, le cannabis contient environ 60 constituants psycho-actifs principaux qui présentent des structures et des propriétés physiques proches ce qui rend leur séparation difficile. C'est pour cette raison, couplée avec le développement de nouvelles techniques de séparation, que le principe actif le Δ^9 -tétrahydrocannabinol (Δ^9 -THC, THC) a été isolé et sa structure élucidée en 1964 (63) et peu après synthétisé (64). Malgré la découverte d'une grande partie des autres constituants du cannabis et de leur structure chimique, le THC reste le principal principe psycho-actif. Un autre composant non psycho-actif majeur du cannabis est le cannabidiol (CBD), qui a été isolé dans les années 1930 et sa structure élucidée en 1963 (65). Parmi beaucoup d'autres effets, le CBD semble avoir des propriétés anti-inflammatoires, de protection des fonctions cognitives et antipsychotiques (66). Les deux composants, THC et CBD, sont principalement présents dans la plante sous la forme de précurseurs carboxyliques (acide THC et acide CBD), qui perdent lentement leur fonction acide quand la plante est en combustion. La part de THC contenue dans les joints est en augmentation constante depuis des décennies augmentant le ratio THC/CBD (67). Cette information est importante puisque le THC pourrait augmenter le risque de troubles psychotiques dans une sous-population spécifique à risque (37) alors que le CBD aurait des propriétés antipsychotiques (68).

Même si le Δ^9 -THC est le plus connu de ses constituants psycho-actifs, il existe également le Δ^8 -THC qui est moins présent et moins actif que le Δ^9 -THC (63). C'est pour cette raison que les effets psycho-actifs sont principalement attribués au Δ^9 -THC (69). Après sa consommation, le Δ^9 -THC est rapidement absorbé et transformé dans le poumon et le foie en 11-hydroxy- Δ^9 -THC, un métabolite actif dans le système nerveux central (70). La pharmacocinétique du cannabis est un processus dynamique qui varie dans le temps et qui peut notamment être influencé par la voie d'administration (orale, inhalation, etc...), la fréquence et la durée de consommation, la forme de la drogue consommée, sa concentration, et dépend, bien entendu, du métabolisme –rapide ou lent- de l'organisme de la personne qui la consomme (71). Les structures du Δ^9 -THC et du CBD sont présentées à la *figure 1*.

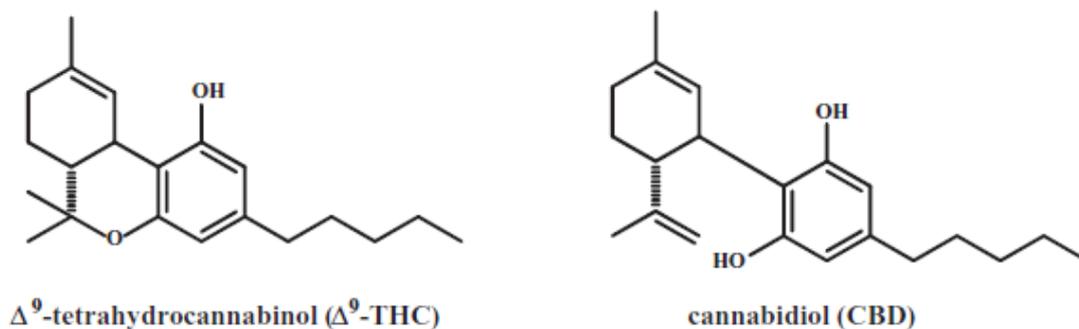


Figure 1 : Structures des deux principaux cannabinoïdes exogènes contenus dans les extraits de plantes consommés : le Δ^9 -tétrahydrocannabinol (Δ^9 -THC, THC) et le cannabidiol (CBD) (tirée de la référence (26))

Les effets des cannabinoïdes exogènes ou exocannabinoïdes sont médiés par un système endocannabinoïde présent chez les mammifères et contenant principalement des récepteurs sur lesquels ils vont agir, des ligands endogènes -les endocannabinoïdes- et des enzymes permettant la synthèse et la dégradation des endocannabinoïdes.

2.2 LE SYSTÈME ENDOCANNABINOÏDE

Alors que le constituant psycho-actif principal du cannabis, le Δ^9 THC, a été isolé au milieu des années 1960, les récepteurs cannabinoïdes CB1 et CB2 et les principaux cannabinoïdes endogènes ont été identifiés une vingtaine d'années plus tard. Le système cannabinoïde endogène ou système endocannabinoïde est composé des récepteurs cannabinoïdes, des ligands endocannabinoïdes et des enzymes responsables de la synthèse et de la dégradation des ligands (72).

2.2.1 Les récepteurs endocannabinoïdes

Les endocannabinoïdes comprennent les récepteurs eicosanoïdes cannabinoïdes, CB1 et CB2, présents dans le cerveau et les tissus périphériques (73,74). Ces deux récepteurs possèdent 44% de leur séquence d'acides aminés identiques (75). Ils appartiennent tous les deux à la super famille des récepteurs couplés aux protéines Gi/o (GPCRs), qui ont 7 replis transmembranaires (récepteurs heptahélices) (76,77). Ils forment une liaison négative avec l'adénylate cyclase et la voie de signalisation de l'AMP cyclique et sont des inducteurs de la cascade des mitogen-activated protein kinases (MAPK, MAP kinases) (78). Ils contiennent un domaine extracellulaire N-terminal qui possède des sites de glycosylation, un domaine C-terminal intracellulaire couplé à un complexe de protéines G et 7 segments hydrophobes transmembranaires connectés par des boucles alternativement intracellulaires et extracellulaires. La présence de récepteurs cannabinoïdes CB1 et CB2 a été décrite dans de nombreuses espèces comme l'homme, le singe, le cochon, le chien, le rat, la souris mais pas chez les insectes.

A l'origine, les récepteurs CB1 semblaient être principalement présents dans le système nerveux central et étaient donc considérés comme les récepteurs cannabinoïdes du cerveau. Il est aujourd'hui admis que les récepteurs CB1 sont présents également dans de nombreux organes périphériques, comme les systèmes cardiovasculaire et reproducteur et le tractus gastro-intestinal, même s'ils y sont présents en faible quantité (79,80). Dans le cerveau, les récepteurs CB1 sont parmi les plus nombreux récepteurs couplés aux protéines G (72). Les plus fortes densités de récepteurs CB1 ont été trouvées dans les ganglions de la base, la substance noire, le globus pallidus, le cervelet, le cortex cérébral, et l'hippocampe chez de nombreuses espèces (77,81-88), ce qui est en accord avec le rôle que jouent ces récepteurs dans la cognition et la motricité. Les récepteurs CB1 sont présents et fonctionnels dans les phases les plus précoces du développement comme les stades embryonnaires, ce qui montre leur rôle dans le développement neuronal (89). Aussi, la distribution des récepteurs CB1 est différente dans le cerveau entre les périodes néonatale et adulte. Ils sont présents en grande quantité dans la substance blanche dans les stades précoces du développement pour n'être présents qu'en petite quantité à l'âge adulte (90). De manière générale, les récepteurs CB1 sont présents au niveau pré-synaptique des neurones centraux et périphériques, ce qui leur permet d'inhiber la libération de neurotransmetteurs, jouant ainsi un des rôles majeurs du système endocannabinoïde dans les organismes de mammifères (91). Ainsi, les récepteurs CB1 ont été retrouvés dans les neurones glutamatergiques et gabaergiques, ce qui suggère leur rôle dans ces neurotransmissions respectives (78). Le locus pour le récepteur CB1 humain a été localisé sur le chromosome 6 à la position 6q14-q15 (92).

A l'origine et à la suite de leur découverte, il a été longtemps pensé que les récepteurs CB2 étaient présents uniquement dans les tissus périphériques et les tissus dérivés du système immunitaire. Leur large distribution à travers le système nerveux central, à des niveaux nettement inférieurs à ceux des CB1, est aujourd'hui admise (93–96), en particulier dans les cellules microgliales (97,98). Comme leur taux dans le système nerveux central ou dans d'autres tissus périphériques augmente lors de mécanismes pathologiques, certains auteurs évoquent la possibilité que les récepteurs CB2 jouent un rôle de neuroprotection par l'intermédiaire d'un système de protection générale dont ils font partie (99). Les récepteurs CB2 sont principalement localisés dans les cellules du système immunitaire et leur fonction principale est la modulation de la libération de cytokines. Par exemple, l'activation par les cannabinoïdes via les récepteurs CB2 des cellules B- et T- entraîne une inhibition de l'adénylate cyclase dans ces cellules ce qui conduit à une réponse immunitaire diminuée (100). En relation avec ces fonctions, ils seraient également impliqués dans le contrôle de la prolifération, de la différenciation, et de la survie des cellules nerveuses et non nerveuses. Ces récepteurs pourraient, dans certaines situations, favoriser un état non-différencié de prolifération cellulaire par l'intermédiaire d'un signal de « dé-différenciation cellulaire » (101). De ce fait, l'expression des récepteurs CB2 est augmentée dans certaines tumeurs, alors que l'activation des CB2 dans de nombreuses cellules cancéreuses neuronales et non neuronales est associée à l'apoptose des cellules et à l'inhibition de la croissance de la tumeur (102,103). Le gène encodant le récepteur CB2 humain est localisé sur le chromosome 1p36 (104).

Il semble aujourd'hui qu'une partie des effets induits par les cannabinoïdes ne soit pas médiée par CB1 ni CB2. Il semble donc exister au moins trois autres récepteurs cannabinoïdes

qui n'appartiendraient ni à la famille des CB1 ni à la famille des CB2 (105). Il existe notamment le récepteur 55 couplé aux protéines G (GPR55) (106).

Les récepteurs cannabinoïdes sont la cible des ligands cannabinoïdes, endogènes et exogènes, dont l'action sur ces récepteurs permet de médier leurs effets.

2.2.2 Les ligands endocannabinoïdes

Après la découverte des récepteurs cannabinoïdes et leur potentielle interaction avec un ligand lipidique exogène contenu dans la plante de cannabis, il a été suggéré la présence de molécules endogènes capables d'interagir avec ces récepteurs, les endocannabinoïdes. Ainsi, deux principaux composants ont été isolés puis identifiés dont le premier est nommé N-arachidonylethanolamide (anandamide, AEA) et le second appelé 2-arachidonoyl glycerol (2-AG) (73,107). La structure de l'anandamide et celle du 2-AG sont présentées *figure 2*. D'autres ligands endogènes capables d'interagir avec les récepteurs cannabinoïdes ont pu être isolés mais leur fonction semble aujourd'hui mineure. Ainsi, le cerveau produit au moins cinq composés messagers lipidiques endocannabinoïdes qui possèdent une affinité pour les récepteurs cannabinoïdes et qui sont donc capables d'interagir avec eux : anandamide, 2-AG, 2-arachidonoyl glyceryl ether (noladin ether), virodhamine, et N-arachidonoyldopamine (NADA). Une fonction commune de ces composants est de diminuer la sensibilité à la douleur.

Les ligands endocannabinoïdes anandamide et 2-AG présentent des caractéristiques propres qui sont différentes de celles de la plupart des neurotransmetteurs comme par exemple la dopamine ou la sérotonine (78). En effet, ils ont une activité biphasique dose-dépendante (108), ne sont pas stockés dans des vésicules mais sont synthétisés au moment et à l'endroit où ils sont utiles. De plus, ils ont une action pré-synaptique prépondérante en régulant la libération de neurotransmetteurs et une action post-synaptique minoritaire. En effet, après sa synthèse post-synaptique, la molécule endocannabinoïde traverse la synapse et active les récepteurs cannabinoïdes pré-synaptiques CB1, ce qui va permettre d'inhiber différents systèmes de neurotransmission excitateurs ou inhibiteurs, dans le cerveau et dans le système

nerveux périphérique. Contrairement au THC qui est métabolisé pendant plusieurs heures puis excrété, les ligands endocannabinoïdes sont rapidement éliminés par un processus de transport membranaire (109). En plus de leur effet pré-synaptique, il semblerait que les agonistes des récepteurs CB1 permettraient la stimulation de la libération de dopamine dans le noyau accumbens par un mécanisme inhibant la libération de glutamate et médié par les récepteurs cannabinoïdes (110).

L'anandamide est le premier cannabinoïde endogène découvert et le plus étudié de tous (73). Il se fixe aux récepteurs CB1 et CB2 (111) mais son affinité pour les récepteurs CB1 est environ quatre fois plus forte que pour les CB2 (112). Les concentrations d'anandamide sont les plus élevées dans l'hippocampe, le cervelet et le cortex, là où sont présents les récepteurs cannabinoïdes CB1 en grande quantité (113). L'anandamide est synthétisé par des neurones post-synaptiques et agit par rétrocontrôle au niveau synaptique, jouant ainsi un rôle de messenger rétrograde, pour réguler la libération de neurotransmetteurs via les récepteurs pré-synaptiques CB1. L'anandamide agit également sur les récepteurs TRPV1 (transient receptor potential vanilloid 1 receptor) avec une affinité relativement faible pour jouer en particulier un rôle de régulation de la fonction cardiovasculaire (114).

2-AG est le second endocannabinoïde identifié comme un ligand naturel pour CB1 et CB2. Il a une affinité plus faible pour les récepteurs CB1 que l'anandamide et pourtant il est présent à des concentrations plus élevées dans le cerveau que l'anandamide. 2-AG est donc considéré comme le premier cannabinoïde endogène dans le cerveau à être un agoniste complet pour les récepteurs CB1 (115). 2-AG est impliqué dans la régulation des fonctions immunitaire et cardiovasculaire, de réponse inflammatoire, de prolifération cellulaire, de développement embryonnaire, de neuroprotection et de neuromodulation (116).

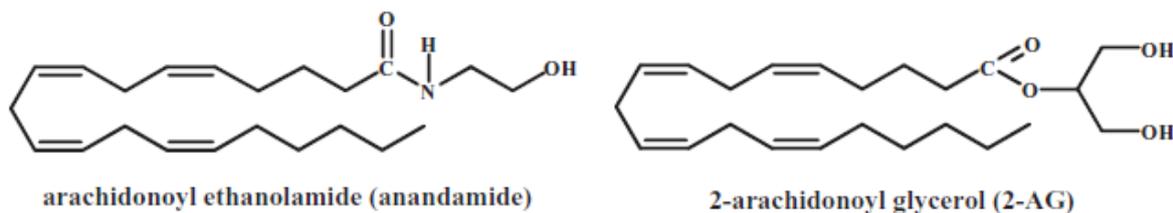


Figure 2 : Structures des deux principaux endocannabinoïdes : N-arachidonylethanolamide (anandamide, AEA) et 2-arachidonoyl glycerol (2-AG) (tirée de la référence (26))

Les autres endocannabinoïdes ont été moins étudiés et leur fonction précise reste à définir de manière plus fine. Le noladin ether a plus d'affinités pour les récepteurs CB1 que pour les récepteurs CB2 (117). La plus forte quantité de cet endocannabinoïde a été détectée dans le thalamus et l'hippocampe (118). Le virodhamide a été identifié dans le cerveau du rat et semble agir comme l'anandamide comme un agoniste partiel des récepteurs cannabinoïdes. Le NADA a été trouvé dans le cerveau des bovins et des rongeurs et agit sur les récepteurs CB1 provoquant des effets cannabimimétiques. Les niveaux les plus élevés de ce composant ont été découverts dans le striatum et l'hippocampe (119).

La synthèse et la dégradation des endocannabinoïdes sont régularisées par des enzymes qui permettent ainsi la régulation de leurs concentrations.

2.2.3 Les enzymes

Les enzymes permettant de réguler les taux d'endocannabinoïdes sont des enzymes de synthèse et de dégradation. L'enzyme permettant la synthèse d'anandamide est la N-acyl phosphatidylethanolamine phospholipase D (NAPE-PLD) (120). Dans la cellule, l'anandamide, qui est extrêmement instable, est hydrolysé par des amidases et notamment par l'enzyme fatty acid amide hydrolase (FAAH) en acide arachidonique et ethanolamine, qui reste le mécanisme principal d'inactivation, et par la N-acylethanolamine-hydrolyzing acid amidase (NAAA) (121). L'utilisation d'inhibiteurs d'amidases peut prévenir l'hydrolyse de l'anandamide (122). La synthèse de 2-AG est permise par deux isoformes de l'enzyme principale diacylglycerol lipase α et β , (DAGL α/β) (123) et l'hydrolyse de 2-AG est réalisée par les enzymes FAAH et monoacylglycérol lipase (MAGL) (124,125). L'inactivation ou la suppression des enzymes de dégradation prolonge l'activité des endocannabinoïdes (126).

Le système cannabinoïde présente plusieurs fonctions de régulation homéostatique dont la principale est la régulation de la libération synaptique de neurotransmetteurs.

2.2.4 Fonctionnement du système cannabinoïde

Les récepteurs CB1 et CB2 sont couplés à des protéines G_i ou G_o , négativement à l'adénylate cyclase et positivement aux MAP kinase (voir paragraphe 2.2.1). Le couplage des récepteurs CB1 à la voie de transduction des protéines G au niveau pré-synaptique stimule les MAP kinase et inhibe l'adénylate cyclase, permettant ainsi de diminuer la production d'AMP cyclique (voir paragraphe 2.2.1). Les récepteurs CB1 sont aussi couplés à des canaux ioniques à travers les protéines G_i/o , positivement au type-A des canaux potassiques et négativement aux type -N et -P/Q des canaux calciques et au type-D des canaux potassiques (127). En raison de la diminution d'AMP cyclique, les protéines kinases dépendantes de l'AMP cyclique (PKA) sont inhibées par l'activation des récepteurs CB1. En l'absence de ligands cannabinoïdes, les PKA phosphorylent les protéines des canaux potassiques, diminuant ainsi les courants potassiques sortants. En présence des cannabinoïdes, la phosphorylation des canaux par les PKA est réduite, ce qui augmente les courants potassiques sortants. Il a donc été suggéré que les cannabinoïdes, par l'intermédiaire de ces mécanismes, régulaient la libération de neurotransmetteurs (voir *figure 3*). L'inhibition des canaux calciques pré-synaptiques par les cannabinoïdes réduit la libération de neurotransmetteurs à partir des récepteurs CB1 terminaux pré-synaptiques (voir *figure 3*). Il a été montré que les cannabinoïdes participaient à l'inhibition de la libération de glutamate (128), d'acétylcholine (129) et de noradrénaline (130), entre autres.

L'inhibition pré-synaptique de la libération de neurotransmetteurs par les cannabinoïdes exogènes comme le THC peut être un mécanisme clé des effets du cannabis sur le système nerveux central. Par exemple, la stimulation d'un neurone glutamatergique induit une libération synaptique de glutamate qui entraîne un influx post-synaptique de calcium par l'intermédiaire des récepteurs post-synaptiques NMDA (37) (voir *figure 3*). Cette augmentation post-synaptique de Ca^{2+} active le processus de renforcement du neurone (37), et en stimulant les récepteurs post-synaptiques métabotropiques au glutamate mGlu, cela entraîne une synthèse post-synaptique d'endocannabinoïdes (voir *figure 3*). A travers les récepteurs pré-synaptiques CB1, les endocannabinoïdes exercent un rôle de régulation sur la libération pré-synaptique de glutamate, ce qui prévient une libération post-synaptique excessive de calcium (37,131). Les cannabinoïdes exogènes comme le THC altèrent la régulation pré-synaptique de la libération de glutamate réalisée par les endocannabinoïdes en bloquant les récepteurs cannabinoïdes CB1 (voir *figure 3*). Cela entraîne un excès dans la libération de Ca^{2+} au niveau post-synaptique et l'accélération des mécanismes d'apoptose de la cellule (37) (voir *figure 3*).

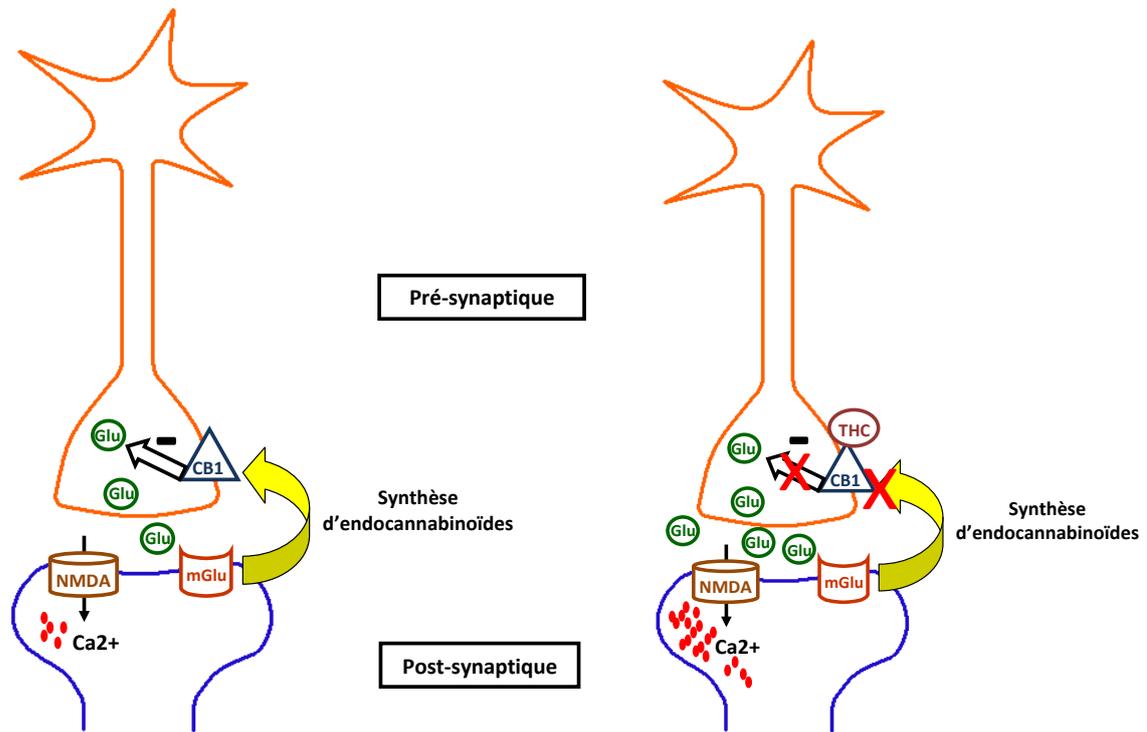


Figure 3 : Rôle du système cannabinoïde dans la régulation de la transmission synaptique d'une synapse glutamatergique (A) et perturbations induites par les cannabinoïdes exogènes (B). (A) La libération synaptique de glutamate (Glu) induit un influx post-synaptique d'ions calciques (Ca²⁺) par l'intermédiaire des récepteurs NMDA, ce qui va stimuler les récepteurs au glutamate (mGlu), entraînant une synthèse post-synaptique d'endocannabinoïdes. Les endocannabinoïdes synthétisés vont réguler, par l'intermédiaire des récepteurs CB1 pré-synaptiques, la synthèse et la libération de glutamate et de ce fait l'excès d'ions calciques au niveau post-synaptique. (B) Le blocage des récepteurs CB1 par le THC inhibe la régulation pré-synaptique de la libération de glutamate entraînant un excès d'ions calciques post-synaptiques et l'apoptose de la cellule.

Les effets du cannabis sur les principales fonctions cognitives de haut niveau comme la mémoire, l'attention et les fonctions exécutives sont bien étudiés mais ceux sur les fonctions sensorielles comme la vision sont encore peu connus.

Article 1.

“The cannabinoid system and visual processing: a review on experimental findings and clinical presumptions”

European Neuropsychopharmacology (2015) 25, 100–112.

Thomas Schwitzer, Raymund Schwan, Karine Angioi-Duprez, Isabelle Ingster-Moati,
Laurence Lalanne, Anne Giersch, Vincent Laprevote

Ce travail de revue de littérature initial a permis de regrouper les données de la littérature disponibles chez l'animal et chez l'homme qui permettent de justifier l'étude de la fonction visuelle chez les consommateurs de cannabis. Il s'est focalisé sur la distribution des cannabinoïdes endogènes, récepteurs et ligands, aux stades critiques du traitement de l'information visuelle -rétine, thalamus et cortex visuel- et sur le rôle fonctionnel joué par les endocannabinoïdes dans le traitement de l'information visuelle à ces stades. Ces données ont été mises en relation avec les anomalies de la perception visuelle qui ont été détectées chez les consommateurs de cannabis. Ces travaux sont rares dans la littérature, montrant ainsi leur importance.

Cette revue montre que les récepteurs et ligands cannabinoïdes sont présents à tous les stades critiques du traitement de l'information visuelle chez l'homme et dans de nombreuses espèces animales, leur permettant ainsi d'avoir un rôle fonctionnel dans le traitement de l'information visuelle.

Elle montre également qu'ils sont impliqués dans la régulation de deux fonctions principales indispensables à la maturation des voies visuelles et au bon déroulement de la vision : la plasticité synaptique et la neurotransmission. Ces données ont été montrées chez l'animal et étant donné l'action du cannabis sur le système nerveux central et en particulier sur la régulation de la libération synaptique de neurotransmetteurs, elles permettent d'envisager des anomalies de la fonction visuelle chez les consommateurs de cannabis.

En accord avec la distribution des endocannabinoïdes dans le système visuel chez l'homme et avec leur rôle dans la régulation de la plasticité synaptique et la libération de neurotransmetteurs, une synthèse des anomalies de la fonction visuelle détectées chez les

consommateurs de cannabis, après un usage aigu ou régulier, est présentée dans cette revue. Ces données sont issues de cas cliniques, d'études cas témoins et rapportent aussi bien des symptômes visuels que des anomalies du traitement de l'information visuelle objectivées par des mesures expérimentales pendant différentes tâches visuelles ou par des mesures objectives d'imagerie ou d'électrophysiologie.

Enfin, au regard de la littérature actuelle, cette revue présente les mesures de la fonction visuelle qui pourraient être pertinentes chez les consommateurs de cannabis et notamment les techniques d'électrophysiologie au niveau cortical par la mesure de potentiels évoqués visuels pendant différentes tâches visuelles et au niveau rétinien par la mesure d'électrorétinogrammes selon les différents protocoles standardisés existants.



REVIEW

The cannabinoid system and visual processing: A review on experimental findings and clinical presumptions



Thomas Schwitzer^{a,b,d,e}, Raymund Schwan^{a,b,c,d},
Karine Angioi-Duprez^f, Isabelle Ingster-Moati^g,
Laurence Lalanne^{h,i}, Anne Giersch^e, Vincent Laprevote^{a,b,c,d,*}

^aEA7298, INGRES, Université de Lorraine, Vandœuvre-lès-Nancy F-54000, France

^bMaison des Addictions, CHU Nancy, Nancy F-54000, France

^cCentre d'Investigation Clinique CIC-INSERM 9501, CHU Nancy, Nancy F-54000, France

^dCentre Psychothérapique de Nancy, Nancy F-54000, France

^eINSERM U1114, Fédération de Médecine Translationnelle de Strasbourg, Département de Psychiatrie, Centre Hospitalier Régional Universitaire de Strasbourg, Strasbourg F-67000, France

^fService d'Ophthalmologie, CHU Nancy, Nancy F-54000, France

^gUniversité Paris 7 Denis Diderot, UFR de Médecine, Paris F-75000, France

^hClinique Psychiatrique, CHRU Strasbourg, FTMS, Strasbourg, F-67000, France

ⁱINSERM U1114, Physiopathologie et Psychopathologie Cognitive de la Schizophrénie, Hôpitaux Universitaires de Strasbourg, Strasbourg F-67000, France

Received 2 June 2014; received in revised form 19 September 2014; accepted 4 November 2014

KEYWORDS

Cannabis;
Endocannabinoid system;
Visual information processing;
Neurotransmission;
Visual dysfunctions;
Driving impairments

Abstract

Cannabis is one of the most prevalent drugs used worldwide. Regular cannabis use is associated with impairments in highly integrative cognitive functions such as memory, attention and executive functions. To date, the cerebral mechanisms of these deficits are still poorly understood. Studying the processing of visual information may offer an innovative and relevant approach to evaluate the cerebral impact of exogenous cannabinoids on the human brain. Furthermore, this knowledge is required to understand the impact of cannabis intake in everyday life, and especially in car drivers. Here we review the role of the endocannabinoids in the functioning of the visual system and the potential involvement of cannabis use in visual dysfunctions. This review describes the presence of the endocannabinoids in the critical stages of visual information processing, and their role in the modulation of visual neurotransmission

*Corresponding author at: Maison des Addictions, CHU Nancy, Hôpital St Julien, 1, rue Foller, Nancy F-54000, France. Tel.: +33 383858385; fax: +33 383852415.

E-mail address: v.laprevote@chu-nancy.fr (V. Laprevote).

and visual synaptic plasticity, thereby enabling them to alter the transmission of the visual signal. We also review several induced visual changes, together with experimental dysfunctions reported in cannabis users. In the discussion, we consider these results in relation to the existing literature. We argue for more involvement of public health research in the study of visual function in cannabis users, especially because cannabis use is implicated in driving impairments.

© 2014 Elsevier B.V. and ECNP. All rights reserved.

1. Introduction

Cannabis use is very widespread in industrialized countries. In the United States, the lifetime prevalence of cannabis use is estimated at 42%, and the prevalence in the year preceding the interview at 21.5% (Deegenhardt et al., 2008). In the European Union, some 75.5 million people aged 15–64 years old report having already smoked cannabis at least once in their lives, and 23 million Europeans used cannabis in the year preceding interview (European Monitoring Centre for Drugs and Drug Addiction, and Publications Office of the European Union, 2010). Regular cannabis use may have long-term health consequences. Part of these effects is comparable to that of tobacco, especially when smoked without a filter, such as bronchopulmonary cancers (Mehra et al., 2006), chronic respiratory diseases (Tetrault et al., 2007), arteritis (Sauvanier et al., 2002) and reproductive disorders (Holt et al., 2005; Vescovi et al., 1992). However, other outcomes are more directly linked to cannabis itself, such as psychiatric and cognitive effects. For example, higher risk of developing schizophrenia is correlated with cannabis use (Casadio et al., 2011; Moore et al., 2007). In a recent cohort study, 20 years of regular cannabis use was found to result in a significant intelligence quotient (IQ) decrease and major impairment in executive functions and processing speed (Meier et al., 2012). More specifically, the best-documented cognitive impairments due to regular cannabis use involve executive functions (Bolla et al., 2002; Pattij et al., 2008; Verdejo-García et al., 2006), memory (Bolla et al., 2002; Solowij and Battisti, 2008), and attention (Solowij et al., 1995). Studying the impact of cannabis use on these cognitive functions is particularly relevant from a clinical point of view. However, the precise neural mechanisms underlying impairments due to cannabis use, in particular those in cognitive functions critical for car driving, are still being debated. Consequently, modeling the effects of exogenous cannabinoids on the human brain on this basis is problematic because these high-level cognitive functions are tightly integrated and involve many brain areas (Aggleton, 2014; Funahashi and Andreau, 2013; Somers and Sheremata, 2013).

Low-level vision may therefore be a good candidate for conceptualizing the neural impact of regular cannabis use for several reasons. Despite the evolution of mammals, the visual function displays good preservation of functional and anatomical characteristics across species (Yoon et al., 2013), thus allowing the translation of findings between animals and humans. A broad range of techniques - electrophysiological, imaging and pharmacological - can be used alone or coupled to

each other to study anatomical details and physiological or molecular mechanisms of the visual system (Disney et al., 2007; Katzner et al., 2011). For example, pharmacological modulation of gabaergic and glutamatergic receptors by the administration of agonists or antagonists may be useful techniques. In the human being, studying the earliest stages of visual processing, for example at the retina level, has the advantage of being less sensitive to attentional variation during experimental measurements, thus eliminating the bias of nonspecific generalized attentional deficit, which is difficult to control (Knight and Silverstein, 2001). Besides this fundamental question, and considering that the visual function seems to be altered in cannabis users, it is now crucial to obtain more insight on how cannabis use may change visual perception, especially given the pervasive role of vision in human everyday life. For example, cannabis users drive, and so we need to know whether or not regular intake of cannabis affects the visual ability of drivers.

This review looks at the involvement of the endocannabinoid system in visual processing, and whether exogenous cannabinoids may affect visual function. We review human and animal studies that have examined the distribution of cannabinoid receptors and ligands, together with those that have investigated the involvement of the cannabinoid system in neurotransmission and synaptic plasticity of visual information processing. We also review studies that have shown visual changes and experimental visual dysfunctions following both acute and chronic cannabis use. These results are discussed on the basis of the existing data in the literature. Since cannabis constitutes the most prevalent illicit drug implicated in road fatalities, we also argue for more involvement of public health research in the study of visual function among cannabis users (Hartman and Huestis, 2013).

2. Experimental procedures

A search for relevant articles was conducted in the Pubmed and Google Scholar databases using the following keywords ("CANNABIS" OR "CANNABINOID" OR "MARIJUANA" OR "THC") AND ("VISION" OR "VISUAL PROCESSING" OR "VISUAL SYSTEM" OR "VISUAL CORTEX" OR "RETINAL PROCESSING" OR "RETINA" OR "THALAMUS"). All results up to February 28, 2014 were examined for the selection process. Relevant publications were chosen through an individual independent selection of titles by three authors (TS, VL, RS). The articles selected had to be written in English and be related to the topic of the review. Additionally, a manual search was performed on the bibliography of each selected article.

3. Cannabis and the endocannabinoid system

3.1. Main psychoactive components

The psychotropic effects of *Cannabis sativa* L. are mediated by two major compounds: Δ^9 -tetrahydrocannabinol (THC) (Gaoni and Mechoulam, 1964; Mechoulam et al., 1967) and cannabidiol (CBD) (Mechoulam and Shvo, 1963). The concentration of THC contained in cannabis consumed has been constantly increasing since the 1960s, raising the ratio of THC to CBD (Potter et al., 2008). THC may increase the risk of psychotic disorders in a specific high-risk population (Bossong and Niesink, 2010), whereas recent findings suggest that CBD may have antipsychotic properties (Schubart et al., 2014).

3.2. Receptors

Cannabinoid compounds are mainly active on CB1 and CB2 receptors (Devane et al., 1988; Herkenham et al., 1990; Howlett et al., 1986; Matsuda et al., 1990; Munro et al., 1993). CB1 receptors are predominantly expressed in the mammalian central nervous system (CNS), with a higher density in basal ganglia, hippocampus, cerebellum and cerebral cortices, correlated with the motor and cognitive regions of the brain (Glass et al., 1997; Herkenham et al., 1991, 1990; Hohmann and Herkenham, 1999; Mailleux et al., 1992; Moldrich and Wenger, 2000; Tsou et al., 1998; Westlake et al., 1994). CB2 receptors are mainly detected in the peripheral and immune tissues (Berdyshev, 2000; Munro

et al., 1993; Sugiura and Waku, 2000; Wilson and Nicoll, 2001), but it appears that CB2 receptors also have a functional presence in the CNS at a lower level than CB1 receptors (Ashton et al., 2006; Gong et al., 2006; Lu et al., 2000; Onaivi et al., 2006, 2008; Ross et al., 2001; Van Sickle, 2005).

3.3. Main endocannabinoids

In mammals, two main compounds act on endocannabinoid receptors: *N*-arachidonylethanolamine (anandamide, AEA) and 2-arachidonoylglycerol (2-AG) (Devane et al., 1992; Mechoulam and Hanus, 2000). Anandamide is involved post-synaptically through CB1 and CB2 receptors as a retrograde messenger to modulate the release of neurotransmitters (Egertová and Elphick, 2000; Glass and Northup, 1999), and expresses more affinity for CB1 than CB2 receptors (Felder et al., 1995). 2-AG acts pre-synaptically and has more affinity for CB1 receptors (Hanus et al., 2001; Marzo et al., 2004; Sugiura and Waku, 2000). Recent findings have shown that 2-AG is more readily detected in the brain than anandamide, and that it exerts less affinity for CB1 receptors than anandamide (Chevalleyre et al., 2006). In goldfish, anandamide and 2-AG appear to be expressed in all brain areas, with a higher level of anandamide in the hypothalamus and a higher level of 2-AG in the telencephalon (Valenti et al., 2005). In rats and humans, anandamide has been found in the cortex, hippocampus, striatum and cerebellum (Felder et al., 1995), correlated with higher levels of CB1 receptors, and in the thalamus, correlated with low levels of CB1 receptors (Egertová and Elphick, 2000; Felder et al., 1996).

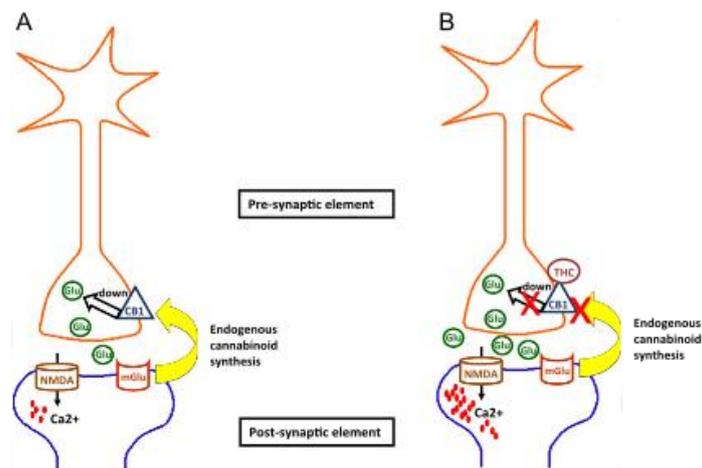


Figure 1 Role of the cannabinoid system in the regulation of neurotransmission in a glutamatergic synapse (A) and dysregulation induced by exogenous cannabinoids (B). (A) The synaptic release of glutamate (Glu) results in a post-synaptic influx of calcium (Ca^{2+}) through NMDA receptors (NMDA). The glutamate receptor (mGlu) is then stimulated, engaging a post-synaptic synthesis of endocannabinoids. Consequently, they regulate, through cannabinoid receptors CB1 (CB1), the synthesis and release of glutamate, thus preventing an increase in post-synaptic influx of Ca^{2+} . (B) The blockade of CB1 receptors by exogenous cannabinoids such as THC inhibits the pre-synaptic regulation of glutamate release, leading to an excess of post-synaptic influx of Ca^{2+} . This therefore induces apoptosis of the cell.

3.4. Synaptic process

CB1 receptors are detected at the level of pre-synaptic localization in the brain neurons (Mechoulam and Parker, 2013). They play a post-synaptic regulatory role by modulating the release of neurotransmitters such as gamma-aminobutyric acid (GABA) and glutamate (Mechoulam and Parker, 2013; Straiker and Mackie, 2006; Wilson and Nicoll, 2001). The stimulation of a glutamatergic neuron results in a synaptic release of glutamate, which induces a post-synaptic influx of calcium through NMDA receptors (Bossong and Niesink, 2010). The post-synaptic increase in the Ca^{2+} concentration activates the process of synaptic strengthening (Bossong and Niesink, 2010), and by stimulating the post-synaptic metabotropic glutamate receptor mGlu engages a post-synaptic synthesis of endocannabinoids. Through CB1 pre-synaptic receptors, endocannabinoids achieve a regulatory role on pre-synaptic glutamate release, which prevents an excessive post-synaptic release of calcium (Bossong and Niesink, 2010; Yazulla, 2008). Exogenous cannabinoids, such as THC, prevent the pre-synaptic regulation of glutamate release induced by endocannabinoids by blocking the cannabinoid CB1 receptor, and may lead to an excess of post-synaptic calcium influx, thus accelerating the pruning of the post-synaptic part of the synapse and the apoptosis of the cell (Bossong and Niesink, 2010; Yazulla, 2008). The role of the cannabinoid system in the synaptic process of a glutamatergic neuron is presented in Figure 1.

4. The endocannabinoid system and vision

Visual perception is a complex mechanism that embraces the cognitive processes for the retrieval of information from environmental light in order to construct a meaningful representation of the environment. Briefly, visual processing begins in the retina with the absorption of light by the photopigment of the photoreceptors, thus initiating the conversion of light into neural activity (Hoon et al., 2014). The retina also contains amacrine and horizontal cells acting as interneurons, and which join together bipolar and photoreceptor cells respectively, and Müller cells, which have a glial function (Hoon et al., 2014). The visual information is relayed to the brain by the optic nerve formed by the axons of the ganglion cells (Hoon et al., 2014). The first main relay in the brain's visual pathways is in the thalamus, where the lateral geniculate nucleus performs differential processing of contrast, spatial distribution and temporal sequence (Tootell et al., 1988). The information is then transmitted to the occipital cortex, especially in the primary and secondary visual cortex, which provides knowledge about forms, movements or colors (Livingstone and Hubel, 1988). From there, the ventral pathway goes to the frontal lobe through the temporal lobe, while the dorsal pathway goes to the frontal lobe through the parietal lobe. These two pathways perform differential processing, allowing the identification and localization of the information, and help to form a coherent, complex representation of the environment (Livingstone and Hubel, 1988). All the areas briefly presented here are densely interconnected, allowing retroactive complex interactions (Nowak et al., 1997). Analysis

of the literature on cannabis and vision yields information on three main stages in this visual processing that are of interest because of their critical role and their accessibility for measurement: retina, thalamus and visual cortex.

4.1. Retinal localization

Animal studies have shown that cannabinoid CB1 and CB2 receptors are expressed in the retina of several species. CB1 and CB2 receptors are detected in the retina of goldfish (Cottone et al., 2013; Straiker et al., 1999a; Yazulla et al., 2000), rodents (Buckley et al., 1998; Cecyre et al., 2013; Lalonde et al., 2006; López et al., 2011; Lu et al., 2000; Porcella et al., 1998; Straiker et al., 1999a; Zabouri et al., 2011) and non-human primates (NHP) (Bouskila et al., 2012, 2013; Straiker et al., 1999a). CB1 receptors are found in the retina of the chick and the tiger salamander (Straiker et al., 1999a).

In addition, CB1 and CB2 receptors are expressed in the human retina. CB1 receptors are detected in the human retina in the inner plexiform layer (IPL), outer plexiform layer (OPL), two synaptic layers of the retina, inner nuclear layer, ganglion cell layers, outer segments of photoreceptor cells and retinal pigmentary epithelium (RPE) cells (Porcella et al., 2000; Straiker et al., 1999b; Wei et al., 2009). CB2 receptors are expressed in the human RPE cells (Wei et al., 2009). Recent findings suggest that the deletion of CB1 receptors in the human RPE may protect RPE cells from oxidative damage, the key mechanism of age-related macular degeneration (AMD) (Wei et al., 2013). This suggests a possible modulation of information transmission by the cannabinoid system at the retina level.

2-AG and anandamide, two major ligands of CB1 and CB2 receptors, have also been detected in the retina. In animal species, 2-AG and anandamide are expressed in rat and bovine retina (Bisogno et al., 1999; Straiker et al., 1999a), while anandamide is found in goldfish, porcine and bovine retina (Bisogno et al., 1999; Glaser et al., 2005; Matsuda et al., 1997). In humans, 2-AG is expressed at a high level in the retina (Chen et al., 2005; Matias et al., 2006), whereas anandamide is detected at a lower level in the retina (Chen et al., 2005; Matias et al., 2006; Stamer et al., 2001). Interestingly, a recent study showed that their concentrations might be changed in diabetic retinopathy (DR) and AMD (Matias et al., 2006), also showing a possible involvement of cannabinoid ligands in the retinal pathologic processes.

The retina constitutes the best documented level of visual information processing concerning the regulatory role of the cannabinoid system. A number of animal studies have highlighted the involvement of the cannabinoid system in the synaptic process, thus allowing the modulation of the neurotransmission at the retina level. First, the cannabinoid system is involved in the regulation of several inward and outward ionic channels. For instance, cannabinoid agonists induce a dose-dependent reversible modulation of calcium, potassium and chloride currents in bipolar, rod, cone and ganglion cells (Fan and Yazulla, 2003, 2004, 2005, 2007; Lalonde et al., 2006; Opere et al., 2006; Straiker et al., 1999a; Straiker and Sullivan, 2003; Yazulla et al., 2000; Zhang et al., 2013). Additionally, THC may inhibit the

monoamine oxidase activity in the retina, thus regulating the level of neurotransmitters (Gawienowski et al., 1982). Also, cannabinoid agonists alter the spontaneous postsynaptic currents within retinal ganglion cells (Middleton and Protti, 2011). Finally, by acting on ionic currents and electrical potentials, the cannabinoid system may modulate the release of several neurotransmitters such as dopamine, noradrenaline, GABA, and glutamate (Middleton and Protti, 2011; Opere et al., 2006; Schlicker et al., 1996; Straiker and Sullivan, 2003; Weber and Schlicker, 2001). By their likely involvement in the retinal neurotransmission, cannabinoid agonists affect phototransduction, leading to alterations in the retinal sensitivity, which was studied using whole-cell patch-clamp recordings performed from ON-bipolar cells and cones (Fan and Yazulla, 2005; Struik et al., 2006; Yazulla et al., 2000). Interestingly, such involvement of the cannabinoid system in the modulation of the retinal response has been confirmed by ERG measurements. The retinal function may be assessed by several ERGs using different stimulations. Flash ERG measurements allow the assessment of the functional properties of the photoreceptors and bipolar-Müller cell complex following a flash stimulation. Pattern ERG evaluates the macular and ganglion cell functions in response to a reversible black and white checkerboard, and multifocal ERG explores the spatial characteristics of central retinal cone function in response to multiple hexagons distributed over a screen (Holder et al., 2010). Using fERG under both scotopic and photopic conditions, mice lacking CB1 or CB2 receptors presented modifications of a-wave and b-wave amplitudes (Cecyre et al., 2013). These waves respectively represent an electronegative component generated by the photoreceptors and an electropositive component originating from bipolar cells and Müller cells.

Besides, Chaves et al. (2008) have shown the involvement of the cannabinoid system in plasticity mechanisms occurring between the retina and the thalamus. Using immunohistochemistry, immunoblotting, and real-time PCR techniques, they have demonstrated that retinal ablation increases the level of CB1 protein in the contralateral optic tectum in the adult chick brain. These findings suggest that the cannabinoid system participates in the neuroprotection of the visual function and plays a major role in development, through synaptic plasticity, of the visual system. Such functions may therefore be disrupted by exogenous cannabinoids.

Based on these findings, the cannabinoid system may modulate the human visual function at the retina level by its involvement in the retinal transmission of the visual signal (Laprevote et al., 2015). Since alterations at the central level in dopamine and serotonin neurotransmission may affect the ERG measurements and thus alter the retinal response, the retinal function may constitute a possible biological marker of brain neurochemistry (Lavoie et al., 2014).

4.2. Thalamus localization

CB1 receptors are heterogeneously distributed in the thalamus in rats (Herkenham et al., 1990, 1991; Moldrich and Wenger, 2000; Tsou et al., 1998), mice (Yoneda et al., 2013), NHP (Herkenham et al., 1990; Yoneda et al., 2013), and

humans (Glass et al., 1997; Herkenham et al., 1990). Interestingly, CB1 receptors are detected in the lateral geniculate nucleus (LGN), the colliculus superior and the suprachiasmatic nucleus in the rat and mouse (Herkenham et al., 1991; Yoneda et al., 2013), and in the LGN and the colliculus superior in humans (Glass et al., 1997). Both the LGN and the colliculus superior have neural connections with the primary visual brain area, and relay visual information from the retina to the primary visual cortex (Sherman and Guillery, 2002).

Dasilva et al. (2012) have shown that the administration of cannabinoid agonists induces an excitatory effect on a part of cells and an inhibitory effect on another part of the cells in the LGN of adult rats, thus revealing two cell populations. These effects were mediated by the activation of CB1 receptors, and were blocked by a cannabinoid antagonist. As a consequence, both spontaneous and visual activities of the cells were altered. According to these findings, cannabinoid agonists, through CB1 receptors, may modulate, at a cellular level, the visual neurotransmission from the thalamus to the visual cortex. This demonstrates the potential ability of cannabis to disrupt the processing of visual information at the thalamic level.

4.3. Cortical localization

The visual cortex forms a later stage in visual information processing. CB1 and CB2 receptors are detected in the primary (V1) and secondary (V2) visual cortex of rats and mice (Gong et al., 2006; Herkenham et al., 1991; Onaivi et al., 2006; Tsou et al., 1998; Yoneda et al., 2013). In NHP, CB1 receptors have also been found in V1 and V2 (Ong and Mackie, 1999). Interestingly, CB1 receptors are more strongly expressed in V2 (layers I, II, IV, V, VI) than in V1 (layers I, II, III, IVA, IVB, IVC, V, VI) in humans (Glass et al., 1997).

Like in the retina and the LGN, the cannabinoid system is able to modulate the neural transmission in the adult visual cortex. Interestingly, Ohiorhenuan et al. (2014) have recorded the electroencephalogram (EEG), local field potentials (LFP) and single-unit activity of V1 and V2 in adult NHP. A decrease in EEG power, LFP power and LFP coherence was induced by the administration of a cannabinoid agonist. Additionally, at the level of individual neurons they found an increase in the latency and duration of the neuronal response. Taken together, these findings show the involvement of the cannabinoid system in the modulation of the neuronal activity of the visual cortex at the level of individual neurons as well as at the level of neuronal networks.

Besides, the developmental role of the cannabinoid system during early postnatal development in visual cortical plasticity has been recently established in animal studies. This knowledge warrants attention because it may inform us on the potential effects of cannabis use during pregnancy. In mice aged from postnatal day 13 (P13) to P27, the administration of a cannabinoid agonist significantly reduced both the amplitude and the frequency of inhibitory postsynaptic currents (IPSC) in layer IV of V1 (Garkun and Maffei, 2014). Using the ocular dominance plasticity, a model of cortical plasticity Liu et al. (2008) found that during

Table 1 Summary of cannabinoid functions in critical stages of visual processing.

| Visual structures | Functions of cannabinoids | Species | References |
|--|------------------------------|---|---|
| Retina | Ionic channels | Tiger salamander | Straiker et al. (1999a), Straiker and Sullivan (2003) |
| | | Goldfish | |
| | | Rat | |
| | Enzymatic activity | Bovine | Opere et al. (2006) |
| | | Bovine | Gawienowski et al. (1982) |
| | Release of neurotransmitters | Tiger salamander | Straiker and Sullivan (2003) |
| | | Guinea-pig | |
| | | Mouse | |
| | Synaptic plasticity | Bovine | Opere et al. (2006) |
| | | Chick | Chaves et al. (2008) |
| Retinal sensitivity | Goldfish | Fan and Yazulla (2005), Struik et al. (2006), Yazulla et al. (2000) | |
| | | Mouse | Cecyre et al. (2013) |
| Functioning of photoreceptors and bipolar-Müller cells | Human | Wei et al. (2013) | |
| | | Rat | Dasilva et al. (2012) |
| Thalamus | Neurotransmission | Non-human primate | Ohirohenuan et al. (2014) |
| | | Mouse | Garkun and Maffei (2014), Liu et al. (2008), Huang et al. (2008), Jiang et al. (2010a, 2010b) |
| Cortex | Neurotransmission | Non-human primate | Ohirohenuan et al. (2014) |
| | | Mouse | Garkun and Maffei (2014), Liu et al. (2008), Huang et al. (2008), Jiang et al. (2010a, 2010b) |
| | Synaptic plasticity | Mouse | Garkun and Maffei (2014), Liu et al. (2008), Huang et al. (2008), Jiang et al. (2010a, 2010b) |

postnatal development, the blockade of cannabinoid receptors prevented the ocular dominance shift in layer II/III, but not in layer IV. As observed in long-term depression (LTD), cannabinoid ligands are involved in the heterosynaptic LTD (hetero-LTD) of excitatory synapses, which is predominant from P7 to P14 (Crozier et al., 2007; Huang et al., 2008). Finally, the cannabinoid system plays a major role in the maturation of GABAergic transmission between eye opening and puberty (Jiang et al., 2010a, 2010b).

The endocannabinoid system is detected through the critical stages of visual information processing. As this system is involved in neural transmission and synaptic plasticity in the visual cortex, exogenous cannabinoids may lead to impairment of the visual function. The main functions of cannabinoids in these crucial stages of visual processing are summarized in Table 1.

5. Cannabis use and human vision

5.1. Case reports and case series

Several publications have related that acute use of cannabis results in improved visual function and contributes to visual side-effects. The most surprising report concerns Jamaican fishermen, whose night vision improved shortly after smoking *C. sativa*, and who were able to navigate safely through coral reefs in night conditions (West, 1991). This observation was recently confirmed by showing that the administration of dronabinol, a synthetic THC, resulted in a dose-related increase in scotopic sensitivity, and that inhaling

a mixture of *C. sativa* and tobacco resulted in an enhanced dark adaptation and scotopic sensitivity (Russo et al., 2004). In both situations, vision was improved. Furthermore, Consroe et al. (1997) report that patients with multiple sclerosis used cannabis to reduce some of their symptoms including visual symptoms such as double vision or vision dimness. On the other hand, a study conducted nearly four decades ago, which examined the analgesic effect of THC, found that single oral dose administration of THC induced visual side-effects such as blurred vision (Noyes et al., 1975). Interestingly, all these effects are acute consequences of cannabis use.

Besides these acute visual changes, several case series have described residual visual effects of regular cannabis use. A case report describes the occurrence of flickering black spots in a man after cessation of five years of daily cannabis use, and persisting for 8 months after drug abstinence (Laffi and Safran, 1993). Similarly, a case series reported several visual disturbances (visual distortions, illusions of movement, color vision disturbances, flashbacks) in eight regular cannabis smokers, which persisted after cessation of use (Lerner et al., 2011). These findings showing the involvement of cannabinoid use in visual abnormalities are isolated, and only one study, to our knowledge, has studied the impact of chronic cannabis use on a large number of visual parameters compared with a non-user group (Dawson et al., 1977). In this large study, only small differences were measured concerning Snellen acuity, intra-ocular pressure, pupil response and color vision. Unfortunately, contrast sensitivity was not evaluated in cannabis users in this study.

5.2. Experimental studies

Despite these clinical presumptions, few studies have evaluated the earliest stages of visual processing in cannabis users. Even so, experimental tests of the visual function have shown several impairments. For example, regular cannabis users have increased foveal glare recovery time after smoking a cigarette containing 8 or 15 mg of THC (Adams et al., 1978). This might demonstrate a possible direct acute action of THC on retinal processing. Ehrenreich et al. (1999) have shown that the use of cannabis between ages 12 and 16 years was associated with impairments in visual scanning in adulthood. Similarly, chronic cannabis users with early age drug consumption have shown longer response times and a higher number of fixations on a square stimulus than controls in a visual scanning task (Huestegge et al., 2002), and both are residual effects of cannabis use. In a study assessing the residual impact of regular cannabis use on visuomotor integration, the authors showed that cannabis affected the strength of the binding between task-relevant stimulus and response features (Colzato and Hommel, 2008). This suggests a critical role of dopaminergic transmission, in particular through CB1 receptors, in visuomotor integration, which may be modulated by cannabinoids. Binocular depth inversion (BDI) is an illusion of visual perception informative of impaired visual processing. It is sensitive and regularly used in psychiatric and addictive disorders such as psychotic states and alcohol withdrawal (Emrich, 1989; Schneider et al., 1998, 2002). Both acute and chronic cannabis use may induce a reduction of BDI, showing acute and residual effects of cannabis, respectively (Emrich et al., 1991; Lewke et al., 1999; Semple et al., 2003).

A few studies using cerebral imaging have investigated the consequences of cannabis use on brain areas involved in visual processing. A radial visual checkerboard in alternating block viewed during functional magnetic resonance imaging (fMRI) was used to assess the acute impact of 10 mg of THC and 600 mg of CBD compared with placebo on visual processing in healthy volunteers (Winton-Brown et al., 2011). THC decreased activation in the secondary visual cortex, which was activated in the placebo condition, and increased activation in the primary visual cortex in the right hemisphere, compared with placebo. Also, CBD increased activation in the right occipital lobe compared with placebo. Interestingly, during visual processing, THC and CBD have similar effects on brain response in several regions and opposite effects in others. Additionally, in MRI, an interesting study has reported as a residual consequence of cannabis use a significant reduction in global and bilateral thalamic volume in cannabis users compared with a non-user group in a population at high familial risk of developing schizophrenia (Welch et al., 2011). Since the thalamus relays the visual information between the retinal and cortical pathways, and has neural connections with the retina and the primary visual cortex, the loss of thalamic volume due to cannabis use may have potential consequences on the processing of visual information.

Several studies performing visually evoked potential measurements in cannabis users have shown inconsistent results, in particular for the P300 component. This is a positive wave that represents the amount of attentional resources involved in stimulus characterization (Polich, 2007). For example, cannabis

users showed a reduction in the amplitude of the visual P300 compared with non-users when all subjects were psychiatric inpatients. However, when users and non-users were screened to be healthy participants, no difference was seen (Patrick et al., 1995). In this situation, psychiatric disorders and drugs could disturb the results. In addition, in an older study that evaluated the consequences of the inhalation of THC on many cardiovascular, respiratory and neurological parameters, no difference was shown on visually evoked potentials (Low et al., 1973). More recently, visually event-related potentials recorded 2 h after acute intakes of different THC doses during a visual selective attention task showed a dose effect on several parameters (Böcker et al., 2010). A significant acute dose effect on the amplitude of P300 and SFD 80, which is related to perception of high versus low spatial frequency gratings, was observed. This suggests a non-selective decrease in attentional or processing resources. Evaluation of steady-state visually evoked potential (SSVEP), which represents a type of EEG response of visual occipital brain areas to periodic visual stimulation, has shown residual effects of cannabis, such as impairments in SSVEP and transient N160 component in cannabis users (Skosnik et al., 2006). The transient N160 component is a negative component representing a main stage of processing in the recognition and extraction of a visual pattern (Simon et al., 2007). Interestingly, female cannabis users and cannabis users with early age drug consumption showed decreased power values at 18 Hz in SSVEP. Additionally, the transient N160 component appears to be reduced in cannabis users. Based on these findings, cannabis use may affect both early and later cortical stages of visual information processing.

These impairments in visual processing are correlated with previous clinical observations. In both situations, cannabis use is implicated in clinical and electrophysiological visual dysfunctions. As cannabis use is implicated in visual dysfunctions, the impact of regular cannabis use on visual information processing warrants evaluation for its consequences on public health.

6. Discussion

This review examines the broad involvement of the cannabinoid system in visual processing, and the potential consequences of regular cannabis use. The cannabinoid system is closely involved in the visual function for several reasons. Endocannabinoids are expressed through critical stages of the visual system, such as in the retina, the LGN and the visual cortex. The modulation of the cannabinoid system by exogenous agonists or antagonists may disrupt the neural transmission in the retina, the thalamus and the visual cortex, thereby modifying the processing of the visual information. In the longer term, the endocannabinoid system may play a dynamic role in the development and function of the visual system through synaptic plasticity.

Besides the potential role of the cannabinoid system on the early processing of visual information, there is still a lack of knowledge about the potential effect of regular cannabis use on the human visual function. Nonetheless, acute and regular cannabis uses are correlated with alterations of human vision. Interestingly, case reports and case

series have shown that cannabis use can lead to visual disturbances, reduction of visual symptoms and improvement of the visual function. Furthermore, experimental studies have reported several dysfunctions at the retina and cortical level in visual information processing of cannabis users. Based on these findings, we need more studies, for example clinical prospective studies in cannabis users versus healthy controls, that evaluate visual information processing in cannabis users in order to find out whether cannabis use disturbs visual function. Such information is critical and constitutes a major public health challenge, since cannabis is one of the most prevalent drugs detected in drivers' blood or oral fluid, and is implicated in motor vehicle accidents (MVA's) (Hartman and Huestis, 2013). The association between cannabis and driving impairments has been clearly established in the United States and the European Union (Hartman and Huestis, 2013; Raes and Verstraete, 2006). For example, driving under the influence of cannabis is correlated with increased crash risk and decreased driving ability (Hartman and Huestis, 2013). Car drivers classified as positive for cannabis therefore represent an expanding target audience for prevention campaigns in public health-care provision. A better knowledge of the impact of cannabis on cognitive functions critical for driving is therefore crucial, especially for the decrease in mortality and morbidity on roads and for the development of appropriate legislation. Further investigation to evaluate the visual function in regular cannabis users and to assess the impact on regular cannabis use on driving is needed.

On this basis, studying the visual function in regular cannabis users represents a relevant and original approach allowing the evaluation of the impact of exogenous cannabinoids on an accessible, well-studied function (Palczewski, 2011). Currently, mounting evidence suggests that visual processing represents an additional interesting measure to explore neural dysfunctions associated with mental disorders (Javitt, 2009; Yoon et al., 2013). The visual system forms one of the early information processing entities, and has now been largely studied (Palczewski, 2011). Much technological progress has been recently made in the study of structural and functional characteristics of the visual system (Disney et al., 2007; Katzner et al., 2011; Palczewski, 2011), such as the development of non-invasive methods yielding valuable information on the central level of neurotransmitter, for example magnetic resonance spectroscopy (MRS). Additionally, there are standardized measures to examine different stages of visual processing. Concerning the retina, standard clinical electroretinography allows the evaluation of the retinal function in dark and light adaptation to differentiate the rod and cone responses (Marmor et al., 2009). Scotopic ERG evaluates the rod response and the response of the ON-bipolar cells, while photopic ERG evaluates cone response and simultaneous ON and OFF pathways (Holder et al., 2010). The contrast sensitivity function assesses spatial specificity, and temporal discrimination of the visual system is evaluated by both visual backward masking (Giersch and Herzog, 2004) and simultaneity threshold measurements (Brown et al., 2003). These behavioral measurements can be extended by electrophysiological ones such as event-related potentials (ERP) to evaluate temporal dynamics of early visual processing. Cerebral imaging coupled with the

previous behavioral paradigms then allows the evaluation of the cerebral areas involved in visual information processing.

There are many possible reasons for the difficulties met in developing clinical studies assessing the impact of cannabis consumption (Carlin et al., 1972; Weil et al., 1969). Firstly, because cannabis is an illicit drug in most countries, cannabis users may be suspicious and reluctant to participate in a clinical study. They may think that the main goal of studying cannabis is to prove its toxic effects and thus plead against its legalization. Secondly, it is important to control composition and route of administration to limit some variations in measurements. Cannabinoid agonists may be administered by oral, intra-venous or inhaled routes, and this may change the dose ingested. Similarly, the frequency and extent of use may vary with the type of drug (Huestis, 2007). Furthermore, the evolution of the concentration of THC and CBD contained in the cannabis consumed complicates the understanding of dose-related effects of each compound. Thirdly, the acute administration of cannabis induces impairments in cognitive functions (Crean et al., 2011; Lundqvist, 2005; Solowij and Battisti, 2008), making it difficult to perform any kind of measurement, and especially to interpret the results. Fourthly, cannabis may be associated with other psychoactive drugs, complicating the extraction of the specific effect of cannabis use (González Pérez et al., 1995). A number of studies that have evaluated the cognitive functions in cannabis users have already overcome these various difficulties. Consequently, it is critical to obtain data regarding the impact of cannabis intake on the visual function in regular users.

Several methodological considerations have to be borne in mind for future research on cannabis. One is to accurately evaluate, with a consistent measurement tool, the dose of cannabinoids consumed to seek a dose-effect relationship. Also, cannabis may induce acute, residual or withdrawal effects that can be evaluated and so reported to provide a clear picture of the consequences of cannabis use. In studies assessing the residual effects of cannabis, measurements must be performed some time after the last cannabis use to prevent acute cognitive deficits such as attentional and awareness disturbance (Knight and Silverstein, 2001). The use of licit or illicit drugs associated with cannabis use makes screening for these drugs necessary, as they are liable to disrupt the functioning of several biological systems, for example thiamine deficiency in alcohol use, thus altering the cannabinoid function. In future studies, urine analyses should therefore be systematically performed to rule out these confounding factors. Some substances such as tobacco or alcohol may also be evaluated by questionnaires. Finally, since cannabis is widely used with tobacco, for example smoked as a mixture (Agrawal et al., 2012), a control group of tobacco users may be needed to differentiate the effects of each drug.

Developing new models and biomarkers assessing the neurotoxicity of substance consumption and allowing the early detection of these disorders now represents a new challenge in the neurosciences. For example in schizophrenia, the development of tasks that allow the evaluation of visual perception has been added to the Cognitive Neuroscience Treatment Research to Improve Cognition in Schizophrenia (CNTRICS) battery (Carter et al., 2011). Thus further work is needed to develop valid, reproducible,

reliable and easy-to-use markers of neural activity in cannabis users, thereby facilitating the screening of these disorders and the understanding of neural mechanisms underlying related deficits. Visual function may provide some of these markers.

7. Conclusion

Although visual abnormalities have been observed in cannabis users, few studies have yet evaluated the impact of cannabis use on visual information processing. Recent findings in animal and human studies have shown the distribution of endocannabinoids throughout the visual system and their involvement in critical mechanisms such as visual synaptic plasticity and visual neurotransmission. Such knowledge may enhance our understanding of the biological mechanisms underlying cannabis-related deficits, and so prompt more studies in cannabis users. Additionally, technological advances such as the development of precise, non-invasive measurement, together with standardized protocols, currently allow the rigorous assessment of visual function and ensure reproducible results. Consequently, further investigation of the visual function at the retinal and cortical levels after both acute and chronic cannabis use is needed to provide a clearer picture of visual dysfunctions due to cannabis use. We see that studying the effects of cannabis use is far from straightforward. This review outlines some methodological considerations that may help future research on this public health issue.

Role of funding source

This work was funded by a French National Research Agency Grant (ANR-12-SAMA-0016-01) and by the French "Mission Interministérielle de Lutte contre la Drogue et la Toxicomanie".

Contributors

All the authors contributed to write the manuscript, concurred with the submission and have approved the final manuscript.

Conflict of interest

All the authors declare that this work was conducted in the absence of any commercial or financial relationships that could be construed as a potential conflict of interest.

Acknowledgments

This work was supported by the French National Research Agency and the French "Mission Interministérielle de Lutte contre la Drogue et la Toxicomanie".

References

Adams, A.J., Brown, B., Haegerstrom-Portnoy, G., Flom, M.C., Jones, R.T., 1978. Marijuana, alcohol, and combined drug effects on the time course of glare recovery. *Psychopharmacology* 56, 81-86.

Aggleton, J.P., 2014. Looking beyond the hippocampus: old and new neurological targets for understanding memory disorders. *Proc. Biol. Sci.* 281, 1-9. <http://dx.doi.org/10.1098/rspb.2014.0565>.

Agrawal, A., Budney, A.J., Lynskey, M.T., 2012. The co-occurring use and misuse of cannabis and tobacco: a review. *Addiction* 107, 1221-1233. <http://dx.doi.org/10.1111/j.1360-0443.2012.03837.x>.

Ashton, J.C., Friberg, D., Darlington, C.L., Smith, P.F., 2006. Expression of the cannabinoid CB2 receptor in the rat cerebellum: an immunohistochemical study. *Neurosci. Lett.* 396, 113-116. <http://dx.doi.org/10.1016/j.neulet.2005.11.038>.

Berdyshev, E.V., 2000. Cannabinoid receptors and the regulation of immune response. *Chem. Phys. Lipids* 108, 169-190.

Bisogno, T., Delton-Vandenbroucke, I., Milone, A., Lagarde, M., Di Marzo, V., 1999. Biosynthesis and inactivation of N-arachidonylethanolamine (anandamide) and N-docosahexaenylethanolamine in bovine retina. *Arch. Biochem. Biophys.* 370, 300-307. <http://dx.doi.org/10.1006/abbi.1999.1410>.

Böcker, K.B.E., Gerritsen, J., Hunault, C.C., Kruidenier, M., Mensinga, T.T., Kenemans, J.L., 2010. Cannabis with high 69-THC contents affects perception and visual selective attention acutely: an event-related potential study. *Pharmacol. Biochem. Behav.* 96, 67-74. <http://dx.doi.org/10.1016/j.pbb.2010.04.008>.

Bolla, K.I., Brown, K., Eldreth, D., Tate, K., Cadet, J.L., 2002. Dose-related neurocognitive effects of marijuana use. *Neurology* 59, 1337-1343.

Bosson, M.G., Niesink, R.J.M., 2010. Adolescent brain maturation, the endogenous cannabinoid system and the neurobiology of cannabis-induced schizophrenia. *Prog. Neurobiol.* 92, 370-385. <http://dx.doi.org/10.1016/j.pneurobio.2010.06.010>.

Bouskila, J., Burke, M.W., Zabouri, N., Casanova, C., Ptitto, M., Bouchard, J.-F., 2012. Expression and localization of the cannabinoid receptor type 1 and the enzyme fatty acid amide hydrolase in the retina of vervet monkeys. *Neuroscience* 202, 117-130. <http://dx.doi.org/10.1016/j.neuroscience.2011.11.041>.

Bouskila, J., Javadi, P., Casanova, C., Ptitto, M., Bouchard, J.-F., 2013. Müller cells express the cannabinoid CB2 receptor in the vervet monkey retina. *J. Comp. Neurol.* 521, 2399-2415. <http://dx.doi.org/10.1002/cne.23333>.

Brown, L.N., Metz, L.M., Sainsbury, R.S., 2003. Sensory temporal thresholds and interhemispheric transfer times in multiple sclerosis: a preliminary study of a new outcome measure. *J. Clin. Exp. Neuropsychol.* 25, 783-792. <http://dx.doi.org/10.1076/j.jcen.25.6.783.16476>.

Buckley, N.E., Hansson, S., Harta, G., Mezey, E., 1998. Expression of the CB1 and CB2 receptor messenger RNAs during embryonic development in the rat. *Neuroscience* 82, 1131-1149.

Carlin, A.S., Bakker, C.B., Halpern, L., Post, R.D., 1972. Social facilitation of marijuana intoxication: impact of social set and pharmacological activity. *J. Abnorm. Psychol.* 80, 132-140.

Carter, C.S., Barch, D.M., The CNTRICS Executive Committee, 2011. Imaging biomarkers for treatment development for impaired cognition: report of the sixth CNTRICS meeting: biomarkers recommended for further development. *Schizophr. Bull.* 38, 26-33.

Casadio, P., Fernandes, C., Murray, R.M., Di Forti, M., 2011. Cannabis use in young people: the risk for schizophrenia. *Neurosci. Biobehav. Rev.* 35, 1779-1787. <http://dx.doi.org/10.1016/j.neubiorev.2011.04.007>.

Cecyre, B., Zabouri, N., Huppe-Gourgues, F., Bouchard, J.-F., Casanova, C., 2013. Roles of cannabinoid receptors type 1 and 2 on the retinal function of adult mice. *Investig. Ophthalmol. Vis. Sci.* 54, 8079-8090. <http://dx.doi.org/10.1167/iov.13-12514>.

Chaves, G.P., Nogueira, T.C.A., Britto, L.R.G., Bordin, S., Torião, A.S., 2008. Retinal removal up-regulates cannabinoid CB(1) receptors in the chick optic tectum. *J. Neurosci. Res.* 86, 1626-1634. <http://dx.doi.org/10.1002/jnr.21613>.

- Chen, J., Matias, I., Dinh, T., Lu, T., Venezia, S., Nieves, A., Woodward, D.F., Di Marzo, V., 2005. Finding of endocannabinoids in human eye tissues: implications for glaucoma. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 330, 1062-1067. <http://dx.doi.org/10.1016/j.bbrc.2005.03.095>.
- Chevaleyre, V., Takahashi, K.A., Castillo, P.E., 2006. Endocannabinoid-mediated synaptic plasticity in the CNS. *Annu. Rev. Neurosci.* 29, 37-76. <http://dx.doi.org/10.1146/annurev.neuro.29.051605.112834>.
- Colzato, L.S., Hommel, B., 2008. Cannabis, cocaine, and visuomotor integration: evidence for a role of dopamine D1 receptors in binding perception and action. *Neuropsychologia* 46, 1570-1575. <http://dx.doi.org/10.1016/j.neuropsychologia.2007.12.014>.
- Consroe, P., Musty, R., Rein, J., Tillery, W., Pertwee, R., 1997. The perceived effects of smoked cannabis on patients with multiple sclerosis. *Eur. Neurol.* 38, 44-48.
- Cottone, E., Pomatto, V., Cerri, F., Campantico, E., Mackie, K., Delperio, M., Guastalla, A., Dati, C., Bovolin, P., Franzoni, M.F., 2013. Cannabinoid receptors are widely expressed in goldfish: molecular cloning of a CB2-like receptor and evaluation of CB1 and CB2 mRNA expression profiles in different organs. *Fish Physiol. Biochem.* 39, 1287-1296. <http://dx.doi.org/10.1007/s10695-013-9783-9>.
- Crean, R.D., Crane, N.A., Mason, B.J., 2011. An evidence-based review of acute and long-term effects of cannabis use on executive cognitive functions. *J. Addict. Med.* 5, 1-8. <http://dx.doi.org/10.1097/ADM.0b013e31820c23fa>.
- Crozier, R.A., Wang, Y., Liu, C.-H., Bear, M.F., 2007. Deprivation-induced synaptic depression by distinct mechanisms in different layers of mouse visual cortex. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 104, 1383-1388. <http://dx.doi.org/10.1073/pnas.0609596104>.
- Dasilva, M.A., Grieve, K.L., Cudeiro, J., Rivadulla, C., 2012. Endocannabinoid CB1 receptors modulate visual output from the thalamus. *Psychopharmacology* 219, 835-845. <http://dx.doi.org/10.1007/s00213-011-2412-3>.
- Dawson, W.W., Jiménez-Antillón, C.F., Perez, J.M., Zeskind, J.A., 1977. Marijuana and vision—after ten years' use in Costa Rica. *Investig. Ophthalmol. Vis. Sci.* 16, 689-699.
- Degenhardt, L., Chiu, W.-T., Sampson, N., Kessler, R.C., Anthony, J.C., Angermeyer, M., Bruffaerts, R., de Girolamo, G., Gureje, O., Huang, Y., Karam, A., Kostyuchenko, S., Lepine, J.P., Mora, M.E.M., Neumarck, Y., Ormel, J.H., Pinto-Meza, A., Posada-Villa, J., Stein, D.J., Takeshima, T., Wells, J.E., 2008. Toward a global view of alcohol, tobacco, cannabis, and cocaine use: findings from the WHO World Mental Health Surveys. *PLoS Med.* 5, e141. <http://dx.doi.org/10.1371/journal.pmed.0050141>.
- Devane, W.A., Dysarz, F.A., Johnson, M.R., Melvin, L.S., Howlett, A.C., 1988. Determination and characterization of a cannabinoid receptor in rat brain. *Mol. Pharmacol.* 34, 605-613.
- Devane, W.A., Hanus, L., Breuer, A., Pertwee, R.G., Stevenson, L.A., Griffin, G., Gibson, D., Mandelbaum, A., Etinger, A., Mechoulam, R., 1992. Isolation and structure of a brain constituent that binds to the cannabinoid receptor. *Science* 258, 1946-1949.
- Disney, A.A., Aoki, C., Hawken, M.J., 2007. Gain modulation by nicotine in macaque v1. *Neuron* 56, 701-713. <http://dx.doi.org/10.1016/j.neuron.2007.09.034>.
- Egertová, M., Elphick, M.R., 2000. Localisation of cannabinoid receptors in the rat brain using antibodies to the intracellular C-terminal tail of CB₁. *J. Comp. Neurol.* 422, 159-171.
- Ehrenreich, H., Rinn, T., Kunert, H.J., Moeller, M.R., Poser, W., Schilling, L., Gigerenzer, G., Hoehe, M.R., 1999. Specific attentional dysfunction in adults following early start of cannabis use. *Psychopharmacology* 142, 295-301.
- Emrich, H.M., 1989. A three-component-system hypothesis of psychosis: Impairment of binocular depth inversion as an indicator of function disequilibrium. *Br. J. Psychiatry* 155, 37-39.
- Emrich, H.M., Weber, M.M., Wendl, A., Zihl, J., von Meyer, L., Hanisch, W., 1991. Reduced binocular depth inversion as an indicator of cannabis-induced censorship impairment. *Pharmacol. Biochem. Behav.* 40, 689-690.
- European Monitoring Centre for Drugs and Drug Addiction, Publications Office of the European Union, 2010. Annual Report 2010: The State of the Drugs Problem in Europe. Publications Office of the European Union, Luxembourg.
- Fan, S.-F., Yazulla, S., 2003. Biphasic modulation of voltage-dependent currents of retinal cones by cannabinoid CB1 receptor agonist WIN 55212-2. *Vis. Neurosci.* 20, 177-188.
- Fan, S.-F., Yazulla, S., 2004. Inhibitory interaction of cannabinoid CB1 receptor and dopamine D2 receptor agonists on voltage-gated currents of goldfish cones. *Vis. Neurosci.* 21, 69-77.
- Fan, S.-F., Yazulla, S., 2005. Reciprocal inhibition of voltage-gated potassium currents (I_{K(V)}) by activation of cannabinoid CB1 and dopamine D1 receptors in ON bipolar cells of goldfish retina. *Vis. Neurosci.* 22, 55-63. <http://dx.doi.org/10.1017/S0952523805221089>.
- Fan, S.-F., Yazulla, S., 2007. Retrograde endocannabinoid inhibition of goldfish retinal cones is mediated by 2-arachidonoyl glycerol. *Vis. Neurosci.* 24, 257-267. <http://dx.doi.org/10.1017/S095252380707006X>.
- Felder, C.C., Joyce, K.E., Briley, E.M., Mansouri, J., Mackie, K., Blond, O., Lai, Y., Ma, A.L., Mitchell, R.L., 1995. Comparison of the pharmacology and signal transduction of the human cannabinoid CB1 and CB2 receptors. *Mol. Pharmacol.* 48, 443-450.
- Felder, C.C., Nielsen, A., Briley, E.M., Palkovits, M., Priller, J., Axelrod, J., Nguyen, D.N., Richardson, J.M., Riggin, R.M., Koppel, G.A., Paul, S.M., Becker, G.W., 1996. Isolation and measurement of the endogenous cannabinoid receptor agonist, anandamide, in brain and peripheral tissues of human and rat. *FEBS Lett.* 393, 231-235.
- Funahashi, S., Andreau, J.M., 2013. Prefrontal cortex and neural mechanisms of executive function. *J. Physiol.* 107, 471-482. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jphysparis.2013.05.001>.
- Gaoni, Y., Mechoulam, R., 1964. Isolation, structure, and partial synthesis of an active constituent of hashish. *J. Am. Chem. Soc.* 86, 1646-1647. <http://dx.doi.org/10.1021/ja01062a046>.
- Garkun, Y., Maffei, A., 2014. Cannabinoid-dependent potentiation of inhibition at eye opening in mouse V1. *Front. Cell. Neurosci.* 8, 46. <http://dx.doi.org/10.3389/fncel.2014.00046>.
- Gawienowski, A.M., Chatterjee, D., Anderson, P.J., Epstein, D.L., Grant, W.M., 1982. Effect of delta 9-tetrahydrocannabinol on monoamine oxidase activity in bovine eye tissues, in vitro. *Investig. Ophthalmol. Vis. Sci.* 22, 482-485.
- Giersch, A., Herzog, M.H., 2004. Lorazepam strongly prolongs visual information processing. *Neuropsychopharmacology* 29, 1386-1394. <http://dx.doi.org/10.1038/sj.npp.1300429>.
- Glaser, S.T., Deutsch, D.G., Studholme, K.M., Zimov, S., Yazulla, S., 2005. Endocannabinoids in the intact retina: ³H-anandamide uptake, fatty acid amide hydrolase immunoreactivity and hydrolysis of anandamide. *Vis. Neurosci.* 22, 693-705. <http://dx.doi.org/10.1017/S0952523805226020>.
- Glass, M., Dragunow, M., Faull, R.L., 1997. Cannabinoid receptors in the human brain: a detailed anatomical and quantitative autoradiographic study in the fetal, neonatal and adult human brain. *Neuroscience* 77, 299-318.
- Glass, M., Northup, J.K., 1999. Agonist selective regulation of G proteins by cannabinoid CB(1) and CB(2) receptors. *Mol. Pharmacol.* 56, 1362-1369.
- Gong, J.-P., Onaivi, E.S., Ishiguro, H., Liu, Q.-R., Tagliaferro, P.A., Brusco, A., Uhl, G.R., 2006. Cannabinoid CB2 receptors: immunohistochemical localization in rat brain. *Brain Res.* 1071, 10-23. <http://dx.doi.org/10.1016/j.brainres.2005.11.035>.
- González Pérez, J., Parafita Mato, M., Segade García, A., Díaz Rey, A., 1995. Intraocular motility, electrophysiological tests and visual fields in drug addicts. *Ophthalmic Physiol. Opt.* 15, 493-498.

- Hanus, L., Abu-Lafi, S., Fride, E., Breuer, A., Vogel, Z., Shalev, D.E., Kustanovich, I., Mechoulam, R., 2001. 2-arachidonyl glyceryl ether, an endogenous agonist of the cannabinoid CB1 receptor. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 98, 3662-3665. <http://dx.doi.org/10.1073/pnas.061029898>.
- Hartman, R.L., Huestis, M.A., 2013. Cannabis effects on driving skills. *Clin. Chem.* 59, 478-492. <http://dx.doi.org/10.1373/clinchem.2012.194381>.
- Herkenham, M., Lynn, A.B., Johnson, M.R., Melvin, L.S., de Costa, B.R., Rice, K.C., 1991. Characterization and localization of cannabinoid receptors in rat brain: a quantitative in vitro autoradiographic study. *J. Neurosci.* 11, 563-583.
- Herkenham, M., Lynn, A.B., Little, M.D., Johnson, M.R., Melvin, L.S., de Costa, B.R., Rice, K.C., 1990. Cannabinoid receptor localization in brain. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 87, 1932-1936.
- Hohmann, A.G., Herkenham, M., 1999. Cannabinoid receptors undergo axonal flow in sensory nerves. *Neuroscience* 92, 1171-1175.
- Holder, G.E., Ceslea, G.G., Miyake, Y., Tobimatsu, S., Weleber, R.G., International Federation of Clinical Neurophysiology, 2010. International Federation of Clinical Neurophysiology: recommendations for visual system testing. *Clin. Neurophysiol.* 121, 1393-1409. <http://dx.doi.org/10.1016/j.clinph.2010.04.010>.
- Holt, V.L., Cushing-Haugen, K.L., Daling, J.R., 2005. Risk of functional ovarian cyst: effects of smoking and marijuana use according to body mass index. *Am. J. Epidemiol.* 161, 520-525. <http://dx.doi.org/10.1093/aje/kwi080>.
- Hoon, M., Okawa, H., Della Santina, L., Wong, R.O.L., 2014. Functional architecture of the retina: development and disease. *Prog. Retin. Eye Res.* 42C, 44-84. <http://dx.doi.org/10.1016/j.preteyeres.2014.06.003>.
- Howlett, A.C., Qualy, J.M., Khachatrian, L.L., 1986. Involvement of Gi in the inhibition of adenylate cyclase by cannabimimetic drugs. *Mol. Pharmacol.* 29, 307-313.
- Huang, Y., Yasuda, H., Sarihi, A., Tsumoto, T., 2008. Roles of endocannabinoids in heterosynaptic long-term depression of excitatory synaptic transmission in visual cortex of young mice. *J. Neurosci.* 28, 7074-7083. <http://dx.doi.org/10.1523/JNEUROSCI.0899-08.2008>.
- Huestegge, L., Radach, R., Kunert, H.-J., Heller, D., 2002. Visual search in long-term cannabis users with early age of onset. *Prog. Brain Res.* 140, 377-394. [http://dx.doi.org/10.1016/S0079-6123\(02\)40064-7](http://dx.doi.org/10.1016/S0079-6123(02)40064-7).
- Huestis, M.A., 2007. Human cannabinoid pharmacokinetics. *Chem. Biodivers.* 4, 1770-1804. <http://dx.doi.org/10.1002/cbdv.200790152>.
- Javitt, D.C., 2009. When doors of perception close: bottom-up models of disrupted cognition in schizophrenia. *Annu. Rev. Clin. Psychol.* 5, 249-275. <http://dx.doi.org/10.1146/annurev.clinpsy.032408.153502>.
- Jiang, B., Huang, S., de Pasquale, R., Millman, D., Song, L., Lee, H.-K., Tsumoto, T., Kirkwood, A., 2010a. The maturation of GABAergic transmission in visual cortex requires endocannabinoid-mediated LTD of inhibitory inputs during a critical period. *Neuron* 66, 248-259. <http://dx.doi.org/10.1016/j.neuron.2010.03.021>.
- Jiang, B., Sohya, K., Sarihi, A., Yanagawa, Y., Tsumoto, T., 2010b. Laminar-specific maturation of GABAergic transmission and susceptibility to visual deprivation are related to endocannabinoid sensitivity in mouse visual cortex. *J. Neurosci.* 30, 14261-14272. <http://dx.doi.org/10.1523/JNEUROSCI.2979-10.2010>.
- Katzner, S., Busse, L., Carandini, M., 2011. GABA inhibition controls response gain in visual cortex. *J. Neurosci.* 31, 5931-5941. <http://dx.doi.org/10.1523/JNEUROSCI.5753-10.2011>.
- Knight, R.A., Silverstein, S.M., 2001. A process-oriented approach for averting confounds resulting from general performance deficiencies in schizophrenia. *J. Abnorm. Psychol.* 110, 15-30. <http://dx.doi.org/10.1037/0021-843X.110.1.15>.
- Laffi, G.L., Safran, A.B., 1993. Persistent visual changes following hashish consumption. *Br. J. Ophthalmol.* 77, 601-602.
- Lalonde, M.R., Jollimore, C.A.B., Stevens, K., Barnes, S., Kelly, M.E. M., 2006. Cannabinoid receptor-mediated inhibition of calcium signaling in rat retinal ganglion cells. *Mol. Vis.* 12, 1160-1166.
- Laprevote, V., Schwitzer, T., Giersch, A., Schwan, R., 2015. Flash electroretinogram and addictive disorders. *Prog. Neuropsychopharmacol. Biol. Psychiatry* 56, 264. <http://dx.doi.org/10.1016/j.pnpbp.2014.04.005>.
- Lavoie, J., Illiano, P., Sotnikova, T.D., Gainetdinov, R.R., Beaulieu, J.-M., Hébert, M., 2014. The electroretinogram as a biomarker of central dopamine and serotonin: potential relevance to psychiatric disorders. *Biol. Psychiatry* 75, 479-486. <http://dx.doi.org/10.1016/j.biopsych.2012.11.024>.
- Lerner, A.G., Goodman, C., Rudinski, D., Bleich, A., 2011. Benign and time-limited visual disturbances (flashbacks) in recent abstinent high-potency heavy cannabis smokers: a case series study. *Isr. J. Psychiatry Relat. Sci.* 48, 25-29.
- Leweke, F.M., Schneider, U., Thies, M., Münte, T.F., Emrich, H.M., 1999. Effects of synthetic delta9-tetrahydrocannabinol on binocular depth inversion of natural and artificial objects in man. *Psychopharmacology* 142, 230-235.
- Liu, C.-H., Heynen, A.J., Shuler, M.G.H., Bear, M.F., 2008. Cannabinoid receptor blockade reveals parallel plasticity mechanisms in different layers of mouse visual cortex. *Neuron* 58, 340-345. <http://dx.doi.org/10.1016/j.neuron.2008.02.020>.
- Livingstone, M., Hubel, D., 1988. Segregation of form, color, movement, and depth: anatomy, physiology, and perception. *Science* 240, 740-749. <http://dx.doi.org/10.1126/science.3283936>.
- López, E.M., Tagliaferro, P., Onaivi, E.S., López-Costa, J.J., 2011. Distribution of CB2 cannabinoid receptor in adult rat retina. *Synapse* 65, 388-392. <http://dx.doi.org/10.1002/syn.20856>.
- Low, M.D., Klonoff, H., Marcus, A., 1973. The neurophysiological basis of the marijuana experience. *Can. Med. Assoc. J.* 108, 157-165.
- Lundqvist, T., 2005. Cognitive consequences of cannabis use: comparison with abuse of stimulants and heroin with regard to attention, memory and executive functions. *Pharmacol. Biochem. Behav.* 81, 319-330. <http://dx.doi.org/10.1016/j.pbb.2005.02.017>.
- Lu, Q., Straiker, A., Lu, Q., Maguire, G., 2000. Expression of CB2 cannabinoid receptor mRNA in adult rat retina. *Vis. Neurosci.* 17, 91-95.
- Mailleux, P., Parmentier, M., Vanderhaeghen, J.J., 1992. Distribution of cannabinoid receptor messenger RNA in the human brain: an in situ hybridization histochemistry with oligonucleotides. *Neurosci. Lett.* 143, 200-204.
- Marmor, M.F., Fulton, A.B., Holder, G.E., Miyake, Y., Brigell, M., Bach, M., International Society for Clinical Electrophysiology of Vision, 2009. ISCEV Standard for full-field clinical electroretinography (2008 update). *Doc. Ophthalmol.* 118, 69-77. <http://dx.doi.org/10.1007/s10633-008-9155-4>.
- Marzo, V.D., Bifulco, M., Petrocellis, L.D., 2004. The endocannabinoid system and its therapeutic exploitation. *Nat. Rev. Drug Discov.* 3, 771-784. <http://dx.doi.org/10.1038/nrd1495>.
- Matias, I., Wang, J.W., Moriello, A.S., Nieves, A., Woodward, D.F., Di Marzo, V., 2006. Changes in endocannabinoid and palmitoylethanolamide levels in eye tissues of patients with diabetic retinopathy and age-related macular degeneration. *Prostaglandins Leukot. Essent. Fatty Acids* 75, 413-418. <http://dx.doi.org/10.1016/j.plefa.2006.08.002>.
- Matsuda, L.A., Lolait, S.J., Brownstein, M.J., Young, A.C., Bonner, T.I., 1990. Structure of a cannabinoid receptor and functional expression of the cloned cDNA. *Nature* 346, 561-564. <http://dx.doi.org/10.1038/346561a0>.
- Matsuda, S., Kanemitsu, N., Nakamura, A., Mimura, Y., Ueda, N., Kurahashi, Y., Yamamoto, S., 1997. Metabolism of anandamide, an endogenous cannabinoid receptor ligand, in porcine ocular tissues. *Exp. Eye Res.* 64, 707-711. <http://dx.doi.org/10.1006/exer.1996.0265>.

- Mechoulam, R., Braun, P., Gaoni, Y., 1967. Stereospecific synthesis of (-)- Δ^9 -THC and (-)- Δ^9 -THC-11-OH. *J. Am. Chem. Soc.* 89, 4552-4554. <http://dx.doi.org/10.1021/ja00993a072>.
- Mechoulam, R., Hanus, L., 2000. A historical overview of chemical research on cannabinoids. *Chem. Phys. Lipids* 108, 1-13.
- Mechoulam, R., Parker, L.A., 2013. The endocannabinoid system and the brain. *Annu. Rev. Psychol.* 64, 21-47. <http://dx.doi.org/10.1146/annurev-psych-113011-143739>.
- Mechoulam, R., Shvo, Y., 1963. Hashish—I: the structure of cannabidiol. *Tetrahedron* 19, 2073-2078. [http://dx.doi.org/10.1016/0040-4020\(63\)85022-X](http://dx.doi.org/10.1016/0040-4020(63)85022-X).
- Mehra, R., Moore, B.A., Crothers, K., Tetrault, J., Fiellin, D.A., 2006. The association between marijuana smoking and lung cancer: a systematic review. *Arch. Intern. Med.* 166, 1359-1367. <http://dx.doi.org/10.1001/archinte.166.13.1359>.
- Meier, M.H., Caspi, A., Ambler, A., Harrington, H., Houts, R., Keefe, R.S.E., McDonald, K., Ward, A., Poulton, R., Moffitt, T.E., 2012. Persistent cannabis users show neuropsychological decline from childhood to midlife. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 109, E2657-E2664. <http://dx.doi.org/10.1073/pnas.1206820109>.
- Middleton, T.P., Protti, D.A., 2011. Cannabinoids modulate spontaneous synaptic activity in retinal ganglion cells. *Vis. Neurosci.* 28, 393-402. <http://dx.doi.org/10.1017/S0952523811000198>.
- Moldrich, G., Wenger, T., 2000. Localization of the CB1 cannabinoid receptor in the rat brain. An immunohistochemical study. *Peptides* 21, 1735-1742.
- Moore, T.H.M., Zammit, S., Lingford-Hughes, A., Barnes, T.R.E., Jones, P.B., Burke, M., Lewis, G., 2007. Cannabis use and risk of psychotic or affective mental health outcomes: a systematic review. *Lancet* 370, 319-328. [http://dx.doi.org/10.1016/S0140-6736\(07\)61162-3](http://dx.doi.org/10.1016/S0140-6736(07)61162-3).
- Munro, S., Thomas, K.L., Abu-Shaar, M., 1993. Molecular characterization of a peripheral receptor for cannabinoids. *Nature* 365, 61-65. <http://dx.doi.org/10.1038/365061a0>.
- Nowak, L.G., James, A.C., Bullier, J., 1997. Corticocortical connections between visual areas 17 and 18a of the rat studied in vitro: spatial and temporal organisation of functional synaptic responses. *Exp. Brain Res.* 117, 219-241.
- Noyes Jr., R., Brunk, S.F., Avery, D.A., Canter, A.C., 1975. The analgesic properties of delta-9-tetrahydrocannabinol and codeine. *Clin. Pharmacol. Ther.* 18, 84-89.
- Ohirohenuan, I.E., Mechler, F., Purpura, K.P., Schmid, A.M., Hu, Q., Victor, J.D., 2014. Cannabinoid neuromodulation in the adult early visual cortex. *PLoS One* 9, e87362. <http://dx.doi.org/10.1371/journal.pone.0087362>.
- Onaivi, E.S., Ishiguro, H., Gong, J.-P., Patel, S., Meozzi, P.A., Myers, L., Perchuk, A., Mora, Z., Tagliaferro, P.A., Gardner, E., Brusco, A., Akinshola, B.E., Hope, B., Lujilde, J., Inada, T., Iwasaki, S., Macharia, D., Teasenfiz, L., Arinami, T., Uhl, G.R., 2008. Brain neuronal CB2 cannabinoid receptors in drug abuse and depression: from mice to human subjects. *PLoS One* 3, e1640. <http://dx.doi.org/10.1371/journal.pone.0001640>.
- Onaivi, E.S., Ishiguro, H., Gong, J.-P., Patel, S., Perchuk, A., Meozzi, P.A., Myers, L., Mora, Z., Tagliaferro, P., Gardner, E., Brusco, A., Akinshola, B.E., Liu, Q.-R., Hope, B., Iwasaki, S., Arinami, T., Teasenfiz, L., Uhl, G.R., 2006. Discovery of the presence and functional expression of cannabinoid CB2 receptors in brain. *Ann. N. Y. Acad. Sci.* 1074, 514-536. <http://dx.doi.org/10.1196/annals.1369.052>.
- Ong, W.Y., Mackie, K., 1999. A light and electron microscopic study of the CB1 cannabinoid receptor in primate brain. *Neuroscience* 92, 1177-1191.
- Opere, C.A., Zheng, W.D., Zhao, M., Lee, J.S., Kulkarni, K.H., Ohia, S.E., 2006. Inhibition of potassium- and ischemia-evoked [3 H] D-aspartate release from isolated bovine retina by cannabinoids. *Curr. Eye Res.* 31, 645-653. <http://dx.doi.org/10.1080/02713680600762747>.
- Palczewski, K., 2011. Chemistry and Biology of Vision. *J. Biol. Chem.* 287, 1612-1619. <http://dx.doi.org/10.1074/jbc.R111.301150>.
- Patrick, G., Straumanis, J.J., Struve, F.A., Nixon, F., Fitz-Gerald, M.J., Manno, J.E., Soucair, M., 1995. Auditory and visual P300 event related potentials are not altered in medically and psychiatrically normal chronic marijuana users. *Life Sci.* 56, 2135-2140.
- Pattij, T., Wiskerke, J., Schoffelmeer, A.N.M., 2008. Cannabinoid modulation of executive functions. *Eur. J. Pharmacol.* 585, 458-463. <http://dx.doi.org/10.1016/j.ejphar.2008.02.099>.
- Polich, J., 2007. Updating P300: an integrative theory of P3a and P3b. *Clin. Neurophysiol.* 118, 2128-2148. <http://dx.doi.org/10.1016/j.clinph.2007.04.019>.
- Porcella, A., Casellas, P., Gessa, G.L., Pani, L., 1998. Cannabinoid receptor CB1 mRNA is highly expressed in the rat ciliary body: implications for the antiglaucoma properties of marijuana. *Brain Res. Mol. Brain Res.* 58, 240-245.
- Porcella, A., Maxia, C., Gessa, G.L., Pani, L., 2000. The human eye expresses high levels of CB1 cannabinoid receptor mRNA and protein. *Eur. J. Neurosci.* 12, 1123-1127.
- Potter, D.J., Clark, P., Brown, M.B., 2008. Potency of delta 9-THC and other cannabinoids in cannabis in England in 2005: implications for psychoactivity and pharmacology. *J. Forensic Sci.* 53, 90-94. <http://dx.doi.org/10.1111/j.1556-4029.2007.00603.x>.
- Raes, E., Verstraete, A.-G., 2006. Cannabis and driving: the situation in Europe. *Ann. Pharm. Fr.* 64, 197-203.
- Ross, R.A., Coutts, A.A., McFarlane, S.M., Anavi-Goffer, S., Irving, A.J., Pertwee, R.G., MacEwan, D.J., Scott, R.H., 2001. Actions of cannabinoid receptor ligands on rat cultured sensory neurones: implications for antinociception. *Neuropharmacology* 40, 221-232.
- Russo, E.B., Merzouki, A., Mesa, J.M., Frey, K.A., Bach, P.J., 2004. Cannabis improves night vision: a case study of dark adaptometry and scotopic sensitivity in kif smokers of the Rif mountains of northern Morocco. *J. Ethnopharmacol.* 93, 99-104. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jep.2004.03.029>.
- Sauvanier, M., Constans, J., Skopinski, S., Barcat, D., Berard, A., Parrot, F., Guerin, V., Vergnes, C., Midy, D., Baste, J.C., Conri, C., 2002. Lower limb occlusive arteriopathy: retrospective analysis of 73 patients with onset before the age of 50 years. *J. Mal. Vasc.* 27, 69-76.
- Schlicker, E., Timm, J., Göthert, M., 1996. Cannabinoid receptor-mediated inhibition of dopamine release in the retina. *Naunyn Schmiedeberg's Arch. Pharmacol.* 354, 791-795.
- Schneider, U., Borsutzky, M., Seifert, J., Leweke, F.M., Huber, T.J., Rollnik, J.D., Emrich, H.M., 2002. Reduced binocular depth inversion in schizophrenic patients. *Schizophr. Res.* 53, 101-108.
- Schneider, U., Dietrich, D.E., Sternemann, U., Seeland, I., Gielsdorf, D., Huber, T.J., Becker, H., Emrich, H.M., 1998. Reduced binocular depth inversion in patients with alcoholism. *Alcohol Alcohol.* 33, 168-172.
- Schubart, C.D., Sommer, I.E.C., Fusar-Poli, P., de Witte, L., Kahn, R.S., Boks, M.P.M., 2014. Cannabidiol as a potential treatment for psychosis. *Eur. Neuropsychopharmacol.* 24, 51-64. <http://dx.doi.org/10.1016/j.euroneuro.2013.11.002>.
- Semple, D.M., Ramsden, F., McIntosh, A.M., 2003. Reduced binocular depth inversion in regular cannabis users. *Pharmacol. Biochem. Behav.* 75, 789-793.
- Sherman, S.M., Guillery, R.W., 2002. The role of the thalamus in the flow of information to the cortex. *Philos. Trans. R. Soc. Lond. B.* 357, 1695-1708. <http://dx.doi.org/10.1098/rstb.2002.1161>.
- Simon, G., Petit, L., Bernard, C., Rebaï, M., 2007. N170 ERPs could represent a logographic processing strategy in visual word recognition. *Behav. Brain Funct.* 3, 21. <http://dx.doi.org/10.1186/1744-9081-3-21>.
- Skosnik, P., Krishnan, G., Vohs, J., O'Donnell, B., 2006. The effect of cannabis use and gender on the visual steady state evoked potential. *Clin. Neurophysiol.* 117, 144-156. <http://dx.doi.org/10.1016/j.clinph.2005.09.024>.

- Solowij, N., Battisti, R., 2008. The chronic effects of cannabis on memory in humans: a review. *Curr. Drug Abuse Rev.* 1, 81-98.
- Solowij, N., Michie, P.T., Fox, A.M., 1995. Differential impairments of selective attention due to frequency and duration of cannabis use. *Biol. Psychiatry* 37, 731-739. [http://dx.doi.org/10.1016/0006-3223\(94\)00178-6](http://dx.doi.org/10.1016/0006-3223(94)00178-6).
- Somers, D.C., Sheremata, S.L., 2013. Attention maps in the brain. *Wiley Interdiscip. Rev.* 4, 327-340. <http://dx.doi.org/10.1002/wcs.1230>.
- Stamer, W.D., Golightly, S.F., Hosohata, Y., Ryan, E.P., Porter, A.C., Varga, E., Noecker, R.J., Felder, C.C., Yamamura, H.I., 2001. Cannabinoid CB(1) receptor expression, activation and detection of endogenous ligand in trabecular meshwork and ciliary process tissues. *Eur. J. Pharmacol.* 431, 277-286.
- Straiker, A.J., Maguire, G., Mackie, K., Lindsey, J., 1999a. Localization of cannabinoid CB1 receptors in the human anterior eye and retina. *Investig. Ophthalmol. Vis. Sci.* 40, 2442-2448.
- Straiker, A., Mackie, K., 2006. Cannabinoids, electrophysiology, and retrograde messengers: challenges for the next 5 years. *AAPS J.* 8, E272-E276. <http://dx.doi.org/10.1208/aapsj080231>.
- Straiker, A., Stella, N., Piomelli, D., Mackie, K., Karten, H.J., Maguire, G., 1999b. Cannabinoid CB1 receptors and ligands in vertebrate retina: localization and function of an endogenous signaling system. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 96, 14565-14570.
- Straiker, A., Sullivan, J.M., 2003. Cannabinoid receptor activation differentially modulates ion channels in photoreceptors of the tiger salamander. *J. Neurophysiol.* 89, 2647-2654. <http://dx.doi.org/10.1152/jn.00268.2002>.
- Struik, M.L., Yazulla, S., Kamermans, M., 2006. Cannabinoid agonist WIN 55212-2 speeds up the cone response to light offset in goldfish retina. *Vis. Neurosci.* 23, 285-293. <http://dx.doi.org/10.1017/S0952523806232127>.
- Sugiura, T., Waku, K., 2000. 2-Arachidonoylglycerol and the cannabinoid receptors. *Chem. Phys. Lipids* 108, 89-106.
- Tetrault, J.M., Crothers, K., Moore, B.A., Mehra, R., Concato, J., Fiellin, D.A., 2007. Effects of marijuana smoking on pulmonary function and respiratory complications: a systematic review. *Arch. Intern. Med.* 167, 221-228. <http://dx.doi.org/10.1001/archinte.167.3.221>.
- Tootell, R.B., Hamilton, S.L., Switkes, E., 1988. Functional anatomy of macaque striate cortex. IV. Contrast and magno-parvo streams. *J. Neurosci.* 8, 1594-1609.
- Tsou, K., Brown, S., Sañudo-Peña, M.C., Mackie, K., Walker, J.M., 1998. Immunohistochemical distribution of cannabinoid CB1 receptors in the rat central nervous system. *Neuroscience* 83, 393-411.
- Valenti, M., Cottone, E., Martinez, R., De Pedro, N., Rubio, M., Viveros, M.P., Franzoni, M.F., Delgado, M.J., Di Marzo, V., 2005. The endocannabinoid system in the brain of *Carassius auratus* and its possible role in the control of food intake. *J. Neurochem.* 95, 662-672. <http://dx.doi.org/10.1111/j.1471-4159.2005.03406.x>.
- Van Sickle, M.D., 2005. Identification and functional characterization of brainstem cannabinoid CB2 receptors. *Science* 310, 329-332. <http://dx.doi.org/10.1126/science.1115740>.
- Verdejo-García, A., Rivas-Pérez, C., López-Torrecillas, F., Pérez-García, M., 2006. Differential impact of severity of drug use on frontal behavioral symptoms. *Addict. Behav.* 31, 1373-1382. <http://dx.doi.org/10.1016/j.addbeh.2005.11.003>.
- Vescovi, P.P., Pedrazzoni, M., Michelini, M., Maninetti, L., Bernardelli, F., Passeri, M., 1992. Chronic effects of marijuana smoking on luteinizing hormone, follicle-stimulating hormone and prolactin levels in human males. *Drug Alcohol Depend.* 30, 59-63.
- Weber, B., Schlicker, E., 2001. Modulation of dopamine release in the guinea-pig retina by G(i)- but not by G(s)- or G(q)-protein-coupled receptors. *Fundam. Clin. Pharmacol.* 15, 393-400.
- Weil, A.T., Zinberg, N.E., Nelsen, J.M., 1969. Clinical and psychological effects of marijuana in man. *Subst. Use Misuse* 4, 427-451. <http://dx.doi.org/10.3109/10826086909062025>.
- Wei, Y., Wang, X., Wang, L., 2009. Presence and regulation of cannabinoid receptors in human retinal pigment epithelial cells. *Mol. Vis.* 15, 1243-1251.
- Wei, Y., Wang, X., Zhao, F., Zhao, P.-Q., Kang, X.-L., 2013. Cannabinoid receptor 1 blockade protects human retinal pigment epithelial cells from oxidative injury. *Mol. Vis.* 19, 357-366.
- Welch, K.A., Stanfield, A.C., McIntosh, A.M., Whalley, H.C., Job, D.E., Moorhead, T.W., Owens, D.G.C., Lawrie, S.M., Johnstone, E.C., 2011. Impact of cannabis use on thalamic volume in people at familial high risk of schizophrenia. *Br. J. Psychiatry* 199, 386-390. <http://dx.doi.org/10.1192/bjp.bp.110.090175>.
- Westlake, T.M., Howlett, A.C., Bonner, T.I., Matsuda, L.A., Herkenham, M., 1994. Cannabinoid receptor binding and messenger RNA expression in human brain: an in vitro receptor autoradiography and in situ hybridization histochemistry study of normal aged and Alzheimer's brains. *Neuroscience* 63, 637-652. [http://dx.doi.org/10.1016/0306-4522\(94\)90511-8](http://dx.doi.org/10.1016/0306-4522(94)90511-8).
- West, M.E., 1991. Cannabis and night vision. *Nature* 351, 703-704. <http://dx.doi.org/10.1038/351703b0>.
- Wilson, R.I., Nicoll, R.A., 2001. Endogenous cannabinoids mediate retrograde signalling at hippocampal synapses. *Nature* 410, 588-592. <http://dx.doi.org/10.1038/35069076>.
- Winton-Brown, T.T., Allen, P., Bhattacharyya, S., Borgwardt, S.J., Fusar-Poli, P., Crippa, J.A., Seal, M.L., Martin-Santos, R., Ffytche, D., Zuardi, A.W., Atakan, Z., McGuire, P.K., 2011. Modulation of auditory and visual processing by delta-9-tetrahydrocannabinol and cannabidiol: an fMRI study. *Neuropsychopharmacology* 36, 1340-1348. <http://dx.doi.org/10.1038/npp.2011.17>.
- Yazulla, S., 2008. Endocannabinoids in the retina: from marijuana to neuroprotection. *Prog. Retin. Eye Res.* 27, 501-526. <http://dx.doi.org/10.1016/j.preteyeres.2008.07.002>.
- Yazulla, S., Studholme, K.M., McIntosh, H.H., Fan, S.F., 2000. Cannabinoid receptors on goldfish retinal bipolar cells: electron-microscope immunocytochemistry and whole-cell recordings. *Vis. Neurosci.* 17, 391-401.
- Yoneda, T., Kameyama, K., Esumi, K., Daimyo, Y., Watanabe, M., Hata, Y., 2013. Developmental and visual input-dependent regulation of the CB1 cannabinoid receptor in the mouse visual cortex. *PLoS One* 8, e53082. <http://dx.doi.org/10.1371/journal.pone.0053082>.
- Yoon, J.H., Sheremata, S.L., Rokem, A., Silver, M.A., 2013. Windows to the soul: vision science as a tool for studying biological mechanisms of information processing deficits in schizophrenia. *Front. Psychol.* 4, 681. <http://dx.doi.org/10.3389/fpsyg.2013.00681>.
- Zabouri, N., Bouchard, J.-F., Casanova, C., 2011. Cannabinoid receptor type 1 expression during postnatal development of the rat retina. *J. Comp. Neurol.* 519, 1258-1280. <http://dx.doi.org/10.1002/cne.22534>.
- Zhang, C.-Q., Wu, H.-J., Wang, S.-Y., Yin, S., Lu, X.-J., Miao, Y., Wang, X.-H., Yang, X.-L., Wang, Z., 2013. Suppression of outward K⁺ currents by WIN55212-2 in rat retinal ganglion cells is independent of CB1/CB2 receptors. *Neuroscience* 253, 183-193. <http://dx.doi.org/10.1016/j.neuroscience.2013.08.056>.

La partie suivante est consacrée à décrire la physiologie rétinienne et plus spécifiquement celle à l'origine des mécanismes de la phototransduction, le fonctionnement et le rôle des principales cellules impliquées dans le traitement de l'information rétinienne –les photorécepteurs, les cellules bipolaires et ganglionnaires- ainsi que les principales voies visuelles constituées au niveau rétinien qui vont faire relai aux stades plus intégrés comme le thalamus et le cortex visuel. De plus, la rétine étant une partie intégrante du système nerveux central, cette section décrit les principaux neurotransmetteurs présents dans la rétine et leurs rôles dans la physiologie rétinienne.

III. NEURORETINE: STRUCTURE ET FONCTION

3.1 ARCHITECTURE FONCTIONNELLE RÉTINIENNE

3.1.1 Physiologie rétinienne

Bien qu'elle soit un organe périphérique, la rétine, de par son origine embryologique, appartient au système nerveux central. Pendant l'embryogénèse, elle se forme à partir de la vésicule optique qui est une excroissance du diencephale. En s'invaginant, la vésicule optique va constituer la cupule optique dont la partie interne deviendra la rétine et l'épithélium pigmentaire (132). La rétine est la composante neurale de l'œil et permet de transformer la lumière captée par l'œil et provenant de l'environnement en signal électrique qui va être transmis au cerveau et en particulier au cortex visuel primaire et secondaire par le nerf optique formé par les axones des cellules ganglionnaires. En dehors de ces fonctions dans le traitement de l'information visuelle, la rétine possède également des propriétés à l'origine d'une voie dite « non-visuelle » qui assure la régulation des rythmes circadiens (133). Conformément au sujet de ce travail, il est uniquement discuté dans cette partie le rôle de la rétine dans le traitement de l'information visuelle.

Lorsque la lumière issue de l'environnement est captée par l'œil, elle traverse différentes structures optiques et oculaires avant d'atteindre les photorécepteurs, premier stade du traitement de l'information visuelle initiant la cascade de la phototransduction (134). Ainsi, la lumière traverse la cornée, l'humeur aqueuse, le cristallin, l'humeur vitrée ainsi que d'autres structures comme les corps ciliaires et l'iris. Après son passage par la cornée et le cristallin, la lumière va être réfractée et ainsi focalisée permettant la formation d'images nettes sur la rétine. Toutes ces structures doivent être intactes et leur modification, notamment de structure, peut entraîner des altérations de la focalisation d'images sur la rétine. Il existe plusieurs types de cellules ou neurones rétiniens énumérés ci-après dans l'ordre du traitement

de l'information visuelle: les photorécepteurs (les cônes et les bâtonnets), les cellules bipolaires et les cellules ganglionnaires. D'autres cellules vont jouer le rôle d'interneurones, à savoir les cellules horizontales et les cellules amacrines (*figure 4*).

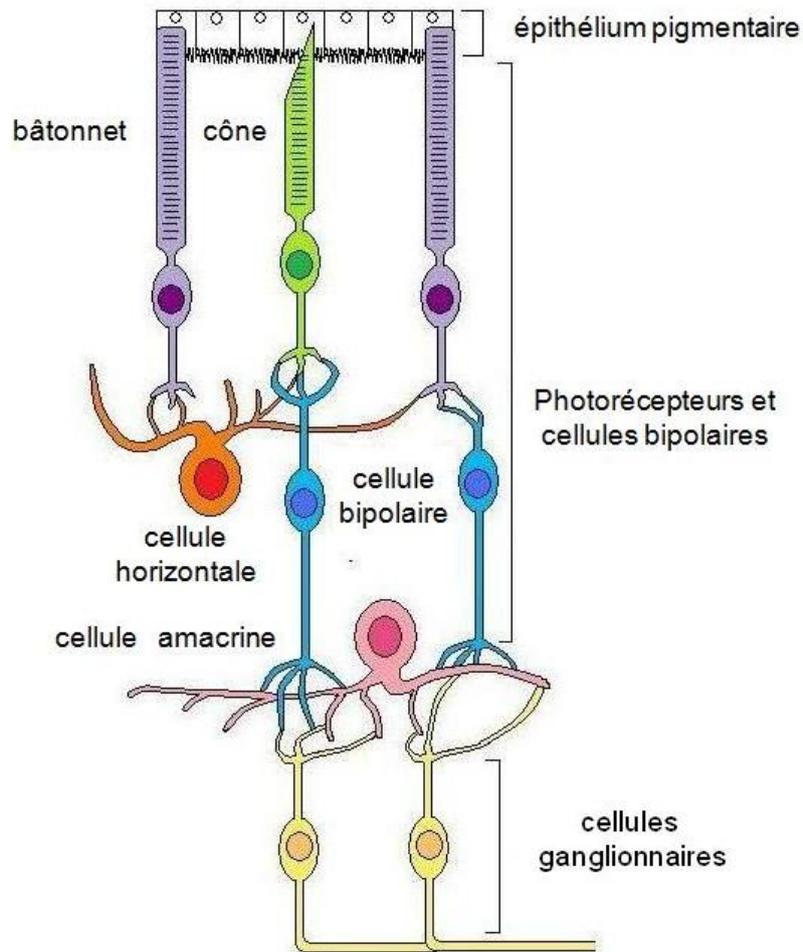
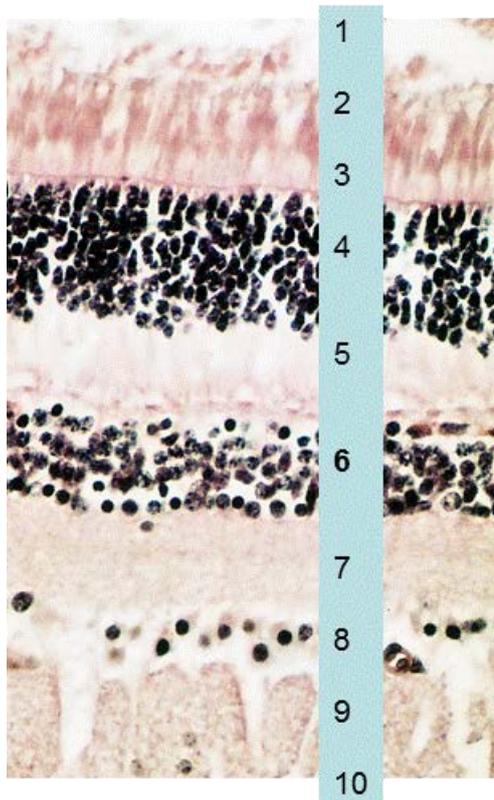


Figure 4 : Représentation schématique de la rétine et des principales cellules impliquées dans le traitement de l'information rétinienne et qui sont accessibles aux mesures électrophysiologiques fonctionnelles (issue de (135))

Ces cellules sont intégrées dans une organisation rétinienne en cinq principales couches cellulaires (*figure 5*) :

- *la couche nucléaire/granulaire externe comprenant les corps cellulaires des photorécepteurs,
- *la couche plexiforme externe dans laquelle sont localisés les prolongements et les contacts synaptiques des cellules photoréceptrices, des cellules bipolaires et des cellules horizontales,
- *la couche nucléaire/granulaire interne qui comprend les corps cellulaires des cellules bipolaires, des cellules horizontales et des cellules amacrines,
- *la couche plexiforme interne dans laquelle sont localisés les prolongements et les contacts synaptiques des cellules bipolaires, des cellules ganglionnaires et des cellules amacrines,
- *la couche des cellules ganglionnaires dans laquelle sont présents les corps des cellules ganglionnaires.

L'information rétinienne est transmise au travers de trois stades principaux représentés par les cellules photoréceptrices, les cellules bipolaires et les cellules ganglionnaires. Les cellules interneurones –les cellules amacrines et horizontales- permettent une amplification du signal qui est transmis entre les trois stades principaux (134,136,137).



- 1 : épithélium pigmentaire
- 2 : articles externes et internes des photorécepteurs
- 3 : limitante externe
- 4 : couches granulaires externes
- 5 : couche plexiforme externe
- 6 : couche granulaire interne
- 7 : couche plexiforme interne
- 8 : couche des corps cellulaires des cellules ganglionnaires
- 9 : couche des fibres du nerf optique
- 10 : limitante interne

Figure 5 : Coupe histologique de rétine humaine (tirée et modifiée de (138))

Figure 11-1-1

Afin d'assurer le bon fonctionnement de la physiologie rétinienne et de la phototransduction, l'épithélium pigmentaire joue un rôle crucial. L'épithélium pigmentaire assure la dégradation et la régénération des disques des segments externes des photorécepteurs qui sont altérés par des réactions photooxydatives, assurant ainsi leur constant renouvellement et permettant les mécanismes de phototransduction (139). De plus, il assure la ré-isomérisation du tout-trans rétinol, étape primordiale du cycle visuel (140). Les autres rôles principaux joués par l'épithélium pigmentaire sont trophiques et métaboliques. En effet, le transport épithélial de l'épithélium pigmentaire permet d'apporter aux photorécepteurs les nutriments nécessaires, de réguler l'homéostasie ionique dans l'espace subrétinal et d'éliminer l'eau et les métabolites des différents tissus rétiens (141,142). De plus, cette structure contient de la mélanine qui lui permet d'atténuer la réflexion parasite de la lumière captée par

l'œil (143) et sécrète des molécules de signalisation cellulaire qui permettent la communication avec les tissus adjacents à la rétine (142).

3.1.2 Les photorécepteurs

Comme précédemment décrit, les cônes et les bâtonnets sont les deux types de photorécepteurs rétiniens. Ils sont composés d'un segment ou article externe composé d'une membrane externe (repliée pour les cônes) qui comprend les disques membranaires contenant les pigments photosensibles (rhodopsine pour les bâtonnets et opsine L, M, S pour les cônes) et d'un segment ou article interne constitué du noyau cellulaire et se terminant par les prolongements synaptiques (pédicules larges et étroits pour les cônes L/M et S ; sphérules pour les bâtonnets) qui vont interagir avec les cellules bipolaires et les cellules horizontales. Les cônes et les bâtonnets se différencient par leurs propriétés fonctionnelles directement liées aux photopigments qu'ils contiennent, par leur distribution dans la rétine, et par l'organisation de leurs connections synaptiques (144).

En fonction du niveau de luminance de l'environnement, c'est-à-dire de l'éclairement de celui-ci, les photorécepteurs vont être activés de manière différente selon leurs propriétés fonctionnelles. Il est donc possible de distinguer trois types de vision qui dépendent à la fois du niveau d'éclairement rétinien et des cellules photoréceptrices qui vont être activées. La vision scotopique correspond à la perception visuelle quand le niveau d'éclairement de l'environnement est inférieur à des niveaux de luminance de 10^{-3} cd/m² et est liée à l'activité des bâtonnets (145). Dès que l'éclairement augmente, les cônes commencent alors à être activés et participent donc à la perception visuelle. Ainsi, la vision mésopique assure une perception visuelle dans des ambiances lumineuses intermédiaires, entre la vision scotopique et la vision photopique, et est permise par l'activation à la fois du système des bâtonnets et du

système des cônes. Une fois la luminance supérieure à 3 cd/m², le système des bâtonnets est saturé et seuls les cônes participent à la perception visuelle qui s'appelle vision photopique (145).

Dans la rétine humaine, il est possible de distinguer trois types de cônes réagissant à des longueurs d'onde différentes selon l'opsine qu'ils contiennent (*figure 6*) (146) :

*les cônes S ou cônes bleus activés par des courtes longueurs d'onde avec un pic de sensibilité aux alentours de 420 nm, ils contiennent le photopigment S

*les cônes M ou cônes vert activés par des longueurs d'onde moyennes avec un pic de sensibilité aux alentours de 530 nm, ils contiennent le photopigment M

*les cônes L ou cônes rouges activés par des longues longueurs d'onde avec un pic de sensibilité situé autour de 560 nm, ils contiennent le photopigment L.

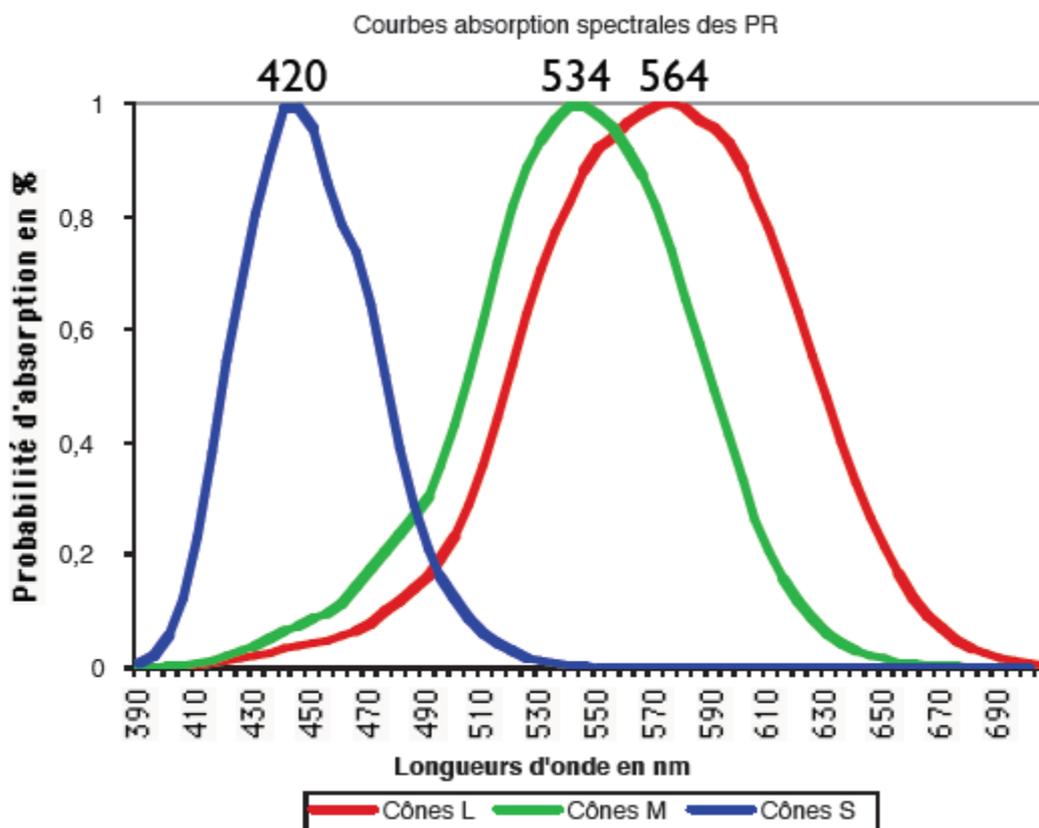


Figure 6 : Courbes d'absorption spectrales des photopigments des cônes (tirée et modifiée de (147))

Il n'existe en revanche qu'un seul type de bâtonnet dont le pic de sensibilité spectrale se situe dans la région des verts du spectre visible à environ 500 nm, il contient la rhodopsine.

Les cônes et les bâtonnets réagissent à des stimuli d'intensités lumineuses différentes qui sont adaptées aux mécanismes de phototransduction de chacune de ces cellules. Les bâtonnets sont sensibles à des conditions de très faible luminosité, présentant de ce fait une grande sensibilité à la lumière, une faible résolution spatiale et une pauvre résolution temporelle ; ce qui ne leur permet pas de percevoir les détails ni de participer à la vision fine. De plus, ils s'adaptent doucement aux changements de luminance et ne participent pas à la vision des couleurs. Les cônes présentent une faible sensibilité à la lumière mais ont une forte résolution spatiale, permettent une acuité visuelle fine et en couleur et s'adaptent rapidement aux changements de luminance (144). En d'autres termes, les bâtonnets peuvent induire une réponse dès le premier photon capté alors que les cônes nécessitent d'en capter de 10 à 100 pour induire une réponse (148). De plus, les mécanismes de saturation de chacune de ces cellules sont également différents, notamment pour des niveaux d'éclairement de forte luminance. Les cônes présentent une très bonne adaptation à la lumière, ce qui leur permet de récupérer très rapidement, de l'ordre de 200 millisecondes, après un changement intense de courant dans la cellule (149). Pour les bâtonnets, ce temps de récupération est environ quatre fois plus long (149).

Les connections synaptiques varient également entre le système des cônes et celui des bâtonnets. Ces deux systèmes convergent vers les mêmes cellules ganglionnaires qui transmettent l'information visuelle provenant à la fois des cônes et des bâtonnets selon le niveau d'éclairement (137). Néanmoins, les circuits synaptiques reliant les photorécepteurs

aux cellules ganglionnaires sont différents. Dans la zone fovéolaire, dédiée à la vision centrale, à la vision fine et à l'acuité visuelle, la densité cellulaire est maximale et les cônes sont reliés à une seule cellule bipolaire, elle-même reliée à une seule cellule ganglionnaire. Dans la zone maculaire, les photorécepteurs (cônes et bâtonnets) sont densément représentés. Un cône est relié à plusieurs cellules bipolaires, elles-mêmes reliées à plusieurs cellules ganglionnaires. En périphérie, la densité cellulaire diminue et plusieurs bâtonnets sont reliés à une cellule bipolaire de bâtonnet qui est reliée aux prolongements de cellules amacrines spécifiques, les cellules amacrines AII. Celles-ci font synapses avec les terminaisons des cellules bipolaires des cônes qui établissent un contact synaptique avec les dendrites des cellules ganglionnaires (150).

La distribution des photorécepteurs est également variable dans la rétine (*figure 7*). Dans la rétine humaine, il y a entre 4 et 6 millions de cônes alors que le nombre de bâtonnets est largement supérieur et est compris entre 80 et 120 millions (151). Les cônes L et M représentent 90% des cônes totaux contre 10% pour les cônes S. La densité des bâtonnets est supérieure à celle des cônes dans toute la rétine sauf dans la partie centrale nommée fovéa. Dans cette région, la densité des cônes est environ 200 fois supérieure à celle des bâtonnets. Dans la partie centrale de la fovéa appelée fovéola, les bâtonnets sont absents (144). Les cônes sont régulièrement répartis entre les bâtonnets. Il existe donc deux systèmes anatomiques et fonctionnels qui sont parallèles et interdépendants : le système des cônes – cônes, bipolaires ON et OFF, ganglionnaires ON et OFF-, et des bâtonnets –bâtonnets, bipolaires ON, amacrines AII, ganglionnaires ON et OFF-. Le complexe issu des cônes L et M fonctionne avec deux types de bipolaires et de ganglionnaires, en opposition de polarisation, pour former des voies ON et OFF. Le complexe issu des cônes S fonctionne avec une voie ON et celui issu des bâtonnets fonctionne avec une voie ON. Par conséquent, les cônes ont une importance majeure pour la vision précise (détails, acuité visuelle), la vision

des couleurs et la vision des forts contrastes dans le champ visuel central (10 degrés centraux ou aire maculaire), alors qu'ils jouent un rôle d'alerte dans le champ visuel périphérique. Les bâtonnets permettent une vision en basse lumière, peu précise, en noir et blanc mais jouent un rôle majeur pour la survie des cônes car ils sécrètent un facteur de croissance indispensable à la viabilité des cônes, le RdCVF (Rod-derived Cone Viability Factor).

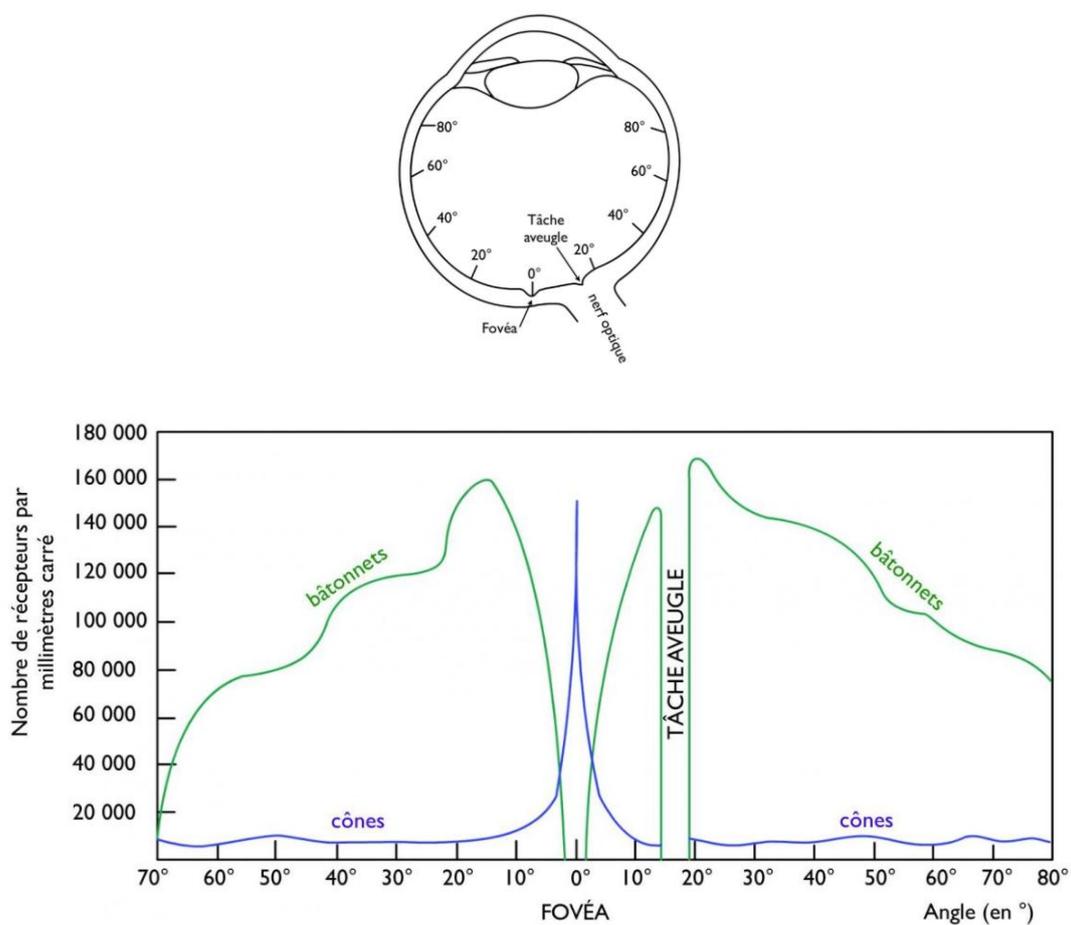


Figure 7 : Répartition des photorécepteurs le long de la rétine

3.1.3 La phototransduction

Une des particularités de la rétine se situe dans le fait que, contrairement aux neurones cérébraux dont la stimulation entraîne une dépolarisation de la membrane cellulaire avec émission d'un potentiel d'action et libération de neurotransmetteurs dans la fente synaptique (136), la stimulation des photorécepteurs n'induit pas de potentiels d'action mais la mise en activité de la cellule par la lumière entraîne une modification graduelle du potentiel de membrane et la libération de glutamate vers les neurones post-synaptiques (148). Ainsi, la transmission du signal ne se fait qu'au moyen de modifications graduelles du potentiel de membrane jusqu'aux cellules ganglionnaires, qui elles, vont être les premières cellules du système visuel à émettre un signal sous la forme d'un potentiel d'action (148).

Dans l'obscurité, les photorécepteurs sont dépolarisés et les canaux ioniques situés sur leurs segments externes sont ouverts. De ce fait, la concentration d'ions sodium et calcium présente à l'intérieur de la cellule est élevée, ce qui induit une libération continue de glutamate au niveau de la synapse avec les cellules horizontales et bipolaires sous-jacentes (152,153). L'ouverture ainsi que la fermeture des canaux ioniques sont régulées par la guanosine monophosphate cyclique (GMPc) (154). Dans l'obscurité, les concentrations de GMPc sont élevées dans les segments externes des photorécepteurs, ce qui contribue à maintenir les canaux ioniques GMPc-dépendants ouverts et ainsi à avoir un excès de sodium intra-cellulaire (155). Dans une ambiance lumineuse, les concentrations de GMPc diminuent entraînant ainsi la fermeture des canaux ioniques GMPc-dépendants et l'hyperpolarisation de la membrane cellulaire. Il s'en suit une diminution de la libération de glutamate par le photorécepteur au niveau synaptique (155).

Le phénomène à l'origine des mécanismes biochimiques de la phototransduction débute par l'absorption d'un photon par le photopigment des disques des photorécepteurs. Le rétinol est un chromophore absorbant la lumière contenue dans le photopigment des photorécepteurs et est couplé à une protéine appartenant à la famille des opsines qui permet d'adapter l'absorption de la lumière par le rétinol selon le spectre lumineux approprié. Pour les bâtonnets, quand la rhodopsine absorbe un photon, la configuration du rétinol subit un changement de forme et passe ainsi de la forme *11-cis* à la forme *tout-trans*, ce qui induit un changement de conformation stéréochimique de la rhodopsine (*figure 8*). Ce changement d'isoptère induit l'activation d'une protéine G située sur la face externe de la membrane des disques, la transducine, qui elle-même active une phosphodiesterase qui va hydrolyser le GMPc et ainsi provoquer la diminution de sa concentration dans le segment externe des bâtonnets (*figure 8*). Les canaux ioniques sodiques et calciques de la membrane vont être ainsi fermés, l'entrée du calcium dans la cellule se retrouve bloquée et différents échangeurs ioniques situés sur la membrane plasmique participent à la sortie du calcium de la cellule photoréceptrice (*figure 8*) (148). La diminution des taux de calcium intracellulaire entraîne l'activation des *Guanylate Cyclase Proteins (GCAP)* qui va permettre la production de GMPc par la guanylate cyclase et l'ouverture des canaux GMPc-dépendants (*figure 8*) (156). Il se produit ainsi une hyperpolarisation des bâtonnets et une diminution de la sécrétion de glutamate au niveau de la synapse avec les cellules sous-jacentes (157).

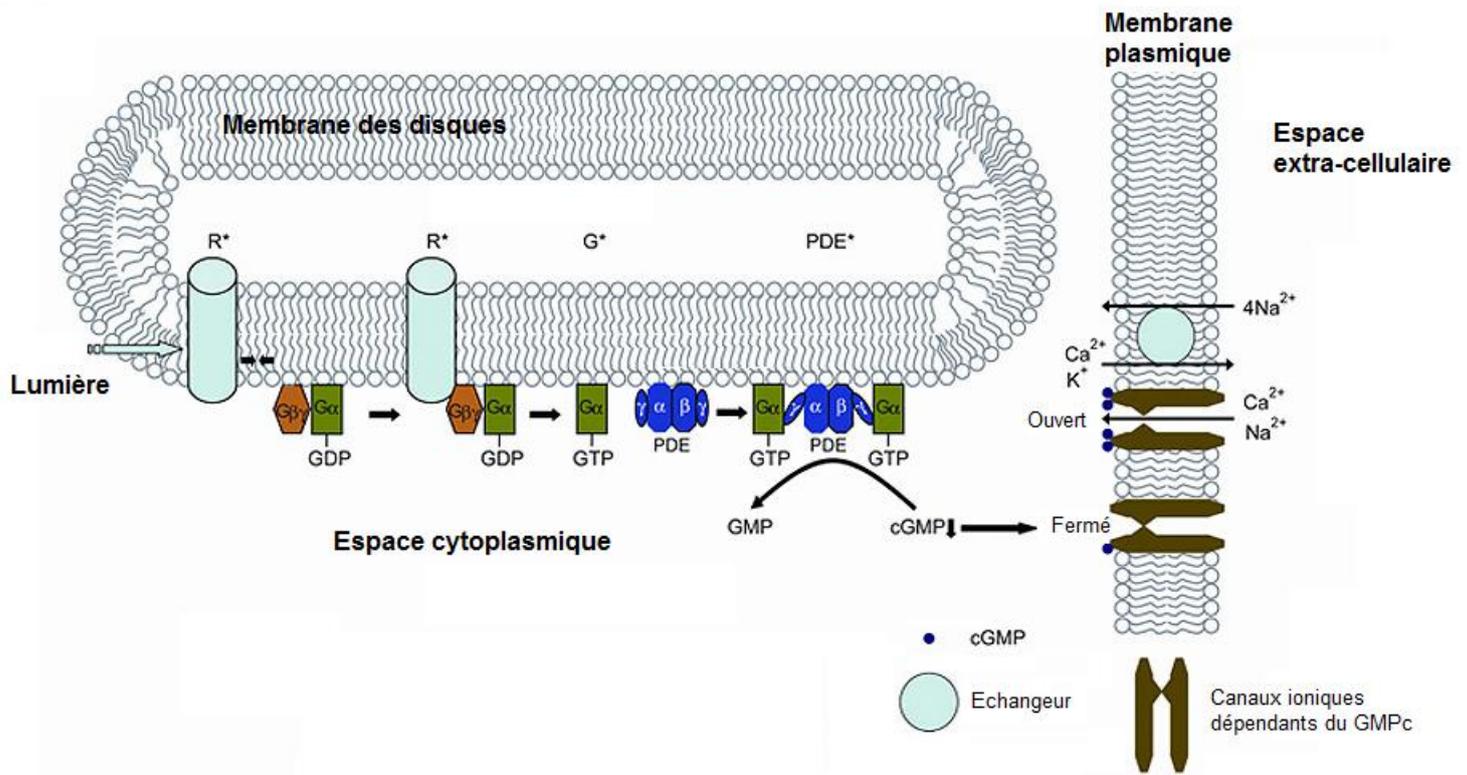


Figure 8: Représentation schématique de l'activation de la cascade de la phototransduction des bâtonnets (tirée et modifiée de (158)). Après l'absorption des photons, la rhodopsine activée (R*) active une protéine G située sur la face externe de la membrane des disques, la transducine, permettant l'hydrolyse du GDP en GTP, produisant le composé $G\alpha$ -GTP. Ces composés se fixent aux sous-unités inhibitrices de la phosphodiésterase qui va hydrolyser le GMPc en GMP et provoquer la diminution de la concentration intra-cytoplasmique du GMPc. Ceci permet la fermeture des canaux ioniques GMPc dépendants (sodiques et calciques) de la membrane plasmique et le blocage de l'influx de cations à l'intérieur du segment externe. Le calcium intracellulaire est sorti de la cellule

3.1.4 Les cellules bipolaires

Les photorécepteurs sont connectés avec les cellules bipolaires permettant ainsi la transmission directe du signal des photorécepteurs aux cellules bipolaires. Dans la fovéa, les cellules bipolaires font synapses avec plusieurs bâtonnets alors qu'elles ne sont connectées qu'avec un seul cône. Les cellules bipolaires fonctionnent selon l'organisation de champs récepteurs centraux et périphériques. Leur champ récepteur central est formé par le contact synaptique avec les cellules photoréceptrices alors que leur champ récepteur périphérique fait synapse avec les cellules horizontales. Les champs récepteurs centraux fonctionnent selon un mode ON ou OFF, ce qui signifie que la stimulation par la lumière d'un champ récepteur ON induit une excitation de la cellule bipolaire alors que la stimulation lumineuse du champ périphérique provoque une inhibition de la cellule. Les cellules bipolaires avec un champ récepteur à centre OFF fonctionnent de manière opposée (144). Les cellules bipolaires ON et OFF fonctionnent de manières différentes et ceci est en partie dû aux types de récepteurs au glutamate que ces cellules expriment. En effet, les cellules bipolaires à centre ON expriment des récepteurs au glutamate de type métabotrope qui sont couplés à une protéine G (mGluR6) et les cellules bipolaires OFF expriment des récepteurs au glutamate de type ionotrope, AMPA et kaïnate (159,160).

A l'obscurité, le glutamate libéré par les photorécepteurs se fixe sur les récepteurs au glutamate couplés aux protéines G des cellules bipolaires ON, ce qui permet l'activation d'une phospho-di-estérase (PDE) (*figure 9*). Cette PDE activée ouvre le cycle du GMPc intracellulaire à la bipolaire ON (*figure 9*). Il y a diminution de la concentration intracellulaire du GMPc ce qui entraîne la fermeture des canaux sodium membranaires entrants de la cellule bipolaire ON (*figure 9*). Il se produit ainsi l'hyperpolarisation de la cellule bipolaire ON

(figure 9). En ambiance lumineuse, les photorécepteurs s'hyperpolarisent et le glutamate libéré vers les cellules bipolaires diminue (figure 9) (161). Ainsi, il y a augmentation de la concentration en GMPc intracellulaire et maintien de l'ouverture des canaux sodium, ce qui permet la dépolarisation des cellules bipolaires ON, c'est une réponse ON (figure 9). Celle-ci est associée à une libération de glutamate au niveau de la sous couche-b de la couche plexiforme interne (162) (figure 9).

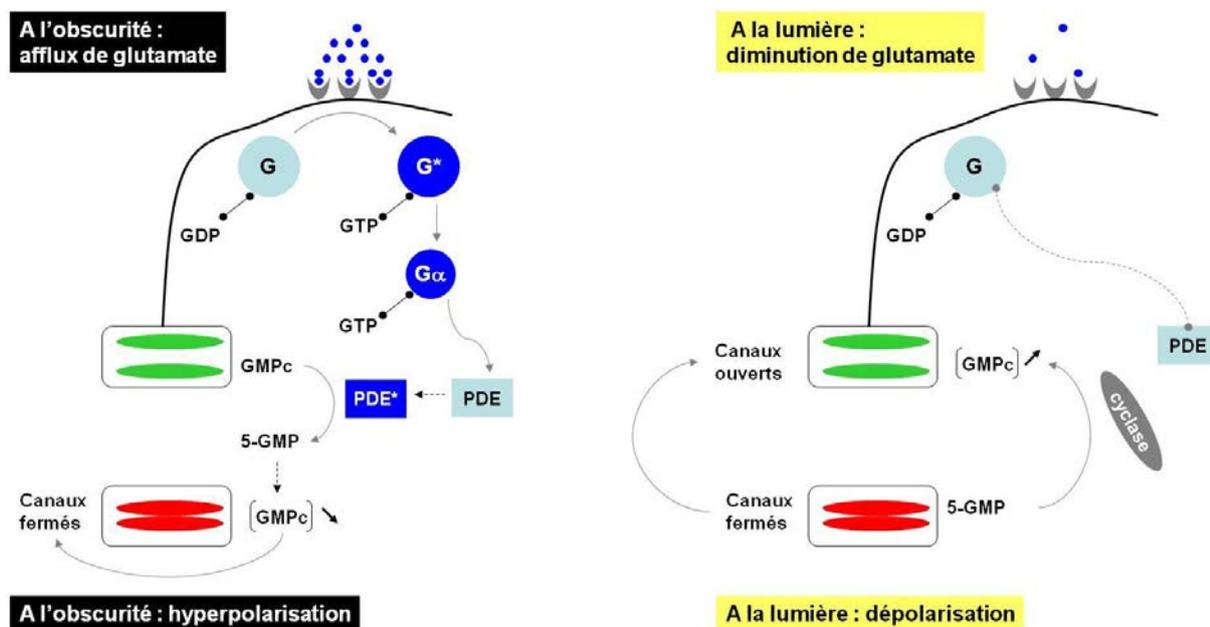


Figure 9: Représentation schématique des mécanismes à l'origine de l'hyperpolarisation et de la dépolarisation des cellules bipolaires ON à l'obscurité et à la lumière, respectivement (issue et modifiée de (163,164)).

Dans des conditions d'obscurité, le glutamate est libéré par les photorécepteurs entraînant l'ouverture des canaux sodiques et la dépolarisation des bipolaires OFF (165). A la lumière, le taux de glutamate libéré par les photorécepteurs diminue, et les canaux sodium se ferment. Les cellules bipolaires OFF s'hyperpolarisent, c'est une réponse OFF.

3.1.5 Les cellules ganglionnaires

Les cellules ganglionnaires représentent le lieu d'intégration des informations visuelles provenant des stades précédents et notamment de l'intégration des phénomènes d'excitation et d'inhibition résultant de nombreux neurotransmetteurs émis à la couche plexiforme interne par les cellules bipolaires (glutamate) et les cellules amacrines (166). L'étage de la couche des cellules ganglionnaires est le premier stade rétinien fournissant une information visuelle sous la forme de potentiels d'action, qui vont se propager le long des voies visuelles jusqu'au cortex. En effet, le signal rétinien initial correspond, au niveau des 2 premiers étages, à des propagations de variations de différences de potentiels pour devenir au 3^{ème} étage un influx visuel formé de potentiels d'action qui se propagent le long des voies visuelles jusqu'aux aires visuelles corticales. Concernant les cellules ganglionnaires, leurs axones constituent le nerf optique qui transmet l'information visuelle issue de la rétine jusqu'au thalamus -essentiellement les corps géniculés latéraux- puis au cortex visuel. Les cellules ganglionnaires fonctionnent elles-aussi avec un champ récepteur dont la stimulation va conditionner la fréquence de décharge des potentiels d'action émis par ces cellules. La majorité des cellules ganglionnaires, tout comme les cellules bipolaires avec qui elles sont connectées, ont un centre ON ou un centre OFF. Pour les cellules ganglionnaires à centre ON, la fréquence de décharge augmente quand le centre de leur champ récepteur est confronté à une hausse du niveau de luminance. Pour les cellules ganglionnaires à centre OFF, la

fréquence de décharge augmente quand le centre de leur champ récepteur est confronté à une baisse de luminance (167).

Il existe plusieurs types de cellules ganglionnaires différenciées selon leurs fonctions et leurs projections (168). Les petites cellules ganglionnaires de type P constituent la majorité des cellules ganglionnaires et se projettent sur les couches parvocellulaires du noyau géniculé latéral. Leur réponse se fait de manière tonique ce qui signifie que cette réponse est constante et présente jusqu'à la fin de la stimulation. A côté de ces cellules, les grandes cellules ganglionnaires de type M se projettent sur les couches magnocellulaires du noyau géniculé latéral. Elles sont moins nombreuses que les petites cellules de type P et possèdent un grand champ récepteur et une plus grande sensibilité aux stimuli à faible contraste. Ces propriétés favorisent une décharge plus rapide de potentiels d'action via le nerf optique. Une proportion encore plus petite de cellules ganglionnaires est constituée par les cellules ganglionnaires bistratifiées qui se projettent sur les couches koniocellulaires du noyau géniculé latéral. Ces cellules comportent un champ récepteur de grande taille et sont reliées en amont aux cônes bleus, rouges et verts. Elles pourraient être ainsi impliquées dans la vision des couleurs. Enfin, les cellules ganglionnaires intrinsèques photosensibles (iPRGCs) contiennent un photopigment spécifique, la mélanopsine et sont dépolarisées par la lumière. Elles se projettent au niveau du noyau suprachiasmatique, forment en partie la voie rétino-hypothalamique et sont impliquées dans la régulation des rythmes circadiens (169).

Comme précédemment décrit, les axones de ces différentes cellules ganglionnaires forment le nerf optique et vont parcourir le chiasma optique et le tractus optique puis se projeter sur plusieurs structures centrales afin d'exercer des fonctions différentes. Une grande partie des projections va vers le corps géniculé latéral pour assurer le traitement des

informations visuelles. Ainsi, les projections rétino-géniculo-striées forment la voie visuelle primaire et se terminent dans le cortex visuel primaire ou cortex strié. D'autres projections se font vers le prétectum et assurent ainsi un contrôle sur le réflexe pupillaire, vers le noyau suprachiasmatique pour assurer la régulation des rythmes circadiens ou vers le colliculus supérieur pour le contrôle des mouvements de la tête et des yeux (136).

3.1.6 Voies rétino-corticales

Les cônes M et L réalisent une jonction par synapses invaginant au travers de leurs pédicules larges avec les cellules bipolaires ON naines et diffuses et une jonction synaptique par contact superficiel avec les cellules bipolaires OFF naines et diffuses. Les cônes S vont réaliser des jonctions invaginant avec leurs pédicules étroits avec les cellules bipolaires ON de cônes S. Les bâtonnets au moyen de leur sphérule vont faire des synapses invaginant avec les cellules bipolaires ON des bâtonnets. Les cellules bipolaires naines ON et OFF ne sont pas présentes dans la fovéa et vont être reliées à un seul type de cônes M ou L. Ainsi, un cône fera synapse avec une bipolaire naine ON et une bipolaire naine OFF. Ces cellules vont relier les cellules ganglionnaires ON ou OFF constituant ainsi la première partie de la voie P (*figure 10*). La voie P est dédiée au codage de la vision des couleurs (par le codage de l'antagonisme rouge-vert), à la vision des contrastes et à la vision des détails (hautes fréquences spatiales). Les cellules bipolaires diffuses ON et OFF ne sont pas présentes non plus dans la fovéa et sont en relation avec les cônes M et L. Un cône fait jonction avec plusieurs cellules bipolaires diffuses ON et OFF qui relient les cellules ganglionnaires parasols ON ou OFF pour constituer la première partie de la voie M (*figure 10*). La voie M reçoit des informations issues des cônes L et M sans en faire la distinction et est essentiellement dédiée au codage du mouvement (hautes fréquences temporelles) et des contrastes faibles. Les cellules bipolaires de cônes S sont uniquement de type ON et sont

connectées aux cellules ganglionnaires bistratifiées pour constituer la première partie de la voie K (*figure 10*). La voie K est également dédiée au codage de la vision des couleurs (par le codage de l'antagonisme bleu-jaune). Les cellules bipolaires de bâtonnets sont uniquement de type ON et sont connectées avec les cellules amacines AII qui servent d'intermédiaire. Elles rejoignent les cellules ganglionnaires naines pour former la voie P par le biais des cellules amacines et des cellules bipolaires ON naines des cônes et bipolaires OFF naines des cônes (*figure 10*).

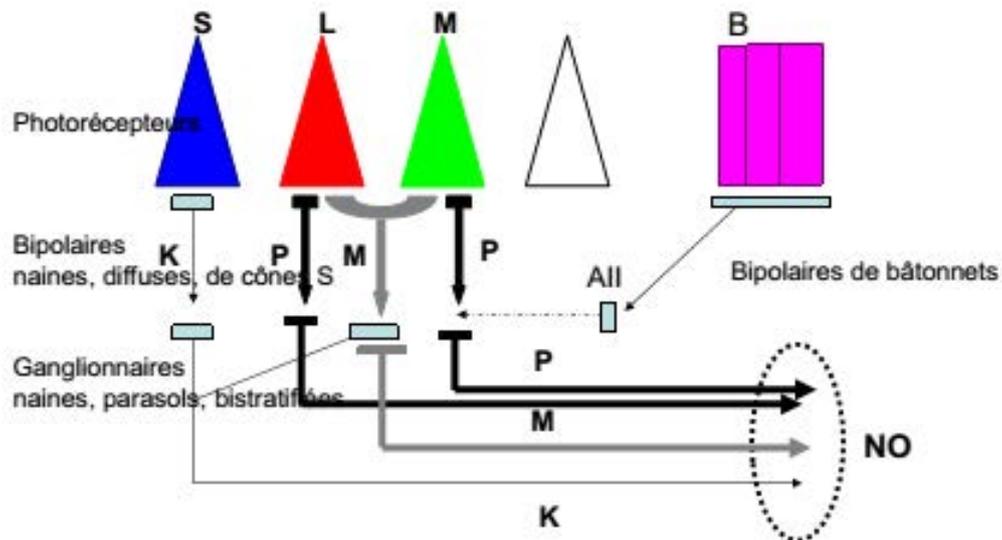


Figure 10: Représentation schématique des trois voies rétino-tectales P, M et K issues des photorécepteurs (cônes L, M, S et bâtonnets (B)) qui représentent respectivement 80%, 20% et moins de 1% du nerf optique (NO) (issue et modifiée de (170)). La voie P traite séparément les informations visuelles issues des cônes L et M, via les cellules bipolaires naines ON et OFF et les cellules ganglionnaires naines ON et OFF, et celles issues des bâtonnets (via les cellules amacines AII) et rejoint les couches parvocellulaires des corps géniculés latéraux. La voie M reçoit conjointement les informations issues des cônes L et M transmises par les cellules bipolaires diffuses ON et OFF puis par les cellules ganglionnaires parasols ON et OFF et rejoint les couches magnocellulaires des corps géniculés latéraux. La voie K traite directement les informations issues des cônes S et indirectement celles issues des cônes L et M par les cellules bipolaires diffuses OFF. Elle se projette sur les couches interlaminaires des corps géniculés latéraux.

3.1.7 Neurotransmission rétinienne

La rétine comporte un système de neurotransmission très complexe permis par la présence de nombreux neurotransmetteurs rétiniens qui jouent chacun un rôle dans la physiologie rétinienne. Parmi les neurotransmetteurs rétiniens, on peut citer le glutamate, l'acide gamma amino-butyrique (GABA), la dopamine, la sérotonine, la glycine, l'acétylcholine, l'adénosine, la substance P et d'autres neuropeptides. Le but de cette section n'est pas de décrire de manière précise chacun de ces neurotransmetteurs mais de présenter les principales molécules exprimées dans la rétine et impliquées dans la physiologie rétinienne, dont certaines faisant partie des voies de signalisation moléculaire pouvant être potentiellement altérées par les consommations de cannabis.

Le glutamate est un acide aminé excitateur et le neurotransmetteur principal exprimé dans les cellules impliquées dans la transmission verticale du signal rétinien, jouant de ce fait un rôle crucial dans cette transmission (171,172). Ainsi, les photorécepteurs, les cellules bipolaires et les cellules ganglionnaires expriment le glutamate chez de nombreuses espèces et en particulier chez l'homme (173). Il est synthétisé à partir de glutamine par l'aspartate aminotransférase (174). Cinq types de récepteurs glutamatergiques post-synaptiques ont été décrits, dont trois d'entre eux sont ionotropiques (kainate, AMPA et NMDA) et deux sont métabotropiques (L-AP4 et ACPD). Les récepteurs NMDA sont principalement détectés au niveau synaptique dans les cellules bipolaires et ganglionnaires et les récepteurs L-AP4 dans les photorécepteurs et les cellules bipolaires (171). Dans l'obscurité, après la libération de glutamate par les photorécepteurs, une dépolarisation des cellules horizontales et une hyperpolarisation des cellules bipolaires se produit grâce aux récepteurs AMPA et kainate

(175). Par ailleurs, une libération de glutamate par les cellules bipolaires stimule les récepteurs AMPA, kaïnate et NMDA dans les cellules ganglionnaires et amacrines (176).

Le GABA est un neurotransmetteur inhibiteur présent dans les cellules horizontales, bipolaires, ganglionnaires et amacrines chez de nombreuses espèces de vertébrés (171,172,177,178). Il est synthétisé à partir de glutamate par l'enzyme glutamate decarboxylase (174). Les récepteurs ionotropiques GABA_A et GABA_C et les récepteurs métabotropiques GABA_B sont exprimés dans la rétine (179). Les récepteurs GABA_A sont couplés à des canaux chlore et sont détectés au niveau synaptique dans les cônes, les cellules bipolaires et ganglionnaires. Ils pourraient réguler la transmission rétrograde entre les cellules horizontales et les cônes (171). Les récepteurs GABA_B sont situés dans les cellules bipolaires, ganglionnaires et photoréceptrices et régulent la libération intracellulaire de messagers. Les récepteurs GABA_C sont exprimés dans les cellules horizontales et bipolaires (179).

La dopamine est la principale catécholamine présente dans la rétine des mammifères et est impliquée dans l'adaptation à la lumière et dans la régulation de la concentration intracellulaire d'AMP cyclique au niveau des cellules horizontales (180–182). Elle est synthétisée à partir de L-amino acid tyrosine par la tyrosine hydroxylase, est sécrétée entre autres par les cellules amacrines et ses effets sont médiés par des récepteurs dopaminergiques présents dans les différents types de cellules rétiniennes (183). La rétine contient cinq types de récepteurs dopaminergiques couplés à des protéines G (D1R à D5R) regroupés en deux sous-classes (D1 et D2) selon leurs propriétés pharmacologiques (184). Chez les mammifères, les récepteurs D1R sont localisés dans les cellules bipolaires, ganglionnaires et horizontales (185)

et les récepteurs D2R sont exprimés dans les synapses faisant jonction entre les cellules horizontales, bipolaires et les cellules photoréceptrices (186). Un grand nombre d'études pharmacologiques réalisées chez l'animal ont montré un effet des agonistes et des antagonistes dopaminergiques sur l'ERG flash (qui mesure le potentiel électrique principalement évoqué par les photorécepteurs -cônes et bâtonnets- et le complexe formé par les cellules bipolaires ON et les cellules de Müller, en réponse à une stimulation lumineuse par flash), mais ces études montrent des résultats différents (187–190).

La sérotonine est une autre monoamine présente dans la rétine des mammifères mais à un niveau plus faible que celui de la dopamine. En effet, le taux de sérotonine serait environ de moins de 10% que celui de dopamine (191). L'enzyme tryptophan hydroxylase 1 (Tph1) est responsable de la synthèse de sérotonine dans la rétine à partir de tryptophan (192) alors que la tryptophan hydroxylase 2 (Tph2) est celle qui permet une régulation de la synthèse de sérotonine (193,194). Quatorze types de récepteurs sérotoninergiques sont divisés en 7 familles de 5-HT1 à 5-HT7 (191). Seuls 5-HT3 sont des récepteurs ionotropiques alors que les autres sont des récepteurs couplés aux protéines G (195). Les récepteurs de la sérotonine sont présents dans les cellules photoréceptrices, bipolaires, amacrines et ganglionnaires. Une grande partie de la sérotonine rétinienne est issue du cerveau et projetée dans la rétine à travers les afférences du noyau dorsal du raphé émergeant du nerf optique (196). La sérotonine joue un rôle essentiellement vasculaire dans la rétine puisqu'elle pourrait intervenir dans la vasoconstriction des vaisseaux sanguins rétiniens et dans l'ischémie (197–199). De plus, son rôle dans la transmission de l'information rétinienne a aussi été évoqué car elle pourrait participer à diminuer la décharge des cellules ganglionnaires à centre ON et à augmenter la décharge des cellules ganglionnaires à centre OFF, ce qui améliorerait

l'adaptation à la lumière (200). Comme pour la dopamine, il a été montré l'effet de l'administration locale ou systémique d'agonistes sérotoninergiques sur les paramètres de l'ERG flash mais ces résultats n'aboutissent pas à la même variation des paramètres (187,201).

La rétine est une extension facilement accessible du cerveau qui a la particularité de disposer d'un système de neurotransmission qui partage des similarités avec celui du cerveau et d'être dotée d'un système cannabinoïde fonctionnel.

Article 2.

“The endocannabinoid system in the retina: from physiology to practical and therapeutic applications”

Neural Plasticity. 2016;2016:2916732.

Thomas Schwitzer, Raymund Schwan, Karine Angioi-Duprez, Anne Giersch, Vincent Laprevote

Cette revue de littérature fait suite à la précédente mais se concentre au niveau rétinien du traitement de l'information visuelle. Elle pose les bases physiologiques et physiopathologiques de l'étude de la fonction rétinienne chez les consommateurs de cannabis, tout en montrant que c'est un champ qui a été peu exploré. Il s'agit d'une synthèse plus approfondie de la littérature sur la distribution des récepteurs et des ligands endocannabinoïdes dans toutes les couches de la rétine ainsi que leur rôle dans la régulation de la physiologie rétinienne. Elle aborde également le rôle des cannabinoïdes dans la régulation de la neuroprotection et de ce fait leur intérêt en thérapeutique. De plus, elle relate l'unique étude de la fonction rétinienne chez les consommateurs de cannabis présente dans la littérature et, selon toutes les données précédentes, elle présente les techniques électrophysiologiques qui permettraient d'étudier de manière précise la fonction visuelle chez les consommateurs de cannabis.

Elle décrit la distribution des récepteurs et ligands cannabinoïdes dans la neurorétine et l'épithélium pigmentaire mais également celle des enzymes permettant leur synthèse et leur dégradation à ces stades. Ces données sont en faveur d'un rôle actif et crucial des endocannabinoïdes dans la régulation de la physiologie rétinienne.

Elle montre également le rôle des endocannabinoïdes dans la plasticité synaptique et la neurotransmission aux différents étages rétiniens mais aussi dans la neuroprotection, un champ émergent puisqu'il pourrait être à l'origine du développement de molécules neuroprotectrices utilisées dans certaines maladies rétiniennes dont les principaux mécanismes sont inflammatoires ou neurotoxiques.

Selon la littérature et à notre connaissance, il n'existait qu'une étude ayant évalué l'impact des consommations de cannabis sur la fonction rétinienne. Cette étude était réalisée

chez des consommateurs réguliers de cannabis, dont l'un présentait des perceptions hallucinatoires, et montrait des anomalies de la fonction de l'épithélium pigmentaire mesurée par l'électrooculogramme chez le patient présentant des perceptions hallucinatoires.

Il existe donc des bases fortes anatomiques et physiologiques argumentant pour des mesures de la fonction rétinienne chez les consommateurs de cannabis ainsi qu'un manque de ces mesures dans la littérature après des consommations aiguës ou régulières.

Review Article

The Endocannabinoid System in the Retina: From Physiology to Practical and Therapeutic Applications

Thomas Schwitzer,^{1,2,3} Raymund Schwan,^{1,2,4} Karine Angioi-Duprez,⁵
Anne Giersch,³ and Vincent Laprevote^{1,2,4}

¹Pôle Hospitalo-Universitaire de Psychiatrie, Centre Psychothérapique de Nancy, Laxou, France

²EA7298, INGRES, Université de Lorraine, Vandœuvre-lès-Nancy, France

³INSERM U1114, Fédération de Médecine Translationnelle de Strasbourg, Département de Psychiatrie, Centre Hospitalier Régional Universitaire de Strasbourg, Strasbourg, France

⁴Maison des Addictions, CHU Nancy, Nancy, France

⁵Service d'Ophtalmologie, CHU Nancy, Nancy, France

Correspondence should be addressed to Vincent Laprevote; vlaprevote@chu-nancy.fr

Received 26 June 2015; Accepted 23 November 2015

Academic Editor: Maurice Ptito

Copyright © 2016 Thomas Schwitzer et al. This is an open access article distributed under the Creative Commons Attribution License, which permits unrestricted use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

Cannabis is one of the most prevalent drugs used in industrialized countries. The main effects of *Cannabis* are mediated by two major exogenous cannabinoids: Δ^9 -tetrahydrocannabinol and cannabidiol. They act on specific endocannabinoid receptors, especially types 1 and 2. Mammals are endowed with a functional cannabinoid system including cannabinoid receptors, ligands, and enzymes. This endocannabinoid signaling pathway is involved in both physiological and pathophysiological conditions with a main role in the biology of the central nervous system. As the retina is a part of the central nervous system due to its embryonic origin, we aim at providing the relevance of studying the endocannabinoid system in the retina. Here, we review the distribution of the cannabinoid receptors, ligands, and enzymes in the retina and focus on the role of the cannabinoid system in retinal neurobiology. This review describes the presence of the cannabinoid system in critical stages of retinal processing and its broad involvement in retinal neurotransmission, neuroplasticity, and neuroprotection. Accordingly, we support the use of synthetic cannabinoids as new neuroprotective drugs to prevent and treat retinal diseases. Finally, we argue for the relevance of functional retinal measures in cannabis users to evaluate the impact of cannabis use on human retinal processing.

1. Introduction

Cannabis is one of the most prevalent drugs used worldwide. The main constituents of cannabis are Δ^9 -tetrahydrocannabinol (THC) and cannabidiol (CBD) [1–3]. They act on specific cannabinoid receptors, mainly cannabinoid receptors type 1 and 2, CB1, and CB2 [4–8]. Although it is still debated whether to consider the G protein-coupled receptor 55 (GPR55) as a cannabinoid receptor, several evidences suggest that it might also be a cannabinoid receptor [9]. Beside the effects caused by exogenous cannabinoids, CB1 and CB2 are stimulated by two major endogenous ligands: N-arachidonylethanolamide (anandamide, AEA) and 2-arachidonoylglycerol (2-AG) [10, 11]. Membrane phospholipids are

metabolized by calcium-dependent phospholipases to release AEA and 2-AG (for a review, see [12]). Briefly, the precursor of AEA is N-arachidonoyl phosphatidylethanolamine (NAPE) which is hydrolyzed by a phospholipase D to release AEA and phosphatidic acid. 2-AG synthesis is based on hydrolysis of diacylglycerols (DAG) by two DAG-lipase isozymes, DAGL α and DAGL β . The cellular level of these ligands is regulated by several enzymes, especially fatty acid amide hydrolase (FAAH), monoacylglycerol lipase (MGL), and cyclooxygenase-2 (COX-2) [13]. Together, cannabinoid receptors, ligands, and enzymes constitute a functional cannabinoid system involved throughout the body in several physiological mechanisms as well as in pathophysiological conditions. Importantly, this system is implicated in

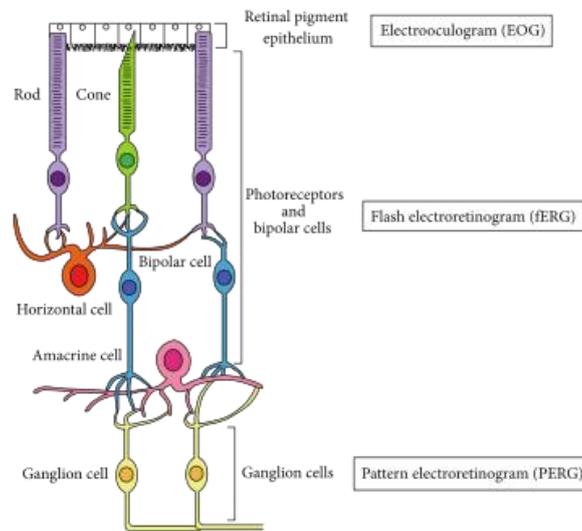


FIGURE 1: Schematic representation of the retina and standardized electrophysiological methods allowing the assessment of the retinal function.

the regulation of the central nervous system (CNS) neurobiology. Interestingly, the cannabinoid system plays a major role in the regulation of CNS neurotransmission [14, 15]. As CB1 receptors have predominantly a presynaptic localization in the brain neurons, they play a postsynaptic regulatory role by modulating the release of several neurotransmitters such as gamma-aminobutyric acid (GABA), glutamate, and dopamine [16–18]. For example, the stimulation of a glutamatergic neuron results in a synaptic release of glutamate, which induces a postsynaptic influx of calcium through NMDA receptors [14]. Consequently, the process of synaptic strengthening is activated by this increase of the calcium concentration [14]. Afterward, there is a postsynaptic synthesis of endocannabinoids by the stimulation of postsynaptic metabotropic glutamate receptors, mGlu. Through CB1 presynaptic receptors, endocannabinoids regulate the presynaptic glutamate release and avoid any excessive postsynaptic release of calcium [13, 14]. Exogenous cannabinoids, by binding to the CB1 receptors, disrupt the regulation of glutamate release mediated by endocannabinoids. An excess of postsynaptic influx of calcium occurs, thus accelerating the pruning synaptic process and the apoptosis of the cell [13, 14]. In the CNS, cannabinoid ligands can also act on postsynaptic CB1 receptors. For example, through postsynaptic CB1 receptors they regulate the slow self-inhibition of neocortical interneurons and pyramidal neurons, an endocannabinoid dependent persistent change of somatodendritic excitability [19].

The retina is anatomically and developmentally an extension of the CNS, and the retina and the brain are connected by the optic nerve, the axons of the ganglion cells, through

the lateral geniculate nucleus [20]. The retina and the brain present similar properties. They express several neurotransmitters such as dopamine [21, 22], serotonin [23], glutamate, and GABA [24, 25]. Retinal processing, as measured by electrophysiological measurements (flash electroretinogram (fERG), pattern electroretinogram (PERG), and electrooculogram (EOG)) is sensitive to pharmacological drugs acting on the CNS neurotransmission [26–29]. Finally, CNS disorders, such as neurological, psychiatric, and addictive diseases, display manifestations in the retina [15, 30–34]. Briefly, the retina represents the neural portion of the eye and is composed of several neuronal cell layers (Figure 1). The light penetrates the eye through the anterior eye structure [20]. Then, it reaches the outer segment of the retina where the photoreceptor cells are located, namely, rods and cones [20]. At this level, the light is absorbed by the photopigments of the photoreceptors, thus initiating the conversion of light into an electric signal, called the phototransduction process [20]. This signal is transferred to the bipolar cells and then to the ganglion cells, the axons of which form the optic nerve, which transfers the visual information to the visual cortex via the lateral geniculate nucleus. This signal is also under the influence of interneuron cells, namely, amacrine and horizontal cells [20]. Moreover, the retina contains Müller cells acting as a glia [20]. The retinal pigment epithelium is also part of the retina and plays a role in several trophic functions such as light absorption, photoreceptor disk renewal, and immune modulation, to name a few [20, 35].

In the CNS, the manipulation of endocannabinoids has been reported to attenuate brain damages induced by

a variety of insults. Moreover, the cannabinoid system signaling pathways is considered as a critical process involved in neuron survival. For instance, an upregulation of the endocannabinoid system is known as an adaptive response that attenuates CNS damages in the context of trauma and neurodegenerative diseases [36, 37] and is considered as a neuroprotective strategy against neuropathological states [38]. In line with these observations, the inhibition of endocannabinoid degradation induces a decrease in pathological tissues in experimental conditions of CNS injuries [39]. As the retina is considered as a part of the CNS, it is now crucial to assess whether the cannabinoid system is distributed in the retina and is involved in retinal pathological or retinal protective conditions.

The cannabinoid system has been detected in ocular tissues and other critical stages of visual information processing. In ocular tissues, CB1 receptors have been localized in the ciliary body of rat, bovine, and human and in the trabecular meshwork in bovine and human [40–42]. CB1 receptors were also found in the nonpigmented ciliary epithelium in human and bovine and in the conjunctival epithelium in mouse and human [42–44]. Hydrolysis of anandamide was detected in the porcine iris, choroid, lacrimal gland, and optic nerve [45]. AEA and 2-AG were expressed in human cornea, ciliary body, iris, and choroid [46, 47]. Endocannabinoids are also found in later and more integrated stages of visual processing, especially in the lateral geniculate nucleus (LGN) and in the visual brain (for a review see [15]). Briefly, CB1 receptors are found in the LGN, superior colliculus, and suprachiasmatic nucleus in rat and mouse and in the LGN and the superior colliculus in human. CB1 and CB2 are expressed in the primary (V1) and secondary (V2) visual cortex of rat and mouse. In nonhuman primate and human, CB1 receptors are detected in V1 and V2 [15].

This review focuses on the neurobiological role of the cannabinoid system in the retina. We first review the distribution of the cannabinoid receptors, ligands, and enzymes in the retina. Then, we review studies that have examined the role of the cannabinoid system in retinal neurotransmission, neuroplasticity, and neuroprotection. Based on these results, we argue for the development of synthetic cannabinoids as therapeutic agents for the treatment and the prevention of retinal diseases. Finally, we support potential effects of cannabis use on human retinal processing and we present several functional measurements allowing the rigorous assessment of the retinal function in cannabis users.

2. Materials and Methods

In order to thoroughly explore the role of the cannabinoid system in the retina, a search for relevant articles was conducted in the PubMed, ScienceDirect, and Google Scholar databases using the following keywords: (“cannabinoid system” or “endocannabinoids” or “cannabinoids” or “cannabinoid ligands” or “cannabinoid receptors” or “cannabinoid enzymes”) and (“neurotransmission” or “neuroplasticity” or “neuroprotection”) and (“retina” or “retinal”). All results up to June 1, 2015, were examined for the selection process.

Relevant publications were chosen through an individual independent selection of titles by the following authors: Thomas Schwitzer, Raymund Schwan, Anne Giersch, and Vincent Laprevote. The articles selected had to be written in English and be related to the topic of the review. Additionally, a manual search was performed on the bibliography of each selected article.

3. Endocannabinoids in the Retina: Receptors, Ligands, and Enzymes

3.1. Retinal Endocannabinoid Receptors. Numerous studies have shown the presence of the cannabinoid receptors CB1 and CB2 in the retina of several animal species such as tiger salamander, goldfish, rat, mouse, chick, and monkey [41, 48–58]. CB1 receptors are detected in inner and outer plexiform layers and two synaptic layers of the retina of all of these species [56]. CB1 receptors are also expressed in the main cells of the neural retina, especially in the cone pedicles and rod spherules of photoreceptors of the same species [56]. Furthermore, they are found in horizontal cells, amacrine cells, ganglion cells, and ganglion cell axons of these species except goldfish [53, 56]. In monkey, rat, mouse, and chick, CB1 receptors are detected in inner and outer segments of the photoreceptors [56]. In monkey, CB1 receptors are expressed throughout the retina from the fovea to the retinal periphery and in particular in cones of the central retina [49]. In goldfish, CB1 receptors are mainly localized intracellularly and on the plasma membrane of photoreceptors, bipolar cells, and amacrine cells [57]. CB1 receptors are also found in Müller cells and in synaptic terminal of On and Off bipolar cells in goldfish [57].

Although the presynaptic location of CB1 receptors was readily described, especially in gabaergic and glutamatergic neurons, there are several evidences also indicating a postsynaptic localization. For example, Chaves et al. showed that retinal ablation induced an increase in level of CB1 proteins in the optic tectum and other retinorecipient visual areas in the adult chick brain with no change in CB1 mRNA levels [59]. This increase in CB1 receptors expression after retinal ablation suggests a postsynaptic location of these receptors in the retinotectal axons.

CB2 receptors are detected in the retina of several species. In the rat retina, CB2 receptors are expressed in photoreceptors, horizontal cells, amacrine cells, inner nuclear layer, inner plexiform layer, retinal pigment epithelium, and retinal ganglion cell layer, especially in the somas of retinal ganglion cells [54, 55]. In mouse, CB2 receptors are localized in cone and rod photoreceptors, horizontal cells, amacrine cells, bipolar cells, and ganglion cells [51]. CB2 receptors are also detected in Müller cells in monkey [48] and in goldfish [52].

In addition, CB1 and CB2 receptors are expressed in the human retina. CB1 receptors are detected in outer segments of photoreceptor cells, inner plexiform layer, outer plexiform layer, two synaptic layers of the retina, inner nuclear layer, ganglion cell layer, and retinal pigment epithelium cells [40, 43, 60]. CB2 receptors are expressed in human retinal pigment epithelium cells [60].

3.2. Retinal Endocannabinoid Ligands. The two main endogenous cannabinoid ligands acting on cannabinoid receptors, namely, anandamide and 2-AG, are found in the retina of tiger salamander, goldfish, rat, mouse, chick, bovine, porcine, and monkey [45, 56, 61, 62]. In human, 2-AG is expressed at a high level in the retina [46, 47], whereas anandamide is detected at a lower level in the retina [42, 46, 47].

3.3. Retinal Endocannabinoid Enzymes. The cellular level of retinal endocannabinoids is regulated by several main enzymes: FAAH, MGL, and COX-2. These enzymes are detected in the retina and enable the degradation of cannabinoid ligands [13]. FAAH is an integral membrane protein and is expressed throughout the monkey retina, from the fovea to the retinal periphery [49]. Most specifically, FAAH is detected in photoreceptors, outer plexiform layer, inner nuclear, inner plexiform layer, and retinal ganglion cell layer in monkey [49]. Concerning photoreceptors in monkey retina, FAAH is preferentially expressed in cones of the central retina and is mainly located in cone pedicles and rod spherules [49]. FAAH is also detected in cone and rod bipolar cells and in ganglion cell somas and axons in the monkey retina [49]. In the rat, goldfish, and bovine retina, a FAAH like activity is detected [61–63]. In the rodent retina—mouse and rat—a FAAH activity is detected in rods, bipolar cells, horizontal cells, amacrine cells, Müller cells, and ganglion cells [63]. In goldfish, FAAH is most prominent over Müller cells and cone inner segments and is observed at a lower level in amacrine cells, cell bodies in the ganglion cell layer, and the inner plexiform layer [62]. FAAH is also expressed in the human retina, in particular in retinal pigment epithelium cells [60].

Preliminary findings are consistent with the detection of MGL in inner plexiform layer, rod bipolar cells, amacrine cells, and ganglion cells in the mouse retina [13, 64]. Similarly, the presence of COX-2 has been shown in horizontal cells, amacrine cells, ganglion cells, and Müller cells in the rat retina [65] whereas COX-2 has been detected in rod and bipolar cells in the mouse retina [13]. Recent findings report a detection of COX-2 in the human retina [66].

Enzymes allowing the synthesis of cannabinoid ligands are also expressed in the retina [64, 67]. For instance, NAPE responsible for the synthesis of AEA was identified in the bovine retina by means of gas chromatography-electron impact mass spectrometry [61]. The enzyme responsible for the synthesis of 2-AG named DAGL α has been detected in the two synaptic layers, the outer plexiform layer, and the inner plexiform layer of the mouse retina [64]. Importantly, DAGL α is localized in postsynaptic terminals of type 1 OFF cone bipolar cells whereas the expression of DAGL β appears to be restricted to retinal blood vessels in the mouse retina [64]. DAGL α is detected early in postnatal development in the rat retina in photoreceptors—cones and rods—cone bipolar cells, horizontal, amacrine, and ganglion cells [67].

The endocannabinoid system is detected in critical stages of retinal information processing such as photoreceptors, bipolar cells, and ganglion cells. These findings support a role of endocannabinoids in the modulation of retinal neurobiology as well as in the regulation of vertical transmission of the retinal information.

4. Neurobiology of Cannabinoids in the Retina: Neurotransmission, Neuroplasticity, and Neuroprotection

4.1. Neurotransmission. Neurotransmission is characterized by the transmission of a nerve impulse across a synapse. The modulation of ionic channels or enzymatic activity, to name a few, can affect neurotransmission. Previous studies have outlined the involvement of the cannabinoid system in these mechanisms, thus allowing the regulation of the retinal neurotransmission [13, 15].

Several inward and outward ionic channels are known to play a major role in retinal physiology [20]. For example, sodium, calcium, chloride, and potassium channels are involved in the phototransduction process and especially in the depolarization and the hyperpolarization of photoreceptor and bipolar cells [20]. Different studies have shown that cannabinoid agonists induced a dose-dependent reversible modulation of calcium, potassium, and chloride currents in bipolar, rod, cone, and ganglion cells [53, 56, 57, 68–74]. These findings suggest a regulatory role of the cannabinoid system in the retinal neurotransmission at the level of photoreceptor, bipolar, and ganglion cells, which constitute three critical stages of the neural retina. As a consequence, stimulation of the cannabinoid system may modulate the vertical transmission of the retinal information and consequently may alter visual perception.

A direct action of cannabinoids on retinal enzymatic activity or retinal transmitter release has also been described [72, 75–79]. In the bovine retina, THC has led to a dose-dependent regulation of monoamine oxidase activity thus altering the retinal neurotransmission [75]. Similarly, in the isolated bovine retina, cannabinoid CB1 receptor agonists, but not CB2 agonists, inhibited aspartate release, which was blocked by cannabinoid antagonists [72]. In perfused guinea-pig retinal discs, dopamine and noradrenaline transmission release was inhibited by activation of cannabinoid receptors CB1, which was blocked by cannabinoid antagonists [77, 79]. Of interest, the release of several retinal neurotransmitters such as dopamine, noradrenaline, GABA, and glutamate is therefore modulated by cannabinoids [72, 73, 76–79].

Finally, studies on the goldfish retina argue for a role of the cannabinoid system in the regulation of the phototransduction cascade, the dark and light retinal sensitivity, the dark and light retinal adaptation, and the retinal contrast sensitivity [57, 70, 80].

4.2. Neuroplasticity. The role of the cannabinoid system in the regulation of short-term and long-term plasticity in the CNS has been readily described [81–84]. However, few studies have investigated the effects of cannabinoids on retinal synaptic plasticity. The messenger ribonucleic acid (mRNA) for cannabinoid receptors has been detected during development, especially in the embryonic and adult rat retina [50, 55]. Recent findings suggest that exogenous cannabinoids may alter both synaptic transmission and synaptic plasticity in the retina, in particular in retinal ganglion cells [76]. Using whole-cell voltage-clamp recordings in retinal ganglion cells in adult and young mice (P14–P21), the administration of

an exogenous cannabinoid agonist significantly reduced the frequency of spontaneous postsynaptic currents (SPSCs) in these cells [76]. This change did not modify the kinetics of the spontaneous postsynaptic currents. Consequently, it was suggested that the cannabinoid agonist had a presynaptic action and that it could decrease the release of both GABA and glutamate. As the largest effect was found in young mice and was different from adult mice, these results argue for a developmental role of the cannabinoid system in the maturation of synaptic retinal circuits [76].

4.3. Neuroprotection. Neuroprotection is a protecting mechanism that consists in preventing the death of damaged neurons and their degeneration, due to a hostile environment created by an initial cellular stress. Using several models of retinal diseases, mounting evidence suggests that the retinal cannabinoid system might play a neuroprotective role in the retina. Oxidative stress is known to be a key mechanism in the pathological process of age-related macular degeneration (AMD) and diabetic retinopathy (DR) [85, 86]. In AMD, a trend towards an increase in retinal anandamide level was observed [47]. In a cellular model of AMD, an inhibition of CBI receptors protected retinal pigment epithelium cells from oxidative damage [87]. The DR is characterized by an oxidative stress, a breakdown of the blood-retinal barrier, and a proinflammatory effect to name a few, which are associated with retinal neuronal death [85]. A recent study showed that the retinal concentration of anandamide was increased in DR whereas no change in the retinal level of 2-AG was observed [47]. In a rat model of DR, treatment with cannabidiol significantly reduced both oxidative stress and neurotoxicity and prevented retinal cell death [88]. Consequently, exocannabinoids may be a relevant therapeutic strategy decreasing oxidative stress signaling and preventing neurodegeneration of retinal cells in AMD and DR. The neuroprotective role of cannabinoids was also shown in an animal model for autosomal dominant retinitis pigmentosa (RP) on the photoreceptor degeneration, synaptic connectivity, and functional activity of the retina [89]. In this rat model, the administration of a synthetic cannabinoid agonist from P24 to P90 induced improvements of visual function compared to vehicle-administered animals [89]. In fact, the enhancement of vision loss was demonstrated by increased electroretinogram signals, especially scotopic a- and b-wave amplitudes [89]. These changes were correlated with a delay in the degeneration of photoreceptors and with the preservation of presynaptic and postsynaptic elements. These crucial findings support the retinal protective role of exocannabinoids on both the structural and functional properties of retinal cells. Retinal ganglion cell death may be a consequence of a neurodegenerative retinal disease such as glaucoma. An excessive extracellular glutamate release has been identified as one of the pathophysiological mechanisms inducing excitotoxicity in glaucoma via the excessive formation of peroxynitrite [90]. The neuroprotective effect of THC and cannabidiol was observed through the limitation of peroxynitrite production in a rat model of excitotoxicity consisting in intravitreal injection of N-methyl-D-aspartate (NMDA) [91]. Similarly, weekly injections of THC decreased intraocular pressure and

reduced the loss of retinal ganglion cells in the peripheral and central retina [92]. In another model of intraocular pressure, an ischemic-reperfused retina model, systemic administrations of a FAAH inhibitor decreased enzymatic activity and consequently reduced the retinal damage caused by the ischemic-reperfusion mechanism [93]. Additionally, intravitreal injections of an AEA agonist reduced retinal ganglion cell loss which was abolished by the systemic administration of a CBI antagonist [93]. In another example, the administration of an inhibitor of FAAH increased retinal ganglion cell survival following optic nerve axotomy in young and aged rats [94]. This effect was affected by a cannabinoid antagonist and was associated with both an increase in anandamide and a decrease in anandamide metabolites, with no effect on 2-AG level. All these results are in accordance with the relevance of local or systemic administrations of exocannabinoids in the prevention of retinal ganglion cell loss due to retinal diseases. Finally, anandamide and 2-AG were also involved in the modulation of the innate immune response in human retinal Müller glia to combat inflammation in the retina during human immunodeficiency virus (HIV) infection [95]. The HIV infection induces a retinal neurodegeneration by increasing the inflammatory response, which consequently causes retinal impairments. In this case, both anandamide and 2-AG induced a decrease in the inflammation and limited the retinal loss [95]. These data argue for the use of cannabinoids in retinal diseases as new therapeutic agents to prevent neurodegeneration and cell death.

5. Cannabis Use and Human Retina

According to the large distribution of endocannabinoids in the retina and considering the role of cannabinoids in modulating the retinal neurophysiology, it is now crucial to consider potential effects of cannabis, after both acute and regular use, on the structural and functional characteristics of the human retina [15, 31]. The retina is organized in cell layers of which functional properties can be assessed by electrophysiological techniques (Figure 1). The electroretinogram (ERG) measurements, the fERG, and the PERG allow the assessment of the functional properties of specific cell types in the neural retina [96, 97]. ERG measurements are objective and noninvasive techniques as well as rapid and costless methods. The retina also contains the retinal pigment epithelium (RPE). The functioning of the RPE can be assessed by the EOG. Each one of these techniques is described below.

The fERG measures the electric biopotential evoked mainly by photoreceptor cells, namely, rods and cones, and the ON-bipolar and Müller cells complex, in response to a light stimulation. fERG recordings performed under photopic and scotopic conditions are called light- and dark-adapted fERG, respectively, according to the flash luminance intensity used, which is measured in $\text{cd}\cdot\text{s}\cdot\text{m}^{-2}$ ($\text{cd}\cdot\text{s}\cdot\text{m}^{-2}$) [97]. Two main components are usually observed on a typical fERG trace: an electronegative component called a-wave, followed by an electropositive component named b-wave. The a-wave is generated by the hyperpolarization of the photoreceptors and the b-wave reflects the depolarization of the ON-bipolar and Müller cells complex. Although

the a-wave and the b-wave are commonly the most analyzed, other components are detected in the full-field ERG such as the photopic negative response (PhNR). This response is a negative component that follows the b-wave and reflects the activity of innerretinal cells, especially the ganglion cells [98]. Specific conditions are needed to easily detect the PhNR. Indeed, a brief red flash against a blue background is an optimal configuration for eliciting this response [99].

The PERG records the central macular function of the retina, as well as the retinal ganglion cells response using reversal black and white checkerboards viewed with a central fixation [100]. To investigate the transient PERG, checkerboards are presented at 2–6 reversals per second (1–3 Hz). Two main waves are usually described on the transient PERG trace: a positive wave named P50, followed by a negative wave called N95 [101]. Like the fERG, both the amplitude and implicit time of these waves can be measured [96]. P50 is, in part, attributed to the retinal ganglion cells and macular photoreceptors and is used to evaluate the macular function. N95 is generated by the retinal ganglion cells and reflects their functioning [102].

The EOG measures a variation of electrical potentials between skin electrodes located on the external and internal canthi [103]. This variation corresponds to an electrical potential between the front and the back of the eye and is called standing potential [104]. This potential mainly originates from the retinal pigment epithelium and varies with the retinal illumination. It is obtained by asking the subjects to make lateral eye movements in both photopic and scotopic conditions. It is possible to derive two parameters from the EOG trace, namely, the dark trough, which represents the trough of the curve in dark condition whose origin remains unclear, and the light peak, which represents the maximal peak in light condition and corresponds to the maximal depolarization of the basal membrane of the retinal pigment epithelium.

The neural retina is composed by three critical stages: the photoreceptor cells, called rods and cones, the bipolar cells, and the ganglion cells. The retina also contains interneuron cells: amacrine and horizontal cells and the retinal pigment epithelium. The functional properties of photoreceptors, bipolar cells, ganglion cells, and retinal pigment epithelium cells are evaluated by objective electrophysiological retinal techniques.

Considering the large distribution of the cannabinoid system in the different retinal cell layers and its broad involvement in the regulation of retinal neurophysiology, these electrophysiological measures may be of benefit to the evaluation of the impact of cannabis on the human retinal function.

To date, only one study, to our knowledge, has evaluated the impact of cannabis on the retinal function [105]. In this study, no fERG abnormality was found neither in a man suffering for hallucinogen persisting perception disorder after marijuana consumption nor in four heavy cannabis smokers with no visual disturbance [105]. However, several EOG anomalies were observed in the patient with hallucinogen perception showing effects of cannabis on the retinal pigment epithelium functioning. The small number of subjects and

the absence of control group probably explain the lack of ERG alterations.

Although cannabis is one of the most prevalent drugs used worldwide, there is to date few studies that have evaluated the impact of cannabis on the human visual function. These studies were already reported in several reviews [13, 15]. As discussed in these reviews, there is no certainty that the visual abnormalities found in cannabis users originated from the retina because no studies evaluating the retinal structural and functional properties have yet been performed in cannabis users. However, some hypothesis could explain the impact of cannabis on human retinal processing. Cannabis is a neurotoxic and neuromodulator substance that acts on several inhibitory and excitatory neurotransmitters signaling pathways in the CNS. The main effects of cannabis concern the glutamatergic, gabaergic, and dopaminergic brain synaptic transmissions [14]. All of these neurotransmitters are detected in the retina and play several key roles in retinal physiology. For instance, dopamine is the main catecholamine expressed in the human retina and is known to be involved in light adaptation [22]. As another example, glutamate and GABA are two amino-acid neurotransmitters expressed in the retina and are involved in numerous regulatory mechanisms in the retina, especially those concerning the synaptic transmission [24, 25]. In addition, glutamate plays a major role in the vertical transmission of the retinal signal [24, 25]. Accordingly, cannabis could disrupt the regulatory role of the cannabinoid system in the retina and consequently alter the transmission of the retinal information. As a consequence, studies evaluating the impact of cannabis on human retinal function are genuinely needed [15, 31].

6. Discussion

This review outlines the presence of endocannabinoids in critical stages of the neural retina such as photoreceptor cells, bipolar cells, and ganglion cells. Endocannabinoids are also detected in interneuron cells, namely, amacrine and horizontal cells, as well as in Müller and retinal pigment epithelium cells. The presence of endocannabinoids in the retina supports a regulatory role of the cannabinoid system in the vertical transmission of visual information from photoreceptors to ganglion cells, the ultimate stage before the transmission of the visual information to the brain, mostly the visual cortex. This also supports a potential dysregulation induced by exogenous cannabinoids, such as THC and cannabidiol, the main constituents of cannabis. This review also described the localization of the cannabinoid system in the retinal pigment epithelium suggesting a role of this system in the renewal of the photoreceptor disks as well as in trophic functions. Another important finding of this review is the involvement of cannabinoids in retinal neurotransmission, neuroplasticity, and neuroprotection. Firstly, cannabinoids regulate the release of retinal neurotransmitters by acting on ionic channels or enzymatic activity and are thus able to alter the retinal signal. These results were recently supported by alterations of electroretinogram recordings in mice lacking cannabinoid receptors CB1 and CB2 [51]. Unfortunately, only one study has investigated the impact of cannabis use

on the human retinal function [105]. Secondly, the cannabinoid system seems to play a major regulatory role in retinal synaptic plasticity, in particular during the postnatal development. As an extension of these results, it is legitimate to question the effects of prenatal cannabis exposure on the retinal development in offspring. Thirdly, using several animal models of retinal diseases, numerous studies have shown that cannabinoids could play a neuroprotective function by preventing the retinal cell death. These results can support the development of synthetic cannabinoids as new therapeutic strategies to prevent and treat retinal diseases.

The retina constitutes a relevant and useful site to investigate neurotransmission signaling pathways as well as CNS processes. The retinal organization in mammals is well known [20] and the retina is an accessible part of the CNS that can be evaluated with noninvasive, objective, relatively rapid, and costless methods. Furthermore, its measure is quite standardized allowing good reproducibility [97, 101, 104, 106]. Functional and structural measurements allow the correlation between structural abnormalities and functional deficits. As the cannabinoid system is involved in CNS processes, the retina therefore represents a useful tool to evaluate the CNS pathophysiology and might eventually also serve to monitor curative and preventive treatment efficiency for CNS disorders.

7. Conclusion

This review gives an overview of the distribution of the cannabinoid system in the retina together with its involvement in the regulation of retinal neurotransmission, neuroplasticity, and neuroprotection. These suggest potential alterations of structural and functional retinal properties by exogenous cannabinoids, especially THC and cannabidiol contained in joints. As cannabis is widely spread worldwide, it is now critical to explore the effects of cannabis on the human retina. Based on experimental studies in animals, this review also aims to provide several retinal methods to correlate the cellular and molecular changes induced by cannabinoids to potential functional retinal deficits in cannabis users. However, considering the neuroprotective role of the cannabinoid system in the retina, this review also argues for therapeutic uses of synthetic cannabinoids in the treatment and the prevention of retinal diseases.

Conflict of Interests

This work was funded by the company Metrovision (Pérenchies, France), by a French National Research Agency Grant (ANR-12-SAMA-0016-01), and by the French Mission Interministérielle de Lutte contre les Drogues et les Conduites Addictives (MILDECA).

Authors' Contribution

All the authors contributed to write the paper, concurred with the submission, and have approved the final paper.

Acknowledgments

The authors thank the company Metrovision (Pérenchies, France) for its collaboration, the French National Research Agency (Grant ANR-12-SAMA-0016-01) and the French Mission Interministérielle de Lutte contre les Drogues et les Conduites Addictives (MILDECA) for their support, and Coline Jeantet for her contribution to this work.

References

- [1] Y. Gaoni and R. Mechoulam, "Isolation, structure, and partial synthesis of an active constituent of hashish," *Journal of the American Chemical Society*, vol. 86, no. 8, pp. 1646–1647, 1964.
- [2] R. Mechoulam, P. Braun, and Y. Gaoni, "Stereospecific synthesis of (-)- Δ^9 -THC and (-)- Δ^9 -THC-11-OH-tetrahydrocannabinols," *Journal of the American Chemical Society*, vol. 89, no. 17, pp. 4552–4554, 1967.
- [3] R. Mechoulam and Y. Shvo, "Hashish-I: the structure of Cannabidiol," *Tetrahedron*, vol. 19, no. 12, pp. 2073–2078, 1963.
- [4] W. A. Devane, F. A. Dysarz III, M. R. Johnson, L. S. Melvin, and A. C. Howlett, "Determination and characterization of a cannabinoid receptor in rat brain," *Molecular Pharmacology*, vol. 34, no. 5, pp. 605–613, 1988.
- [5] M. Herkenham, A. B. Lynn, M. D. Little et al., "Cannabinoid receptor localization in brain," *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, vol. 87, no. 5, pp. 1932–1936, 1990.
- [6] A. C. Howlett, J. M. Qualy, and L. L. Khachatryan, "Involvement of Gi in the inhibition of adenylate cyclase by cannabimimetic drugs," *Molecular Pharmacology*, vol. 29, no. 3, pp. 307–313, 1986.
- [7] L. A. Matsuda, S. J. Lolait, M. J. Brownstein, A. C. Young, and T. I. Bonner, "Structure of a cannabinoid receptor and functional expression of the cloned cDNA," *Nature*, vol. 346, no. 6284, pp. 561–564, 1990.
- [8] S. Munro, K. L. Thomas, and M. Abu-Shaar, "Molecular characterization of a peripheral receptor for cannabinoids," *Nature*, vol. 365, no. 6441, pp. 61–65, 1993.
- [9] D. Baker, G. Pryce, W. L. Davies, and C. R. Hiley, "In silico patent searching reveals a new cannabinoid receptor," *Trends in Pharmacological Sciences*, vol. 27, no. 1, pp. 1–4, 2006.
- [10] W. A. Devane, L. Hanus, A. Breuer et al., "Isolation and structure of a brain constituent that binds to the cannabinoid receptor," *Science*, vol. 258, no. 5090, pp. 1946–1949, 1992.
- [11] R. Mechoulam and L. Hanuš, "A historical overview of chemical research on cannabinoids," *Chemistry and Physics of Lipids*, vol. 108, no. 1–2, pp. 1–13, 2000.
- [12] T. Bisogno, A. Ligresti, and V. Di Marzo, "The endocannabinoid signalling system: biochemical aspects," *Pharmacology Biochemistry and Behavior*, vol. 81, no. 2, pp. 224–238, 2005.
- [13] S. Yazulla, "Endocannabinoids in the retina: from marijuana to neuroprotection," *Progress in Retinal and Eye Research*, vol. 27, no. 5, pp. 501–526, 2008.
- [14] M. G. Bossong and R. J. M. Niesink, "Adolescent brain maturation, the endogenous cannabinoid system and the neurobiology of cannabis-induced schizophrenia," *Progress in Neurobiology*, vol. 92, no. 3, pp. 370–385, 2010.
- [15] T. Schwitzer, R. Schwan, K. Angioi-Duprez et al., "The cannabinoid system and visual processing: a review on experimental findings and clinical presumptions," *European Neuropsychopharmacology*, vol. 25, no. 1, pp. 100–112, 2015.

- [16] R. Mechoulam and L. A. Parker, "The endocannabinoid system and the brain," *Annual Review of Psychology*, vol. 64, no. 1, pp. 21–47, 2013.
- [17] A. Straiker and K. Mackie, "Cannabinoids, electrophysiology, and retrograde messengers: Challenges for the next 5 years," *AAPS Journal*, vol. 8, no. 2, article no. 31, pp. E272–E276, 2006.
- [18] R. I. Wilson and R. A. Nicoll, "Endogenous cannabinoids mediate retrograde signalling at hippocampal synapses," *Nature*, vol. 410, no. 6828, pp. 588–592, 2001.
- [19] V. Di Marzo and L. De Petrocellis, "Why do cannabinoid receptors have more than one endogenous ligand?" *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences*, vol. 367, no. 1607, pp. 3216–3228, 2012.
- [20] M. Hoon, H. Okawa, L. Della Santina, and R. O. L. Wong, "Functional architecture of the retina: development and disease," *Progress in Retinal and Eye Research*, vol. 42, pp. 44–84, 2014.
- [21] R. A. M. Reis, A. L. M. Ventura, R. C. C. Kubrusly, M. C. F. de Mello, and F. G. de Mello, "Dopaminergic signaling in the developing retina," *Brain Research Reviews*, vol. 54, no. 1, pp. 181–188, 2007.
- [22] P. Witkovsky, "Dopamine and retinal function," *Documenta Ophthalmologica*, vol. 108, no. 1, pp. 17–40, 2004.
- [23] M. Gastinger, N. Tian, T. Horvath, and D. Marshak, "Retinopetal axons in mammals: emphasis on histamine and serotonin," *Current Eye Research*, vol. 31, no. 7–8, pp. 655–667, 2006.
- [24] C. F. de Souza, M. L. Acosta, P. J. Polkinghorne, C. N. Mcghee, and M. Kalloniatis, "Amino acid immunoreactivity in normal human retina and after brachytherapy," *Clinical and Experimental Optometry*, vol. 96, no. 5, pp. 504–507, 2013.
- [25] S. M. Wu and B. R. Maple, "Amino acid neurotransmitters in the retina: a functional overview," *Vision Research*, vol. 38, no. 10, pp. 1371–1384, 1998.
- [26] A. Peppe, P. Stanzione, M. Pierantozzi et al., "Does pattern electroretinogram spatial tuning alteration in Parkinson's disease depend on motor disturbances or retinal dopaminergic loss?" *Electroencephalography and Clinical Neurophysiology*, vol. 106, no. 4, pp. 374–382, 1998.
- [27] V. Porciatti, R. Alesci, P. Bagnoli, G. Signorini, and A. Raffaelli, "Serotonin depletion modifies the pigeon electroretinogram," *Documenta Ophthalmologica*, vol. 72, no. 1, pp. 93–100, 1989.
- [28] G. Rudolf and N. Wioland, "Effects of intravitreal and intravenous administrations of dopamine on the standing potential and the light peak in the intact chicken eye," *Current Eye Research*, vol. 9, no. 11, pp. 1077–1082, 1990.
- [29] T. Schneider and E. Zrenner, "Effects of D-1 and D-2 dopamine antagonists on ERG and optic nerve response of the cat," *Experimental Eye Research*, vol. 52, no. 4, pp. 425–430, 1991.
- [30] J. Lavoie, M. Maziade, and M. Hébert, "The brain through the retina: the flash electroretinogram as a tool to investigate psychiatric disorders," *Progress in Neuro-Psychopharmacology and Biological Psychiatry*, vol. 48, pp. 129–134, 2014.
- [31] V. Laprevote, T. Schwitzer, A. Giersch, and R. Schwan, "Flash electroretinogram and addictive disorders," *Progress in Neuro-Psychopharmacology and Biological Psychiatry*, vol. 56, p. 264, 2015.
- [32] E. Garcia-Martin, D. Rodriguez-Mena, M. Satue et al., "Electrophysiology and optical coherence tomography to evaluate Parkinson disease severity," *Investigative Ophthalmology and Visual Science*, vol. 55, no. 2, pp. 696–705, 2014.
- [33] A. London, I. Benhar, and M. Schwartz, "The retina as a window to the brain—from eye research to CNS disorders," *Nature Reviews Neurology*, vol. 9, no. 1, pp. 44–53, 2013.
- [34] T. Schwitzer, J. Lavoie, A. Giersch, R. Schwan, and V. Laprevote, "The emerging field of retinal electrophysiological measurements in psychiatric research: a review of the findings and the perspectives in major depressive disorder," *Journal of Psychiatric Research*, vol. 70, pp. 113–120, 2015.
- [35] S. Wimmers, M. O. Karl, and O. Strauss, "Ion channels in the RPE," *Progress in Retinal and Eye Research*, vol. 26, no. 3, pp. 263–301, 2007.
- [36] C. J. Hillard, "Role of cannabinoids and endocannabinoids in cerebral ischemia," *Current Pharmaceutical Design*, vol. 14, no. 23, pp. 2347–2361, 2008.
- [37] M. Naccarato, D. Pizzuti, S. Petrosino et al., "Possible Anandamide and Palmitoylethanolamide involvement in human stroke," *Lipids in Health and Disease*, vol. 9, article 47, 2010.
- [38] A. Ternianov, J. M. Pérez-Ortiz, M. E. Solesio et al., "Overexpression of CB2 cannabinoid receptors results in neuroprotection against behavioral and neurochemical alterations induced by intracaudate administration of 6-hydroxydopamine," *Neurobiology of Aging*, vol. 33, no. 2, pp. 421.e1–421.e16, 2012.
- [39] J. Hwang, C. Adamson, D. Butler, D. R. Janero, A. Makriyannis, and B. A. Bahr, "Enhancement of endocannabinoid signaling by fatty acid amide hydrolase inhibition: a neuroprotective therapeutic modality," *Life Sciences*, vol. 86, no. 15–16, pp. 615–623, 2010.
- [40] A. Porcella, C. Maxia, G. L. Gessa, and L. Pani, "The human eye expresses high levels of CB1 cannabinoid receptor mRNA and protein," *European Journal of Neuroscience*, vol. 12, no. 3, pp. 1123–1127, 2000.
- [41] A. Porcella, P. Casellas, G. L. Gessa, and L. Pani, "Cannabinoid receptor CB1 mRNA is highly expressed in the rat ciliary body: implications for the antiglaucoma properties of marijuana," *Molecular Brain Research*, vol. 58, no. 1–2, pp. 240–245, 1998.
- [42] W. D. Stamer, S. F. Golightly, Y. Hosohata et al., "Cannabinoid CB(1) receptor expression, activation and detection of endogenous ligand in trabecular meshwork and ciliary process tissues," *European Journal of Pharmacology*, vol. 431, no. 3, pp. 277–286, 2001.
- [43] A. J. Straiker, G. Maguire, K. Mackie, and J. Lindsey, "Localization of cannabinoid CB1 receptors in the human anterior eye and retina," *Investigative Ophthalmology and Visual Science*, vol. 40, no. 10, pp. 2442–2448, 1999.
- [44] M. Iribarne, V. Torbidoni, K. Julián et al., "Cannabinoid receptors in conjunctival epithelium: identification and functional properties," *Investigative Ophthalmology & Visual Science*, vol. 49, no. 10, pp. 4535–4544, 2008.
- [45] S. Matsuda, N. Kanemitsu, A. Nakamura et al., "Metabolism of anandamide, an endogenous cannabinoid receptor ligand, in porcine ocular tissues," *Experimental Eye Research*, vol. 64, no. 5, pp. 707–711, 1997.
- [46] J. Chen, I. Matias, T. Dinh et al., "Finding of endocannabinoids in human eye tissues: implications for glaucoma," *Biochemical and Biophysical Research Communications*, vol. 330, no. 4, pp. 1062–1067, 2005.
- [47] I. Matias, J. W. Wang, A. S. Moriello, A. Nieves, D. F. Woodward, and V. Di Marzo, "Changes in endocannabinoid and palmitoylethanolamide levels in eye tissues of patients with diabetic retinopathy and age-related macular degeneration," *Prostaglandins Leukotrienes and Essential Fatty Acids*, vol. 75, no. 6, pp. 413–418, 2006.

- [48] J. Bouskila, P. Javadi, C. Casanova, M. Ptito, and J.-F. Bouchard, "Müller cells express the cannabinoid CB2 receptor in the vervet monkey retina," *Journal of Comparative Neurology*, vol. 521, no. 11, pp. 2399–2415, 2013.
- [49] J. Bouskila, M. W. Burke, N. Zabouri, C. Casanova, M. Ptito, and J.-F. Bouchard, "Expression and localization of the cannabinoid receptor type 1 and the enzyme fatty acid amide hydrolase in the retina of vervet monkeys," *Neuroscience*, vol. 202, pp. 117–130, 2012.
- [50] N. E. Buckley, S. Hansson, G. Harta, and É. Mezey, "Expression of the CB1 and CB2 receptor messenger RNAs during embryonic development in the rat," *Neuroscience*, vol. 82, no. 4, pp. 1131–1149, 1997.
- [51] B. Cécycy, N. Zabouri, F. Huppé-Gourgues, J.-F. Bouchard, and C. Casanova, "Roles of cannabinoid receptors type 1 and 2 on the retinal function of adult mice," *Investigative Ophthalmology & Visual Science*, vol. 54, no. 13, pp. 8079–8090, 2013.
- [52] E. Cottone, V. Pomatto, F. Cerri et al., "Cannabinoid receptors are widely expressed in goldfish: molecular cloning of a CB2-like receptor and evaluation of CB1 and CB2 mRNA expression profiles in different organs," *Fish Physiology and Biochemistry*, vol. 39, no. 5, pp. 1287–1296, 2013.
- [53] M. R. Lalonde, C. A. B. Jollimore, K. Stevens, S. Barnes, and M. E. M. Kelly, "Cannabinoid receptor-mediated inhibition of calcium signaling in rat retinal ganglion cells," *Molecular Vision*, vol. 12, pp. 1160–1166, 2006.
- [54] E. M. López, P. Tagliaferro, E. S. Onaivi, and J. J. López-Costa, "Distribution of CB2 cannabinoid receptor in adult rat retina," *Synapse*, vol. 65, no. 5, pp. 388–392, 2011.
- [55] Q. Lu, A. Straiker, Q. Lu, and G. Maguire, "Expression of CB2 cannabinoid receptor mRNA in adult rat retina," *Visual Neuroscience*, vol. 17, no. 1, pp. 91–95, 2000.
- [56] A. Straiker, N. Stella, D. Piomelli, K. Mackie, H. J. Karten, and G. Maguire, "Cannabinoid CB1 receptors and ligands in vertebrate retina: localization and function of an endogenous signaling system," *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, vol. 96, no. 25, pp. 14565–14570, 1999.
- [57] S. Yazulla, K. M. Studholme, H. H. McIntosh, and S.-F. Fan, "Cannabinoid receptors on goldfish retinal bipolar cells: electron-microscope immunocytochemistry and whole-cell recordings," *Visual Neuroscience*, vol. 17, no. 3, pp. 391–401, 2000.
- [58] N. Zabouri, J.-F. Bouchard, and C. Casanova, "Cannabinoid receptor type 1 expression during postnatal development of the rat retina," *Journal of Comparative Neurology*, vol. 519, no. 7, pp. 1258–1280, 2011.
- [59] G. P. Chaves, T. C. A. Nogueira, L. R. G. Britto, S. Bordin, and A. S. Torráo, "Retinal removal up-regulates cannabinoid CB1 receptors in the chick optic tectum," *Journal of Neuroscience Research*, vol. 86, no. 7, pp. 1626–1634, 2008.
- [60] Y. Wei, X. Wang, and L. Wang, "Presence and regulation of cannabinoid receptors in human retinal pigment epithelial cells," *Molecular Vision*, vol. 15, pp. 1243–1251, 2009.
- [61] T. Bisogno, I. Delton-Vandenbroucke, A. Milone, M. Lagarde, and V. Di Marzo, "Biosynthesis and inactivation of N-arachidonylethanolamine (anandamide) and N-docosahexaenoylethanolamine in bovine retina," *Archives of Biochemistry and Biophysics*, vol. 370, no. 2, pp. 300–307, 1999.
- [62] S. T. Glaser, D. G. Deutsch, K. M. Studholme, S. Zimov, and S. Yazulla, "Endocannabinoids in the intact retina: ³H-anandamide uptake, fatty acid amide hydrolase immunoreactivity and hydrolysis of anandamide," *Visual Neuroscience*, vol. 22, no. 6, pp. 693–705, 2005.
- [63] S. Yazulla, K. M. Studholme, H. H. McIntosh, and D. G. Deutsch, "Immunocytochemical localization of cannabinoid CB1 receptor and fatty acid amide hydrolase in rat retina," *Journal of Comparative Neurology*, vol. 415, no. 1, pp. 80–90, 1999.
- [64] S. S.-J. Hu, A. Arnold, J. M. Hutchens et al., "Architecture of cannabinoid signaling in mouse retina," *Journal of Comparative Neurology*, vol. 518, no. 18, pp. 3848–3866, 2010.
- [65] W.-K. Ju, K.-Y. Kim, and A. H. Neufeld, "Increased activity of cyclooxygenase-2 signals early neurodegenerative events in the rat retina following transient ischemia," *Experimental Eye Research*, vol. 77, no. 2, pp. 137–145, 2003.
- [66] J. Wang, Y. Wu, S. Heegaard, and M. Kolko, "Cyclooxygenase-2 expression in the normal human eye and its expression pattern in selected eye tumours," *Acta Ophthalmologica*, vol. 89, no. 7, pp. 681–685, 2011.
- [67] B. Cécycy, M. Monette, L. Beudjekian, C. Casanova, and J.-F. Bouchard, "Localization of diacylglycerol lipase alpha and monoacylglycerol lipase during postnatal development of the rat retina," *Frontiers in Neuroanatomy*, vol. 8, article 150, 2014.
- [68] S.-F. Fan and S. Yazulla, "Biphasic modulation of voltage-dependent currents of retinal cones by cannabinoid CB1 receptor agonist WIN 55212-2," *Visual Neuroscience*, vol. 20, no. 2, pp. 177–188, 2003.
- [69] S.-F. Fan and S. Yazulla, "Inhibitory interaction of cannabinoid CB1 receptor and dopamine D2 receptor agonists on voltage-gated currents of goldfish cones," *Visual Neuroscience*, vol. 21, no. 1, pp. 69–77, 2004.
- [70] S.-F. Fan and S. Yazulla, "Reciprocal inhibition of voltage-gated potassium currents ($I_{K(V)}$) by activation of cannabinoid CB1 and dopamine D₁ receptors in ON bipolar cells of goldfish retina," *Visual Neuroscience*, vol. 22, no. 1, pp. 55–63, 2005.
- [71] S.-F. Fan and S. Yazulla, "Retrograde endocannabinoid inhibition of goldfish retinal cones is mediated by 2-arachidonoyl glycerol," *Visual Neuroscience*, vol. 24, no. 3, pp. 257–267, 2007.
- [72] C. A. Opere, W. D. Zheng, M. Zhao, J. S. Lee, K. H. Kulkarni, and S. E. Ohia, "Inhibition of potassium- and ischemia-evoked [³H] D-aspartate release from isolated bovine retina by cannabinoids," *Current Eye Research*, vol. 31, no. 7-8, pp. 645–653, 2006.
- [73] A. Straiker and J. M. Sullivan, "Cannabinoid receptor activation differentially modulates ion channels in photoreceptors of the tiger salamander," *Journal of Neurophysiology*, vol. 89, no. 5, pp. 2647–2654, 2003.
- [74] C.-Q. Zhang, H.-J. Wu, S.-Y. Wang et al., "Suppression of outward K⁺ currents by WIN55212-2 in rat retinal ganglion cells is independent of CB1/CB2 receptors," *Neuroscience*, vol. 253, pp. 183–193, 2013.
- [75] A. M. Gawienowski, D. Chatterjee, P. J. Anderson, D. L. Epstein, and W. M. Grant, "Effect of Δ^9 -tetrahydrocannabinol on monoamine oxidase activity in bovine eye tissues, in vitro," *Investigative Ophthalmology and Visual Science*, vol. 22, no. 4, pp. 482–485, 1982.
- [76] T. P. Middleton and D. A. Protti, "Cannabinoids modulate spontaneous synaptic activity in retinal ganglion cells," *Visual Neuroscience*, vol. 28, no. 5, pp. 393–402, 2011.
- [77] E. Schlicker, J. Timm, and M. Göthert, "Cannabinoid receptor-mediated inhibition of dopamine release in the retina," *Naunyn-Schmiedeberg's Archives of Pharmacology*, vol. 354, no. 6, pp. 791–795, 1996.
- [78] A. Warriar and M. Wilson, "Endocannabinoid signaling regulates spontaneous transmitter release from embryonic retinal amacrine cells," *Visual Neuroscience*, vol. 24, no. 1, pp. 25–35, 2007.

- [79] B. Weber and E. Schlicker, "Modulation of dopamine release in the guinea-pig retina by G_i - but not by G_s - or G_o -protein-coupled receptors," *Fundamental and Clinical Pharmacology*, vol. 15, no. 6, pp. 393–400, 2001.
- [80] M. L. Struik, S. Yazulla, and M. Kamermans, "Cannabinoid agonist WIN 55212-2 speeds up the cone response to light offset in goldfish retina," *Visual Neuroscience*, vol. 23, no. 2, pp. 285–293, 2006.
- [81] Y. Garkun and A. Maffei, "Cannabinoid-dependent potentiation of inhibition at eye opening in mouse V1," *Frontiers in Cellular Neuroscience*, vol. 8, article 46, 2014.
- [82] B. Jiang, S. Huang, R. de Pasquale et al., "The maturation of GABAergic transmission in visual cortex requires endocannabinoid-mediated LTD of inhibitory inputs during a critical period," *Neuron*, vol. 66, no. 2, pp. 248–259, 2010.
- [83] B. Jiang, K. Sohya, A. Sarihi, Y. Yanagawa, and T. Tsumoto, "Laminar-specific maturation of GABAergic transmission and susceptibility to visual deprivation are related to endocannabinoid sensitivity in mouse visual cortex," *Journal of Neuroscience*, vol. 30, no. 42, pp. 14261–14272, 2010.
- [84] C.-H. Liu, A. J. Heynen, M. G. H. Shuler, and M. F. Bear, "Cannabinoid receptor blockade reveals parallel plasticity mechanisms in different layers of mouse visual cortex," *Neuron*, vol. 58, no. 3, pp. 340–345, 2008.
- [85] T. Behl, I. Kaur, and A. Kotwani, "Implication of oxidative stress in progression of diabetic retinopathy," *Survey of Ophthalmology*, 2015.
- [86] D. L. Forest, L. V. Johnson, and D. O. Clegg, "Cellular models and therapies for age-related macular degeneration," *Disease Models & Mechanisms*, vol. 8, no. 5, pp. 421–427, 2015.
- [87] Y. Wei, X. Wang, F. Zhao, P.-Q. Zhao, and X.-L. Kang, "Cannabinoid receptor 1 blockade protects human retinal pigment epithelial cells from oxidative injury," *Molecular Vision*, vol. 19, pp. 357–366, 2013.
- [88] A. B. El-Remessy, M. Al-Shabrawey, Y. Khalifa, N.-T. Tsai, R. B. Caldwell, and G. I. Liou, "Neuroprotective and blood-retinal barrier-preserving effects of cannabidiol in experimental diabetes," *The American Journal of Pathology*, vol. 168, no. 1, pp. 235–244, 2006.
- [89] P. Lax, G. Esquivia, C. Altavilla, and N. Cuenca, "Neuroprotective effects of the cannabinoid agonist HU210 on retinal degeneration," *Experimental Eye Research*, vol. 120, pp. 175–185, 2014.
- [90] M. Ishikawa, T. Yoshitomi, C. F. Zorumski, and Y. Izumi, "Experimentally induced mammalian models of glaucoma," *BioMed Research International*, vol. 2015, Article ID 281214, 11 pages, 2015.
- [91] A. B. El-Remessy, I. E. Khalil, S. Matragoon et al., "Neuroprotective effect of $(-)\Delta^9$ -tetrahydrocannabinol and cannabidiol in N-methyl-D-aspartate-induced retinal neurotoxicity: involvement of peroxynitrite," *The American Journal of Pathology*, vol. 163, no. 5, pp. 1997–2008, 2003.
- [92] J. Crandall, S. Matragoon, Y. M. Khalifa et al., "Neuroprotective and intraocular pressure-lowering effects of $(-)\Delta^9$ -tetrahydrocannabinol in a rat model of glaucoma," *Ophthalmic Research*, vol. 39, no. 2, pp. 69–75, 2007.
- [93] C. Nucci, V. Gasperi, R. Tartaglione et al., "Involvement of the endocannabinoid system in retinal damage after high intraocular pressure-induced ischemia in rats," *Investigative Ophthalmology and Visual Science*, vol. 48, no. 7, pp. 2997–3004, 2007.
- [94] J. E. Slusar, E. A. Cairns, A.-M. Szczesniak, H. B. Bradshaw, A. Di Polo, and M. E. M. Kelly, "The fatty acid amide hydrolase inhibitor, URB597, promotes retinal ganglion cell neuroprotection in a rat model of optic nerve axotomy," *Neuropharmacology*, vol. 72, pp. 116–125, 2013.
- [95] G. Krishnan and N. Chatterjee, "Endocannabinoids affect innate immunity of Muller glia during HIV-1 Tat cytotoxicity," *Molecular and Cellular Neuroscience*, vol. 59, pp. 10–23, 2014.
- [96] G. E. Holder, G. G. Celesia, Y. Miyake, S. Tobimatsu, and R. G. Weleber, "International federation of clinical neurophysiology: recommendations for visual system testing," *Clinical Neurophysiology*, vol. 121, no. 9, pp. 1393–1409, 2010.
- [97] D. L. McCulloch, M. F. Marmor, M. G. Brigell et al., "ISCEV Standard for full-field clinical electroretinography (2015 update)," *Documenta Ophthalmologica*, vol. 130, no. 1, pp. 1–12, 2015.
- [98] S. Viswanathan, L. J. Frishman, J. G. Robson, R. S. Harwerth, and E. L. Smith III, "The photopic negative response of the macaque electroretinogram: reduction by experimental glaucoma," *Investigative Ophthalmology and Visual Science*, vol. 40, no. 6, pp. 1124–1136, 1999.
- [99] N. V. Rangaswamy, S. Shirato, M. Kaneko, B. I. Digby, J. G. Robson, and L. J. Frishman, "Effects of spectral characteristics of Ganzfeld stimuli on the photopic negative response (PhNR) of the ERG," *Investigative Ophthalmology and Visual Science*, vol. 48, no. 10, pp. 4818–4828, 2007.
- [100] G. E. Holder, "Pattern electroretinography (PERG) and an integrated approach to visual pathway diagnosis," *Progress in Retinal and Eye Research*, vol. 20, no. 4, pp. 531–561, 2001.
- [101] M. Bach, M. G. Brigell, M. Hawlina et al., "ISCEV standard for clinical pattern electroretinography (PERG): 2012 update," *Documenta Ophthalmologica*, vol. 126, no. 1, pp. 1–7, 2013.
- [102] X. Luo and L. J. Frishman, "Retinal pathway origins of the pattern electroretinogram (PERG)," *Investigative Ophthalmology and Visual Science*, vol. 52, no. 12, pp. 8571–8584, 2011.
- [103] G. B. Arden and P. A. Constable, "The electro-oculogram," *Progress in Retinal and Eye Research*, vol. 25, no. 2, pp. 207–248, 2006.
- [104] M. F. Marmor, M. G. Brigell, D. L. McCulloch, C. A. Westall, M. Bach, and International Society for Clinical Electrophysiology of Vision, "ISCEV standard for clinical electro-oculography (2010 update)," *Documenta Ophthalmologica: Advances in Ophthalmology*, vol. 122, no. 1, pp. 1–7, 2011.
- [105] D. Zabor, T. Strasser, G. Zabor et al., "Ophthalmological assessment of cannabis-induced persisting perception disorder: is there a direct retinal effect?" *Documenta Ophthalmologica*, vol. 130, no. 2, pp. 121–130, 2015.
- [106] D. C. Hood, M. Bach, M. Brigell et al., "ISCEV standard for clinical multifocal electroretinography (mfERG) (2011 edition)," *Documenta Ophthalmologica*, vol. 124, no. 1, pp. 1–13, 2012.

Il existe un intérêt à étudier la fonction rétinienne chez les consommateurs de cannabis. Le fonctionnement des principales cellules rétiniennes peut être évalué par des mesures électrophysiologiques et leur distribution anatomique et structurale par des mesures d'imagerie. Ces techniques sont décrites dans la partie suivante de ce travail.

3.2 MESURES ANATOMIQUES

Les mesures anatomiques sont présentées brièvement ici car elles ne constituent pas le cœur de ce travail de thèse mais ont été réalisées, notamment, dans un cas clinique. Parmi ces mesures, l'accent est mis sur la tomographie par cohérence optique (OCT) qui peut être centrée sur la macula ou sur la couche des cellules ganglionnaires, notamment (*figures 11, 12*).

3.2.1 Tomographie par cohérence optique

La tomographie par cohérence optique (ou Optical Coherence Tomography, OCT) est une technique récente d'imagerie qui est rapide, non invasive, sans contact, avec une précision de l'ordre de 5 à 10 μm ou moins. Elle utilise le principe d'interférométrie au laser, qui combine l'analyse des longueurs d'onde de la lumière de référence et de la lumière réfléchie par les structures de l'œil. Ceci est à l'origine des différences de contraste sur les clichés d'OCT et permet la visualisation *in vivo* de structures anatomiques rétiniennes en coupe optique de la rétine avec une haute résolution. Ainsi, la réflectivité lumineuse, dans le domaine spectral, des différents plans de l'épaisseur rétinienne est enregistrée à l'aide d'un spectromètre et d'une caméra. Chaque valeur de réflectivité tissulaire est convertie en une échelle colorimétrique ou en un niveau de gris. L'OCT permet d'explorer le segment antérieur et postérieur et fournit classiquement des images volumétriques en 3 dimensions en coupes axiales. Cette technique se réalise avec ou sans dilatation pupillaire et permet d'explorer la jonction vitréocornéenne, de déceler des modifications de la structure du tissu rétinien et de pouvoir mesurer avec précision l'épaisseur rétinienne sur les points de chaque coupe

permettant ainsi de différencier les différentes couches rétiniennes et de fournir une cartographie de l'épaisseur de celles-ci (*figures 11, 12*) (202).

L'OCT bénéficie d'un intérêt croissant dans les domaines des maladies neurodégénératives et neuropsychiatriques. Deux paramètres de mesure de l'épaisseur rétinienne, dont la mesure de l'épaisseur de la couche des axones des cellules ganglionnaires (retinal nerve fiber layer, RNFL) et celle de la macula, semblent être altérés dans ces troubles pouvant ainsi jouer le rôle de marqueurs précoces (203,204). En effet, la diminution d'épaisseur de la couche des axones des cellules ganglionnaires reflète la perte des axones qui quittent la rétine pour former le nerf optique et ainsi rejoindre le corps géniculé latéral. Comme la diminution d'épaisseur de ces axones est représentative d'une perte cellulaire, cette mesure pourrait donc représenter un modèle pertinent d'étude des mécanismes de neurodégénération observés dans le cerveau. Une diminution significative d'épaisseur de la couche des axones des cellules ganglionnaires de la rétine en zone péripapillaire a été observée chez les patients souffrant de maladies neurologiques comme la sclérose en plaques (205), la maladie d'Alzheimer (206) ou la maladie de Parkinson (207) ouvrant ainsi la voie à la découverte de telles anomalies dans les maladies neuropsychiatriques, et ce, d'autant que des anomalies fonctionnelles avaient déjà été découvertes dans ces affections (3,4). Dans la schizophrénie, après la découverte d'anomalies fonctionnelles rétiniennes objectivées avec l'ERG flash (208,209), plusieurs équipes ont récemment montré une diminution de l'épaisseur de la couche des axones des cellules ganglionnaires (210–212).

Figure 11: Exemple de cliché d'OCT maculaire avec les principales structures visibles (Provenance : Dr Céline Faure, Centre Hospitalier National des Quinze-Vingts, Paris ; légendé à partir de (213))

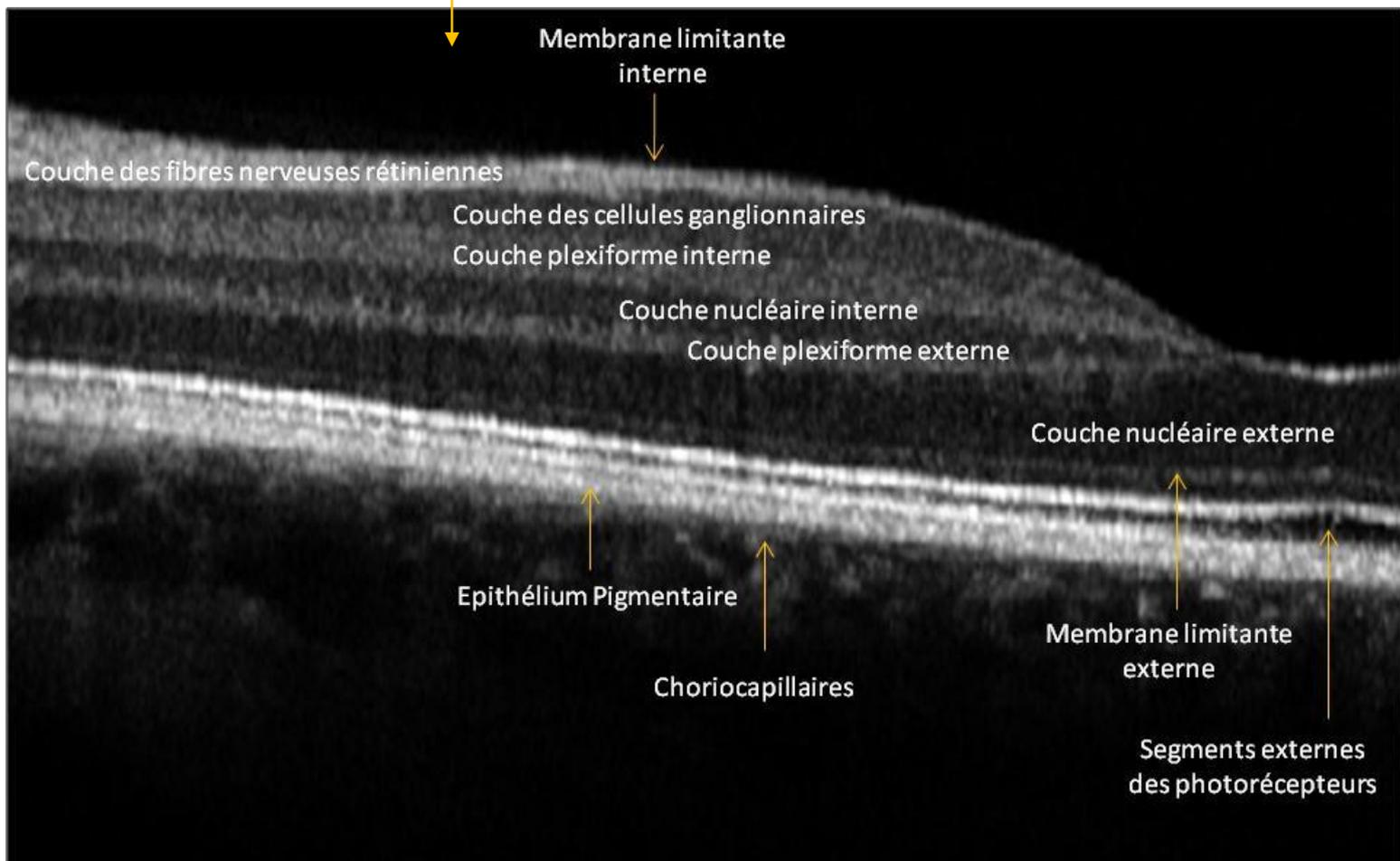
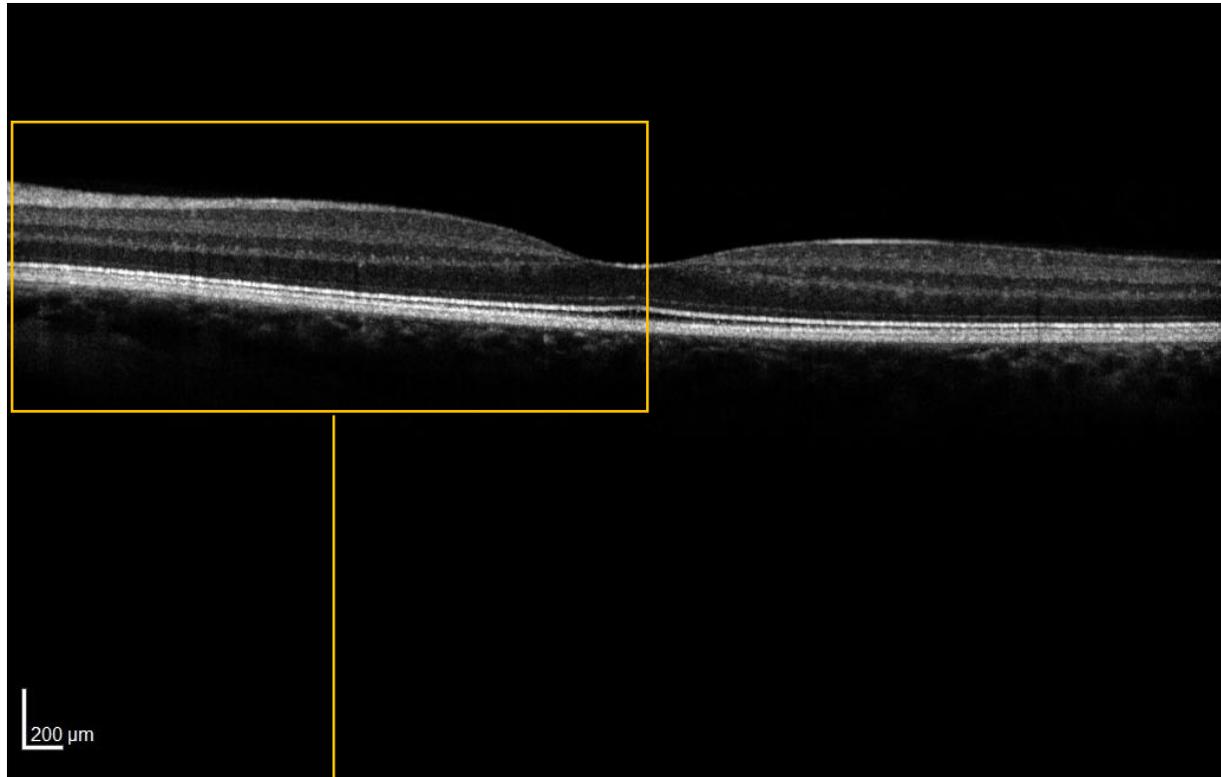
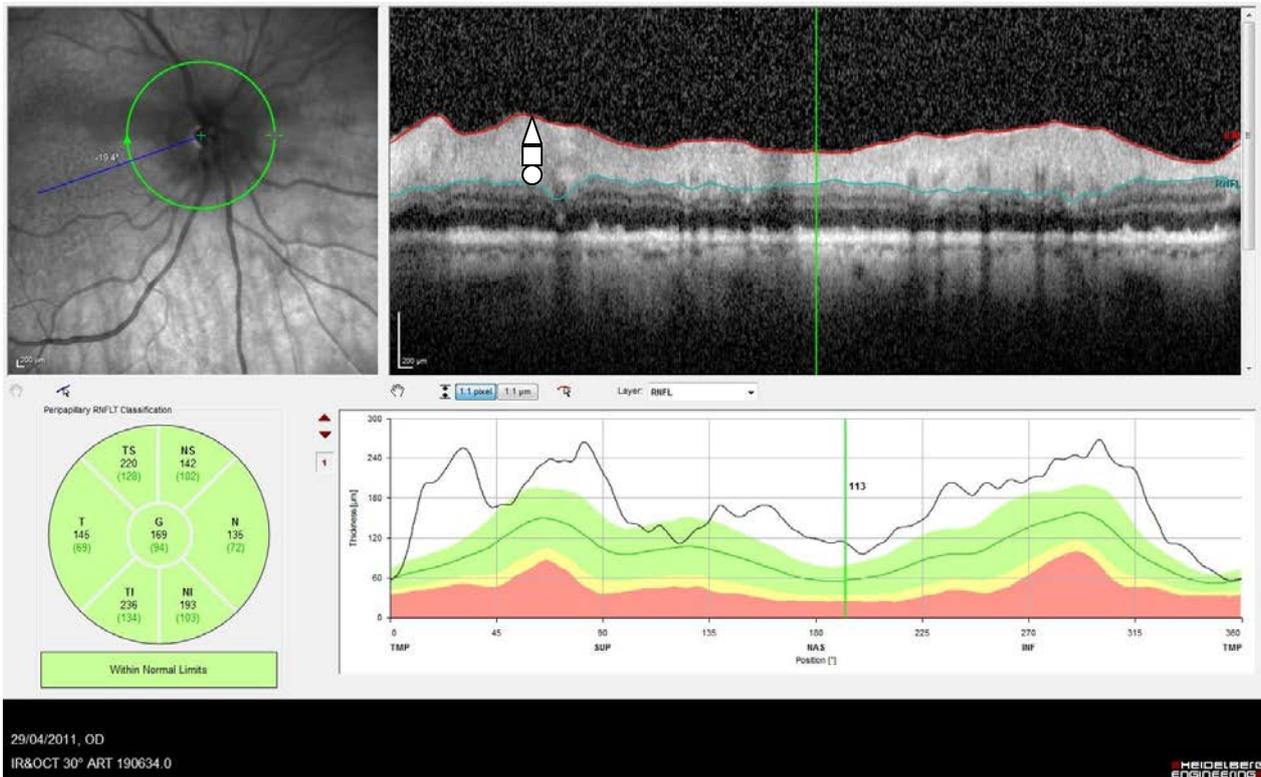


Figure 12: Exemple de cliché d'OCT RNLF (retinal nerve fiber layer) avec les principales structures visibles (les axones, le corps et les dendrites des cellules ganglionnaires représentés par un triangle, un carré et un rond, respectivement) (Provenance : Dr Céline Faure, Centre Hospitalier National des Quinze-Vingts, Paris)



3.3 MESURES FONCTIONNELLES

Les mesures fonctionnelles rétiniennes sont largement décrites dans ce paragraphe car elles constituent le sujet principal de ce travail de thèse et ont représenté la base des protocoles aussi bien pour l'étude cas-témoins que pour les cas cliniques.

Il existe plusieurs techniques fonctionnelles électrophysiologiques standardisées permettant d'étudier la fonction des différentes cellules et structures de la rétine. Brièvement, l'électrorétinogramme flash (ERG flash, fERG) permet de mesurer le fonctionnement du système des cônes et celui des bâtonnets, l'électrorétinogramme pattern (ERG pattern, PERG) permet d'évaluer la fonction maculaire et le fonctionnement des cellules ganglionnaires, l'électrorétinogramme multifocal (ERG multifocal, mfERG) étudie les propriétés spatiales de la fonction du système central des cônes et l'électrooculogramme (EOG) examine le fonctionnement de l'épithélium pigmentaire et son interaction avec les photorécepteurs dans des conditions d'obscurité et de lumière (214). Des recommandations de la Société Internationale pour l'Electrophysiologie Clinique de la Vision (ISCEV) existent pour chacune de ces techniques (215–218).

De manière générale, l'ERG est une mesure objective et non invasive du biopotential électrique généré par la rétine en réponse à une stimulation lumineuse. Ce biopotential extracellulaire résulte d'une modification de courant traversant les cellules rétiniennes et est à l'origine de la réponse enregistrée à l'ERG. Les mesures d'ERG se font avec plusieurs types d'électrodes qui se posent à la surface de l'œil ou sur la peau des patients (219). Dans cette section, il sera décrit les différentes techniques que nous avons utilisées.

3.3.1 Electrorétinogramme pattern

Le PERG est une mesure des propriétés de l'aire maculaire et plus spécifiquement de la rétine centrale (15° centraux environ) en réponse à une stimulation structurée de damiers alternant avec eux-mêmes, blancs et noirs, et vus par une fixation centrale. Dans cette zone, il existe de manière prépondérante des cônes qui sont denses et reliés à leurs cellules ganglionnaires, dont la moitié d'entre elles est répartie sur les 30° centraux et dont la densité est maximale dans les 12° centraux en zone périfovéolaire (220). Cette stimulation, structurée et congruente aux champs récepteurs des cellules ganglionnaires, met préférentiellement ces cellules en activité après que le signal ait été initié par les cônes (221). Il s'agit donc d'une réponse au contraste qui est fortement évoquée par le corps des cellules ganglionnaires mais est également issue des deux autres étages de la neurorétine (cônes et cellules bipolaires). De ce fait, le PERG fournit à la fois une mesure de la fonction maculaire et de celle des cellules ganglionnaires. Il n'y a pas de contribution significative de la rétine périphérique. Il permet ainsi de différencier les troubles de la fonction maculaire de ceux des cellules ganglionnaires et du nerf optique. Nos mesures ont été réalisées conformément aux standards de l'ISCEV sans dilatation pupillaire (215). Selon ces recommandations, le sujet est placé à 1 mètre de l'écran, la taille du champ est de 15°, et celle des damiers alternants noir et blanc de 0.8° (soit 45'). Le niveau de contraste est proche de 1, de l'ordre de 93,3% dans une ambiance lumineuse constante de 100 candela/m² avec 4 renversements des damiers par seconde. Le signal étant plus faible que celui de l'ERG flash et généralement compris entre 2 et 5 µV, au moins 220 réponses sont enregistrées afin d'avoir un rapport signal sur bruit de bonne qualité et ainsi d'assurer la reproductibilité des résultats. Le signal est ensuite amplifié et filtré selon une bande passante de 1 à 100 Hertz (215). Il est possible de différencier deux principaux paramètres pour le PERG : une première onde positive appelée P50 à environ 50 ms suivie par une onde négative plus large nommée N95, à environ 95 ms (*figure 13*). Deux paramètres

principaux sont généralement dérivés des ondes P50 et N95, appelés par convention l'amplitude mesurée en microvolts (μV) et la latence mesurée en millisecondes (ms). La latence et l'amplitude de chacune des ondes sont évaluées comme décrit ci-après. L'amplitude de l'onde P50 est mesurée du pic de l'onde inconstante négative N35 (ou à défaut du zéro de la ligne de base) jusqu'au point le plus haut de l'onde P50 et l'amplitude de l'onde N95 est mesurée à partir de l'amplitude maximale de l'onde P50 jusqu'au point le plus bas de l'onde N95. Les latences représentent le temps nécessaire pour que les ondes atteignent leur amplitude maximale à partir du zéro (*figure 13*). La genèse des ondes P50 et N95 est directement liée au fonctionnement des cônes maculaires et des cellules bipolaires ON des cônes (222,223). L'onde P50 est un marqueur du fonctionnement des deux premiers étages rétiniens de la zone maculaire et l'onde N95 est liée aux corps des cellules ganglionnaires maculaires (222,224,225). Le PERG permet donc d'évaluer les deux premiers étages rétiniens de la zone maculaire (cônes et bipolaires) et celui des cellules ganglionnaires (226–228). L'amplitude des ondes permet de relier une baisse d'acuité visuelle à un dysfonctionnement maculaire associé ou non à un dysfonctionnement des cellules ganglionnaires (229).

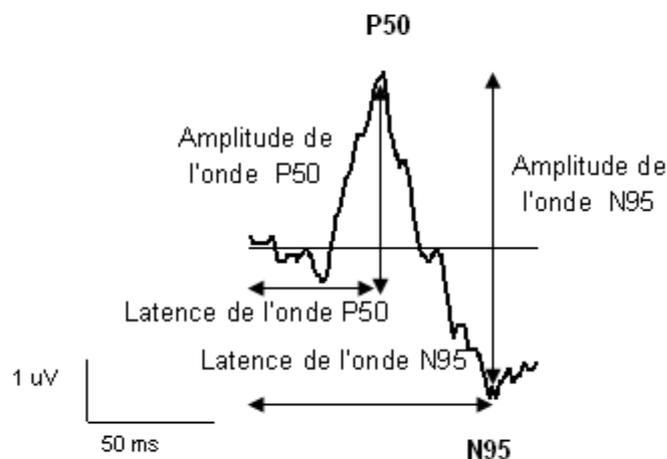


Figure 13: Exemple de tracé d'ERG pattern avec représentées les deux principales ondes P50 et N95 ainsi que la mesure de leur latence et de leur amplitude respective.

3.3.2 *Electrorétinogramme flash*

L'ERG flash, qui utilise une stimulation par flash bref de lumière, est une mesure du fonctionnement des systèmes scotopique et photopique -des cônes et des bâtonnets- à un niveau réceptoral et post-réceptoral, c'est-à-dire au niveau des photorécepteurs et des cellules bipolaires ON et OFF respectives, et donne également une indication sur le fonctionnement des voies ON et OFF de la neurorétine. Il mesure une réponse globale de toute la surface de la neurorétine par sommation des variations de polarisation de tout ou partie des cellules rétiniennes en réponse à un flash lumineux. La stimulation se fait de manière binoculaire en plein champ également appelé « full field » ou « ganzfeld » dans une ambiance lumineuse photopique ou scotopique. Le flash utilisé pour la stimulation est achromatique et inférieur à 5 ms et son niveau lumineux est compris entre 1.5 et 3 cd.s/m². Les cellules ganglionnaires ne contribuent pas de manière significative aux réponses obtenues avec l'ERG flash. Dans notre protocole, l'ERG flash est enregistré après le PERG en utilisant le protocole standardisé de l'ISCEV (216,230). Une dilatation pupillaire est réalisée avant la réalisation de l'examen avec deux gouttes de tropicamide 0.5% instillées dans chaque œil. Le sujet est placé à 30 cm de l'écran et dans des conditions d'adaptation à l'obscurité et à la lumière avant l'enregistrement des réponses. Au moins 8 et 16 réponses sont moyennées, en condition scotopique et photopique, respectivement. La modification de l'état d'adaptation de l'œil et des paramètres de stimulation permet de séparer les réponses des différentes cellules et couches de la rétine. Les flashes achromatiques sont délivrés par un stimulateur Ganzfeld afin d'homogénéiser l'éclairement rétinien et le signal est ensuite amplifié et filtré selon une bande passante de 0.3 à 300 Hertz (216). Le signal est ensuite traité pour identifier les différentes ondes a et b avec une bande passante de 0 à 35 Hz et les potentiels oscillatoires avec une bande passante de 70 à

300 Hz (231) dont l'origine a été établie par Granit en 1933 (232). Chaque séquence décrite ci-après est nommée selon l'intensité du flash utilisé (*figure 14*).

Après une période d'adaptation de 20 minutes, les séquences « Dark-adapted 0.01 ERG », « Dark-adapted 3.0 ERG » puis « Dark-adapted 3.0 oscillatory potentials » sont réalisées, avec, selon les séquences, une durée différente entre deux flashes successifs (2s, 10s et 15s, respectivement et correspondant à une fréquence temporelle de délivrance des flashes de 0.5 Hz, 0.1 Hz, et 0.06 Hz, respectivement) (*figure 14*). Pour la série « Dark-adapted 0.01 ERG », l'intensité de la stimulation ($0.01 \text{ candela.s.m}^{-2}$) se situe en-dessous du seuil de sensibilité des cônes et une réponse spécifique du système des bâtonnets est mesurée uniquement par une onde b. L'onde a n'est pas enregistrée car la luminance est trop faible pour avoir une photo activation suffisante et rendre visible l'hyperpolarisation des bâtonnets qui est de faible amplitude et donc non enregistrable. L'onde b est un marqueur de la dépolarisation des cellules bipolaires ON des bâtonnets (formulation d'usage qui signifie «des cellules bipolaires ON reliées aux bâtonnets»). Pour la réponse « Dark-adapted 3.0 ERG », les cônes et les bâtonnets s'hyperpolarisent conjointement (les cônes avant les bâtonnets) mais la réponse est issue en grande partie de la réponse du système des bâtonnets car elle est enregistrée en condition scotopique et que les bâtonnets sont plus nombreux. Deux paramètres peuvent être isolés sur cette séquence: une première onde négative, l'onde a suivie par une seconde onde positive, l'onde b. Les 6-10 premières millisecondes de l'onde a correspondent à l'hyperpolarisation des photorécepteurs (surtout les bâtonnets) (233), la pente de l'onde a est un reflet de la cinétique de la phototransduction (234,235) mais elle contient également des composantes post-réceptorales (236). De ce fait, l'onde a reflète l'activité métabolique des photorécepteurs. L'onde b est plus large que l'onde a et est générée à un niveau post-réceptoral, principalement par la dépolarisation des cellules bipolaires ON des cônes et des

bâtonnets (237), qui est directement liée à leurs récepteurs au glutamate (238), avec une contribution faible des cellules de Müller (239–243) et une rétroaction possible des cellules amacrines (244). Les potentiels oscillatoires isolés avec la séquence « Dark-adapted 3.0 oscillatory potentials » ressemblent à une série d'ondulations, et même si leur origine reste encore mal connue, ils sont probablement liés à l'activité des cellules amacrines et des cellules bipolaires (231). En pratique clinique, ils ont un intérêt limité, aucune onde n'est isolée mais c'est leur apparence globale qui est évaluée.

Une période d'adaptation à la lumière de 10 minutes est ensuite réalisée pour que le système des bâtonnets fonctionne de manière stable et durable en mode saturé et pour que le système des cônes atteigne également un état stable pour assurer la reproductibilité des résultats (245). La réponse du système des cônes est évaluée avec les séquences « Light-adapted 3.0 ERG » et « Light-adapted 3.0 flicker ERG » dans une ambiance lumineuse de 30 candela.s.m^{-2} (*figure 14*). Ces deux séries utilisent un environnement lumineux saturant les bâtonnets et une fréquence temporelle élevée (de 2 et 30 Hz). Elles sont donc le reflet du fonctionnement du système des cônes. En effet, dans cette ambiance lumineuse, les cônes et les bâtonnets s'hyperpolarisent mais après la délivrance d'un flash lumineux de niveau lumineux supérieur à celui de l'ambiance, les bâtonnets ne peuvent plus s'hyperpolariser car ils fonctionnent en mode saturé et seuls les cônes possèdent une capacité d'hyperpolarisation transmissible aux structures sous-jacentes, ce qui va être mesuré. Une onde a et une onde b peuvent être isolées. Pour la séquence « Light-adapted 3.0 ERG », l'onde a est une résultante de l'hyperpolarisation de tous les cônes (L, M, S) et des cellules bipolaires OFF des cônes L et M, conjuguant ainsi réponses réceptoriales et post-réceptoriales (246,247). L'onde b reflète une activité cellulaire se situant après la phototransduction et est un marqueur de la dépolarisation des cellules bipolaires ON des cônes L, M et S et de l'hyperpolarisation des

cellules bipolaires OFF des cônes L et M pour en limiter l'amplitude (248). L'hyperpolarisation des cellules horizontales de la voie ON des cônes pourrait également limiter l'amplitude de la réponse sous la forme d'un rétrocontrôle (249). En utilisant un flash court de cette intensité, les activités des voies ON et OFF des cônes sont synchronisées, il n'est donc pas possible de les différencier avec cette stimulation. Une séparation des voie ON et OFF des cônes peut être réalisée en utilisant une stimulation longue dans un environnement photopique (ERG ON-OFF). La série « Light-adapted 3.0 flicker ERG » est d'aspect périodique et combine les réponses des voies des bipolaires ON et OFF des cônes (250–253). La réponse obtenue avec la série flicker photopique informe sur l'état de la transmission de l'information visuelle des cônes vers leurs cellules bipolaires respectives ON et OFF et permet de visualiser une atteinte du fonctionnement des cellules bipolaires des voies ON et OFF (254). Du fait que la voie M est associée au codage des hautes fréquences temporelles, il est probable que la réponse des bipolaires ON et OFF de cette voie soit prépondérante dans l'obtention de la réponse rétinienne au flicker. Pour la série flicker, même si les deux ondes a et b sont individualisées sur les tracés (l'onde a servant à calculer l'amplitude de l'onde b), on ne considère généralement pour l'analyse que la morphologie globale du tracé et les paramètres (amplitude et latence) de la première périodique (sinusoïde), l'onde b.

Deux paramètres principaux sont généralement dérivés des ondes a et b, appelés par convention l'amplitude mesurée en microvolts (μV) et la latence mesurée en millisecondes (ms) (*figure 14*). L'amplitude de l'onde a est mesurée du zéro de la ligne de base qui réfère au début du flash jusqu'au pic le plus bas de l'onde a et l'amplitude de l'onde b est mesurée à partir de l'amplitude maximale de l'onde a jusqu'au pic le plus haut de l'onde b. Les latences représentent le temps nécessaire pour que les ondes atteignent leur amplitude maximale à partir du zéro (*figure 14*).

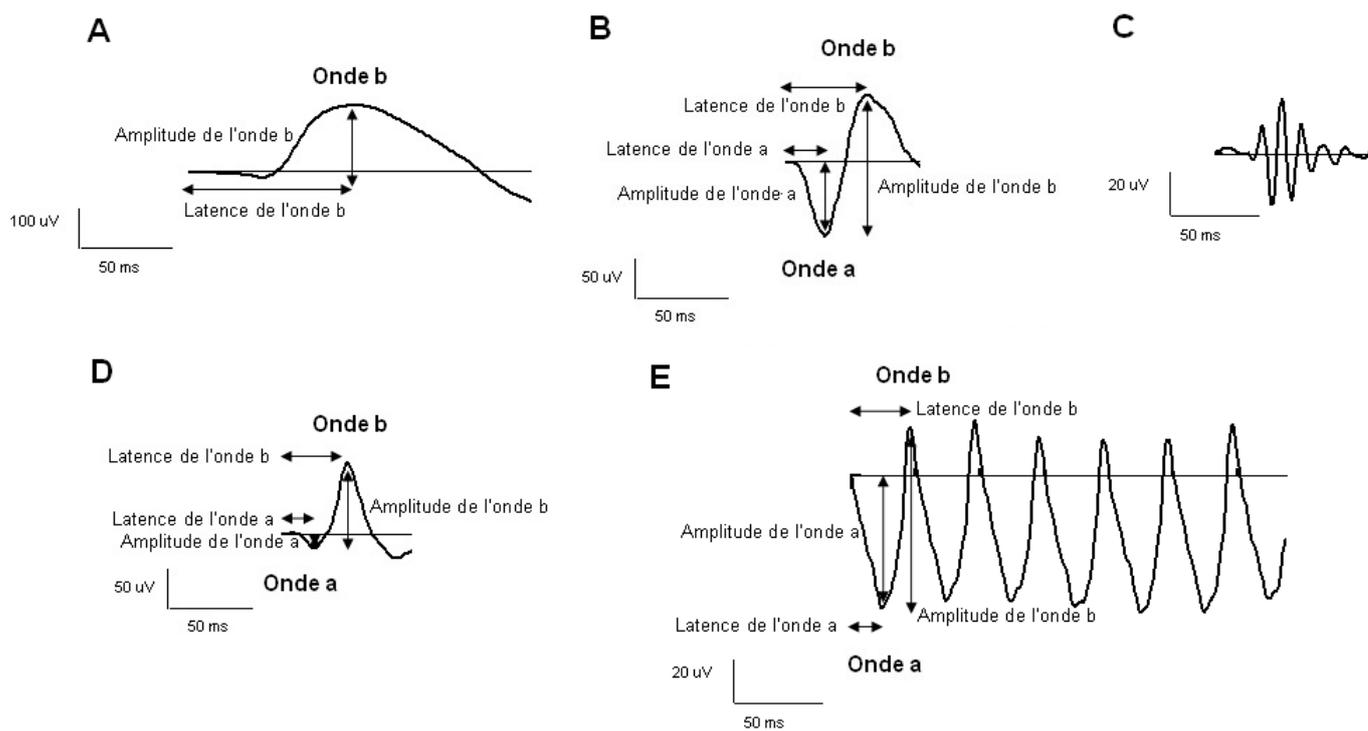


Figure 14: Exemple de tracés des séquences de l'ERG flash enregistrées en condition scotopique et photopique avec représentées les ondes a et b ainsi que la mesure de leur latence et de leur amplitude respective : (A) Dark-adapted 0.01 ERG, (B) Dark-adapted 3.0 ERG, (C) Dark-adapted 3.0 oscillatory potentials, (D) Light-adapted 3.0 ERG, (E) Light-adapted 3.0 Flicker

3.3.3 Electrorétinogramme ON-OFF

L'ERG ON-OFF est une mesure du fonctionnement des voies ON et OFF issues du système photopique, de toute la surface rétinienne et des deux premiers étages (cônes et bipolaires). L'ERG ON-OFF est basé sur l'anatomie du système photopique rétinien. En effet, les cônes L et M transmettent leurs informations à la voie ON et à la voie OFF et les cônes S transmettent leurs informations à une seule voie de type ON qui leur est propre. Avec l'ERG flash standard, la réponse du système des cônes combine celle de la voie ON et celle de la voie OFF, sans distinction. La voie OFF participe à la formation de l'onde a et les deux voies participent à celle de l'onde b (248). Or, ces deux voies possèdent des propriétés temporelles différentes. En effet, la voie ON est plus rapide et la voie OFF plus lente (249), et cela est à l'origine de l'ERG ON-OFF dont l'objectif est de séparer les réponses issues de la voie ON et de la voie OFF. Il utilise une stimulation prolongée supérieure à 100 ms -généralement 150-200 ms- par flash lumineux, appelée échelon lumineux, de luminance supérieure à 100 cd/m² et délivrée dans une ambiance photopique de 30 à 50 cd/m², après une période d'adaptation pour la rétine (255). Avec cette technique de stimulation, les réponses du système ON et celles du système OFF peuvent être isolées de manière indépendante (*figure 15*). La réponse du système ON fait suite à l'installation de la stimulation de longue durée et est caractérisée par une onde a et une onde b. La réponse du système OFF fait suite à la disparition de la stimulation et est caractérisée par une onde d1. Dans notre protocole, l'ERG ON-OFF est enregistré après l'ERG flash et le patient présente donc une dilatation pupillaire suffisante. Il est placé à 30 cm de l'écran en condition photopique. La stimulation présente une intensité lumineuse d'environ 100 cd/m², dure 104 ms et est délivrée dans une ambiance photopique de 30 cd/m². Au moins 16 réponses sont moyennées. Le signal est ensuite amplifié et filtré selon une bande passante de 1 à 100 Hertz. L'enregistrement est composé de quatre

ondes et d'un plateau : une onde a négative, reflet de l'hyperpolarisation des cônes et des bipolaires OFF des cônes ; une onde b positive qui représente la dépolarisation des bipolaires ON des cônes ; un plateau représentatif de l'adaptation cellulaire à la lumière et deux ondes à la cessation de la stimulation ; une onde d1 et une onde d2 inconstante (*figure 15*) (256). L'onde d1 pourrait représenter la dépolarisation des bipolaires OFF des cônes et l'onde d2, inconstante, la repolarisation des cônes (248,257,258). Comme pour l'ERG flash, deux paramètres principaux sont dérivés des ondes a, b, d1 et d2 : l'amplitude et la latence (*figure 15*).

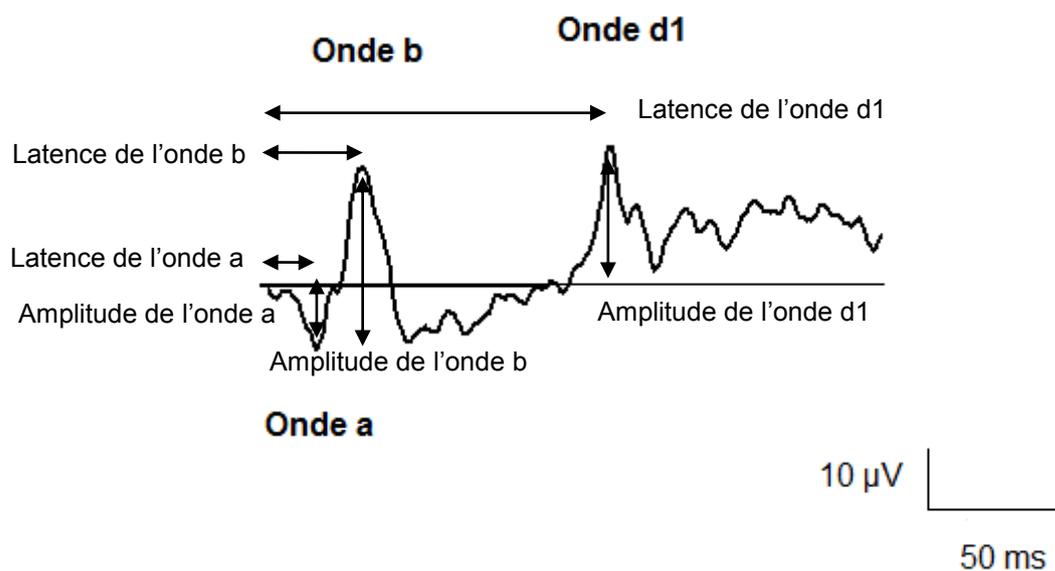


Figure 15: Exemple de tracé d'ERG ON-OFF avec représentées les ondes a, b et d1 ainsi que la mesure de leur latence et de leur amplitude respective

3.3.4 Electrorétinogramme multifocal

Contrairement à l'ERG flash qui permet d'enregistrer une réponse rétinienne globale issue de toute la surface de la neurorétine, l'ERG multifocal (mfERG, ERG mf) permet de tester le fonctionnement de zones annulaires autour de l'aire fovéolaire et couvrant le pôle postérieur (40 à 50° centraux) (*figure 16*). Le mfERG est enregistré dans des conditions photopiques de niveaux lumineux de 50 à 100 cd/m², le sujet étant placé à 30 cm de l'écran, avec les pupilles dilatées (214). Contrairement aux mesures précédentes, les enregistrements se réalisent de manière monoculaire en occultant l'œil non utilisé. Une correction optique est appliquée si nécessaire. Le signal est ensuite amplifié et filtré selon une bande passante de 5 à 200 Hertz (217,259). Les réponses obtenues avec le mfERG renseignent sur le fonctionnement du système central des cônes (deux premiers étages neurorétiniens : cônes et bipolaires des cônes) par zone concentrique de rétine, et plus particulièrement sur l'aire maculaire et les 40-50° centraux (260). Cette méthode doit aider à repérer les zones rétiniennes du pôle postérieur présentant un dysfonctionnement par rapport aux autres (261). La stimulation est générée par un moniteur plein champ à la fréquence de 75 Hz ne sollicitant alors que le système des cônes. Elle est délivrée en condition de luminance stable et se compose de stimuli structurés représentés par de multiples hexagones noirs et blancs en nombre égal et disposés en anneaux concentriques. Chacun d'entre eux est illuminé à une fréquence élevée par un flash avec sa propre séquence binaire pseudo-randomisée prédéterminée et appelée séquence M binaire. Environ 50% des hexagones présentent un niveau d'éclairement lumineux maximal et 50 % un niveau d'éclairement lumineux minimal et cette séquence change à chaque balayage selon la séquence M binaire, ce qui donne l'impression d'un papillotement. Généralement, les hexagones sont répartis selon leur taille qui est croissante avec l'excentricité, les petits étant préférentiellement au centre et plus on

s'approche de la périphérie plus les hexagones deviennent gros. Cette répartition vise à solliciter un nombre de cellules et de cônes constants pour chaque zone rétinienne afin que les réponses soient d'amplitudes égales et comparables entre elles. Une corrélation entre la séquence locale des flashes et la réponse de masse donne une réponse pour chaque hexagone fournissant ainsi des ondes ERG multiples du système des cônes obtenues à partir d'une seule électrode. Ainsi, chaque séquence est enregistrée dans la mémoire de l'ordinateur qui, par un algorithme spécifique de codage des séquences M, permet d'isoler l'activité de chaque zone rétinienne. Autrement dit, chacune de ces surfaces rétiniennes est stimulée de façon pseudo-aléatoire par un flash intense et répété dans le temps et la réponse dérivée de chacune des surfaces est censée représenter une réponse électrorétinographique de la surface testée. L'ERG mf correspond à un ensemble de réponses électrorétinographiques issues de zones juxtaposées et couvrant le pôle postérieur (*figure 16*). Chaque réponse est représentée par un tracé situé dans l'hexagone d'où elle provient. Ainsi, l'ERG multifocal n'est pas une réponse et n'est pas directement lié à l'activité bio-ionique provenant de zones locales de rétine mais est plutôt une extraction mathématique complexe du signal par le premier ordre de Kernel (l'amplitude de la réponse est proportionnelle à l'intensité de la stimulation en comparant l'état ON ou OFF du même hexagone) (262,263). Cet examen est très sensible aux erreurs de fixation et nécessite environ 5 minutes d'enregistrement par œil, soit environ le moyennage de 5000 réponses (264). Pendant l'enregistrement, le niveau de bruit (qui correspond à l'activité électrique recueillie tout au long de l'examen en l'absence de stimulation et qui doit être inférieure à 5 μ V), la fixation et les rejets sont évalués. L'ERG mf présente une importance fonctionnelle majeure dans de nombreuses pathologies ophtalmologiques (265).

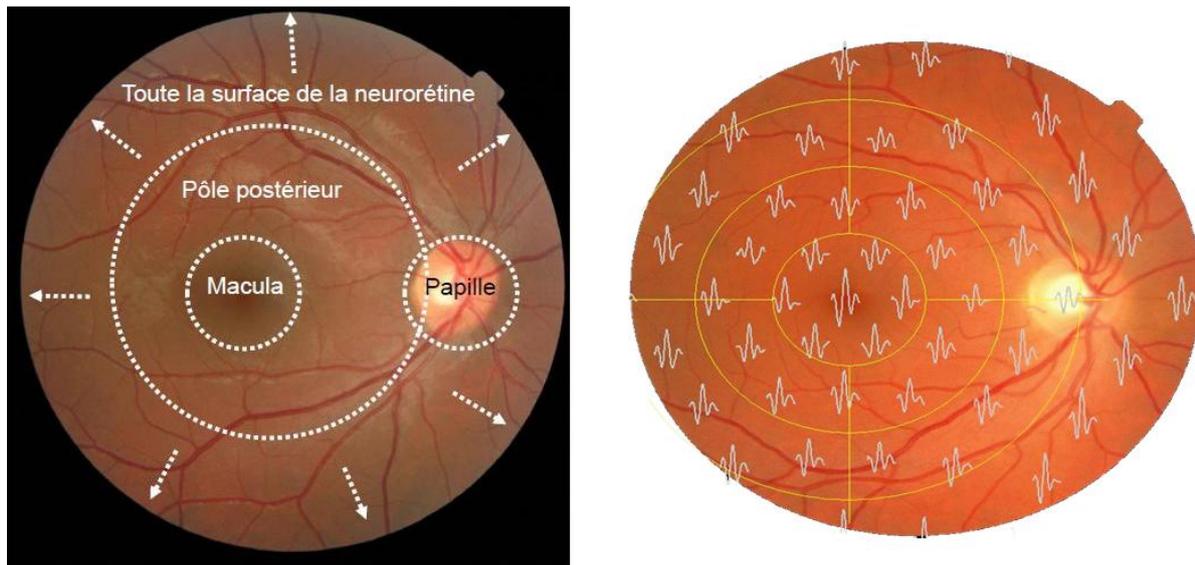


Figure 16 : Photographie du fond d'œil avec représentation des différentes zones neurorétiniennes et superposition d'un tracé typique d'ERG multifocal avec une photographie du fond d'œil (tirée et modifiée de (266)).

Dans notre protocole, la stimulation se compose de 61 hexagones irréguliers, centrés sur la fovéa, alternant à une fréquence temporelle de 75 Hz et répartis en 5 anneaux concentriques de taille croissante vers la périphérie :

- zone 1 : 1 hexagone central : anneau des 4 degrés centraux
- zone 2 : 6 hexagones : anneau des 4-10 degrés centraux
- zone 3 : 12 hexagones : anneau des 10-20 degrés centraux
- zone 4 : 18 hexagones : anneau des 20-40 degrés centraux
- zone 5 : 24 hexagones : anneau des au-delà des 40 degrés centraux.

Cette stimulation permet d'avoir le meilleur compromis entre temps d'enregistrement (5 minutes par œil environ) et précision des réponses obtenues avec l'apparition du pic fovéolaire bien distincte. La luminance des hexagones blancs est de 200 cd/m², celle des

hexagones noirs de 2 cd/m². Il existe par ailleurs un carré de fixation centrale. L'examen est réalisé en condition photopique dans l'ambiance lumineuse de la pièce après l'ERG ON-OFF avec des pupilles dilatées, des électrodes DTL et une correction optique quand cela est nécessaire. L'œil non testé est masqué par un cache. Pendant l'examen, la fixation du sujet est surveillée pour détecter d'éventuels défauts de fixation. L'œil droit est enregistré avant l'œil gauche.

Les réponses obtenues avec l'ERG multifocal sont issues du système photopique, de surfaces rétiniennes contiguës, des 45° centraux et des deux premiers étages rétiniens (cônes et bipolaires) (267). Il s'agit d'une onde initiale négative N1 suivie d'un pic positif P1 puis d'une deuxième onde négative N2 (*figures 17, 18, 19*). La signification exacte des ondes N1, P1 et N2 reste à préciser. L'onde N1 représenterait l'hyperpolarisation des cellules bipolaires OFF et l'hyperpolarisation des cônes pour les six degrés centraux et l'onde P1 représenterait la dépolarisation des cellules bipolaires ON et la repolarisation des cellules bipolaires OFF (265,268,269). Ainsi, les cellules ganglionnaires ne semblent pas participer de manière significative à la genèse de ces ondes (270,271). L'amplitude et la latence des ondes sont évaluées (*figures 17, 18, 19*). L'amplitude est calculée de creux à crête et est exprimée en nanovolt/deg² et la latence est évaluée du début de la stimulation au creux ou à la crête de l'onde, pour toutes les ondes (*figures 17, 18, 19*).



Figure 17: Exemple d'un tracé typique d'une réponse obtenue avec l'ERG multifocal avec les principaux pics N1, P1 et N2

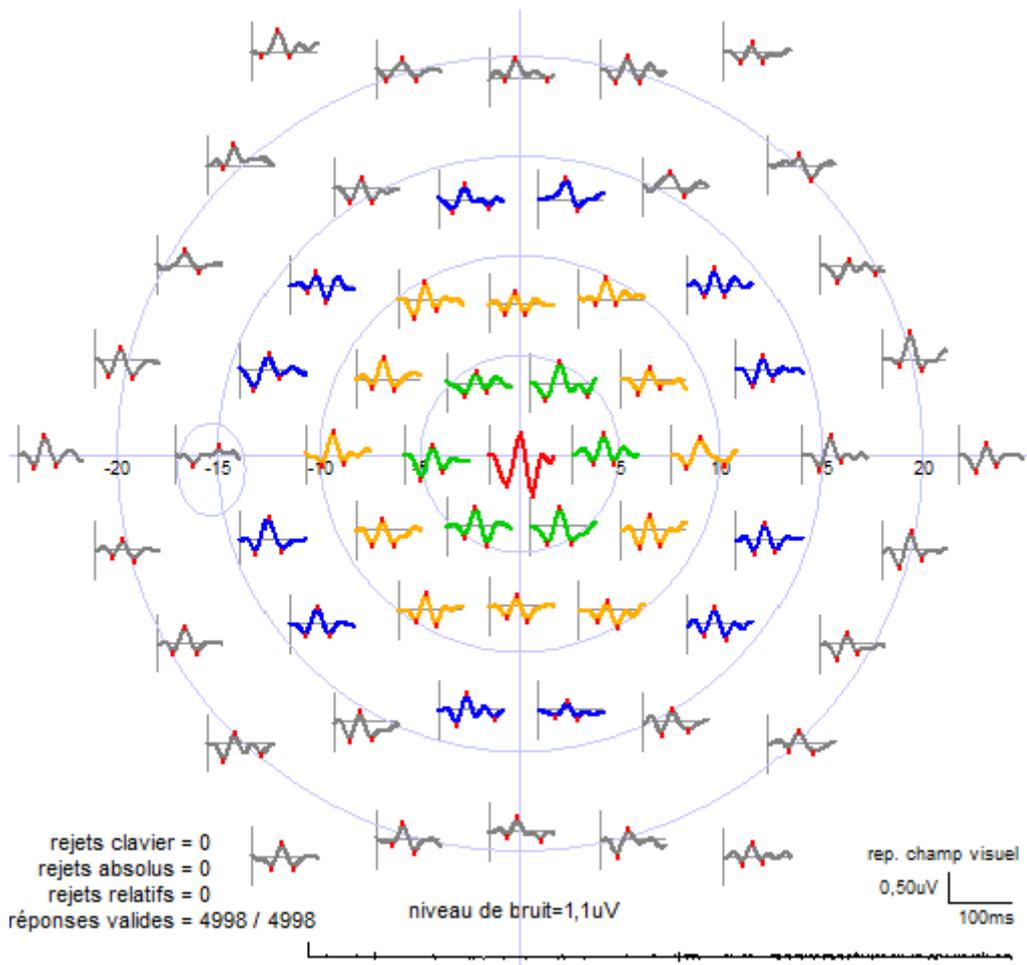


Figure 18: Exemple de tracé complet d'ERG multifocal réalisé avec des électrodes DTL

| RMS | signal | bruit | s/sp |
|-----------|--------|-------|------|
| <2 deg | 1097 | 140,0 | 3,00 |
| 2-5 deg | 513 | 146,0 | 1,40 |
| 5-10 deg | 417,0 | 131,0 | 1,10 |
| 10-15 deg | 427,0 | 159,0 | 1,20 |
| >15 deg | 368,0 | 129,0 | 1,00 |

| ONDE N1 | amplitude | temps impl | N/Np |
|-----------|-----------|------------|------|
| <2 deg | -445,0 | 26,7 | 4,40 |
| 2-5 deg | -182,0 | 26,8 | 1,80 |
| 5-10 deg | -145,0 | 25,5 | 1,40 |
| 10-15 deg | -128,0 | 24,9 | 1,30 |
| >15 deg | -102,0 | 24,9 | 1,00 |

| ONDE P1 | amplitude | temps impl | P/Pzp |
|-----------|-----------|------------|-------|
| <2 deg | 740 | 48,6 | 2,80 |
| 2-5 deg | 395,0 | 45,2 | 1,50 |
| 5-10 deg | 335,0 | 42,2 | 1,20 |
| 10-15 deg | 327,0 | 42,2 | 1,20 |
| >15 deg | 269,0 | 42,3 | 1,00 |

| ONDE N2 | amplitude | temps impl | P1/N1 |
|-----------|-----------|------------|-------|
| <2 deg | -830 | 67,7 | 1,70 |
| 2-5 deg | -371,0 | 62,4 | 2,20 |
| 5-10 deg | -316,0 | 58,8 | 2,30 |
| 10-15 deg | -311,0 | 59,1 | 2,60 |
| >15 deg | -257,0 | 59,8 | 2,60 |



Figure 19: Exemple de tableaux d'analyses par anneaux concentriques concernant l'amplitude et la latence (temps impl) des ondes N1, P1 et N2 (mesurées avec des électrodes DTL)

3.3.5 Electrooculogramme

L'électrooculogramme (EOG) est présenté ici, même si des mesures d'EOG n'ont pas été incluses dans le protocole expérimental de l'étude cas-témoins mais ont été réalisées dans un des cas cliniques.

L'électrooculogramme mesure le fonctionnement de l'épithélium pigmentaire en réponse à un changement d'état d'adaptation lumineuse de la rétine (272). Les variations de potentiels de la membrane basale de l'épithélium pigmentaire sont un bon indicateur de son fonctionnement. Comme il n'est pas possible d'enregistrer de telles variations chez l'homme, elles sont reliées aux variations de potentiels électriques entre des électrodes cutanées situées sur le canthus externe et interne (272) et sont équivalentes aux variations de potentiels électriques présentes entre l'avant et l'arrière de l'œil. Elles sont appelées « standing potential » (218). Ces variations sont obtenues en demandant au sujet de faire des mouvements volontaires réguliers latéraux des yeux en suivant le déplacement d'un point cible à droite et à gauche sans bouger la tête durant 30 minutes en condition scotopique et photopique. Le sujet est placé avant l'enregistrement dans une ambiance lumineuse photopique modérée de préadaptation pendant environ 15 minutes (273), puis à l'obscurité pendant 12 à 15 minutes puis dans une ambiance lumineuse pendant laquelle la stimulation de longue durée d'intensité d'environ 100 cd/m² (274) est donnée pendant 12 à 15 minutes (275,276). Les variations de potentiels sont enregistrées de manière monoculaire entre les deux électrodes situées sur les canthi et ce, dans l'ambiance de préadaptation (3 valeurs), dans l'obscurité (7 valeurs) puis en ambiance lumineuse (9 valeurs). L'ensemble des valeurs moyennes obtenues dans les différentes conditions sont portées en fonction du temps pour former l'EOG (*figure 20*).

Deux paramètres sont dérivés des mesures d'EOG et sont appelés le « dark trough », qui représente la valeur minimale (le creux de la courbe) obtenue en condition d'obscurité et dont l'origine est encore peu connue et le « light peak » qui représente la valeur maximale (le point le plus haut de la courbe) obtenue en ambiance lumineuse et qui correspond à la dépolarisation maximale de la membrane basale de l'épithélium pigmentaire (*figure 20*). Le «dark trough» est mesuré entre la valeur de base et le creux, le « light peak » entre la valeur de base et le pic et le rapport d'Arden correspond au rapport entre ces deux valeurs (*figure 20*) (277,278).

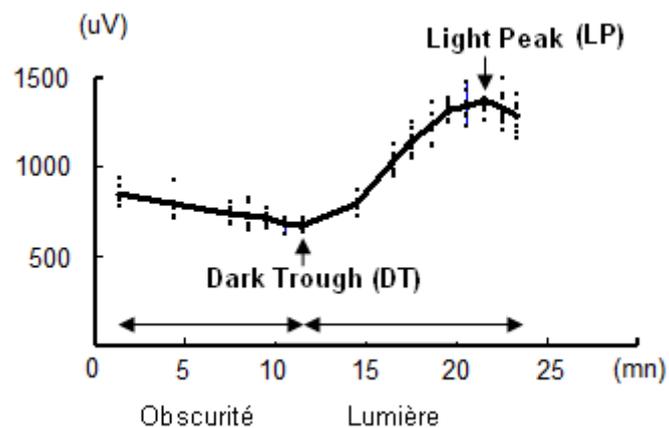


Figure 20: Tracé typique d'EOG. Les flèches verticales représentent le « dark trough » et le « light peak » et les flèches horizontales représentent les conditions d'obscurité, de lumière.

IV. PROBLÉMATIQUE

En raison de la difficulté à accéder au fonctionnement du cerveau, l'identification de sites extérieurs appartenant au système nerveux central pourrait fournir des mesures indirectes du fonctionnement cérébral et ainsi apporter des marqueurs des anomalies de neurotransmission dans les troubles psychiatriques et addictifs, des marqueurs de risque de maladies psychiatriques et enfin des marqueurs d'orientation et d'évaluation thérapeutiques.

Dans ce contexte, quelques équipes ont suggéré que la rétine pouvait être un bon site d'investigation du fonctionnement du cerveau dans les maladies neuropsychiatriques car elle partage avec le cerveau des similarités (3,4,209,279–283,283–286). La rétine est une extension anatomique et développementale du système nerveux central et elle est reliée au cerveau par le nerf optique formé par les axones des cellules ganglionnaires (134). L'étude de la fonction rétinienne donne l'opportunité d'étudier de manière objective un réseau neuronal complexe disposé en étages et dont le fonctionnement présente des similarités avec celui du cerveau. La rétine est composée de nombreuses couches cellulaires neuronales impliquées dans le traitement rétinien de l'information visuelle dont il existe pour la plupart des méthodes permettant d'étudier leurs propriétés fonctionnelles avec une grande précision (215–218). Chacune de ces couches est dotée des principaux neurotransmetteurs excitateurs ou inhibiteurs présents dans le cerveau comme par exemple la sérotonine, la dopamine, le glutamate et le GABA (171,172,180,183,191,287). Leur fonctionnement mesuré avec ces techniques électrophysiologiques est sensible à l'administration locale et systémique d'agents agissant sur ces voies de neurotransmission (201,288–290). En plus du fait que la rétine est facilement accessible, ces techniques électrophysiologiques sont dotées de protocoles standardisés pouvant être répliqués par les différentes équipes et assurant la reproductibilité

des résultats. Ces protocoles sont particulièrement adaptés à la recherche en psychiatrie puisqu'ils sont relativement non invasifs, courts et peu onéreux. Enfin, la fonction rétinienne est altérée dans les maladies neurodégénératives comme la maladie de Parkinson et même si les études restent à ce jour limitées, dans les maladies psychiatriques et addictives (3,4,207). Même si tous les étages rétiniens sont pertinents à étudier, celui des cellules ganglionnaires pourrait se montrer particulièrement intéressant pour de nombreuses raisons (Schwitzer et al., en préparation). Par exemple, la transmission du signal par les cellules ganglionnaires est similaire à celle présente dans le cerveau car elle se fait sous la forme de potentiels d'action.

Il a été montré dans la première partie de ce travail que les consommations de cannabis, associées ou non à un trouble de son usage, représentent un problème grave de santé publique pour lequel il est nécessaire d'agir. Ces consommations posent un certain nombre de questions, notamment diagnostiques, thérapeutiques et physiopathologiques puisque la neurotoxicité du cannabis est encore aujourd'hui peu connue. Le cannabis consommé, quelque soit sa forme, est une source naturelle de cannabinoïdes exogènes à l'origine d'une perturbation du système cannabinoïde endogène composé de récepteurs, de ligands et d'enzymes de régulation. Ce système est largement distribué à travers le corps humain et en particulier dans le système nerveux central où il joue un rôle crucial dans la neurotransmission et la plasticité synaptique.

Durant ce travail, nous avons voulu vérifier si les consommations de cannabis pouvaient altérer les propriétés fonctionnelles de la rétine après des consommations régulières mais également après un usage aigu. Ces études sont destinées à donner une indication sur les effets des consommations de cannabis sur le cerveau. Certains résultats sont présentés sous la

forme d'études cas-témoins prospectives, et, en raison de la difficulté d'étudier l'impact des consommations aiguës de cannabis en accord avec la législation française, d'autres résultats sont présentés sous la forme de cas cliniques, seules études autorisées en France dans ce contexte.

Après avoir vérifié dans la littérature que les structures visuelles et rétiniennes étaient dotées d'un système cannabinoïde fonctionnel, le deuxième objectif de ce travail était de vérifier la faisabilité et la pertinence des mesures rétiniennes en santé mentale. Ces travaux sont présentés dans la partie V.5.1. Enfin, afin d'évaluer l'impact des consommations aiguës ou régulières de cannabis sur l'architecture fonctionnelle de la rétine, des protocoles d'études cas-témoins et de case-report ont été élaborés, dont les résultats sont présentés dans la partie V.5.2.

V. DE L'INTERET DES EXPLORATIONS RETINIENNES EN SANTE MENTALE AUX ALTERATIONS RETINIENNES CHEZ LES CONSOMMATEURS DE CANNABIS

5.1 INTÉRÊT DES MESURES ÉLECTROPHYSIOLOGIQUES RÉTINIENNES

Article 3.

“The emerging field of retinal electrophysiological measurements in psychiatric research: A review of the findings and the perspectives in major depressive disorder”

Journal of Psychiatric Research 70 (2015) 113-120.

Thomas Schwitzer, Joëlle Lavoie, Anne Giersch, Raymund Schwan,
Vincent Laprevote

Après avoir récolté les données expérimentales anatomiques et physiologiques nécessaires à la construction des hypothèses physiopathologiques qui ont servi de bases aux mesures que nous avons réalisées et qui sont présentées ci-après, il était important de vérifier l'applicabilité des mesures électrophysiologiques rétiniennes dans la recherche en psychiatrie mais également leur pertinence dans l'étude de la physiopathologie des dysfonctions cérébrales présentes dans les maladies mentales.

Cet article, réalisé en collaboration avec le Dr Joëlle Lavoie, post-doctorante au département de psychiatrie et de sciences comportementales au Johns Hopkins University School of Medicine à Baltimore (USA), permet de présenter les techniques électrophysiologiques d'étude de la fonction rétinienne actuellement disponibles et utilisées dans la recherche en psychiatrie. Cette revue de littérature se base sur le trouble dépressif majeur car les principales techniques électrophysiologiques de la fonction rétinienne ont été explorées chez les patients, permettant ainsi de dégager des hypothèses sur la pertinence de ces mesures pour l'exploration de la physiopathologie des troubles psychiatriques mais également comme marqueurs fonctionnels.

Les techniques électrophysiologiques évaluant la fonction des principaux stades rétiniens du traitement de l'information visuelle sont présentées dans cet article comme l'électrorétinogramme flash, l'électrorétinogramme pattern et l'électrooculogramme. Leurs caractéristiques ainsi que les principaux paramètres qui en sont issus sont détaillés.

A la lecture des résultats présentés dans cet article, qui montrent des anomalies détectées avec ces trois techniques chez les patients présentant un trouble dépressif majeur, il apparaît que ces mesures pourraient être complémentaires pour explorer la physiopathologie des maladies mentales puisqu'elles apportent des informations différentes. De plus, il est discuté l'intérêt de chacune de ces mesures dans l'exploration des anomalies de la neurotransmission dans les troubles psychiatriques et addictifs, et leur utilisation comme marqueur fonctionnel dans le trouble dépressif majeur et en santé mentale.



Review

The emerging field of retinal electrophysiological measurements in psychiatric research: A review of the findings and the perspectives in major depressive disorder



Thomas Schwitzer^{a, b, c, *}, Joëlle Lavoie^d, Anne Giersch^c, Raymund Schwan^{a, b}, Vincent Lapevotte^{a, b, e}

^a EA7298, INGRES, Université de Lorraine, Vandœuvre-lès-Nancy, France

^b Centre Psychothérapeutique de Nancy, Nancy, France

^c INSERM U1114, Fédération de Médecine Translationnelle de Strasbourg, Département de Psychiatrie, Centre Hospitalier Régional Universitaire de Strasbourg, Strasbourg, France

^d Department of Psychiatry and Behavioral Sciences, Johns Hopkins University School of Medicine, Baltimore, MD, USA

^e Maison des Addictions, CHU Nancy, Nancy, France

ARTICLE INFO

Article history:

Received 6 June 2015

Received in revised form

15 August 2015

Accepted 8 September 2015

Keywords:

Major depressive disorder

Electroretinogram

Electrooculogram

Pathophysiology

Biological marker

Monoamine neurotransmission

ABSTRACT

Major depressive disorder (MDD) is a severe mental illness leading to long-term disabilities. One of the current challenges in psychiatric research is to develop new approaches to investigate the pathophysiology of MDD and monitor drug response in order to provide better therapeutic strategies to the patients. Since the retina is considered as part of the central nervous system, it was suggested that it constitutes an appropriate site to investigate mental illnesses. In the past years, several teams assessed the retinal function of patients with mood disorders and many relevant abnormalities have been reported. Investigation of the retinal electrophysiological abnormalities in MDD remains a young emerging field, but we believe that the current findings are very promising and we argue that objective retinal electrophysiological measurements may eventually become relevant tools to investigate the pathophysiology of MDD. Here, we review the retinal abnormalities detected with objective electrophysiological measurements such as the flash electroretinogram (fERG), the pattern electroretinogram (PERG) and the electrooculogram (EOG) in patients with MDD. We discuss how these changes might reflect the pathophysiology of MDD in both clinical and scientific points of view, according especially to the monoamine neurotransmission deficiency hypothesis. We also discuss the technical details that must be taken into consideration for a potential use of the objective retinal electrophysiological measurements as tools to investigate the pathophysiology of MDD.

© 2015 Elsevier Ltd. All rights reserved.

Contents

| | |
|--|-----|
| 1. Introduction | 114 |
| 2. Materials and methods | 115 |
| 3. Results | 116 |
| 3.1. Studies reporting fERG anomalies in MDD patients | 116 |
| 3.2. Studies reporting PERG anomalies in MDD patients | 116 |
| 3.3. Studies reporting EOG anomalies in MDD patients | 116 |
| 4. Discussion | 116 |
| 4.1. Summary of the findings | 116 |
| 4.2. The monoamine deficiency hypothesis as a potential mechanism of the retinal electrophysiological abnormalities in MDD | 118 |

* Corresponding author. Centre Psychothérapeutique de Nancy, 1, rue du Docteur Archambault, Laxou F-54 521, France.

E-mail address: thomas.schwitzer@univ-lorraine.fr (T. Schwitzer).

<http://dx.doi.org/10.1016/j.jpsychires.2015.09.003>

0022-3956/© 2015 Elsevier Ltd. All rights reserved.

| | |
|-------------------------------------|-----|
| 4.3. Technical considerations | 118 |
| 5. Conclusion | 119 |
| Contributors | 119 |
| Role of funding sources | 119 |
| Conflicts of interest | 119 |
| Acknowledgments | 119 |
| References | 119 |

1. Introduction

Major depressive disorder (MDD) is one of the most severe mental diseases affecting hundreds of millions of people worldwide (Smith, 2014). Although it is currently ranked as the fourth leading cause of disability by the World Health Organization, it is projected that it will become the second leading cause in 2020 (Kessler and Bromet, 2013). To date, it is known that the pathophysiology of MDD combines genetic factors, past or current psychosocial stresses, as well as disruptions in several molecular signaling pathways (Charney and Manji, 2004). With its extreme gravity, the current treatment used for MDD is antidepressant therapy alone or in combination with psychotherapy (Friedman, 2014). Pharmacotherapy in MDD predominantly targets monoamine neurotransmitter signaling pathways, such as dopamine, serotonin and norepinephrine, which suggests a potential implication of these molecules in the pathophysiology of this disorder (Hamon and Blier, 2013). The pharmacological approaches are generally safe, but the clinical benefits are often observed after weeks or even months of administration (Berton and Nestler, 2006). Moreover, it was demonstrated that up to 50%–60% of the patients do not achieve adequate response to antidepressant therapy (Fava, 2003), with 12% of them achieving a partial response and 19%–34% being non-responders (Fava and Davidson, 1996). Consequently, there is a need to develop new approaches to better access and investigate the molecular mechanisms implicated in MDD pathophysiology, as well as to monitor drug response in patients. Considering the high risk of morbidity and mortality of untreated MDD patients (Kessler and Bromet, 2013), this currently constitutes a crucial step in psychiatric research and practice in order to provide better therapeutic strategies to the patients.

The retina represents an easy-to-access part of the central nervous system and it was therefore suggested that it constitutes an appropriate site to investigate major neuropsychiatric illnesses (Lavoie et al., 2014b) and addictive disorders (Schwitzer et al., 2015; Laprevote et al., 2015). This structure is composed of several cell layers implicated in the first stages of visual processing. Briefly, light is absorbed by the photopigments of the photoreceptors,

named rods and cones, thus initiating the conversion of light into electric signal. Following this phenomenon called phototransduction, the signal is transferred to the bipolar and ganglion cells and the visual information is relayed to the brain, especially to the visual cortex, via the optic nerve and the lateral geniculate nucleus. Moreover, the retina contains amacrine and horizontal cells acting as interneurons, as well as Müller cells that have a glial function. The retinal pigment epithelium is also part of the retina and plays a role in several trophic functions, including light absorption, photoreceptor disk renewal mechanisms and immune modulation, to name a few (Wimmers et al., 2007; Hoon et al., 2014). The retinal function can be measured using non-invasive techniques, such as the flash electroretinogram (fERG), the pattern electroretinogram (PERG), the multifocal electroretinogram (mfERG) and the electrooculogram (EOG). These techniques yield measures and allow the function assessment of the different cell types found in the retina.

The fERG measures the electric biopotential evoked mainly by the photoreceptor cells, namely rods and cones, and the ON-bipolar and Müller cells complex, in response to a light stimulation. fERG recordings performed under photopic and scotopic conditions are called light- and dark-adapted fERG respectively, according to the flash luminance intensity used, which is measured in cd.s.m^{-2} (cd.s.m^{-2}) (McCulloch et al., 2015). Two main components are usually observed on a typical fERG trace: an electronegative component called a-wave, followed by an electropositive component named b-wave. The a-wave is generated by the hyperpolarization of the photoreceptors and the b-wave reflects the depolarization of the ON-bipolar and Müller cells complex. Two main parameters are derived from these components, named by convention the amplitude measured in microvolts (μV) and the implicit time measured in milliseconds (ms) (McCulloch et al., 2015). The a-wave amplitude is measured from the baseline to the trough, and the b-wave amplitude is measured from the trough of the a-wave to the peak of the b-wave. The implicit time represents the time necessary to reach the maximal amplitude of the waves. Typical fERG traces and their main components are represented in Fig. 1. These measures represent the initial responses at the retinal level.

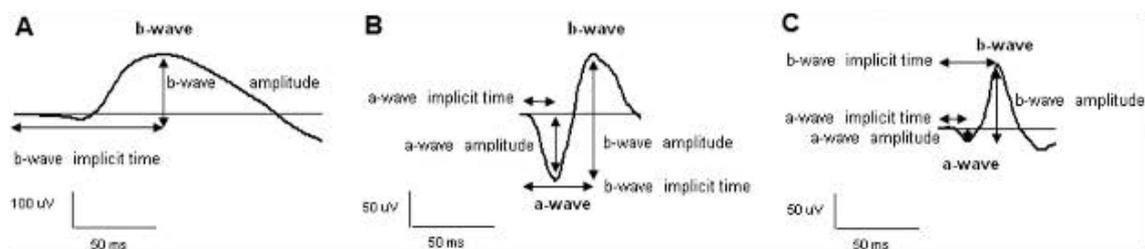


Fig. 1. Typical fERG traces obtained when assessing the rod response (A), the mixed rod and cone response (B) and the cone response (C). The arrows represent the way the parameters are measured, namely the a- and b-wave amplitude and implicit time.

The PERG records the central macular function of the retina, as well as the retinal ganglion cells response using reversal black and white checkerboards viewed with a central fixation (Holder, 2001). These signals represent later and more integrated responses of the retina. The manipulation of the contrast level of the reversing black and white checkerboards during PERG informs on retinal contrast gain. To investigate the transient PERG, checkerboards are presented at 2–6 reversals per second (1–3 Hz). Two main waves are usually described on the transient PERG trace: a positive wave named P50, followed by a negative wave called N95 (Bach et al., 2013). Like for the fERG, both the amplitude and implicit time of these waves can be measured (Holder et al., 2010). P50 is, in part, attributed to the retinal ganglion cells and macular photoreceptors and is used to evaluate the macular function. N95 is generated by the retinal ganglion cells and reflects their functioning (Luo and Frishman, 2011). A typical transient PERG trace and its main components are represented in Fig. 2. The steady-state PERG represents a useful complementary measurement that can be added to the transient PERG for retinal recordings in clinical settings and research. Higher temporal frequencies of at least 5 Hz or more are used to evoke a response of a steady-state PERG. The International Society for Clinical Electrophysiology of Vision (ISCEV) standards recommend a reversal rate of approximately 16 reversals per second (8 Hz) (Bach et al., 2013). The recordings of the steady-state PERG have the appearance of sine waves. The amplitude and the phase shift of the response at the reversal rate are measured using a Fourier analysis. The steady-state responses are mainly linked to the ganglion cells function.

The EOG measures a variation of electrical potentials between skin electrodes located in external and internal canthus (Arden and Constable, 2006). This variation corresponds to an electrical potential between the front and the back of the eye and is called standing potential (Marmor et al., 2011). This potential mainly originates from the retinal pigment epithelium and varies with the retinal illumination. It is obtained by asking the subjects to make lateral eye movements in both photopic and scotopic conditions. It is possible to derive two parameters from the EOG trace, namely the dark trough, which represents the trough of the curve in dark condition whose origin remains unclear, and the light peak, which represents the maximal depolarization of the basal membrane of the retinal pigment epithelium. These parameters are represented on a typical EOG trace in Fig. 3.

Previously, many relevant retinal electrophysiological abnormalities have been reported in patients with mood disorders, especially in seasonal affective disorder (Hébert et al., 2002, 2004; Lavoie et al., 2009). Although it might seem surprising to consider retinal responses as a sensible index for predicting a complex

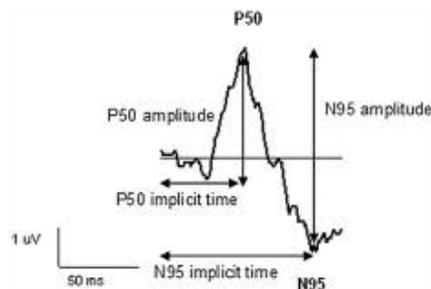


Fig. 2. Typical PERG trace. The arrows represent the way the parameters are measured, namely the P50 and N95 amplitude and implicit time.

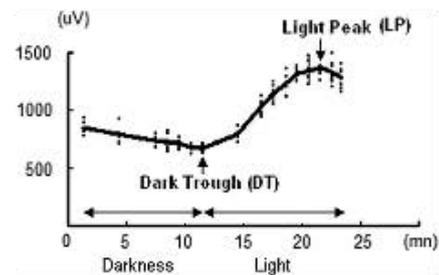


Fig. 3. Typical EOG trace. The vertical arrows represent the dark trough and the light peak and the horizontal arrows represent the dark and light conditions.

clinical state, such as MDD, several studies have suggested so (Seggie et al., 1991; Fountoulakis et al., 2004, 2005, 2013; Bubl et al., 2010, 2012, 2015; Fornaro et al., 2011; Fam et al., 2013). Despite the fact that the exploration of retinal electrophysiological abnormalities in MDD patients remains a young emerging field, we believe that the current literature on the subject is very promising and we argue that these objective retinal electrophysiological measurements may become relevant tools to investigate the pathophysiology of MDD and represent a way to indirectly assess brain dysfunctions in this disorder. On the basis of these findings and our own experience, we suggest that the exploration of the retinal function provides useful information in both clinical settings and research in MDD. In this review, we summarize data on previous published results observed in MDD patients, suggesting that these techniques might be of benefit. Noteworthy, the mfERG is not part of this review since no study using this technique in MDD patients has been published to this date. We also discuss the potential mechanisms linked with the monoamine deficiency hypothesis that might be implicated in the abnormalities observed in patients, as well as the technical details that must be taken into consideration when using objective retinal electrophysiological measurements as tools to investigate the pathophysiology of MDD.

2. Materials and methods

In order to thoroughly explore the literature about retinal electrophysiological measurements in MDD, a search for relevant articles was conducted in the Pubmed and Google Scholar databases using the following keywords ("flash electroretinogram" OR "pattern electroretinogram" OR "multifocal electroretinogram" OR "electrooculogram" OR "retinal electrophysiological measurements") AND ("major depressive disorder" OR "depression" OR "depressive disorder" OR "mood disorder"). All results up to April 1st 2015 were examined for the selection process. Relevant publications were chosen through an individual independent selection of titles by all the authors: TS, JL, AG, RS and VL. The articles selected had to be written in English and be related to the topic of the review. Additionally, a manual search was performed on the bibliography of each selected article. Following our thorough search, we included 9 original published reports in this review. An overview of the main findings is presented in the Results Section. In the Discussion Section, we consider the relevance of retinal electrophysiological measurements such as the fERG, the PERG and the EOG to study the pathophysiology of MDD. Finally, we underline the main limitations of the current literature and we discuss some methodological considerations that may help future investigations to provide a clearer picture of retinal dysfunctions in MDD patients.

3. Results

3.1. Studies reporting fERG anomalies in MDD patients

Despite the fact that no fERG differences have been reported between MDD patients and healthy controls (Fountoulakis et al., 2004; Fornaro et al., 2011; Fam et al., 2013), it was suggested that fERG might serve to predict the treatment response and the drug's effectiveness (Fornaro et al., 2011). In fact, dark-adapted 0.01 and 3.0 fERGs, as well as light-adapted 3.0 fERG were recorded in 20 MDD patients and 20 healthy matched controls before and after 12 weeks of treatment with duloxetine, a serotonin–norepinephrine reuptake inhibitor. Twelve out of 20 MDD patients responded to the antidepressant treatment, as measured by the Hamilton Rating Scale for Depression. Interestingly, only these patients had significantly decreased rod b-wave amplitude from baseline to week 12, which represents the end of the duloxetine treatment. Additionally, at baseline, the rod b-wave amplitude was significantly increased in patients responding to duloxetine compared with the patients not responding to the treatment, as well as healthy controls. The mean age was very similar between the groups (45, 40 and 44 years old for the control, the responder and the non-responder group, respectively), excluding a potential effect of age. These observations suggest that fERG assessment may reflect a specific biological condition at the level of rod bipolar cells in MDD patients responding to duloxetine. Moreover, since electrophysiological assessments appear sensitive to central neurotransmitter signaling pathways (Lavoie et al., 2014a), they also support the possibility that fERG might serve as a potential technique to predict and monitor the pharmacotherapy response in MDD patients. Another study evaluated the photopic fERG of 50 patients with MDD (21–60 years old) and 15 healthy controls (20–55 years old) and revealed the presence of several correlations between fERG parameters and psychometric assessments, as well as individual symptoms (Fountoulakis et al., 2005).

3.2. Studies reporting PERG anomalies in MDD patients

Several investigations using the PERG have revealed differences between MDD patients and healthy controls (Bubl et al., 2010, 2012, 2015). For example, a study assessed the PERG-based contrast gain in 40 patients with MDD (mean age: 43.2 years old), and 40 healthy matched controls (mean age: 43.3 years old) (Bubl et al., 2010). As previously stated, the manipulation of the contrast level of the reversing black and white checkerboards during PERG recording informs on the retinal contrast gain. This method correlates the PERG amplitude obtained after a Fourier analysis with the contrast level of the reversed black and white checkerboard. Five series of reversing checkerboard at 12 reversals per second were used with a contrast level of 3.2%, 7.3%, 16.2%, 36% and 80%. Interestingly, a significant reduction in retinal contrast gain was found in the 20 unmedicated (mean age: 41.8 years old) and 20 medicated (mean age: 44.6 years old) MDD patients independently of the antidepressant therapy, in comparison with the control group.

Studies have also suggested that PERG measurements might predict the state of the disease. Consequently, they might constitute a valuable help for the monitoring of the disease evolution and might serve for the modulation of the treatment according to the disease severity. For example, it was suggested that PERG recordings abnormalities may be used as a state marker of MDD (Bubl et al., 2012). In fact, by reassessing the PERG of 14 of the previously enrolled MDD patients and the 40 control subjects, Bubl et al. (2012) reported that the decreased contrast gain of MDD patients at baseline normalizes with remission of the disease and becomes significantly different from the contrast gain of the non-remitted

group. Importantly, the contrast gain was similar between the non-remitted ($n = 4$) and the remitted patients ($n = 10$) at baseline and no correlation was reported between the duration of therapy and the contrast gain. This result was observed although the mean age of the groups was somewhat different (40.4, 48.8 and 43.3 years old in the remitted, non-remitted and control group, respectively), but no statistical analysis was provided to completely exclude an effect of age. In addition, the decrease in retinal contrast gain in MDD patients was recently correlated with a reduction of the visual evoked potential amplitude, which pleads for a correlation between retinal and cortical function (Bubl et al., 2015). Although these results are promising, the mechanisms of contrast gain control in MDD patients need further investigations to establish the link between retinal and cortical function.

3.3. Studies reporting EOG anomalies in MDD patients

The EOG has also shown differences between MDD patients and controls subjects. A study demonstrated that depressed patients have a lower standing potential compared to the control group in response to darkness, but not to light (Seggie et al., 1991). A decrease in both dark trough and light peak values was also reported in patients with MDD in comparison with healthy controls (Fountoulakis et al., 2005). However, in both of these studies, the Arden ratios –the ratios between the light and dark potentials– were found to be similar between the groups. A limit of these studies is the large age range of both patients and controls groups (25–77 years old in the former and 20–60 years old in the latter). Noteworthy, no difference was found between antidepressant-naïve (mean age: 38.2 years old) and accustomed depressed patients (mean age: 43.7 years old) (Fountoulakis et al., 2013). In addition, by using EOG, a study reported the presence of a correlation between electrophysiological abnormalities and the psychometric assessments, as well as the individual symptoms (Fountoulakis et al., 2005). Overall, these findings suggest that some aspects of the pathophysiology of MDD may be reflected at the level of the retinal pigment epithelium.

4. Discussion

4.1. Summary of the findings

The assessment of the retinal function in MDD is currently a young emerging field and the number of studies investigating this topic remains small. However, according to the literature herein highlighted using the fERG, the PERG and the EOG, it is suggested that the retinal physiology is affected in MDD. The main retinal abnormalities are summarized in Table 1. Since each one of these techniques evaluates the physiology of different retinal cell types, the reported changes in MDD patients compared to healthy controls might provide information on the pathophysiology of MDD. In the following, we discuss about the applicability of these techniques in the context of psychiatry research and clinical setting.

First, fERG assessment with single flash stimulation may not represent a valuable method to differentiate MDD patients and control subjects, since no abnormalities have been reported between these groups (Fountoulakis et al., 2004; Fornaro et al., 2011; Fam et al., 2013). However, fERG recordings may be used as a tool to monitor drug response in MDD patients and distinguish pharmacotherapy responders and non-responders, as well as to explore the biological abnormalities underlying clinical features, especially in the field of monoamine neurotransmission (Fornaro et al., 2011). The fact that the b-wave amplitude, as measured with the fERG, is altered differentially by pharmacotherapy in responders and non-responders MDD patients suggests that the bipolar-Müller cells

Table 1
Main retinal anomalies detected with electrophysiological measurements in patients with major depressive disorders (MDD).

| Retinal measurements | Type of recordings | Anomalies observed in MDD patients | References |
|----------------------------------|---------------------------|--|----------------------------|
| Flash electroretinogram (fERG) | Rod and rod-cone response | No anomaly was observed | Fam et al. (2013) |
| | Rod response | Lower b-wave amplitude in patients responding to Duloxetine | Fornaro et al. (2011) |
| | Cone response | Prolonged b-wave latency in patients having thought of death | Fountoulakis et al. (2005) |
| | Cone response | Larger b-wave latency in patients with melancholic anhedonia | Fountoulakis et al. (2005) |
| | Cone response | No anomaly was detected | Fountoulakis et al. (2004) |
| Pattern electroretinogram (PERG) | Contrast gain | No anomaly was found | Fam et al. (2013) |
| | Contrast gain | Reduction of contrast gain | Bubl et al. (2010) |
| | Contrast gain | Normalization of contrast gain in remitted patient | Bubl et al. (2012) |
| | Contrast gain | Correlation between visual evoked potentials and contrast gain | Bubl et al. (2015) |
| Electrooculogram (EOG) | Dark condition | Lower standing potential | Seggie et al. (1991) |
| | Dark condition | Decrease in dark trough | Fountoulakis et al. (2005) |
| | Light condition | Decrease in light peak | Fountoulakis et al. (2005) |
| | Dark and light condition | No anomaly was reported | Fountoulakis et al. (2004) |
| | Dark and light condition | No difference between antidepressant-naïve and accustomed | Fountoulakis et al. (2013) |

complex is sensitive to the changes in molecular neurotransmission following drug administration. In addition, the observation that patients responding to duloxetine have higher rod b-wave amplitude before starting the pharmacotherapy suggests that this parameter is modulated by a preexistent physiological condition in these patients, which can predict the treatment response. This knowledge might be useful since most of the psychiatric drugs are not controlled with plasma medication levels, which do not systematically give an indication of the individual responsiveness of the treatment.

Interestingly, the fERG has already been shown to be of interest in another depressive illness, which is the seasonal affective disorder. This disorder is characterized by the presence of recurrent depressive episodes with atypical symptoms in fall and winter and a complete remission during spring and summer. Seasonal affective disorder patients also generally show a good response to bright light therapy (Rosenthal et al., 1984). A luminance response function curve has been used to investigate the retinal sensitivity in patients with seasonal affective disorder, which is obtained by stimulating the retina with flashes at increasing intensities. Studies reported that seasonal affective disorder patients had a decrease in rod retinal sensitivity –as measured with a shift in the luminance response function curve–, a decrease in cone b-wave amplitude and an increase in cone b-wave implicit time (Hébert et al., 2002, 2004; Lavoie et al., 2009). These fERG abnormalities were present during the depressive state and were normalized during the remission state or following a 4-week bright light therapy treatment (Lavoie et al., 2009). These observations suggest that fERG abnormalities in seasonal affective disorder patients may be useful to differentiate the state of the disease, predict treatment effectiveness and consequently adapt the patient's follow-up.

Second, assessing the PERG retinal contrast gain may be more useful than the fERG to differentiate MDD patients and controls subjects. In fact, as previously stated, a decrease in PERG retinal contrast gain has been reported in MDD patients, independently of the antidepressant pharmacotherapy (2010, 2012, 2015). Of interest, this measure normalizes with remission (Bubl et al., 2012). However, a study failed to describe any difference between MDD patients (mean age: 44.5 years old) and healthy controls (mean age: 43.7 years old) when measuring this parameter (Fam et al., 2013). The authors of this study attributed this discrepancy with the previous reports to potential seasonal variation in Bubl's et al. studies since MDD patients with seasonal patterns were not explicitly excluded. Further investigations are needed in different MDD cohorts to validate the presence of deficits in retinal contrast gain in these patients. It would also be worthwhile to study the retinal contrast gain of patients with seasonal affective disorder or bipolar disorder in comparison with healthy controls to investigate

whether this parameter is characteristic of the depressive state and can represent a marker for this state.

Third, some parameters of the EOG assessments differ between MDD patients and healthy controls and are correlated with individual features of MDD (Seggie et al., 1991; Fountoulakis et al., 2005). These results might appear consistent with the use of EOG to differentiate patients and healthy controls. However, several correlations between MDD's features and EOG parameters are derived from one eye and are not replicated with the other eye, questioning their degree of validity and reliability (Fountoulakis et al., 2005). They should be replicated to conclude on the relevance of using EOG in MDD investigations. The potential interest of EOG in other mood disorders is supported by some studies, although the findings are somewhat mixed. As an example, an early study revealed that manic patients present a higher EOG ratio than healthy controls (Economou and Stefanis, 1979). Another study demonstrated that EOG ratios are significantly lower in patients with seasonal affective disorder than controls (Lam et al., 1991), but only a trend toward significance was reported in a following study attempting to replicate this result (Ozaki et al., 1993). Moreover, it was reported that light therapy does not change the EOG ratio, even when it is clinically effective (Ozaki et al., 1993). It was then suggested that a lower EOG ratio cannot serve as a biomarker for seasonal affective disorder, but it may constitute an interesting indirect way, complementary with other retinal electrophysiological measurements, to approach the mechanisms of this disorder (Lam et al., 1991).

Part of retinal electrophysiological studies in MDD patients showed several links between clinical features and electrophysiological parameters (Seggie et al., 1991; Fountoulakis et al., 2005). As stated, these results appear surprising and they therefore should be viewed cautiously. However, according to the current knowledge reported in the literature, one explanation may be the potential link between clinical symptoms and neurotransmitters activities that might also be expressed through retinal response. Furthermore, considering that retinal function anomalies were observed in MDD patients, it is legitimate to explore the potential consequences of these lower-level retinal deficits on higher-level vision and especially on the difficulties experienced by MDD patients in daily life activities. The current state of the literature indicates that patients with social and physical anhedonia, a symptom found in MDD, experienced less pleasure than controls in response to sensory and social positive pictures with changing levels of luminance contrast (Rey et al., 2010). It would be interesting to demonstrate whether the retinal dysfunctions detected in MDD patients are implicated in the deficits observed in such visual tasks, and whether the deficits observed in patients with anhedonia are generalized to all patients with retinal electrophysiological abnormalities.

4.2. The monoamine deficiency hypothesis as a potential mechanism of the retinal electrophysiological abnormalities in MDD

All of the results reported in this review are based on clinical observations. However, the molecular mechanisms underlying the retinal electrophysiological abnormalities observed in patients with MDD have been scarcely explored. Even though the results relating retina responses and clinical symptoms may appear as being surprising, there are potential hypotheses to explain these relationships. As previously stated, according to the current literature, one may hypothesize that these retinal electrophysiological abnormalities reflect systemic monoaminergic neurotransmission deficiencies. This statement may serve as a starting point to investigate the molecular underpinnings of the observations outlined in this review and eventually provide a better understanding of the pathophysiology of depressive disorders.

Given several similarities between the retina and the rest of the brain, assessing the primary retinal stages of visual processing may provide an indirect measure to approach brain functioning and may represent a valuable model to study the central nervous system neurotransmission. The retina is anatomically and developmentally an extension of the central nervous system, and the retina and the brain are connected by the optic nerve, which is formed by the axons of the ganglion cells (Hoon et al., 2014). The retina and the brain display several similar properties. Indeed, neurotransmitters such as dopamine (Witkovsky, 2004; Reis et al., 2007), serotonin (Gastinger et al., 2006), glutamate, GABA and glycine (Wu and Maple, 1998; Betz and Laube, 2006; de Souza et al., 2013) are expressed in both the brain and the retina. Additionally, previous and current evidence suggests that retinal processing is a good candidate to explore brain neurotransmission. In fact, retinal electrophysiological measurements –fERG, PERG and EOG—are sensitive to administration of pharmacological agents acting on the central nervous system neurotransmission, especially of those acting on serotonergic and dopaminergic systems (Porciatti et al., 1989; Rudolf and Wioland, 1990; Schneider and Zrenner, 1991; Peppe et al., 1998). Finally, the retinal function is known to be affected in other psychiatric, substance use and neurological disorders involving neurotransmission dysfunctions (Lavoie et al., 2014b; Schwitzer et al., 2015; Laprevote et al., 2015; Garcia-Martin et al., 2014).

According to the monoamine deficiency hypothesis, MDD pathophysiology may arise from a deficit in the neurotransmission of serotonin, norepinephrine and dopamine (Thase, 2007; Belmaker and Agam, 2008; aan het Rot et al., 2009; Hamon and Blier, 2013; Friedman, 2014). Although this is a simple view of the pathophysiology of MDD, past and current development of pharmacotherapy was based on this monoamine neurotransmission deficiency theory. Of interest, norepinephrine is present in limited amounts in the retina (Osborne, 1981), but dopamine and serotonin are expressed in the retina and play major physiological roles (Witkovsky, 2004; Gastinger et al., 2006).

Dopamine is the main catecholamine expressed in the retina and its role in retinal physiology is readily described (Witkovsky, 2004; Reis et al., 2007). Previous evidence highlights the PERG contrast gain as a good indicator of retinal dopamine neurotransmission. In fact, it was demonstrated that retinal dopaminergic amacrine cells play a major role in the retinal contrast gain (Djamgoz et al., 1997). Also, a number of previous papers reported altered contrast gain, as measured with the PERG, in Parkinson's disease, which is another brain disorder involving dopaminergic dysfunctions (Bodis-Wollner et al., 1987; Tebartz van Elst et al., 1997; Langheinrich et al., 2000). Since a role of dopamine deficiency in MDD pathophysiology has been suggested, abnormalities in the retinal contrast gain observed in MDD patients may be linked

to dopaminergic neurotransmission dysfunctions, but this hypothesis need to be tested.

Serotonin is another chemical messenger detected in the mammalian retina and implicated in retinal physiology (Gastinger et al., 2006). This monoamine is targeted by a broad range of antidepressants, such as duloxetine, which is a drug mediating the serotonergic and noradrenergic neurotransmission. As reported in this review, duloxetine administration to MDD patients led to the remission of the depressive symptoms, which was associated with a decrease in rod b-wave amplitude (Fornaro et al., 2011). Since serotonin receptors are detected in retinal bipolar cells (Gastinger et al., 2006), it may be possible that the stimulation of the serotonergic pathway can impact the fERG measurements and be at the origin of the fERG phenotypes observed in duloxetine-responders MDD patients. Moreover, a previous report correlated a decrease in serotonin neurotransmission to suicidal behavior (Arango et al., 2003). Interestingly, it was demonstrated that patients with depressive symptoms have prolonged photopic b-wave implicit time (Fountoulakis et al., 2005). A recent report showed that tryptophan hydroxylase 2 knockin (Tph2-KI) mice, that have a decrease of 80% in brain serotonin, have an increase in fERG photopic b-wave implicit time (Lavoie et al., 2014a). Consequently, we suggest that dysfunctions in brain serotonin neurotransmission found in MDD or following the administration of drugs acting on the serotonergic system may be at the origin of some of the fERG observations highlighted in this review, but this hypothesis needs further investigation.

In the future, physiological studies about the molecular mechanisms underlying the fERG, PERG and EOG abnormalities in MDD patients are strongly warranted. Moreover, we should not underestimate the need to extend this investigation in other mood disorders, such as seasonal affective disorder and bipolar disorder. Translational studies using animal models and anti-depressive drugs administration will undoubtedly help in the understanding of the pathophysiology of depressive disorders and unravel the molecular and cellular pathways at the origin of the retinal function abnormalities highlighted in this review.

4.3. Technical considerations

Although promising, the use of fERG, PERG and EOG techniques requires rule-following and standardized protocols. When assessing retinal electrophysiological recordings, several aspects must indeed be taken into consideration in order to obtain reproducible and accurate data. One of them is the effect of medication. Since the pharmacotherapy used in MDD is involved in the modulation of ionic transports and neurotransmission, we can outline their potential effects on the electrophysiological recordings outcomes. However, using the current literature alone, it is difficult to reach a consensus about the effect of the numerous psychiatric drugs on the retinal electrophysiological measurements since the studies were performed on different animal species using different doses and different drugs (Lavoie et al., 2014b). As an example, it was demonstrated that the mood stabilizer lithium decreases the Arden ratio of the EOG, which normalizes with the cessation of the treatment (Emrich et al., 1984). Nevertheless, a recent finding revealed that lithium increases the rod b-wave amplitude at Vmax and decreases the rod b-wave implicit time in mice (Lavoie et al., 2015). Moreover, we should not underestimate that a combination of several drugs usually constitutes the pharmacotherapy of psychiatric patients. Since some of the drugs are known to modulate retinal function, their effect on electrophysiological recordings must be taken into consideration in the analysis and interpretation of the results.

Another aspect that should be considered cautiously is the

deviation from the standards of the International Society for Clinical Electrophysiology of Vision (ISCEV) in the protocols used for retinal function assessments. ISCEV standards are regularly actualized for each one of the techniques described in this review (Marmor et al., 2011; Hood et al., 2012; Bach et al., 2013; McCulloch et al., 2015). Concerning the fERG, studies reported in this review do not systematically assess the rod and cone systems. Studying both light- and dark-adapted fERG is actually critical since it provides insights on both systems that are associated with their own physiology and functioning. Moreover, the use of corneal electrodes together with dilated pupils is important to get reproducible recordings with larger amplitudes of the waves (McCulloch et al., 2015). These criteria recommended by the ISCEV were not systematically used in the studies reported in this review. Since electrophysiological measurements can be affected by inter-individual variations, it is crucial to use standardized protocols to ensure more reliable results and allow comparison between studies. Similarly, there is a need for replications of previous studies to provide a clearer picture of the electrophysiological dysfunctions found in the retina of patients with MDD. Additionally, since no study performing mfERG in patients with MDD has been published yet, exploring the spatial properties of the retinal cone function (Holder et al., 2010) in MDD patients could be worthwhile.

An accurate matching between the patients and healthy controls is also crucial. In fact, as previously discussed (Lavoie et al., 2014b), the age, the gender and the race of the subjects can affect the retinal function assessments. Moreover, it is important to reach sample sizes that are representative of the general population. Studies with low sample size need to be replicated in order to validate the observations previously reported. With all these technical considerations being taken into account, we believe that objective retinal electrophysiological measurement studies may lead to reliable observations and may further be used as tools to investigate the pathophysiology of MDD.

Finally, to this date, it is unfortunately impossible to compare the fERG abnormalities between MDD and seasonal affective disorder patients because of the different approaches and protocols used to investigate these pathologies. Noteworthy, photopic fERG in bipolar disorder has also been investigated using a single flash stimulation and no significant difference was reported in comparison with healthy matched controls (Balogh et al., 2008). A study investigating the dynamic of the fERG response using a luminance response function would be worthwhile in order to determine if the retinal sensitivity of patients with MDD and bipolar disorder is also affected during the depressive state and thus be used as a general state biomarker for depression. Moreover, studies investigating the drug effect of other types of antidepressant drugs on the fERG are strongly warranted to validate the use of this technique as a tool to monitor drug response.

5. Conclusion

Studying the retinal electrophysiological abnormalities in patients with MDD represents a young emerging field in psychiatric research. Despite the small number of investigations published on this topic, we think that the findings highlighted in the current literature are promising and we believe that objective retinal electrophysiological measurements represent relevant tools to investigate the pathophysiology of MDD. As outlined in this review, it is important to take advantage of each one of the different techniques, since they assess specific types of cells and give different information on the pathophysiology of MDD. Nonetheless, there is a need to adjust the study design according to the desired

outcome. For example, in a context where the goal of the study is to investigate the response to a new anti-depressive drug in MDD patients, using fERG recordings may serve to predict and monitor drug response, while assessing the retinal contrast gain with the PERG may be used to predict the state of the disease. Importantly, it is crucial to combine several of these techniques to get a clear picture of the retinal function phenotypes observed in MDD since they are non-invasive, costless and relatively easy to perform. Consequently, there is an urgent need for replication studies with larger sample sizes together with studies investigating the molecular underpinnings of the retinal electrophysiological abnormalities reported in MDD patients.

Contributors

All the authors contributed to write the manuscript, concurred with the submission and have approved the final manuscript.

Role of funding sources

This study was funded by a French National Research Agency Grant (ANR-12-SAMA-0016-01) and by the French "Mission Interministérielle de Lutte contre les Drogues et les Conduites Addictives (MILDECA)" (authors VL, RS, AG, TS). JL holds a research fellowship from the Canadian Institutes of Health Research. They have no role in the writing of the report and in the decision to submit the article for publication.

Conflicts of interest

None.

Acknowledgments

The authors thank the French National Research Agency, the French Mission Interministérielle de Lutte contre les Drogues et les Conduites Addictives (MILDECA) and the Canadian Institutes of Health Research.

References

- aan het Rot, M., Mathew, S.J., Charney, D.S., 2009 Feb 3. Neurobiological mechanisms in major depressive disorder. *CMAJ Can. Med. Assoc. J.* 180 (3), 305–313.
- Arango, V., Huang, Y., Underwood, M.D., Mann, J.J., 2003 Oct. Genetics of the serotonergic system in suicidal behavior. *J. Psychiatr. Res.* 37 (5), 375–386.
- Arden, G.B., Constable, P.A., 2006 Mar. The electro-oculogram. *Prog. Retinal Eye Res.* 25 (2), 207–248.
- Bach, M., Brigell, M.G., Hawlina, M., Holder, G.E., Johnson, M.A., McCulloch, D.L., et al., 2013 Feb. ISCEV standard for clinical pattern electroretinography (PERG): 2012 update. *Doc. Ophthalmol. Adv. Ophthalmol.* 126 (1), 1–7.
- Balogh, Z., Benedek, G., Kéri, S., 2008 Jan 1. Retinal dysfunctions in schizophrenia. *Prog. Neuropsychopharmacol. Biol. Psychiatry* 32 (1), 297–300.
- Belmaker, R.H., Agam, G., 2008 Jan 3. Major depressive disorder. *N. Engl. J. Med.* 358 (1), 55–68.
- Berton, O., Nestler, E.J., 2006 Feb. New approaches to antidepressant drug discovery: beyond monoamines. *Nat. Rev. Neurosci.* 7 (2), 137–151.
- Betz, H., Laube, B., 2006 Jun. Glycine receptors: recent insights into their structural organization and functional diversity. *J. Neurochem.* 97 (6), 1600–1610.
- Bodis-Wollner, I., Marx, M.S., Mitra, S., Bobak, P., Mylin, L., Yahr, M., 1987 Dec. Visual dysfunction in Parkinson's disease. Loss in spatiotemporal contrast sensitivity. *Brain J. Neurol.* 110 (Pt 6), 1675–1698.
- Bubl, E., Kern, E., Ebert, D., Bach, M., Tebartz van Elst, L., 2010 Jul 15. Seeing gray when feeling blue? Depression can be measured in the eye of the diseased. *Biol. Psychiatry* 68 (2), 205–208.
- Bubl, E., Ebert, D., Kern, E., van Elst, L.T., Bach, M., 2012 Aug. Effect of antidepressive therapy on retinal contrast processing in depressive disorder. *Br. J. Psychiatry J. Ment. Sci.* 201, 151–158.
- Bubl, E., Kern, E., Ebert, D., Riedel, A., Tebartz van Elst, L., Bach, M., 2015 Jun. Retinal dysfunction of contrast processing in major depression also apparent in cortical activity. *Eur. Arch. Psychiatry Clin. Neurosci.* 265 (4), 343–350.
- Charney, D.S., Manji, H.K., 2004 Mar 23. Life stress, genes, and depression: multiple pathways lead to increased risk and new opportunities for intervention. *Sci.*

- STKE Signal Transduct. Knowl. Environ. 225, re5.
- Djamgoz, M.B., Hankins, M.W., Hiranio, J., Archer, S.N., 1997 Dec. Neurobiology of retinal dopamine in relation to degenerative states of the tissue. *Vis. Res.* 37 (24), 3509–3529.
- Economou, S.G., Stefanis, C.N., 1979 Aug. Electrooculographic (EOG) findings in manic-depressive illness. *Acta Psychiatr. Scand.* 60 (2), 155–162.
- Emrich, H.M., Ullrich, A., Adamczyk, J., Stein, R., 1984 Dec. Lithium affects EOG in humans. *Psychiatry Res.* 13 (4), 355–357.
- Fam, J., Rush, A.J., Haaland, B., Barbier, S., Luu, C., 2013 Jul. Visual contrast sensitivity in major depressive disorder. *J. Psychosom. Res.* 75 (1), 83–86.
- Fava, M., 2003 Apr 15. Diagnosis and definition of treatment-resistant depression. *Biol. Psychiatry* 53 (8), 649–659.
- Fava, M., Davidson, K.G., 1996 Jun. Definition and epidemiology of treatment-resistant depression. *Psychiatr. Clin. North Am.* 19 (2), 179–200.
- Fornaro, M., Bandini, F., Ogliastrro, C., Cordano, C., Martino, M., Cestari, L., et al., 2011 Dec. Electroretinographic assessment in major depressed patients receiving duloxetine: might differences between responders and non-responders indicate a differential biological background? *J. Affect. Disord.* 135 (1–3), 154–159.
- Fountoulakis, K.N., Fotiou, F., Iacovides, A., Kaprinis, G., 2005 Mar 29. Is there a dysfunction in the visual system of depressed patients? *Ann. Gen. Psychiatry* 4 (1), 7.
- Fountoulakis, K.N., Gonda, X., Andreoulakis, E., Fokas, K., Iacovides, A., 2013 Dec. No differences between drug naive and drug experienced unipolar depressed patients in terms of neurobiological testing: a cross sectional study. *J. Psychiatr. Res.* 47 (12), 1984–1990.
- Fountoulakis, K.N., Iacovides, A., Fotiou, F., Nimatoudis, J., Bascialla, F., Ioannidou, C., et al., 2004. Neurobiological and psychological correlates of suicidal attempts and thoughts of death in patients with major depression. *Neuropsychobiology* 49 (1), 42–52.
- Friedman, R.A., 2014 Oct 30. Antidepressants' black-box warning—10 years later. *N. Engl. J. Med.* 371 (18), 1666–1668.
- García-Martin, E., Rodríguez-Mena, D., Sattue, M., Almarcegui, C., Dolz, I., Alarcia, R., et al., 2014 Feb. Electrophysiology and optical coherence tomography to evaluate Parkinson disease severity. *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.* 55 (2), 696–705.
- Gastinger, M.J., Tian, N., Horvath, T., Marshak, D.W., 2006 Aug. Retinopetal axons in mammals: emphasis on histamine and serotonin. *Curr. Eye Res.* 31 (7–8), 655–667.
- Hamon, M., Blier, P., 2013 Aug 1. Monoamine neurocircuitry in depression and strategies for new treatments. *Prog. Neuropsychopharmacol. Biol. Psychiatry* 45, 54–63.
- Hébert, M., Beattie, C.W., Tam, E.M., Yatham, L.N., Lam, R.W., 2004 Jun. Electroretinography in patients with winter seasonal affective disorder. *Psychiatry Res.* 127 (1–2), 27–34.
- Hébert, M., Dumont, M., Lachapelle, P., 2002 Apr. Electrophysiological evidence suggesting a seasonal modulation of retinal sensitivity in subsyndromal winter depression. *J. Affect. Disord.* 68 (2–3), 191–202.
- Holder, G.E., 2001 Jul. Pattern electroretinography (PERG) and an integrated approach to visual pathway diagnosis. *Prog. Retinal Eye Res.* 20 (4), 531–561.
- Holder, G.E., Clesia, G.G., Miyake, Y., Tobimatsu, S., Weleber, R.G., 2010 Sep. International federation of clinical neurophysiology. International federation of clinical neurophysiology: recommendations for visual system testing. *Clin. Neurophysiol. Off. J. Int. Fed. Clin. Neurophysiol.* 121 (9), 1393–1409.
- Hood, D.C., Bach, M., Brigell, M., Keating, D., Kondo, M., Lyons, J.S., et al., 2012 Feb. ISCEV standard for clinical multifocal electroretinography (mfERG) (2011 edition). *Doc. Ophthalmol. Adv. Ophthalmol.* 124 (1), 1–13.
- Hoon, M., Okawa, H., Della Santina, L., Wong, R.O.L., 2014 Sep. Functional architecture of the retina: development and disease. *Prog. Retinal Eye Res.* 42C, 44–84.
- Kessler, R.C., Bromet, E.J., 2013. The epidemiology of depression across cultures. *Annu. Rev. Public Health* 34, 119–138.
- Lam, R.W., Beattie, C.W., Buchanan, A., Remick, R.A., Zis, A.P., 1991 Nov. Low electrooculographic ratios in patients with seasonal affective disorder. *Am. J. Psychiatry* 148 (11), 1526–1529.
- Langheinrich, T., Tebartz van Elst, L., Lagrèze, W.A., Bach, M., Lücking, C.H., Greenlee, M.W., 2000 Jan. Visual contrast response functions in Parkinson's disease: evidence from electroretinograms, visually evoked potentials and psychophysics. *Clin. Neurophysiol. Off. J. Int. Fed. Clin. Neurophysiol.* 111 (1), 66–74.
- Laprevote, V., Schwitzer, T., Giersch, A., Schwan, R., 2015 Jan 2. Flash electroretinogram and addictive disorders. *Prog. Neuropsychopharmacol. Biol. Psychiatry* 56, 264.
- Lavoie, J., Hébert, M., Beaulieu, J.-M., 2015 Feb 1. Looking beyond the role of glycogen synthase kinase-3 genetic expression on electroretinogram response: what about lithium? *Biol. Psychiatry* 77 (3), e15–e17.
- Lavoie, J., Illiano, P., Sotnikova, T.D., Gainetdinov, R.R., Beaulieu, J.-M., Hébert, M., 2014 Mar 15. The electroretinogram as a biomarker of central dopamine and serotonin: potential relevance to psychiatric disorders. *Biol. Psychiatry* 75 (6), 479–486.
- Lavoie, J., Maziade, M., Hébert, M., 2014 Jan 3. The brain through the retina: the flash electroretinogram as a tool to investigate psychiatric disorders. *Prog. Neuropsychopharmacol. Biol. Psychiatry* 48, 129–134.
- Lavoie, M.-P., Lam, R.W., Bouchard, G., Sasseville, A., Charron, M.-C., Gagné, A.-M., et al., 2009 Aug 1. Evidence of a biological effect of light therapy on the retina of patients with seasonal affective disorder. *Biol. Psychiatry* 66 (3), 253–258.
- Luo, X., Frishman, L.J., 2011. Retinal pathway origins of the pattern electroretinogram (PERG). *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.* 52 (12), 8571–8584.
- Marmor, M.F., Brigell, M.G., McCulloch, D.L., Westall, C.A., Bach, M., 2011 Feb. International society for clinical electrophysiology of vision. ISCEV standard for clinical electro-oculography (2010 update). *Doc. Ophthalmol. Adv. Ophthalmol.* 122 (1), 1–7.
- McCulloch, D.L., Marmor, M.F., Brigell, M.G., Hamilton, R., Holder, G.E., Tzekov, R., et al., 2015 Feb. ISCEV standard for full-field clinical electroretinography (2015 update). *Doc. Ophthalmol. Adv. Ophthalmol.* 130 (1), 1–12.
- Osborne, N.N., 1981 Jan. Noradrenaline, a transmitter candidate in the retina. *J. Neurochem.* 36 (1), 17–27.
- Ozaki, N., Rosenthal, N.E., Moul, D.E., Schwartz, P.J., Oren, D.A., 1993 Nov. Effects of phototherapy on electrooculographic ratio in winter seasonal affective disorder. *Psychiatry Res.* 49 (2), 99–107.
- Pepe, A., Stanzione, P., Pierantozzi, M., Semprini, R., Bassi, A., Santilli, A.M., et al., 1998 Apr. Does pattern electroretinogram spatial tuning alteration in Parkinson's disease depend on motor disturbances or retinal dopaminergic loss? *Electroencephalogr. Clin. Neurophysiol.* 106 (4), 374–382.
- Porciatti, V., Alessi, R., Bagnoli, P., Signorini, G., Raffaeli, A., 1989 May. Serotonin depletion modifies the pigeon electroretinogram. *Doc. Ophthalmol. Adv. Ophthalmol.* 72 (1), 93–100.
- Reis, R.A.M., Ventura, A.L.M., Kubrusly, R.C.C., de Mello, M.C.F., de Mello, F.G., 2007 Apr. Dopaminergic signaling in the developing retina. *Brain Res. Rev.* 54 (1), 181–188.
- Rey, G., Knoblauch, K., Prévost, M., Komano, O., Jouvent, R., Dubal, S., 2010 Apr 30. Visual modulation of pleasure in subjects with physical and social anhedonia. *Psychiatry Res.* 176 (2–3), 155–160.
- Rosenthal, N.E., Sack, D.A., Gillin, J.C., Lewy, A.J., Goodwin, F.K., Davenport, Y., et al., 1984 Jan. Seasonal affective disorder. A description of the syndrome and preliminary findings with light therapy. *Arch. Gen. Psychiatry* 41 (1), 72–80.
- Rudolf, G., Wioland, N., 1990 Nov. Effects of intravitreal and intravenous administrations of dopamine on the standing potential and the light peak in the intact chicken eye. *Curr. Eye Res.* 9 (11), 1077–1082.
- Schneider, T., Zrenner, E., 1991 Apr. Effects of D-1 and D-2 dopamine antagonists on ERG and optic nerve response of the cat. *Exp. Eye Res.* 52 (4), 425–430.
- Schwitzer, T., Schwan, R., Angioi-Duprez, K., Ingster-Moati, I., Lalanne, L., Giersch, A., et al., 2015 Jan. The cannabinoid system and visual processing: a review on experimental findings and clinical presumptions. *Eur. Neuropsychopharmacol. J. Eur. Coll. Neuropsychopharmacol.* 25 (1), 100–112.
- Seggie, J., MacMillan, H., Griffith, L., Shannon, H.S., Martin, J., Simpson, J., et al., 1991 Feb. Retinal pigment epithelium response and the use of the EOG and Arden ratio in depression. *Psychiatry Res.* 36 (2), 175–185.
- Smith, K., 2014 Nov 13. Mental health: a world of depression. *Nature* 515 (7526), 181.
- de Souza, C.F., Acosta, M.L., Polkinghorne, P.J., McGhee, C.N.J., Kalloniatis, M., 2013 Sep. Amino acid immunoreactivity in normal human retina and after brachytherapy. *Clin. Exp. Optom. J. Aust. Optom. Assoc.* 96 (5), 504–507.
- Tebartz van Elst, L., Greenlee, M.W., Foley, J.M., Lücking, C.H., 1997 Dec. Contrast detection, discrimination and adaptation in patients with Parkinson's disease and multiple system atrophy. *Brain J. Neurol.* 120 (Pt 12), 2219–2228.
- Thase, M.E., 2007 Dec 6. Molecules that mediate mood. *N. Engl. J. Med.* 357 (23), 2400–2402.
- Wimmers, S., Karl, M.O., Strauss, O., 2007 May. Ion channels in the RPE. *Prog. Retinal Eye Res.* 26 (3), 263–301.
- Witkovsky, P., 2004 Jan. Dopamine and retinal function. *Doc. Ophthalmol. Adv. Ophthalmol.* 108 (1), 17–40.
- Wu, S.M., Maple, B.R., 1998 May. Amino acid neurotransmitters in the retina: a functional overview. *Vis. Res.* 38 (10), 1371–1384.

Article 4.

“Commentary: Anatomical constitution of sense organs as a marker of mental disorders”

Frontiers in Behavioral Neuroscience (2016) 10:56.

Thomas Schwitzer, Raymund Schwan, Florent Bernardin, Coline Jeantet, Karine Angioi-Duprez, Vincent Laprevote

Ce commentaire général a été réalisé en réponse à un article publié et traitant de l'intérêt de l'étude de la perception visuelle dans les maladies mentales et plus particulièrement dans la schizophrénie. Une partie de cet article présente les anomalies fonctionnelles et anatomiques rétiniennes chez les patients souffrant de schizophrénie détectées avec l'électrorétinogramme flash et la tomographie par cohérence optique, respectivement.

Dans ce commentaire, nous argumentons en faveur de la mesure de l'électrorétinogramme pattern dans la schizophrénie, en complément des mesures précédentes déjà effectuées. Notre argumentaire est basé sur les propriétés fonctionnelles et méthodologiques de cet examen ainsi que sur les propriétés physiologiques des cellules ganglionnaires qu'il étudie.

Enfin, sur la base des données précédentes, nous supposons qu'il pourrait constituer un examen complémentaire et pertinent, offrant une approche indirecte du cerveau, pour améliorer la compréhension des dysfonctions cérébrales présentes dans la schizophrénie.



Commentary: Anatomical constitution of sense organs as a marker of mental disorders

Thomas Schwitzer^{1,2,3*}, Raymund Schwan^{1,2,4}, Florent Bernardin^{1,2}, Coline Jeantet⁵, Karine Angioi-Duprez⁶ and Vincent Laprevote^{1,2,4}

¹ Pôles Hospitalo-Universitaire de Psychiatrie, Centre Psychothérapique de Nancy, Laxou, France, ² EA7296, INGRES, Université de Lorraine, Nancy, France, ³ Institut National de la Santé et de la Recherche Médicale U1114, Fédération de Médecine Translationnelle de Strasbourg, Département de Psychiatrie, Centre Hospitalier Régional Universitaire de Strasbourg, Strasbourg, France, ⁴ Maison des Addictions, CHU Nancy, Nancy, France, ⁵ EA4432, InterPsy, Université de Lorraine, Nancy, France, ⁶ Service d'Ophthalmologie, CHU Nancy, Nancy, France

Keywords: schizophrenia, retina, pattern electroretinogram, pathophysiology, dopamine

A Commentary on

Anatomical constitution of sense organs as a marker of mental disorders

by Güell, F., and Bernácer, J. (2015). *Front. Behav. Neurosci.* 9:59. doi: 10.3389/fnbeh.2015.00059

Research in neuroscience and psychiatry is limited by the difficulty to accurately access brain functioning. There is currently a need to develop new methods assessing the neurobiological underpinning of brain dysfunctions (London et al., 2013; Lavoie et al., 2014; Güell and Bernácer, 2015; Laprevote et al., 2015; Schwitzer et al., 2015a,b). On this basis, Güell and Bernácer in an exciting article recently discussed the relevance of studying visual perception in mental disorders and especially in schizophrenia (Güell and Bernácer, 2015). Among other deficits, they outlined retinal functional and anatomical deficits detected in schizophrenia using respectively flash electroretinogram (fERG) and optical coherence tomography (OCT). However, we would like to suggest herein that the pattern electroretinogram (PERG), a retinal functional recording, might provide a relevant complementary measurement to enhance understanding of biological mechanisms underlying brain disorders in schizophrenia.

Flash and pattern ERG allow for the assessment of specific cell types of the neural retina and give different information on the pathophysiology. Using a light stimulation, the fERG mainly assesses the electric biopotential evoked by the first stages of visual processing namely photoreceptors and bipolar-Müller cell complex (Holder et al., 2010). As previously found, these first stages are altered in schizophrenia (Warner et al., 1999; Balogh et al., 2008; Hébert et al., 2015). However, the fERG does not significantly provide information concerning the ganglion cells, the axons of which form the optic nerve. The ganglion cells constitute the ultimate retinal relay before the transmission of the visual information from the retina to the visual cortex. The functional properties of these cells can be assessed by the PERG using the central presentation of reversing black and white checkerboards (Bach et al., 2013). The On-Off organization of the ganglion cells receptive fields makes these cells particularly sensitive to the alternate changes in contrast levels of the checkerboards, and leads to large responses in the PERG (Holder et al., 2010). The electrical signal transmitted to ganglion cells originates from photoreceptor and bipolar cells and is under the influence of interneurons cells (amacrine and horizontal cells). The signal elicited at the ganglion cell level thus results from the integration of several retinal stages. Since it is more integrated there than at the photoreceptor and bipolar cell level we suggest that its measurement might be a useful complementary test to approach the neural function in schizophrenia. Furthermore, the layer of the ganglion cells is the first retinal stage providing information in the form of action potentials.

OPEN ACCESS

Edited by:

Ahmed A. Moustafa,
Western Sydney University, Australia

Reviewed by:

Peter G. Enticott,
Deakin University, Australia

*Correspondence:

Thomas Schwitzer
thomas.schwitzer@univ-lorraine.fr

Received: 23 December 2015

Accepted: 08 March 2016

Published: 24 March 2016

Citation:

Schwitzer T, Schwan R, Bernardin F, Jeantet C, Angioi-Duprez K and Laprevote V (2016) Commentary: Anatomical constitution of sense organs as a marker of mental disorders. *Front. Behav. Neurosci.* 10:56. doi: 10.3389/fnbeh.2016.00056

Trustworthy evidence underlines that PERG protocols are good candidates to investigate dopamine transmission, a neurotransmitter known to be involved in schizophrenia. Indeed, the manipulation of the contrast level of the reversing black and white checkerboards during PERG informs on retinal contrast processing, which is largely influenced by retinal dopaminergic amacrine cells (Djamgoz et al., 1997). Moreover, alterations of retinal contrast processing detected with reversal PERG stimulation were found in Parkinson's disease, a dopaminergic pathology (Garcia-Martin et al., 2014). Importantly, these changes appear to be good biological markers, inasmuch as they predict quality of life and disease severity in Parkinson's disease.

PERG shares several advantages with fERG. Measurements of PERG are non-invasive, relatively fast, easy-to-use, and inexpensive. Importantly, PERG also has some additional advantages relative to fERG. Unlike most protocols of fERG, there is no need to dilate the pupil, making the PERG less invasive than fERG, with no alteration of visual perception. Second, whereas the fERG is evaluated after adaptation periods in darkness and light, the PERG is entirely measured in light conditions without any adaptation period (Bach et al., 2013; McCulloch et al., 2015). These methodological advantages may facilitate the use of PERG in patients with schizophrenia. As the PERG contrast processing appears sensitive to dopaminergic dysfunction, it might represent a suitable approach for monitoring anti-psychotic response, an important part of patient care. Finally, the PERG can be coupled with other retinal measurements such as the fERG to provide a more thorough picture of the pathophysiology of the disease.

As previously described, measures of PERG assess the functional properties of the retinal ganglion cells, the axons of which form the optic nerve. Anatomical constitution and organization of these cells can be evaluated by retinal imaging techniques, namely OCT. Several studies found retinal nerve fiber layer (RNFL) thinning in schizophrenia, which was observed with spectral domain OCT (Chu et al., 2012; Lee et al., 2013; Silverstein et al., 2015). RNFL is constituted by the fibers of the optic nerve and its thinning is a direct reflection of a loss of ganglion cell axons. We suppose that anatomical alterations of retinal ganglion cells observed in schizophrenia could lead to functional deficits of these cells. Such impairments could be detected by PERG. Importantly, adding functional measurements like PERG to imaging techniques such as OCT may provide a potential structure-function correlation.

Although PERG might appear as a relevant measure to indirectly approach the pathophysiology of schizophrenia, there are several limitations and a large number of steps required to demonstrate the usefulness of this exam in the better

understanding of the disease. To this date, PERG measurements have not been evaluated in schizophrenia patients yet and consequently there is no certainty that differences between patients and healthy controls would be observed. Accordingly, case-control studies with a large number of subjects and standardized protocols are needed to eventually demonstrate differences between patients and controls. This constitutes the starting point to investigate the relevance of this method. Additionally, the pathophysiology of schizophrenia remains to this date elusive and involves more complex mechanisms than only dopaminergic dysfunctions (Khandaker et al., 2015). As a consequence, only one exam such as PERG does not alone give sufficient information on central dysfunctions but should be coupled with other assessments to provide a clearer picture of the disease. Then, in the case where differences between groups would be observed, control groups of patients with other dopaminergic pathologies are crucial to conclude on the specificity of PERG. Also, as we can consider that it is impossible to have medication-free schizophrenia patients, the effects of different types of psychotropic drugs such as antipsychotics must be tested on PERG recordings to differentiate the potential effects of medications or disease. Finally, although there is currently an increasing interest for PERG assessments in psychiatric research (Schwitzer et al., 2015a, 2016), the precise mechanisms underlying PERG anomalies should be investigated to understand the biological underpinning of brain dysfunctions.

Approximately 0.5% of the population suffers from schizophrenia, which has psychiatric and cognitive consequences. A current challenge in neuroscience research is to develop reproducible measures providing an indirect access to the brain functioning. In the case of schizophrenia, there is an urgent need for biological markers enabling early detection of the disease. Eventually, the PERG might be used as a useful complementary measurement to allow a better understanding of the pathophysiology of schizophrenia.

AUTHOR CONTRIBUTIONS

All authors listed, have made substantial, direct, and intellectual contribution to the work, and approved it for publication.

ACKNOWLEDGMENTS

The authors thank the company Metrovision (Pérenchies, France) for its collaboration, the French National Research Agency (Grant ANR-12-SAMA-0016-01) and the French Mission Interministérielle de Lutte contre les Drogues et les Conduites Addictives (MILDECA) for their support.

REFERENCES

- Bach, M., Brigell, M. G., Hawlina, M., Holder, G. E., Johnson, M. A., McCulloch, D. L., et al. (2013). ISCEV standard for clinical pattern electroretinography (PERG): 2012 update. *Doc. Ophthalmol. Adv. Ophthalmol.* 126, 1–7. doi: 10.1007/s10633-012-9353-y
- Balogh, Z., Benedek, G., and Kéri, S. (2008). Retinal dysfunctions in schizophrenia. *Prog. Neuropsychopharmacol. Biol. Psychiatry* 32, 297–300. doi: 10.1016/j.pnpbp.2007.08.024
- Chu, E. M.-Y., Kolappan, M., Barnes, T. R. E., Joyce, E. M., and Ron, M. A. (2012). A window into the brain: an *in vivo* study of the retina in schizophrenia using optical coherence tomography.

- Psychiatry Res.* 203, 89–94. doi: 10.1016/j.psychres.2011.08.011
- Djamgoz, M. B., Hankins, M. W., Hirano, J., and Archer, S. N. (1997). Neurobiology of retinal dopamine in relation to degenerative states of the tissue. *Vision Res.* 37, 3509–3529. doi: 10.1016/S0042-6989(97)00129-6
- García-Martin, E., Rodríguez-Mena, D., Satue, M., Almarcegui, C., Dolz, I., Alarcia, R., et al. (2014). Electrophysiology and optical coherence tomography to evaluate Parkinson disease severity. *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.* 55, 696–705. doi: 10.1167/iovs.13-13062
- Güell, F., and Bernácer, J. (2015). Anatomical constitution of sense organs as a marker of mental disorders. *Front. Behav. Neurosci.* 9:59. doi: 10.3389/fnbeh.2015.00059
- Hébert, M., Mérette, C., Paccalet, T., Émond, C., Gagné, A.-M., Sasseville, A., et al. (2015). Light evoked potentials measured by electroretinogram may tap into the neurodevelopmental roots of schizophrenia. *Schizophr. Res.* 162, 294–295. doi: 10.1016/j.schres.2014.12.030
- Holder, G. E., Celesia, G. G., Miyake, Y., Tobimatsu, S., Weleber, R. G., and International Federation of Clinical Neurophysiology (2010). International Federation of Clinical Neurophysiology: recommendations for visual system testing. *Clin. Neurophysiol. Off. J. Int. Fed. Clin. Neurophysiol.* 121, 1393–1409. doi: 10.1016/j.clinph.2010.04.010
- Khandaker, G. M., Cousins, L., Deakin, J., Lennox, B. R., Yolken, R., and Jones, P. B. (2015). Inflammation and immunity in schizophrenia: implications for pathophysiology and treatment. *Lancet Psychiatry* 2, 258–270. doi: 10.1016/S2215-0366(14)00122-9
- Laprevote, V., Schwitzer, T., Giersch, A., and Schwan, R. (2015). Flash electroretinogram and addictive disorders. *Prog. Neuropsychopharmacol. Biol. Psychiatry* 56:264. doi: 10.1016/j.pnpbp.2014.04.005
- Lavoie, J., Maziade, M., and Hébert, M. (2014). The brain through the retina: the flash electroretinogram as a tool to investigate psychiatric disorders. *Prog. Neuropsychopharmacol. Biol. Psychiatry* 48, 129–134. doi: 10.1016/j.pnpbp.2013.09.020
- Lee, W. W., Tajunisah, I., Sharmilla, K., Peyman, M., and Subrayan, V. (2013). Retinal nerve fiber layer structure abnormalities in schizophrenia and its relationship to disease state: evidence from optical coherence tomography. *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.* 54, 7785–7792. doi: 10.1167/iovs.13-12534
- London, A., Benhar, I., and Schwartz, M. (2013). The retina as a window to the brain—from eye research to CNS disorders. *Nat. Rev. Neurol.* 9, 44–53. doi: 10.1038/nrneuro.2012.227
- McCulloch, D. L., Marmor, M. F., Brigell, M. G., Hamilton, R., Holder, G. E., Tzekov, R., et al. (2015). ISCEV Standard for full-field clinical electroretinography (2015 update). *Doc. Ophthalmol.* 130, 1–12. doi: 10.1007/s10633-014-9473-7
- Schwitzer, T., Lavoie, J., Giersch, A., Schwan, R., and Laprevote, V. (2015a). The emerging field of retinal electrophysiological measurements in psychiatric research: a review of the findings and the perspectives in major depressive disorder. *J. Psychiatr. Res.* 70, 113–120. doi: 10.1016/j.jpsychires.2015.09.003
- Schwitzer, T., Schwan, R., Angioi-Duprez, K., Giersch, A., and Laprevote, V. (2016). The endocannabinoid system in the retina: from physiology to practical and therapeutic applications. *Neural Plast.* 2016:2916732. doi: 10.1155/2016/2916732
- Schwitzer, T., Schwan, R., Angioi-Duprez, K., Ingster-Moati, L., Lalanne, L., Giersch, A., et al. (2015b). The cannabinoid system and visual processing: a review on experimental findings and clinical presumptions. *Eur. Neuropsychopharmacol. J. Eur. Coll. Neuropsychopharmacol.* 25, 100–112. doi: 10.1016/j.euroneuro.2014.11.002
- Silverstein, S., Keane, B., Rosen, R., Paterno, D., Metgud, S., Cherneski, L., et al. (2015). Relationships between indices of retinal thinning as revealed by spectral domain optical coherence tomography, and visual and cognitive impairments in schizophrenia. *J. Vis.* 15:590. doi: 10.1167/15.12.590
- Warner, R., Laugharne, J., Peet, M., Brown, L., and Rogers, N. (1999). Retinal function as a marker for cell membrane omega-3 fatty acid depletion in schizophrenia: a pilot study. *Biol. Psychiatry* 45, 1138–1142. doi: 10.1016/S0006-3223(98)00379-5

Conflict of Interest Statement: The authors declare that the research was conducted in the absence of any commercial or financial relationships that could be construed as a potential conflict of interest.

Copyright © 2016 Schwitzer, Schwan, Bernardin, Jeantet, Angioi-Duprez and Laprevote. This is an open-access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution License (CC BY). The use, distribution or reproduction in other forums is permitted, provided the original author(s) or licensor are credited and that the original publication in this journal is cited, in accordance with accepted academic practice. No use, distribution or reproduction is permitted which does not comply with these terms.

5.2 MODIFICATIONS FONCTIONNELLES ET ARCHITECTURALES CHEZ LES CONSOMMATEURS DE CANNABIS

Article 5.
“Transient retinal dysfunctions after acute cannabis use”

European Addiction Research. 2016 Jul 5;22(6):287-291.

Thomas Schwitzer, Matthieu P. Robert, Anne Giersch, Karine Angioi-Duprez, Isabelle Ingster-Moati, Amandine Pon-Monnier, Raymund Schwan, Vincent Laprevote

Ce cas clinique présente des modifications de la fonction rétinienne mesurées dans des conditions scotopiques, et plus particulièrement de l'hyperpolarisation des photorécepteurs, après un usage aigu de cannabis chez un consommateur régulier suivi dans le service d'ophtalmologie de l'hôpital Necker à Paris.

En raison de la présence d'un lupus érythémateux qui a nécessité la prescription de chloroquine, il bénéficie d'une surveillance annuelle de sa fonction rétinienne constituée par la réalisation de nombreux examens de routine dont des mesures électrophysiologiques par électrorétinogramme.

Lors d'un de ces examens, il est noté la présence de tracés d'électrorétinogramme multifocal de morphologies supra-normales mais dans les limites de la normale. C'est à ce moment-là que le recueil exhaustif des facteurs de risque, pouvant potentiellement entraîner des modifications de la fonction rétinienne, révèle une consommation importante de cannabis, associée à une consommation de tabac.

En l'absence d'autres facteurs de risque, les derniers tracés étant stables et reproductibles entre eux, l'usage de cannabis est suspecté dans les modifications fonctionnelles rétiniennes détectées. En accord avec le patient, nous réalisons donc des mesures rétiniennes électrorétinographiques 30 minutes après l'usage de cannabis et 5 heures après la dernière consommation afin d'évaluer l'imputabilité du cannabis.

Nous montrons ici que l'amplitude de l'onde a de l'électrorétinogramme flash, 30 minutes après une consommation de cannabis, était diminuée de 48%, 28%, 23%, 21% pour les séries « dark-adapted 0.1, 0.3, 1.0, 3.0 ERG » respectivement, comparée aux mesures réalisées 5 heures après la consommation. Cette diminution était retrouvée sur toutes les réponses scotopiques et constante pour les deux yeux.

Ces mesures, bien que réalisées sur un cas unique, sont particulièrement intéressantes puisqu'elles montrent des anomalies de la fonction rétinienne après un usage aigu de cannabis et qui régressent à distance de la consommation. En raison du caractère illicite du cannabis en France, les effets aigus du cannabis sur la fonction rétinienne seraient particulièrement contraignants à réaliser montrant ainsi l'intérêt de ce cas.

C'est le premier cas-clinique montrant une altération de l'hyperpolarisation des photorécepteurs après un usage aigu de cannabis. Il justifie ainsi l'exploration plus précise de la fonction rétinienne chez les usagers de cannabis par la réalisation d'études cas-témoins après un usage aigu et régulier.

Transient Retinal Dysfunctions after Acute Cannabis Use

Thomas Schwitzer^{a, b, d} Matthieu P. Robert^{e, f} Anne Giersch^d
Karine Angioi-Duprez^c Isabelle Ingster-Moati^f Amandine Pon-Monnier^f
Raymund Schwan^{a, b, g} Vincent Laprevote^{a, b, g}

^aEA 7298, INGRES, Université de Lorraine, Vandœuvre-lès-Nancy, ^bPôle Hospitalo-Universitaire de Psychiatrie du Grand Nancy, Centre Psychothérapique de Nancy, Laxou, ^cService d'Ophtalmologie, CHU Nancy, Nancy, ^dINSERM U1114, Département de Psychiatrie, Fédération de Médecine Translationnelle de Strasbourg, Centre Hospitalier Régional Universitaire de Strasbourg, Strasbourg, ^eUFR de Médecine, Université Paris Descartes, Sorbonne-Paris-Cité, ^fService d'Ophtalmologie, Hôpital Universitaire Necker-Enfants Malades, Paris, and ^gMaison des Addictions, CHU Nancy, Nancy, France

Key Words

Cannabis · Electroretinography · Retina · Synaptic transmission · Endocannabinoids · Lupus erythematosus

Abstract

Although cannabis is very widespread worldwide, the impact of cannabis on visual function remains poorly understood. This is partly due to numerous difficulties met in developing clinical studies in cannabis users. Here, we report the first documented case of neuroretinal dysfunction after acute cannabis smoking. This observation was favored by the need of an annual ophthalmic evaluation in the context of a chloroquine intake for a systemic lupus erythematosus in a 47-year-old heavy cannabis user. A complete ophthalmic evaluation including visual acuity tests, intraocular pressure, fundoscopic examination, automated 10° central visual field, full-field electroretinogram (ERG) and multifocal ERG was performed twice – 30 min and 5 h after cannabis smoking. A strong decrease (up to 48%) in the a-wave amplitude of the full-field ERG was measured 30 min after cannabis smoking for all scotopic responses compared with the responses 5 h after smoking. Other tests showed reproducible

results between the 2 series of measurements. This clinical case suggests that acute inhalation of cannabis affects the photoreceptors functioning. This rare situation suggests further investigations are required on the impact of cannabis on retinal processing, especially since cannabis has been incriminated in car injuries.

© 2016 S. Karger AG, Basel

Introduction

While cannabis is very widespread worldwide, there is little information on its effects on human retinal processing. Numerous previous studies have shown visual symptoms or impairments in cannabis smokers and several have suggested a retinal origin (for review, see [1]). This hypothesis is consistent with the anatomical and functional distribution of the cannabinoid system in the retina (for reviews, see [1, 2]). Nevertheless, alterations in human retinal processing after acute cannabis use have, to our knowledge, not previously been reported whereas modifications of electrooculogram measurements, a marker of retinal pigment epithelium functioning, were

found in several cannabis smokers [3, 4]. Here, we describe the first clinical case where decreases up to 48% in the a-wave amplitude of the full-field electroretinogram (ERG) measurements in scotopic conditions were found in a patient after an acute inhalation of cannabis. These strong alterations in retinal function were observed for all scotopic retinal responses and disappeared after the acute cannabis exposure phase. This observation may suggest a direct action of cannabis on the retina and therefore could provide a clearer picture of visual function in cannabis users.

Case Report

A 47-year-old man returned to the Ophthalmology Department for his annual monitoring examination in the context of a chloroquine treatment, prescribed for a systemic lupus erythematosus. The disease was revealed by erythematous edematous skin lesions located mainly on the cheeks and nose. These lesions were associated with rheumatological manifestations such as arthromyalgia and bilateral and symmetrical arthritis in the metacarpophalangeal and proximal interphalangeal joints. Biological cue for lupus erythematosus was an elevated level of anti-DNA native antibodies. The patient did not report visual impairment over the course of the disease. He had no history of ophthalmological, neurological or psychiatric disease. He was free of medication except for chloroquine. He had been taking chloroquine since 2003 and the total amount of chloroquine used at the time of the assessment was 1,000 g. Incidentally, he disclosed regular cannabis use associated with his tobacco consumption. He had started consuming cannabis 33 years ago. His cannabis consumption was estimated at approximately 20 joints of cannabis resin monthly. He smoked 40 tobacco cigarettes daily and had been doing so for 25 years. He denied any other current or past drug use. A standardized method using gas chromatography/mass spectrometry was used for analysis of urinary tetrahydrocannabinol (THC) and its main metabolites named 11-nor-9-carboxy-THC and 11-hydroxy-THC; buprenorphine; benzodiazepines; cocaine; opiates; amphetamines and methadone (Drug-Screen, Nal von Minden, Moers, Germany). This test was only positive to THC and its metabolites. To verify whether ophthalmologic measurements could be affected by his cannabis use, we agreed with him that he would come twice a day to perform an ophthalmic evaluation. The first one was performed 5 h after his last cannabis use. The patient then smoked again and the second evaluation took place 30 min after cannabis smoking. These tests included full-field ERG, according to the standards of the International Society for Clinical Electrophysiology of Vision [5]. Stimulation, recording and analysis were performed with MonPack One system and electrical signals were recorded simultaneously from both eyes using ERG-jet contact lens electrodes (Metrovision, France). Ground and reference electrodes were secured to the forehead and external canthi. Pupils were dilated with tropicamide 0.5%, and the pupillary size remained constant during the whole testing period. After periods of dark and light adaptation respectively of 20 and 10 min, full-field ERG was performed in both scotopic and photopic conditions. The following responses,

named according to conditions of adaptation and flash strength in candelas seconds per meter squared, were recorded: light-adapted 3.0 and 3.0 flicker and dark-adapted 0.1, 0.3, 1.0 and 3.0 ERG. The recordings were performed in similar conditions 5 h after exposure and following acute cannabis exposure. Other tests included visual acuity tests, intraocular pressure, fundoscopic examination, automated 10° central visual field and multifocal ERG. The patient gave his consent to these explorations and for the publication of his case.

Results

We found that 30 min after smoking, the a-wave amplitude decreased by 48, 28, 23, 21% for the dark-adapted 0.1, 0.3, 1.0 and 3.0 ERG, respectively; compared to the responses 5 h after smoking. This decrease was found in all scotopic responses, was constant for both eyes and was not associated with subjective visual disturbances after cannabis use. Typical full-field ERG waveforms are presented in figure 1, showing reproducibility in the responses. Importantly, variations of ERG parameters derived from other retinal responses between the 2 measurements were substantially lower (table 1). Additionally, visual acuity tests, intraocular pressure, fundoscopic examination, central visual field and multifocal ERG were within normal limits and revealed no difference between the 2 measurement series.

Discussion

We have shown that the acute consumption of cannabis in our patient was followed by a large decrease in the a-wave amplitude for all scotopic responses, up to 48%, without subjective visual disturbance. To our knowledge, this is the first description of alterations in human photoreceptors functioning after acute cannabis smoking. This unusual and rare observation was favored by the need of an annual ophthalmic evaluation in a cannabis smoker, while clinical studies in cannabis users are difficult to perform due to numerous factors previously described [1]. These new findings could provide critical knowledge to the literature and could legitimize the development of case-control studies evaluating the retinal function in cannabis users.

These results suggest an acute and substantial effect of cannabis in modulating the hyperpolarization of photoreceptors. This is consistent with the distribution of endocannabinoids in the retina and with their role in the regulation of retinal neurotransmission (for reviews, see

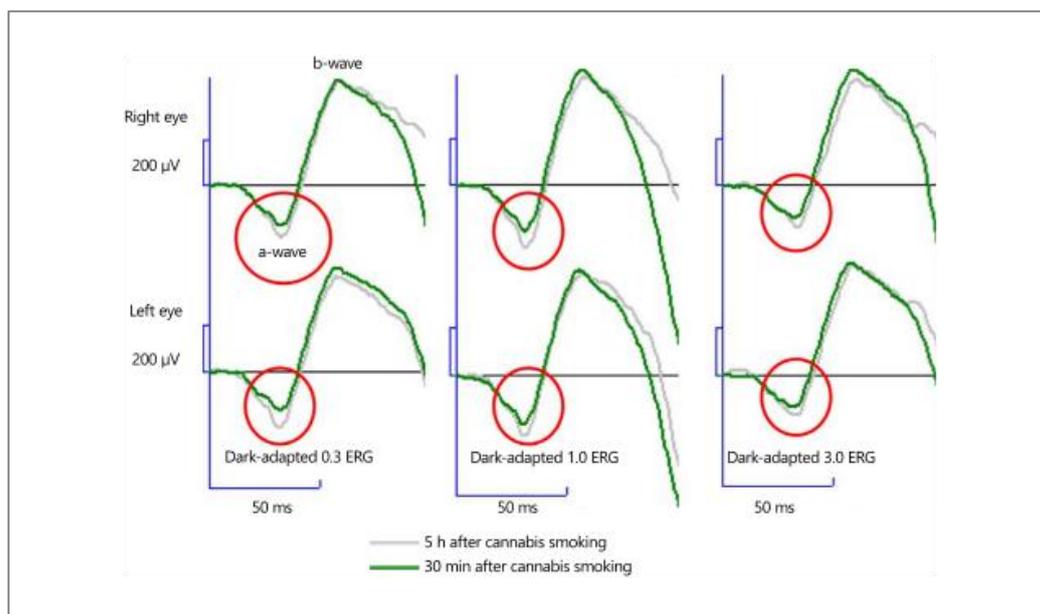


Fig. 1. Typical full-field ERG traces in dark-adapted 0.3, 1.0 and 3.0 ERG conditions in an adult human 30 min and 5 h after cannabis smoking.

Table 1. Data of scotopic full-field ERG measurements in an adult human 30 min and 5 h after cannabis smoking

| Mean right-left eye | Dark-adapted 0.1 ERG | | | | Dark-adapted 0.3 ERG | | | |
|---------------------------|----------------------|--------------------|-------------------|--------------------|----------------------|--------------------|-------------------|--------------------|
| | a-wave | | b-wave | | a-wave | | b-wave | |
| | implicit time, ms | amplitude, μ V | implicit time, ms | amplitude, μ V | implicit time, ms | amplitude, μ V | implicit time, ms | amplitude, μ V |
| 5 h after cannabis use | 35.4 | -95.4 | 67.3 | 512 | 31 | -215.5 | 57.55 | 621.5 |
| 30 min after cannabis use | 34.5 | -49.2 | 70.85 | 472.5 | 31.45 | -154.5 | 57.6 | 576.5 |
| Percentage change, % | -3 | -48 | 5 | -8 | 1 | -28 | 0 | -7 |
| Mean right-left eye | Dark-adapted 1.0 ERG | | | | Dark-adapted 3.0 ERG | | | |
| | a-wave | | b-wave | | a-wave | | b-wave | |
| | implicit time, ms | amplitude, μ V | implicit time, ms | amplitude, μ V | implicit time, ms | amplitude, μ V | implicit time, ms | amplitude, μ V |
| 5 h after cannabis use | 30.55 | -241 | 57.15 | 656.5 | 31.9 | -159.5 | 59.75 | 587.5 |
| 30 min after cannabis use | 29.65 | -185.5 | 55.8 | 620 | 31 | -126 | 59.3 | 574 |
| Percentage change, % | -3 | -23 | -2 | -6 | -3 | -21 | -1 | -2 |

[1, 2]). Cannabinoid receptors types 1 and 2 (CB1 and CB2) are expressed in the retina. An experimental study in CB2 knockout mice showed an increase in the a-wave amplitudes of the ERG measurements in scotopic conditions, also suggesting that cannabinoid receptors activation through cannabis would lead to a decrease in a-wave amplitudes [6].

Circadian variations are unlikely to have played a role in these responses variations, because they would have led to variations in other scotopic parameters also, which was not the case. Similarly, tobacco is unlikely to be involved, since nicotine is known to decrease the scotopic b-wave amplitude [7].

The retina is an anatomical and functional extension of the central nervous system (CNS). As a consequence, the retina and the brain display similar properties, especially in terms of neurotransmission [8]. In this context, multiple studies suggest that retinal function could be affected in CNS disorders involving neurotransmission abnormalities [9–12]. Cannabis is known to act on CNS neurotransmission, especially on glutamatergic, dopaminergic, and GABAergic pathways [13]. These neurotransmitters are expressed in the retina and are involved in several physiological conditions [14, 15]. We hypothesize that our findings could support a direct action of THC on retinal glutamatergic transmission. Indeed, one of the crucial functions of the cannabinoid system is the inhibition of neurotransmitters release, which is allowed by the location of CB1 receptors at the pre-synaptic level of central and peripheral neurons, such as in the retina [1, 2]. As previously described in the CNS, the blockade of pre-synaptic CB1 receptors by THC disrupts the regulatory role of endocannabinoids and consequently increases the synaptic release of glutamate (for reviews see [1, 13]). This leads to alterations in synaptic glutamatergic transmission. In the vertebrate retina, glutamate is expressed in the main retinal cells, such as photoreceptors [14, 16]. Furthermore, glutamate is the main neurotransmitter involved in the depolarization and hyperpolarization of photoreceptor cells and consequently in the vertical transmission of retinal information [14, 16]. Based on our results, we propose that cannabis use, through the direct action of THC on retinal cannabinoid receptors CB1, modulates the retinal level of glutamate thus altering the hyperpolarization of photoreceptor cells.

An impact of the immune disease, lupus erythematosus, and chloroquine intake in these transient alterations of photoreceptors functioning is unlikely for the following reasons, although we cannot exclude an interaction

with cannabis intake. Our patient did not have subjective visual disturbances at the time of the assessment and had not reported any visual impairment since the disease was diagnosed. The transient retinal dysfunctions were reported after acute cannabis smoking and disappeared at a distance from cannabis use, suggesting a direct and independent effect of cannabis use. These results cannot be related to chloroquine intake since annual ophthalmological monitoring was performed to verify potential toxicity of chloroquine intake on retinal function; these exams, including multi-focal ERG recordings, were within normal limits and were stable and reproducible between each annual monitoring.

However, the modulation of immunoregulatory effects of cannabinoid signaling through an action of THC on the cannabinoid system could be considered in retinal dysfunctions occurring in this specific immunological pathological condition. Indeed, cannabinoid receptors and their endogenous ligands are found in cells of the immune system both in peripheral tissues and in the CNS [17]. Additionally, there is growing evidence that cannabis and exocannabinoids exhibit immunoregulatory properties through the activation of cannabinoid receptors [17, 18]. Especially, endocannabinoids are known to exert immune functions by modulating cytokine release and an involvement of the cannabinoid system in a protective general mechanism may occur in specific immunological conditions to decrease the immune response [19, 20]. Under pathological conditions such as lupus erythematosus, the expression of cannabinoid receptors may be enhanced and they could play neuroprotective and immunosuppressive roles [21]. As a consequence, the retinal dysfunction recorded after cannabis smoking could also result from interactions between the cannabis effect and special immunological disease mechanisms of lupus erythematosus, resulting in modulation of the role of the cannabinoid system.

Cannabis is widespread worldwide and its use might be associated with impairments in vision, critical for car driving. Because data on the visual impact of acute cannabis exposure are still limited, this case indicates a need for further clinical investigations on visual function in cannabis users.

Funding

This study was found by a French National Research Agency (grant number ANR-12-SAMA-0016-01) and by the French Mission Interministérielle de Lutte contre les Drogues et les Conduites Addictives (MILDECA).

Acknowledgments

The authors thank the patient, the ophthalmology staff of Paris University Hospital, Philippe Le Neindre, Coline Jeantet and Dr. Saal for their contribution to this work.

The authors thank the company Metrovision (Pérenchies, France) for its collaboration, the French National Research Agency (grant number ANR-12-SAMA-0016-01) and the French MILDECA for their support.

Disclosure Statement

The authors declare that they have no conflict of interest.

Contributors

All the authors contributed to write the manuscript, concurred with the submission and have approved the final manuscript.

References

- Schwitzer T, Schwan R, Angioi-Duprez K, Ingster-Moati I, Lalanne L, Giersch A, et al: The cannabinoid system and visual processing: a review on experimental findings and clinical presumptions. *Eur Neuropsychopharmacol* 2015;25:100–112.
- Schwitzer T, Schwan R, Angioi-Duprez K, Giersch A, Laprevote V: The endocannabinoid system in the retina: from physiology to practical and therapeutic applications. *Neural Plast* 2016;2016:2916732.
- Zobor D, Strasser T, Zobor G, Schober F, Messias A, Strauss O, et al: Ophthalmological assessment of cannabis-induced persisting perception disorder: is there a direct retinal effect? *Doc Ophthalmol* 2015;130:121–130.
- Faure C, Schwitzer T, Hansen C, Randhawa S: Diagnostic and therapeutic challenges. *Retina (Philadelphia Pa)* 2016; DOI: 10.1097/IAE.0000000000000988.
- McCulloch DL, Marmor MF, Brigell MG, Hamilton R, Holder GE, Tzekov R, et al: ISCEV standard for full-field clinical electroretinography (2015 update). *Doc Ophthalmol* 2015;130:1–12.
- Cécycire B, Zabouri N, Huppé-Gourgues F, Bouchard JF, Casanova C: Roles of cannabinoid receptors type 1 and 2 on the retinal function of adult mice. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2013;54:8079–8090.
- Varghese SB, Reid JC, Hartmann EE, Keyser KT: The effects of nicotine on the human electroretinogram. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2011;52:9445–9451.
- London A, Benhar I, Schwartz M: The retina as a window to the brain – from eye research to CNS disorders. *Nat Rev Neurol* 2013;9:44–53.
- Schwitzer T, Lavoie J, Giersch A, Schwan R, Laprevote V: The emerging field of retinal electrophysiological measurements in psychiatric research: a review of the findings and the perspectives in major depressive disorder. *J Psychiatr Res* 2015;70:113–120.
- Lavoie J, Maziade M, Hébert M: The brain through the retina: the flash electroretinogram as a tool to investigate psychiatric disorders. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry* 2014;48:129–134.
- Laprevote V, Schwitzer T, Giersch A, Schwan R: Flash electroretinogram and addictive disorders. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry* 2015;56:264.
- Schwitzer T, Schwan R, Bernardin F, Jeantet C, Angioi-Duprez K, Laprevote V: Commentary: anatomical constitution of sense organs as a marker of mental disorders. *Front Behav Neurosci* 2016;10:56.
- Bossong MG, Niesink RJ: Adolescent brain maturation, the endogenous cannabinoid system and the neurobiology of cannabis-induced schizophrenia. *Prog Neurobiol* 2010; 92:370–385.
- de Souza CF, Acosta ML, Polkinghorne PJ, McGhee CN, Kalloniatis M: Amino acid immunoreactivity in normal human retina and after brachytherapy. *Clin Exp Optom* 2013; 96:504–507.
- Witkovsky P: Dopamine and retinal function. *Doc Ophthalmol* 2004;108:17–40.
- Wu SM, Maple BR: Amino acid neurotransmitters in the retina: a functional overview. *Vision Res* 1998;38:1371–1384.
- Correa F, Mestre L, Molina-Holgado E, Arévalo-Martín A, Docagne F, Romero E, et al: The role of cannabinoid system on immune modulation: therapeutic implications on CNS inflammation. *Mini Rev Med Chem* 2005;5:671–675.
- Chiurchiù V, Leuti A, Maccarrone M: Cannabinoid signaling and neuroinflammatory diseases: a melting pot for the regulation of brain immune responses. *J Neuroimmune Pharmacol* 2015;10:268–280.
- Croxford JL, Yamamura T: Cannabinoids and the immune system: potential for the treatment of inflammatory diseases? *J Neuroimmunol* 2005;166:3–18.
- Sido JM, Nagarkatti PS, Nagarkatti M: Role of endocannabinoid activation of peripheral CB1 receptors in the regulation of autoimmune disease. *Int Rev Immunol* 2015;34:403–414.
- Mechoulam R, Parker LA: The endocannabinoid system and the brain. *Annu Rev Psychol* 2013;64:21–47.

Article 6.
“Diagnostic and Therapeutic Challenges. Mysterious blebs”

Retina. 14 mars 2016

Céline Faure, Thomas Schwitzer, Céline Hansen, Sandeep Randhawa

Ce deuxième cas clinique montre des anomalies architecturales et fonctionnelles de la rétine chez un consommateur régulier de cannabis âgé de 25 ans, qui consommait environ 5 joints par jour depuis l'âge de 16 ans. Ce patient consulte suite à l'apparition d'une vision floue de l'œil droit.

Des examens électrophysiologiques et d'imagerie sont pratiqués, entre autres, et montrent sur les clichés de tomographie par cohérence optique des bulles subrétiniennes correspondant à un détachement séreux périmaculaire et la présence d'une disruption de la zone ellipsoïde au niveau fovéal. Les examens d'électrophysiologie ne montrent pas d'anomalies détectables à l'électrorétinogramme flash mais montrent une diminution du « light peak » à l'électrooculogramme. Ces anomalies sont présentes uniquement au niveau de l'œil droit.

En dehors d'autres étiologies identifiables, les consommations de cannabis sont suspectées être à l'origine de ces anomalies et le patient est invité à diminuer autant que possible ces consommations. Le suivi du patient pendant 6 mois montre une régression progressive de ces anomalies qui correspond à la baisse puis à l'arrêt des consommations.

D'un point de vue physiopathologique, il est fort probable que ces anomalies structurales et fonctionnelles aient été induites par les consommations de cannabis, et ce d'autant plus qu'elles régressent à l'arrêt du cannabis. En effet, les endocannabinoïdes, récepteurs et ligands, sont présents dans l'épithélium pigmentaire et dans les cellules photoréceptrices et jouent un rôle actif dans la régulation du transport ionique. Ainsi, ces anomalies sont compatibles avec l'hypothèse d'une perturbation, par les principes actifs du cannabis, du rôle régulateur du système cannabinoïde dans le transport ionique au sein de

l'épithélium pigmentaire ou de l'interface entre l'épithélium pigmentaire et les photorécepteurs. D'autres mécanismes physiopathologiques pouvant être à l'origine de ces anomalies et pouvant avoir été induits par le cannabis sont discutés dans cet article, en lien avec ceux présents dans différentes pathologies rétiniennes. Il reste cependant incompris pourquoi seul l'œil droit a été touché.

Tout comme le précédent, et en accord avec la distribution des endocannabinoïdes dans la rétine et leur fonction de régulation du métabolisme rétinien, ce cas est en faveur du développement des études de la fonction et de la structure rétinienne chez les consommateurs de cannabis.

Diagnostic and Therapeutic Challenges

Edited by H. Richard McDonald

Drs. Céline Faure, Thomas Schwitzer, Céline Hansen, and Sandeep Randhawa

This case is submitted by Dr. Céline Faure, Hôpital Privé Saint Martin, Caen, France, and Centre Hospitalier National des Quinze-Vingts, Paris, France; Dr. Thomas Schwitzer, Université de Lorraine, Vandoeuvre-lès-Nancy, France, Centre Psychothérapique de Nancy, Nancy, France, and INSERM U1114, Fédération de Médecine Translationnelle de Strasbourg, Département de Psychiatrie, Centre Hospitalier Régional Universitaire de Strasbourg, Strasbourg, France; Dr. Céline Hansen, Hôpital Privé Saint Martin, Caen, France; commented by Sandeep Randhawa, Royal Oak, Michigan.

Case Report

A 25-year-old man presented with blurred vision of the right eye (RE) for a couple of months. He had no medical history. However, he confessed to be a chronic hashish smoker (5 joints per day) since he was 16 years old. He denied any other drug use. Best-corrected visual acuity was 20/60 in the RE and 20/20 in the left eye. Slit-lamp examination and intraocular pressure were normal. At first sight, RE fundus examination appeared unremarkable (Figure 1A). But multiple subretinal blebs were seen on the infrared imaging at the posterior pole and around the optic disk (Figure 2A). Spectral domain optical coherence tomography (OCT) confirmed the subretinal location of the blebs (Figure 3). The ellipsoid zone was disrupted in the macular area. Length of the external segment of the photoreceptor was not increased. Choroidal thickness was normal. Autofluorescence picture displayed patchy and granular hyperautofluorescent areas at the posterior pole and all around the optic disk of the RE (Figure 2C). Left eye fundus was normal (Figures 1B, 2B, and 2D). Fluorescein angiography showed no vascular leakage and indocyanine green angiography was not contributive (Figure 4). Full-field electroretinogram was recorded using cutaneous electrodes and a short protocol after 10 minutes of dark adaptation (Figure 5). Full-field electroretinogram displayed normal scotopic and photopic responses. Electrooculogram showed a reduced light peak in the RE (Figure 6). Intoxication due to cannabis or rather to the various components used in hashish resin fabrication process was suspected, and the patient was asked to reduce as much as possible his hashish use. At follow-up examination, his RE best-corrected visual acuity stayed the same but

infrared reflectance and spectral domain OCT went slowly back to normal within 6 months (Figure 7). However, RE autofluorescence alteration remained unchanged.

This case is presented for discussion of diagnosis.

Dr. Sandeep Randhawa (Royal Oak, Michigan):

The main question raised by this case is the possible etiology of the changes seen on OCT and autofluorescence with corresponding electrophysiologic changes (decreased light peak, indicative of a decrease in standing potential across the retinal pigment epithelium [RPE]) in the RE.

The differential diagnosis of multiple subretinal hyporeflective areas on OCT with corresponding hypoautofluorescence on autofluorescence imaging includes subretinal fluid blebs after successful retinal detachment surgery,¹ certain variants of vitelliform dystrophy,² and multifocal serous detachments seen in patients on mitogen-activated protein kinase enzyme (MEK1 and/or MEK2) inhibitors.³ Focal subretinal hyporeflectivity can also be seen in some cases of chronic poppers maculopathy (poppers is a slang term for a group of alkyl nitrites that are used as recreational drugs).⁴

Multiple subretinal fluid blebs are commonly found after successful retinal detachment surgery, especially in young patients. The multiple blebs may result from the active reattachment of the RPE and photoreceptors during the resolution of retinal detachment. They can also be seen in vitelliform macular dystrophy including those caused by mutations of interphotoreceptor matrix proteoglycan (IMPG) genes and also in patients who are on MEK inhibitors (these are discussed in detail later). Poppers maculopathy presents bilaterally with visual disturbance and a foveal yellow spot either as acute toxicity and/or after prolonged chronic use. When patients present with acute toxicity, they have focal disruption of the ellipsoid zone and outer retina on

Fig. 1. Right eye color fundus appeared unremarkable. Left eye has normal color fundus.



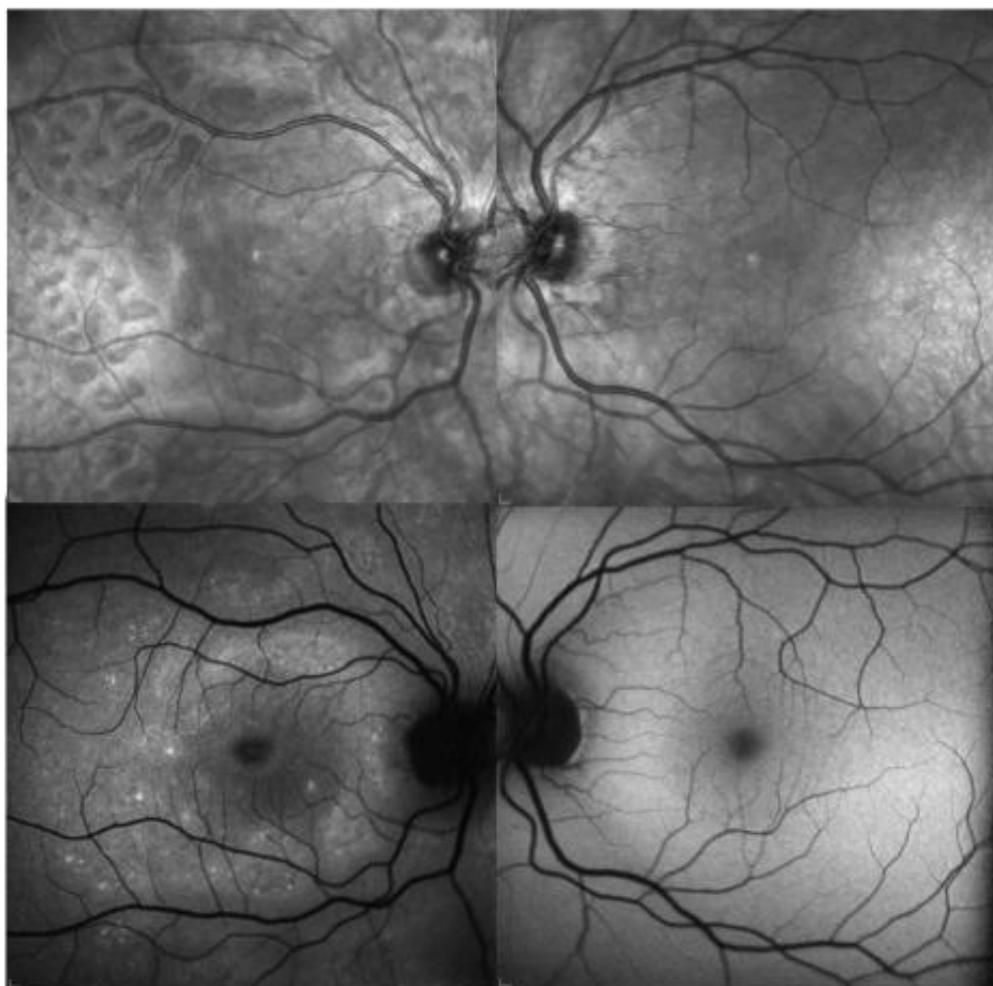
OCT. In chronic toxicity, the OCT shows a larger defect in the ellipsoid and may have a small dome-shaped elevation at the macula.⁴

Given that the patient never had retinal surgery in the eye, was not on any other drugs, and that the findings were unilateral and reversed after stopping hashish essentially rules the above out. The discussion would be focused on whether the changes observed in

the RE could be secondary to hashish toxicity and what the possible pathophysiology may have been.

Medical causation is the determination of whether an adverse effect was caused by the use of a drug. The determination of a degree of causation must occur within structured guidelines, such as those of Koch, Hill,^{5,6} or Riddell.⁷ According to the Hill criteria, causation could be definite (must have all 4), probable

Fig. 2. Right eye, multiple subretinal blebs on IR compared with normal left eye IR. Patchy and granular hyperautofluorescent areas at the RE posterior pole and around the optic disk compared with left eye normal autofluorescence picture. IR, infrared reflectance.



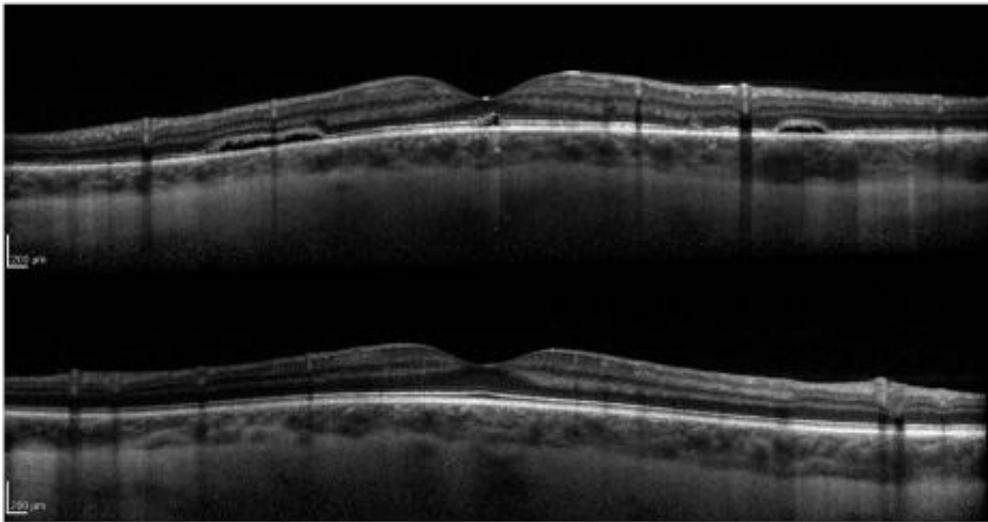


Fig. 3. Right eye, enhanced depth imaging spectral domain OCT (EDI OCT) with small serous retinal detachment in the perimacular region (vertical scan). Disruption of the ellipsoid zone at the location of the fovea. Normal choroidal thickness. Left eye, normal EDI spectral domain OCT (vertical scan). EDI, enhanced depth imaging.

(must have 3), and possible (must have 2) of the following list of the Hill criteria which includes that the adverse event 1) has a reasonable temporal relationship to intervention, 2) could not readily have been produced by the subject's clinical state or have been because of environmental or other interventions, 3) follows a known pattern of response to intervention, and 4) disappears or decreases with reduction in dose or cessation of intervention and recurs with re-exposure.

Riddell established systematic rules for evaluating potential drug adverse effect causation, by setting up a set of eight requisites (temporal eligibility, latent period, exclusion, de-challenge, re-challenge, singularity of the drug, pattern, and drug Identification).

Based on these two sets of criteria, it is probable that the hashish caused the retinal changes but not definitive because the patient was not re-challenged to see if the symptoms and signs recurred.

Different cannabis products, marijuana and hashish (concentrated form), are considered to be natural hallucinogens and are derived from the hemp plant (*Cannabis sativa*). Hashish, or hash, is a cannabis product composed of compressed or purified preparations of stalked resin glands, called trichomes, the most potent material from Cannabis plants. It contains the same active ingredients—such as tetrahydrocannabinol and other cannabinoids—but often in much higher concentrations than unsifted buds or leaves.⁸

The endocannabinoid system, a new intercellular communication network, has been shown to play a crucial role in neurodegenerative disorders' pathogenesis.⁹ The endocannabinoid system consists of the cannabinoid receptors, which include cannabinoid receptors 1 and 2 (CB1/CB2). The activation of CB1 and CB2 receptors in the visual cortex is certainly associated with the occurrence of perceptual changes from cannabis or hashish.⁹

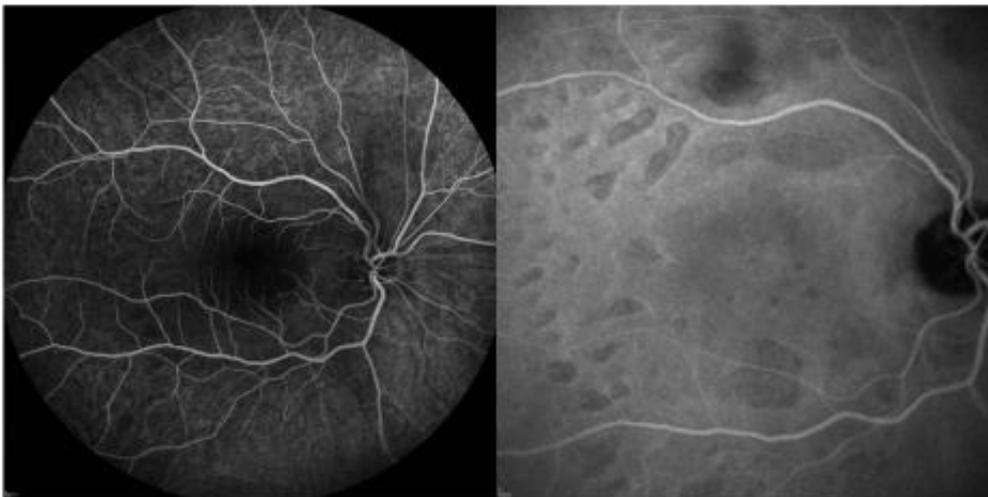


Fig. 4. No vascular leakage was seen on fluorescein angiography. Right eye, multiple small serous detachments could be seen either on fluorescein angiography or indocyanine green angiography.

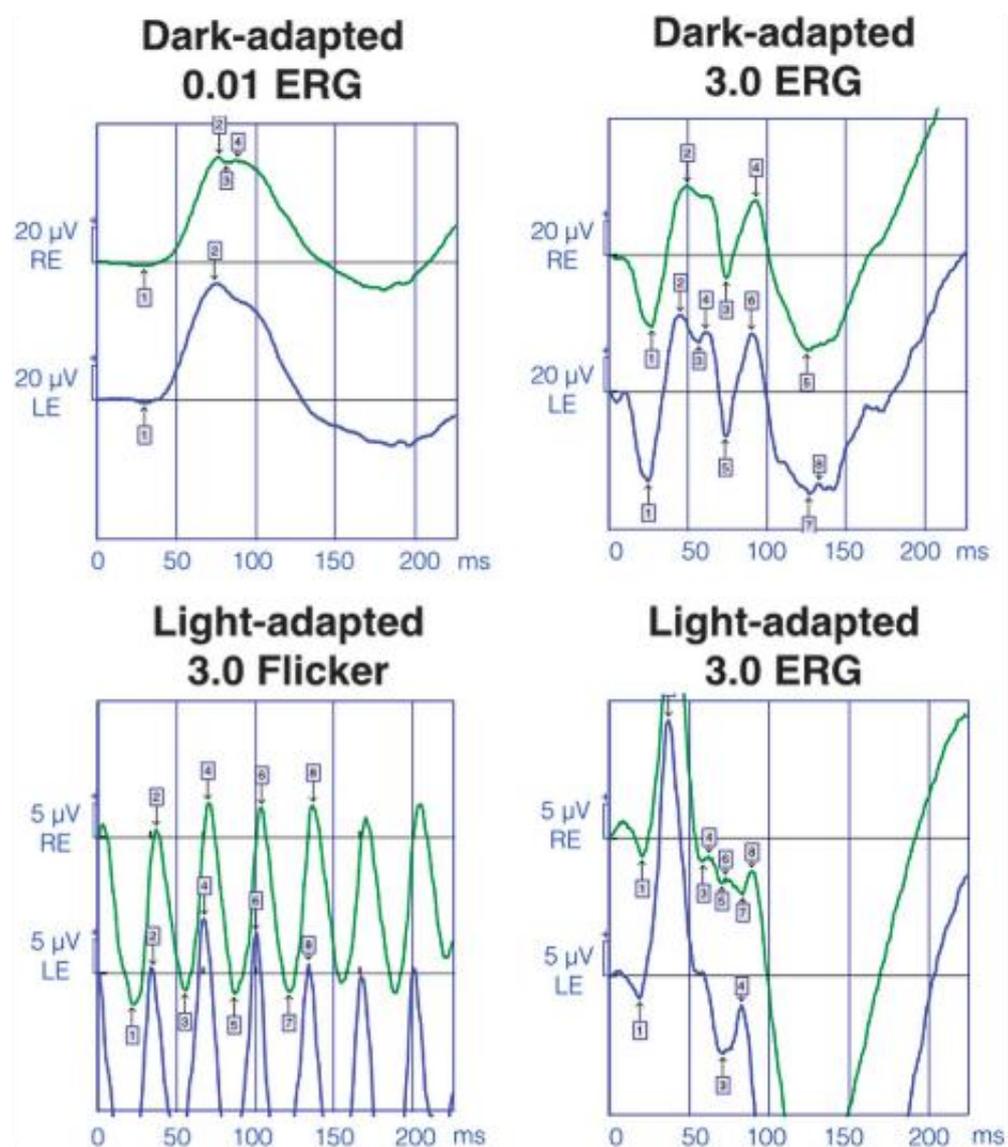


Fig. 5. Short protocol full-field ERG recorded with cutaneous electrodes showing normal scotopic and photopic responses. ERG, electroretinogram.

Recently, Wei et al¹⁰ showed the presence of CB1 and CB2 receptors in human RPE cells, suggesting a key role for the endocannabinoid system in RPE metabolism. The RPE plays a number of essential roles in retinal homeostasis that include regulation of the composition of the fluid surrounding the photoreceptor outer segments, regeneration of the visual pigment (the retinoid or visual cycle), and phagocytosis of shed photoreceptor disks.¹¹ Cannabinoid receptors are also found on both the inner segments and outer segments of the photoreceptors.¹²

Because both the RPE and the photoreceptors express both cannabinoid receptors, the observed changes in this patient could be due to cannabinoid-dependent modulation of the ion channels in the RPE or due to its effect on the photoreceptors.

Below is a summary of the pathophysiology of the other entities that can cause multiple subretinal blebs/hyporeflective spaces on OCT and hypotheses regarding how cannabis toxicity may cause similar changes:

Best disease or juvenile-onset vitelliform macular dystrophy: An autosomal-dominant disease of the central retina characterized by macular lesions resembling the yolk of an egg (“vitelliform”). It is caused by mutations in the VMD2 gene that encodes bestrophin, a transmembrane protein with putative Ca²⁺-dependent Cl⁻ channel activity in the RPE.^{13–15} Defects in Cl⁻ channel activity in the plasma membrane may result in retinal degeneration as a consequence of abnormal regulation of cell volume or the extracellular fluid composition.¹⁶ How cannabis may produce changes similar to Best disease: In the RPE, it has been shown that cannabinoids leads to increase in

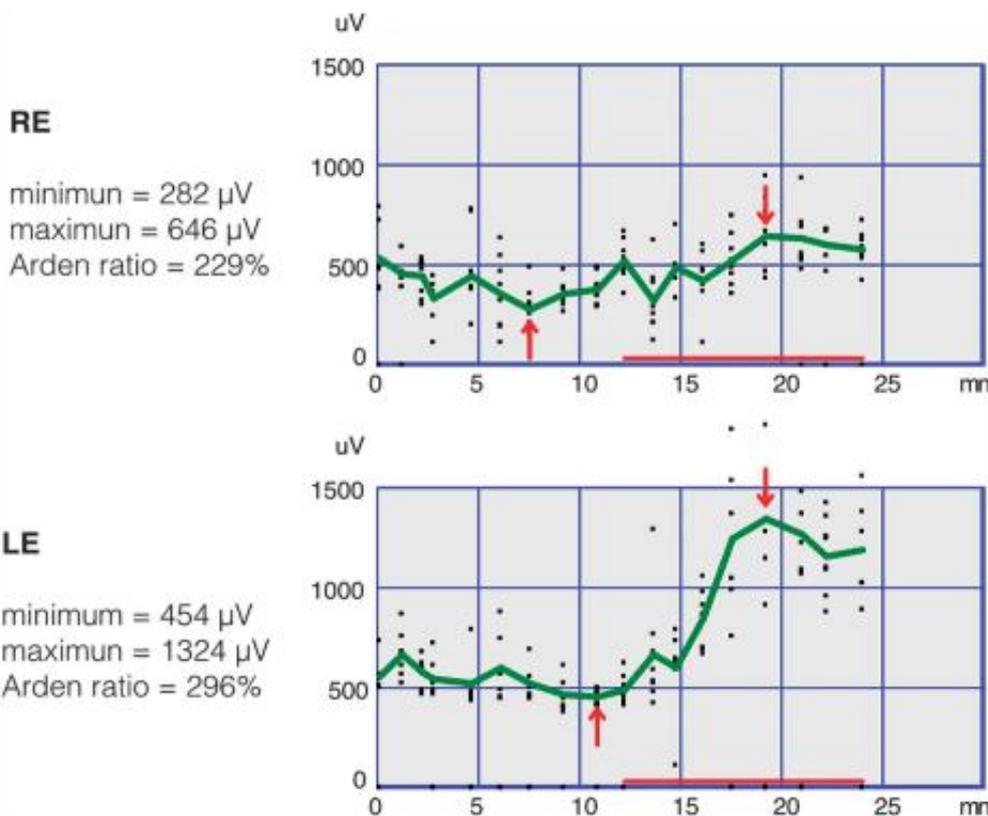


Fig. 6. Electrooculogram showing a reduced light peak response for the RE. Arden ratio of the RE (229%) was reduced compared with that of the LE (296%). LE, left eye.

intracellular free Ca^{2+} through activation of transient receptor potential cation *channel*, Subfamily V, Member 2 (TRPV2) channels.¹⁷ It is possible that chronic stimulation of the RPE cannabinoid receptors by agonists at toxic levels could be responsible for effect in Ca^{2+} -dependent Cl^- channels in the basolateral membrane, leading to abnormal fluid and ion transport across the RPE and weakened interface between the RPE and neurosensory retina. This could have led to the appearance of the subretinal blebs in the patient because of focal separation of the neurosensory retina from the RPE.

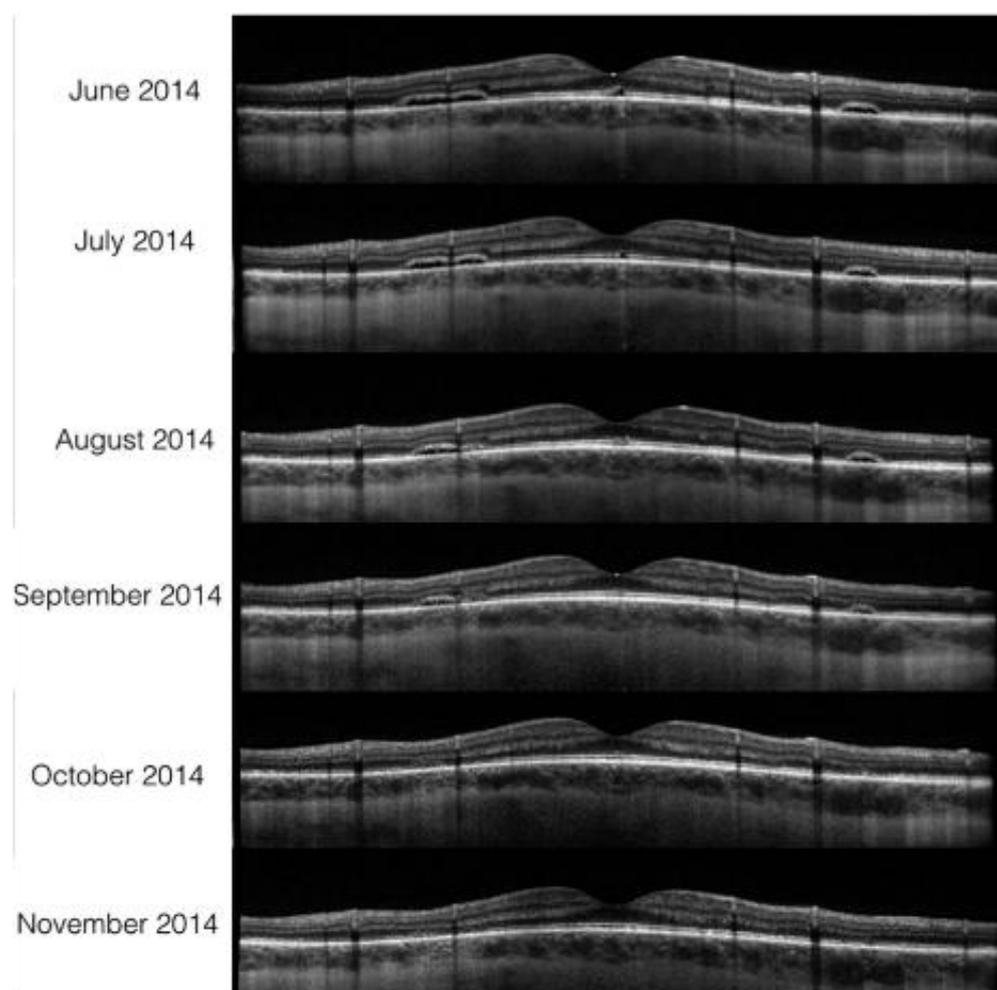
Variants of multifocal vitelliform dystrophies: The presence of subretinal hyporeflexive areas with the preservation of RPE reflectivity, the occurrence of drusenlike lesions, and the localization of the deposit above the RPE as disclosed on spectral domain OCT is related to the function of the IMPG1 and IMPG2 genes.² IMPG1 and IMPG2 encode respectively a sialoglycoprotein associated with cones and rods and a chondroitin sulfate proteoglycan. These proteins, synthesized by the photoreceptors, are localized in the interphotoreceptor matrix from the external limiting membrane to the apical surface and the interdigitations of the RPE that embed the outer segments and the apical compartments of the RPE. Mutations in these lead to weakened adhesion between the neurosensory

retina and the RPE. How cannabis may produce changes similar to multifocal vitelliform dystrophies: Cannabinoid receptors have also been found in the inner segments and outer segments of the photoreceptors,¹² raising the possibility that toxicity from cannabis may also affect the production of glycoproteins and proteoglycans which may have compromised the adhesion between the neurosensory retina and the RPE in this patient.

Mitogen-activated protein kinase inhibitors: Multifocal serous detachments have been seen as toxicity from newer chemotherapeutic agents targeting extracellular signaling, including the mitogen-activated protein kinase (MEK) pathway. Several cases of MEK inhibitor-induced retinopathy have been reported. It has been hypothesized that MEK inhibition results in acute RPE toxicity and dysfunction with breakdown of the blood-retinal barrier.^{18,19} How cannabis may produce changes similar to MEK inhibitors: tetrahydrocannabinol inhibits the mitogen-activated protein kinase and extracellular signal-regulated kinase signaling pathway,²⁰ which may lead to RPE toxicity and the development of serous blebs between the neurosensory retina and the RPE.

Based on the above discussion, it is very probable that the changes on the OCT of this patient were

Fig. 7. Spectral domain OCT follow-up with the slow resolution of the subretinal blebs.



a result of toxicity from hashish (especially given that the changes reversed after the use was discontinued). It still remains hard to explain why only one eye was affected.

Editor's Note:

Drs. Faure, Schwitzer, and Hansen have presented a 25-year-old man with a 2-month history of unilateral blurred vision. Although the fundus examination appeared unremarkable, multiple subretinal blebs were seen on imaging studies. The patient was a chronic hashish user and, after having been asked to stop, was noted to have resolution of the subretinal blebs.

Dr. Sandeep Randhawa has consulted and provided a differential diagnosis of multiple, subretinal hyper-reflective areas.

- I. Postretinal detachment surgery.
- II. Vitelliform dystrophy variants.
- III. Mitogen-activated protein kinase enzyme (MEK1 and/or MEK2) inhibitors.

Dr. Randhawa reviews how each of these entities can cause "subretinal blebs" and discusses how the chronic use of hashish may have played a role.

He begins by listing the terminology of degree of causation, and the criteria that must occur for each. Given these systematic rules, he concludes that it was probable that hashish caused the changes, but not definite, because the patient was not re-challenged to see if the symptoms and signs recurred.

He then proceeded to explore how this might have happened. He reviews the endocannabinoid system, which consists of cannabinoid receptors (CB1/CB2) that have recently been found to be present in human RPE cells, and on photoreceptors. The concentrated cannabinoids in hashish may have resulted in modulation of ion channels in the RPE or because of effects on the photoreceptors.

Dr. Randhawa then describes how cannabinoid receptors may play a role in creating subretinal hyporeflexive areas in some of the entities he placed in his differential diagnosis list. Because the patient never had previous retinal surgery nor was on any

other drugs, some diagnostic possibilities have been ruled out.

The combination of the cannabinoid receptor theory and the possibility that the patient has a genetic mutation that might lead to multifocal vitelliform lesions is intriguing. Genetic studies (Best 1, PRPH2, IMPG1 and IMPG2) would be an interesting path to follow. Restarting the hashish use and finding that the blebs recur would fulfill postulates needed to state that hashish was definitely the cause of the blebs. Of course, we still are left with the unilaterality of the findings, which seems to leave our analysis in a cloud of smoke.

We thank Drs. Faure, Schwitzer, and Hansen for their interesting case, and Dr. Sandeep Randhawa for his analysis.

References

- Kim YK, Ahn J, Woo SJ, et al. Multiple subretinal fluid blebs after successful retinal detachment surgery: incidence, risk factors, and presumed pathophysiology. *Am J Ophthalmol* 2014; 57:834–841.
- Meunier I, Manes G, Bocquet B, et al. Frequency and clinical pattern of vitelliform macular dystrophy caused by mutations of interphotoreceptor matrix IMPG1 and IMPG2 genes. *Ophthalmology* 2014;121:2406–2414.
- Schoenberger SD, Kim SJ. Bilateral multifocal central serous-like chorioretinopathy due to MEK inhibition for metastatic cutaneous melanoma. *Case Rep Ophthalmol Med* 2013;2013: 673796. Available at: <http://dx.doi.org/10.1155/2013/673796>. Epub 2013 Mar 11.
- Audo I, El Sanharawi M, Vignal-Clermont C, et al. Foveal damage in habitual poppers users. *Arch Ophthalmol* 2011;129:703–708.
- Doll R. Sir Austin Bradford Hill and the progress of medical science. *BMJ* 1992;305:1521–1526.
- Morabia A. On the origin of Hill's causal criteria. *Epidemiology* 1991;2:367–369.
- Riddell RH, ed. *Pathology of Drug-Induced and Toxic Diseases*. New York, NY: Churchill Livingstone; 1982:3–9.
- ElSohly MA. *Marijuana and the Cannabinoids*. Totowa, New Jersey: Humana Press, 2007:8. ISBN 978-1-59259-947-9.
- Sim-Selley LJ. Regulation of cannabinoid CB1 receptors in the central nervous system by chronic cannabinoids. *Crit Rev Neurobiol* 2003;15:91–119.
- Wei Y, Wang X, Wang L. Presence and regulation of cannabinoid receptors in human retinal pigment epithelial cells. *Mol Vis* 2009;15:1243–1251.
- Strauss O. The retinal pigment epithelium in visual function. *Physiol Rev* 2005;85:845–881.
- Straiker A, Stella N, Piomelli D, et al. Cannabinoid CB1 receptors and ligands in vertebrate retina: localization and function of an endogenous signaling system. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1999;96:14565–146570.
- White K, Marquardt A, Weber BH. VMD2 mutations in vitelliform macular dystrophy (best disease) and other maculopathies. *Hum Mutat* 2000;15:30–308.
- Kramer F, Mohr N, Kellner U, et al. Ten novel mutations in VMD2 associated with best macular dystrophy (BMD). *Hum Mutat* 2003;22:418.
- Sun H, Tsunenari T, Yau KW, et al. The vitelliform macular dystrophy protein defines a new family of chloride channels. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2002;99:4008–4013.
- Hartzell C, Qu Z, Putzier I, et al. Looking chloride channels straight in the eye: bestrophins, lipofuscinosis, and retinal degeneration. *Physiology (Bethesda)* 2005;20:292–302.
- Barro-Soria R, Stindl J, Müller C, et al. Angiotensin-2-mediated Ca²⁺ signaling in the retinal pigment epithelium: role of angiotensin-receptor-associated-protein and TRPV2 channel. *PLoS One* 2012;7:e49624.
- Jiang Q, Cao C, Lu S, et al. MEK/ERK pathway mediates UVB-induced AQP1 downregulation and water permeability impairment in human retinal pigment epithelial cells. *Int J Mol Med* 2009;23:771–777.
- Van Dijk EH, van Herpen CM, Marinkovic M. Serous retinopathy associated with mitogen-activated protein kinase kinase inhibition (Binimetinib) for metastatic cutaneous and uveal melanoma. *Ophthalmology* 2015;12:1907–1916.
- Rieder SA, Chauhan A, Singh U, et al. Cannabinoid-induced apoptosis in immune cells as a pathway to immunosuppression. *Immunobiology* 2010;215:598–605.

RETINA®, The Journal of Retinal and Vitreous Diseases, encourages readers to submit **Diagnostic and Therapeutic Challenges** to retina@retinajournal.com. Cases for the Diagnostic and Therapeutic Challenges section should include a detailed history of the patient, the diagnosis, the workup, the management, and finally, the question or questions that the submitter wishes to have answered by the consultants.

Article 7.

“When cannabis strikes the retina: Ganglion cells dysfunctions in regular cannabis users”

Thomas Schwitzer, Raymund Schwan, Eliane Albuisson, Anne Giersch, Isabelle Ingster-Moati, Laurence Lalanne, CAUSA MAP study group, Karine Angioi-Duprez, Vincent Laprevote

Soumis

Les travaux présentés ici sont les résultats préliminaires de l'étude de la fonction rétinienne chez les consommateurs réguliers de cannabis. Ils s'intègrent dans une étude plus large de la fonction visuelle chez les usagers réguliers de cannabis, nommée Causa Map, et dont la méthodologie est détaillée en annexe 2. L'objectif de cette étude est d'étudier la fonction visuelle comme marqueur précoce de la dégradation du fonctionnement cognitif chez les consommateurs réguliers de cannabis et ainsi de mieux connaître sa neurotoxicité. L'usage du cannabis est très répandu à l'adolescence, une période où le cerveau est en développement et reste très sensible aux facteurs de risque environnementaux. Les fortes consommations de cannabis à l'adolescence pourraient induire des modifications de l'architecture synaptique en perturbant la fonction régulatrice des endocannabinoïdes sur le fonctionnement du système glutamatergique. En raison de la forte implication du système glutamatergique dans le système visuel, et en particulier sur le fonctionnement de la voie magnocellulaire, cette étude vise à étudier le fonctionnement du système magnocellulaire chez les consommateurs réguliers de cannabis. Cette étude permet également d'explorer l'impact des consommations régulières de cannabis sur une fonction largement sollicitée dans la vie quotidienne et en particulier lors de la conduite automobile.

L'étude présentée ici a consisté à évaluer le fonctionnement des cellules ganglionnaires en se basant sur l'onde N95 de l'électrorétinogramme pattern chez 28 consommateurs réguliers de cannabis en comparaison à 26 sujets sains. Les cellules ganglionnaires sont particulièrement intéressantes à évaluer pour les raisons suivantes. Elles représentent le dernier stade rétinien et par conséquent le plus intégré. L'information issue des cellules ganglionnaires résulte donc de l'intégration des signaux issus des stades précédents. De plus, le système cannabinoïde y est présent et joue un rôle crucial dans la régulation de la libération synaptique de neurotransmetteurs (5,135,291,292). La transmission de

l'information par les cellules ganglionnaires présente des similarités avec celle pratiquée dans le cerveau. L'information est transmise sous la forme de potentiels d'action qui sont relayés par les fibres du nerf optique. Les cellules ganglionnaires sont également dotées d'un système de neurotransmission complexe comprenant les principales voies de neurotransmission retrouvées dans le cerveau (glutamatergique, gabaergique, sérotoninergique, dopaminergique, etc...).

Une augmentation significative du temps de latence de l'onde N95 sans altérations d'amplitude a été mise en évidence chez les usagers réguliers de cannabis par rapport aux sujets sains. Ce résultat persistait quand le niveau d'éducation et la consommation d'alcool étaient pris en compte dans l'analyse statistique.

Il s'agit de la première étude montrant des anomalies du fonctionnement rétinien et un retard d'environ 10 millisecondes dans le traitement rétinien de l'information visuelle chez les usagers réguliers de cannabis. Un effet direct du cannabis sur la neurotransmission rétinienne est discuté, en particulier glutamatergique, en accord avec la présence du glutamate et des récepteurs glutamatergiques au niveau des cellules ganglionnaires et en accord avec le rôle de régulation du système cannabinoïde sur la libération synaptique du glutamate dans le système nerveux central. Ces résultats préliminaires justifient l'étude des stades antérieurs et ultérieurs du traitement de l'information visuelle pour évaluer si ce retard est présent à ces stades et surtout pour vérifier s'il est corrigé aux stades ultérieurs dans le cortex visuel.

Malgré qu'elles soient considérées ici comme des limites, les différences sociodémographiques entre les populations de consommateurs de cannabis et de sujets sains, comme le niveau d'éducation, l'usage d'alcool ou encore de tabac, montrent que notre

échantillon d'usagers de cannabis est représentatif de la population générale d'usagers de cannabis, comme cela est retrouvé dans la littérature. En effet, le niveau d'éducation est plus faible et les consommations d'alcool et de tabac sont plus élevées chez les consommateurs de cannabis qu'en population générale (293,294).

Pour différencier les effets liés au tabac de ceux liés au cannabis, les résultats obtenus chez les consommateurs de cannabis seront comparés à ceux d'un groupe de consommateurs de tabac. Pour l'alcool, il n'a pas été prévu de groupe de patients consommateurs d'alcool dans le protocole en raison de la présence de comorbidités nombreuses chez ces patients. Pour extraire les effets de chacune des substances, le groupe de consommateurs de cannabis sera divisé en deux groupes selon la médiane des consommations d'alcool et le groupe ayant des consommations faibles d'alcool sera comparé au groupe de sujets sains. La fonction rétinienne, mesurée avec des techniques électrophysiologiques, ne semblant pas être influencée par le niveau d'éducation, un effet potentiel de celui-ci sera uniquement exclu en le prenant en compte dans l'analyse statistique.

When cannabis strikes the retina: Ganglion cells dysfunctions in regular cannabis users

Thomas **Schwitzer**^{a,b,c*}, Raymund **Schwan**^{a,b,d*}, Eliane **Albuisson**^{e,f,g}, Anne **Giersch**^c, Isabelle **Ingster-Moati**^h, Laurence **Lalanne**^c, **CAUSA MAP study group**, Karine **Angioi-Duprez**ⁱ, Vincent **Laprevote**^{a,b,d}

^a Pôle Hospitalo-Universitaire de Psychiatrie du Grand Nancy, Centre Psychothérapique de Nancy, Laxou, France

^b EA7298, INGRES, Université de Lorraine, Vandœuvre-lès-Nancy, France

^c INSERM U1114, Fédération de Médecine Translationnelle de Strasbourg, Département de Psychiatrie, Centre Hospitalier Régional Universitaire de Strasbourg, Strasbourg, France

^d Maison des Addictions, CHRU Nancy, Nancy, France

^e Pôle S²R, PARC, ESPRI-BIOBASE, CHRU Nancy, Vandoeuvre lès Nancy, France

^f Université de Lorraine, Faculté de Médecine, SPI-EAO, Vandoeuvre lès Nancy, France

^g CNRS, Institut Elie Cartan de Lorraine, UMR 7502, Vandoeuvre-lès-Nancy, F-54506, France

^h Université Paris 7 Denis Diderot, UFR de Médecine, Paris, France

ⁱ Service d'Ophthalmologie, CHRU Nancy, Nancy, France

*contributed equally to this work.

CAUSA MAP study group:

Eliane Albuisson, CHRU Nancy, France,

Karine Angioi-Duprez, CHRU Nancy, France

Marc Borie, CHRU Nancy, France

Stéphanie Caharel, INTERPSY, Université Lorraine, France

Paolo Di Patrizio, Université Lorraine, France

Anne Giersch, INSERM U 1114, Strasbourg, France

Philip Gorwood, Centre de Psychiatrie et Neurosciences, Paris, France

Isabelle Ingster-Moati, Hôpital Necker, Paris, France

Coline Jeantet, INTERPSY, Université Lorraine, France

Julien Krieg, CRAN CNRS UMR 7039, Nancy, France

Laurence Lalanne, INSERM U 1114, Strasbourg France

Joëlle Llghezolo-Alnot, INTERPSY, Université Lorraine, France

Valérie Louis Dorr, CRAN CNRS UMR 7039, Nancy, France

Louis Maillard, CRAN CNRS UMR 7039, Nancy, France

Nicolas Ramoz, Centre de Psychiatrie et Neurosciences, Paris, France

Thomas Schwitzer, INGRES EA 7298, Université Lorraine, France

Corresponding author:

Vincent Laprevote

Centre Psychothérapique de Nancy

1, rue du Docteur Archambault

Laxou F-54 521, France

Tel +33383925050

Fax +33383925252

Mail: vincent.laprevote@cpn-laxou.com

Article Type: Original Investigation

Figures: 4

Table: 1

Word count: 2600

Contributors

All the authors contributed to write the manuscript, concurred with the submission and have approved the final manuscript.

Funding

This study was supported by a French National Research Agency Grant (ANR-12-SAMA-0016-01) and by the French Mission Interministérielle contre les Drogues et les Conduites Addictives (MILDECA).

Disclosures

All the authors declare that the research was conducted in the absence of any commercial or financial relationships that could be construed as a potential conflict of interest.

Abstract

Importance: Due to its embryonic origin, the retina is a part of the central nervous system and has therefore been suggested as a relevant site for investigating human central synaptic transmission in cerebral disorders. Because cannabis use is a major public health concern, and cannabis is known to act on several central neurotransmission signaling pathways, studying the retinal ganglion cells is of particular interest. And even more since these cells are endowed with a functional cannabinoid system and manipulation of this system results in modulation of synaptic transmission within the ganglion cells.

Objective: To determine whether the regular use of cannabis could alter the retinal ganglion cells function in human.

Design: Case-control study

Setting: To use the retinal function as a direct marker of brain neurotransmission abnormalities in complex mental phenomena.

Participants: 28 regular cannabis users and 24 healthy controls were recruited. The N95 of the pattern electroretinogram (PERG) was recorded from both eyes using the guidelines of the International Society for Clinical Electrophysiology of Vision (ISCEV).

Main outcomes and measures: Amplitude and implicit time of the N95 of the pattern electroretinogram (PERG).

Results: We found a significant increase in N95 implicit time of the pattern electroretinogram of ≈ 10 ms in 28 regular cannabis users (98.65 ms [91,89:100,46]) compared to 24 healthy controls (88.48 ms [84,61:91,14]) ($P=0.0001$: Mann-Whitney U test). A receiver operating characteristic (ROC) analysis revealed a specificity of 75.0% and sensitivity of 78.6% for correctly classifying both cannabis users and controls in their corresponding group (AUC = 0,84; [0,73;0,95]; $P=0.0001$).

Conclusions and relevance: Our results demonstrate a delay in transmission of action potentials by the ganglion cells in regular cannabis users and could support alterations in vision. We anticipate that our measures will provide the way forward for assessing other critical stages of visual processing. For example, the rod and cone system and visual cortical processing could be tested in regular cannabis users, including flash electroretinogram and event-related potentials during several visual tasks, respectively. Finally, our findings might be of critical importance from a public health perspective, since cannabis is frequently involved in driving accidents.

Introduction

The retina is an easy-to-access anatomical and developmental extension of the central nervous system (CNS) ¹, which several research teams have already suggested as being a crucial site for investigating human central synaptic transmission in complex mental phenomena ²⁻¹¹. Among these, the increasing use of cannabis represents an ever-growing public health challenge ¹², but little is known about the impact of cannabis use on human neural synaptic transmission. Retinal processing could constitute a breakthrough on this issue.

This study aimed to assess the stage of the retinal ganglion cells (RGC) because it is particularly relevant to study the impact of regular cannabis use on human neural synaptic transmission, for the following reasons. First, RGC are the last and most integrated stage of retinal processing and the first retinal stage providing visual information in the form of action potentials such as it is found in the brain ¹³. The endocannabinoid system is detected in RGC and involved in RGC synaptic transmission (for reviews see ^{3,5,14}). For example, in animals cannabinoid agonists reduce glutamate release in rodent RGC ^{15,16}. In human, glutamate is also a main transmitter involved in retinal physiology and in the vertical transmission of retinal information ^{17,18}. The action of cannabis on central glutamatergic transmission ¹⁹ may thus disturb RGC function in humans. To verify this hypothesis we used a standard electrophysiological measurement called the pattern electroretinogram (PERG) ²⁰, which involved averaging a high number of responses, thereby ensuring the reproducibility of the results ²¹. With the PERG, the best marker of RGC function is a negative wave, the N95 wave, two parameters of which are usually known as the amplitude and the implicit time, which denotes the time needed to reach the maximal amplitude of N95 ^{20,21}.

Described below are the results of the first study to assess the impact of regular cannabis use on human RGC function. Given the role of the cannabinoid system in regulating RGC synaptic transmission, we hypothesized that the RGC response can be affected by regular cannabis use.

Patients and Methods

Population and ethics statement. Regular cannabis users (n=28) and matched healthy drug-naive controls (n=24) were recruited among the general population via a special press campaign. Prior to taking part in the study, volunteers provided their detailed psychoactive drugs and medical history, underwent a full psychiatric evaluation, and signed consent forms detailing all aspects of the research. All of the participants received payment in the form of €100 in gift vouchers. The study protocol met the requirements of the Helsinki Declaration and was approved by the Ethics Committee of Nancy University Hospital. This study is part of a bigger project, Causa Map, which is researching the impact of regular cannabis use on the visual system. All participants also underwent neuropsychological assessments and EEG recordings during several visual tasks. Given the innovative nature of these measurements, the protocol provides an intermediate analysis, presented here, focused on retinal ganglion cell functioning.

Inclusion criteria, clinical and biological assessments. The inclusion criteria for the cannabis group were regular cannabis use at the rate of at least 7 cannabis consumptions per week over the past month, a positive urine toxicology screen for tetrahydrocannabinol (THC) metabolites, no other illicit substance use in the past month, a negative urine toxicology screen for other illicit substances, and no DSM-IV diagnosis of Axis I disorders. Since tobacco is regularly mixed with cannabis in joints, cannabis users may meet the criteria for tobacco dependence according to the Fagerström test. The cannabis users were required to present at least 12 hours of abstinence of cannabis use so that there were no acute cognitive dysfunctions due to cannabis use. The inclusion criteria for the healthy control subjects were no history of illicit substance use, a negative urine toxicology screen for THC metabolites and other illicit drugs tested, and no history of DSM-IV diagnosis of Axis I psychiatric disorders.

All participants were aged 18 to 35 years, had no history of neurological disease, no family history of schizophrenia or bipolar disorders, and were medication-free except for oral contraceptives in the case of women. They had no history of ophthalmological disease except for corrected refractive errors. All of them fared normally in an ophthalmic evaluation which included visual acuity and a fundoscopic examination. If participants reported an alcohol dependence according to their score in the Alcohol Use Disorders Identification Test (AUDIT) they were excluded from the study. The Mini-International Neuropsychiatric Interview (M.I.N.I.) was administered to assess current and past history of psychiatric diseases and substance use. In addition, the Cannabis Abuse Screening Test (CAST), Fagerström Test, and AUDIT were performed to assess use, abuse or dependence with respect to cannabis, tobacco and alcohol, respectively. The extent of cannabis use was clinically assessed in an interview and a questionnaire as follows: age when regular cannabis use began, total years of cannabis use, average number of joints smoked daily and weekly over the past month, average number of grams smoked weekly (Table 1). In order to obtain objective confirmation of cannabis consumption, urine drug screens (Nal von Minden, Moers, Germany) were performed for cannabis, buprenorphine, benzodiazepines, cocaine, opiates, amphetamines and methadone immediately before pattern electroretinogram (PERG) testing.

Pattern electroretinogram (PERG) measurements. PERG were compiled according to the International Society for Clinical Electrophysiology of Vision (ISCEV) standards for PERG²¹. The MonPackOne system (Metrovision, Perenchies, France) was used for stimulation, recording and analysis. Electrical signals were recorded simultaneously from both eyes (averaged for analysis), on non-dilated pupils, with DTL electrodes (Metrovision, Perenchies, France) placed at the bottom of the conjunctival sac. Ground and reference electrodes were attached to the forehead and external canthi. A black and white reversible checkerboard was

used, with 0.8° check size, 93.3% contrast level, 100 candela/m² constant luminance white area, and 4 reversals per second. The subject was positioned one meter from the screen. In the case of subjects with refractive disorders, an appropriate optic correction was provided. At least 220 responses were recorded for each participant, with constant ambient room-lighting to achieve the best signal-to-noise ratio. PERG data were analysed with Moniteur Ophthalmique (Metro Vision, Perenchies, France). PERG analysis was performed with the experimenter blind to the status of the subject being recorded (cannabis user or control). Two main components are usually described on a typical PERG trace: an electropositive component, P50, followed by an electronegative component, N95. N95 is attributed to the retinal ganglion cells and reflects their response²¹. Two main parameters are derived from N95, known by convention as the amplitude measured in microvolts (μV) and the implicit time measured in milliseconds (ms). N95 amplitude is measured from the trough of the N95 to the peak of the P50. Implicit time denotes the time taken to reach the maximum N95 amplitude.

Statistical Analysis. Depending on the non-parametric distribution of several variables included in the analyses, the Mann-Whitney U test, Chi square test, Spearman's rank correlation test were used when appropriate to compare the two groups cannabis users/controls or to test the association between variables. A logistic regression was performed to examine the association between the binary dependent variable cannabis users/controls and the independent variables which were significant between cannabis users/controls in univariate analysis and uncorrelated. For correlated variables, the most significant between cannabis users and controls was retained in the logistic regression. Regression lines were used to graphically analyze the interaction. A receiver operating characteristic (ROC) was applied to the N95 implicit time values to estimate the sensitivity

and specificity of cut-off values between regular cannabis users and controls. Since this study is a pilot study based on preliminary data, we chose to use a conservative level of significance in comparison with $\alpha < 2.5\%$. Statistical analyses were performed using IBM-SPSS Statistics 22.0 (IBM corp.).

Results

Demographic and substance use characteristics

The demographic and substance use characteristics of the participants are described in Table 1. There was no significant difference between controls and cannabis users for age ($P=0.132$) or gender ($P=0.813$) but a significant difference between them in terms of years of education ($P=0.016$, lower in cannabis users) and alcohol use (higher in cannabis users, $P=0.002$ for average number of alcohol uses/week and $P=0.0001$ for Alcohol Use Disorders Identification Test (AUDIT) score). Because tobacco is widely mixed with cannabis in joints, 21 of 28 cannabis users were also tobacco smokers, whereas all the controls were non-smokers. Importantly, cannabis users were not dependent on tobacco, apart from one who was only mildly dependent.

[INSERT TABLE 1]

PERG parameters

The median and interquartile range of the N95 implicit time was 98.65 ms [91,89:100,46] in cannabis users versus 88.48 ms [84,61:91,14] in controls. This difference was significant between groups ($P=0.0001$: Mann-Whitney U test) (Figure 1). The median and interquartile range of the N95 amplitude was - 3,90 μV [-4,71:-3,53] in cannabis users versus -3,78 μV [-4,56:-3,04] in controls. This difference was not significant ($P=0,368$: Mann-Whitney U test) (Figure 2).

[INSERT FIGURES 1, 2]

Due to the significant differences for years of education, AUDIT score, average number of alcohol uses/week and N95 implicit time, we conducted a logistic regression to test the association between them and cannabis users/controls as the binary outcome variable. Average alcohol use per week was removed due to the significant correlation (Spearman rank correlation $SCR = 0,736$; $P = 0,0001$) with AUDIT score, which is more significant. Results of the logistic regression (LR chi-square = 40.3 $P = 0.0001$; Hosmer Lemeshow chi-square = 6.21 $P = 0.624$; 86.5% of subjects correctly classified in their respective group: 89% of cannabis users and 83% of controls) showed that N95 implicit time and AUDIT score were still significant (Wald $P = 0.001$; Wald $P = 0.008$; respectively) but no more years of education (Wald $P = 0.104$)

N95 implicit time and AUDIT score are both significant for cannabis users/controls when all the previous variables are taken into account. The product AUDIT score \times N95 implicit time (interaction) was not added to the model because it is too strongly correlated with AUDIT score ($SCR = 0.994$; $P = 0.0001$). We thus investigated graphically the interaction with two regression lines of N95 implicit time on the AUDIT score for controls and for cannabis users (figure 3). The 95% confidence intervals of the two slopes, which are both negative, overlap and the lines don't cross among the ranges of the observed values (controls: $-0,299$; $[-1,111;0,516]$; cannabis users: $-0,517$; $[-1,111;0,078]$).

[INSERT FIGURE 3]

Correlations between N95 implicit time and years of education, AUDIT score, average alcohol use/week, were not significant ($n = 52$: $SCR = -0,149$; $P = 0,291$; $SCR = 0,093$; $P = 0,512$; $SCR = 0,125$; $P = 0,378$, respectively) as well as correlations between N95 implicit time and

number of cigarettes/day, number of packets of tobacco/year for cannabis users (n= 28: SRC= -0.191; $P=0.33$ and SRC= -0.165; $P= 0.40$, respectively).

Sensitivity and specificity

A receiver operating characteristic (ROC) was used to assess the best N95 implicit time cut-off value capable of discriminating between cannabis users and controls. Results indicate that the cut-off value giving the best balance between sensitivity and specificity for regular cannabis users and controls was 91.125 ms (AUC = 0,84; 95% CI [0,73;0,95]; $P=0.0001$). 18 out of 24 controls are below the cut-off, with an estimated specificity of 75.0%, whereas 22 out of 28 regular cannabis users are above the cut-off, with an estimated sensitivity of 78.6% (Figure 4).

[INSERT FIGURE 4]

Discussion

Our results indicate that regular cannabis users display an increase in PERG N95 implicit time without any modification in N95 amplitude. This finding supports a delay of approximately 10 ms in the transmission of action potentials evoked by the RGC. As this signal is transmitted along the visual pathway via the optic nerve and lateral geniculate nucleus to the visual cortex, this anomaly might account for altered vision in regular cannabis users.

Such alterations are found in other pathological conditions, such as various optic neuropathies, and can reveal axonal injuries or RGC apoptosis, which are commonly detected with electrophysiology such as PERG ²². The fact that an increase in N95 implicit time was found without any modification in N95 amplitude suggests that the total number of cells involved in the RGC response was unchanged but argues in favour of a loss of their functional properties ²³. Accordingly, in some cases, such as optic demyelinating neuropathies, modifications in the N95 wave, coupled or not with alterations in the P50 wave - the first positive PERG wave representing the macular function ²¹ - can discriminate the acute or chronic state of the disease and may be of prognostic value ²³. Consequently, the P50 should be the subject of future study.

We suggest these anomalies may be linked to dysfunctions in retinal glutamatergic transmission, given that the effects of cannabis on glutamatergic transmission have already been demonstrated in the CNS (for reviews see ^{5,19}). In addition, in the vertebrate retina glutamate is one of the main neurotransmitters involved in the vertical transmission of retinal information ^{17,18} and is released by the RGC ²⁴. We hypothesize that as a result of

exocannabinoids such as tetrahydrocannabinol (THC) acting on retinal endocannabinoids regular cannabis use may modulate the retinal level of glutamate, thus altering the retinal signal elicited by the RGC. However, the precise mechanisms underlying these PERG anomalies need to be investigated with a view to understanding the biological underpinning of retinal functional anomalies found in cannabis users.

Here, we assume that cannabis affected the RGC response because our results are still significant when alcohol use is integrated in statistical analysis. Although alcohol and cannabis have an opposite action on glutamatergic signaling pathways^{19,25}, it cannot be ruled out that an interaction between them had an effect on the RGC response. This possibility should be explored in further studies including, for example, a control group of alcohol users. Cannabis users of this study share the same pattern that those of other studies namely they are also alcohol users and have poorer educational level^{26,27}. Finally, it would be premature to interpret the sensitivity and specificity of the findings given that our study is a pilot study involving a small number of subjects.

To the best of our knowledge, this is the first study to show RGC dysfunctions in regular cannabis users. Such results are particularly relevant for exploring the cerebral impact of cannabis on synaptic transmission, since retinal processing is easily measurable and not impacted by high-level cognitive functions. Assessments of retinal function could therefore provide valid, reliable, and reproducible measurements which could reflect cannabis-related brain dysfunctions. Cannabis use is very widespread worldwide and consequently the subject of great interest in terms of public health prospects. Independently of debates about its legalization, it is absolutely necessary to gain more knowledge about the different effects of cannabis so that the public concerned can be informed. Our results might also provide

cannabis consumers with critical information about their daily activities. Future studies may shed light on the potential consequences of these retinal dysfunctions for visual cortical processing and whether these dysfunctions are permanent or disappear after cannabis withdrawal.

Acknowledgements

The authors thank the ophthalmology staff of Nancy University Hospital and MetroVision for their contribution to this work.

Authors TS and VL had full access to all of the data in the study and takes responsibility for the integrity of the data and the accuracy of the data analysis.

Contributors

All the authors contributed to write the manuscript, concurred with the submission and have approved the final manuscript.

Funding

This study was supported by a French National Research Agency Grant (ANR-12-SAMA-0016-01) and by the French Mission Interministérielle contre les Drogues et les Conduites Addictives (MILDECA).

Disclosures

All the authors declare that the research was conducted in the absence of any commercial or financial relationships that could be construed as a potential conflict of interest.

References

1. Hoon M, Okawa H, Della Santina L, Wong ROL. Functional architecture of the retina: Development and disease. *Prog Retin Eye Res.* 2014;42C:44-84. doi:10.1016/j.preteyeres.2014.06.003.
2. London A, Benhar I, Schwartz M. The retina as a window to the brain—from eye research to CNS disorders. *Nat Rev Neurol.* 2013;9(1):44-53. doi:10.1038/nrneurol.2012.227.
3. Schwitzer T, Schwan R, Angioi-Duprez K, Giersch A, Laprevote V. The Endocannabinoid System in the Retina: From Physiology to Practical and Therapeutic Applications. *Neural Plast.* 2016;2016:2916732. doi:10.1155/2016/2916732.
4. Schwitzer T, Lavoie J, Giersch A, Schwan R, Laprevote V. The emerging field of retinal electrophysiological measurements in psychiatric research: A review of the findings and the perspectives in major depressive disorder. *J Psychiatr Res.* 2015;70:113-120. doi:10.1016/j.jpsychires.2015.09.003.
5. Schwitzer T, Schwan R, Angioi-Duprez K, et al. The cannabinoid system and visual processing: a review on experimental findings and clinical presumptions. *Eur Neuropsychopharmacol J Eur Coll Neuropsychopharmacol.* 2015;25(1):100-112. doi:10.1016/j.euroneuro.2014.11.002.
6. Lavoie J, Maziade M, Hébert M. The brain through the retina: The flash electroretinogram as a tool to investigate psychiatric disorders. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry.* 2014;48:129-134. doi:10.1016/j.pnpbp.2013.09.020.
7. Lavoie J, Illiano P, Sotnikova TD, Gainetdinov RR, Beaulieu J-M, Hébert M. The electroretinogram as a biomarker of central dopamine and serotonin: potential relevance to psychiatric disorders. *Biol Psychiatry.* 2014;75(6):479-486. doi:10.1016/j.biopsych.2012.11.024.
8. Laprevote V, Schwitzer T, Giersch A, Schwan R. Flash electroretinogram and addictive disorders. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry.* 2015;56:264. doi:10.1016/j.pnpbp.2014.04.005.
9. Schwitzer T, Schwan R, Bernardin F, Jeantet C, Angioi-Duprez K, Laprevote V. Commentary: Anatomical constitution of sense organs as a marker of mental disorders. *Front Behav Neurosci.* 2016;10:56. doi:10.3389/fnbeh.2016.00056.
10. Garcia-Martin E, Rodriguez-Mena D, Satue M, et al. Electrophysiology and optical coherence tomography to evaluate Parkinson disease severity. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 2014;55(2):696-705. doi:10.1167/iovs.13-13062.
11. Silverstein SM, Rosen R. Schizophrenia and the eye. *Schizophr Res Cogn.* 2015;2(2):46-55. doi:10.1016/j.scog.2015.03.004.
12. Volkow ND, Baler RD, Compton WM, Weiss SRB. Adverse health effects of marijuana use. *N Engl J Med.* 2014;370(23):2219-2227. doi:10.1056/NEJMra1402309.

13. Famiglietti EV, Kolb H. Structural basis for ON-and OFF-center responses in retinal ganglion cells. *Science*. 1976;194(4261):193-195.
14. Yazulla S. Endocannabinoids in the retina: From marijuana to neuroprotection. *Prog Retin Eye Res*. 2008;27(5):501-526. doi:10.1016/j.preteyeres.2008.07.002.
15. Wang X-H, Wu Y, Yang X-F, et al. Cannabinoid CB1 receptor signaling dichotomously modulates inhibitory and excitatory synaptic transmission in rat inner retina. *Brain Struct Funct*. 2016;221(1):301-316. doi:10.1007/s00429-014-0908-4.
16. Middleton TP, Protti DA. Cannabinoids modulate spontaneous synaptic activity in retinal ganglion cells. *Vis Neurosci*. 2011;28(5):393-402. doi:10.1017/S0952523811000198.
17. Wu SM, Maple BR. Amino acid neurotransmitters in the retina: a functional overview. *Vision Res*. 1998;38(10):1371-1384.
18. de Souza CF, Acosta ML, Polkinghorne PJ, McGhee CNJ, Kalloniatis M. Amino acid immunoreactivity in normal human retina and after brachytherapy. *Clin Exp Optom J Aust Optom Assoc*. 2013;96(5):504-507. doi:10.1111/cxo.12011.
19. Bossong MG, Niesink RJM. Adolescent brain maturation, the endogenous cannabinoid system and the neurobiology of cannabis-induced schizophrenia. *Prog Neurobiol*. 2010;92(3):370-385. doi:10.1016/j.pneurobio.2010.06.010.
20. Bach M, Brigell MG, Hawlina M, et al. ISCEV standard for clinical pattern electroretinography (PERG): 2012 update. *Doc Ophthalmol Adv Ophthalmol*. 2013;126(1):1-7. doi:10.1007/s10633-012-9353-y.
21. Holder GE, Celesia GG, Miyake Y, Tobimatsu S, Weleber RG, International Federation of Clinical Neurophysiology. International Federation of Clinical Neurophysiology: recommendations for visual system testing. *Clin Neurophysiol Off J Int Fed Clin Neurophysiol*. 2010;121(9):1393-1409. doi:10.1016/j.clinph.2010.04.010.
22. You Y, Gupta VK, Li JC, Klistorner A, Graham SL. Optic neuropathies: characteristic features and mechanisms of retinal ganglion cell loss. *Rev Neurosci*. 2013;24(3):301-321. doi:10.1515/revneuro-2013-0003.
23. Holder GE, Gale RP, Acheson JF, Robson AG. Electrodiagnostic assessment in optic nerve disease. *Curr Opin Neurol*. 2009;22(1):3-10. doi:10.1097/WCO.0b013e328320264c.
24. Massey SC, Miller RF. N-methyl-D-aspartate receptors of ganglion cells in rabbit retina. *J Neurophysiol*. 1990;63(1):16-30.
25. Zorumski CF, Mennerick S, Izumi Y. Acute and chronic effects of ethanol on learning-related synaptic plasticity. *Alcohol Fayettev N*. 2014;48(1):1-17. doi:10.1016/j.alcohol.2013.09.045.
26. Meier MH, Caspi A, Ambler A, et al. Persistent cannabis users show neuropsychological decline from childhood to midlife. *Proc Natl Acad Sci*. 2012;109(40):E2657-E2664. doi:10.1073/pnas.1206820109.

27. Legleye S, Khlat M, Mayet A, et al. From cannabis initiation to daily use: educational inequalities in consumption behaviours over three generations in France. *Addict Abingdon Engl*. May 2016. doi:10.1111/add.13461.

Figures

Figure 1. Dot plot of pattern electroretinogram (PERG) N95 implicit time (ms) for cannabis users (n=28) and controls (n=24) with medians. Cannabis users showed increased implicit time and the difference between groups is highly significant ($P = 0.0001$: Mann-Whitney U test)

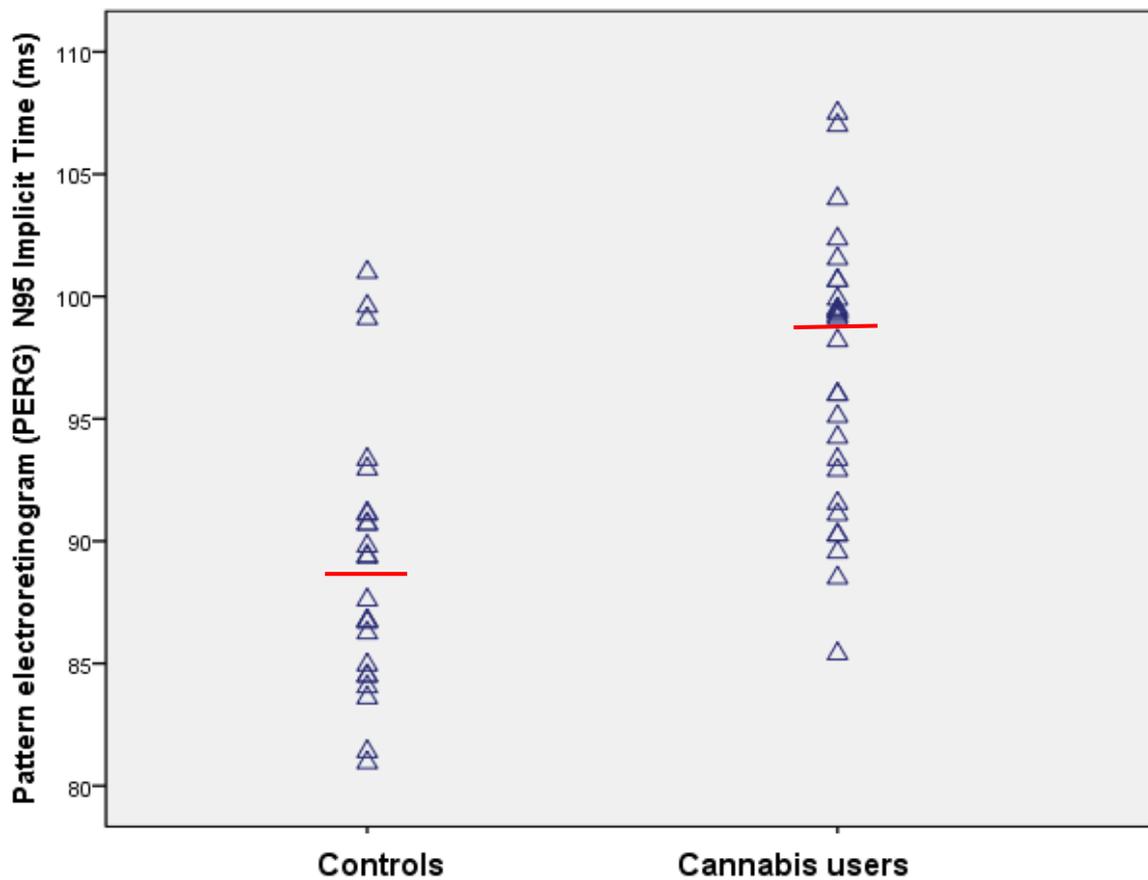


Figure 2. Dot plot of pattern electroretinogram (PERG) N95 amplitude (μV) for cannabis users ($n=28$) and controls ($n=24$) with medians. No significant difference in N95 amplitude was observed between groups ($P= 0,368$; Mann-Whitney U test)

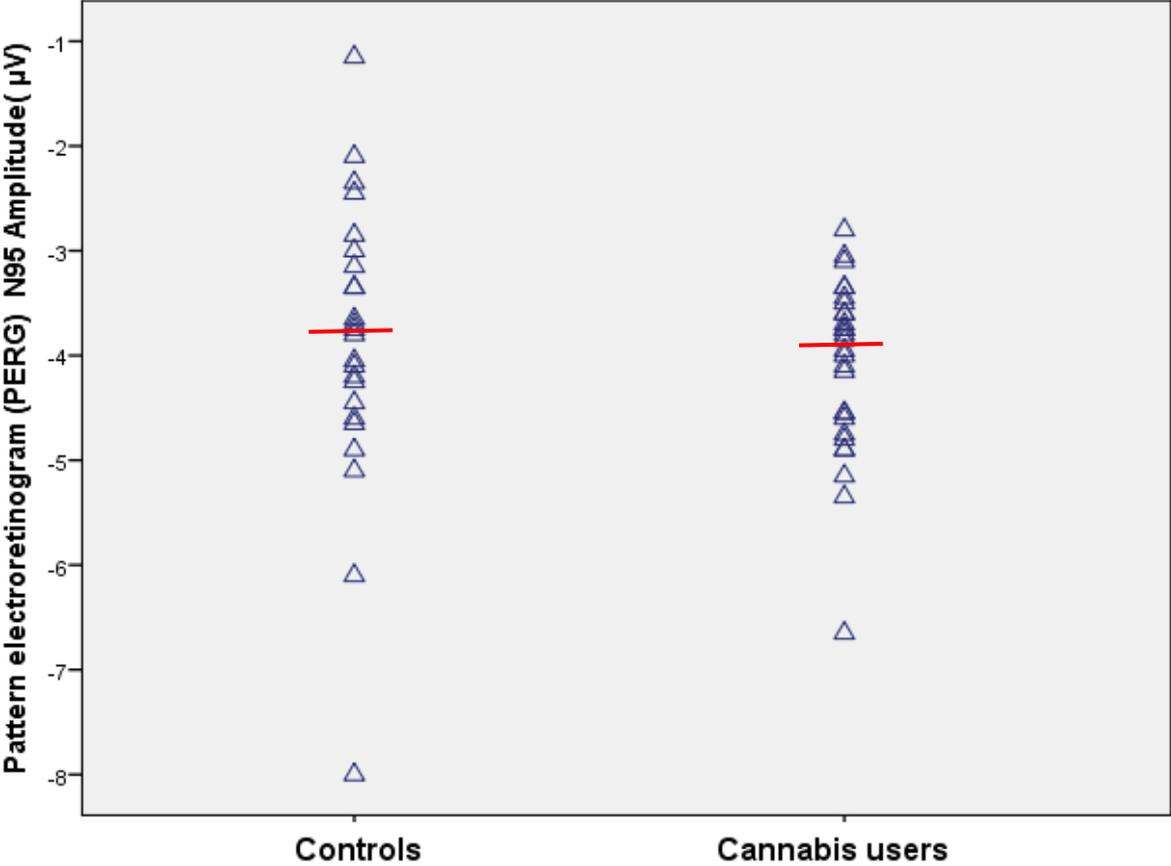


Figure 3. Graphical investigation of the interaction between the pattern electroretinogram (PERG) N95 implicit time and the AUDIT score. Linear regression lines of N95 implicit time (ms) on the AUDIT score for controls (n=28) and for cannabis users (n=24). The 95% confidence intervals of the two negative slopes overlap and the lines don't cross among the ranges of the observed values (controls: -0,299 ; [-1,111;0,516]; cannabis: -0,517; [-1,111;0,078]).

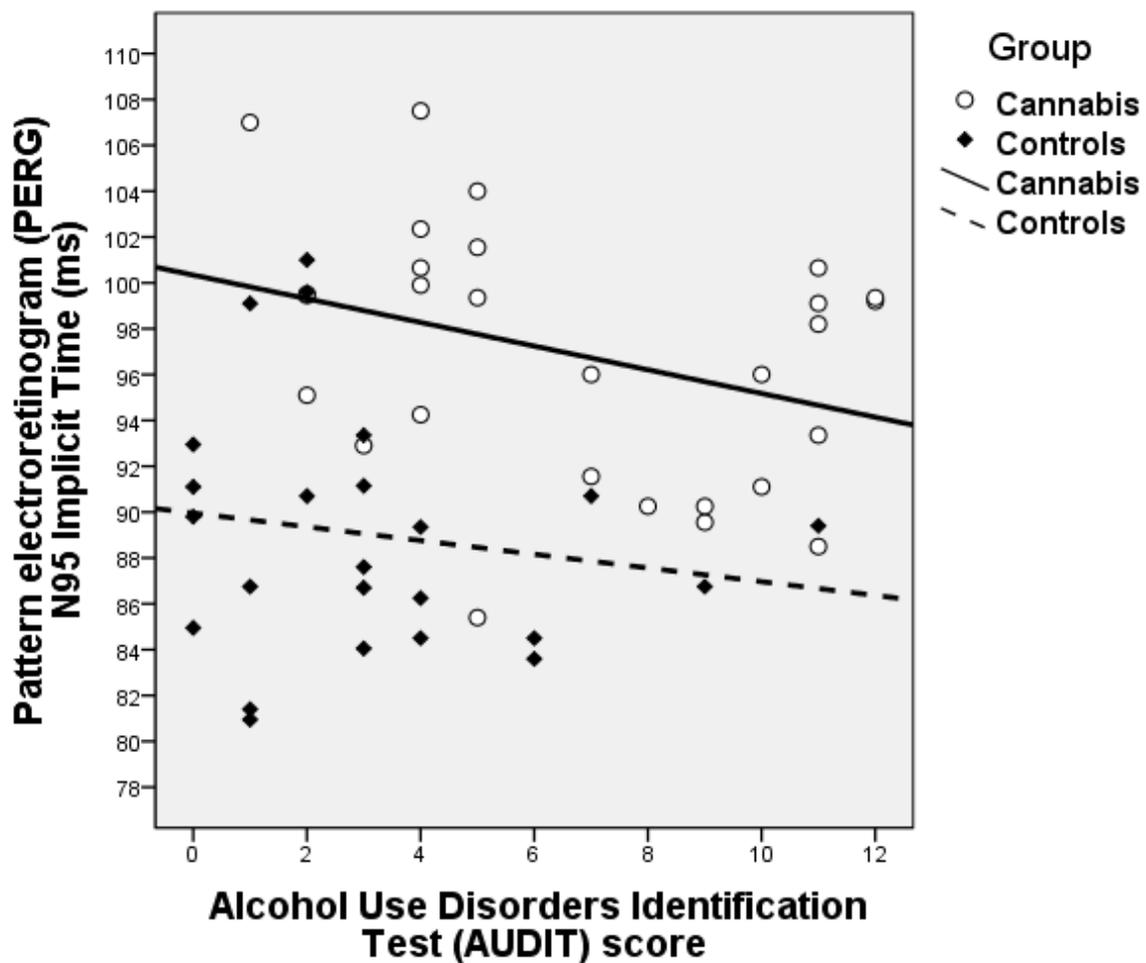


Figure 4. Receiver operating characteristic (ROC) curve related to N95 implicit time. AUC = 0,84; 95% CI [0,73;0,95]; $P=0.0001$) for the cut-off value of 91.125 ms (18 out of 24 controls are below the cut-off, with an estimated specificity of 75.0%, whereas 22 out of 28 regular cannabis users are above the cut-off, with an estimated sensitivity of 78.6%).

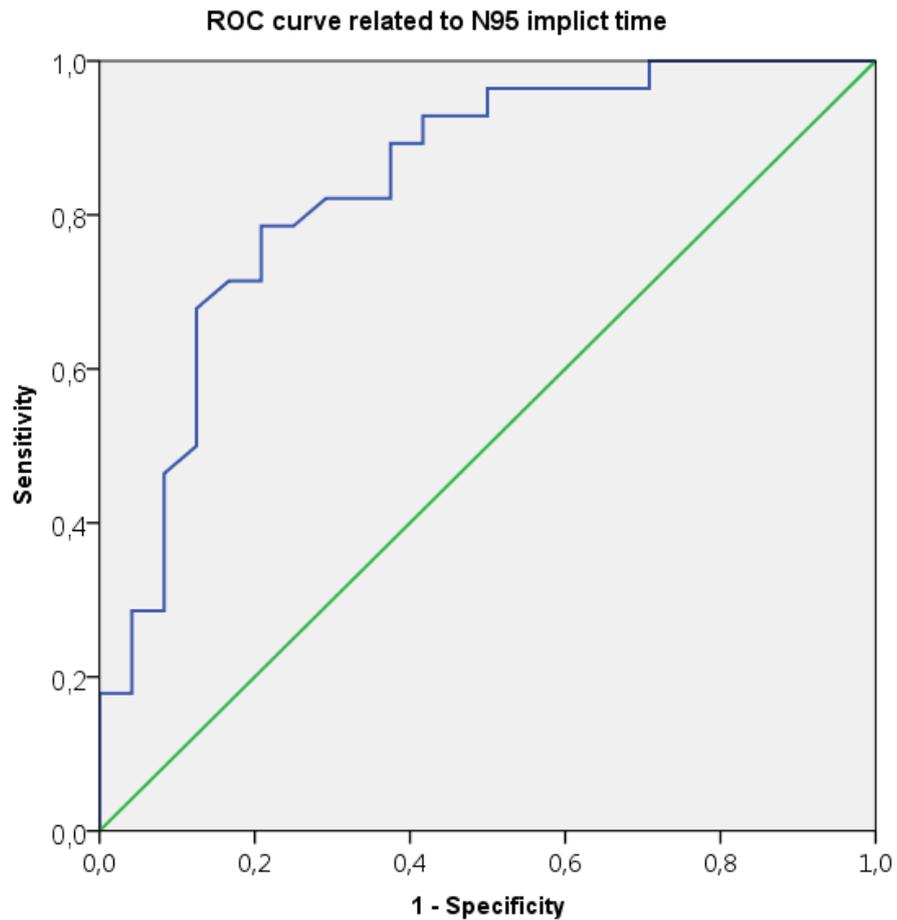


Table 1. Demographic and substance use characteristics of the participants.

| | Cannabis users (n= 28) | Controls (n=24) | P-value |
|---|-----------------------------------|----------------------------|-------------------|
| Gender (male/female) ^{a,d} | 24 / 4 | 20 / 4 | <i>P</i> =0,813 |
| Age (years) ^{b,c} | 22 (20 - 27) | 24 (22 - 27) | <i>P</i> =0,132 |
| Education (years) ^{b,c} | 13,5 (12 - 15) | 15 (14 - 16) | <i>P</i> = 0,016 |
| Average number of alcohol uses/week ^{b,c} | 4 (1 - 9) | 1 (0 - 3) | <i>P</i> = 0,002 |
| Alcohol Use Disorders Identification Test (AUDIT) scores ^{b,c} | 6 (4 - 11) | 3 (1 - 4) | <i>P</i> = 0,0001 |
| Fagerström Test scores ^b (n=26) | 1 (0 - 2) | - | - |
| Average number of cigarettes/day ^b | 3,5 (0 - 8) | - | - |
| Age of firts cannabis use ^b | 16 (15 - 17) | - | - |
| Total years of cannabis use ^b | 6 (5 - 11) | - | - |
| Average number of joints/week ^b | 20 (11 - 24) | - | - |
| Cannabis Abuse Screening Test (CAST) scores ^b | 4 (3 - 5) | - | - |
| Average number of grams of cannabis/week ^b | 5 (2 - 8) | - | - |
| <i>Categorical variable represented as frequencies</i> ^a | | | |
| <i>Quantitative variable represented as median and interquartile range</i> ^b | | | |
| <i>Mann-Whitney U test</i> ^c | | | |
| <i>Chi-Square test</i> ^d | | | |

Autres anomalies de la fonction rétinienne chez les usagers réguliers de cannabis

INTRODUCTION

Nous avons précédemment montré, dans une étude présentant des résultats préliminaires, que les consommateurs réguliers de cannabis présentaient une augmentation significative de la latence de l'onde N95 de l'ERG pattern par rapport aux sujets sains, traduisant un retard dans la transmission des potentiels d'action par ces cellules aux stades plus intégrés du traitement de l'information visuelle. Nous avons, dans un premier temps, voulu confirmer ces résultats sur un échantillon plus grand de patients et de témoins. De plus, il était encore inconnu au stade des résultats préliminaires si le retard de latence était également retrouvé aux stades rétiniens antérieurs du traitement de l'information visuelle, c'est-à-dire au niveau des photorécepteurs et des cellules bipolaires, et quelle était la participation respective des deux voies ON et OFF dans ces atteintes ; ce que nous avons évalué dans ces analyses complémentaires. Par ailleurs, la principale limite présente dans cette étude préliminaire était la persistance d'une différence significative entre les consommateurs de cannabis et les sujets sains concernant la consommation d'alcool. Etant donnée la taille des échantillons, nous n'avons pas pu faire des analyses en sous-groupes en séparant le groupe de consommateurs de cannabis en deux groupes de tailles égales en fonction des consommations d'alcool, et ainsi exclure un potentiel effet de l'alcool. Ces analyses en sous-groupes sont également présentées ici.

ELECTRORETINOGRAMME PATTERN

Analyse Globale

Objectif : Confirmer la présence du retard de latence détecté au niveau des cellules ganglionnaires chez les consommateurs réguliers de cannabis sur un échantillon plus grand en comparaison à une population de sujets sains.

Hypothèses : En considérant la distribution des endocannabinoïdes dans ces cellules et leur rôle dans la régulation des canaux ioniques et de la libération synaptique de neurotransmetteurs, nous faisons l'hypothèse que le retard de latence sera retrouvé au niveau des cellules ganglionnaires.

Matériel et méthode : Pour ces analyses, l'échantillon est composé de 55 consommateurs de cannabis et 29 sujets sains recrutés selon le même protocole que celui décrit précédemment (*Article 7, Annexe 2*). Les mesures d'ERG pattern ont été répliquées selon la même méthodologie que décrite dans l'article avec la mesure de l'amplitude et de la latence de l'onde N95.

Analyse statistique : L'analyse statistique a été réalisée avec le logiciel IBM-SPSS Statistics 22.0 (IBM corp.). Compte tenu de la distribution non-normale de certaines variables incluses dans l'analyse, le test U de Mann-Whitney et le test de distribution du Chi² ont été utilisés pour comparer les données sociodémographiques, la latence et l'amplitude de la réponse rétinienne entre les patients et les témoins. Le niveau de significativité a été fixé à $\alpha < 5\%$.

Résultats : Les données sociodémographiques sont présentées dans la *table 1*. Il n'y avait pas de différence significative entre les sujets sains et les consommateurs de cannabis pour l'âge ($P=0,715$) et le sexe ($P=0,429$) mais il existait une différence significative pour les années d'éducation ($P=0,0001$; plus faibles chez les usagers de cannabis) et pour l'utilisation d'alcool (plus élevée chez les consommateurs de cannabis, $P=0,001$ pour le nombre de consommations d'alcool par semaine et $P=0,0001$ pour le score d'AUDIT).

| | Consommateurs de cannabis (n= 55) | Contrôles (n=29) | Valeur de P |
|---|---|---------------------|---------------|
| Sexe (homme/femme) ^b | 44 / 11 | 21 / 8 | $P=0,429$ |
| Age (années) ^a | 23 (21 - 30) | 24 (23 - 27) | $P=0,715$ |
| Education (années) ^a | 13,0 (12 - 14) | 15 (14 - 16) | $P=0,0001$ |
| Moyenne du nombre de consommations d'alcool/semaine ^a | 4 (1 - 8) | 1 (0 - 3) | $P= 0,001$ |
| Score du test d'AUDIT (Alcohol Use Disorders Identification Test) ^a | 6 (3 - 10) | 3 (1 - 4) | $P=0,0001$ |
| Score du test de Fagerström (n=48) | 2 (0 - 2) | - | - |
| Moyenne du nombre de cigarettes/jour | 6 (3-10) | - | - |
| Age de la première utilisation de cannabis | 16 (15 - 17) | - | - |
| Moyenne du nombre de joints/semaine | 20 (14 - 30) | - | - |
| Score au CAST (Cannabis Abuse Screening Test) | 4 (3 - 5) | - | - |
| Moyenne du nombre de grammes de cannabis/semaine | 5 (3-10) | - | - |

^a Test U de Mann-Whitney

^b Test du Chi 2

Les variables catégorielles sont représentées par des fréquences
Les variables quantitatives sont représentées par des médianes et des
rangs interquartiles

Table 1: Caractéristiques démographiques et de consommations de substance des participants (fréquence ou médiane et rang interquartile) en utilisant le test du Chi² ou le test U de Mann-Whitney entre les deux groupes.

La médiane et le rang interquartile de la latence de l'onde N95 étaient de 95,55 ms [92,10:99,50] chez les consommateurs de cannabis versus 88,95 ms [84,50:91,10] chez les contrôles. Cette différence était significative entre les groupes ($P=0,0001$: Mann-Whitney U test) (figure 21). La médiane et le rang interquartile de l'amplitude de l'onde N95 étaient de $-3,75\mu\text{V}$ $[-4,60:-3,35]$ chez les consommateurs de cannabis versus $-3,75\mu\text{V}$ $[-4,60:-3,15]$ chez les contrôles. Cette différence n'était pas significative entre les groupes ($P=0,915$: Mann-Whitney U test).

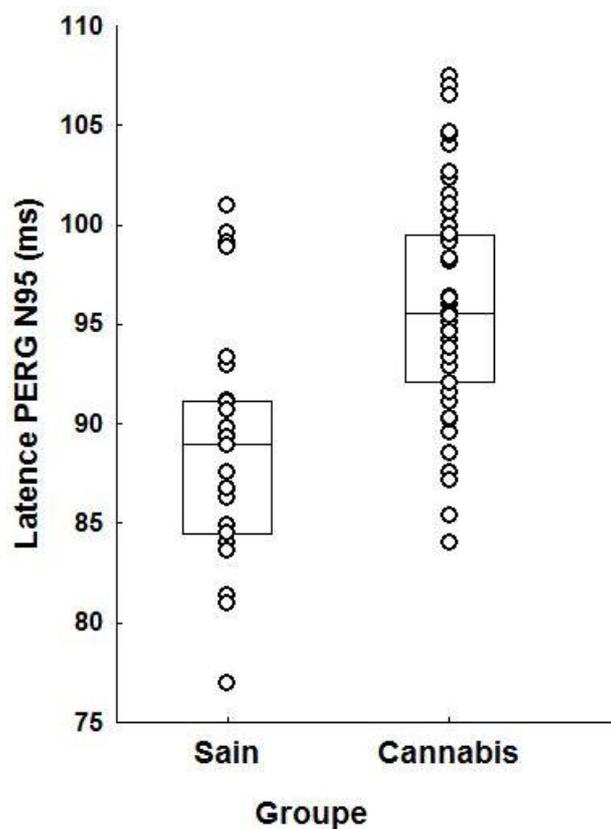


Figure 21: Diagramme en boîtes de la latence de l'onde N95 de l'ERG pattern (ms) pour les consommateurs de cannabis (n=55) et les sujets sains (n=29). Les boîtes représentent les rangs interquartiles (25% et 75%) et les barres horizontales représentent les médianes. Les consommateurs de cannabis ont une latence de l'onde N95 augmentée par rapport aux contrôles et cette différence entre les groupes est significative ($P=0,0001$: Mann-Whitney U test).

Analyses en sous-groupes

Objectif : Réaliser des analyses en sous-groupes de patients consommateurs de cannabis en comparaison au groupe de sujets sains, afin d'éliminer un éventuel effet de l'alcool sur les précédents résultats. Pour cela, le groupe de consommateurs de cannabis a été divisé en deux sous-groupes selon la médiane de la moyenne des consommations d'alcool par semaine (=4 consommations/semaine) et le groupe de consommateurs de cannabis présentant des consommations strictement inférieures à 4 consommations d'alcool par semaine (N=27) a été comparé au groupe contrôle (N=29).

Analyse statistique : L'analyse statistique a été réalisée avec le logiciel IBM-SPSS Statistics 22.0 (IBM corp.). Les analyses ont été effectuées sur les paramètres des réponses rétinienne statistiquement différents entre les groupes «cannabis» et «sains». Compte tenu de la distribution non-normale de certaines variables incluses dans l'analyse, le test U de Mann-Whitney et le test de distribution du Chi² ont été utilisés pour comparer les données sociodémographiques, la latence et l'amplitude de la réponse rétinienne entre les patients et les témoins. Le niveau de significativité a été fixé à $\alpha < 5\%$.

Résultats : Les données sociodémographiques sont présentées dans la *table 2*. Il n'y avait pas de différence significative entre les sujets sains et les consommateurs de cannabis pour l'âge ($P=0,883$), le sexe ($P=0,640$) et l'utilisation d'alcool ($P=0,987$ pour le nombre de consommations d'alcool par semaine et $P=0,319$ pour le score d'AUDIT) mais il persistait une différence significative pour les années d'éducation ($P=0,0001$; plus faibles chez les usagers de cannabis).

| | Consommateurs de cannabis (n= 27) | Contrôles (n=29) | Valeur de P |
|--|---|---------------------|-------------------|
| Sexe (homme/femme) ^b | 18 / 9 | 21 / 8 | <i>P=0,640</i> |
| Age (années) ^a | 25 (21 - 30) | 24 (23 - 27) | <i>P=0,883</i> |
| Education (années) ^a | 13,0 (11 - 14) | 15 (14 - 16) | <i>P = 0,0001</i> |
| Moyenne du nombre de consommations d'alcool/semaine ^a | 1 (0 - 2) | 1 (0 - 3) | <i>P= 0,987</i> |
| Score du test d'AUDIT (Alcohol Use Disorders Identification Test) ^a | 3 (2 - 5) | 3 (1 - 4) | <i>P=0,319</i> |
| Score du test de Fagerström (n=24) | 2 (0,5 - 4) | - | - |
| Moyenne du nombre de cigarettes/jour | 6 (3-10) | - | - |
| Age de la première utilisation de cannabis | 16 (14 - 17) | - | - |
| Moyenne du nombre de joints/semaine | 20 (14 - 40) | - | - |
| Score au CAST (Cannabis Abuse Screening Test) | 4 (3 - 5) | - | - |
| Moyenne du nombre de grammes de cannabis/semaine | 3 (2-10) | - | - |

^a Test U de Mann-Whitney

^b Test du Chi 2

Les variables catégorielles sont représentées par des fréquences

Les variables quantitatives sont représentées par des médianes et des rangs interquartiles

Table 2: Caractéristiques démographiques et de consommations de substance des participants (fréquence ou médiane et rang interquartile) en utilisant le test du Chi² ou le test U de Mann-Whitney entre les deux groupes.

La médiane et le rang interquartile de la latence de l'onde N95 étaient de 95,32 ms [93,80:99,50] chez les consommateurs de cannabis versus 88,95 ms [84,50:91,10] chez les contrôles. Cette différence était significative entre les groupes (*P=0,0001*: Mann-Whitney U test) (*Figure 22*).

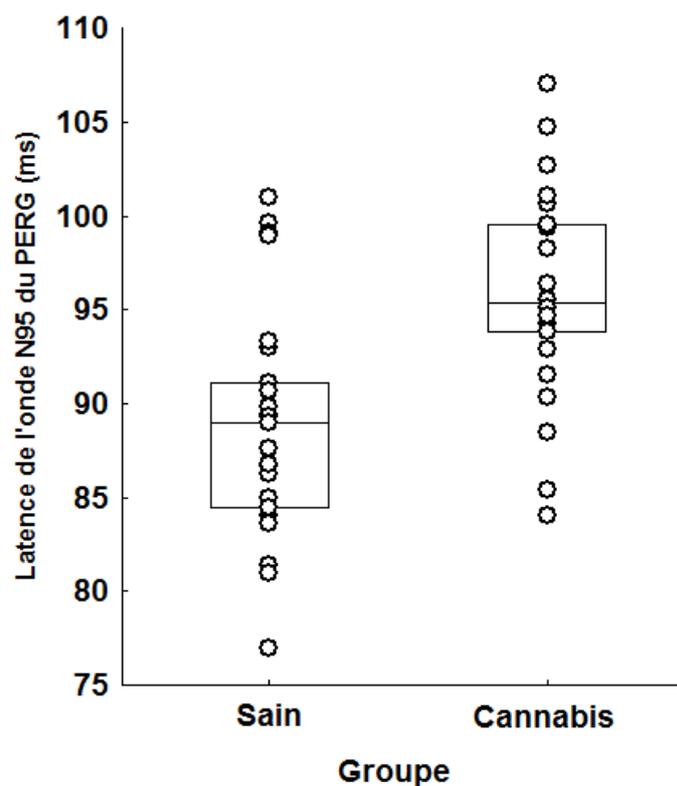


Figure 22: Diagramme en boîtes de la latence de l'onde N95 de l'ERG pattern (ms) pour les consommateurs de cannabis (n=27) et les sujets sains (n=29). Les boîtes représentent les rangs interquartiles (25% et 75%) et les barres horizontales représentent les médianes. Les consommateurs de cannabis ont une latence de l'onde N95 augmentée par rapport aux contrôles et cette différence entre les groupes est significative ($P=0,0001$: Mann-Whitney U test).

ELECTRORETINOGRAMME FLASH

Analyse Globale

Objectif : Vérifier si le retard de latence perçu au niveau des cellules ganglionnaires est également retrouvé au niveau des deux stades antérieurs du traitement de l'information rétinienne : photorécepteurs et cellules bipolaires.

Hypothèses : En considérant la distribution des endocannabinoïdes dans ces cellules et leur rôle dans la régulation des canaux ioniques et de la libération synaptique de neurotransmetteurs, nous faisons l'hypothèse que le retard de latence pourrait être perçu au niveau des photorécepteurs et des cellules bipolaires.

Matériel et méthode : Pour ces analyses, l'échantillon est composé de 55 consommateurs de cannabis et 29 sujets sains recrutés selon le même protocole que celui décrit précédemment (*Article 7, Annexe 2*). Afin d'étudier le fonctionnement des cellules photoréceptrices –les cônes et les bâtonnets-, des mesures d'ERG flash ont été réalisées selon les recommandations de l'ISCEV en condition scotopique et photopique et selon le protocole expérimental exposé dans la partie 3.3.2 (et dans l'*Annexe 2*). Le fonctionnement du système des bâtonnets a été évalué avec les séries scotopiques 0.01 ERG et 3.0 ERG et le système des cônes avec les séries scotopique 3.0 ERG, photopique 3.0 ERG et flicker photopique 3.0 ERG (la réponse rétinienne obtenue avec la série scotopique 3.0 ERG résultant de l'activation du système des cônes et des bâtonnets). La latence et l'amplitude des ondes a et b ont été mesurées pour chacune de ces séries hormis pour la série scotopique 0.01 où il n'existe pas d'onde a matérialisée et pour la série flicker photopique 3.0 où seule l'onde b est mesurée car elle représente la première périodique (sinusoïde) (partie 3.3.2).

Analyse statistique : L'analyse statistique a été réalisée avec le logiciel IBM-SPSS Statistics 22.0 (IBM corp.). Compte tenu de la distribution non-normale de certaines variables incluses dans l'analyse, le test U de Mann-Whitney et le test de distribution du Chi² ont été utilisés pour comparer les données sociodémographiques, les latences et les amplitudes de chaque réponse rétinienne entre les patients et les témoins. Le niveau de significativité a été fixé à $\alpha < 5\%$.

Résultats : Les données sociodémographiques sont présentées dans la *table 3*. Il n'y avait pas de différence significative entre les sujets sains et les consommateurs de cannabis pour l'âge ($P=0,715$) et le sexe ($P=0,429$) mais il existait une différence significative pour les années d'éducation ($P=0,0001$; plus faibles chez les usagers de cannabis) et pour l'utilisation d'alcool (plus élevée chez les consommateurs de cannabis, $P=0,001$ pour le nombre de consommations d'alcool par semaine et $P=0,0001$ pour le score d'AUDIT).

| | Consommateurs de cannabis (n= 55) | Contrôles (n=29) | Valeur de <i>P</i> |
|--|---|---------------------|--------------------|
| Sexe (homme/femme) ^b | 44 / 11 | 21 / 8 | <i>P</i> =0,429 |
| Age (années) ^a | 23 (21 - 30) | 24 (23 - 27) | <i>P</i> =0,715 |
| Education (années) ^a | 13,0 (12 - 14) | 15 (14 - 16) | <i>P</i> = 0,0001 |
| Moyenne du nombre de consommations d'alcool/semaine ^a | 4 (1 - 8) | 1 (0 - 3) | <i>P</i> = 0,001 |
| Score du test d'AUDIT (Alcohol Use Disorders Identification Test) ^a | 6 (3 - 10) | 3 (1 - 4) | <i>P</i> = 0,0001 |
| Score du test de Fagerström (n=48) | 2 (0 - 2) | - | - |
| Moyenne du nombre de cigarettes/jour | 6 (3-10) | - | - |
| Age de la première utilisation de cannabis | 16 (15 - 17) | - | - |
| Moyenne du nombre de joints/semaine | 20 (14 - 30) | - | - |
| Score au CAST (Cannabis Abuse Screening Test) | 4 (3 - 5) | - | - |
| Moyenne du nombre de grammes de cannabis/semaine | 5 (3-10) | - | - |

^a Test U de Mann-Whitney

^b Test du Chi 2

Les variables catégorielles sont représentées par des fréquences
Les variables quantitatives sont représentées par des médianes et des
rangs interquartiles

Table 3: Caractéristiques démographiques et de consommations de substance des participants (fréquence ou médiane et rang interquartile) en utilisant le test du Chi² ou le test U de Mann-Whitney entre les deux groupes.

La médiane et le rang interquartile de la latence de l'onde b de la série scotopique 0.01 étaient de 82,65 ms [79,15:85,80] chez les consommateurs de cannabis versus 80,90 ms [77,80:84,45] chez les contrôles. Cette différence n'était pas significative entre les groupes (*P*=0,181: Mann-Whitney U test). La médiane et le rang interquartile de l'amplitude de l'onde b de la série scotopique 0.01 étaient de 127,50µV [115,50:146,00] chez les consommateurs de cannabis versus 133,00 µV [121,00:158,50] chez les contrôles. Cette différence n'était pas significative entre les groupes (*P*=0,250: Mann-Whitney U test).

La médiane et le rang interquartile de la latence de l'onde a de la série scotopique 3.0 étaient de 24,35 ms [23,90:24,80] chez les consommateurs de cannabis versus 23,90 ms [23,45:24,35] chez les contrôles. Cette différence n'était pas significative entre les groupes ($P=0,054$: Mann-Whitney U test). La médiane et le rang interquartile de l'amplitude de l'onde a de la série scotopique 3.0 étaient de $-100,10 \mu\text{V}$ $[-117,50:-90,30]$ chez les consommateurs de cannabis versus $-107,00 \mu\text{V}$ $[-111,50:-92,70]$ chez les contrôles. Cette différence n'était pas significative entre les groupes ($P=0,437$: Mann-Whitney U test).

La médiane et le rang interquartile de la latence de l'onde b de la série scotopique 3.0 étaient de 46,45 ms [45,60:48,70] chez les consommateurs de cannabis versus 46,90 ms [45,60:48,25] chez les contrôles. Cette différence n'était pas significative entre les groupes ($P=0,873$: Mann-Whitney U test). La médiane et le rang interquartile de l'amplitude de l'onde b de la série scotopique 3.0 étaient de $151,50 \mu\text{V}$ [138,50:181,00] chez les consommateurs de cannabis versus $167,00 \mu\text{V}$ [155,50:198,50] chez les contrôles. Cette différence n'était pas significative entre les groupes ($P=0,121$: Mann-Whitney U test).

La médiane et le rang interquartile de la latence de l'onde a de la série photopique 3.0 étaient de 19,05 ms [18,60:19,05] chez les consommateurs de cannabis versus 18,60 ms [18,15:19,05] chez les contrôles. Cette différence était significative entre les groupes ($P=0,029$: Mann-Whitney U test) (*figure 23*). La médiane et le rang interquartile de l'amplitude de l'onde a de la série photopique 3.0 étaient de $-10,30 \mu\text{V}$ $[-11,75:-8,90]$ chez les consommateurs de cannabis versus $-10,80 \mu\text{V}$ $[-12,60:-9,35]$ chez les contrôles. Cette différence n'était pas significative entre les groupes ($P=0,264$: Mann-Whitney U test).

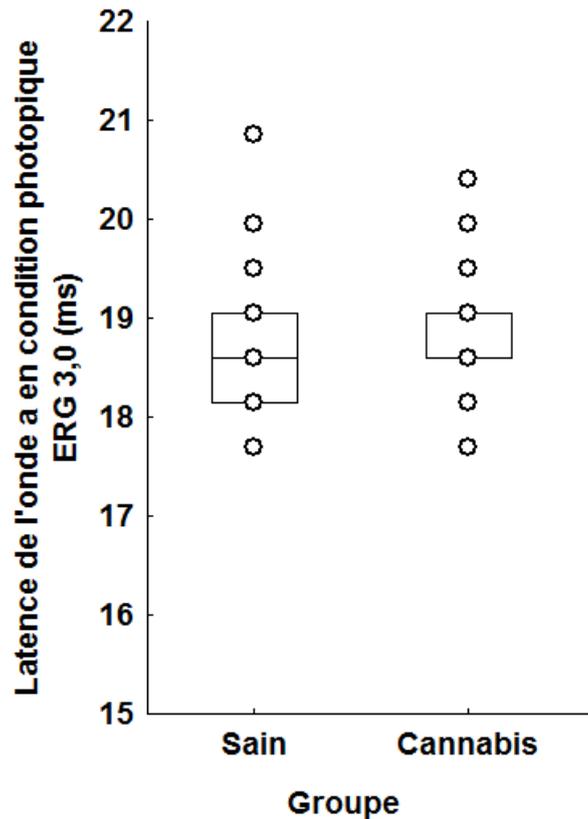


Figure 23 : Diagramme en boîtes de la latence de l'onde a de la série photopique ERG 3.0 de l'ERG flash (ms) pour les consommateurs de cannabis (n=55) et les sujets sains (n=29). Les boîtes représentent les rangs interquartiles (25% et 75%) et les barres horizontales représentent les médianes. Les consommateurs de cannabis ont une latence de l'onde a augmentée par rapport aux contrôles et cette différence entre les groupes est significative ($P=0,029$: Mann-Whitney U test).

La médiane et le rang interquartile de la latence de l'onde b de la série photopique 3.0 étaient de 36,30 ms [35,85:37,20] chez les consommateurs de cannabis versus 35,85 ms [35,40:36,30] chez les contrôles. Cette différence était significative entre les groupes ($P=0,002$: Mann-Whitney U test) (*figure 24*). La médiane et le rang interquartile de l'amplitude de l'onde b de la série photopique 3.0 étaient de 45,05 μ V [40,65:51,35] chez les consommateurs de cannabis versus 48,00 μ V [39,62:51,90] chez les contrôles. Cette différence n'était pas significative entre les groupes ($P=0,807$: Mann-Whitney U test).

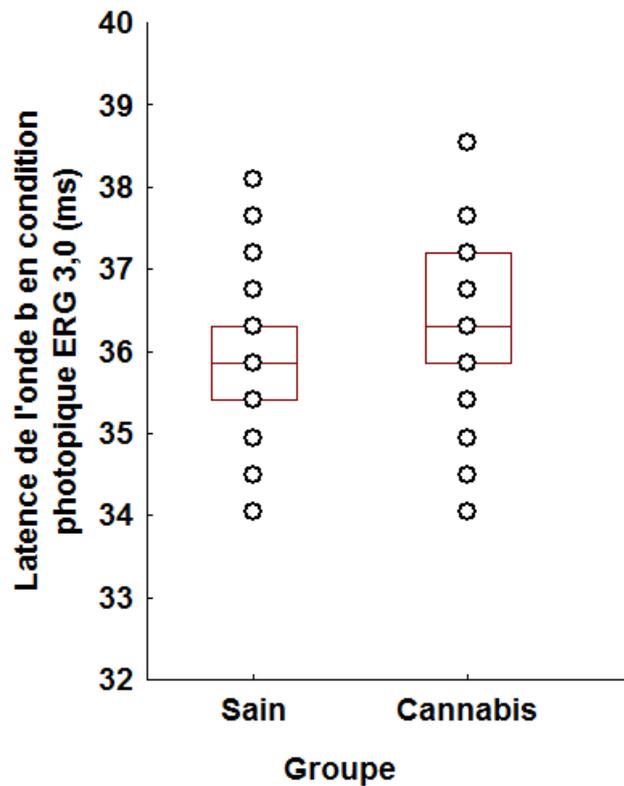


Figure 24: Diagramme en boîtes de la latence de l'onde b de la série photopique ERG 3.0 de l'ERG flash (ms) pour les consommateurs de cannabis (n=55) et les sujets sains (n=29). Les boîtes représentent les rangs interquartiles (25% et 75%) et les barres horizontales représentent les médianes. Les consommateurs de cannabis ont une latence de l'onde b augmentée par rapport aux contrôles et cette différence entre les groupes est significative ($P=0,002$: Mann-Whitney U test).

La médiane et le rang interquartile de la latence de l'onde b de la série flicker photopique 3.0 étaient de 30,10 ms [29,20:31,00] chez les consommateurs de cannabis versus 29,20 ms [28,30:30,10] chez les contrôles. Cette différence était significative entre les groupes ($P=0,005$: Mann-Whitney U test) (figure 25). La médiane et le rang interquartile de l'amplitude de l'onde b de la série flicker photopique 3.0 étaient de 53,25 μV [46,55:69,85] chez les consommateurs de cannabis versus 52,95 μV [46,85:65,40] chez les contrôles. Cette différence n'était pas significative entre les groupes ($P=0,631$: Mann-Whitney U test).

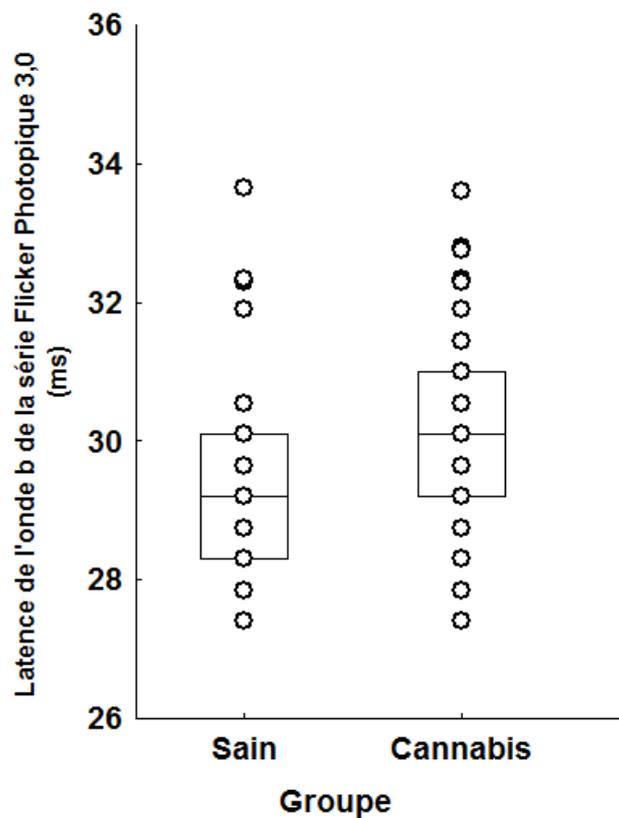


Figure 25: Diagramme en boîtes de la latence de l'onde b de la série flicker photopique 3.0 de l'ERG flash (ms) pour les consommateurs de cannabis (n=55) et les sujets sains (n=29). Les boîtes représentent les rangs interquartiles (25% et 75%) et les barres horizontales représentent les médianes. Les consommateurs de cannabis ont une latence de l'onde b augmentée par rapport aux contrôles et cette différence entre les groupes est significative ($P=0,005$: Mann-Whitney U test).

Analyses en sous-groupes

Objectif : Réaliser des analyses en sous-groupes de patients consommateurs de cannabis en comparaison au groupe de sujets sains, afin d'éliminer un éventuel effet de l'alcool sur les résultats significatifs obtenus avec l'ERG flash. Pour cela, le groupe de consommateurs de cannabis a été divisé en deux sous-groupes selon la médiane de la moyenne des consommations d'alcool par semaine (=4 consommations/semaine) et le groupe de consommateurs de cannabis présentant des consommations strictement inférieures à 4 consommations d'alcool par semaine (N=27) a été comparé au groupe contrôle (N=29).

Analyse statistique : L'analyse statistique a été réalisée avec le logiciel IBM-SPSS Statistics 22.0 (IBM corp.). Les analyses ont été effectuées sur les paramètres des réponses rétinienne statistiquement différents entre les groupes «cannabis» et «sains». Compte tenu de la distribution non-normale de certaines variables incluses dans l'analyse, le test U de Mann-Whitney et le test de distribution du Chi² ont été utilisés pour comparer les données sociodémographiques, les latences et les amplitudes de chaque réponse rétinienne entre les patients et les témoins. Le niveau de significativité a été fixé à $\alpha < 5\%$.

Résultats : Les données sociodémographiques sont présentées dans la *table 4*. Il n'y avait pas de différence significative entre les sujets sains et les consommateurs de cannabis pour l'âge ($P=0,883$), le sexe ($P= 0,640$) et l'utilisation d'alcool ($P=0,987$ pour le nombre de consommations d'alcool par semaine et $P=0,319$ pour le score d'AUDIT) mais il persistait une différence significative pour les années d'éducation ($P=0,0001$; plus faibles chez les usagers de cannabis).

| | Consommateurs de cannabis (n= 27) | Contrôles (n=29) | Valeur de P |
|---|--|-----------------------------|------------------------|
| Sexe (homme/femme) ^b | 18 / 9 | 21 / 8 | <i>P=0,640</i> |
| Age (années) ^a | 25 (21 - 30) | 24 (23 - 27) | <i>P=0,883</i> |
| Education (années) ^a | 13,0 (11 - 14) | 15 (14 - 16) | <i>P = 0,0001</i> |
| Moyenne du nombre de consommations d'alcool/semaine ^a | 1 (0 - 2) | 1 (0 - 3) | <i>P= 0,987</i> |
| Score du test d'AUDIT (Alcohol Use Disorders Identification Test) ^a | 3 (2 - 5) | 3 (1 - 4) | <i>P=0,319</i> |
| Score du test de Fagerström (n=24) | 2 (0,5 - 4) | - | - |
| Moyenne du nombre de cigarettes/jour | 6 (3-10) | - | - |
| Age de la première utilisation de cannabis | 16 (14 - 17) | - | - |
| Moyenne du nombre de joints/semaine | 20 (14 - 40) | - | - |
| Score au CAST (Cannabis Abuse Screening Test) | 4 (3 - 5) | - | - |
| Moyenne du nombre de grammes de cannabis/semaine | 3 (2-10) | - | - |

^a Test U de Mann-Whitney

^b Test du Chi 2

Les variables catégorielles sont représentées par des fréquences

Les variables quantitatives sont représentées par des médianes et des rangs interquartiles

Table 4: Caractéristiques démographiques et de consommations de substance des participants (fréquence ou médiane et rang interquartile) en utilisant le test du Chi² ou le test U de Mann-Whitney entre les deux groupes.

La médiane et le rang interquartile de la latence de l'onde a de la série photopique 3.0 étaient de 19,05 ms [18,60:19,05] chez les consommateurs de cannabis versus 18,60 ms [18,15:19,05] chez les contrôles. Cette différence n'était pas significative entre les groupes ($P=0,058$: Mann-Whitney U test).

La médiane et le rang interquartile de la latence de l'onde b de la série photopique 3.0 étaient de 36,30 ms [35,40:37,20] chez les consommateurs de cannabis versus 35,85 ms [35,40:36,30] chez les contrôles. Cette différence était significative entre les groupes ($P=0,033$: Mann-Whitney U test) (figure 26).

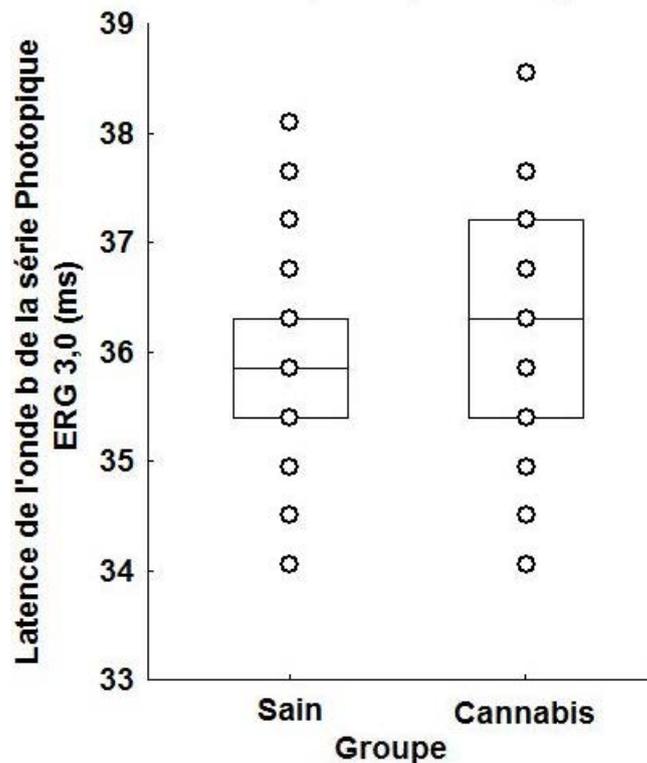


Figure 26 : Diagramme en boîtes de la latence de l'onde b de la série photopique ERG 3.0 de l'ERG flash (ms) pour les consommateurs de cannabis (n=27) et les sujets sains (n=29). Les boîtes représentent les rangs interquartiles (25% et 75%) et les barres horizontales représentent les médianes. Les consommateurs de cannabis ont une latence de l'onde b augmentée par rapport aux contrôles et cette différence entre les groupes est significative ($P=0,033$: Mann-Whitney U test).

La médiane et le rang interquartile de la latence de l'onde b de la série flicker photopique 3.0 étaient de 30,10 ms [28,75:31,90] chez les consommateurs de cannabis versus 29,20 ms [28,30:30,10] chez les contrôles. Cette différence était significative entre les groupes ($P=0,050$: Mann-Whitney U test) (figure 27).

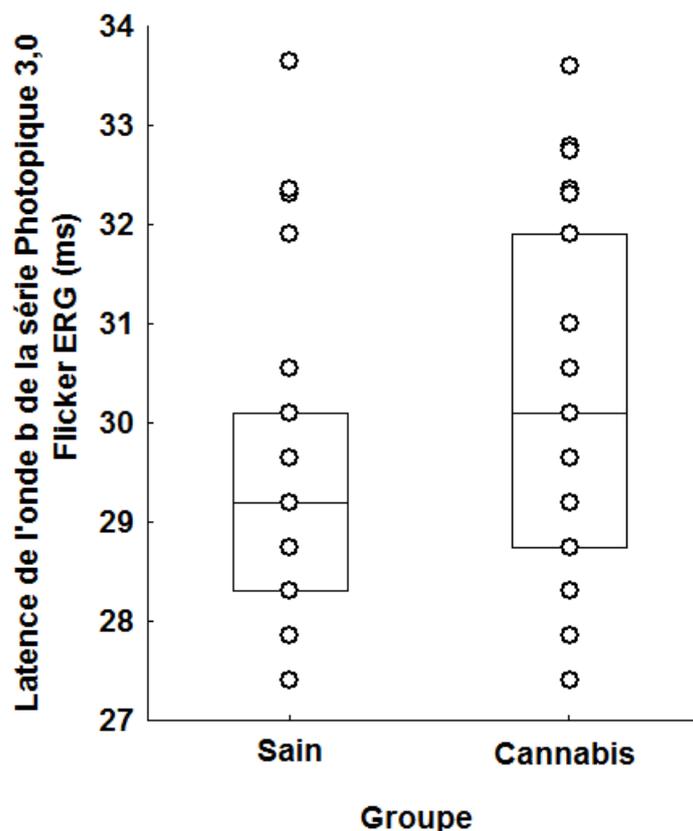


Figure 27 : Diagramme en boîtes de la latence de l'onde b de la série flicker photopique 3.0 de l'ERG flash (ms) pour les consommateurs de cannabis (n=27) et les sujets sains (n=29). Les boîtes représentent les rangs interquartiles (25% et 75%) et les barres horizontales représentent les médianes. Les consommateurs de cannabis ont une latence de l'onde b augmentée par rapport aux contrôles et cette différence entre les groupes est significative ($P=0,050$: Mann-Whitney U test).

ELECTRORETINOGRAMME ON-OFF

Objectif : Vérifier si les retards de latence détectés au niveau des cellules bipolaires et des cônes chez les consommateurs de cannabis sont présents sur la voie ON, la voie OFF ou sur les deux voies.

Matériel et méthode : Pour ces analyses, 20 des 84 patients précédemment inclus ont été exclus en raison de la difficulté d'enregistrement due aux conditions de mesures (stimulation prolongée d'intensité forte) rendant certains tracés ininterprétables. Etant donnée la taille des échantillons, des analyses en sous-groupes n'ont pas été réalisées. De ce fait, 64 des 84 patients précédemment recrutés ont été inclus dans ces analyses, dont 25 sujets sains et 39 consommateurs de cannabis. Des mesures d'ERG ON-OFF ont été réalisées selon le protocole précédemment décrit dans la partie 3.3.3 (et dans *l'Annexe 2*). La latence et l'amplitude des ondes a, b et d1 ont été mesurées et analysées. L'onde d2 n'a pas été incluse dans ces analyses car elle est inconstante et donc pas systématiquement retrouvée.

Analyse statistique : L'analyse statistique a été réalisée avec le logiciel IBM-SPSS Statistics 22.0 (IBM corp.). Compte tenu de la distribution non-normale de certaines variables incluses dans l'analyse, le test U de Mann-Whitney et le test de distribution du Chi² ont été utilisés pour comparer les données sociodémographiques, les latences et les amplitudes de chaque réponse rétinienne entre les patients et les témoins. Le niveau de significativité a été fixé à $\alpha < 5\%$.

Résultats : Les données sociodémographiques sont présentées dans la *table 5*. Il n'y avait pas de différence significative entre les sujets sains et les consommateurs de cannabis pour l'âge ($P=0,411$) et le sexe ($P= 0,633$) mais il existait une différence significative pour les années d'éducation ($P=0,0002$; plus faibles chez les usagers de cannabis) et pour l'utilisation d'alcool (plus élevée chez les consommateurs de cannabis, $P=0,0002$ pour le nombre de consommations d'alcool par semaine et $P=0,0001$ pour le score d'AUDIT).

| | Consommateurs de cannabis (n=39) | Contrôles (n=25) | Valeur de P |
|--|----------------------------------|------------------|--------------|
| Sexe (homme/femme) ^b | 33 / 6 | 20 / 5 | $P=0,633$ |
| Age (années) ^a | 23 (20 - 30) | 24 (23 - 27) | $P=0,411$ |
| Education (années) ^a | 13,0 (12 - 14) | 15 (14 - 16) | $P = 0,0002$ |
| Moyenne du nombre de consommations d'alcool/semaine ^a | 4 (2 - 10) | 1 (0 - 2) | $P= 0,0002$ |
| Score du test d'AUDIT (Alcohol Use Disorders Identification Test) ^a | 5 (4 - 10) | 3 (1 - 4) | $P = 0,0001$ |
| Score du test de Fagerström (n=34) | 1 (0 - 4) | - | - |
| Moyenne du nombre de cigarettes/jour | 6 (3-10) | - | - |
| Age de la première utilisation de cannabis | 16 (14 - 16) | - | - |
| Moyenne du nombre de joints/semaine | 20 (14 - 25) | - | - |
| Score au CAST (Cannabis Abuse Screening Test) | 4 (3 - 5) | - | - |
| Moyenne du nombre de grammes de cannabis/semaine | 5 (3-10) | - | - |

^a Test U de Mann-Whitney

^b Test du Chi 2

Les variables catégorielles sont représentées par des fréquences

Les variables quantitatives sont représentées par des médianes et des rangs interquartiles

Table 5: Caractéristiques démographiques et de consommations de substance des participants (fréquence ou médiane et rang interquartile) en utilisant le test du Chi² ou le test U de Mann-Whitney entre les deux groupes.

La médiane et le rang interquartile de la latence de l'onde a de l'ERG ON-OFF étaient de 20,40 ms [19,95:21,25] chez les consommateurs de cannabis versus 19,95 ms [19,05:20,85] chez les contrôles. Cette différence n'était pas significative entre les groupes ($P=0,066$: Mann-Whitney U test). La médiane et le rang interquartile de l'amplitude de l'onde a de l'ERG ON-OFF étaient de -10,95 μV [-15,70:-9,25] chez les consommateurs de cannabis versus -52,95 μV [-46,85:-65,40] chez les contrôles. Cette différence n'était pas significative entre les groupes ($P=0,827$: Mann-Whitney U test).

La médiane et le rang interquartile de la latence de l'onde b de l'ERG ON-OFF étaient de 35,40 ms [34,50:36,75] chez les consommateurs de cannabis versus 34,50 ms [33,60:34,95] chez les contrôles. Cette différence était significative entre les groupes ($P=0,016$: Mann-Whitney U test) (*figure 28*). La médiane et le rang interquartile de l'amplitude de l'onde b de l'ERG ON-OFF étaient de 26,50 μV [21,20:30,65] chez les consommateurs de cannabis versus 29,80 μV [33,60:34,95] chez les contrôles. Cette différence n'était pas significative entre les groupes ($P=0,085$: Mann-Whitney U test).

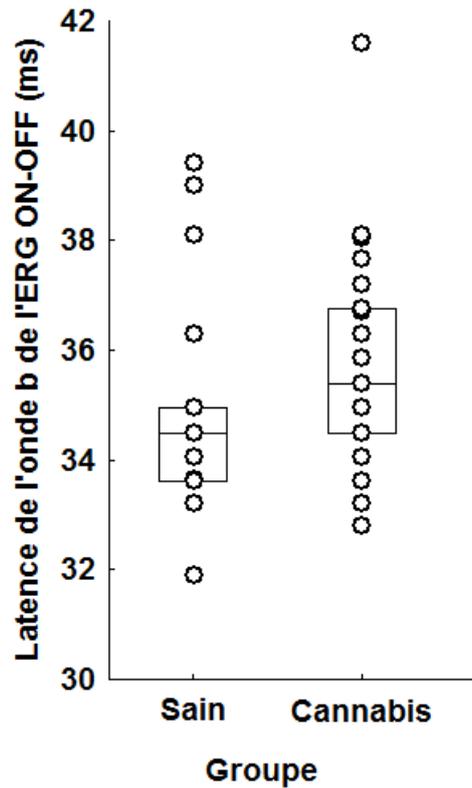


Figure 28: Diagramme en boîtes de la latence de l'onde b de l'ERG ON-OFF (ms) pour les consommateurs de cannabis (n=39) et les sujets sains (n=25). Les boîtes représentent les rangs interquartiles (25% et 75%) et les barres horizontales représentent les médianes. Les consommateurs de cannabis ont une latence de l'onde b augmentée par rapport aux contrôles et cette différence entre les groupes est significative ($P=0,016$: Mann-Whitney U test).

La médiane et le rang interquartile de la latence de l'onde d1 de l'ERG ON-OFF étaient de 127,50 ms [127,00:128,00] chez les consommateurs de cannabis versus 127,00 ms [126,50:128,00] chez les contrôles. Cette différence était significative entre les groupes ($P=0,027$: Mann-Whitney U test) (*figure 29*). La médiane et le rang interquartile de l'amplitude de l'onde d1 de l'ERG ON-OFF étaient de 13,20 μ V [3,00:21,05] chez les consommateurs de cannabis versus 8,70 μ V [2,90:19,75] chez les contrôles. Cette différence n'était pas significative entre les groupes ($P=0,556$: Mann-Whitney U test).

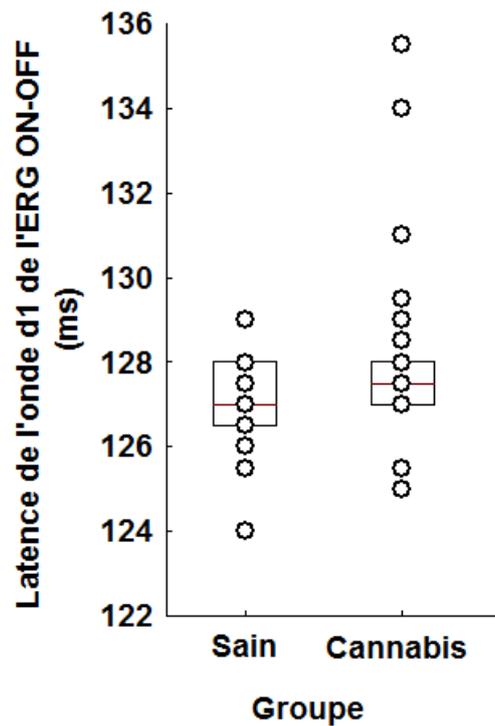


Figure 29: Diagramme en boîtes de la latence de l'onde d1 de l'ERG ON-OFF (ms) pour les consommateurs de cannabis (n=39) et les sujets sains (n=25). Les boîtes représentent les rangs interquartiles (25% et 75%) et les barres horizontales représentent les médianes. Les consommateurs de cannabis ont une latence de l'onde d1 augmentée par rapport aux contrôles et cette différence entre les groupes est significative ($P=0,027$: Mann-Whitney U test).

Table 6 : Synthèse des résultats issus des analyses globales

Analyses globales

| <i>Examen</i> | <i>Série</i> | <i>Onde</i> | <i>Paramètre</i> | <i>Résultat</i> | <i>Cellules dont la réponse est testée</i> |
|---------------|-----------------|-------------|----------------------|-----------------|--|
| PERG | | N95 | Latence Amplitude | Augmentée NS | C. ganglionnaires C. ganglionnaires |
| fERG | Scotopique 0,01 | onde b | Latence Amplitude | NS NS | C. bipolaires ON des bâtonnets C. bipolaires ON des bâtonnets |
| fERG | Scotopique 3,0 | onde a | Latence Amplitude | NS NS | Photorécepteurs Photorécepteurs |
| fERG | Scotopique 3,0 | onde b | Latence Amplitude | NS NS | C. bipolaires ON des photorécepteurs C. bipolaires ON des photorécepteurs |
| fERG | Photopique 3,0 | onde a | Latence Amplitude | Augmentée NS | Cônes et C. bipolaires OFF des cônes Cônes et C. bipolaires OFF des cônes |
| fERG | Photopique 3,0 | onde b | Latence Amplitude | Augmentée NS | C. bipolaires ON et OFF des cônes C. bipolaires ON et OFF des cônes |
| fERG | Flicker | onde b | Latence Amplitude | Augmentée NS | C. bipolaires ON et OFF des cônes C. bipolaires ON et OFF des cônes |
| fERG | ERG ON-OFF | onde a | Latence Amplitude | NS NS | Cônes et C. bipolaires OFF des cônes Cônes et C. bipolaires OFF des cônes |
| fERG | ERG ON-OFF | onde b | Latence Amplitude | Augmentée NS | C. bipolaires ON des cônes C. bipolaires ON des cônes |
| fERG | ERG ON-OFF | onde d1 | Latence Amplitude | Augmentée NS | C. bipolaires OFF des cônes C. bipolaires OFF des cônes |

PERG : *pattern électrorétinogramme* ; *fERG* : *flash électrorétinogramme* ; *NS* : *non significatif* ; *photorécepteurs* : *cônes et bâtonnets* ; *C.* : *cellules*

Table 7: Synthèse des résultats issus des analyses en sous-groupes

Analyses en sous-groupes (effectuées uniquement sur les résultats significatifs de l'analyse globale)

| <i>Examen</i> | <i>Série</i> | <i>Onde</i> | <i>Paramètres</i> | <i>Résultats</i> | <i>Cellules dont la réponse est testée</i> |
|---------------|----------------|-------------|-------------------|------------------|--|
| PERG | | N95 | Latence | Augmentée | C. ganglionnaires |
| fERG | Photopique 3,0 | onde a | Latence | NS | Cônes et C. bipolaires OFF des cônes |
| fERG | Photopique 3,0 | onde b | Latence | Augmentée | C. bipolaires ON et OFF des cônes |
| fERG | Flicker | onde b | Latence | Augmentée | C. bipolaires ON et OFF des cônes |

PERG : pattern électrorétinogramme ; *fERG* : flash électrorétinogramme ; *NS* : non significatif ; *C.* : cellules

DISCUSSION

Les analyses sur des échantillons de plus grandes tailles ont permis de confirmer le retard de latence détecté au niveau des cellules ganglionnaires chez les consommateurs réguliers de cannabis par rapport aux sujets contrôles mais également de montrer la présence d'un retard de latence au niveau des deux stades antérieurs du traitement de l'information rétinienne -les cônes et les cellules bipolaires des cônes-, sans anomalie fonctionnelle du système des bâtonnets. Les analyses en sous-groupes ont permis d'exclure un effet de l'alcool sur ces résultats puisque les retards de latence étaient également retrouvés chez les consommateurs de cannabis ayant une consommation d'alcool faible et non statistiquement différente de celle des sujets contrôles ; hormis pour la latence de l'onde a de la série photopique 3.0 de l'ERG flash, pour laquelle une tendance ($P=0,058$) était retrouvée en faveur d'un retard de latence dans la réponse des cônes chez les consommateurs de cannabis. Ce résultat pourrait être dû au manque de puissance liée à la taille des échantillons ainsi qu'à la nature non-paramétrique des tests statistiques utilisés. A l'inverse, la multiplicité des tests peut majorer le risque de faux positifs. Enfin, même si des analyses en sous-groupes n'ont pas pu être réalisées pour l'ERG ON-OFF en raison de la taille des échantillons, un retard de latence a également été retrouvé au niveau des voies rétiniennes ON et OFF. Ces deux voies répondent de manière opposée à la stimulation lumineuse de leur champ récepteur : les cellules à centre ON se dépolarisent quand le centre de leur champ récepteur est stimulé et s'hyperpolarisent quand la périphérie est stimulée, alors que les cellules à centre OFF s'hyperpolarisent quand le centre de leur champ récepteur est stimulé et se dépolarisent quand la périphérie est stimulée. Les consommateurs réguliers de cannabis présentent ainsi aussi bien des altérations fonctionnelles des cellules de la voie ON que de la voie OFF.

VI. DISCUSSION GÉNÉRALE

6.1 SYNTHÈSE DES RÉSULTATS

Des anomalies de la fonction et de l'architecture rétiniennes ont été montrées chez les consommateurs réguliers de cannabis, à distance d'une consommation, ou après un usage aigu. Une augmentation du temps de latence de la réponse des cellules des trois principaux étages rétiniens impliqués dans le traitement vertical de l'information rétinienne, et accessibles de manière standardisée à la mesure, a été mise en évidence chez les consommateurs réguliers en comparaison à une population de volontaires sains. Ainsi, dans le sens de propagation de l'information visuelle, le délai de réponse à une stimulation lumineuse des cônes, des cellules bipolaires des cônes et des cellules ganglionnaires est augmenté chez les consommateurs réguliers de cannabis par rapport aux sujets sains. Autrement dit, il existe chez les consommateurs réguliers de cannabis un temps supplémentaire nécessaire pour l'hyperpolarisation des cônes L, M et S et des cellules bipolaires OFF des cônes L et M (augmentation de la latence de l'onde a de la série photopique 3.0 à l'ERG flash d'environ 0.45 ms), et pour la dépolarisation des cellules bipolaires ON des cônes L, M et S et l'hyperpolarisation des cellules bipolaires OFF des cônes L et M (augmentation de la latence de l'onde b de la série photopique 3.0 à l'ERG flash d'environ 0.45 ms). Ces atteintes réceptoriales et post-réceptoriales sont confirmées par une augmentation de la latence (d'environ 0.9 ms) de la première périodique (sinusoïde) de la séquence flicker 3.0, représentée par l'onde b, chez les consommateurs réguliers de cannabis, montrant ainsi une atteinte du fonctionnement des cônes et de leurs bipolaires ON et OFF. Enfin, l'augmentation de la latence de l'onde b (d'environ 0.9 ms) et de l'onde d1 (d'environ 0.5 ms) de l'ERG ON-OFF est en faveur d'un dysfonctionnement des deux voies, ON et OFF, chez les

consommateurs de cannabis puisque, l'onde b est une réponse spécifique de la voie ON et représente la dépolarisation des bipolaires ON des cônes, et l'onde d1 est spécifique de la voie OFF et représente la dépolarisation des bipolaires OFF des cônes. L'absence de différence significative retrouvée pour l'onde a de l'ERG ON-OFF pourrait s'expliquer par le fait que cette série utilise une stimulation d'intensité lumineuse élevée diffusée sur une longue période afin d'être spécifiquement dédiée à la ségrégation des réponses ON et OFF du système des cônes, ce qui aurait pu potentiellement perturber la réponse initiale des cônes. Ainsi, le signal, qui sort de la rétine et est conduit le long des voies visuelles à destination du thalamus, est également retardé puisque nous avons retrouvé un retard d'environ 6 ms dans l'émission des potentiels d'action par les cellules ganglionnaires chez les consommateurs réguliers par rapport aux sujets sains (augmentation de la latence de l'onde N95 du pattern ERG). Enfin, le fonctionnement du système des bâtonnets (bâtonnets et cellules bipolaires ON des bâtonnets) ne semble pas être altéré chez les consommateurs de cannabis (absence de différence significative entre groupes pour la série scotopique 0.01, onde b). Ce résultat est confirmé par l'absence de différence significative entre groupes pour les ondes a et b de la série scotopique 3.0 (où la réponse du système des bâtonnets est prépondérante) (*figure 30*).

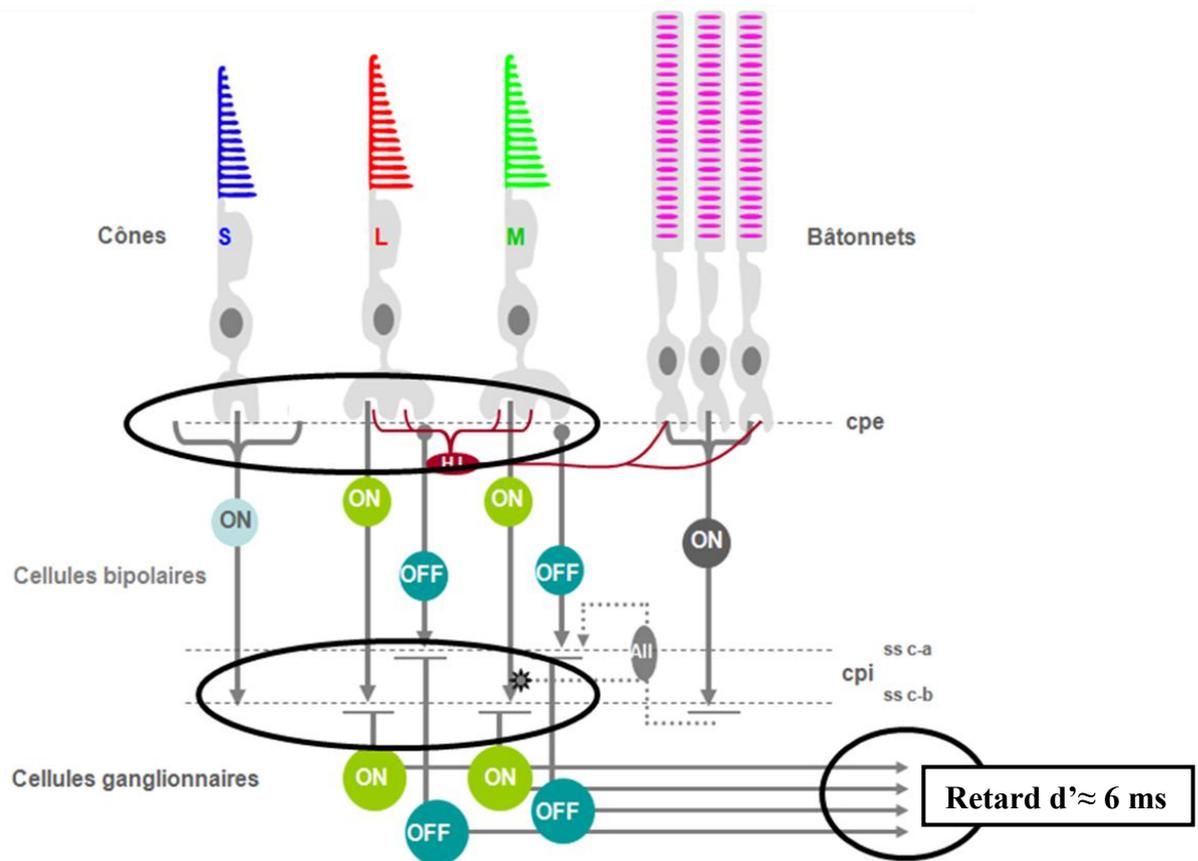


Figure 30: Représentation schématique de la rétine avec le niveau des atteintes fonctionnelles découvertes chez les consommateurs réguliers de cannabis et représenté par des cercles : cônes L, M et S, cellules bipolaires ON des cônes L, M et S, cellules bipolaires OFF des cônes L et M, cellules ganglionnaires (tirée et modifiée de (138))

Il est important de noter qu'un effet de l'alcool dans les résultats présentés dans ce travail a été éliminé en comparant un groupe de consommateurs de cannabis ayant des consommations d'alcool par semaine faibles et strictement inférieures à 4 à un groupe témoin. Ainsi, les critères de consommations d'alcool (score d'AUDIT et nombre de consommations/semaine) pour ce sous-groupe ne différaient plus de manière significative de ceux du groupe témoin. Les deux groupes différaient de manière significative pour la latence de l'onde N95 du PERG et celle de l'onde b des séries photopique 3.0 et flicker de l'ERG flash. Ces latences étaient augmentées chez les consommateurs de cannabis traduisant ainsi un

retard dans la réponse des cellules dont la fonction était mesurée par ces ondes respectives (voir *table 7*). En revanche, la différence significative entre groupes n'était plus retrouvée pour la latence de l'onde a de la série photopique 3.0 de l'ERG flash mais une tendance d'augmentation de cette latence était mise en évidence dans le sous-groupe de consommateurs de cannabis ($P=0,058$). L'absence de persistance de la différence significative pourrait être expliquée par la taille de l'échantillon testé (plus petite) et par le manque de puissance des tests non paramétriques utilisés qui viendrait de ce fait renforcer les résultats significatifs observés sur les autres séries (voir *table 6 et 7* pour une synthèse des résultats). Ces analyses en sous-groupes n'ont pas été réalisées pour l'ERG ON-OFF car elles impliquent d'avoir un groupe de consommateurs de cannabis de taille suffisamment importante pour pouvoir isoler deux sous-groupes, ce qui n'a pas pu être le cas dans les analyses qui ont été réalisées.

Des résultats sensiblement différents ont été observés, après un usage aigu de cannabis chez un consommateur régulier. En effet, il a été retrouvé chez ce patient une diminution du nombre de photorécepteurs participant aux réponses rétiniennes à des stimulations par flash achromatique en condition scotopique 30 minutes après une consommation aiguë de cannabis (correspondant aux diminutions d'amplitude de l'onde a de l'ERG flash pour les séries « dark-adapted 0.1, 0.3, 1.0, 3.0 ERG ») (*Article 5*). Ainsi, dans cette situation, l'hyperpolarisation des photorécepteurs (les cônes et surtout les bâtonnets) a été altérée, pouvant ainsi traduire une anomalie dans l'activité métabolique des photorécepteurs. Ces anomalies n'ont pas été associées à des symptômes ou à des troubles visuels et ont régressé à distance de la consommation. Il semble donc que l'usage aigu de cannabis, dans cette situation précise, ait entraîné une altération dans le recrutement des photorécepteurs mais

surtout des bâtonnets, potentiellement due à un effet du principe actif du cannabis, le THC, sur l'activité métabolique au sein des photorécepteurs.

Enfin, des altérations des propriétés structurelles et fonctionnelles ont également été mises en évidence chez un consommateur régulier de cannabis qui présentait des troubles visuels et surtout une vision floue de l'œil droit (304) (*Article 6*). Les anomalies retrouvées chez ce patient consistaient en des bulles subrétiniennes retrouvées en OCT associées à une diminution du Light Peak à l'électrooculogramme et pouvaient traduire un effet des consommations de cannabis sur l'activité métabolique au sein des photorécepteurs ou de l'interface photorécepteurs-épithélium pigmentaire. Il est important de signaler que ces anomalies ont également régressé après l'arrêt des consommations par le patient.

L'altération de la latence des ondes sans modification d'amplitude chez les consommateurs réguliers de cannabis pourrait suggérer que le nombre total de cellules qui participent à la réponse rétinienne est resté inchangé mais qu'il s'est probablement produit une perte de leurs capacités fonctionnelles (229). Ces résultats sont en accord avec l'absence de symptômes visuels chez les consommateurs réguliers, qui sont davantage associés à des modifications d'amplitude (224,229,305–309). Par ailleurs, il est également possible d'expliquer pourquoi une diminution transitoire d'amplitude a été retrouvée après un usage aigu chez le patient consommateur de cannabis (*Article 5*) alors qu'il ne présentait pas de symptômes visuels. Dans cette situation, l'utilisation aiguë de cannabis aurait pu participer à entraîner une diminution transitoire du nombre de cellules recrutées pour la réponse rétinienne plutôt qu'une perte cellulaire ou des dommages axonaux car ces deux situations pathologiques peuvent être associées à des diminutions d'amplitudes (224,299,300,307).

Ces résultats sont compatibles avec la distribution des endocannabinoïdes dans la rétine humaine et avec leur rôle de régulation de la physiologie rétinienne observé chez l'animal (5,131,135) (*voir table 8*). En effet, les endocannabinoïdes sont impliqués dans la régulation des canaux ioniques calcique, potassique et chlorique dans les cônes, les cellules bipolaires et les cellules ganglionnaires (291,310–319). Ainsi, il est possible d'envisager que le THC se soit fixé aux récepteurs cannabinoïdes rétiniens, en particulier les CB1, et ait pu altérer le transport ionique dans la neurorétine. Ces modifications ont pu être à l'origine de dysfonctionnements dans la neurotransmission rétinienne et donc responsables des modifications fonctionnelles. Un tel effet sur la neurotransmission rétinienne a également été observé par la capacité du THC à moduler l'activité enzymatique à l'origine de la libération de neurotransmetteurs. Par exemple, il a été montré que le THC était capable d'inhiber l'activité de la monoamine oxydase au niveau de la rétine (320). Ainsi, en venant perturber le rôle régulateur du système cannabinoïde rétinien dans la libération de neurotransmetteurs, le THC pourrait modifier la libération de dopamine, noradrénaline, GABA et glutamate (291,315,317,321,322). Ces données ont été récemment confirmées chez l'animal puisqu'il a été montré des modifications de l'amplitude des ondes a et b de l'ERG flash en condition scotopique et photopique chez des souris qui possédaient des récepteurs CB1 ou CB2 inactivés (323). Ces résultats traduisent ainsi un impact de la modulation du système cannabinoïde sur la réponse des cônes et des bâtonnets ainsi que sur leurs cellules bipolaires respectives. Ils suggèrent l'implication du système cannabinoïde dans la réponse rétinienne mesurée avec l'ERG flash ainsi qu'un potentiel effet des consommations de cannabis et donc des ligands cannabinoïdes exogènes sur celle-ci.

| Fonctions des endocannabinoïdes | Espèces | Références |
|---|-------------------|---|
| Canaux ioniques | Salamandre tigrée | A. Straiker et al. (1999); Straiker and Sullivan (2003) |
| | Poisson rouge | Fan and Yazulla (2003), (2004), (2005), (2007); Yazulla et al. (2000) |
| | Rat | Lalonde et al. (2006); Zhang et al. (2013) |
| | Bovin | Opere et al. (2006) |
| Activité enzymatique | Bovin | Gawienowski et al. (1982) |
| Libération de neurotransmetteurs | Salamandre tigrée | Straiker and Sullivan (2003) |
| | Cochon d'inde | Schlicker et al. (1996); Weber and Schlicker (2001) |
| | Souris | Middleton and Protti (2011) |
| | Bovin | Opere et al. (2006) |
| Plasticité synaptique | Poussin | Chaves et al. (2008) |
| Sensibilité rétinienne | Poisson rouge | Fan and Yazulla (2005); Struik et al. (2006); Yazulla et al. (2000) |
| Fonction des photorécepteurs et des cellules bipolaires/de Müller | Souris | Cecyre et al. (2013) |

Table 8: Résumé des fonctions des endocannabinoïdes dans la rétine

Comme il a été décrit précédemment, le système endocannabinoïde est impliqué dans la régulation de la libération synaptique de divers neurotransmetteurs présents dans le système nerveux central et cette fonction est perturbée par les cannabinoïdes exogènes comme le THC (5,37). Les exocannabinoïdes ont la particularité de pouvoir être stockés durablement dans l'organisme grâce à leurs propriétés lipophile et liposoluble (324). Cette particularité pourrait participer à expliquer les régulations réceptoriales observées suite à des consommations aiguës et chroniques. Lors de l'absorption aiguë de cannabis, les récepteurs endocannabinoïdes pourraient être stimulés par une faible partie de la quantité totale de cannabinoïdes exogènes ingérés alors qu'une partie significative de celle-ci est stockée dans les tissus à proximité. Cela s'explique par le fait que, dans certaines cellules, les récepteurs endocannabinoïdes seraient en nombre très supérieur à celui qu'il est nécessaire de stimuler pour obtenir l'effet maximal. Ces récepteurs sont appelés les récepteurs de réserve. Lors des consommations chroniques de cannabis, il se produit la stimulation au long cours, par le reliquat de cannabinoïdes exogènes contenus dans les tissus, des récepteurs endocannabinoïdes des cellules comportant une forte proportion de récepteurs de réserve et ce reliquat augmente à chaque consommation nouvelle de cannabis.

Un effet du cannabis (principalement du THC) sur la libération rétinienne de neurotransmetteurs est possible (285), en accord avec la principale fonction du système cannabinoïde dans le SNC qui consiste en la régulation de la transmission synaptique (par exemple au niveau des synapses gabaergiques et glutamatergiques) (37). En effet, la rétine est dotée d'un système complexe de neurotransmission retrouvé aux trois stades critiques du traitement de l'information rétinienne : les photorécepteurs, les cellules bipolaires et les cellules ganglionnaires. Les altérations fonctionnelles rétiniennes montrées dans ce travail pourraient être la conséquence d'un effet du cannabis sur la transmission glutamatergique rétinienne. En effet, le cannabis est une substance connue pour cibler cette voie de neurotransmission dans le cerveau (325). De plus, le glutamate est le neurotransmetteur principal impliqué dans la transmission verticale de l'information rétinienne. Il est exprimé dans chacune des cellules des trois stades critiques du traitement de l'information rétinienne - photorécepteurs, cellules bipolaires et ganglionnaires- qui sont toutes dotées de récepteurs au glutamate (171–173). Néanmoins, un effet du THC sur d'autres voies de signalisation moléculaire que celle du glutamate pourrait également être évoqué, notamment les voies de neurotransmission gabaergique et dopaminergique, en accord avec les effets du cannabis sur la transmission cérébrale gabaergique et dopaminergique (326,327) et sur la présence de ces molécules et de leurs récepteurs dans les cellules photoréceptrices, bipolaires et ganglionnaires (171,172,179,185,186).

A notre connaissance, en dehors de celles présentées dans ce travail, il n'existe à ce jour qu'une seule étude de la fonction rétinienne chez les usagers réguliers de cannabis (328). Cette étude, réalisée chez un patient présentant un trouble hallucinatoire persistant après une consommation de cannabis et chez quatre consommateurs réguliers de cannabis, a consisté en la réalisation de mesures électrophysiologiques rétiniennes telles que l'ERG flash, l'ERG

multifocal et l'EOG. Seules des anomalies des mesures d'EOG ont été constatées chez le patient présentant le trouble hallucinatoire persistant et ont consisté principalement en une diminution du « standing potential ». Ce paramètre correspond à la variation des potentiels électriques entre l'avant et l'arrière de l'œil mesurés par les variations de potentiels entre les électrodes cutanées situées sur les canthi externe et interne (218,272). Il reflète principalement le fonctionnement de l'épithélium pigmentaire et est très sensible aux variations interindividuelles, ce qui rend difficile son interprétation. De plus, dans cette étude, le nombre de sujets est relativement limité.

6.2 PERSPECTIVES

A la lecture des résultats présentés dans ce travail, les premières perspectives sont induites par les limites de cette étude et notamment par les différences sociodémographiques et de consommations de substances existant entre les populations de consommateurs de cannabis et les sujets sains. Il est bien connu que les usagers réguliers de cannabis ont un niveau d'éducation plus faible que la population générale. En effet, il a été montré une baisse du quotient intellectuel chez les usagers ayant commencé à consommer précocement et régulièrement pendant l'adolescence en comparaison à une population contrôle (294). De plus, le niveau intellectuel ne semble pas intervenir dans les différences de la fonction rétinienne observées entre les consommateurs de cannabis et les sujets sains car les mesures effectuées sont électrophysiologiques et fonctionnelles et ne sont donc pas dépendantes des fonctions cognitives de haut niveau. En revanche, les différences entre populations concernant les paramètres de consommations d'alcool (nombre de consommations d'alcool par semaine et score d'AUDIT) et de tabac (puisque les sujets sains sont non fumeurs) impliquent des mesures et des analyses complémentaires. Pour le tabac, un groupe contrôle de consommateurs de tabac est actuellement en train d'être recruté et des mesures similaires sont effectuées chez ces patients et pourront être comparées à celles des consommateurs de cannabis et à celles des sujets sains. Elles permettront d'isoler les effets respectifs du tabac et du cannabis sur la fonction rétinienne. Pour l'alcool, il aurait pu être envisagé le recrutement d'un groupe de patients consommateurs d'alcool, même si le recrutement d'un tel groupe est complexe en raison de la présence fréquente de comorbidités nombreuses compliquant l'extraction des résultats. Pour cette raison, un tel groupe n'a pas été inclus dans le protocole et l'effet potentiel de l'alcool est évalué en séparant le groupe de consommateurs de cannabis en deux sous-groupes sur la base de la médiane des consommations d'alcool et en comparant

le sous-groupe ayant des consommations d'alcool faibles au groupe de sujets sains, comme précédemment décrit.

A la lumière des résultats présentés ici, d'autres mesures de la fonction rétinienne pourraient se révéler utiles pour approfondir les connaissances des effets du cannabis sur la rétine. En effet, les mesures d'ERG pattern que nous avons effectuées sont issues d'un protocole largement utilisé en clinique qui est rapide, facile à utiliser, non-invasif, relativement peu coûteux et dont les résultats sont reproductibles entre eux (215). Ces mesures sont de ce fait particulièrement adaptées à la recherche en psychiatrie et présentent certains avantages par rapport à d'autres techniques électrophysiologiques rétiniennes (297). Ces critères en font un examen de qualité dans l'éventualité de développement de marqueurs fonctionnels. Cependant, des mesures complémentaires basées sur la modulation des paramètres de stimulation, comme la taille des damiers et le contraste entre les damiers, pourraient apporter des connaissances physiopathologiques supplémentaires. Elles pourraient notamment permettre de préciser si les effets des consommations régulières de cannabis sont spécifiques d'un contraste particulier ou reproductibles entre tous les contrastes testés et le même raisonnement pourrait être appliqué pour la taille des damiers. Ces informations pourraient renseigner sur le type de cellules ganglionnaires dont le fonctionnement est impacté par l'usage régulier de cannabis et sur la zone rétinienne centrale qui serait éventuellement plus particulièrement impactée par les consommations. En effet, la taille croissante des damiers met en activité des secteurs maculaires eux aussi croissants (*figure 31*).

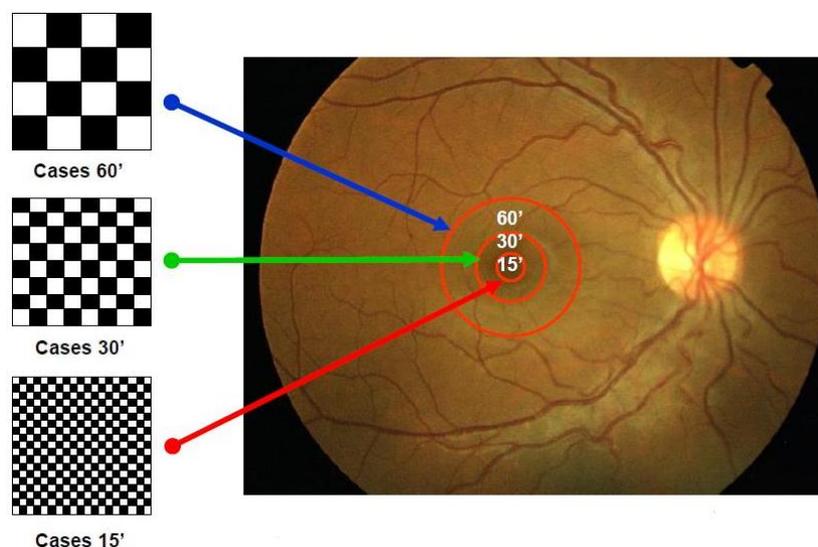


Figure 31: Variation des secteurs maculaires mis préférentiellement en activité par les variations de taille de damiers 60° ;30° ;15° (tirée et modifiée de (329))

Des protocoles de pattern ERG permettant de faire varier le contraste entre les damiers existent déjà, ont été réalisés chez des patients souffrant de maladies mentales et sont appelés « PERG-based contrast gain » (279,280,330). Ces protocoles sont enregistrés en utilisant plusieurs séries de stimuli par damiers avec une taille des damiers et une vitesse de renversement constantes mais avec des niveaux de contraste croissants (279,280,330). Après l'enregistrement du signal par la chaîne d'acquisition, les tracés sont analysés à l'aide d'analyses de Fourier pour calculer l'amplitude des tracés. Ensuite, les amplitudes sont plotées selon le niveau de contraste dans un modèle linéaire donnant le « PERG-based contrast gain » défini par la pente du modèle linéaire (*figure 32*). A partir de l'amplitude, la réponse pour le niveau de renversement des damiers, ses harmoniques, et le niveau de bruit (correspondant à l'activité neuronale sans stimuli) peuvent être dérivés.

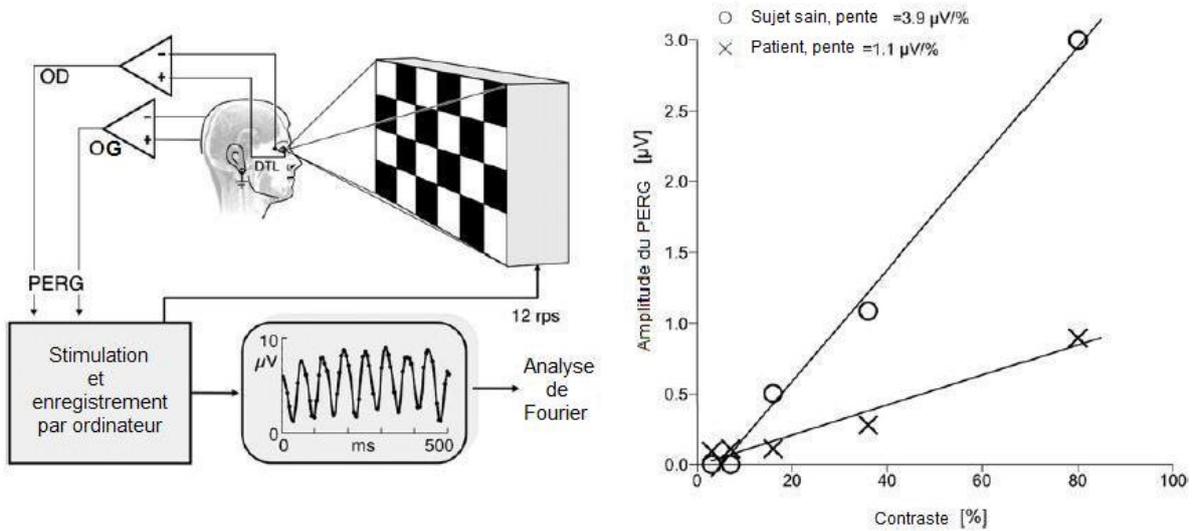


Figure 32: Représentation schématique de la chaîne d'enregistrement du « PERG-based contrast gain » et graphique présentant l'amplitude du PERG en fonction des niveaux de contraste pour deux sujets. La ligne oblique représente l'ajustement linéaire et la pente du modèle linéaire est appelée « PERG-based contrast gain » (OD : œil droit ; OG : œil gauche) (tirée et modifiée de (279)).

Les résultats obtenus avec l'ERG flash ouvrent également la voie à de nouvelles mesures. En effet, il est possible de tester la réponse du système des cônes et des bâtonnets en utilisant des flashes d'intensités croissantes et ce, en condition photopique et scotopique (331–336). Ces données permettent de former des courbes intensité-réponse de Naka-Rushton et ainsi d'obtenir, à travers un profil global de la réponse rétinienne, la sensibilité rétinienne. Ces courbes sont obtenues en plotant l'amplitude de l'onde b avec l'intensité des flashes et les résultats obtenus sont moins affectés par les variations interindividuelles. De la même manière, les latences peuvent être également plotées avec les intensités des flashes et ces mêmes procédures peuvent être appliquées pour l'onde a également (296). En plotant ainsi les amplitudes et les latences des ondes a et b de l'ERG flash, il serait possible d'obtenir un profil

global intensité-réponse de la fonction rétinienne chez les consommateurs de cannabis et ce, pour les cônes et les bâtonnets en condition photopique et scotopique. A la lecture des résultats d'ERG flash obtenus chez les usagers de cannabis et, du fait que le système des cônes semble perturbé chez les usagers réguliers, l'évaluation de la fonction intensité-réponse en condition photopique semble davantage pertinente. Néanmoins, la réalisation de telles mesures est dépendante de la puissance de la machine puisqu'elles impliquent des flashes d'intensités lumineuses plus élevées pour établir de telles courbes, car les cônes sont moins sensibles à la lumière. Enfin, les anomalies découvertes avec l'ERG flash qui concernent les deux premiers étages du système photopique –cônes et cellules bipolaires- pourront être confrontées aux résultats obtenus avec l'ERG multifocal pour permettre une éventuelle localisation spatiale de l'atteinte et ainsi évaluer s'il existe une zone rétinienne des 45° centraux maculaire qui pourrait être plus à l'origine de ces anomalies. En effet, les réponses obtenues avec cet examen renseignent sur les deux premiers étages du système photopique et sont issues de surfaces rétinienne contigües des 45° centraux, même si la signification des principales ondes reste l'objet de controverse.

D'autres paramètres dérivés de l'ERG pattern et de l'ERG flash ont été mesurés pendant ce travail et feront l'objet de prochaines analyses. Ainsi, l'évaluation de l'onde P50 de l'ERG pattern, qui représente la fonction maculaire mais qui est issue en grande partie du fonctionnement des cellules ganglionnaires, pourrait aboutir, en couplant les résultats des deux ondes –P50 et N95-, au développement d'indicateurs diagnostiques et pronostiques comme c'est déjà le cas dans les neuropathies optiques (224,229,300). De plus, il est possible de dériver de l'ERG flash enregistré en condition photopique 3.0, une « photopic negative response » (PhNR) (*figure 33*) qui permettrait elle aussi d'évaluer le fonctionnement des

cellules ganglionnaires tout comme l'onde N95 de l'ERG pattern (227,337,338). Cette onde suit l'onde b de la réponse du système des cônes et serait conduite par les cellules ganglionnaires (339). Même si elle est très peu utilisée en clinique, son analyse pourrait permettre de confronter les résultats issus des analyses de cette onde à ceux de l'onde N95 du PERG. Ainsi, en couplant les deux analyses, il serait peut-être possible de dégager un profil de réponse, sur la base du couple P50/N95 de l'ERG pattern, pouvant éventuellement permettre le développement de marqueurs fonctionnels. Enfin, l'analyse des potentiels oscillatoires pourrait permettre d'évaluer le fonctionnement des neurones dopaminergiques rétiniens qui sont impliqués dans leur genèse et notamment des cellules amacrines et ainsi évaluer l'impact des consommations de cannabis sur la transmission dopaminergique rétinienne (231).

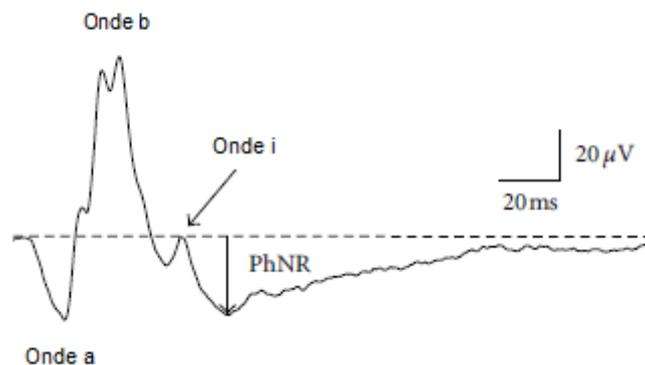


Figure 33: Tracé typique de l'électrorétinogramme des cônes enregistré à partir d'un sujet sain (tirée et modifiée de (337)). Les ondes a, b, i et la « photopic negative response » (PhNR) sont représentées. L'onde i représenterait la variation de polarisation des bipolaires OFF des cônes et de leurs cellules horizontales à la cessation de la stimulation brève (340) alors que la PhNR est liée au fonctionnement des cellules ganglionnaires (337).

De plus, il est important de vérifier si les anomalies fonctionnelles rétiniennes détectées chez les consommateurs de cannabis sont associées à un remaniement de l'architecture rétinienne qui pourrait être évalué avec les différentes techniques d'imagerie rétinienne par OCT. En effet, ces techniques permettent d'évaluer la structure des différentes couches de la rétine et en particulier celles dont le fonctionnement est affecté chez les consommateurs de cannabis : les cellules ganglionnaires, les photorécepteurs et les cellules bipolaires.

Parallèlement aux mesures rétiniennes, il est fondamental de vérifier si le retard d'environ 6 ms perçu à la sortie de la rétine est retrouvé au niveau du traitement cortical de l'information visuelle ou s'il est corrigé le long des voies visuelles. Des mesures de potentiels évoqués visuels lors de différentes tâches visuelles pourraient permettre de répondre à cette question.

La vision est une fonction principale utilisée dans la vie quotidienne et notamment dans la conduite automobile. Néanmoins, les conséquences fonctionnelles et celles de la vie quotidienne des anomalies dans le traitement rétinien de l'information visuelle détectées chez les consommateurs de cannabis et présentées dans ce travail sont, à ce jour, difficiles à établir. Tout d'abord, hormis le patient présentant une vision floue de l'œil droit associée à des modifications électrooculographiques (de l'épithélium pigmentaire ou de l'interface épithélium pigmentaire-photorécepteurs) sans anomalies électrorétinographiques (304), les consommateurs réguliers de cannabis et le patient suivi de manière annuelle en raison de la prescription de chloroquine (341), ne présentaient aucun symptôme visuel et présentaient une

acuité visuelle normale ou corrigée à la normale. Ces anomalies dans le traitement de bas niveau de l'information visuelle pourraient être des marqueurs précoces d'une dégradation cognitive touchant les fonctions de haut niveau. Les effets aigus et chroniques des cannabinoïdes sur les fonctions cognitives de haut niveau sont à ce jour bien étudiés et concernent les principales fonctions cognitives: la mémoire, l'attention, les fonctions exécutives, les fonctions psychomotrices et la prise de décision (pour une revue, voir (342)). Par exemple, les consommations régulières de cannabis entraînent une baisse de la vitesse de traitement de l'information, à l'origine notamment de troubles attentionnels (47,343,344) et les consommations aiguës ou régulières peuvent être à l'origine d'un ralentissement psychomoteur mis en évidence par des tâches de temps de réaction et de contrôle moteur (342,345,346). De manière intéressante, le traitement rétinien de l'information visuelle est également ralenti chez les consommateurs réguliers de cannabis mais paradoxalement, les consommateurs réguliers ont tendance à répondre très vite et de manière impulsive lors de tâches évaluant le risque et l'impulsivité lors de la prise de décision (342). Enfin, l'association entre les consommations de cannabis et le risque d'accidents de la route a déjà été clairement établie (347,348). En induisant un ralentissement du traitement de l'information visuelle au niveau rétinien, les consommations régulières de cannabis pourraient ainsi majorer le risque d'accidents de la route, déjà très élevé en raison de la perturbation des fonctions cognitives de haut niveau comme par exemple les fonctions attentionnelles (347,348).

Enfin, des études moléculaires chez l'animal pourraient également être utiles pour mettre en lien ces résultats avec d'éventuelles anomalies moléculaires sous-jacentes, en particulier celles concernant les différentes voies de neurotransmission, et des études génétiques permettraient d'évaluer l'impact des variants génétiques dans les anomalies détectées chez les consommateurs de cannabis.

Evidemment, toutes ces perspectives pourraient être également envisagées pour évaluer l'effet des consommations aiguës de cannabis sur la fonction et la structure rétiniennes même si les évidences sont plus faibles car les résultats présentés ici sont issus d'un cas clinique et que ces études sont particulièrement difficiles à réaliser en France pour des raisons éthiques et en raison du caractère illicite de cette substance.

VII. CONCLUSION

En raison de l'implication du système cannabinoïde dans la régulation de la transmission synaptique au niveau rétinien, les effets des consommations aiguës ou régulières de cannabis sur le fonctionnement des trois principaux étages de la neurorétine sont cohérents avec la littérature. Les dysfonctions rétiniennes observées chez les consommateurs réguliers concernent la latence des ondes et sont donc compatibles avec une altération des capacités fonctionnelles des cellules plus qu'à une perte cellulaire alors que la baisse d'amplitude retrouvée chez un patient après un usage aigu est compatible avec un nombre plus faible de cellules participant à la réponse rétinienne. Un des mécanismes principaux à l'origine de ces anomalies pourrait être un effet du principal principe actif du cannabis, le THC, sur la neurotransmission rétinienne, en particulier glutamatergique, en raison de l'implication majeure de ce neurotransmetteur dans la transmission verticale de l'information rétinienne. En tant que partie intégrante du système nerveux central dotée d'un système de neurotransmission présentant des similarités avec celui du cerveau, la rétine pourrait apporter un site indirect d'étude du fonctionnement des voies de neurotransmission cérébrale. Par conséquent, l'étude de la fonction rétinienne pourrait permettre d'approcher les dysfonctions cérébrales de neurotransmission présentes dans les troubles addictifs et psychiatriques. Dans des perspectives de développement de marqueurs fonctionnels, qui représentent un des objectifs majeurs de la recherche en santé mentale pour les décennies à venir, de telles mesures pourraient se révéler utiles.

VIII. ANNEXES

Annexe 1 : Autre publication en lien avec le travail de thèse

Article 8.

“Flash electroretinogram and addictive disorders”

Progress in Neuro-Psychopharmacology & Biological Psychiatry 56 (2015) 264.

Vincent Laprevote, Thomas Schwitzer, Anne Giersch, Raymund Schwan

Ce commentaire a été écrit en réponse à une revue de littérature traitant des anomalies fonctionnelles rétiniennes perçues avec l'électrorétinogramme flash dans les troubles psychiatriques et addictifs et mentionnant un effet des consommations de substances sur la transmission dopaminergique rétinienne pouvant être à l'origine de ces anomalies.

Sur la base des revues de littérature présentées plus haut, ce commentaire évoque la possibilité d'un effet des cannabinoïdes exogènes contenus dans le cannabis sur le système cannabinoïde endogène rétinien pouvant être à l'origine d'anomalies fonctionnelles perçues à l'électrorétinogramme flash chez les consommateurs réguliers de cannabis. Compte tenu des effets du cannabis sur la neurotransmission cérébrale, il est évoqué un effet potentiel du cannabis sur d'autres neurotransmetteurs rétiniens que la dopamine.



Discussion

Flash electroretinogram and addictive disorders

Vincent Laprevote^{a,b,*}, Thomas Schwitzer^{c,d}, Anne Giersch^d, Raymund Schwan^{a,b,c}^a CHU Nancy, Maison des Addictions, Nancy F-54000, France^b CHU Nancy, Centre d'Investigation Clinique CIC-INSERM 9501, Nancy F-54000, France^c Univ. Lorraine, Nancy F-54000, France^d Department of Psychiatry, INSERM U1114, University Hospital of Strasbourg, Strasbourg F-67000, France

ARTICLE INFO

Available online 13 April 2014

Keywords:
 Biomarker
 Cannabis
 Electroretinogram
 Retina

Dear Editor,

In an exciting article, Lavoie et al. (2014) recently presented the flash electroretinogram as an innovative method to understand the cerebral functioning in psychiatric disorders. The retina is an accessible part of the central nervous system and its measure is well standardized, allowing good reproducibility (Marmor et al., 2008). Retinal processing may therefore reflect the neurochemistry of the brain. Concerning addictive disorders, Lavoie et al. suggested that substance abuse may contribute to ERG abnormalities via dopaminergic neurotransmission. However, we affirm that retinal processing may also be affected through the direct action of substances on other neurotransmitters implied in retinal functioning.

The impact of regular Cannabis use on retinal functioning fits with this approach. The main psychoactive action of Cannabis is due to the action of tetrahydrocannabinol (THC) through G protein coupled receptors, the CB1 receptors. Several studies have shown that CB1 receptors were detectable in the human retina, suggesting a potential effect of exogenous cannabinoids on the retina (Porcella et al., 2000; Straiker et al., 1999). Natural ligands of CB1 receptors such as anandamide or 2-arachidonoylglycerol (2-AG) are also present in the human retina (Chen et al., 2005). Their expression may vary across pathological conditions such as diabetic retinopathy suggesting that they could play a role in the control of retinal function (Matias et al., 2006). In animal

studies, mice lacking CB1 or CB2 receptors present modifications of a and b wave amplitudes in the ERG measurements (Cécylre et al., 2013). Moreover, other animal studies have shown that cannabinoid agonists modulate the response of retinal cones (Fan and Yazulla, 2003) and the response of retinal ganglion cells in young mice (Middleton and Protti, 2011). Although these results have not yet been transposed to a human, clinical reports have noticed surprising changes of photosensitivity after regular use of Cannabis (Dawson et al., 1977; West, 1991). Our research group is convinced that ERG could constitute an interesting tool to evaluate the consequences of Cannabis use on the human central nervous system. Currently we are conducting a study which aims at measuring the functioning of the visual system in regular Cannabis users, and more precisely its impact on retinal functioning. Cannabis is widely used in industrialized countries, and its regular use is associated with several cognitive disorders. However, the neural mechanisms of this neurotoxicity remain unclear. Developing new biomarkers of the impact of Cannabis use on central nervous system functioning is now crucial.

References

- Cécylre B, Zabouri N, Huppé-Gourgues F, Bouchard J-F, Casanova C. Roles of cannabinoid receptors type 1 and 2 on the retinal function of adult mice. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2013;54(13):8079–90. [Dec].
- Chen J, Matias I, Dinh T, Lu T, Venezia S, Nieves A, et al. Finding of endocannabinoids in human eye tissues: implications for glaucoma. *Biochem Biophys Res Commun* 2005;330(4):1062–7. [May 20].
- Dawson WW, Jiménez-Antillon CF, Perez JM, Zeskind JA. Marijuana and vision—after ten years' use in Costa Rica. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 1977;16(8):689–99. [Aug].
- Fan S-F, Yazulla S. Biphasic modulation of voltage-dependent currents of retinal cones by cannabinoid CB1 receptor agonist WIN 55212-2. *Vis Neurosci* 2003;20(2):177–88. [Apr].
- Lavoie J, Maziade M, Hébert M. The brain through the retina: the flash electroretinogram as a tool to investigate psychiatric disorders. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry* 2014;3(48):129–34. [Jan].
- Marmor MF, Fulton AB, Holder GE, Miyake Y, Brigell M, Bach M, et al. ISCEV standard for full-field clinical electroretinography (2008 update). *Doc Ophthalmol* 2008;118(1):69–77. [Nov 22].
- Matias I, Wang JW, Moriello AS, Nieves A, Woodward DF, Di Marzo V. Changes in endocannabinoid and palmitoylethanolamide levels in eye tissues of patients with diabetic retinopathy and age-related macular degeneration. *Prostaglandins Leukot Essent Fatty Acids* 2006;75(6):413–8. [Dec].
- Middleton TP, Protti DA. Cannabinoids modulate spontaneous synaptic activity in retinal ganglion cells. *Vis Neurosci* 2011;28(05):393–402. [Jul 12].
- Porcella A, Maxia C, Gessa GL, Pani L. The human eye expresses high levels of CB1 cannabinoid receptor mRNA and protein. *Eur J Neurosci* 2000;12(3):1123–7. [Mar].
- Straiker AJ, Maguire G, Mackie K, Lindsey J. Localization of cannabinoid CB1 receptors in the human anterior eye and retina. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 1999;40(10):2442–8. [Sep].
- West ME. Cannabis and night vision. *Nature* 1991;351(6329):703–4. [Jun 27].

* Conflict of interest: All authors declare that the research was conducted in the absence of any commercial or financial relationships that could be construed as a potential conflict of interest. Role of funding sources: Funding for our research is provided by a French National Research Agency Grant (ANR-12-SAMA-0016-01).

* Corresponding author at: Vincent Laprevote Maison des Addictions CHU Nancy, Hôpital St Julien 1, rue Foller, France. Tel.: +33 3 83 85 83 85; fax: +33 3 83 85 24 15. E-mail address: v.laprevote@chu-nancy.fr (V. Laprevote).

Annexe 2 : Méthodologie de l'étude Causa Map

L'étude Causa Map est une étude clinique prospective, monocentrique, ouverte, de la fonction visuelle chez les consommateurs réguliers de cannabis en comparaison à une population de volontaires sains, de consommateurs de tabac et de patients souffrant de schizophrénie et dont les critères d'inclusion sont les suivants :

- Tous groupes :
 - âge compris entre 18 et 55 ans
 - affiliation à un régime de sécurité sociale
 - acuité visuelle normale ou corrigée à la normale et fond d'œil normal
 - personne ayant compris l'information préalable et ayant donné par écrit son consentement libre et éclairé avant toute participation à l'étude
- Groupe d'utilisateurs réguliers de cannabis :
 - déclaration de plus de 7 consommations de cannabis par semaine au cours du mois précédent
 - analyse urinaire positive pour la présence de cannabis
- Groupe contrôle de volontaires sains non utilisateurs (ni de cannabis, ni de tabac)
 - absence de consommation de cannabis et de tabac dans les 12 derniers mois
 - analyse urinaire négative pour la présence de cannabis
 - appariement en âge et sexe au groupe de consommateurs de cannabis
- Groupe d'utilisateurs de tabac
 - usage de tabac depuis au moins douze mois
 - dépendance au tabac faible à très forte au test de Fagerström
 - absence de consommation de cannabis depuis plus de douze mois

- analyse urinaire négative pour la présence de cannabis
- appariement en âge et sexe au groupe de consommateurs de cannabis
- Groupe de patients souffrant de schizophrénie
 - schizophrénie selon les critères du DSM IV (mesurée par MINI)
 - absence de consommation de cannabis depuis plus d'un mois (mais consommation de tabac indifférente)
 - analyse urinaire négative pour la présence de cannabis
 - appariement en âge et sexe au groupe de consommateurs de cannabis

Les critères de non inclusion pour tous les groupes sont les suivants :

- pathologie psychiatrique évolutive (axe I du DSM IV, mesurée au MINI)
- déficience du sujet rendant difficile, voire impossible, sa participation à l'essai ou la compréhension de l'information qui lui est délivrée
- dyslexie
- dépendance à l'alcool selon l'AUDIT
- abus ou dépendance de toute autre substance selon les critères du DSM IV
- maladie rétinienne évolutive
- glaucome chronique
- pathologie ophtalmologique affectant l'acuité visuelle
- infection oculaire en cours
- majeur sous tutelle, sous curatelle ou sous sauvegarde de justice
- femmes enceintes ou allaitantes
- personnes en situation d'urgence vitale
- absence de couverture sociale

Les sujets ont été recrutés selon les modalités suivantes, comprenant un appel à participation par voie d’affichage, de tracts ou sous forme électronique sur le site internet de l’étude :

- Usagers de cannabis :
 - consultation cannabis du CHU de Nancy
 - réseau de médecins généralistes du CIC-P du CHU de Nancy
 - service de Santé Universitaire de l’Université de Lorraine
 - campagne de recrutement en population générale et dans des regroupements festifs
- Volontaires sains non usagers (ni de tabac, ni de cannabis):
 - en population générale par une campagne de presse
 - réseau de médecins généralistes du CIC-P du CHU de Nancy
- Usagers de tabac :
 - en population générale par une campagne de presse
 - consultation spécialisée de tabacologie du CSAPA du CHU de Nancy
 - réseau de généralistes du CIC-P du CHU de Nancy
- Patients souffrant de schizophrénie :
 - services de consultations psychiatriques du Pôle Grand Nancy, Centre Psychothérapique de Nancy

Le déroulement de l’étude s’est fait en deux visites selon les modalités suivantes :

- Lors de la visite d’inclusion, l’investigateur informe le participant du contenu de la recherche et recueille son consentement. Il recueille également les données socio-démographiques et cliniques concernant le participant. Un prélèvement urinaire permet d’authentifier l’usage de cannabis. Puis il effectue la passation des échelles cliniques (MINI, CAST, Fagerström, AUDIT, PANSS) et un psychologue effectue la passation des

tests neuropsychologiques. Après vérification du fond d'œil et de l'acuité visuelle, et si les critères d'inclusion sont respectés, l'ERG est effectué. Enfin, un prélèvement salivaire est recueilli en vue de la constitution d'une collection au CH St Anne à Paris (étude ancillaire génétique facultative).

- La deuxième visite a lieu dans le service de Neurologie du CHU de Nancy. Le recueil des potentiels évoqués visuels par EEG est effectué au cours de trois tâches comportementales : sensibilité aux fréquences spatiales, sensibilité à l'asynchronie temporelle, perception des visages.

Avant la passation de l'ERG et afin de s'assurer de l'absence de pathologie rétinienne et de trouble de l'acuité visuelle, chaque sujet a bénéficié d'un test d'acuité visuelle avec une échelle de Monoyer à 5 mètres lors d'un examen monoculaire puis binoculaire. Si le patient portait des corrections optiques, elles étaient conservées pendant cette mesure. De la même manière, des photographies en couleurs du fond d'œil de chaque œil centré sur la macula et le pôle postérieur étaient ensuite réalisées sans dilatation pupillaire préalable par un orthoptiste expérimenté puis analysé par un médecin ophtalmologue pour éliminer toute pathologie rétinienne. Les sujets étaient ensuite conduits dans la salle de mesure pour la préparation aux mesures. Avant la pose des électrodes de référence et de l'électrode neutre, une préparation de la peau avec une pâte abrasive puis avec une solution à base d'alcool était réalisée. Les électrodes cutanées de type « électrodes cutanées à usage unique » (MétroVision, Pérenchies, France) étaient ensuite placées au niveau du canthus externe de chaque œil sur les tempes pour les électrodes de références, qui doivent avoir un potentiel électrophysiologique constant, et du centre du front pour l'électrode neutre. Les électrodes actives, qui captent le signal électrique de la rétine, de type « Dawson-Trick-Litzkow (DTL) », constituées d'un faisceau de fibres de nylon imprégnées d'argent d'impédance très basse (349), étaient ensuite placées en-dessous de la paupière inférieure dans le cul de sac conjonctival de chaque œil sans anesthésie (350). Les mesures d'ERG permettent de quantifier la différence de potentiel entre l'électrode de référence et l'électrode active et ce, de manière indépendante pour chaque œil. Les stimulations lumineuses (damiers, flashes et hexagones, respectivement pour le PERG, fERG et mfERG) furent délivrées par un stimulateur ganzfeld appelé « MonPackOne » (Métrovision, Pérenchies, France) qui apporte une illumination homogène sur l'ensemble du champ et permet également l'adaptation à la lumière. Le protocole d'ERG débute par l'examen du PERG, puis, après dilatation pupillaire, de l'ERG flash, de l'ERG ON-OFF et enfin de l'ERG mf.

IX. BIBLIOGRAPHIE

1. Yoon JH, Sheremata SL, Rokem A, Silver MA. Windows to the soul: vision science as a tool for studying biological mechanisms of information processing deficits in schizophrenia. *Front Psychol.* 2013;4:681.
2. Silverstein SM, Keane BP. Vision science and schizophrenia research: toward a re-view of the disorder. Editors' introduction to special section. *Schizophr Bull.* juill 2011;37(4):681-9.
3. Lavoie J, Maziade M, Hébert M. The brain through the retina: The flash electroretinogram as a tool to investigate psychiatric disorders. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry.* 3 janv 2014;48:129-34.
4. Schwitzer T, Lavoie J, Giersch A, Schwan R, Laprevote V. The emerging field of retinal electrophysiological measurements in psychiatric research: A review of the findings and the perspectives in major depressive disorder. *J Psychiatr Res.* 10 sept 2015;70:113-20.
5. Schwitzer T, Schwan R, Angioi-Duprez K, Ingster-Moati I, Lalanne L, Giersch A, et al. The cannabinoid system and visual processing: A review on experimental findings and clinical presumptions. *Eur Neuropsychopharmacol J Eur Coll Neuropsychopharmacol.* janv 2015;25(1):100-12.
6. Scarr E, Millan MJ, Bahn S, Bertolino A, Turck CW, Kapur S, et al. Biomarkers for Psychiatry: The Journey from Fantasy to Fact, a Report of the 2013 CINP Think Tank. *Int J Neuropsychopharmacol Off Sci J Coll Int Neuropsychopharmacol CINP.* 2015;18(10).
7. Boksa P. A way forward for research on biomarkers for psychiatric disorders. *J Psychiatry Neurosci JPN.* mars 2013;38(2):75-7.
8. Schmidt HD, Shelton RC, Duman RS. Functional biomarkers of depression: diagnosis, treatment, and pathophysiology. *Neuropsychopharmacol Off Publ Am Coll Neuropsychopharmacol.* nov 2011;36(12):2375-94.
9. Kluge W, Alsaif M, Guest PC, Schwarz E, Bahn S. Translating potential biomarker candidates for schizophrenia and depression to animal models of psychiatric disorders. *Expert Rev Mol Diagn.* sept 2011;11(7):721-33.
10. Oquendo MA, McGrath P, Weissman MM. Biomarker studies and the future of personalized treatment for depression. *Depress Anxiety.* nov 2014;31(11):902-5.
11. Carter CS, Barch DM, the CNTRICS Executive Committee. Imaging Biomarkers for Treatment Development for Impaired Cognition: Report of the Sixth CNTRICS Meeting: Biomarkers Recommended for Further Development. *Schizophr Bull.* 12 sept 2011;38(1):26-33.
12. Cherpitel CJ. Severity and disability of injury: markers for screening for problem drinking in the emergency department? *J Addict Nurs.* juin 2013;24(2):69-70.

13. Sethi S, Brietzke E. Omics-Based Biomarkers: Application of Metabolomics in Neuropsychiatric Disorders. *Int J Neuropsychopharmacol Off Sci J Coll Int Neuropsychopharmacol CINP*. 9 oct 2015;
14. Lopresti AL, Maker GL, Hood SD, Drummond PD. A review of peripheral biomarkers in major depression: the potential of inflammatory and oxidative stress biomarkers. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry*. 3 janv 2014;48:102-11.
15. Lener MS, Iosifescu DV. In pursuit of neuroimaging biomarkers to guide treatment selection in major depressive disorder: a review of the literature. *Ann N Y Acad Sci*. mai 2015;1344:50-65.
16. Kalia M, Costa E Silva J. Biomarkers of psychiatric diseases: current status and future prospects. *Metabolism*. mars 2015;64(3 Suppl 1):S11-15.
17. Huang T-L, Lin C-C. Advances in biomarkers of major depressive disorder. *Adv Clin Chem*. 2015;68:177-204.
18. Güell F, Bernácer J. Anatomical constitution of sense organs as a marker of mental disorders. *Front Behav Neurosci*. 2015;9:59.
19. Degenhardt L, Chiu W-T, Sampson N, Kessler RC, Anthony JC, Angermeyer M, et al. Toward a global view of alcohol, tobacco, cannabis, and cocaine use: findings from the WHO World Mental Health Surveys. *PLoS Med*. 1 juill 2008;5(7):e141.
20. European Monitoring Centre for Drugs and Drug Addiction, Publications Office of the European Union. Annual report 2010: the state of the drugs problem in Europe. Luxembourg: Publications Office of the European Union; 2010.
21. Drogues, Chiffres clés - 6ème édition. OFDT St-Denis. 2015;
22. Costes J-M. Cannabis, données essentielles. Observatoire français des drogues et des toxicomanies; 2007.
23. Bello P-Y, Toufik A, Gandilhon M, Evrard I. À propos du cannabis en France en 2004. OFDT St-Denis [Internet]. 2005 [cité 3 juill 2014]; Disponible sur: http://www.ofdt.fr/ofdtdev/live/publi/rapports/rap05/epfxpblb_fr.html
24. Spilka S, Le Nézet O. Alcool, tabac et cannabis durant les « années lycée ». *Tend OFDT St-Denis*. 2013;
25. Spilka S, Le Nézet O. Alcool, tabac et cannabis durant les « années collège ». *Tend OFDT St-Denis*. 2012;
26. Mechoulam R, Parker LA. The Endocannabinoid System and the Brain. *Annu Rev Psychol*. 3 janv 2013;64(1):21-47.
27. McGilveray IJ. Pharmacokinetics of cannabinoids. *Pain Res Manag J Can Pain Soc J Société Can Pour Trait Douleur*. 2005;10 Suppl A:15A-22A.

28. Volkow ND, Baler RD, Compton WM, Weiss SRB. Adverse health effects of marijuana use. *N Engl J Med*. 5 juin 2014;370(23):2219-27.
29. Mangot AG. Bad trip due to anticholinergic effect of cannabis. *Gen Hosp Psychiatry*. déc 2013;35(6):682.e5-6.
30. Delforterie MJ, Lynskey MT, Huizink AC, Creemers HE, Grant JD, Few LR, et al. The relationship between cannabis involvement and suicidal thoughts and behaviors. *Drug Alcohol Depend*. 1 mai 2015;150:98-104.
31. Patton GC, Coffey C, Carlin JB, Degenhardt L, Lynskey M, Hall W. Cannabis use and mental health in young people: cohort study. *BMJ*. 23 nov 2002;325(7374):1195-8.
32. Bui QM, Simpson S, Nordstrom K. Psychiatric and medical management of marijuana intoxication in the emergency department. *West J Emerg Med*. mai 2015;16(3):414-7.
33. van Heugten-Van der Kloet D, Giesbrecht T, van Wel J, Bosker WM, Kuypers KPC, Theunissen EL, et al. MDMA, cannabis, and cocaine produce acute dissociative symptoms. *Psychiatry Res*. 30 août 2015;228(3):907-12.
34. Caspi A, Moffitt TE, Cannon M, McClay J, Murray R, Harrington H, et al. Moderation of the effect of adolescent-onset cannabis use on adult psychosis by a functional polymorphism in the catechol-O-methyltransferase gene: longitudinal evidence of a gene X environment interaction. *Biol Psychiatry*. 15 mai 2005;57(10):1117-27.
35. Moore THM, Zammit S, Lingford-Hughes A, Barnes TRE, Jones PB, Burke M, et al. Cannabis use and risk of psychotic or affective mental health outcomes: a systematic review. *Lancet*. 28 juill 2007;370(9584):319-28.
36. Casadio P, Fernandes C, Murray RM, Di Forti M. Cannabis use in young people: The risk for schizophrenia. *Neurosci Biobehav Rev*. août 2011;35(8):1779-87.
37. Bossong MG, Niesink RJM. Adolescent brain maturation, the endogenous cannabinoid system and the neurobiology of cannabis-induced schizophrenia. *Prog Neurobiol*. nov 2010;92(3):370-85.
38. Di Forti M, Sallis H, Allegri F, Trotta A, Ferraro L, Stilo SA, et al. Daily use, especially of high-potency cannabis, drives the earlier onset of psychosis in cannabis users. *Schizophr Bull*. nov 2014;40(6):1509-17.
39. Schlossarek S, Kempkensteffen J, Reimer J, Verthein U. Psychosocial Determinants of Cannabis Dependence: A Systematic Review of the Literature. *Eur Addict Res*. 2016;22(3):131-44.
40. Gorelick DA, Levin KH, Copersino ML, Heishman SJ, Liu F, Boggs DL, et al. Diagnostic criteria for cannabis withdrawal syndrome. *Drug Alcohol Depend*. 1 juin 2012;123(1-3):141-7.
41. Hall W, Degenhardt L. Prevalence and correlates of cannabis use in developed and developing countries. *Curr Opin Psychiatry*. juill 2007;20(4):393-7.

42. Campbell I. The amotivational syndrome and cannabis use with emphasis on the Canadian scene. *Ann N Y Acad Sci.* 1976;282:33-6.
43. DSM-V Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders. 2013^e éd.
44. Laprevote V, Schwan R, Schwitzer T, Rolland B, Thome J. Is There a Place for Off-Label Pharmacotherapy in Cannabis Use Disorder? A Review on Efficacy and Safety. *Curr Pharm Des.* 2015;21(23):3298-305.
45. Gray KM, Carpenter MJ, Baker NL, DeSantis SM, Kryway E, Hartwell KJ, et al. A double-blind randomized controlled trial of N-acetylcysteine in cannabis-dependent adolescents. *Am J Psychiatry.* août 2012;169(8):805-12.
46. Gray KM, Watson NL, Carpenter MJ, Larowe SD. N-acetylcysteine (NAC) in young marijuana users: an open-label pilot study. *Am J Addict Am Acad Psychiatr Alcohol Addict.* avr 2010;19(2):187-9.
47. Mason BJ, Crean R, Goodell V, Light JM, Quello S, Shadan F, et al. A proof-of-concept randomized controlled study of gabapentin: effects on cannabis use, withdrawal and executive function deficits in cannabis-dependent adults. *Neuropsychopharmacol Off Publ Am Coll Neuropsychopharmacol.* juin 2012;37(7):1689-98.
48. Cornelius JR, Bukstein OG, Douaihy AB, Clark DB, Chung TA, Daley DC, et al. Double-blind fluoxetine trial in comorbid MDD-CUD youth and young adults. *Drug Alcohol Depend.* 1 nov 2010;112(1-2):39-45.
49. Cornelius JR, Salloum IM, Haskett RF, Ehler JG, Jarrett PJ, Thase ME, et al. Fluoxetine versus placebo for the marijuana use of depressed alcoholics. *Addict Behav.* févr 1999;24(1):111-4.
50. Cornelius JR, Salloum IM, Ferrell R, Douaihy AB, Hayes J, Kirisci L, et al. TREATMENT TRIAL AND LONG-TERM FOLLOW-UP EVALUATION AMONG COMORBID YOUTH WITH MAJOR DEPRESSION AND A CANNABIS USE DISORDER. *Int J Med Biol Front.* 2012;18(6):399-411.
51. Haney M, Hart CL, Vosburg SK, Nasser J, Bennett A, Zubarán C, et al. Marijuana withdrawal in humans: effects of oral THC or divalproex. *Neuropsychopharmacol Off Publ Am Coll Neuropsychopharmacol.* janv 2004;29(1):158-70.
52. Levin FR, McDowell D, Evans SM, Nunes E, Akerele E, Donovan S, et al. Pharmacotherapy for marijuana dependence: a double-blind, placebo-controlled pilot study of divalproex sodium. *Am J Addict Am Acad Psychiatr Alcohol Addict.* févr 2004;13(1):21-32.
53. Haney M, Hart CL, Vosburg SK, Comer SD, Reed SC, Foltin RW. Effects of THC and lofexidine in a human laboratory model of marijuana withdrawal and relapse. *Psychopharmacology (Berl).* mars 2008;197(1):157-68.

54. Budney AJ, Vandrey RG, Hughes JR, Moore BA, Bahrenburg B. Oral delta-9-tetrahydrocannabinol suppresses cannabis withdrawal symptoms. *Drug Alcohol Depend.* 5 janv 2007;86(1):22-9.
55. Levin FR, Mariani JJ, Brooks DJ, Pavlicova M, Cheng W, Nunes EV. Dronabinol for the treatment of cannabis dependence: a randomized, double-blind, placebo-controlled trial. *Drug Alcohol Depend.* 1 juill 2011;116(1-3):142-50.
56. Levin FR, Kleber HD. Use of dronabinol for cannabis dependence: two case reports and review. *Am J Addict Am Acad Psychiatr Alcohol Addict.* avr 2008;17(2):161-4.
57. Bedi G, Cooper ZD, Haney M. Subjective, cognitive and cardiovascular dose-effect profile of nabilone and dronabinol in marijuana smokers. *Addict Biol.* sept 2013;18(5):872-81.
58. Haney M, Cooper ZD, Bedi G, Vosburg SK, Comer SD, Foltin RW. Nabilone decreases marijuana withdrawal and a laboratory measure of marijuana relapse. *Neuropsychopharmacol Off Publ Am Coll Neuropsychopharmacol.* juill 2013;38(8):1557-65.
59. Allsop DJ, Copeland J, Lintzeris N, Dunlop AJ, Montebello M, Sadler C, et al. Nabiximols as an agonist replacement therapy during cannabis withdrawal: a randomized clinical trial. *JAMA Psychiatry.* mars 2014;71(3):281-91.
60. Etter J-F. Electronic cigarettes and cannabis: an exploratory study. *Eur Addict Res.* 2015;21(3):124-30.
61. Jensen RP, Luo W, Pankow JF, Strongin RM, Peyton DH. Hidden formaldehyde in e-cigarette aerosols. *N Engl J Med.* 22 janv 2015;372(4):392-4.
62. Danovitch I, Gorelick DA. State of the art treatments for cannabis dependence. *Psychiatr Clin North Am.* juin 2012;35(2):309-26.
63. Gaoni Y, Mechoulam R. Isolation, Structure, and Partial Synthesis of an Active Constituent of Hashish. *J Am Chem Soc.* avr 1964;86(8):1646-7.
64. Mechoulam R, Braun P, Gaoni Y. Stereospecific synthesis of (-)-DELTA.1- and (-)-.DELTA.1(6)-tetrahydrocannabinols. *J Am Chem Soc.* août 1967;89(17):4552-4.
65. Mechoulam R, Shvo Y. Hashish—I : The structure of Cannabidiol. *Tetrahedron.* 1963;19(12):2073-8.
66. Mechoulam R, Peters M, Murillo-Rodriguez E, Hanus LO. Cannabidiol--recent advances. *Chem Biodivers.* août 2007;4(8):1678-92.
67. Potter DJ, Clark P, Brown MB. Potency of delta 9-THC and other cannabinoids in cannabis in England in 2005: implications for psychoactivity and pharmacology. *J Forensic Sci.* janv 2008;53(1):90-4.

68. Schubart CD, Sommer IEC, Fusar-Poli P, de Witte L, Kahn RS, Boks MPM. Cannabidiol as a potential treatment for psychosis. *Eur Neuropsychopharmacol J Eur Coll Neuropsychopharmacol.* janv 2014;24(1):51-64.
69. Pertwee RG. The central neuropharmacology of psychotropic cannabinoids. *Pharmacol Ther.* 1988;36(2-3):189-261.
70. Abood ME, Martin BR. Neurobiology of marijuana abuse. *Trends Pharmacol Sci.* mai 1992;13(5):201-6.
71. Huestis MA. Human cannabinoid pharmacokinetics. *Chem Biodivers.* août 2007;4(8):1770-804.
72. Svízenská I, Dubový P, Sulcová A. Cannabinoid receptors 1 and 2 (CB1 and CB2), their distribution, ligands and functional involvement in nervous system structures--a short review. *Pharmacol Biochem Behav.* oct 2008;90(4):501-11.
73. Devane WA, Hanus L, Breuer A, Pertwee RG, Stevenson LA, Griffin G, et al. Isolation and structure of a brain constituent that binds to the cannabinoid receptor. *Science.* 18 déc 1992;258(5090):1946-9.
74. Sugiura T, Kondo S, Sukagawa A, Nakane S, Shinoda A, Itoh K, et al. 2-Arachidonoylglycerol: a possible endogenous cannabinoid receptor ligand in brain. *Biochem Biophys Res Commun.* 4 oct 1995;215(1):89-97.
75. Munro S, Thomas KL, Abu-Shaar M. Molecular characterization of a peripheral receptor for cannabinoids. *Nature.* 2 sept 1993;365(6441):61-5.
76. Howlett AC, Qualy JM, Khachatrian LL. Involvement of Gi in the inhibition of adenylate cyclase by cannabimimetic drugs. *Mol Pharmacol.* 3 janv 1986;29(3):307-13.
77. Devane WA, Dysarz FA, Johnson MR, Melvin LS, Howlett AC. Determination and characterization of a cannabinoid receptor in rat brain. *Mol Pharmacol.* 11 janv 1988;34(5):605-13.
78. Howlett AC, Barth F, Bonner TI, Cabral G, Casellas P, Devane WA, et al. International Union of Pharmacology. XXVII. Classification of cannabinoid receptors. *Pharmacol Rev.* juin 2002;54(2):161-202.
79. Croci T, Manara L, Areggi G, Guagnini F, Rinaldi-Carmona M, Maffrand JP, et al. In vitro functional evidence of neuronal cannabinoid CB1 receptors in human ileum. *Br J Pharmacol.* déc 1998;125(7):1393-5.
80. Wagner JA, Járαι Z, Bátkai S, Kunos G. Hemodynamic effects of cannabinoids: coronary and cerebral vasodilation mediated by cannabinoid CB(1) receptors. *Eur J Pharmacol.* 6 juill 2001;423(2-3):203-10.
81. Herkenham M, Lynn AB, Little MD, Johnson MR, Melvin LS, de Costa BR, et al. Cannabinoid receptor localization in brain. *Proc Natl Acad Sci U S A.* mars 1990;87(5):1932-6.

82. Herkenham M, Lynn AB, Johnson MR, Melvin LS, de Costa BR, Rice KC. Characterization and localization of cannabinoid receptors in rat brain: a quantitative in vitro autoradiographic study. *J Neurosci Off J Soc Neurosci.* févr 1991;11(2):563-83.
83. Glass M, Dragunow M, Faull RL. Cannabinoid receptors in the human brain: a detailed anatomical and quantitative autoradiographic study in the fetal, neonatal and adult human brain. *Neuroscience.* mars 1997;77(2):299-318.
84. Hohmann AG, Herkenham M. Cannabinoid receptors undergo axonal flow in sensory nerves. *Neuroscience.* 1999;92(4):1171-5.
85. Mailleux P, Parmentier M, Vanderhaeghen JJ. Distribution of cannabinoid receptor messenger RNA in the human brain: an in situ hybridization histochemistry with oligonucleotides. *Neurosci Lett.* 31 août 1992;143(1-2):200-4.
86. Moldrich G, Wenger T. Localization of the CB1 cannabinoid receptor in the rat brain. An immunohistochemical study. *Peptides.* nov 2000;21(11):1735-42.
87. Tsou K, Brown S, Sañudo-Peña MC, Mackie K, Walker JM. Immunohistochemical distribution of cannabinoid CB1 receptors in the rat central nervous system. *Neuroscience.* mars 1998;83(2):393-411.
88. Westlake TM, Howlett AC, Bonner TI, Matsuda LA, Herkenham M. Cannabinoid receptor binding and messenger RNA expression in human brain: An in vitro receptor autoradiography and in situ hybridization histochemistry study of normal aged and Alzheimer's brains. *Neuroscience.* déc 1994;63(3):637-52.
89. Fride E, Gobshtis N, Dahan H, Weller A, Giuffrida A, Ben-Shabat S. The endocannabinoid system during development: emphasis on perinatal events and delayed effects. *Vitam Horm.* 2009;81:139-58.
90. Romero J, Garcia-Palomero E, Berrendero F, Garcia-Gil L, Hernandez ML, Ramos JA, et al. Atypical location of cannabinoid receptors in white matter areas during rat brain development. *Synap N Y N.* juill 1997;26(3):317-23.
91. Wilson RI, Nicoll RA. Endogenous cannabinoids mediate retrograde signalling at hippocampal synapses. *Nature.* 29 mars 2001;410(6828):588-92.
92. Caenazzo L, Hoehe MR, Hsieh WT, Berrettini WH, Bonner TI, Gershon ES. HindIII identifies a two allele DNA polymorphism of the human cannabinoid receptor gene (CNR). *Nucleic Acids Res.* 11 sept 1991;19(17):4798.
93. Ashton JC, Friberg D, Darlington CL, Smith PF. Expression of the cannabinoid CB2 receptor in the rat cerebellum: an immunohistochemical study. *Neurosci Lett.* 27 mars 2006;396(2):113-6.
94. Onaivi ES, Ishiguro H, Gong J-P, Patel S, Meozzi PA, Myers L, et al. Brain neuronal CB2 cannabinoid receptors in drug abuse and depression: from mice to human subjects. *PLoS One.* 2008;3(2):e1640.

95. Van Sickle MD. Identification and Functional Characterization of Brainstem Cannabinoid CB2 Receptors. *Science*. 14 oct 2005;310(5746):329-32.
96. Gong J-P, Onaivi ES, Ishiguro H, Liu Q-R, Tagliaferro PA, Brusco A, et al. Cannabinoid CB2 receptors: immunohistochemical localization in rat brain. *Brain Res*. 3 févr 2006;1071(1):10-23.
97. Núñez E, Benito C, Pazos MR, Barbachano A, Fajardo O, González S, et al. Cannabinoid CB2 receptors are expressed by perivascular microglial cells in the human brain: an immunohistochemical study. *Synap N Y N*. 15 sept 2004;53(4):208-13.
98. Stella N. Cannabinoid signaling in glial cells. *Glia*. déc 2004;48(4):267-77.
99. Pacher P, Mechoulam R. Is lipid signaling through cannabinoid 2 receptors part of a protective system? *Prog Lipid Res*. avr 2011;50(2):193-211.
100. Condie R, Herring A, Koh WS, Lee M, Kaminski NE. Cannabinoid inhibition of adenylate cyclase-mediated signal transduction and interleukin 2 (IL-2) expression in the murine T-cell line, EL4.IL-2. *J Biol Chem*. 31 mai 1996;271(22):13175-83.
101. Fernández-Ruiz J, Romero J, Velasco G, Tolón RM, Ramos JA, Guzmán M. Cannabinoid CB2 receptor: a new target for controlling neural cell survival? *Trends Pharmacol Sci*. janv 2007;28(1):39-45.
102. Sánchez C, de Ceballos ML, Gomez del Pulgar T, Rueda D, Corbacho C, Velasco G, et al. Inhibition of glioma growth in vivo by selective activation of the CB(2) cannabinoid receptor. *Cancer Res*. 1 août 2001;61(15):5784-9.
103. Caffarel MM, Sarrió D, Palacios J, Guzmán M, Sánchez C. Delta9-tetrahydrocannabinol inhibits cell cycle progression in human breast cancer cells through Cdc2 regulation. *Cancer Res*. 1 juill 2006;66(13):6615-21.
104. Raitio KH, Salo OMH, Nevalainen T, Poso A, Järvinen T. Targeting the cannabinoid CB2 receptor: mutations, modeling and development of CB2 selective ligands. *Curr Med Chem*. 2005;12(10):1217-37.
105. Mackie K, Stella N. Cannabinoid receptors and endocannabinoids: evidence for new players. *AAPS J*. 2006;8(2):E298-306.
106. Baker D, Pryce G, Davies WL, Hiley CR. In silico patent searching reveals a new cannabinoid receptor. *Trends Pharmacol Sci*. janv 2006;27(1):1-4.
107. Mechoulam R, Ben-Shabat S, Hanus L, Ligumsky M, Kaminski NE, Schatz AR, et al. Identification of an endogenous 2-monoglyceride, present in canine gut, that binds to cannabinoid receptors. *Biochem Pharmacol*. 29 juin 1995;50(1):83-90.
108. Sulcova E, Mechoulam R, Fride E. Biphasic effects of anandamide. *Pharmacol Biochem Behav*. févr 1998;59(2):347-52.

109. Fu J, Bottegoni G, Sasso O, Bertorelli R, Rocchia W, Masetti M, et al. A catalytically silent FAAH-1 variant drives anandamide transport in neurons. *Nat Neurosci.* janv 2012;15(1):64-9.
110. Gardner EL. Endocannabinoid signaling system and brain reward: emphasis on dopamine. *Pharmacol Biochem Behav.* juin 2005;81(2):263-84.
111. Glass M, Northup JK. Agonist selective regulation of G proteins by cannabinoid CB(1) and CB(2) receptors. *Mol Pharmacol.* déc 1999;56(6):1362-9.
112. Felder CC, Joyce KE, Briley EM, Mansouri J, Mackie K, Blond O, et al. Comparison of the pharmacology and signal transduction of the human cannabinoid CB1 and CB2 receptors. *Mol Pharmacol.* sept 1995;48(3):443-50.
113. Egertová M, Elphick MR. Localisation of cannabinoid receptors in the rat brain using antibodies to the intracellular C-terminal tail of CB. *J Comp Neurol.* 26 juin 2000;422(2):159-71.
114. Ralevic V, Kendall DA, Randall MD, Smart D. Cannabinoid modulation of sensory neurotransmission via cannabinoid and vanilloid receptors: roles in regulation of cardiovascular function. *Life Sci.* 18 oct 2002;71(22):2577-94.
115. Childers SR, Breivogel CS. Cannabis and endogenous cannabinoid systems. *Drug Alcohol Depend.* juill 1998;51(1-2):173-87.
116. Sugiura T, Waku K. 2-Arachidonoylglycerol and the cannabinoid receptors. *Chem Phys Lipids.* nov 2000;108(1-2):89-106.
117. Hanus L, Abu-Lafi S, Fride E, Breuer A, Vogel Z, Shalev DE, et al. 2-arachidonoyl glyceryl ether, an endogenous agonist of the cannabinoid CB1 receptor. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 27 mars 2001;98(7):3662-5.
118. Fezza F, Bisogno T, Minassi A, Appendino G, Mechoulam R, Di Marzo V. Noladin ether, a putative novel endocannabinoid: inactivation mechanisms and a sensitive method for its quantification in rat tissues. *FEBS Lett.* 27 févr 2002;513(2-3):294-8.
119. Huang SM, Bisogno T, Trevisani M, Al-Hayani A, De Petrocellis L, Fezza F, et al. An endogenous capsaicin-like substance with high potency at recombinant and native vanilloid VR1 receptors. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 11 juin 2002;99(12):8400-5.
120. Egertová M, Simon GM, Cravatt BF, Elphick MR. Localization of N-acyl phosphatidylethanolamine phospholipase D (NAPE-PLD) expression in mouse brain: A new perspective on N-acylethanolamines as neural signaling molecules. *J Comp Neurol.* 1 févr 2008;506(4):604-15.
121. Egertová M, Cravatt BF, Elphick MR. Comparative analysis of fatty acid amide hydrolase and cb(1) cannabinoid receptor expression in the mouse brain: evidence of a widespread role for fatty acid amide hydrolase in regulation of endocannabinoid signaling. *Neuroscience.* 2003;119(2):481-96.

122. Deutsch DG, Chin SA. Enzymatic synthesis and degradation of anandamide, a cannabinoid receptor agonist. *Biochem Pharmacol.* 1 sept 1993;46(5):791-6.
123. Yoshida T, Fukaya M, Uchigashima M, Miura E, Kamiya H, Kano M, et al. Localization of diacylglycerol lipase- α around postsynaptic spine suggests close proximity between production site of an endocannabinoid, 2-arachidonoyl-glycerol, and presynaptic cannabinoid CB1 receptor. *J Neurosci Off J Soc Neurosci.* 3 mai 2006;26(18):4740-51.
124. Dinh TP, Freund TF, Piomelli D. A role for monoglyceride lipase in 2-arachidonoylglycerol inactivation. *Chem Phys Lipids.* 31 déc 2002;121(1-2):149-58.
125. Dinh TP, Carpenter D, Leslie FM, Freund TF, Katona I, Sensi SL, et al. Brain monoglyceride lipase participating in endocannabinoid inactivation. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 6 août 2002;99(16):10819-24.
126. Gaetani S, DiPasquale P, Romano A, Righetti L, Cassano T, Piomelli D, et al. The endocannabinoid system as a target for novel anxiolytic and antidepressant drugs. *Int Rev Neurobiol.* 2009;85:57-72.
127. Howlett AC, Mukhopadhyay S. Cellular signal transduction by anandamide and 2-arachidonoylglycerol. *Chem Phys Lipids.* nov 2000;108(1-2):53-70.
128. Shen M, Piser TM, Seybold VS, Thayer SA. Cannabinoid receptor agonists inhibit glutamatergic synaptic transmission in rat hippocampal cultures. *J Neurosci Off J Soc Neurosci.* 15 juill 1996;16(14):4322-34.
129. Gifford AN, Samiiian L, Gatley SJ, Ashby CR. Examination of the effect of the cannabinoid receptor agonist, CP 55,940, on electrically evoked transmitter release from rat brain slices. *Eur J Pharmacol.* 18 avr 1997;324(2-3):187-92.
130. Schlicker E, Timm J, Zentner J, Göthert M. Cannabinoid CB1 receptor-mediated inhibition of noradrenaline release in the human and guinea-pig hippocampus. *Naunyn Schmiedebergs Arch Pharmacol.* nov 1997;356(5):583-9.
131. Yazulla S. Endocannabinoids in the retina: From marijuana to neuroprotection. *Prog Retin Eye Res.* sept 2008;27(5):501-26.
132. Sinn R, Wittbrodt J. An eye on eye development. *Mech Dev.* août 2013;130(6-8):347-58.
133. McMahon DG, Iuvone PM, Tosini G. Circadian organization of the mammalian retina: from gene regulation to physiology and diseases. *Prog Retin Eye Res.* mars 2014;39:58-76.
134. Hoon M, Okawa H, Della Santina L, Wong ROL. Functional architecture of the retina: Development and disease. *Prog Retin Eye Res.* sept 2014;42C:44-84.

135. Schwitzer T, Schwan R, Angioi-Duprez K, Giersch A, Laprevote V. The Endocannabinoid System in the Retina: From Physiology to Practical and Therapeutic Applications. *Neural Plast.* 2016;2016:2916732.
136. Purves, D., Augustine, G.J., Fitzpatrick, D., Hall, W.C., LaMantia, A.S., McNamara, J.O., Williams, S.M., *Neuroscience: Third Edition*, ed. I. Sinauer Associates. 2004, Sunderland, Massachusetts.
137. Adler's physiology of the eye - 11th ed., ed. S. Elsevier. 2011. 205.
138. Rigaudière F. III-1 : LA RETINE : ORGANISATION SCHEMATIQUE. In: OEIL ET PHYSIOLOGIE DE LA VISION [Internet]. Rigaudiere(Florence); 2012 [cité 24 févr 2016]. Disponible sur:
<http://lodel.irevues.inist.fr/oeiletphysiologiedelavision/index.php?id=212>
139. Nguyen-Legros J, Hicks D. Renewal of photoreceptor outer segments and their phagocytosis by the retinal pigment epithelium. *Int Rev Cytol.* 2000;196:245-313.
140. Bok D. The retinal pigment epithelium: a versatile partner in vision. *J Cell Sci Suppl.* 1993;17:189-95.
141. Wimmers S, Karl MO, Strauss O. Ion channels in the RPE. *Prog Retin Eye Res.* mai 2007;26(3):263-301.
142. Strauss O. The retinal pigment epithelium in visual function. *Physiol Rev.* juill 2005;85(3):845-81.
143. Hu D-N, Simon JD, Sarna T. Role of ocular melanin in ophthalmic physiology and pathology. *Photochem Photobiol.* juin 2008;84(3):639-44.
144. Masland RH. The neuronal organization of the retina. *Neuron.* 18 oct 2012;76(2):266-80.
145. Stockman A, Sharpe LT. Into the twilight zone: the complexities of mesopic vision and luminous efficiency. *Ophthalmic Physiol Opt J Br Coll Ophthalmic Opt Optom.* mai 2006;26(3):225-39.
146. Okano T, Fukada Y, Yoshizawa T. Molecular basis for tetrachromatic color vision. *Comp Biochem Physiol B Biochem Mol Biol.* nov 1995;112(3):405-14.
147. Rigaudière F. OEIL ET PHYSIOLOGIE DE LA VISION [Internet]. Rigaudiere(Florence); 2009 [cité 13 mai 2016]. Disponible sur:
<http://lodel.irevues.inist.fr/oeiletphysiologiedelavision/index.php?id=102>
148. Baylor D. How photons start vision. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 23 janv 1996;93(2):560-5.
149. Korenbrot JI. Speed, sensitivity, and stability of the light response in rod and cone photoreceptors: facts and models. *Prog Retin Eye Res.* sept 2012;31(5):442-66.

150. Wu SM. Synaptic organization of the vertebrate retina: general principles and species-specific variations: the Friedenwald lecture. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* mars 2010;51(3):1263-74.
151. Ahnelt PK, Kolb H. The mammalian photoreceptor mosaic-adaptive design. *Prog Retin Eye Res.* nov 2000;19(6):711-77.
152. Smith SJ, Augustine GJ. Calcium ions, active zones and synaptic transmitter release. *Trends Neurosci.* oct 1988;11(10):458-64.
153. Schmitz Y, Witkovsky P. Dependence of photoreceptor glutamate release on a dihydropyridine-sensitive calcium channel. *Neuroscience.* juin 1997;78(4):1209-16.
154. Korenbrot JI, Rebrik TI. Tuning outer segment Ca²⁺ homeostasis to phototransduction in rods and cones. *Adv Exp Med Biol.* 2002;514:179-203.
155. Lagnado L. Signal amplification: let's turn down the lights. *Curr Biol CB.* 19 mars 2002;12(6):R215-217.
156. Dizhoor A. Site-directed and natural mutations in studying functional domains in guanylyl cyclase activating proteins (GCAPs). *Adv Exp Med Biol.* 2002;514:291-301.
157. Pepe IM. Recent advances in our understanding of rhodopsin and phototransduction. *Prog Retin Eye Res.* nov 2001;20(6):733-59.
158. Phototransduction in Rods and Cones by Yingbin Fu – Webvision [Internet]. [cité 4 mai 2016]. Disponible sur: <http://webvision.med.utah.edu/book/part-v-phototransduction-in-rods-and-cones/phototransduction-in-rods-and-cones/>
159. Gerber U. Metabotropic glutamate receptors in vertebrate retina. *Doc Ophthalmol Adv Ophthalmol.* janv 2003;106(1):83-7.
160. DeVries SH. Bipolar cells use kainate and AMPA receptors to filter visual information into separate channels. *Neuron.* déc 2000;28(3):847-56.
161. Kolb H. The architecture of functional neural circuits in the vertebrate retina. The Proctor Lecture. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* avr 1994;35(5):2385-404.
162. Yang X-L. Characterization of receptors for glutamate and GABA in retinal neurons. *Prog Neurobiol.* juin 2004;73(2):127-50.
163. Shiells R, Falk G. Signal transduction in retinal bipolar cells. *Prog Retin Eye Res.* 1995;14(1):223-47.
164. Rigaudière F, Le Gargasson J-F. III-2 : LA NEURORETINE : ASPECTS FONCTIONNELS. In: OEIL ET PHYSIOLOGIE DE LA VISION [Internet]. Rigaudière(Florence); 2012 [cité 17 mars 2016]. Disponible sur: <http://lodel.irevues.inist.fr/oeiletphysiologiedelavision/index.php?id=215>
165. Matthews G. Synaptic mechanisms of bipolar cell terminals. *Vision Res.* juill 1999;39(15):2469-76.

166. Boycott B, Wässle H. Parallel processing in the mammalian retina: the Proctor Lecture. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* juin 1999;40(7):1313-27.
167. Famiglietti EV, Kolb H. Structural basis for ON-and OFF-center responses in retinal ganglion cells. *Science.* 8 oct 1976;194(4261):193-5.
168. Sand A, Schmidt TM, Kofuji P. Diverse types of ganglion cell photoreceptors in the mammalian retina. *Prog Retin Eye Res.* juill 2012;31(4):287-302.
169. Panda S, Nayak SK, Campo B, Walker JR, Hogenesch JB, Jegla T. Illumination of the melanopsin signaling pathway. *Science.* 28 janv 2005;307(5709):600-4.
170. Rigaudière F, Le Gargasson J-F. Explorations électrophysiologiques sensorielles : électrorétinogramme, électro-oculogramme, potentiels évoqués visuels. *EMC - Ophtalmol.* janv 2007;4(1):1-23.
171. Wu SM, Maple BR. Amino acid neurotransmitters in the retina: a functional overview. *Vision Res.* mai 1998;38(10):1371-84.
172. de Souza CF, Acosta ML, Polkinghorne PJ, McGhee CNJ, Kalloniatis M. Amino acid immunoreactivity in normal human retina and after brachytherapy. *Clin Exp Optom J Aust Optom Assoc.* sept 2013;96(5):504-7.
173. Crooks J, Kolb H. Localization of GABA, glycine, glutamate and tyrosine hydroxylase in the human retina. *J Comp Neurol.* 15 janv 1992;315(3):287-302.
174. Brandon C, Lam DM. L-glutamic acid: a neurotransmitter candidate for cone photoreceptors in human and rat retinas. *Proc Natl Acad Sci U S A.* août 1983;80(16):5117-21.
175. Slaughter MM, Miller RF. An excitatory amino acid antagonist blocks cone input to sign-conserving second-order retinal neurons. *Science.* 11 mars 1983;219(4589):1230-2.
176. Dixon DB, Copenhagen DR. Two types of glutamate receptors differentially excite amacrine cells in the tiger salamander retina. *J Physiol.* avr 1992;449:589-606.
177. Marc RE, Murry RF, Basinger SF. Pattern recognition of amino acid signatures in retinal neurons. *J Neurosci Off J Soc Neurosci.* juill 1995;15(7 Pt 2):5106-29.
178. Davanger S, Ottersen OP, Storm-Mathisen J. Glutamate, GABA, and glycine in the human retina: an immunocytochemical investigation. *J Comp Neurol.* 22 sept 1991;311(4):483-94.
179. Lukasiewicz PD, Shields CR. A diversity of GABA receptors in the retina. *Semin Cell Dev Biol.* juin 1998;9(3):293-9.
180. Witkovsky P. Dopamine and retinal function. *Doc Ophthalmol Adv Ophthalmol.* janv 2004;108(1):17-40.

181. Marshak DW. Synaptic inputs to dopaminergic neurons in mammalian retinas. *Prog Brain Res.* 2001;131:83-91.
182. He S, Weiler R, Vaney DI. Endogenous dopaminergic regulation of horizontal cell coupling in the mammalian retina. *J Comp Neurol.* 28 févr 2000;418(1):33-40.
183. Reis RAM, Ventura ALM, Kubrusly RCC, de Mello MCF, de Mello FG. Dopaminergic signaling in the developing retina. *Brain Res Rev.* avr 2007;54(1):181-8.
184. Beaulieu J-M, Gainetdinov RR. The physiology, signaling, and pharmacology of dopamine receptors. *Pharmacol Rev.* mars 2011;63(1):182-217.
185. Nguyen-Legros J, Simon A, Caillé I, Bloch B. Immunocytochemical localization of dopamine D1 receptors in the retina of mammals. *Vis Neurosci.* juin 1997;14(3):545-51.
186. Doi M, Yujnovsky I, Hirayama J, Malerba M, Tirotta E, Sassone-Corsi P, et al. Impaired light masking in dopamine D2 receptor-null mice. *Nat Neurosci.* juin 2006;9(6):732-4.
187. Skrandies W, Wässle H. Dopamine and serotonin in cat retina: electroretinography and histology. *Exp Brain Res.* 1988;71(2):231-40.
188. Huppé-Gourgues F, Coudé G, Lachapelle P, Casanova C. Effects of the intravitreal administration of dopaminergic ligands on the b-wave amplitude of the rabbit electroretinogram. *Vision Res.* janv 2005;45(2):137-45.
189. Holopigian K, Clewner L, Seiple W, Kupersmith MJ. The effects of dopamine blockade on the human flash electroretinogram. *Doc Ophthalmol Adv Ophthalmol.* 1994;86(1):1-10.
190. Wioland N, Rudolf G, Bonaventure N. Electrooculographic and electroretinographic study in the chicken after dopamine and haloperidol. *Doc Ophthalmol Adv Ophthalmol.* sept 1990;75(2):175-80.
191. Gastinger MJ, Tian N, Horvath T, Marshak DW. Retinopetal axons in mammals: emphasis on histamine and serotonin. *Curr Eye Res.* août 2006;31(7-8):655-67.
192. Liang J, Wessel JH 3rd, Iuvone PM, Tosini G, Fukuhara C. Diurnal rhythms of tryptophan hydroxylase 1 and 2 mRNA expression in the rat retina. *Neuroreport.* 28 juin 2004;15(9):1497-500.
193. Zhang X, Beaulieu J-M, Sotnikova TD, Gainetdinov RR, Caron MG. Tryptophan hydroxylase-2 controls brain serotonin synthesis. *Science.* 9 juill 2004;305(5681):217.
194. Walther DJ, Peter J-U, Bashammakh S, Hörtnagl H, Voits M, Fink H, et al. Synthesis of serotonin by a second tryptophan hydroxylase isoform. *Science.* 3 janv 2003;299(5603):76.
195. Barnes NM, Sharp T. A review of central 5-HT receptors and their function. *Neuropharmacology.* août 1999;38(8):1083-152.

196. Lima L, Urbina M. Serotonergic projections to the retina of rat and goldfish. *Neurochem Int.* févr 1998;32(2):133-41.
197. Delaey C, Van de Voorde J. Retinal arterial tone is controlled by a retinal-derived relaxing factor. *Circ Res.* 5 oct 1998;83(7):714-20.
198. Hayreh SS. Retinal and optic nerve head ischemic disorders and atherosclerosis: role of serotonin. *Prog Retin Eye Res.* mars 1999;18(2):191-221.
199. Boerrigter RM, Siertsema JV, Kema IP. Serotonin (5-HT) and the rat's eye. Some pilot studies. *Doc Ophthalmol Adv Ophthalmol.* 1992;82(1-2):141-50.
200. Thier P, Wässle H. Indoleamine-mediated reciprocal modulation of on-centre and off-centre ganglion cell activity in the retina of the cat. *J Physiol.* juin 1984;351:613-30.
201. Porciatti V, Alesci R, Bagnoli P, Signorini G, Raffaelli A. Serotonin depletion modifies the pigeon electroretinogram. *Doc Ophthalmol Adv Ophthalmol.* mai 1989;72(1):93-100.
202. Baghaie A, Yu Z, D'Souza RM. State-of-the-art in retinal optical coherence tomography image analysis. *Quant Imaging Med Surg.* août 2015;5(4):603-17.
203. London A, Benhar I, Schwartz M. The retina as a window to the brain-from eye research to CNS disorders. *Nat Rev Neurol.* janv 2013;9(1):44-53.
204. Yılmaz U, Küçük E, Ülgen A, Özköse A, Demircan S, Ulusoy DM, et al. Retinal nerve fiber layer and macular thickness measurement in patients with schizophrenia. *Eur J Ophthalmol.* 29 déc 2015;0.
205. Sergott RC, Frohman E, Glanzman R, Al-Sabbagh A, OCT in MS Expert Panel. The role of optical coherence tomography in multiple sclerosis: expert panel consensus. *J Neurol Sci.* 15 déc 2007;263(1-2):3-14.
206. Ascaso FJ, Cruz N, Modrego PJ, Lopez-Anton R, Santabárbara J, Pascual LF, et al. Retinal alterations in mild cognitive impairment and Alzheimer's disease: an optical coherence tomography study. *J Neurol.* août 2014;261(8):1522-30.
207. Garcia-Martin E, Rodriguez-Mena D, Satue M, Almarcegui C, Dolz I, Alarcia R, et al. Electrophysiology and optical coherence tomography to evaluate Parkinson disease severity. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* févr 2014;55(2):696-705.
208. Balogh Z, Benedek G, Kéri S. Retinal dysfunctions in schizophrenia. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry.* 1 janv 2008;32(1):297-300.
209. Hébert M, Mérette C, Paccalet T, Émond C, Gagné A-M, Sasseville A, et al. Light evoked potentials measured by electroretinogram may tap into the neurodevelopmental roots of schizophrenia. *Schizophr Res.* mars 2015;162(1-3):294-5.
210. Ascaso FJ, Rodriguez-Jimenez R, Cabezón L, López-Antón R, Santabárbara J, De la Cámara C, et al. Retinal nerve fiber layer and macular thickness in patients with

- schizophrenia: Influence of recent illness episodes. *Psychiatry Res.* 30 sept 2015;229(1-2):230-6.
211. Lee WW, Tajunisah I, Sharmilla K, Peyman M, Subrayan V. Retinal nerve fiber layer structure abnormalities in schizophrenia and its relationship to disease state: evidence from optical coherence tomography. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* nov 2013;54(12):7785-92.
212. Silverstein SM, Rosen R. Schizophrenia and the eye. *Schizophr Res Cogn.* juin 2015;2(2):46-55.
213. Staurengi G, Sadda S, Chakravarthy U, Spaide RF, International Nomenclature for Optical Coherence Tomography (IN•OCT) Panel. Proposed lexicon for anatomic landmarks in normal posterior segment spectral-domain optical coherence tomography: the IN•OCT consensus. *Ophthalmology.* août 2014;121(8):1572-8.
214. Holder GE, Celesia GG, Miyake Y, Tobimatsu S, Weleber RG, International Federation of Clinical Neurophysiology. International Federation of Clinical Neurophysiology: recommendations for visual system testing. *Clin Neurophysiol Off J Int Fed Clin Neurophysiol.* sept 2010;121(9):1393-409.
215. Bach M, Brigell MG, Hawlina M, Holder GE, Johnson MA, McCulloch DL, et al. ISCEV standard for clinical pattern electroretinography (PERG): 2012 update. *Doc Ophthalmol Adv Ophthalmol.* févr 2013;126(1):1-7.
216. McCulloch DL, Marmor MF, Brigell MG, Hamilton R, Holder GE, Tzekov R, et al. ISCEV Standard for full-field clinical electroretinography (2015 update). *Doc Ophthalmol Adv Ophthalmol.* févr 2015;130(1):1-12.
217. Hood DC, Bach M, Brigell M, Keating D, Kondo M, Lyons JS, et al. ISCEV standard for clinical multifocal electroretinography (mfERG) (2011 edition). *Doc Ophthalmol Adv Ophthalmol.* févr 2012;124(1):1-13.
218. Marmor MF, Brigell MG, McCulloch DL, Westall CA, Bach M, International Society for Clinical Electrophysiology of Vision. ISCEV standard for clinical electro-oculography (2010 update). *Doc Ophthalmol Adv Ophthalmol.* févr 2011;122(1):1-7.
219. Mortlock KE, Binns AM, Aldebasi YH, North RV. Inter-subject, inter-ocular and inter-session repeatability of the photopic negative response of the electroretinogram recorded using DTL and skin electrodes. *Doc Ophthalmol Adv Ophthalmol.* oct 2010;121(2):123-34.
220. Curcio CA, Allen KA. Topography of ganglion cells in human retina. *J Comp Neurol.* 1 oct 1990;300(1):5-25.
221. Maffei L, Fiorentini A, Bisti S, Holländer H. Pattern ERG in the monkey after section of the optic nerve. *Exp Brain Res.* 1985;59(2):423-5.
222. Holder GE. Significance of abnormal pattern electroretinography in anterior visual pathway dysfunction. *Br J Ophthalmol.* mars 1987;71(3):166-71.

223. Niepel G, Yamamoto F, Dodt E. Effect of pre-adaptation on pattern electroretinogram (P-ERG). *Doc Ophthalmol Adv Ophthalmol.* avr 1988;68(3-4):305-12.
224. Froehlich J, Kaufman DI. The pattern electroretinogram: N95 amplitudes in normal subjects and optic neuritis patients. *Electroencephalogr Clin Neurophysiol.* avr 1993;88(2):83-91.
225. Hull BM, Thompson DA. A review of the clinical applications of the pattern electroretinogram. *Ophthalmic Physiol Opt J Br Coll Ophthalmic Opt Optom.* avr 1989;9(2):143-52.
226. Viswanathan S, Frishman LJ, Robson JG. The uniform field and pattern ERG in macaques with experimental glaucoma: removal of spiking activity. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* août 2000;41(9):2797-810.
227. Porciatti V. Electrophysiological assessment of retinal ganglion cell function. *Exp Eye Res.* déc 2015;141:164-70.
228. Holder GE, Robson AG, Hogg CR, Kurz-Levin M, Lois N, Bird AC. Pattern ERG: clinical overview, and some observations on associated fundus autofluorescence imaging in inherited maculopathy. *Doc Ophthalmol Adv Ophthalmol.* janv 2003;106(1):17-23.
229. Holder GE. Electrophysiological assessment of optic nerve disease. *Eye Lond Engl.* nov 2004;18(11):1133-43.
230. Lachapelle P, Benoit J. Interpretation of the filtered 100- to 1000-Hz electroretinogram. *Doc Ophthalmol Adv Ophthalmol.* 1994;86(1):33-46.
231. Wachtmeister L. Oscillatory potentials in the retina: what do they reveal. *Prog Retin Eye Res.* oct 1998;17(4):485-521.
232. Granit R. The components of the retinal action potential in mammals and their relation to the discharge in the optic nerve. *J Physiol.* 8 févr 1933;77(3):207-39.
233. Jamison JA, Bush RA, Lei B, Sieving PA. Characterization of the rod photoresponse isolated from the dark-adapted primate ERG. *Vis Neurosci.* juin 2001;18(3):445-55.
234. Hood DC, Birch DG. Rod phototransduction in retinitis pigmentosa: estimation and interpretation of parameters derived from the rod a-wave. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* juin 1994;35(7):2948-61.
235. Breton ME, Schueller AW, Lamb TD, Pugh EN. Analysis of ERG a-wave amplification and kinetics in terms of the G-protein cascade of phototransduction. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* janv 1994;35(1):295-309.
236. Robson JG, Saszik SM, Ahmed J, Frishman LJ. Rod and cone contributions to the a-wave of the electroretinogram of the macaque. *J Physiol.* 1 mars 2003;547(Pt 2):509-30.
237. Hare WA, Ton H. Effects of APB, PDA, and TTX on ERG responses recorded using both multifocal and conventional methods in monkey. Effects of APB, PDA, and TTX

- on monkey ERG responses. *Doc Ophthalmol Adv Ophthalmol*. sept 2002;105(2):189-222.
238. Dhingra A, Lyubarsky A, Jiang M, Pugh EN, Birnbaumer L, Sterling P, et al. The light response of ON bipolar neurons requires G[alpha]o. *J Neurosci Off J Soc Neurosci*. 15 déc 2000;20(24):9053-8.
239. Stockton RA, Slaughter MM. B-wave of the electroretinogram. A reflection of ON bipolar cell activity. *J Gen Physiol*. janv 1989;93(1):101-22.
240. Frishman LJ. Origins of the electroretinogram. In: Heckenlively JR, Arden GB, editors. *Principles and practice of clinical electrophysiology of vision*. 2nd ed. Cambridge, MA: MIT Press; 2006. p. 139-83.
241. Newman EA, Odette LL. Model of electroretinogram b-wave generation: a test of the K⁺ hypothesis. *J Neurophysiol*. janv 1984;51(1):164-82.
242. Lei B, Perlman I. The contributions of voltage- and time-dependent potassium conductances to the electroretinogram in rabbits. *Vis Neurosci*. août 1999;16(4):743-54.
243. Robson JG, Frishman LJ. Dissecting the dark-adapted electroretinogram. *Doc Ophthalmol Adv Ophthalmol*. 1999 1998;95(3-4):187-215.
244. Dong C-J, Hare WA. GABA_c feedback pathway modulates the amplitude and kinetics of ERG b-wave in a mammalian retina in vivo. *Vision Res*. avr 2002;42(9):1081-7.
245. Peachey NS, Alexander KR, Derlacki DJ, Fishman GA. Light adaptation and the luminance-response function of the cone electroretinogram. *Doc Ophthalmol Adv Ophthalmol*. 1992;79(4):363-9.
246. Bush RA, Sieving PA. A proximal retinal component in the primate photopic ERG a-wave. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. févr 1994;35(2):635-45.
247. Gouras P, MacKay C. A new component in the a-wave of the human cone electroretinogram. *Doc Ophthalmol Adv Ophthalmol*. juill 2000;101(1):19-24.
248. Sieving PA, Murayama K, Naarendorp F. Push-pull model of the primate photopic electroretinogram: a role for hyperpolarizing neurons in shaping the b-wave. *Vis Neurosci*. juin 1994;11(3):519-32.
249. Ueno S, Kondo M, Niwa Y, Terasaki H, Miyake Y. Luminance dependence of neural components that underlies the primate photopic electroretinogram. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. mars 2004;45(3):1033-40.
250. Raether K, Zrenner E. Factors that influence the increase in the electroretinogram 30-Hz flicker amplitude during light adaptation. *Ger J Ophthalmol*. sept 1996;5(5):285-8.
251. Bush RA, Sieving PA. Inner retinal contributions to the primate photopic fast flicker electroretinogram. *J Opt Soc Am A Opt Image Sci Vis*. mars 1996;13(3):557-65.

252. Kondo M, Sieving PA. Post-photoreceptor activity dominates primate photopic 32-Hz ERG for sine-, square-, and pulsed stimuli. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* juill 2002;43(7):2500-7.
253. Kondo M, Sieving PA. Primate photopic sine-wave flicker ERG: vector modeling analysis of component origins using glutamate analogs. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* janv 2001;42(1):305-12.
254. Viswanathan S, Frishman LJ, Robson JG. Inner-retinal contributions to the photopic sinusoidal flicker electroretinogram of macaques. Macaque photopic sinusoidal flicker ERG. *Doc Ophthalmol Adv Ophthalmol.* sept 2002;105(2):223-42.
255. Sustar M, Hawlina M, Breclj J. ON- and OFF-response of the photopic electroretinogram in relation to stimulus characteristics. *Doc Ophthalmol Adv Ophthalmol.* juill 2006;113(1):43-52.
256. Iijima H. Rapid off-response and retinal receptor diseases. *Jpn J Ophthalmol.* 1984;28(2):147-58.
257. Quigley M, Roy MS, Barsoum-Homsy M, Chevrette L, Jacob JL, Milot J. On- and off-responses in the photopic electroretinogram in complete-type congenital stationary night blindness. *Doc Ophthalmol Adv Ophthalmol.* 1997 1996;92(3):159-65.
258. Ueno S, Kondo M, Ueno M, Miyata K, Terasaki H, Miyake Y. Contribution of retinal neurons to d-wave of primate photopic electroretinograms. *Vision Res.* mars 2006;46(5):658-64.
259. Keating D, Parks S, Evans AL, Williamson TH, Elliott AT, Jay JL. The effect of filter bandwidth on the multifocal electroretinogram. *Doc Ophthalmol Adv Ophthalmol.* 1997 1996;92(4):291-300.
260. Bearse MA, Sutter EE. Imaging localized retinal dysfunction with the multifocal electroretinogram. *J Opt Soc Am A Opt Image Sci Vis.* mars 1996;13(3):634-40.
261. Sutter EE, Tran D. The field topography of ERG components in man--I. The photopic luminance response. *Vision Res.* mars 1992;32(3):433-46.
262. Sutter E. The interpretation of multifocal binary kernels. *Doc Ophthalmol Adv Ophthalmol.* 2000;100(2-3):49-75.
263. Bock M, Andrassi M, Belitsky L, Lorenz B. A comparison of two multifocal ERG systems. *Doc Ophthalmol Adv Ophthalmol.* 1999 1998;97(2):157-78.
264. Kretschmann U, Bock M, Gockeln R, Zrenner E. Clinical applications of multifocal electroretinography. *Doc Ophthalmol Adv Ophthalmol.* 2000;100(2-3):99-113.
265. Kondo M, Miyake Y, Horiguchi M, Suzuki S, Tanikawa A. Clinical evaluation of multifocal electroretinogram. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* sept 1995;36(10):2146-50.

266. Le Gargasson J-F, Rigaudière F. V-4 : L'ELECTRORETINOGRAMME LOCAL. In: OEIL ET PHYSIOLOGIE DE LA VISION [Internet]. Rigaudière(Florence); 2010 [cité 3 mai 2016]. Disponible sur: <http://lodel.irevues.inist.fr/oeilephysiologiedelavision/index.php?id=119>
267. Verdon WA, Haegerstrom-Portnoy G. Topography of the multifocal electroretinogram. *Doc Ophthalmol Adv Ophthalmol.* 1998;95(1):73-90.
268. Hood DC. Assessing retinal function with the multifocal technique. *Prog Retin Eye Res.* sept 2000;19(5):607-46.
269. Hood DC, Seiple W, Holopigian K, Greenstein V. A comparison of the components of the multifocal and full-field ERGs. *Vis Neurosci.* juin 1997;14(3):533-44.
270. Hood DC, Greenstein VC, Holopigian K, Bauer R, Firoz B, Liebmann JM, et al. An attempt to detect glaucomatous damage to the inner retina with the multifocal ERG. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* mai 2000;41(6):1570-9.
271. Hood DC, Frishman LJ, Saszik S, Viswanathan S. Retinal origins of the primate multifocal ERG: implications for the human response. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* mai 2002;43(5):1673-85.
272. Arden GB, Constable PA. The electro-oculogram. *Prog Retin Eye Res.* mars 2006;25(2):207-48.
273. Timmins N, Marmor MF. Studies on the stability of the clinical electro-oculogram. *Doc Ophthalmol Adv Ophthalmol.* 1992;81(2):163-71.
274. Steinberg RH. Interactions between the retinal pigment epithelium and the neural retina. *Doc Ophthalmol Adv Ophthalmol.* 15 oct 1985;60(4):327-46.
275. Fishman GA, Young RS, Schall SP, Vasquez VA. Electro-oculogram testing in fundus flavimaculatus. *Arch Ophthalmol Chic Ill 1960.* oct 1979;97(10):1896-8.
276. Marchese AL, Maggiano JM, Friedman AH. Comparison of the human electro-oculographic response to green and near-ultraviolet stimuli. *Doc Ophthalmol Adv Ophthalmol.* 1992;79(2):117-24.
277. Arden GB, Barrada A, Kelsey JH. New clinical test of retinal function based upon the standing potential of the eye. *Br J Ophthalmol.* août 1962;46(8):449-67.
278. ARDEN GB, KELSEY JH. Changes produced by light in the standing potential of the human eye. *J Physiol.* mai 1962;161:189-204.
279. Bubl E, Kern E, Ebert D, Bach M, Tebartz van Elst L. Seeing gray when feeling blue? Depression can be measured in the eye of the diseased. *Biol Psychiatry.* 15 juill 2010;68(2):205-8.

280. Bubl E, Ebert D, Kern E, van Elst LT, Bach M. Effect of antidepressive therapy on retinal contrast processing in depressive disorder. *Br J Psychiatry J Ment Sci.* août 2012;201:151-8.
281. Hébert M, Beattie CW, Tam EM, Yatham LN, Lam RW. Electroretinography in patients with winter seasonal affective disorder. *Psychiatry Res.* juin 2004;127(1-2):27-34.
282. Hébert M, Gagné A-M, Paradis M-E, Jomphe V, Roy M-A, Mérette C, et al. Retinal Response to Light in Young Nonaffected Offspring at High Genetic Risk of Neuropsychiatric Brain Disorders. *Biol Psychiatry.* févr 2010;67(3):270-4.
283. Lavoie J, Hébert M, Beaulieu J-M. Looking beyond the role of glycogen synthase kinase-3 genetic expression on electroretinogram response: what about lithium? *Biol Psychiatry.* 1 févr 2015;77(3):e15-17.
284. Gagné A-M, Lévesque F, Gagné P, Hébert M. Impact of blue vs red light on retinal response of patients with seasonal affective disorder and healthy controls. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry.* 15 janv 2011;35(1):227-31.
285. Laprevote V, Schwitzer T, Giersch A, Schwan R. Flash electroretinogram and addictive disorders. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry.* 2 janv 2015;56:264.
286. Lavoie J, Hébert M, Beaulieu J-M. Glycogen Synthase Kinase-3 Overexpression Replicates Electroretinogram Anomalies of Offspring at High Genetic Risk for Schizophrenia and Bipolar Disorder. *Biol Psychiatry.* 16 oct 2013;
287. Betz H, Laube B. Glycine receptors: recent insights into their structural organization and functional diversity. *J Neurochem.* juin 2006;97(6):1600-10.
288. Rudolf G, Wioland N. Effects of intravitreal and intravenous administrations of dopamine on the standing potential and the light peak in the intact chicken eye. *Curr Eye Res.* nov 1990;9(11):1077-82.
289. Schneider T, Zrenner E. Effects of D-1 and D-2 dopamine antagonists on ERG and optic nerve response of the cat. *Exp Eye Res.* avr 1991;52(4):425-30.
290. Peppe A, Stanzione P, Pierantozzi M, Semprini R, Bassi A, Santilli AM, et al. Does pattern electroretinogram spatial tuning alteration in Parkinson's disease depend on motor disturbances or retinal dopaminergic loss? *Electroencephalogr Clin Neurophysiol.* avr 1998;106(4):374-82.
291. Middleton TP, Protti DA. Cannabinoids modulate spontaneous synaptic activity in retinal ganglion cells. *Vis Neurosci.* sept 2011;28(5):393-402.
292. Wang X-H, Wu Y, Yang X-F, Miao Y, Zhang C-Q, Dong L-D, et al. Cannabinoid CB1 receptor signaling dichotomously modulates inhibitory and excitatory synaptic transmission in rat inner retina. *Brain Struct Funct.* 2 oct 2014;
293. Legleye S, Khlat M, Mayet A, Beck F, Falissard B, Chau N, et al. From cannabis initiation to daily use: educational inequalities in consumption behaviours over three generations in France. *Addict Abingdon Engl.* 20 mai 2016;

294. Meier MH, Caspi A, Ambler A, Harrington H, Houts R, Keefe RSE, et al. Persistent cannabis users show neuropsychological decline from childhood to midlife. *Proc Natl Acad Sci.* 27 août 2012;109(40):E2657-64.
295. Schwitzer T, Schwan R, Angioi-Duprez K, Ingster-Moati I, Lalanne L, Giersch A, et al. The cannabinoid system and visual processing: a review on experimental findings and clinical presumptions. *Eur Neuropsychopharmacol J Eur Coll Neuropsychopharmacol.* janv 2015;25(1):100-12.
296. Lavoie J, Illiano P, Sotnikova TD, Gainetdinov RR, Beaulieu J-M, Hébert M. The electroretinogram as a biomarker of central dopamine and serotonin: potential relevance to psychiatric disorders. *Biol Psychiatry.* 15 mars 2014;75(6):479-86.
297. Schwitzer T, Schwan R, Bernardin F, Jeantet C, Angioi-Duprez K, Laprevote V. Commentary: Anatomical constitution of sense organs as a marker of mental disorders. *Front Behav Neurosci.* 2016;10:56.
298. Wang X-H, Wu Y, Yang X-F, Miao Y, Zhang C-Q, Dong L-D, et al. Cannabinoid CB1 receptor signaling dichotomously modulates inhibitory and excitatory synaptic transmission in rat inner retina. *Brain Struct Funct.* janv 2016;221(1):301-16.
299. You Y, Gupta VK, Li JC, Klistorner A, Graham SL. Optic neuropathies: characteristic features and mechanisms of retinal ganglion cell loss. *Rev Neurosci.* 2013;24(3):301-21.
300. Holder GE, Gale RP, Acheson JF, Robson AG. Electrodiagnostic assessment in optic nerve disease. *Curr Opin Neurol.* févr 2009;22(1):3-10.
301. Massey SC, Miller RF. N-methyl-D-aspartate receptors of ganglion cells in rabbit retina. *J Neurophysiol.* janv 1990;63(1):16-30.
302. Zorumski CF, Mennerick S, Izumi Y. Acute and chronic effects of ethanol on learning-related synaptic plasticity. *Alcohol Fayettev N.* févr 2014;48(1):1-17.
303. Legleye S, Khlat M, Mayet A, Beck F, Falissard B, Chau N, et al. From cannabis initiation to daily use: educational inequalities in consumption behaviours over three generations in France. *Addict Abingdon Engl.* 20 mai 2016;
304. Faure C, Schwitzer T, Hansen C, Randhawa S. Diagnostic and Therapeutic Challenges. *Retina Phila Pa.* 14 mars 2016;
305. Jarc-Vidmar M, Popović P, Hawlina M, Breclj J. Pattern ERG and psychophysical functions in Best's disease. *Doc Ophthalmol Adv Ophthalmol.* juill 2001;103(1):47-61.
306. Holder GE. Pattern electroretinography (PERG) and an integrated approach to visual pathway diagnosis. *Prog Retin Eye Res.* juill 2001;20(4):531-61.
307. Froehlich J, Kaufman DI. Use of pattern electroretinography to differentiate acute optic neuritis from acute anterior ischemic optic neuropathy. *Electroencephalogr Clin Neurophysiol.* nov 1994;92(6):480-6.

308. Langwińska-Wośko E, Szulborski K, Zaleska-Żmijewska A, Szaflik J. Electrophysiological testing as a method of cone-rod and cone dystrophy diagnoses and prediction of disease progression. *Doc Ophthalmol Adv Ophthalmol. avr* 2015;130(2):103-9.
309. Wen Y, Locke KG, Hood DC, Birch DG. Rod photoreceptor temporal properties in retinitis pigmentosa. *Exp Eye Res. mars* 2011;92(3):202-8.
310. Fan S-F, Yazulla S. Reciprocal inhibition of voltage-gated potassium currents (I_{K(V)}) by activation of cannabinoid CB1 and dopamine D1 receptors in ON bipolar cells of goldfish retina. *Vis Neurosci. févr* 2005;22(1):55-63.
311. Fan S-F, Yazulla S. Biphasic modulation of voltage-dependent currents of retinal cones by cannabinoid CB1 receptor agonist WIN 55212-2. *Vis Neurosci. avr* 2003;20(2):177-88.
312. Fan S-F, Yazulla S. Inhibitory interaction of cannabinoid CB1 receptor and dopamine D2 receptor agonists on voltage-gated currents of goldfish cones. *Vis Neurosci. févr* 2004;21(1):69-77.
313. Fan S-F, Yazulla S. Retrograde endocannabinoid inhibition of goldfish retinal cones is mediated by 2-arachidonoyl glycerol. *Vis Neurosci. juin* 2007;24(3):257-67.
314. Lalonde MR, Jollimore CAB, Stevens K, Barnes S, Kelly MEM. Cannabinoid receptor-mediated inhibition of calcium signaling in rat retinal ganglion cells. *Mol Vis. 2006;12:1160-6.*
315. Opere CA, Zheng WD, Zhao M, Lee JS, Kulkarni KH, Ohia SE. Inhibition of potassium- and ischemia-evoked [3H] D-aspartate release from isolated bovine retina by cannabinoids. *Curr Eye Res. août* 2006;31(7-8):645-53.
316. Straiker A, Stella N, Piomelli D, Mackie K, Karten HJ, Maguire G. Cannabinoid CB1 receptors and ligands in vertebrate retina: localization and function of an endogenous signaling system. *Proc Natl Acad Sci U S A. 7 déc* 1999;96(25):14565-70.
317. Straiker A, Sullivan JM. Cannabinoid receptor activation differentially modulates ion channels in photoreceptors of the tiger salamander. *J Neurophysiol. mai* 2003;89(5):2647-54.
318. Yazulla S, Studholme KM, McIntosh HH, Fan SF. Cannabinoid receptors on goldfish retinal bipolar cells: electron-microscope immunocytochemistry and whole-cell recordings. *Vis Neurosci. juin* 2000;17(3):391-401.
319. Zhang C-Q, Wu H-J, Wang S-Y, Yin S, Lu X-J, Miao Y, et al. Suppression of outward K⁺ currents by WIN55212-2 in rat retinal ganglion cells is independent of CB1/CB2 receptors. *Neuroscience. 3 déc* 2013;253:183-93.
320. Gawienowski AM, Chatterjee D, Anderson PJ, Epstein DL, Grant WM. Effect of delta 9-tetrahydrocannabinol on monoamine oxidase activity in bovine eye tissues, in vitro. *Invest Ophthalmol Vis Sci. avr* 1982;22(4):482-5.

321. Schlicker E, Timm J, Göthert M. Cannabinoid receptor-mediated inhibition of dopamine release in the retina. *Naunyn Schmiedebergs Arch Pharmacol.* déc 1996;354(6):791-5.
322. Weber B, Schlicker E. Modulation of dopamine release in the guinea-pig retina by G(i)- but not by G(s)- or G(q)-protein-coupled receptors. *Fundam Clin Pharmacol.* déc 2001;15(6):393-400.
323. Cecyre B, Zabouri N, Huppe-Gourgues F, Bouchard J-F, Casanova C. Roles of Cannabinoid Receptors Type 1 and 2 on the Retinal Function of Adult Mice. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 19 nov 2013;54(13):8079-90.
324. Johansson E, Norén K, Sjövall J, Halldin MM. Determination of delta 1-tetrahydrocannabinol in human fat biopsies from marijuana users by gas chromatography-mass spectrometry. *Biomed Chromatogr BMC.* janv 1989;3(1):35-8.
325. Colizzi M, McGuire P, Pertwee RG, Bhattacharyya S. Effect of cannabis on glutamate signalling in the brain: A systematic review of human and animal evidence. *Neurosci Biobehav Rev.* mai 2016;64:359-81.
326. Moeller SJ, London ED, Northoff G. Neuroimaging markers of glutamatergic and GABAergic systems in drug addiction: Relationships to resting-state functional connectivity. *Neurosci Biobehav Rev.* févr 2016;61:35-52.
327. Pulvirenti L, Diana M. Drug dependence as a disorder of neural plasticity: focus on dopamine and glutamate. *Rev Neurosci.* 2001;12(2):141-58.
328. Zobor D, Strasser T, Zobor G, Schober F, Messias A, Strauss O, et al. Ophthalmological assessment of cannabis-induced persisting perception disorder: is there a direct retinal effect? *Doc Ophthalmol Adv Ophthalmol.* avr 2015;130(2):121-30.
329. Rigaudière F. V-5 : Les POTENTIELS ÉVOQUÉS VISUELS corticaux (PEV). In: *OEIL ET PHYSIOLOGIE DE LA VISION* [Internet]. Rigaudière(Florence); 2010 [cité 30 avr 2016]. Disponible sur: <http://lodel.irevues.inist.fr/oeilephysiologiedelavision/index.php?id=120>
330. Bubl E, Kern E, Ebert D, Riedel A, Tebartz van Elst L, Bach M. Retinal dysfunction of contrast processing in major depression also apparent in cortical activity. *Eur Arch Psychiatry Clin Neurosci.* juin 2015;265(4):343-50.
331. Evans LS, Peachey NS, Marchese AL. Comparison of three methods of estimating the parameters of the Naka-Rushton equation. *Doc Ophthalmol Adv Ophthalmol.* 1993;84(1):19-30.
332. Chung KH, Kim SH, Cho JH. The luminance-response function of the dark-adapted rabbit electroretinogram. *Korean J Ophthalmol KJO.* juin 1994;8(1):1-5.
333. Anastasi M, Brai M, Lauricella M, Geracitano R. Methodological aspects of the application of the Naka-Rushton equation to clinical electroretinogram. *Ophthalmic Res.* 1993;25(3):145-56.

334. Rufiange M, Dassa J, Dembinska O, Koenekoop RK, Little JM, Polomeno RC, et al. The photopic ERG luminance-response function (photopic hill): method of analysis and clinical application. *Vision Res.* juin 2003;43(12):1405-12.
335. Rufiange M, Dumont M, Lachapelle P. Modulation of the human photopic ERG luminance-response function with the use of chromatic stimuli. *Vision Res.* août 2005;45(17):2321-30.
336. Hamilton R, Bees MA, Chaplin CA, McCulloch DL. The luminance-response function of the human photopic electroretinogram: a mathematical model. *Vision Res.* oct 2007;47(23):2968-72.
337. Machida S. Clinical applications of the photopic negative response to optic nerve and retinal diseases. *J Ophthalmol.* 2012;2012:397178.
338. Kirkiewicz M, Lubiński W, Penkala K. Photopic negative response of full-field electroretinography in patients with different stages of glaucomatous optic neuropathy. *Doc Ophthalmol Adv Ophthalmol.* févr 2016;132(1):57-65.
339. Bach M, Poloschek CM. Electrophysiology and glaucoma: current status and future challenges. *Cell Tissue Res.* août 2013;353(2):287-96.
340. Rangaswamy NV, Frishman LJ, Dorotheo EU, Schiffman JS, Bahrani HM, Tang RA. Photopic ERGs in patients with optic neuropathies: comparison with primate ERGs after pharmacologic blockade of inner retina. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* oct 2004;45(10):3827-37.
341. Schwitzer T, Robert MP, Giersch A, Angioi-Duprez K, Ingster-Moati I, Pon-Monnier A, et al. Transient Retinal Dysfunctions after Acute Cannabis Use. *Eur Addict Res.* 5 juill 2016;22(6):287-91.
342. Broyd SJ, van Hell HH, Beale C, Yücel M, Solowij N. Acute and Chronic Effects of Cannabinoids on Human Cognition-A Systematic Review. *Biol Psychiatry.* 8 déc 2015;
343. Bosker WM, Karschner EL, Lee D, Goodwin RS, Hirvonen J, Innis RB, et al. Psychomotor function in chronic daily Cannabis smokers during sustained abstinence. *PloS One.* 2013;8(1):e53127.
344. Huijbregts SCJ, Griffith-Lendering MFH, Vollebergh WAM, Swaab H. Neurocognitive moderation of associations between cannabis use and psychoneuroticism. *J Clin Exp Neuropsychol.* 2014;36(8):794-805.
345. Lane SD, Cherek DR, Pietras CJ, Tcheremissine OV. Acute marijuana effects on response-reinforcer relations under multiple variable-interval schedules. *Behav Pharmacol.* juill 2004;15(4):305-9.
346. Hunault CC, Mensinga TT, Böcker KBE, Schipper CMA, Kruidenier M, Leenders MEC, et al. Cognitive and psychomotor effects in males after smoking a combination of tobacco and cannabis containing up to 69 mg delta-9-tetrahydrocannabinol (THC). *Psychopharmacology (Berl).* mai 2009;204(1):85-94.

347. Hartman RL, Huestis MA. Cannabis effects on driving skills. Clin Chem. mars 2013;59(3):478-92.
348. Raes E, Verstraete A-G. [Cannabis and driving: the situation in Europe]. Ann Pharm Fr. mai 2006;64(3):197-203.
349. Dawson WW, Trick GL, Litzkow CA. Improved electrode for electroretinography. Invest Ophthalmol Vis Sci. sept 1979;18(9):988-91.
350. Gjötterberg M. Electrodes for electroretinography. A comparison of four different types. Arch Ophthalmol Chic Ill 1960. avr 1986;104(4):569-70.

Résumé : Un des obstacles majeurs de la recherche en neurosciences est la difficulté d'accéder de manière directe au fonctionnement du cerveau afin de comprendre les mécanismes biologiques à l'origine des dysfonctionnements cérébraux dans les troubles psychiatriques. En tant qu'extension anatomique et développementale du système nerveux central, la rétine pourrait permettre d'offrir un accès indirect aux fonctions neurologiques cérébrales. Ainsi, l'investigation de la fonction rétinienne apporte l'unique opportunité d'étudier de manière objective un réseau neuronal complexe présentant des similarités avec celui du cerveau. Le cannabis est une substance neurotoxique identifiée comme modulant la transmission synaptique cérébrale par l'intermédiaire du système cannabinoïde mais les mécanismes précis à l'origine de ces anomalies sont peu connus. La première partie de ce travail consiste à présenter les bases neurobiologiques et les hypothèses physiopathologiques justifiant l'étude de la fonction rétinienne chez les usagers de cannabis, en se basant sur la présence du système cannabinoïde dans la rétine et son implication dans la régulation de la libération synaptique de neurotransmetteurs. La seconde partie discute l'intérêt de l'étude de la fonction rétinienne dans la recherche en psychiatrie avec des méthodes électrophysiologiques. Enfin, la dernière partie présente les dysfonctions rétiniennes présentes chez les usagers de cannabis, après un usage aigu ou régulier, évaluées par les techniques électrophysiologiques comme l'électrorétinogramme. Toutes ces données renforcent la pertinence de la rétine comme site d'investigation du cerveau et ouvrent éventuellement la perspective au développement de marqueurs fonctionnels.

Mots-Clefs: rétine, électrorétinogramme, cannabis, cannabinoïdes, transmission synaptique

Abstract: One of major obstacles in neuroscience research is the difficulty of directly accessing the brain function to understand the biological mechanisms underlying brain dysfunctions in psychiatric disorders. As an anatomical and developmental extension of the central nervous system, the retina could afford to offer an indirect access to brain neurological functions. Investigating the retinal function provides the unique opportunity to study in an objective way a complex neuronal network which shares similar properties with the brain. Cannabis is a neurotoxic substance identified as modulating brain synaptic transmission through the cannabinoid system, but the precise mechanisms underpinning these anomalies are poorly understood. The first part of this work is dedicated to present the neurobiological basis and pathophysiological hypotheses justifying the study of retinal function in cannabis users and is based on the presence of the cannabinoid system in the retina and its involvement in the regulation of synaptic neurotransmission. The second part discusses the interest of the study of retinal function with electrophysiological methods in psychiatric research. The last part presents the retinal dysfunctions detected in cannabis users, after acute or regular use, and assessed by electrophysiological techniques such as electroretinogram. All these data reinforce the relevance of the retina as a site of brain investigation and possibly open the prospect for the development of functional markers.

Keywords: retina, electroretinography, cannabis, cannabinoids, synaptic transmission