

**UNIVERSITÉ DU QUÉBEC**

**MÉMOIRE PRÉSENTÉ À  
L'UNIVERSITÉ DU QUÉBEC À TROIS-RIVIÈRES**

**COMME EXIGENCE PARTIELLE  
DE LA MAÎTRISE EN BIOPHYSIQUE ET BIOLOGIE CELLULAIRES**

**PAR  
STÉPHANE ROBERT**

**ÉTUDE DES CONNEXIONS NEURONALES ENTRE LES SYSTÈMES VISUEL  
ET AUDITIF DANS LE CERVEAU DE RONGEURS AVEUGLES**

**DÉCEMBRE 2006**

Université du Québec à Trois-Rivières

Service de la bibliothèque

Avertissement

L'auteur de ce mémoire ou de cette thèse a autorisé l'Université du Québec à Trois-Rivières à diffuser, à des fins non lucratives, une copie de son mémoire ou de sa thèse.

Cette diffusion n'entraîne pas une renonciation de la part de l'auteur à ses droits de propriété intellectuelle, incluant le droit d'auteur, sur ce mémoire ou cette thèse. Notamment, la reproduction ou la publication de la totalité ou d'une partie importante de ce mémoire ou de cette thèse requiert son autorisation.

## REMERCIEMENTS

La recherche fondamentale est un processus souvent difficile et marqué d'essais, d'erreurs et de réussites. Il est donc important d'être entouré de personnes nous permettant de profiter au maximum de cette expérience enrichissante que constituent les études graduées.

Tout d'abord, je tiens à remercier sincèrement le Dr Gilles Bronchti, un directeur de recherche exceptionnel, tant pour son incomparable disponibilité que pour son sens aiguisé de la critique constructive. Ses indéniables qualités de pédagogue m'ont permis de me découvrir une véritable passion pour l'enseignement. Je remercie également le Dr Mathieu Piché, avec qui j'ai eu beaucoup de plaisir à travailler à mes débuts dans le laboratoire. Ce cher Mathieu, possédant toujours la réponse à toutes mes questions, s'est rapidement mérité toute mon admiration. Un merci tout spécial à Jean-François Le Houillier, un véritable ami sur qui j'ai toujours pu compter. Je n'ose imaginer ce qu'aurait été ma maîtrise sans sa présence au laboratoire. Un gros merci à Nicole Chabot, dont la motivation semble contagieuse et inébranlable, ainsi qu'à Robin Tremblay, avec qui j'ai eu le privilège de travailler en électrophysiologie, pour son honnêteté et son humour particulier.

Je remercie chaleureusement Mme Rollande Caron pour ses conseils avisés relativement aux bons soins des animaux, sa bonne humeur et son infinie patience, de même que Marie-Ève Lemire pour sa gentillesse. Merci à l'équipe du Dr Guy Massicotte pour leur bonne humeur et l'excellente « cohabitation » de nos deux équipes, ainsi qu'à Mmes Line Huot, Angèle Villemure et Sonia Guillemette, des professionnelles extraordinaires avec lesquelles j'ai eu l'immense plaisir de travailler au laboratoire d'histologie.

En terminant, je remercie ma mère Francine pour son soutien de tous les instants depuis le début de mes études collégiales, et ma copine Marie-Lise pour son support et sa compréhension hors de l'ordinaire.

## RÉSUMÉ

De nombreux phénomènes adaptatifs et compensatoires se produisent dans le cerveau des aveugles. Ainsi, le système visuel est « récupéré » par les autres modalités sensorielles, récupération qui lui confère la capacité d'accomplir de nouvelles fonctions, phénomène appelé plasticité intermodale. Il existe plusieurs mécanismes expliquant ce remodelage des voies sensorielles, dont l'émergence de connexions ectopiques auditives ou somesthésiques dans le système visuel de l'aveugle. L'existence de ces connexions, montrée chez des modèles animaux aveugles, n'a toutefois jamais été démontrée chez l'humain. De plus, ces phénomènes compensatoires présentent certaines variations, selon le moment de la vie durant lequel est survenue la perte de la vision. Une déprivation visuelle précoce permet une adaptation cérébrale plus étendue, comparativement à une perte de vision plus tardive.

L'objectif général de ce projet est d'étudier l'influence de la déprivation visuelle précoce et tardive sur la réorganisation anatomique du cerveau de deux modèles différents de rongeurs aveugles : 1) la souris anophthalmique ZRDCT/An et 2) la souris C57BL/6 énucléée à la naissance. La première, un modèle unique de souris aveugle, ne présente aucun développement oculaire ou des voies optiques en raison d'une mutation du gène Rx/Rax. La seconde naît avec un système visuel dont la connectivité est normale et complète avant la déafférentation. Deux hypothèses ont été investiguées : 1) il y a un envahissement auditif des structures visuelles chez les deux modèles et 2) cet envahissement peut différer en fonction du moment où s'effectue la déafférentation visuelle.

Dans les travaux de recherche présentés dans ce mémoire, des souris voyantes, anophthalmiques et énucléées à la naissance ont chirurgicalement subit l'injection d'un traceur, le dextran-biotine, au niveau d'un noyau auditif du tronc cérébral, le collicule inférieur.

Les résultats se résument en deux points :

- Le thalamus visuel primaire (corps géniculé latéro-dorsal) de la souris ZRDCT/An reçoit une afférence du collicule inférieur, contrairement à la souris énucléée.
- Le noyau thalamique latéro-postérieur, qui reçoit des afférences rétiniennes chez le modèle intact, reçoit également une projection variable du collicule inférieur chez tous les types de souris, y compris les contrôles.

Ainsi, cette étude propose que l'apparition de la cécité à un stade précoce du développement implique davantage les structures primaires de la modalité visuelle, alors que les phénomènes de réorganisation de l'aveugle plus tardif seraient plutôt attribuables à l'implication de structures ou aires secondaires.

Dans un avenir rapproché, nous désirons procéder à une expérimentation semblable chez le rat énucléé à la naissance ou plus tardivement, ou encore investiguer la présence de connexions aberrantes cortico-corticales chez les souris ZRDCT/An et énucléées.

**Mots-clés :** aveugle, anophtalmique, énucléation, plasticité, système auditif, système visuel, traçage neuronal, dextran-biotine, connexions ectopiques, développement.

## TABLE DES MATIÈRES

<b>REMERCIEMENTS.....</b>	<b>ii</b>
<b>RÉSUMÉ.....</b>	<b>iii</b>
<b>TABLE DES MATIÈRES.....</b>	<b>v</b>
<b>LISTE DES FIGURES .....</b>	<b>viii</b>
<b>LISTE DES ABRÉVIATIONS .....</b>	<b>x</b>
<b>CHAPITRE 1 INTRODUCTION .....</b>	<b>1</b>
1.1 Modifications anatomiques et fonctionnelles chez l'aveugle .....	1
1.1.1 Plasticité du système nerveux .....	1
1.1.2 Plasticité intramodale .....	2
1.1.3 Plasticité intermodale .....	4
1.1.4 Le cerveau de l'aveugle précoce et tardif .....	5
1.1.5 Mécanismes de la plasticité intermodale .....	7
1.2 Généralités sur les systèmes auditif et visuel .....	11
1.2.1 Anatomie et connexions du système auditif .....	11
1.2.2 Développement et mise en place des connexions du système auditif. ....	13
1.2.3 Anatomie et connexions du système visuel primaire .....	14
1.2.3.1 Connectivité du collicule supérieur et du noyau thalamique latéro-postérieur chez le rongeur .....	16
1.2.4 Développement et mise en place des connexions du système visuel. ....	17
1.3 Effets de la déprivation visuelle sur les connexions normales .....	19
1.4 Modèles animaux de déprivation sensorielle et connexions ectopiques .....	20
1.4.1 Rationnel du choix de la souris anophthalmique ZRDCT/An et de sa comparaison avec la souris C57BL/6 énucléée à la naissance ...	21
1.4.2 Particularités de la souris anophthalmique ZRDCT/An .....	24
1.5 Objectifs de la recherche.....	25
1.5.1 Objectifs spécifiques.....	25
1.5.2 Importance et originalité de la recherche .....	26

<b>CHAPITRE 2 MATÉRIEL ET MÉTHODES.....</b>	<b>27</b>
2.1 Aspects théoriques .....	27
2.1.1 Notion de transport neuronal .....	27
2.1.1.1 Transport antérograde.....	28
2.1.1.2 Transport rétrograde .....	29
2.1.1.3 Transport axonal des mitochondrie.....	30
2.1.2 Caractéristiques du dextran-biotine .....	30
2.2 Démarche expérimentale de l'étude.....	31
2.2.1 Considérations techniques reliées aux expérimentations animales.....	31
2.2.2 Nombre et types de souris .....	32
2.2.3 Chirurgies .....	32
2.2.3.1 Énucléations post-natales des sourceaux C57BL/6 .....	32
2.2.3.2 Injections de dextran-biotine au niveau du collicule inférieur.....	33
2.2.4 Temps de survie et perfusions .....	35
2.2.5 Extraction, post-fixation, cryoprotection et coupe des cerveaux .....	36
2.2.6 Histo chimie du dextran-biotine.....	36
2.2.7 Déshydratation et contre-coloration des coupes .....	37
2.3 Microscopie et microphotographies.....	37
<b>CHAPITRE 3 RÉSULTATS.....</b>	<b>38</b>
3.1 Souris contrôles .....	38
3.2 Souris mutantes ZRDCT/An.....	41
3.3 Souris C57BL/6 énucléées à la naissance .....	42
3.4 Résultats complémentaires obtenus chez le rat énucléé à la naissance .....	49
<b>CHAPITRE 4 DISCUSSION ET CONCLUSION.....</b>	<b>50</b>
Fiabilité du dextran-biotine comme traceur neuronal .....	50
Compensations anatomiques et fonctionnelles.....	51
Le rat et la souris énucléés .....	53
Le rôle du noyau thalamique latéro-postérieur dans la plasticité intermodale .....	55
Développement de connexions ectopiques .....	57

Approches thérapeutiques suivant la perte d'un sens.....	57
Conclusion.....	59
<b>BIBLIOGRAPHIE.....</b>	<b>60</b>
<b>ANNEXES.....</b>	<b>71</b>

## LISTE DES FIGURES

1.1	Modifications fonctionnelles du cortex somesthésique d'un primate ( <i>Aotus trivirgatus</i> ) après amputation d'un doigt .....	2
1.2	Effets d'une chirurgie réparatrice sur la carte somesthésique des doigts dans un cas de syndactylie humaine .....	3
1.3	Mécanismes hypothétiques de la plasticité intermodale.....	10
1.4	Schématisation générale des voies auditive et visuelle.....	11
1.5	Représentation horizontale des voies visuelles centrales.....	14
1.6	Organisation des afférences rétiniennes sur les différentes couches du corps géniculé latéro-dorsal.....	15
1.7	Connexions du système visuel du rongeur.....	17
1.8	Schématisation des voies auditive et visuelle chez le rat-taupe aveugle et le hamster énucléé .....	23
1.9	Vue ventrale de cerveaux de souris adultes voyante et énucléée .....	23
1.10	La souris ZRDCT/An.....	24
2.1	Marquage rétrograde d'un neurone du cortex visuel primaire au dextran-biotine.....	29
2.2	La souris adulte C57BL/6 bilatéralement énucléée à la naissance.....	33
2.3	Vue dorsale du crâne d'une souris C57BL/6 .....	34
2.4	Vue dorsale du cerveau de la souris C57BL/6 .....	35
3.1	Microphotographies du marquage histochimique d'une souris C57BL/6 voyante (StrCo29) .....	39
3.2	Microphotographies du marquage histochimique d'une souris C57BL/6 voyante (StrCo30) .....	40
3.3	Microphotographies du marquage histochimique d'une souris mutante ZRDCT/An (StrAn01).....	44
3.4	Microphotographies du marquage histochimique d'une souris mutante ZRDCT/An (StrAn09).....	45
3.5	Microphotographies du marquage histochimique d'une souris C57BL/6 énucléée à la naissance (StrAnE08).....	46

<b>3.6</b>	<b>Microphotographies du marquage histochimique d'une souris C57BL/6 énucléée à la naissance (StrAnE09) .....</b>	<b>47</b>
<b>3.7</b>	<b>Microphotographies du cortex postérieur de chacun des groupes expérimentaux .....</b>	<b>48</b>
<b>3.8</b>	<b>Microphotographies du marquage histochimique d'un rat Long-Evans énucléé à la naissance .....</b>	<b>49</b>

## **LISTE DES ABRÉVIATIONS**

A1	Cortex auditif primaire
BDA	Dextran aminé biotinylé
CI	Collicule inférieur
CS	Collicule supérieur
CGLd	Corps géniculé latéro-dorsal
CGM	Corps géniculé médian
CGMd	Division dorsale du corps géniculé médian
CGMm	Division médiale du corps géniculé médian
CGMv	Division ventrale du corps géniculé médian
DAB	3, 3'-diaminobenzidine
DB	Dextran-biotine
LP	Noyau latéral postérieur du thalamus
NC	Noyau cochléaire
NSC	Noyau suprachiasmatique de l'hypothalamus
PM	Poids moléculaire
VB	Complexe thalamique ventrobasal
V1	Cortex visuel primaire
V2	Cortex visuel secondaire

# **CHAPITRE 1**

## **INTRODUCTION**

### **1.1 Modifications anatomiques et fonctionnelles chez l'aveugle**

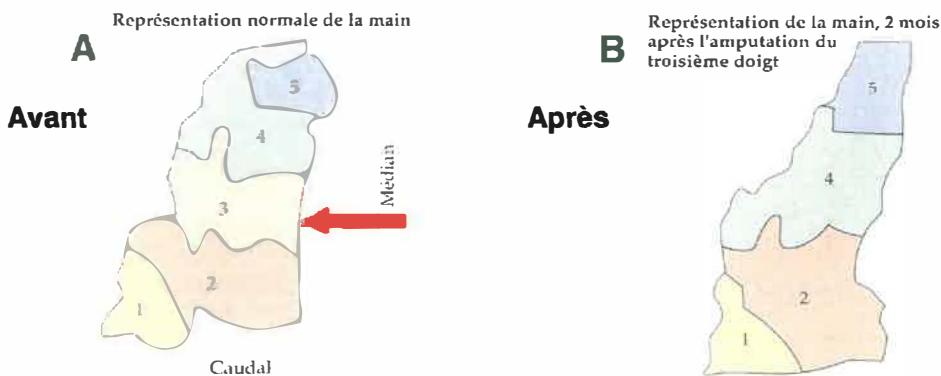
Qui n'a jamais entendu dire, souvent sans même savoir pourquoi, que les aveugles sont dotés de capacités tactiles et auditives supérieures? Cette croyance populaire est effectivement bel et bien fondée. D'innombrables études ont été consacrées à ces phénomènes compensatoires au cours des cinquante dernières années, et il est clair aujourd'hui qu'il y a une relation directe entre le moment où un individu perd la vue et l'étendue des mécanismes de compensation qui se développeront dans son cerveau. Dans le présent projet, nous avons étudié deux modèles d'animaux dénués de leurs yeux, à la recherche de connexions auditives compensatrices vers le système visuel.

#### **1.1.1 Plasticité du système nerveux**

La structure du cerveau est largement définie par des facteurs génétiques, mais cette structure est cependant modulée par différents facteurs épigénétiques, tels que l'environnement dans lequel l'individu évolue. Le système nerveux possède ainsi la capacité de modifier son organisation et de s'adapter à sa périphérie. L'étude de ce phénomène consiste en la neuroplasticité ou plasticité cérébrale. La réorganisation peut survenir à la suite de différents évènements, incluant le développement et la maturation normale d'un organisme, l'apprentissage, une lésion du système nerveux ou une déprivation sensorielle, incluant la cécité absolue. Les subtilités de la plasticité varient donc grandement dans le système nerveux; elles donnent naissance à des altérations très spécifiques selon la nature de l'expérience, sa période de survenue et les systèmes impliqués. Elles peuvent se produire dans une même modalité ou entre deux ou plusieurs modalités différentes.

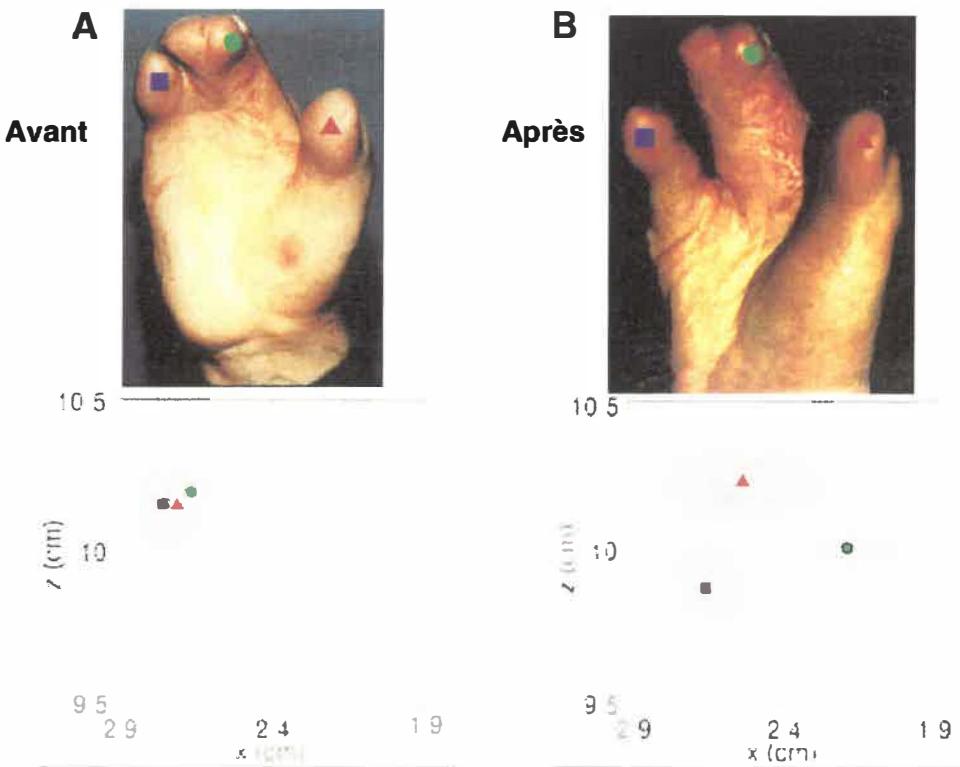
### 1.1.2 Plasticité intramodale

Dans une même modalité, une déprivation sensorielle peut résulter d'un évènement naturel (un défaut de développement, par exemple) ou encore d'un traumatisme, comme une déafférentation de la périphérie ou l'exérèse d'un organe sensoriel. L'amputation d'un doigt chez le primate (*Aotus trivirgatus*) est un bel exemple de plasticité intramodale. À la suite de la déafférentation, la représentation corticale somesthésique correspondant au doigt amputé se voit disparaître progressivement et son territoire repris, dans un délai relativement bref, par les représentations corticales des deux doigts adjacents (Fig. 1.1) (Merzenich et al., 1984).



**Figure 1.1 : Modifications fonctionnelles du cortex somesthésique d'un primate (*Aotus trivirgatus*) après amputation d'un doigt. A. Représentation de la main avant amputation; les chiffres correspondent aux différents doigts; la flèche pointe le doigt déafférenté. B. Carte corticale de l'animal deux mois après l'amputation du troisième doigt. Tiré de Neurosciences (Purves et al., 2003).**

La syndactylie humaine constitue un autre bel exemple de réorganisation s'effectuant à l'intérieur d'une même modalité. Cette malformation congénitale est caractérisée par l'absence de séparation entre deux ou plusieurs doigts de la main ou entre les orteils. On observe alors une superposition, au niveau du cortex somesthésique, des cartes corticales respectives des doigts soudés les uns aux autres par la pathologie. Une chirurgie réparatrice visant à séparer ces doigts entraîne, quelques semaines plus tard, l'apparition de représentations distinctes pour chacun des doigts nouvellement reformés et fonctionnels (Fig. 1.2) (Mogilner et al., 1993).



**Figure 1.2 : Effets d'une chirurgie réparatrice sur la carte somesthésique des doigts dans un cas de syndactylie humaine. A.** Les représentations corticales des doigts se superposent au niveau de la main atteinte; les symboles ( $\Delta$ ,  $\circ$ ,  $\square$ ) correspondent aux différents doigts. **B.** Ces représentations corticales deviennent distinctes à la suite de la séparation chirurgicale des doigts. Tiré de Mogilner et al., 1993.

Plusieurs mécanismes ont été proposés relativement aux phénomènes responsables de ces réorganisations unimodales :

- 1) la mise en action de connexions jusqu'alors silencieuses; c'est-à-dire qu'une déafférentation sensorielle entraînerait le recrutement et l'implication de connexions ayant été jusqu'alors peu ou pas sollicitées
- 2) le développement de nouvelles connexions; leur formation aurait lieu en réponse à la rupture de l'innervation d'une structure donnée
- 3) le renforcement de connexions existantes situées à proximité de la zone déprivée; les connexions adjacentes étendraient leur action à la zone déafférentée pour y réinstaurer, via un degré d'innervation variable, une certaine capacité fonctionnelle

Ainsi, qu'il s'agisse d'une superposition de territoires adjacents, d'une activation synchrone d'afférences due à une pathologie ou encore d'une désynchronisation chirurgicalement provoquée, il semble clair que les remaniements compensatoires intramodaux sont facilités parce qu'ils s'effectuent dans des régions sensorielles particulières et rapprochées.

### 1.1.3 Plasticité intermodale

Les différentes modalités sensorielles (audition, vision et somesthésie) permettent le cheminement de l'information périphérique jusqu'à leur cortex primaire respectif via des voies ascendantes en principe indépendantes. Ces voies peuvent cependant être court-circuitées ou modifiées, particulièrement dans les cas de déprivation sensorielle, pour ainsi rendre possible la communication entre deux de ces systèmes. Il est ici question de plasticité intermodale, qui est définie comme l'ensemble des modifications anatomiques et fonctionnelles des systèmes sensoriels lorsqu'il y a absence et/ou une lésion d'une autre modalité. Dépendamment du moment où survient la déprivation, on soupçonne qu'une telle réorganisation peut s'effectuer au niveau de structures déjà reconnues pour leur polymodalité; les aires corticales visuelles secondaires ou associatives (V2, V3, V4, etc.), le collicule supérieur (CS) et le noyau thalamique latéro-postérieur (LP) en sont quelques exemples. Elle peut également se produire en impliquant les cibles primaires des influx rétiniens, comme le corps géniculé latéro-dorsal (CGLd) et le cortex visuel primaire (V1). Ces aspects seront traités dans une prochaine section.

La déafférentation visuelle des aveugles, par exemple, entraîne l'utilisation de leur cortex visuel pour des tâches auditives (Weeks et al., 2000) et somesthésiques (Cohen et al., 1997; Sadato et al., 1996; Wittenberg et al., 2004). Le système auditif des sourds, en théorie inutilisé, est également sollicité par leur système visuel (Proksch & Bavelier, 2002). De plus, les individus atteints de surdité montrent, tout comme les aveugles, une meilleure précision tactile (Levanen & Hamdorf, 2001) et leur cortex auditif est recruté pour le

traitement de stimuli purement visuels (Finney et al., 2001). La plasticité intermodale ne cesse aujourd’hui de faire l’objet de nombreuses études anatomiques, fonctionnelles, électrophysiologiques et comportementales, tant chez les aveugles que chez les sourds. Bien que nous soyons loin de tout connaître du cerveau de l’humain aveugle, le mystère n’est cependant pas complet. Nous nous attarderons maintenant, dans les sections qui suivront, sur ce qui est connu du cerveau de l’aveugle et sur les différents mécanismes responsables de la plasticité intermodale, de même que les effets observés chez les individus qui sont accablés d’une perte visuelle précoce versus ceux ayant subi cette perte plus tardivement au cours de leur vie.

#### **1.1.4 Le cerveau de l’aveugle précoce et tardif**

Un vieux adage populaire avance que les aveugles entendent mieux. Dans les faits, leurs fonctions auditives de base (seuils et fréquences) ne montrent pas d’amélioration (Niemeyer & Starlinger, 1981a; 1981b), mais ils présentent cependant des aptitudes supérieures aux voyants pour la localisation spatiale, la rapidité à traiter un son dans l’espace et la spécificité spatiale (Lessard et al., 1998; Roder et al., 1999; 2000). De plus, le toucher et l’audition confèrent de nouvelles fonctions aux structures visuelles (Kujala et al., 2000; Weeks et al., 2000; Wittenberg et al., 2004). Le cortex visuel, aussi nommé cortex strié, est sans contredit mis à contribution pour effectuer des tâches tactiles ou favoriser l’attention auditive (Roder et al., 2002; Sadato, et al., 1996; Sadato, 2005). Il a de plus été montré que l’altération ou « brouillage » du cortex visuel par une stimulation magnétique perturbe la lecture du Braille chez les aveugles, démontrant ainsi une reprise somesthésique fonctionnelle de l’écorce visuelle (Cohen et al., 1997; 1999). Plus récemment, des stimuli au niveau de la langue ont pu provoquer une activation du cortex occipital chez l’aveugle (Ptito & Kupers, 2005). Tous ces exemples démontrent bien que le cortex visuel du non-voyant est utilisé à des fins non-visuelles et qu’il peut être activé par une multitude de stimuli sensoriels provenant d’autres modalités. Les aveugles sont

ainsi « avantagés » par rapport aux voyants, et ce, probablement via la mise en place d'interconnexions d'origines diverses.

Il est reconnu que le cerveau est une structure malléable capable de s'adapter à son environnement. Cette capacité d'adaptation est plus grande lorsqu'un individu est soumis à un tel changement en bas âge. Ainsi, plus un individu subira un traumatisme quelconque tôt dans la vie, mieux s'effectuera son rétablissement et son adaptation. L'effet de l'âge ou du stade de développement sur les mécanismes de plasticité intermodale constitue une variable très importante; il en est de même des noyaux et aires impliqués, qu'ils soient primaires, secondaires ou une combinaison des deux. Souvent, cette variable est sous la dépendance de la période critique, définie comme la période du développement où un évènement donné ou son absence risque d'avoir le plus d'impacts. Il existe effectivement, autant chez l'humain que chez l'animal, différentes périodes critiques durant lesquelles l'expérience peut significativement altérer les performances comportementales de l'organisme et les aspects relatifs à la structure et/ou aux fonctions du cerveau. Au-delà de ces périodes, lorsqu'elles existent, la plasticité cérébrale est moindre et limitée. Plusieurs études ont porté sur l'implication de la perte de la vue précoce en opposition avec la perte tardive. À partir de méthodes d'imagerie, on remarque que l'aveugle précoce, c'est-à-dire l'individu qui est aveugle de naissance ou qui a perdu la vision avant l'âge de quatorze à seize ans, utilise davantage son cortex occipital à la suite d'une stimulation du cortex somesthésique primaire, comparativement à l'individu ayant perdu la vue plus tardivement (Burton et al., 2002; Cohen et al., 1999; Sadato et al., 2002; Wittenberg et al., 2004). L'adolescence représenterait donc la période critique pour le changement fonctionnel de V1 à répondre à des stimuli tactiles. Cette activation pourrait impliquer une modulation du circuit par le cortex visuel associatif (Sadato et al., 2002). Cette possible connexion cortico-corticale ectopique serait ainsi renforcée en bas âge et permettrait une meilleure utilisation compensatoire du cortex visuel de l'aveugle précoce. De plus, il serait également plus facile pour les individus ayant perdu la vue avant la période critique de développer une

réorganisation anatomique supplémentaire aux processus cognitifs comme l'attention et l'entraînement, processus qui expliqueraient à eux seuls les phénomènes de plasticité observés chez l'adulte (Goldreich & Kanics, 2003; Kujala et al., 1997).

Lorsque survient l'adolescence, les hormones stéroïdiennes jouent un rôle dans le remodelage et l'activation de circuits neuraux liés aux comportements sexuels et de reproduction (Sisk & Foster, 2004). Peut-être les phénomènes de plasticité intermodale sont-ils en lien avec l'effet de ces hormones sur le cerveau; nous n'avons pu cependant trouver de références sur le sujet.

Il est possible de constater que lorsqu'il est question de mécanismes s'opérant dans le cerveau d'un aveugle, il est souvent sous-entendu qu'il s'agit d'une déprivation visuelle précoce, en occurrence dès la naissance ou lors des premières années de la vie. Il serait donc intéressant de savoir ce qui se passe lorsque la perte de vision s'effectue plus tardivement et quelles sont les structures impliquées. Les mécanismes compensatoires sont-ils les mêmes ou leur efficacité dépend-t-elle effectivement du moment où a eu lieu la déafférentation visuelle? Tel est le cœur de la problématique exposée ici.

### **1.1.5 Mécanismes de la plasticité intermodale**

Une compréhension approfondie des mécanismes responsables de la plasticité intermodale chez l'aveugle et le sourd est très importante, voire essentielle; elle constitue en quelque sorte la pierre angulaire sur laquelle peut reposer la réussite d'approches thérapeutiques variées telles que l'implantation de prothèses auditives ou visuelles. Ce succès est surtout relié à la réversibilité des modifications engendrées par ces mécanismes; il est facile de supposer qu'une réorganisation irréversible diminuera immanquablement les chances que la prothèse puisse améliorer la situation d'une quelconque façon que ce soit, contrairement à un changement réversible. En effet, une modification irréversible ne favoriserait en rien l'adaptation nouvelle qu'exigerait, au niveau cérébral, l'installation d'un tel implant. Cet ajustement serait davantage possible

dans le cas d'une réorganisation réversible ou modifiable. Cependant, il serait peut-être possible, dans le cas précédent, d'agir plutôt sur une amélioration de la qualité de la connexion intermodale.

Des mécanismes ont été suggérés dans le but d'élucider la mobilisation du système visuel de l'aveugle au profit d'autres modalités. Ces mécanismes hypothétiques seraient également responsables de leurs sens auditif et tactile compensatoirement aiguisés.

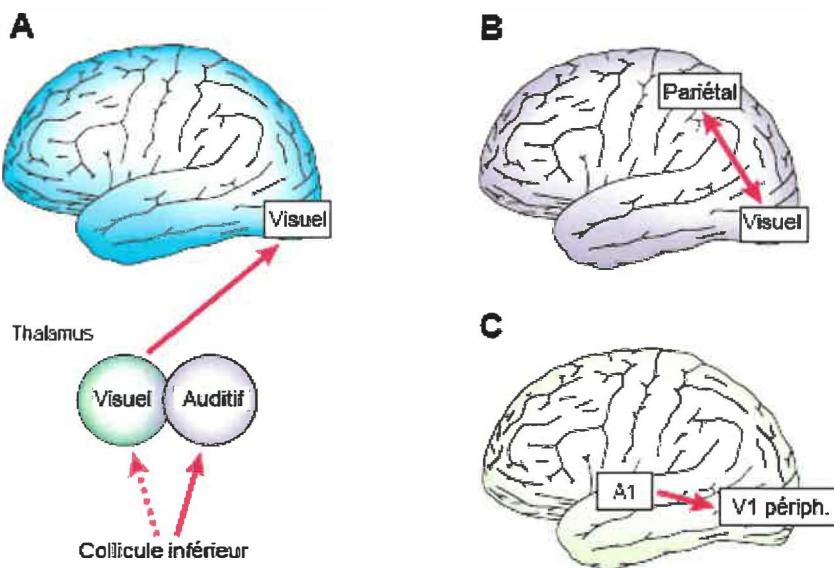
- Une première hypothèse suppose une modification des connexions locales, entraînant ainsi une réorganisation des cartes sensorielles corticales (Bavelier & Neville, 2002). Il y a ici un parallèle à faire avec les mécanismes connus de plasticité intramodale. En effet, dans le cas de déafférentation par amputation cité dans une section précédente, il y avait une reprise fonctionnelle de la représentation corticale du doigt amputé par celles des doigts voisins, organes situés à proximité les uns des autres (Merzenich et al., 1984). Une telle réorganisation a aussi été démontrée chez le singe ayant subi une déafférentation d'une main, mais cette fois, le cortex répondant jadis aux stimuli de la main déafférentée est recruté par des afférences provenant d'aussi loin que du visage (Jain et al, 2000). Ainsi, il n'est pas exclu que les mécanismes impliqués dans la plasticité intramodale puissent l'être également dans la plasticité intermodale. En absence d'afférences rétiniennes, la carte visuelle subirait alors l'extension des représentations corticales auditives et somesthésiques, en même temps qu'une dégénérescence du cortex visuel.
- Une deuxième hypothèse correspond à une réorganisation des connexions sous-corticales (Fig.1.3A) (Bavelier & Neville, 2002). Cette forme de plasticité, qui semble se limiter aux organismes en développement, repose sur 1) la stabilisation de connexions transitoires devenues fonctionnelles chez l'aveugle, alors qu'elles dégénèrent chez le voyant, et 2) la formation de nouvelles connexions. Des méthodes de traçage neuronal ont permis d'illustrer la présence de connexions auditives ectopiques dans le thalamus

visuel du rat-taupe *Spalax ehrenbergi* dépourvu de vision (Doron & Wollberg, 1994) et du hamster énucléé à la naissance (Izraeli et al., 2002). On retrouve aussi des projections rétiniennes aberrantes au niveau du thalamus auditif chez la souris congénitalement sourde (Hunt et al., 2005). Non seulement y a-t-il présence de fibres ectopiques dans le thalamus visuel chez le rat-taupe et le hamster énucléé, mais de plus ces connexions semblent fonctionnelles, c'est-à-dire qu'elles permettent l'activation du cortex visuel via une stimulation auditive (Bronchti et al., 1989; 2002; Heil et al., 1991; Izraeli et al., 2002). Il s'agit de cette présence de fibres ectopiques que nous avons voulu investiguer dans le cadre de cette étude.

- Une troisième hypothèse est basée sur des modifications s'opérant au niveau des connexions cortico-corticales (Fig.1.3B) (Bavelier & Neville, 2002). Chez le voyant, le recrutement et l'activation de régions corticales inféro-temporales, qui sont importantes pour visuellement reconnaître un objet, peuvent être amplifiés par une stimulation tactile de la main située ipsilatéralement à la cible visuelle (Macaluso et al., 2000). L'analyse de cette connectivité fonctionnelle propose que cette amplification soit modulée via des rétroprojections en provenance de régions polymodales, tel le cortex pariétal, vers les aires corticales visuelles. Quelques études d'imagerie chez l'aveugle et le sourd abordent la possibilité que cette connexion cortico-corticale, et spécialement celle impliquant le cortex pariétal, puisse constituer une source de réarrangement intermodal (Bavelier et al., 2000; Weeks et al., 2000). Par exemple, il se produit chez le sourd un renforcement fonctionnel des connexions entre les écorces pariétale et visuelle lorsqu'il y a sollicitation de leur champ visuel périphérique (Bavelier et al., 2000). De plus, ce même cortex pariétal viendrait activer le cortex visuel puisqu'ils sont successivement activés lors d'une tâche d'attention auditive (Liotti et al., 1998); ces connexions pariétales seraient donc impliquées dans l'activation auditive du cortex visuel (Weeks et al., 2000). Malgré le fait que l'on ne connaisse pas toute la gamme des changements reliés à la réorganisation

cortico-corticale, il semble clair que cette connectivité demeure modifiable même à l'âge adulte.

- Une quatrième hypothèse consiste en la stabilisation de connexions entre les différents cortex primaires (Fig. 1.3C) (Bavelier & Neville, 2002). Absente chez l'adulte voyant, une connexion entre les écorces visuelle et auditive primaires a été montrée chez des chats et hamsters immatures (Clarke & Innocenti, 1990; Frost, 1988). Chez le primate adulte, une connexion entre le cortex auditif primaire (A1) et la portion de V1 qui représente la vision périphérique a déjà été observée (Falchier et al., 2002). Chez les sourds, la dégénérescence de cette connexion réduirait l'interaction entre les projections auditives et visuelles dans cette zone de convergence, expliquant ainsi leurs capacités supranormales au niveau du champ visuel périphérique (Bavelier & Neville, 2002). Chez les aveugles, le renforcement de la connexion A1-V1 attribuable à l'absence d'afférences visuelles pourrait contribuer au recrutement de V1 lors de tâches auditives.



**Figure 1.3 : Mécanismes hypothétiques de la plasticité intermodale.**  
**A.** Réorganisation des connexions sous-corticales; **B.** Modifications dans les connexions cortico-corticales; **C.** Stabilisation de connexions entre les cortex primaires. Adapté de Bavelier & Neville, 2002.

## 1.2 Généralités sur les systèmes auditif et visuel

L'acheminement vers le cerveau des nombreuses informations sensorielles s'effectue via des voies ascendantes indépendantes et ségrégées. Pour la vision et l'audition, les influx nerveux convergent simultanément de leurs organes sensitifs vers leurs cibles thalamiques et corticales primaires respectives (Fig. 1.4).

### 1.2.1 Anatomie et connexions du système auditif

La cochlée, via l'organe de Corti, reçoit l'information auditive et la dirige vers les noyaux cochléaires (NC). Cette information sonore atteint ensuite, via le lemnisque latéral et de façon majoritairement controlatérale, le noyau central du collicule inférieur (CI). Les fibres de cette région purement auditive cheminent à travers le brachium du CI pour faire synapse au niveau du corps géniculé médian (CGM), le noyau auditif thalamique qui projette à son tour vers A1 (Fig. 1.4). La majorité des connexions du système auditif sont dites tonotopiques, c'est-à-dire qu'elles respectent un patron sensoriel précis représentant les fréquences des tonalités et retrouvé tout au long du trajet, de la cochlée au cortex auditif.

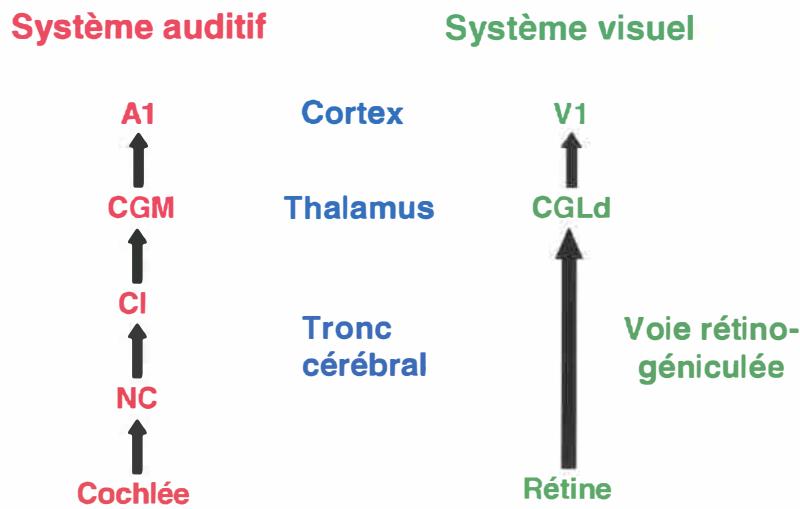


Figure 1.4 : Schématisation générale des voies auditive et visuelle.

Le CI est situé dans le tectum du mésencéphale caudal, à la surface du tronc cérébral, et reçoit les influx auditifs des noyaux cochléaires. Il est divisé en trois portions : 1) un noyau central; 2) un cortex externe et 3) un cortex dorsal. La portion centrale envoie une projection tonotopiquement organisée vers la portion ventrale du CGM (CGMv), alors que le cortex dorsal du CI projette de façon non-tonotopique vers la portion dorsale du CGM (CGMd) (Drug & Syka, 1984a; Kudo, 1981; Kudo & Niimi, 1978; Payne, 1992). Au niveau thalamique, le CGMv envoie des efférences tonotopiques à A1 (Velenovsky et al., 2003), et le CGMd, noyau non tonotopiquement organisé (Winer et al., 2001), émet des projections non tonotopiques vers le cortex auditif secondaire (Rouiller, 1997). Les connexions entre ces deux portions du thalamus auditif et leurs cibles corticales respectives sont réciproques. Ces observations, effectuées chez une variété de mammifères, suggèrent une similarité de ces connexions auditives chez la souris.

Il existe également des connexions « court-circuits » entre les différents relais auditifs. Ainsi, une projection directe mais non tonotopique des NC vers la division médiale du CGM (CGMm) a été montrée chez le rat (Malmierca et al., 2002). Le cortex auditif envoie, quant à lui, des efférences vers la majeure partie du CI (Herbert et al., 1991).

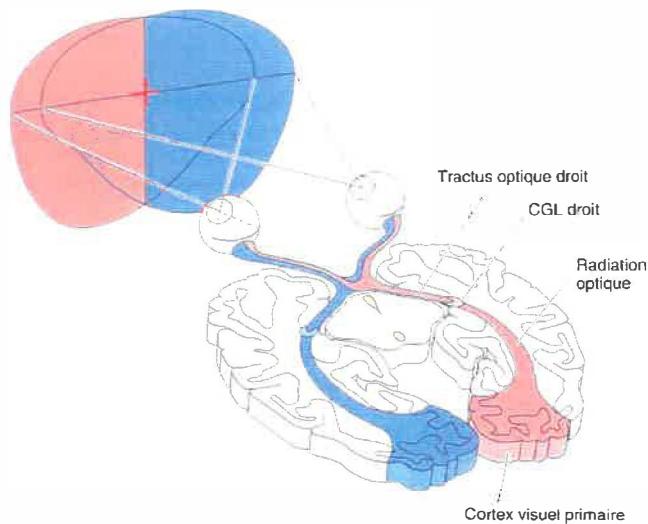
Le cortex externe du CI, contrairement au noyau central, est en contact avec des structures qui ne possèdent pas une vocation uniquement auditive. Chez le rat, par exemple, il reçoit une projection des couches auditives du CS (Drug & Syka, 1984b). De plus, les cortex externe et dorsal projettent à leur tour vers le CS, afférences atteignant principalement les couches intermédiaires (stratum opticum; SO; et stratum griseum intermediale; SGI) et profondes (stratum griseum profundum; SGP; et stratum album profundum; SAP) (Garcia Del Cano et al., 2006). Le cortex externe émet également des projections dans les noyaux de la colonne dorsale, relais sensoriels du système somesthésique (Coleman & Clerici, 1987).

### **1.2.2 Développement et mise en place des connexions du système auditif**

Il est aujourd’hui connu que les connexions auditives centrales de la souris se développent avant qu’elles ne traitent l’information, traitement qui commence vers le septième jour post-natal (P7) (Cant, 1998; Ehret, 1976; 1997; Romand, 1992; Walsh & Romand, 1992), alors que la mise en place des connexions entre les différents relais s’effectue au stade embryonnaire (Cant, 1998; Rubel & Fritzsch, 2002). Chez le rat, la connexion entre les NC et le CI se développerait à partir du dix-huitième jour embryonnaire (E18) (Kandler & Friauf, 1993), alors que cette même projection s’installe dès E16,5 chez la souris (Gurung & Fritzsch, 2004), suggérant que le développement auditif de la souris devance d’environ deux jours celui du rat. Les projections CI-CGM et CGM-A1 s’observent dès E13,5 chez la souris, résultats validés le lendemain (E14,5) lorsque la cytoarchitecture du thalamus auditif est plus clairement discernable (Gurung & Fritzsch, 2004). Les connexions auditives colliculo-thalamique et thalamo-corticale se développent donc avant même que les fibres originant des NC n’atteignent le CI, c’est-à-dire antérieurement à l’arrivée d’informations auditives à son niveau. Ces observations suggèrent que les projections du CI et du CGM sont topographiquement spécifiques dès le départ et que seul un ajustement fin ou « *fine-tuning* » local peut se produire chez le nouveau-né avant ou après la mise en place fonctionnelle de l’audition. Il est donc permis de croire que l’émergence des connexions auditives, et peut-être leur organisation tonotopique, seraient indépendantes des stimuli acoustiques (Cant, 1998). Cependant, l’organisation fine des afférences peut dépendre de l’activité sonore chez le nouveau-né (Gabriele et al., 2000; Leake et al., 2002; Rubel & Fritzsch, 2002), aussi bien que de la présence d’une quantité suffisante d’afférences (Fritzsch et al., 1997).

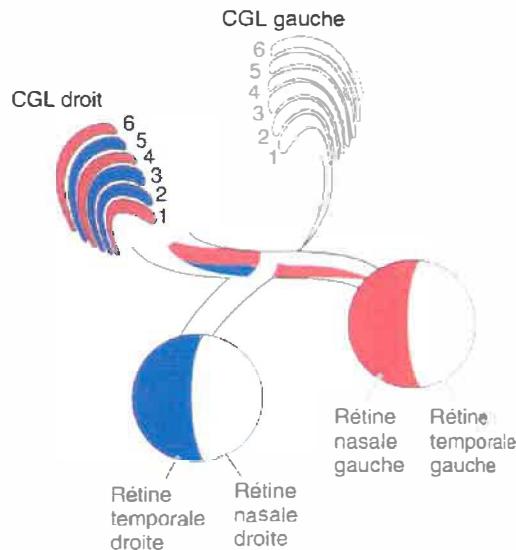
### 1.2.3 Anatomie et connexions du système visuel primaire

La rétine de l'œil perçoit les signaux extérieurs sous forme d'influx nerveux et les transmet au noyau visuel primaire du thalamus, le CGLd, via la voie rétinogéniculée, qui projette à son tour vers sa cible corticale, V1 (Fig. 1.4). De façon plus détaillée, les fibres rétiniennes de chaque œil convergent pour former le nerf optique. Les rétines nasale et temporale subissent une décussation partielle (60% des fibres chez l'homme) au niveau du chiasma optique et longent le tractus optique pour atteindre leur cible thalamique principale, le CGLd. Les axones visuels forment également des connexions avec le CS au niveau du mésencéphale et environ 1% des fibres optiques projettent vers le noyau suprachiasmatique de l'hypothalamus (NSC), permettant le réglage des rythmes circadiens (Bear et al., 2002). Les neurones du CGLd relaient finalement l'information visuelle vers V1 via les radiations optiques (Fig. 1.5). Une rétinotopie complète caractérise la voie ascendante primaire; c'est-à-dire que toutes les structures impliquées le long de cette voie possèdent une représentation ordonnée de la rétine qui divise celle-ci en quatre champs visuels. La topographie de ces quadrants rétiniens est fidèlement préservée, de la rétine jusqu'au cortex occipital.



**Figure 1.5 : Représentation horizontale des voies visuelles centrales.** Tiré de Neurosciences (Bear et al., 2001).

Chez le primate, le CGLd est constitué de six couches distinctes, repliées autour du tractus optique. Les axones de l'œil ipsilateral atteignent les couches 2, 3 et 5, alors que les axones de l'œil contralatéral innervent les couches 1, 4 et 6 (Fig. 1.6). Les couches 1 et 2, appelées magnocellulaires, sont composées de cellules de grande taille et innervées par des cellules ganglionnaires de type Y. Les couches 3 à 6 sont quant à elles dites parvocellulaires, c'est-à-dire formées de cellules de petite taille, et reçoivent l'innervation des cellules ganglionnaires de type X (Bear et al., 2002). Chez le rongeur comme la souris, l'organisation laminaire décrite précédemment n'existe pas au niveau du CGLd.



**Figure 1.6 : Organisation des afférences rétiniennes sur les différentes couches du corps géniculé latéro-dorsal.** Tiré de Neurosciences (Bear et al., 2002).

Le cortex strié est divisé en six couches cytoarchitectoniques distinctes. La couche I est agranulaire et reçoit surtout des projections cortico-corticales. Les couches II et III reçoivent principalement des afférences corticales provenant par exemple de la couche IV. Cette dernière, aussi appelée couche granulaire, est divisée en trois parties superposées (A, B et C) et reçoit des afférences du CGLd; ses couches 1 et 2 projettent en direction de la couche corticale IVC $\alpha$  et les quatre autres vers la couche IVC $\beta$ . Les afférences de la couche IVA

proviennent de la couche IVC $\beta$  (Lund, 1973), alors la couche IVB reçoit une forte projection de la couche IVC $\alpha$  et projette à son tour vers l'aire visuelle secondaire (V2) (Fries & Distel, 1983). Le CGLd innervé également la couche VI. La couche V, quant à elle, envoie ses projections vers le CS. L'information visuelle qui atteint V1 est expédiée vers les aires extrastriées, qui gèreront les différentes fonctions de l'interprétation visuelle telles que l'analyse des couleurs, des formes, des reliefs et du mouvement.

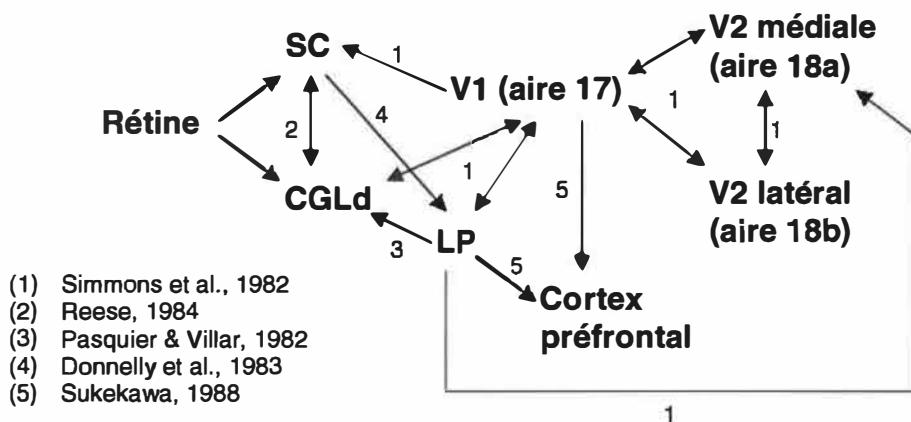
#### **1.2.3.1 Connectivité du collicule supérieur et du noyau thalamique latéro-postérieur chez le rongeur**

Il existe une voie complémentaire et interconnectée à la voie visuelle primaire décrite dans la section précédente. On y retrouve des structures thalamiques et corticales secondaires davantage impliquées dans l'intégration des informations visuelles que dans le traitement primaire de celles-ci. Une attention particulière est portée auprès des connexions afférentes et efférentes de deux structures visuelles secondaires; le collicule supérieur (SC) et le noyau thalamique latéro-postérieur (LP). Ces structures sont également présentes chez les mammifères en général, où LP devient le pulvinar, mais nous nous limiterons à leur connectivité respective chez le rongeur.

Situé dans le mésencéphale, le CS est un important centre d'intégration sensorimotrice qui reçoit des afférences visuelles, auditives et somesthésiques. Constitué d'une organisation laminaire définie (six couches), les projections rétiniennes s'y retrouvent au niveau de ses couches superficielles, alors que ses couches intermédiaires et profondes accueillent les projections auditives et somesthésiques (Benedetti, 1991). Il est impliqué, entre autre, dans les mouvements des yeux et de la tête en fonction des afférences sensorielles.

Le LP constitue, en quelque sorte, l'équivalent du pulvinar chez le carnivore ou le primate. Son rôle précis est encore plus ou moins indéterminé, complexifiant ainsi son étude. Cette structure thalamique reçoit, entre autre, des projections rétiniennes ainsi que, chez le hamster et le rat énucléés du moins, des

afférences somato-sensorielles (Mooney & Rhoades, 1983; Negyessy et al., 2002). De plus, près des deux tiers des fibres du CS projetant sur LP développent des champs récepteurs somato-sensoriels chez le hamster énucléé (Mooney et al., 1992). La figure 1.7 résume très bien les connexions respectives du CS et LP au sein du système visuel. Chez le rat, la projection simultanée de LP et de V1 vers le cortex préfrontal conférerait au LP un rôle dans l'intégration visuo-motrice (Sukekawa, 1988).



**Figure 1.7 : Connexions du système visuel du rongeur.** Notez la connectivité diversifiée du collicule supérieur et du noyau thalamique latéro-postérieur.

La voie visuelle secondaire formée des connexions et interrelations entre le CS, le LP et V2 n'est pas à négliger; la nature polymodale du CS et LP en font des structures intéressantes pour l'étude de phénomènes de compensations intermodales. De nombreuses études ont démontré leur implication dans la réorganisation subséquente à une déprivation visuelle, études qui seront abordées plus en détails dans une prochaine section.

#### 1.2.4 Développement et mise en place des connexions du système visuel

Les voies visuelles, tout comme les voies auditives et somesthésiques, sont formées à différents stades de la vie embryonnaire ou post-natale. De nos jours, il demeure toutefois difficile d'établir avec précision les périodes critiques de ces connexions. Il est connu cependant que le système visuel humain est très

immature à la naissance. La synaptogénèse est initialement très rapide dès la venue au monde; la densité synaptique atteint son maximum à l'âge de huit mois. L'élimination de synapses permet d'aboutir au niveau retrouvé chez l'adulte à l'âge de onze ans environ. Des observations similaires sont reportées chez le singe, mais avec des périodes quatre fois plus courtes (Garey & de Courten, 1984).

La myélinisation de la voie rétino-géniculée du rongeur débute lors de la première semaine post-natale (P5-P6); on peut observer l'apparition de la gaine de myéline et des nœuds de Ranvier vers P16 au niveau du tractus optique et du CGLd (Biesold et al., 1976; Hildebrand & Waxman, 1984; Sefton & Lam, 1984). La myéline « fixe » en quelque sorte les connexions, qui deviennent alors moins sujettes aux modifications, et les renforce via l'augmentation de leur vitesse de conduction. Une déafférentation précoce précédent la myélinisation, telle qu'induite par une mutation ou une énucléation, pourrait hypothétiquement jouer un rôle dans la formation de connexions visuelles ectopiques.

L'émergence des connexions visuelles normales a été largement étudiée chez les rongeurs comme la souris, le rat et le hamster. Chez le rat, l'organisation synaptique du CGLd s'effectue durant les trois premières semaines de la vie; à la suite d'une synaptogénèse intense au cours des premiers jours (P5-P8), l'arrangement synaptique identifié chez l'adulte est retrouvé autour du vingtième jour post-natal (Aggelopoulos et al., 1989). De plus, son cortex visuel devient mature dès P30, mais il conserve un potentiel de réorganisation jusqu'à P45, montrant une période critique corticale tardive (Kawabata et al., 2003).

Tout comme pour le système auditif, les connexions entre les différents relais visuels s'effectuent au cours du développement embryonnaire. Ainsi, les fibres rétinienennes de la souris atteignent le CGLd à E14, alors que la projection descendante cortico-thalamique s'établit vers E19 ou E20 (Clancy et al., 2001). La mise en place de la connexion rétino-thalamique pourrait donc exercée une influence potentiellement importante sur la formation d'une projection CGLd-V1 typique.

### 1.3 Effets de la déprivation visuelle sur les connexions normales

Les effets d'une déprivation visuelle, conséquente à une absence de vision dès la naissance ou survenant plus tardivement, ont été largement étudiés chez les rongeurs aveugles de naissance ou énucléés. Ici, à moins d'une précision particulière, il est entendu que l'énucléation est bilatérale et a eu lieu à P0 ou P1. Le volume et la densité cellulaire du CGLd sont grandement influencés par l'absence de vision; ils sont significativement diminué chez les rongeurs énucléés (hamster, rat, souris) (Heumann & Rabinowicz, 1980; Israeli et al., 2002; Robertson et al., 1989; Trevelyan & Thompson, 1995; Warton et al., 1988). Il est également plus petit chez les rongeurs aveugles de naissance tels que le rat-taupe et la souris anophthalmique ZRDCT/An (Doron & Wollberg, 1994; Chase, 1945; Kaiserman-Abramof et al., 1980). Une étude ultrastructurale a montré, autant pour la souris mutante ZRDCT/An que pour la souris énucléée, que les sites synaptiques du CGLd normalement occupés par les terminaisons axonales rétinienques RLP (round large-pale mitochondria) sont désormais innervés par de grandes terminaisons contenant des vésicules synaptiques sphériques et des mitochondries avec une matrice dense aux électrons (RLD; round large-dark mitochondria) (Cullen & Kaiserman-Abramof, 1976; Kaiserman-Abramof, 1983). Quoique incertaine, l'origine de ces terminaux ne serait pas corticale (Winkelmann et al., 1985). La présence de fibres rétinienques est nécessaire au développement et au maintien du nombre normal de neurones dans le thalamus visuel primaire, dépendance qui serait supérieure pour la souris énucléée comparativement à la souris ZRDCT/An (Cullen & Kaiserman-Abramof, 1976). La déafférentation plus tardive aurait donc un effet plus prononcé sur le volume thalamique visuel qu'une déafférentation précoce. Il se produit aussi une baisse plus importante du nombre de neurones thalamo-corticaux chez la souris énucléée (Kaiserman-Abramof, 1983).

Tout comme le CGLd, le cortex visuel subit également une diminution de volume chez le hamster énucléé (Trevelyan & Thompson, 1995), mais les projections entre les noyaux thalamiques visuels et le cortex strié demeurent cependant intactes, comme démontré chez la souris anophthalmique ZRDCT/An,

le rat énucléé et le hamster énucléé (Godement et al., 1979; Israeli et al., 2002; Kaiserman-Abramof et al., 1980; Rhoades et al., 1985; Warton et al., 1988).

#### **1.4 Modèles animaux de déprivation sensorielle et connexions ectopiques**

Tout comme chez l'humain, l'absence de vision ou la présence de lésion des voies visuelles, en lien avec les mécanismes de plasticité intermodale, permettent chez différents modèles animaux une reprise du système visuel par l'audition et la somesthésie. Cependant, peu de connaissances sont acquises en ce qui concerne la présence de connexions ectopiques chez l'humain aveugle; on ne peut que supposer leur implication dans les mécanismes compensatoires observés chez lui. Les modèles animaux se révèlent donc indispensables à la compréhension des mécanismes fondamentaux.

Il a été montré précédemment que le système visuel pouvait être recruté lors de tâches tactiles chez l'humain aveugle (ce mémoire, p. 4-5). Le même phénomène se produit aussi chez le rat énucléé et la souris aveugle et/ou ayant subi une lésion au niveau d'une région du cortex somesthésique (Asanuma & Stanfield, 1990; Garcia Del Cano et al., 2004; Toldi et al., 1988; 1994). Les noyaux de la colonne dorsale envoient des projections fonctionnelles vers les couches superficielles (visuelles) du CS (Garcia Del Cano et al., 2004) et vers le CGLd, où la taille de cette dernière projection est supérieure chez les animaux ayant en plus subit une lésion du cortex somesthésique (Asanuma & Stanfield, 1990). L'importance des changements dus à l'énucléation régressent en fonction de l'âge auquel a eu lieu l'intervention. Chez le rat, l'expansion des réponses somato-sensorielles dans l'aire visuelle disparaissent lorsque la déafférentation se produit à partir de P15, qui semble représenter la période critique pour ce type de réorganisation compensatoire (Toldi et al., 1988).

L'activation et l'invasion auditive ou somesthésique du système visuel ont été largement étudiées chez le hamster lésionné. On procédant à des lésions précoces au niveau des cibles rétiniennes (CGLd et CS), de même qu'une

déafférentation des voies auditives et somesthésiques ascendantes (au niveau des lemnisques latéral et médian, respectivement), il est possible d'engendrer des projections rétiniennes permanentes vers CGM ou le complexe ventrobasal (VB; thalamus somesthésique), respectivement. La dégénérescence des afférences du CS entraîne également une amplification de la projection rétinienne vers LP (Frost, 1981). Ces projections aberrantes sont rétinotopiquement organisées et forment des synapses fonctionnelles; c'est-à-dire que des stimuli visuels ont la capacité d'activer les cortex auditif et somesthésique (Frost, 1982; 1999; Frost & Metin, 1985; Metin & Frost, 1989; Ptito et al., 2001). De plus, au niveau du cortex auditif, certaines cellules corticales semblent bimodales, répondant également aux stimulations auditives (Ptito et al., 2001).

Dans le cas d'une souris congénitalement sourde, le CGM et la portion auditive du CS sont la cible d'influx nerveux en provenance de la rétine (Hunt et al., 2005). Le cortex strié auditivement activé du hamster énucléé est connecté avec le CGLd et LP, suggérant que l'afférence auditive dériverait du thalamus visuel. Une telle connexion a été montrée entre le CI et le CGLd de ce modèle animal (Izraeli et al., 2002). Cette hypothèse a aussi été investiguée chez le rat-taupe *Spalax ehrenbergi*, un rongeur dont l'absence de vision est attribuable à son mode de vie souterrain. Le système visuel (CGLd et cortex visuel) de ce rongeur aveugle est auditivement activé (Bronchti et al., 1989; 2002; Heil et al., 1991). Intrigués par l'origine de ces afférences auditives, Doron & Wollberg (1994) ont finalement pu démontrer qu'il existait, chez ce même rat-taupe, une connexion entre le CI et le CGLd pouvant expliquer l'activation du système visuel de ce modèle.

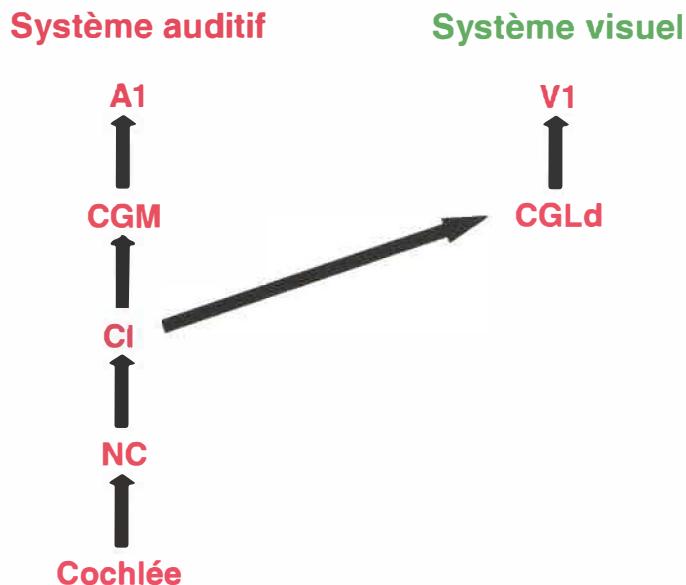
#### **1.4.1 Rationnel du choix de la souris anophthalmique ZRDCT/An et de sa comparaison avec la souris C57BL/6 énucléée à la naissance**

Il a été montré que plus la perte de la vue survient tôt dans la vie d'un individu, meilleure risque d'être son adaptation compensatoire. Ainsi, des études portant sur des modèles animaux naissant à un stade immature ont été effectuées dans

le but d'élucider ce qui se produit en cas de cécité précoce. Du point de vue développemental, l'énucléation néonatale du furet, du hamster et de l'opossum correspondent à l'énucléation embryonnaire de la souris, du rat ou du chat (Clancy et al., 2001). Il semble malgré tout que ces derniers et leur équivalent naissant à un stade immature présentent des caractéristiques similaires de plasticité intermodale (Izraeli et al., 2002; Kahn & Krubitzer, 2002; King & Parsons, 1999).

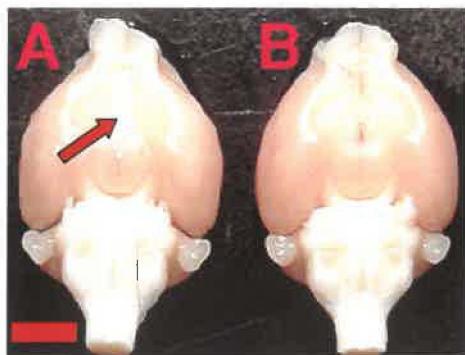
Le hamster énucléé, modèle de déprivation visuelle précoce, et le rat-taupe présentent une connexion entre le CI et le CGLd (Fig. 1.8) (Doron & Wollberg, 1994; Izraeli et al., 2002). Les deux modèles présentent des similitudes, mais ils demeurent toutefois différents quant au degré de dégénérescence post-natale des connexions rétinienennes. En effet, alors que l'énucléation empêche toute communication ultérieure entre la rétine et les voies visuelles supérieures, la présence des yeux, même microptalmiques, permet la persistance de certaines connexions rétinienennes chez le rat-taupe. Innervant la plupart de ses cibles usuelles chez le nouveau-né, la voie visuelle principale subit une dégénérescence progressive au cours des deux premières semaines après la naissance; l'absence de fibres entre la rétine et le CGLd à l'âge adulte confère à ce mammifère le qualificatif de modèle « aveugle », mais on observe cependant la stabilisation de la connexion entre la rétine et le NSC (Bronchti et al., 1991).

La connexion CI-CGLd est donc absente chez la souris, le rat ou le chat, modèles de déprivation plus tardifs chez lesquels elle n'a jamais été démontrée. La souris anophthalmique ZRDCT/An, par son absence oculaire congénitale, représente le modèle animal aveugle le plus précoce, d'où son intérêt dans le cadre de cette étude de traçage de connexions neuronales.



**Figure 1.8 : Schématisation des voies auditives et visuelles chez le rat-taupe aveugle et le hamster énucléé.** Le collicule inférieur projette vers le corps géniculé latéro-dorsal, qui active le cortex « visuel ». (Voir Fig. 1.4 pour les voies normales).

Les fibres rétinianes sont absentes chez la souris mutante ZRDCT/An; elles ne peuvent donc pas atteindre leur cible thalamique principale (CGLd). Il devient donc intéressant de comparer les connexions colliculo-thalamiques de cette souris et d'un modèle voyant (C57BL/6) dont les afférences de la rétine, ayant déjà atteint le thalamus au moment de la naissance, ont subit une dégénérescence à la suite d'une énucléation néonatale bilatérale (Fig. 1.9).



**Figure 1.9 : Vue ventrale de cerveaux de souris adultes voyante (A) et énucléée (B).** En A, la flèche pointe le chiasma et les nerfs optiques. En B, on note l'absence de ces mêmes structures, qui ont dégénéré à la suite de l'énucléation. Elles sont également absentes chez la souris ZRDCT/An. Échelle : 5 mm.

### 1.4.2 Particularité de la souris anophtalmique ZRDCT/An

Découverte il y a près de soixante-cinq ans, la souris anophtalmique ZRDCT/An ne développe pas de globe oculaire, de rétine ni de voie rétino-géniculée (Fig. 1.10). L'orbite oculaire est entièrement occupée par une large glande lacrymale (Chase & Chase, 1941).

La mutation responsable (*ey1*) de l'anophtalmie de la souris ZRDCT/An s'effectue au niveau du gène *Rx/rax* du chromosome 18. Ce gène est un homeobox qui s'exprime au niveau de la courbure céphalique antérieure, de la rétine, de la glande pinéale et de l'hypothalamus. La mutation de la méthionine10 pour une leucine (M10L) affecte la traduction d'un codon de départ AUG, ce qui entraîne une réduction de l'abondance de la protéine Rx. Cette mutation génère une anophtalmie, l'absence de nerf optique et un dysfonctionnement hypothalamique, alors que le gène *Rx/rax* complètement dysfonctionnel entraîne la mort néonatale (Tucker et al., 2001). Ce phénotype, similaire à l'anophtalmie humaine (Kohn et al., 1988), constitue donc un modèle fiable pour l'étude de cette pathologie.



**Figure 1.10 : La souris ZRDCT/An** ne développe ni globe oculaire, rétine ou voies optiques. La fente palpébrale demeure toutefois plus ou moins visible.

Cette souche est homozygote, mais la pénétrance de la mutation demeure parfois incomplète; environ 10% des souris mutantes naissent avec un ou deux yeux souvent microptalmiques (Chase & Chase, 1941). Très rarement, il y a une formation oculaire bilatérale qui semble entièrement normale.

Chase & Chase (1941) ont démontré, par une étude développementale exhaustive, que la période critique pour la mise en échec de la formation oculaire serait autour de E10. À partir de E13, les structures et annexes oculaires croissent à un rythme normal, mais leur organisation devient impossible. Ainsi, la formation des yeux et des voies optiques ne peuvent s'effectuer après E10, alors que les connexions du système visuel sont déjà en place à la naissance chez la souris voyante.

## 1.5 Objectifs de la recherche

L'objectif général de notre recherche est l'étude des modifications anatomiques et fonctionnelles dans le cerveau de rongeurs aveugles. Dans cette étude, nous avons investigué la présence de connexions ectopiques compensatoires chez deux modèles de souris aveugles, différentes par le moment où survient la déafférentation visuelle. La perte précoce de la vision favorise la mise en place de mécanismes de plasticité intermodale. Nous croyons donc que la récupération auditive du système visuel peut présenter des divergences selon le moment où il y a eu perte de la vision.

### 1.5.1 Objectifs spécifiques

La première étape de ce projet visait à montrer l'occupation partielle du thalamus visuel de la souris anophthalmique, comme démontré chez d'autres animaux aveugles, par une injection de traceur neuronal dans une structure purement auditive. En effet, nous avons émis l'hypothèse que, tout comme chez ces animaux, le noyau central du Cl envoie des projections vers le CGLd et modifierait le patron d'innervation du LP chez la souris mutante ZRDCT/An. Puisque la période à laquelle survient la cécité semble importante quant à l'intensité de cette reprise intermodale, nous avons aussi émis l'hypothèse qu'un modèle ayant subit une énucléation néonatale présenterait des différences au niveau de la connectivité colliculo-thalamique compensatoire.

### **1.5.2 Importance et originalité de la recherche**

Par le présent projet de recherche, nous désirons approfondir l'effet de la perte précoce de la vision versus une perte plus tardive sur le développement des connexions ectopiques qui pourraient s'effectuer dans un cas de déprivation sensorielle. Ces connexions pourraient alors être impliquées dans l'activation du système visuel lors de tâches auditives. Dans un avenir rapproché, nous désirons investiguer la présence de connexions auditives ectopiques chez un autre modèle de rongeur aveugle, le rat énucléé à la naissance. La période critique semble se prolonger après la naissance chez ce rongeur; il serait intéressant d'y observer l'effet de l'énucléation sur la mise en place de connexions aberrantes, en comparaison avec les souris ZRDCT/An et énucléées. Il serait aussi pertinent de procéder au traçage des connexions de l'écorce occipitale pour les deux modèles de souris aveugles impliquées dans le cadre de cette étude, et ce, afin de déterminer si le cortex visuel reçoit des afférences auditives thalamo-corticales ou cortico-corticales. Finalement, la recherche de connexions somato-sensorielles dans le système visuel pourrait s'avérer toute aussi intéressante.

Dans une perspective à long terme, nos résultats pourront nous conduire à une meilleure compréhension des mécanismes de plasticité intermodale chez l'aveugle précoce ou tardif et permettront peut-être de prédire le succès d'implantation de prothèses auditives ou visuelles chez les individus perdant tôt ou tard la vision ou l'audition.

## CHAPITRE 2

### MATÉRIEL ET MÉTHODES

#### 2.1 Aspects théoriques

La méthodologie utilisée au cours de ce projet de traçage neuronal implique différents concepts qu'il est important de développer afin de mieux comprendre la démarche expérimentale. Puisqu'il est ici question de traçage neuronal, il est nécessaire d'aborder les notions de transports antérograde et rétrograde, de même que les particularités du dextran-biotine, le traceur sélectionné pour les injections.

##### 2.1.1 Notion de transport neuronal

Afin d'assurer sa fonction, le neurone synthétise des protéines (neuropeptides, neurotransmetteurs, etc.) qui sont stockées dans des vésicules synaptiques et libérées au niveau des terminaisons axonales du neurone présynaptique. Cette synthèse s'effectue, via les ribosomes, au niveau du soma (ou corps cellulaire) principalement. Les dendrites contiennent aussi des ribosomes libres capables de synthétiser certaines protéines du cytosquelette. De plus, la présence de polyribosomes libres, surtout au niveau du bouton synaptique, suggère une synthèse protéique possible au niveau de la synapse.

Le transport neuronal est nécessaire pour acheminer les différentes composantes synthétisées dans le soma vers l'extrémité des terminaisons axonales, de même que pour le rapatriement de diverses molécules le long de l'axone vers le corps cellulaire.

Ce transport est en partie assuré par des éléments du cytosquelette, composé de trois micro-éléments différents (Guénard et al., 1996):

- 1) Les microtubules, d'un diamètre variant de 25 à 28 nm et constitués de polymères de tubulines  $\alpha$  et  $\beta$ , qui représentent les « rails » sur lesquels se déplacent les organelles lors du transport axonal rapide.

- 2) Les neurofilaments, d'un diamètre de 10 nm, représentent les éléments les plus abondants du cytosquelette.
- 3) Les microfilaments, dotés d'un diamètre de 5 à 7 nm et constitués de polymères d'actine globulaire.

Il existe plusieurs types de transports axonaux, classifiés selon le sens et la vitesse de leur déplacement, de même que par les protéines de transport qui y sont impliquées. On distingue deux transports rapides : antérograde et rétrograde; un transport antérograde lent et le transport des mitochondries. La connaissance des caractéristiques propres de chacun est très utile pour l'élaboration de techniques de traçage neuronal.

#### 2.1.1.1 Transport antérograde

Le transport antérograde consiste en l'acheminement d'éléments à partir du soma vers le cytoplasme des terminaisons axonales. Il existe deux types de transport antérograde : rapide et lent. Le transport rapide véhicule principalement des vésicules synaptiques et leurs précurseurs, et ce, à une vitesse pouvant atteindre jusqu'à 400 mm/jour (Guénard et al., 1996). Ce matériel est transporté le long des microtubules du cytosquelette par un « moteur » protéique ATP dépendant appelé kinésine (Bear et al., 2002). Ce transport est indépendant du type d'axone. Le transport lent, bien que moins rapide que le précédent (moins de 10 mm/jour), représente néanmoins une partie importante du transport antérograde (Guénard et al., 1996). Il est spécifique du type d'axone et en assure le renouvellement de 80% des protéines totales. Ce type de transport se subdivise en deux sous-types, qui diffèrent par la vitesse de leur transport respectif : le type A (0,1 à 1 mm/jour) et le type B (2 à 6 mm/jour) (Oztas, 2003). Son mécanisme reste inconnu.

Dans un neurone rempli de traceur à capacité antérograde, le phénomène se traduit par l'observation en microscopie de fibres et terminaisons axonales marquées et parfois même, à de forts grossissements, de boutons synaptiques qui se trouvent le long de l'axone.

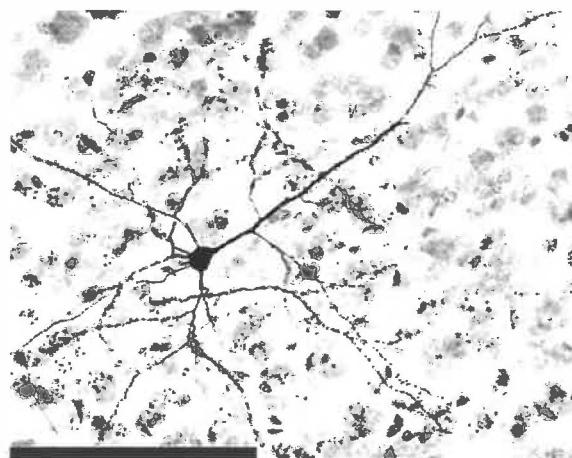
### 2.1.1.2 Transport rétrograde

Le flux de ce transport rapide s'effectue dans le sens inverse du transport antérograde; c'est-à-dire de la terminaison axonale vers le corps cellulaire. Il permettrait ainsi le rapatriement de molécules telles que la membrane vésiculaire vers le soma pour y être dégradées par les lysosomes, recyclées ou « réparées » (Guénard et al., 1996). Il est également possible que ce processus puisse faire parvenir des signaux au soma, signaux indiquant notamment les modifications au niveau des besoins métaboliques de la partie terminale de l'axone (communication cellulaire) (Bear et al., 2002). Ce transport s'effectue à une vitesse de 100 à 200 mm/jour (Oztas, 2003).

Les mécanismes des transports rapides antérograde et rétrograde sont sensiblement les mêmes, à l'exception de la protéine de transport impliquée; le mouvement rétrograde s'effectue par l'intervention de la dynéine cytoplasmique, qui est associée à une ATPase (Bear et al., 2002). Ce transport peut faire voyager certaines toxines (tétanos) et virus (herpès, rage, polio) nuisibles à l'organisme (Guénard et al., 1996).

Le captage neuronal d'un traceur à capacité rétrograde permet l'observation en microscopie du marquage de corps cellulaires et de l'arborisation dendritique, contrairement au marquage antérograde (Fig. 2.1).

**Figure 2.1 : Marquage rétrograde d'un neurone du cortex visuel primaire au dextran-biotine.** Notez la présence du traceur remplissant le corps cellulaire et révélant l'organisation dendritique de la cellule. Échelle : 100 µm.



### 2.1.1.3 Transport axonal des mitochondries

Le transport des mitochondries est un transport *per se*, c'est-à-dire qu'il constitue un transport « en soi », se produisant à une vitesse variant de 50 à 100 mm/jour (Oztas, 2003). Il consiste en des mouvements bilatéraux et saccadés de va-et-vient permettant une distribution des mitochondries nouvellement formées, du soma jusqu'aux terminaisons axonales, pour pallier localement aux besoins énergétiques (ATP) et le retour des mitochondries en dégénérescence vers le corps cellulaire pour y être dégradées (Hollenbeck, 1996). Le mécanisme intime demeure encore inconnu à ce jour.

### 2.1.2 Caractéristiques du dextran-biotine

Le dextran-biotine (DB) est un traceur neuronal qui fait partie de la famille des dextrans aminés biotinylés (de l'anglais *biotinylated dextran amines*, BDA). Son poids moléculaire (PM) peut varier de 3 à 20 000 kD et il possède les capacités antérograde et rétrograde. Les BDA sont incorporés dans les neurones lésés au niveau du site d'injection et sont transportés le long des axones. Le mécanisme responsable de l'incorporation des BDA dans les neurones intacts est inconnu, alors que le transport du traceur via les axones lésés semble, pour de courtes distances comme dans le cas présent, s'effectuer par diffusion (Fritsch, 1993).

Dans le cadre de cette étude, l'utilisation de DB d'un PM de 10 kD s'avérait le meilleur choix. En effet, un BDA de faible PM (3 kD) semble être préférentiellement transporté de façon rétrograde, alors que le transport antérograde est davantage favorisé par un BDA de PM plus élevé (10 kD) (Fritsch, 1993; Kaneko et al., 1996; Medina et al., 1997; Veenman et al., 1992). De plus, la stabilité de sa structure moléculaire est propice à l'observation et l'entreposage à long terme, sans oublier que le DB est un traceur biotinylé aisément révélé par une histochimie du complexe avidine-biotine (système ABC) avec un protocole au 3,3'-diaminobenzidine (DAB) intensifié au nickel.

Le DB présente une sensibilité et une résolution morphologique antérograde semblable à celles observées avec la leucine de *Phaseolus vulgaris* (*Phaseolus vulgaris* leucoagglutinin; PHA-L) (Dolleman-Van der Weel et al., 1994; Veenman et al., 1992). Leurs similitudes en font des traceurs antérogrades de choix. Toutefois, la méthode de détection du DB est plus rapide et moins complexe (Veenman et al., 1992). De plus, les détails ultrastructuraux des neurones marqués au DB sont généralement mieux conservés que ceux marqués au PHA-L (Wouterlouw & Jorritsma-Byham, 1993).

## 2.2 Démarche expérimentale de l'étude

### 2.2.1 Considérations techniques reliées aux expérimentations animales

Les expérimentations effectuées sur des animaux de laboratoire peuvent se révéler plutôt ardues. Un nouveau protocole d'anesthésie générale a d'abord dû être mis au point à la suite de décès répétitifs suivant l'injection de pentobarbital sodique, utilisé avec succès chez la souris en Europe. Nous nous sommes donc tournés vers une alternative très efficace, soit une anesthésie par kétamine/xylazine.

De plus, la réussite des manipulations chirurgicales, surtout lorsqu'elles sont effectuées en microscopie, nécessite l'acquisition d'une dextérité fine ne pouvant n'être obtenue que par la pratique et l'expérience. Ainsi, une cinquantaine d'animaux ont dû être utilisés dans le cadre de ce projet, soit beaucoup plus que les 12 animaux qui ont été sélectionnés pour la précision de leur injection. En effet, plus de la moitié des cas ont été exclus de l'étude due à l'imprécision de l'injection et/ou de sa profondeur inadéquate.

Finalement, aucune différence au niveau des connexions n'a été démontrée à ce jour, peu importe le modèle, relativement au sexe (mâle vs femelle) et au milieu d'élevage (standard vs enrichi) des animaux. Puisque je n'ai donc personnellement jamais observé de telles différences au cours de ce projet, aucune distinction n'a été faite à ce propos.

### **2.2.2 Nombre et types de souris**

Dans le cadre de cette étude, des souris âgées de 60 à 150 jours et de trois types différents ont été utilisées. Il s'agit de la souris anophtalmique ZRDCT/An ( $n = 4$ ) et de la souris C57BL/6 énucléée à la naissance ( $n = 4$ ) comme modèles expérimentaux, ainsi que la souris C57BL/6 voyante ( $n = 4$ ) comme souris contrôle. Chacune des souris impliquées dans cette expérimentation a subit une microinjection de DB au niveau du noyau central du CI gauche. Toutes les procédures expérimentales qui sont décrites ci-dessous ont été approuvées par le comité de bons soins aux animaux de l'Université du Québec à Trois-Rivières et sont en accord avec les directives du Conseil canadien de protection des animaux.

### **2.2.3 Chirurgies**

Les interventions chirurgicales ont été effectuées à l'aide d'instruments stérilisés avec une solution aseptisante (Cidex Plus, Johnson & Johnson, Markham, Ontario) et asséchés dans une solution d'alcool 70%.

#### **2.2.3.1 Énucléations post-natales des sourceaux C57BL/6**

L'énucléation bilatérale post-natale des sourceaux C57BL/6 a été effectuée moins de 24 heures après leur naissance (P0), sous profonde anesthésie par hypothermie. Les nouveaux-nés sont déposés délicatement sur la glace jusqu'à la disparition complète des réflexes au pincement. La fente palpébrale encore fermée est incisée à l'aide d'un microscalpel, ensuite le globe oculaire est sorti de son orbite à l'aide d'une pince et le nerf optique est sectionné. Les orbites oculaires sont alors remplies avec du Gelfoam™ (Upjohn, Kalamazoo, Michigan), un tissu-mousse gélatiné et stérile aux propriétés pro-coagulantes. Les sourceaux sont ensuite réchauffés sous une lampe électrique et retournés dans leur cage auprès de leur mère dès qu'ils sont remis des effets de l'anesthésie et qu'ils ne montrent aucune trace perceptible d'hémorragie. Il est à

noter qu'aucun sourceau n'a été rejeté par la mère ou affecté au niveau développemental après avoir subit cette intervention chirurgicale (Fig. 2.2).



**Figure 2.2 : La souris adulte C57BL/6 bilatéralement énucléée à la naissance. Le nerf optique a été chirurgicalement sectionné pour retirer l'œil de son orbite.**

### **2.2.3.2 Injections de dextran-biotine au niveau du collicule inférieur**

L'animal est tout d'abord profondément anesthésié par une injection intrapéritonéale (i.p.) d'Atravet (Ayerst Veterinary Laboratories, Guelph, Ontario; 1mg/kg), suivie cinq minutes plus tard par une injection combinée de chlorhydrate de kétamine et de xylazine (i.p.; Ketaset, Ayerst et Rompun, Bayer Inc., Toronto, Ontario; 100 et 4 mg/kg, respectivement). Les analgésiques et anesthésiques utilisés, de même que leurs effets et modes d'action, sont cités en annexe (annexe A). Alors que l'anesthésie commence à agir, l'animal est préparé pour la chirurgie; le crâne est rasé et la peau est nettoyée à l'aide d'un savon antibactérien, puis badigeonnée d'alcool 70% et d'une solution de providone iodée 1% (Providine, Rougier Pharma, Canada), un antiseptique cutané, afin de prévenir les infections post-opératoires. Lorsqu'elle est complètement anesthésiée, c'est-à-dire en absence totale de réflexes au pincement, la souris est installée et immobilisée dans un appareil stéréotaxique et une petite quantité de Xylocaine 2% (AstraZeneca Canada, Mississauga, Ontario) est appliquée localement sous le scalp à l'aide d'une seringue avant de procéder à l'incision cutanée. Les souris voyantes sont protégées de la sécheresse oculaire par une application d'onguent ophtalmique (Polysporin; Pfizer Canada, Toronto, Ontario). Une incision longitudinale est pratiquée le long du scalp à l'aide d'une lame de scalpel, de façon à découvrir la partie postérieure du crâne (Fig. 2.3). En utilisant un microscope chirurgical (40X) et

une fraise dentaire, une petite craniotomie est effectuée postérieurement à la suture lambdoïde, permettant une vue dorsale du Cl.

Il était également possible de repérer le site d'intérêt via les repères stéréotaxiques par rapport à la suture bregma, mais la variabilité inter-individuelle, telle qu'elle fut observée au fil des chirurgies, compliquait cette intervention déjà très risquée. La présence et la variabilité positionnelle d'un imposant sinus veineux le long de la suture lambdoïde augmentaient le risque d'hémorragie et de décès post-opératoire.



**Figure 2.3 : Vue dorsale du crâne d'une souris C57BL/6.** La suture lambdoïde (flèche) est facile à distinguer à la partie postérieure du crâne. En pointillés, la position supposée du collicule inférieur gauche sous l'os crânien. Échelle : 5 mm.

Il était important, une fois le Cl exposé, de retirer délicatement la dure-mère au niveau du site d'injection afin d'éviter le bris de la micropipette de verre utilisée pour l'injection (40 µm de diamètre). La micropipette, remplie d'une solution de dextran-biotine 5% (10 000 MW; Molecular Probes, Cedarlane Laboratories, Ontario) dans du PBS 0,01M (0,9% NaCl, pH 7,4), était délicatement enfoncee à l'aide d'un micromanipulateur à une profondeur de un millimètre de la surface du Cl. À l'aide d'un système adéquat fonctionnant par air comprimé (microInjector, Tritech Research, Los Angeles), un volume d'environ 0,5 µl de traceur a été injecté unilatéralement dans le noyau central du Cl de chaque animal. Dans les cas où il était impossible d'identifier à l'œil nu le Cl, un système d'électrophysiologie permettait, via l'enregistrement d'une réponse neuronale à la suite d'une stimulation auditive, de s'assurer du site d'injection. La micropipette était laissée en place dix minutes après l'injection avant d'être

doucement retirée du site. La brèche créée par la craniotomie était colmatée à l'aide de Gelfoam™, puis la plaie était suturée et finalement recouverte d'un onguent antibiotique (Polysporin).

Les souris étaient gardées à la chaleur sous une lampe électrique jusqu'à leur rétablissement de l'anesthésie. La douleur post-opératoire était soulagée par l'administration de buprénorphine (i.p.; Temgesic, Schering-Plough Ltd, Hertfordshire, United Kingdom; 0.009 mg/kg) une heure après la chirurgie. Les animaux opérés ont été laissés seuls dans leur cage afin d'éviter les affrontements et permettre leur récupération maximale.

#### 2.2.4 Temps de survie et perfusions

Le temps de survie de chaque animal est compris entre 8 et 12 jours, soit la période optimale nécessaire au transport du traceur le long des fibres neuronales. Suivant le temps de survie, une dose létale de pentobarbital sodique (i.p.; Somnotol, MTC Pharmaceuticals, Cambridge, Ontario; 120 mg/kg) est administrée à l'animal. Lorsque les réflexes ont totalement disparu, il est préparé pour la perfusion transcardiaque par gravitation, qui consiste à introduire une solution saline dans l'organisme de l'animal, suivie d'une solution fixatrice, la paraformaldéhyde 4% (dans du PB 0,1M, pH 7,4), via les ramifications du système cardiovasculaire. La procédure complète de perfusion se retrouve en annexe (annexe B). L'animal est ensuite décapité afin de permettre l'extraction du cerveau (Fig. 2.4).

**Figure 2.4 : Vue dorsale du cerveau de la souris C57BL/6.** La flèche pointe la structure d'intérêt, le collicule inférieur.  
Échelle : 5 mm.



### **2.2.5 Extraction, post-fixation, cryoprotection et coupe des cerveaux**

Le crâne est finement disséqué avec une lame de scalpel et des ciseaux fins de façon à extraire le cerveau sans l'abîmer. En observant attentivement la surface ventrale de chaque cerveau, il est possible de remarquer la présence du chiasma et des nerfs optiques chez les souris contrôles, structures visuelles absentes chez les souris mutantes et énucléées à la naissance (Fig. 1.9). Dans les cas où la qualité de la perfusion n'était pas optimale, les cerveaux ne présentant pas une rigidité suffisante au toucher étaient post-fixés pendant deux heures dans la solution de paraformaldéhyde 4%, dans le but de réduire la possibilité de dommages ultérieurs au niveau du tissu cérébral lors de la coupe. Après la perfusion ou la post-fixation, les cerveaux sont déposés dans une solution de sucre 30% (dans du PB 0,1M) pour la cryoprotection, le temps que le cerveau s'en imprègne complètement (environ 24 heures). La coupe s'effectue à l'aide d'un microtome à congélation. Des coupes sont effectuées (50 µm) dans le plan coronal et recueillies en deux séries, qui seront utilisées pour la réaction histochimique.

### **2.2.6 Histo chimie du dextran-biotine**

Les coupes flottantes sont traitées dans une solution de peroxyde d'hydrogène 0,5% ( $H_2O_2$ ) (Laboratoire Mat Inc., Beauport, Québec) et de méthanol 70% pour inactiver la peroxydase endogène des tissus en provenance des globules rouges résiduels dont le marquage pourrait compliquer l'observation en microscopie. On procède ensuite aux rinçages à l'aide d'une solution tampon de Tris-HCl 50mM (pH 8,0) contenant du Triton X-100 0,5% (TBX-Tx) (Fischer Scientific, Fair Lawn, New Jersey), un détergent qui perméabilise la membrane des neurones pour favoriser la liaison du traceur au complexe avidine-biotine. Les coupes sont ensuite incubées dans une solution de TBS-Tx contenant le complexe avidine-biotine (Elite Vectastain, Vector Laboratories, Burlington, Ontario). Les fibres marquées sont colorées en utilisant le DAB (Sigma-Aldrich Co., St-Louis, Missouri) et une intensification au nickel (nickel ammonium sulfate

hexahydrate; Fisher Scientific, Fair Lawn, New Jersey). La révélation se déroule en présence de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>. Le protocole complet de l'histochimie du DB est disponible en annexe (annexe C).

### **2.2.7 Déshydratation et contre-coloration des coupes**

Les coupes sont montées sur lames en deux séries; la première est directement déshydratée dans l'éthanol, nettoyée dans le xylène et recouverte avec un médium de montage histologique (Permount; Fischer Scientific, Fair Lawn, New Jersey), tandis que la deuxième est contre-colorée au crésyl violet pour l'identification cytoarchitectonique des structures sous-corticales. Cette dernière colore en bleu les cellules neuronales au niveau des corps de Nissl. Les lames de cette deuxième série subissent ensuite le même procédé que la première. Les protocoles complets pour la déshydratation et la contre-coloration de Nissl se retrouvent également en annexe (annexe D).

## **2.3 Microscopie et microphotographies**

La distribution des fibres marquées au DB a été observée à l'aide d'un microscope Leica DMRB (Leica Microsystems, North York, Ontario) et les microphotographies ont été prises à l'aide du logiciel Picture Frame du système d'analyse Neurolucida (MicroBrightField, Williston, Vermont). Le traitement et le montage des microphotographies sous forme de planches ont été entièrement réalisés avec les logiciels Adobe Photoshop CS2 et Adobe Illustrator CS2.

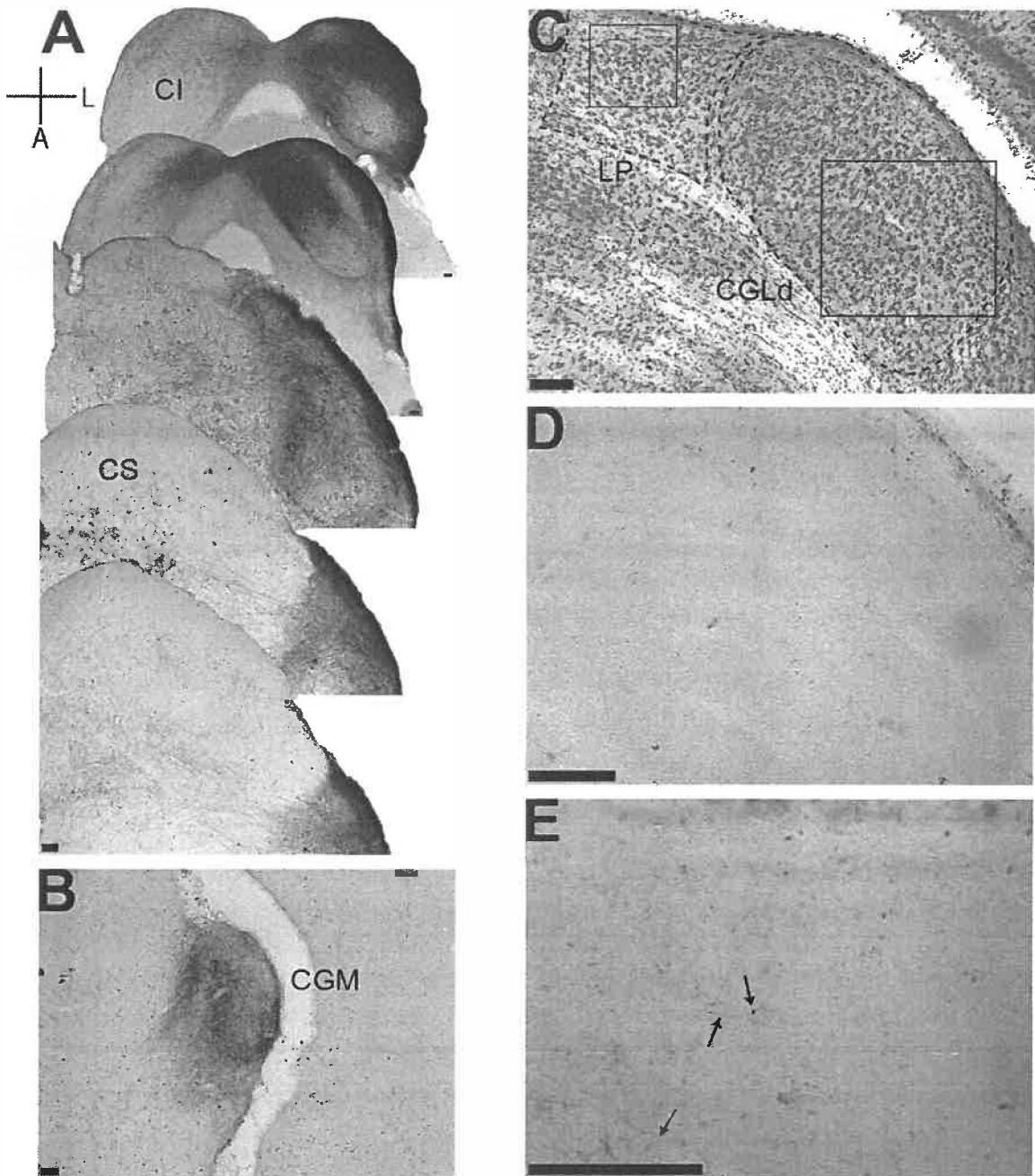
## CHAPITRE 3

## RÉSULTATS

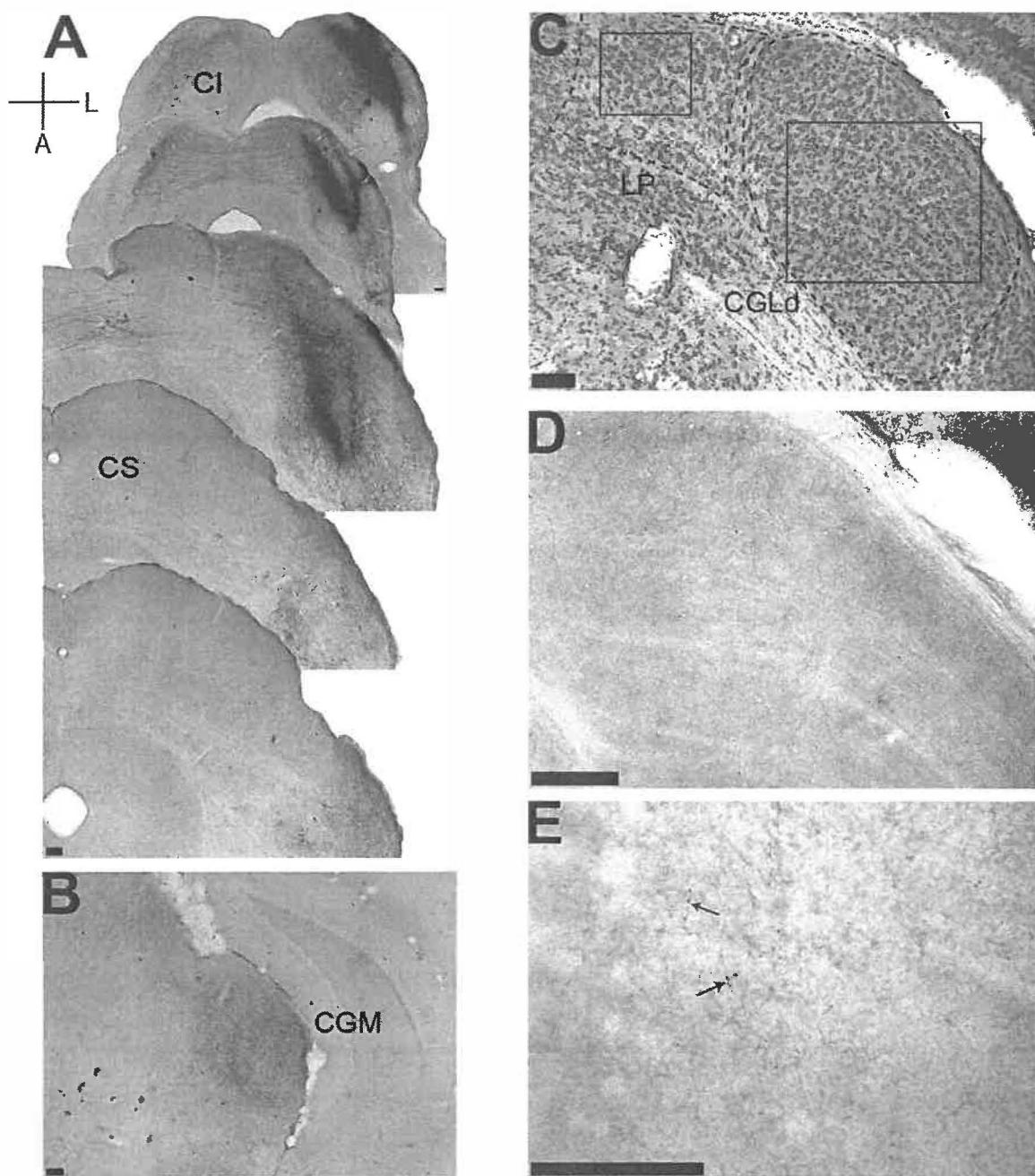
### 3.1 Souris contrôles

Les injections au niveau du CI permettent d'en observer les projections, principalement au niveau thalamique. Le site d'injection est limité au CI, au sein de son noyau central, sans atteinte du CS (Figs. 3.1A, 3.2A). En effet, aucun marquage rétrograde n'est observé dans V1 ou V2, certifiant que les injections ont été confinées à l'intérieur du CI (Fig. 3.7, colonne de gauche). Les fibres empruntent le brachium du CI pour se retrouver par transport antérograde au niveau du CGM, le relais thalamique principal de l'audition, avec une prédominance pour sa portion ventrale (CGMv) pour trois des quatre cas, dont les deux montrés ici (Figs. 3.1B, 3.2B). La quatrième injection, légèrement plus superficielle, s'étale également au niveau du cortex dorsal du CI pour marquer plus fortement la portion dorsale du CGM (CGMd). Des corps cellulaires marqués sont retrouvés, à différents degrés, dans le cortex auditif de chaque contrôle (Fig. 3.7, colonne de droite). L'intensité du marquage antérograde dans le CGM et rétrograde dans le cortex auditif semble être, à première vue, directement proportionnelle à la position et l'étendue de chaque injection. Effectivement, le cortex externe du CI, situé plus latéralement que le noyau central, a été touché lors de l'injection présentée à la figure 3.1, contrairement au cas présenté à la figure 3.2. On retrouve donc davantage de fibres marquées dans le CGM d'un pareil animal, de même qu'une plus large distribution du marquage (CGMv et CGMd)

Pour chacun des contrôles, la division dorsale du corps géniculé latéral (CGLd) est dénuée de fibres marquées (Figs. 3.1D, 3.2D). Cette absence de marquage au niveau du thalamus visuel primaire n'empêche pas, toutefois, la présence de fibres auditives au niveau du noyau thalamique latéro-postérieur (LP). En effet, dans deux cas (montrés) sur quatre, quelques fibres fines, courtes et isolées se retrouvent dans la portion centrale de cette structure visuelle secondaire (Figs. 3.1E, 3.2E).



**Figure 3.1 : Microphotographies du marquage histochimique d'une souris C57BL/6 voyante (StrCo29).** A: Coupes séries, du site d'injection (bregma -5,2 mm) à l'extrémité du brachium du Cl (bregma -4,05 mm). B: Arborisation axonale des projections du Cl vers le CGM (bregma -3,3 mm). C: La coloration Nissl permet de déterminer les limites cytoarchitectoniques des structures d'intérêt (bregma -2,3 mm). D: Grossissement de l'encadré en C montrant l'absence totale de fibres marquées au niveau du CGLd (bregma -2,25 mm). E: Fort grossissement de l'encadré en C; les flèches pointent les quelques fines fibres axonales retrouvées dans le LP (bregma -2,25 mm). Échelle : 100 µm.



**Figure 3.2 : Microphotographies du marquage histochimique d'une souris C57BL/6 voyante (StrCo30).** **A:** Coupes séries, du site d'injection (bregma -5,2 mm) vers l'extrémité du brachium du CI (bregma -4,4 mm). **B:** Le CI projette vers le CGM<sub>v</sub> principalement (bregma -3,4 mm). **C:** Limites cytoarchitectoniques du CGLd et du LP déterminées par la coloration Nissl (bregma -2,35 mm). **D:** Grossissement de l'encadré en C; aucune fibre marquée n'est retrouvée dans le CGLd (bregma -2,25 mm). **E:** Fort grossissement de l'encadré en C; le LP contient de très fines fibres marquées (flèches) (bregma -2,25 mm). Échelle : 100 µm.

### 3.2 Souris mutantes ZRDCT/An

Le noyau central du CI a été injecté sans débordement ou contact vers le CS de chaque animal (Figs. 3.3A, 3.4A). Aucune cellule marquée n'est observée dans V1 ou V2, confirmant que les injections ont été confinées à l'intérieur du CI et certifiant que le CS n'a pas été atteint (Fig. 3.7, colonne de gauche). Du CI, le traceur incorporé dans les neurones lésés emprunte la voie ascendante du brachium du CI et se dirigent vers le CGM (Figs. 3.3B, 3.4B). Les subdivisions du CGM impliquées varient, ici aussi, en fonction du site d'injection. Lorsqu'il est pratiquement limité au noyau central, comme c'est le cas pour deux animaux (dont celui présenté à la figure 3.3), les fibres se retrouvent presque uniquement au niveau du CGMv. En ce qui concerne les deux autres animaux (dont celui présenté à la figure 3.4), le site d'injection est situé un peu plus postérieurement et a atteint le cortex externe du CI, marquant du même coup et pratiquement de la même façon le CGMv et le CGMd. La capacité rétrograde du traceur permet le marquage de corps cellulaires au niveau du cortex auditif (Fig. 3.7, colonne de droite) de chaque animal, cellules dont le nombre et l'étendue varient en fonction du patron d'injection.

Au niveau du thalamus visuel, l'histochimie du DB révèle la présence de quelques fibres antérogradement marquées, plus ou moins nombreuses, dans le CGLd de chaque animal anophtalmique (Figs. 3.3D, 3.4D). Ces fibres, relativement courtes et épaisses comparativement à celles observées dans le LP des souris contrôles, se retrouvent à proximité du feuillett intergéniculé, qui sépare les portions ventrale et dorsale du CGL. Ces fibres axonales ectopiques semblent donc pénétrer dans le CGLd via son bord inférieur. De plus, des boutons synaptiques de l'arborisation axonale sont clairement visibles. Dans trois cas sur quatre, du marquage histochimique est également détecté dans le LP (3.3E, 3.4E). Ces quelques fibres sont de plus fort calibre que chez les souris contrôles. De plus, l'observation exhaustive de ces fibres en microscopie optique n'a pas permis de confirmer la présence de boutons synaptiques comme dans le CGLd. D'autre part, en plus d'une différence de marquage au

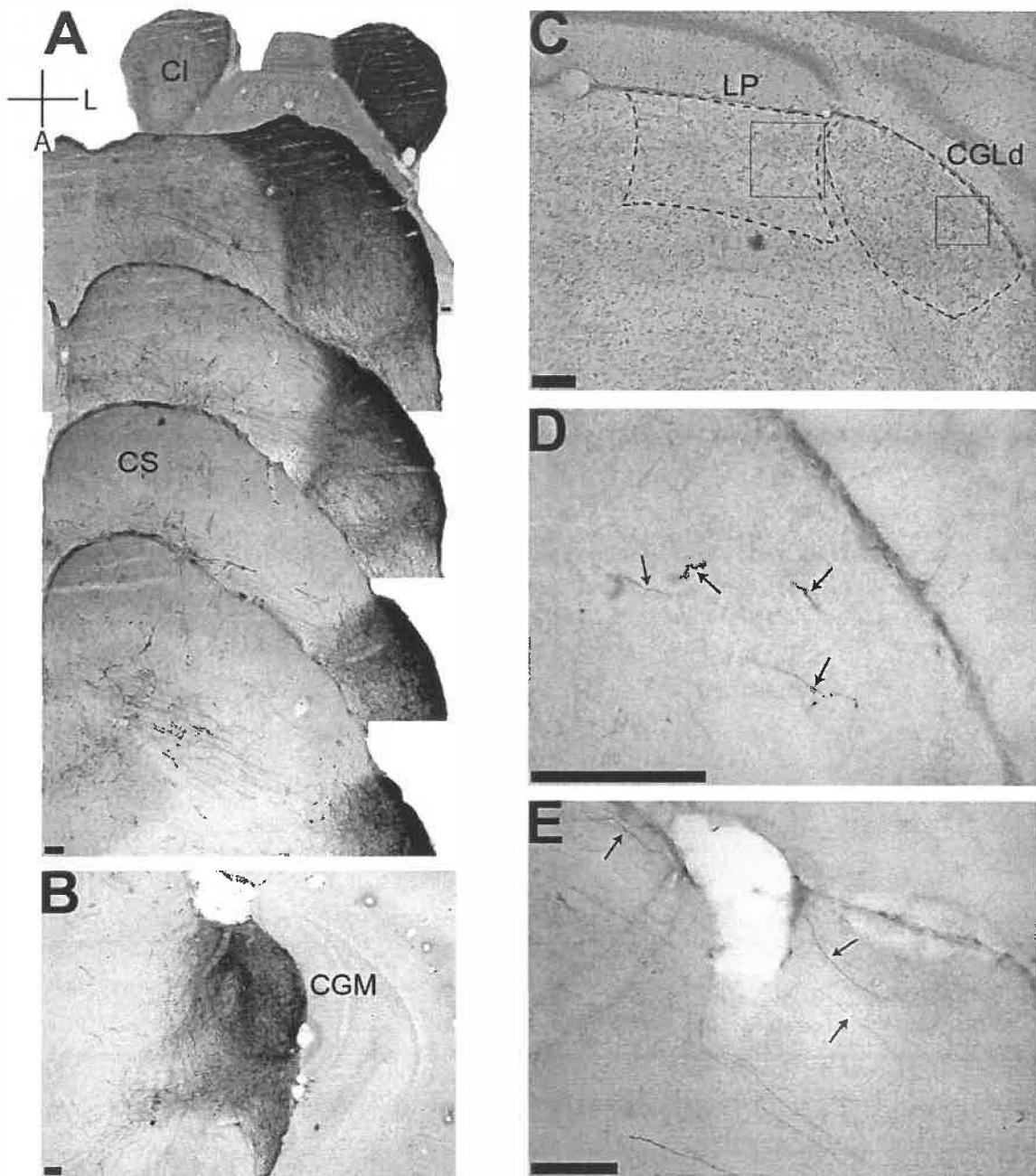
niveau du thalamus auditif, on retrouve un plus grand nombre de fibres dans le CGLd et le LP des animaux dont l'injection atteint, en plus du noyau central, une portion un peu plus postérieure du CI (deux cas sur quatre, dont celui présenté à la figure 3.4). Comme ce fut décrit précédemment (Cullen & Kaiserman-Abramof, 1976) et révélé par les présentes coupes contre-colorées au Nissl, la taille du CGLd des souris ZRDCT/An (Figs. 3.3C, 3.4C) est grandement diminuée par rapport aux souris voyantes (Figs. 3.1C, 3.2C). La présence ou non de fibres rétinienues faisant synapse dans le CGLd exerce donc une influence sur son développement.

### **3.3 Souris C57BL/6 énucléées à la naissance**

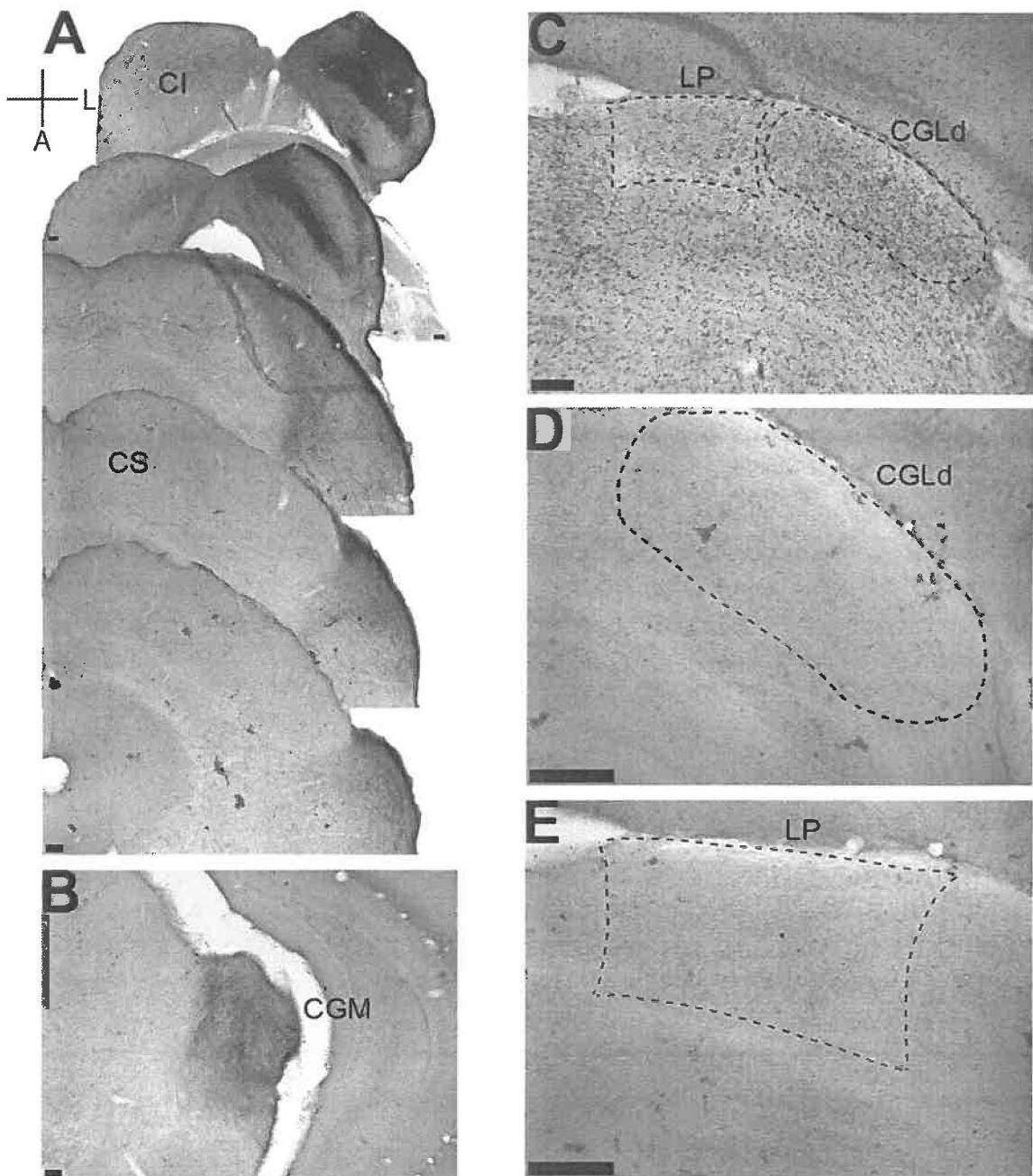
Tout comme pour les souris contrôles et ZRDCT/An, l'injection touche le noyau central du CI pour chacun des animaux, dont les deux cas sélectionnés, sans effleurer d'aucune façon le CS (Figs. 3.5A, 3.6A). L'absence de cellules marquées au niveau de V1 et V2 confirme le confinement des injections à l'intérieur du CI sans atteinte du CS (Fig. 3.7, colonne de gauche). L'énucléation post-natale ne semble aucunement affecter la connexion entre le CI et le CGM (Figs. 3.5B, 3.6B), les fibres suivant la même trajectoire ascendante que pour les deux précédents types de souris. De même, l'intensité du marquage dans le CGM et le cortex auditif (Fig. 3.7, colonne de droite), ainsi que les subdivisions du CGM qui reçoivent les projections auditives du CI, semblent varier encore une fois en fonction de la position précise et de l'étalement du traceur. Une injection touchant en plus le cortex dorsal et le cortex externe du CI (deux cas sur quatre, dont le cas présenté à la Fig. 3.6) entraîne un marquage plus étendu du CGM, où les deux subdivisions sont marquées très fortement comparativement au cas d'une injection plus petite et limitée au noyau central du CI (Fig. 3.5).

Au niveau visuel, l'observation attentive du thalamus montre une absence totale de fibres marquées dans le CGLd de toutes les souris énucléées (Figs. 3.5D, 3.6D). Toutefois, pour deux cas, dont un qui est montré, on remarque la

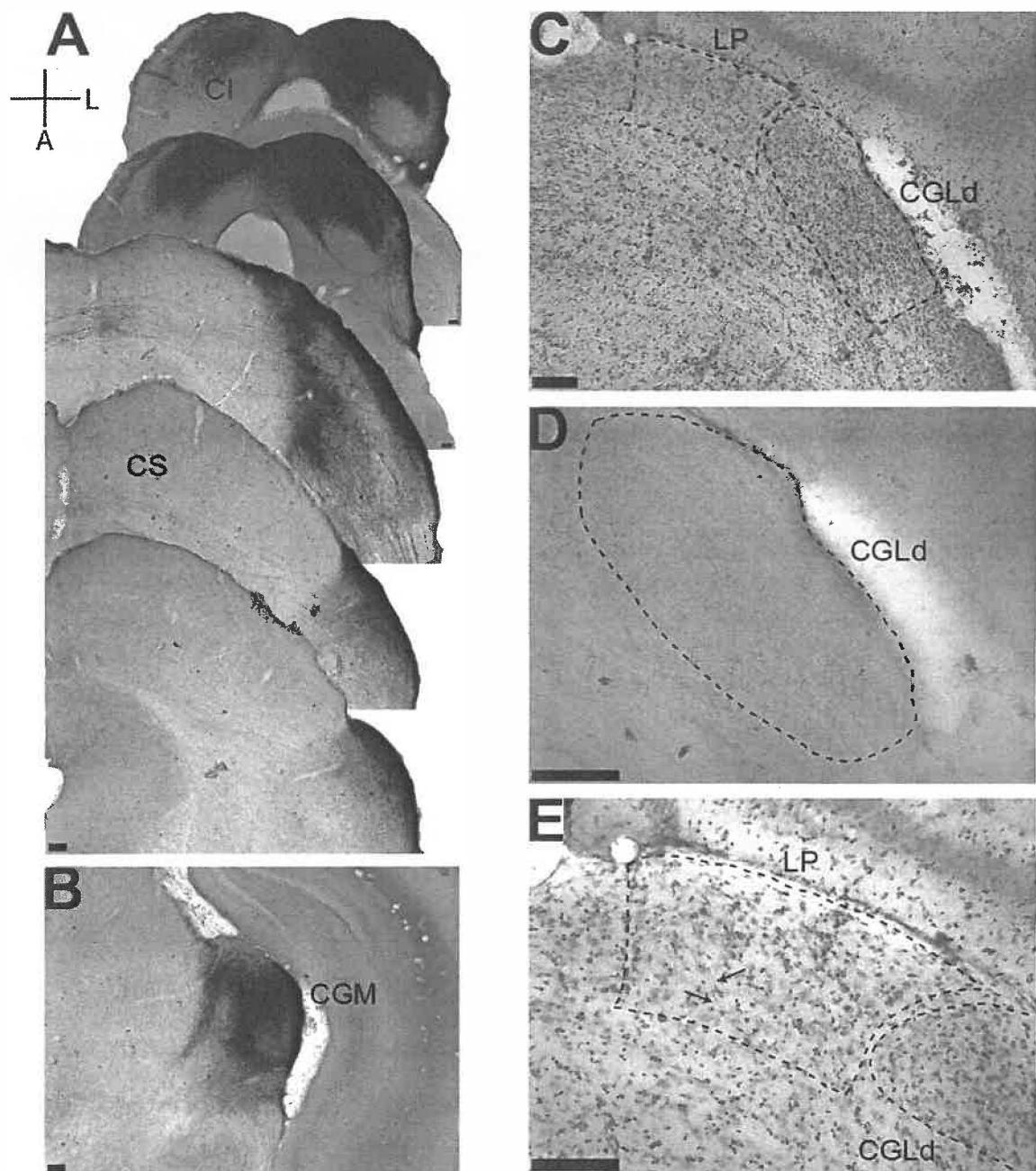
présence de très minces et menues fibres marquées dans le LP (Fig. 3.6E). De plus, on ne voit aucun bouton synaptique sur ces fibres axonales. Le LP des deux autres animaux, dont celui qui est montré à la figure 3.5E, est totalement dénué de fibres. En ce qui concerne la taille relative du CGLd des souris énucléées (Fig. 3.5C), elle est non seulement moindre comparativement aux souris voyantes (Fig. 3.2C) comme le montre la coloration Nissl, mais elle est également inférieure par rapport aux souris ZRDCT/An (Fig. 3.3C), comme cela avait également déjà été démontré (Cullen & Kaiserman-Abramof, 1976).



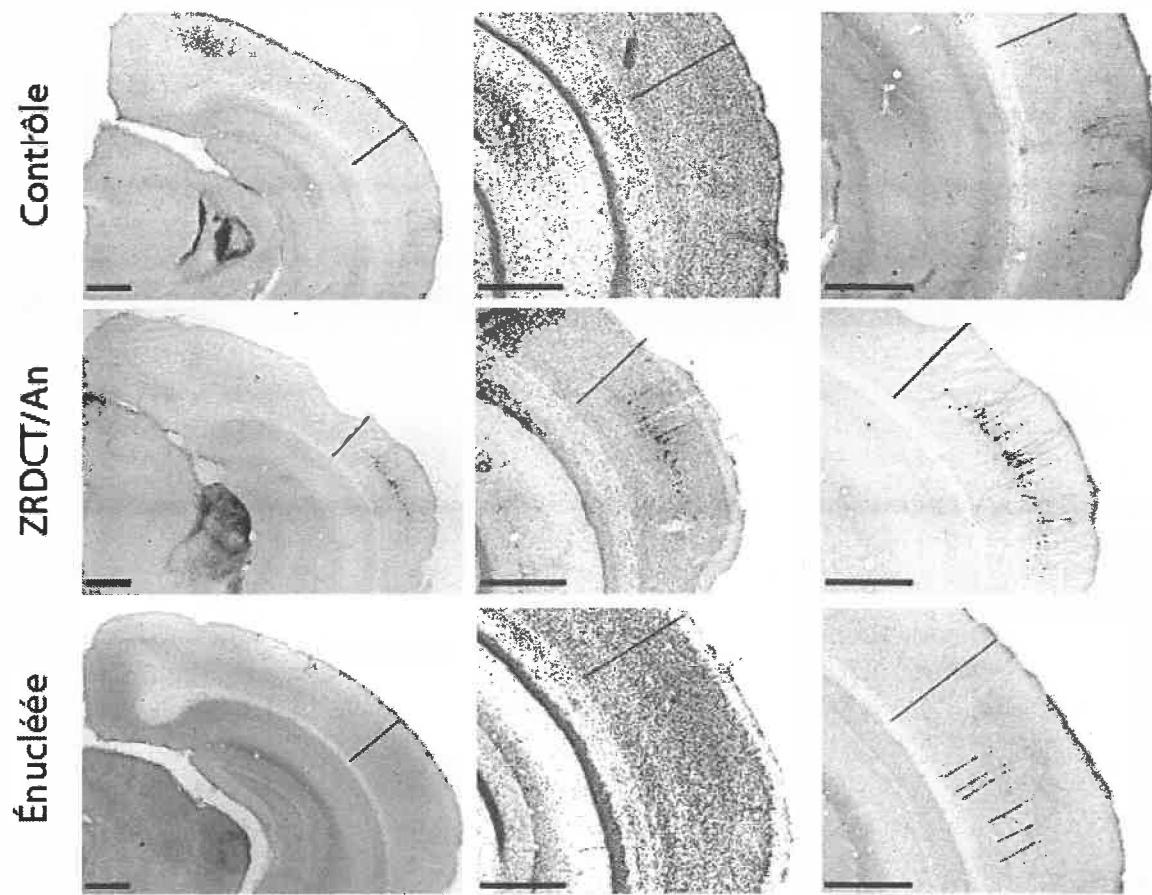
**Figure 3.4 : Microphotographies du marquage histochimique d'une souris mutante ZRDCT/An (StrAn09).** **A:** Coupes sérielles, du site d'injection (bregma -5,35 mm) vers l'extrémité du brachium du Cl (bregma -3,9 mm). **B:** Projection directe du Cl vers le CGM (bregma -3,4 mm). **C:** La coloration Nissl détermine les limites cytoarchitectoniques du CGLd et LP (bregma -2,25 mm). **D:** Fort grossissement de l'encadré en C; de nombreuses fibres et leurs boutons synaptiques sont marquées à l'intérieur du CGLd (bregma -2,3 mm). **E:** Grossissement de l'encadré en C; de nombreux axones marqués traversent LP (bregma -2,3 mm). Échelle : 100 µm.



**Figure 3.5 : Microphotographies du marquage histochimique d'une souris C57BL/6 énucléée à la naissance (StrAnE08).** A: Coupes séries, du site d'injection (bregma -5,20 mm) vers l'extrémité du brachium du CI (bregma -4,1 mm). B: Projection antérograde du CI vers le CGM (bregma -3,4 mm). C: Le CGLd et le LP sont clairement délimités par la coloration Nissl (bregma -2,2 mm). D: Grossissement de l'encadré en C; il n'y a aucune fibre marquée au niveau du CGLd (bregma -2,15 mm). E: Grossissement de l'encadré en C; Aucun marquage n'est retrouvé dans le LP de cet animal (bregma -2,2 mm). Échelle : 100  $\mu$ m.



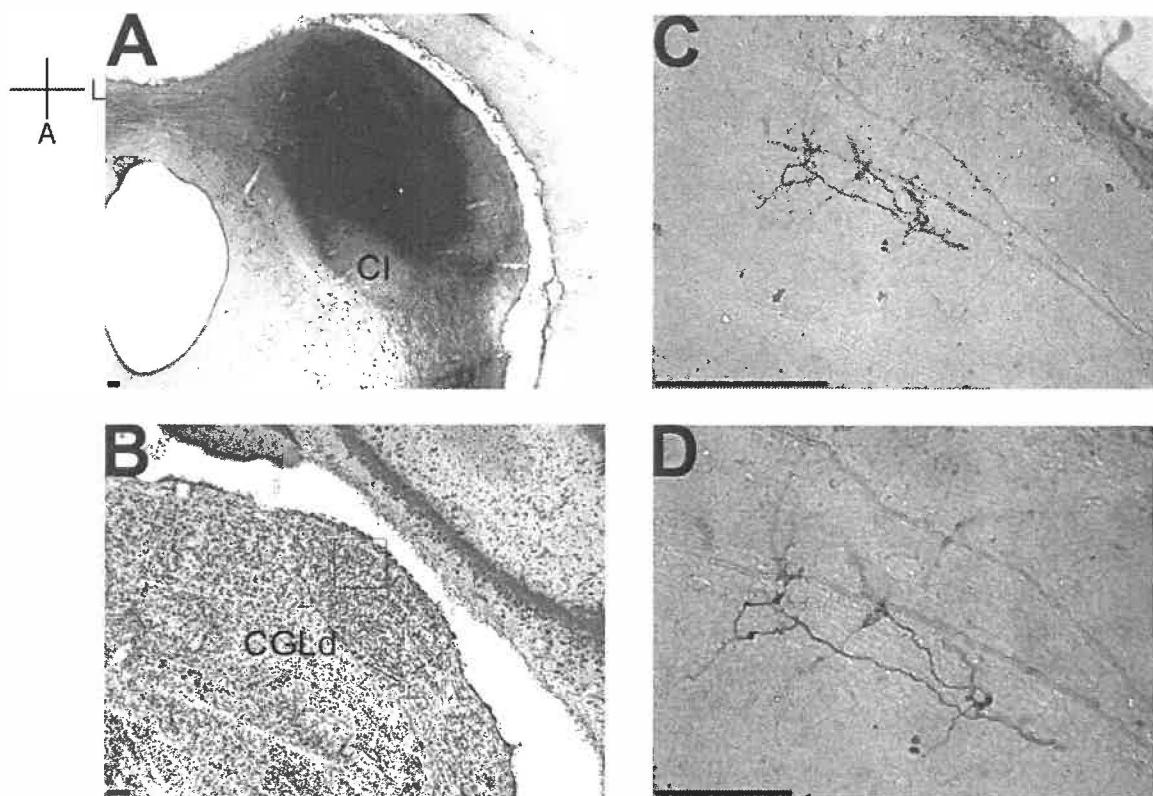
**Figure 3.6 : Microphotographies du marquage histochimique d'une souris C57BL/6 énucléée à la naissance (StrAnE09).** A: Coupes sérielles, du site d'injection (bregma -5,35 mm) vers l'extrémité du brachium du CI (bregma -4,0 mm). B: Forte projection du CI vers le CGM (bregma -3,3 mm). C: Les limites cellulaires de CGLd et LP sont obtenues via une coloration Nissl (bregma -2,3 mm). D: Grossissement de l'encadré en C; le CGLd est totalement dénué de marquage (bregma -2,25 mm). E: Grossissement de l'encadré en C; deux fins axones sont observés à proximité l'un de l'autre dans le LP de cette souris énucléée (bregma -2,25 mm). Échelle : 100 µm.



**Figure 3.7: Microphotographies du cortex postérieur de chacun des groupes expérimentaux.** Les souris contrôles, ZRDCT/An et énucléées sont représentées à la ligne supérieure, médiane et inférieure, respectivement (tirés des mêmes cas présentés aux Figs. 3.1 à 3.6). La colonne de gauche montre une vue générale du cortex postérieur à la limite entre les cortex occipital et temporal; la colonne médiane montre des coupes colorées au Nissl à plus fort grossissement permettant une délimitation précise entre le cortex auditif et V2 latéral; la colonne de droite montre des coupes marquées au DB correspondant au même niveau. La ligne noire indique, pour chaque coupe, la limite exacte entre le cortex auditif et V2 latéral. Les flèches situées dans la microphotographie inférieure droite pointent de pâles soma marqués. Échelle : 500µm.

### 3.4 Résultats complémentaires obtenus chez le rat énucléé à la naissance

Le noyau central du CI d'un rat énucléé à P0 a été injecté au DB (Fig. 3-8A). L'absence de marquage dans V1 ou V2 confirme que l'injection a été limitée à l'intérieur du CI sans atteindre le CS. Outre le marquage observé au niveau du CGM et du cortex auditif (non montrés), on remarque la présence de fibres ascendantes antérogradement marquées avec des boutons synaptiques dans la région dorsale du CGLd (Fig. 3-8C et 3-8D).



**Figure 3-8 : Microphotographies du marquage histochimique d'un rat Long-Evans énucléé à la naissance. A. Site d'injection. B. Limites cytoarchitectoniques du CGLd. C. Grossissement de l'encadré en B montrant l'arborisation axonale auditive au niveau du CGLd. D. Fort grossissement de l'encadré en C. Noter la présence de boutons synaptiques dans cette région. Échelle : 100 µm pour A, B et C; 50 µm pour D.**

## CHAPITRE 4

### DISCUSSION ET CONCLUSION

Le présent projet s'est intéressé aux phénomènes compensatoires se produisant dans le cerveau des aveugles. Il a d'abord été démontré que la souris anophthalmique est un modèle valable et pertinent pour l'étude de la plasticité intermodale. L'histochimie du dextran-biotine a révélé, par traçage antérograde, la présence de projections ectopiques entre le Cl et le CGLd dans un modèle chez lequel il y a absence de voies visuelles, donc aucune communication possible entre la périphérie et les centres de traitement et d'analyse de la modalité visuelle. La connexion Cl-CGLd est toutefois absente chez la souris énucléée à la naissance, probablement parce qu'elle a subit une déafférentation plus tardive. Ainsi, cette étude démontre l'importance de la période où survient la déprivation sur les mécanismes de compensation visuelle.

#### **Fiabilité du dextran-biotine comme traceur neuronal**

Le DB a été amplement utilisé au cours des dernières années. Les modèles, visuellement déprivés ou non, dans lesquels il a été injecté sont d'autant plus variés, permettant l'étude des connexions visuelles chez l'homme (post-mortem), le rat énucléé et le chat (Datskovskaia et al., 2001; Garcia Del Cano et al., 2002; Tardif et al., 2005). La connectivité du système auditif a également été investiguée via l'utilisation du DB chez des rongeurs tels que le cochon d'Inde, le rat et le lapin (Doucet & Ryugo, 2003; Jacomme et al., 2003; Velenovsky et al., 2003). Toutefois, sa fiabilité lors d'études de transport rétrograde peut être quelque peu compromise, comme pour la majeure partie des traceurs antérogrades. En effet, les collatérales axonales de neurones à capacité rétrograde peuvent également être marquées. Il devient alors difficile d'établir si le marquage observé résulte du traçage antérograde à partir du site d'injection ou s'il provient plutôt des neurones marqués par transport rétrograde (Veenman et al., 1992; Wouterlood & Jorritsma-Byham, 1993). C'est pourquoi une certaine prudence est de mise quant à l'interprétation des résultats d'études de traçage

antérograde effectuées à l'aide de ces marqueurs. Dans ce cas-ci, l'absence de corps cellulaires marqués et le fait que les boutons synaptiques (visibles dans CGLd) ne soient généralement pas présents au début de l'axone démontrent bien que le traceur a été transporté antérogradement du CI vers CGLd.

## **Compensations anatomiques et fonctionnelles**

La présence de quelques fibres auditives dans le thalamus visuel de la souris anophthalmique a confirmé sa pertinence dans l'étude de la plasticité intermodale. De nombreux travaux avaient montré l'existence d'une connexion semblable chez d'autres modèles animaux, tels que le rat-taupe (Doron & Wollberg, 1994). Le système visuel de ce dernier (CGLd et V1) est auditivement activé (Bronchti et al., 1989; 2002). Une telle activation a également été montrée chez notre souris mutante par des travaux effectués dans notre laboratoire, où une stimulation auditive entraîne l'activation métabolique des thalamus et cortex visuels primaires (Piché et al., 2004). Ces résultats viennent renforcer l'hypothèse que cette activité est générée, autant chez le rat-taupe que chez la souris ZRDCT/An, par la présence de la projection aberrante du CI vers le CGLd. Y a-t-il des similitudes dans le développement de la cécité chez ces deux modèles animaux?

La souris anophthalmique est un modèle très précoce de cécité, car une mutation empêche son développement oculaire et rétino-géniculé, tandis que les voies optiques du rat-taupe seraient en place à la naissance avant de subir une régression et une dégénérescence de ses connexions centrales au cours des deux premières semaines post-natales (Bronchti et al., 1991). La disparition subséquente de la connexion rétine-CGLd à l'âge adulte est contestée; elle serait toujours présente chez l'adulte, quoique ces afférences rétinien-nes n'atteindraient qu'une minime portion de la région rostrale du CGLd (Cooper et al., 1993). Peu importe le point de vue, on constate que la présence ou non de la projection rétinienne vers le CGLd n'empêche pas l'apparition de la connexion ectopique entre IC et CGLd. Cet animal peut donc avoir été favorisé

auditivement, modalité très aiguisée et utile chez lui dans la perception des vibrations, par une connexion CI-CGLd. Malheureusement, puisqu'il n'existe aucun animal contrôle assez proche de *Spalax*, il n'est pas possible d'étudier le développement du phénomène de compensation chez cet animal.

Cette projection aberrante a aussi été montrée chez le hamster énucléé et la taupe japonaise (*Mogera*) (Izraeli et al., 2002; Kudo et al., 1997). La taupe est un insectivore et non un rongeur comme le hamster et le rat-taupe, mais elle est aussi aveugle, au même titre que *Spalax*. Chez la taupe *Mogera*, l'étude était centrée sur la connexion entre le CI et le NSC impliqué dans les fonctions photopériodiques. La connexion CI-CGLd n'a donc pas été pleinement étudiée dans le cadre de cette étude. La fonction de cette connexion semble toutefois différente de celle retrouvée chez le hamster énucléé et le rat-taupe; les afférences auditives ne forment pas de synapses dans le CGLd de la taupe, contrairement au hamster énucléé et au rat-taupe. En effet, le thalamus visuel primaire de *Mogera* ne projette pas vers le cortex visuel; il semble n'être qu'un centre de relai entre le CI et le NSC (Kudo et al., 1997). La taupe japonaise présenterait-elle une période critique différente du rat-taupe? Et si elle existait, cette différence pourrait-elle expliquer la divergence observée entre les deux modèles?

Les résultats de plusieurs études suggèrent un rôle central pour le CGLd dans la plasticité intermodale chez les animaux ayant subi une déprivation visuelle précoce. Ainsi, ce sont les voies visuelles primaires qui seraient le siège de modifications survenant très tôt. En ce qui concerne les animaux aveugles plus tardifs, tels que la souris énucléée à la naissance que nous avons particulièrement étudiée lors de cette étude, et du rat énucléé, ils font l'objet d'explications détaillées dans la section suivante.

Une étude très récente a montré une connexion descendante entre V1 et le CI et entre V1 et le CGM de la souris anophthalmique ZRDCT/An (Laemle et al., 2006). Ces connexions ont également été observées chez le rat-taupe aveugle (Doron & Wollberg, 1994), mais au cours de notre étude, le CI de dizaines de

ces souris a été injecté dans tous les axes et profondeurs possibles et jamais nous n'avons remarqué la présence de corps cellulaires rétrogradement marqués dans V1. De plus, nous avions aussi procédé à quelques injections au niveau de cette écorce visuelle primaire (qui ne sont pas présentées ici) et encore une fois, jamais nous n'avons pu observer de marquage dans le CI ou le CGM chez cette souris précocement aveugle. Les expérimentations de Laemle et al. citées ci-haut semblent avoir été effectuées sur du tissu cérébral en très mauvais état, procédant à des injections sur des cerveaux extraits trois jours avant leur fixation, délai ayant certainement affecté l'état des tissus. En ce qui nous concerne, il ne serait donc pas impossible que ce marquage soit artéfactuel. De plus, la qualité des images présentées étant loin d'être convaincante, nous nous permettons de douter de leur véracité.

### **Le rat et la souris énucléés**

L'activation auditive du système visuel a été investiguée, par notre équipe de laboratoire, chez des rongeurs (rats et souris) énucléés à la naissance. Les résultats sur l'expression de la protéine c-Fos et d'électrophysiologie montrent une activation du CGLd et de V1 à la suite d'une stimulation auditive chez le rat (Piché et al., 2003, abstract), alors qu'il y a absence de marquage fonctionnel dans le thalamus visuel de la souris. Au niveau cortical, le marquage de l'aire visuelle primaire de la souris suggèrerait une expansion du cortex auditif chevauchant le cortex visuel secondaire (Chabot et al., 2007, article soumis). L'absence d'activité dans le thalamus visuel de la souris énucléée est corroborée par l'absence de fibres auditives dans le CGLd observée au cours de la présente étude. Il se produit donc un phénomène de plasticité intermodale chez la souris énucléée, mais celui-ci n'impliquerait que des connexions cortico-corticales ou les voies visuelles secondaires.

En ce qui concerne le rat énucléé, son activation visuelle correspond davantage à l'activité démontrée chez la souris ZRDCT/An et le hamster énucléé. Il était donc intéressant d'y tester la présence de connexions ectopiques dans le but de

complémenter notre recherche. Ainsi, des travaux que j'ai effectués sur le rat Long-Evans énucléé en fin de projet nous ont permis d'explorer les projections du CI par traçage neuronal au DB. Il en a résulté des résultats préliminaires très intéressants (section 3.4 du présent mémoire). On a alors pu constater que, contrairement à la souris énucléée, le rat présente effectivement une connexion CI-CGLd semblable à celle retrouvée chez la souris anophtalmique et le hamster énucléé. Elle apparaît toutefois plus élaborée que chez la souris ZRDCT/An.

La présence ou non de projections aberrantes chez des rongeurs énucléés tels que le rat, le hamster et la souris pourrait être attribuable à des différences en lien avec leurs périodes critiques respectives. Le hamster est un animal naissant à un stade immature, c'est-à-dire que sa période de gestation est écourtée d'approximativement six jours par rapport au rat et d'environ trois jours comparativement à la souris (Clancy et al., 2001). L'énucléation néonatale de cet animal correspond donc à l'énucléation embryonnaire du rat (E16) et de la souris (E16), alors que leur période de gestation est environ de 21 et 19 jours respectivement. Il est possible de supposer que l'immaturité du hamster a pour effet de prolonger sa période critique, permettant l'installation de la connexion CI-CGLd. De plus, la période critique du rat semble se prolonger un peu après la naissance comparativement à la souris. Ainsi, malgré la similitude de leurs stades de développement embryonnaire, l'énucléation effectuée sur le rat à P0 correspondrait à une déafférentation plus tardive chez la souris. L'ensemble de ces observations pourraient expliquer, en partie du moins, pourquoi cette projection aberrante est présente chez le hamster et le rat et non chez la souris. Ceci selon l'idée que la précocité d'une déprivation sensorielle favoriserait les modifications anatomo-fonctionnelles compensatoires (Bavelier & Neville, 2002) et permettrait la récupération de structures primaires.

## **Le rôle du noyau thalamique latéro-postérieur dans la plasticité intermodale**

Le noyau thalamique latéro-postérieur (LP) représente l'équivalent du pulvinar retrouvé chez les mammifères. Chez le rongeur, on sait peu de chose sur le rôle précis de cette structure visuelle secondaire. Cependant, le LP est reconnu, tout comme le CS, pour répondre aux stimuli visuels et somesthésiques en provenance de la rétine et du CS chez le hamster (Mooney & Rhoades, 1983; Mooney et al., 1992). Chez le rat énucléé, une étude a proposé que le LP occupait un rôle central dans l'activation somesthésique du cortex visuel. Une projection entre V1 et CGLd de moindre envergure, combinée à la projection accrue (par rapport aux contrôles) que reçoit LP de la part du cortex somesthésique primaire (S1) entraînerait l'amplification de la connexion LP-VI. Les afférences reçues de S1 seraient donc redirigées par LP vers le V1 de l'animal énucléé (Negyessy et al., 2002).

Les expériences de traçage effectuées dans le cadre de cette étude ont montré une projection directe, mais à différents degrés, depuis le CI vers le LP, et ce, chez les souris ZRDCT/An et quelques souris énucléées et voyantes. Les résultats montrent que le LP de chaque souris anophtalmique ne contient que peu de fibres auditives. Parallèlement, peu de noyaux sont auditivement activés en c-Fos dans le LP de la souris ZRDCT/An, comparativement au CGLd (Piché et al., 2004). Cette structure secondaire serait donc peu sollicitée, au profit du thalamus visuel primaire, dans le mécanisme compensatoire ayant lieu chez la souris anophtalmique.

Chez les énucléées et les contrôles, la présence de fibres auditives dans le LP est sporadique. Sans pour autant exclure l'implication du LP des souris énucléées dans les mécanismes de compensation intermodale, la présence irrégulière de fibres auditives et l'absence de marquage fonctionnel à son niveau (Chabot et al., soumis) tendent à démontrer que sa connexion avec le CI serait faible et hypothétique et qu'elle serait peu ou pas impliquée dans la réorganisation s'effectuant au niveau colliculo-thalamique. Bien sûr, la présence

de marquage dans le LP de quelques souris contrôles laisse planer la possibilité que ce noyau visuel secondaire ne soit aucunement impliqué dans les mécanismes de compensations primaires. Une étude chez le chat ayant subi une lésion tardive des écorces visuelles primaire et secondaire montrent l'absence de différences dans la distribution des projections rétinianes vers le LP-pulvinar par rapport aux contrôles (Boire et al., 2004), renforçant l'idée du rôle plus que mineur qu'occuperait le LP dans les mécanismes de compensations même tardifs impliquant habituellement les voies secondaires.

Selon la littérature actuelle, le LP semble jouer un rôle central au niveau somesthésique seulement. Pourtant, ses multiples connexions pourraient lui conférer un rôle semblable dans l'activation auditive des voies visuelles primaire et secondaire. Ce noyau thalamique envoie des projections visuelles normales vers V1 et V2 (Simmons et al., 1982) et en reçoit du CS (Donnelly et al., 1983). Il a été montré, chez le hamster énucléé, que les couches visuelles du SC transmettent des informations somato-sensorielles au LP (Mooney & Rhoades, 1983). Il est donc possible d'émettre l'hypothèse que les afférences auditives puissent être redirigées vers les aires corticales visuelles, à partir des couches superficielles devenues auditives du CS, vers LP. Les afférences pourraient aussi simplement provenir des couches auditives à proprement dit du CS. Une injection au niveau de ces couches permettrait d'en vérifier, s'il existe, le patron de connexions au niveau de LP.

Dans le cadre de la présente étude, si le marquage de LP s'effectuait via les couches auditives du CS, la distance à parcourir depuis le CI serait possiblement trop importante pour la capacité du traceur que nous avons utilisé. Ainsi, la connexion CI-LP ne serait peut-être pas directe, mais se ferait plutôt par l'intermédiaire du SC.

Une chose est certaine, le rôle du LP est encore de nos jours des plus ambigus et une investigation approfondie sera certainement nécessaire pour établir et comprendre sa fonction précise pour ultérieurement mieux interpréter l'organisation de ses connexions, polymodales ou intermodales.

## Développement de connexions ectopiques

La mise en place de connexions d'une structure vers une autre peut être déterminée par la combinaison d'une programmation génétique et de facteurs extrinsèques. Le résultat final de la formation synaptique repose, dès le plus jeune âge embryonnaire ou post-natal, sur la présence de mécanismes cellulaires variés, tels qu'une interaction compétitive, une redistribution ou encore une inhibition au niveau des nouvelles projections synaptiques. De nombreux signaux chimiques et moléculaires seraient mis à contribution pour engendrer une formation ordonnée de connexions typiques normalement fonctionnelles. Ainsi, on peut supposer par exemple, qu'une interaction compétitive ou une inhibition provoquent, respectivement, l'élimination de fibres axonales distribuées de façon inappropriée ou leur implantation définitive dans des structures dans lesquelles elles ne peuvent accomplir leurs fonctions.

L'invasion transitoire de structures thalamiques par des fibres rétiniennes a déjà été démontrée chez des modèles animaux voyants. En effet, chez le hamster, des fibres originant de la rétine font des projections transitoires dans le thalamus somato-sensoriel, le complexe ventrobasal. Celles-ci disparaissent cependant vers les troisième et quatrième jours post-nataux (P3-P4) (Frost, 1986; Langdan & Frost, 1991). Il est possible de supposer que ces connexions transitoires se résorbent ou modifient tout simplement leur trajectoire.

Dans le présent cas, la stabilisation de telles connexions temporaires pourraient ainsi expliquer la présence de la projection ectopique entre le CI et CGLd chez la souris ZRDCT/An. De plus, la connexion entre le CI et LP n'est peut-être pas assez stimulée pour entraîner sa consolidation, entraînant l'apparition de différences individuelles.

## Approches thérapeutiques suivant la perte d'un sens

La cécité et la surdité sont des handicaps majeurs et invalidants, peu importe l'âge à laquelle elle survient. Les différentes approches thérapeutiques ont toutes pour but ultime d'apaiser les effets de cette déprivation sensorielle, et ce,

via deux plans d'intervention majeurs, plans sous la dépendance des mécanismes de plasticité neuronale. Une meilleure compréhension des mécanismes qui se produisent dans le cerveau d'aveugles et sourds précoces est primordiale au choix de l'approche adéquate. De plus, de nouvelles percées dans le domaine des neuroprothèses semblent très prometteuses et les résultats très encourageants (Fernandez et al., 2005; Rauschecker & Shannon, 2002; Zrenner, 2002). Des transplantations rétiniennes ont déjà même été effectuées dans le mésencéphale de souris anophthalmiques et énucléées, chez lesquelles on percevait une certaine réinnervation des centres visuels sous-corticaux (Horsburgh et al., 1993).

Des études supposent que les mécanismes de compensation en cas de cécité précoce impliquent une réorganisation des voies primaires, tandis qu'une perte de la vision plus tardive engendrerait le recrutement et l'implication de structures visuelles secondaires. Cette distinction est très importante, voire essentielle. Si l'individu ayant perdu la vue très tôt développe une compensation intermodale via ses voies visuelles primaires, reconnues pour leur plasticité plus limitée en fonction du temps, l'efficacité d'implants serait hypothétiquement limitée. Il serait alors possible d' « avantager » l'individu en renforçant les mécanismes déjà en place, tels que la récupération auditive et somesthésique du système visuel, récupération qui détruirait probablement l'implantation d'une prothèse. Une telle intervention pourrait cependant s'avérer utile dans les cas de cécité tardive, puisque les mécanismes compensatoires semblent liés à l'utilisation de structures secondaires ou associatives, structures dont la période de plasticité peut être prolongée. Quoi qu'il en soit, un choix éclairé d'une approche thérapeutique optimale et adéquate repose avant tout sur la compréhension des mécanismes adaptatifs de la plasticité. Et qui sait? Peut-être pourra-t-on un jour avantager un individu aveugle par une simple stimulation de la langue (Ptito & Kupers, 2005).

## Conclusion

La présente étude a montré que la souris anophthalmique était un bon modèle pour l'étude de la plasticité intermodale. Des modifications anatomiques ont permis au système auditif d'établir des connexions avec la modalité visuelle déafférentée via les voies sensorielles primaires en cas de cécité précoce, contrairement à la cécité plus tardive. Le rôle et l'implication du noyau thalamique latéro-postérieur dans la plasticité intermodale n'ont malheureusement pu être déterminés. Quoique les réorganisations anatomiques obtenues dans le cadre de cette étude soient quelque peu modestes, suggérant un impact mineur sur les capacités fonctionnelles, il est évident que l'utilisation de ce modèle précoce peut apporter de précieuses indications et connaissances sur les mécanismes fondamentaux de plasticité intermodale. Des expériences de traçage supplémentaires permettront d'investiguer, chez les rongeurs aveugles, l'occupation auditive partielle du système visuel au niveau cortico-cortical, de même que l'envahissement du système visuel par la modalité somesthésique.

## BIBLIOGRAPHIE

- Aggelopoulos, N., Parnavelas, JG. & Edmunds, S. (1989) Synaptogenesis in the dorsal lateral geniculate nucleus of the rat. *Anat. Embryol. (Berl.)*, 180, 243-257.
- Asanuma, C. & Stanfield, BB. (1990) Induction of somatic sensory inputs to the lateral geniculate nucleus in congenitally blind mice and in phenotypically normal mice. *Neuroscience*, 39, 533-545.
- Bavelier, D., Tomann, A., Hutton, C., Mitchell, T., Corina, D., Liu, G. & Neville, H. (2000) Visual attention to the periphery is enhanced in congenitally deaf individuals. *J. Neurosci.*, 20, RC93.
- Bavelier, D. & Neville, H.J. (2002) Cross-modal plasticity : Where and how? *Nature Reviews Neuroscience*, 3, 443-452
- Bear, MF, Connors, BW & Paradiso, MA. (2002). Neurosciences, 2<sup>e</sup> éd., Éditions Pradel, Paris.
- Benedetti, F. (1991) The postnatal emergence of a functional somatosensory representation in the superior colliculus of the mouse. *Brain Res. Dev. Brain Res.*, 60, 51-57.
- Biesold, D., Bruckner, G. & Mares, V. (1976) An autoradiographic study of gliogenesis in the rat lateral geniculate nucleus (LGN). *Brain Res.*, 104, 295-301.
- Boire, D., Matteau, I., Casanova, C. & Ptito, M. (2004) Retinal projections to the lateral posterior-pulvinar complex in intact and early visual cortex lesioned cats. *Exp. Brain. Res.*, 159, 185-196.
- Bronchti, G., Heil, P., Scheich, H. & Wollberg, Z. (1989) Auditory pathway and auditory activation of primary visual targets in the blind mole rat (*Spalax ehrenbergi*): I. 2-deoxyglucose study of subcortical centers. *J. Comp. Neurol.*, 284, 253-274.
- Bronchti, G., Rado, R., Terkel, J. & Wollberg, Z. (1991) Retinal projections in the blind mole rat: a WGA-HRP tracing study of a natural degeneration. *Dev. Brain Res.*, 58, 159-170.
- Bronchti, G., Heil, P., Sadka, R., Hess, A., Scheich, H. & Wollberg, Z. (2002) Auditory activation of "visual" cortical areas in the blind mole rat (*Spalax ehrenbergi*). *Eur. J. Neurosci.*, 16, 311-329.

- Burton, H., Snyder, AZ., Diamond, JB. & Raichle, ME. (2002) Adaptive changes in early and late blind: a fMRI study of verb generation to heard nouns. *J. Neurophysiol.*, 88, 3359-3371.
- Cant, NB. (1998) Structural development of the mammalian central auditory pathways. In: Rudel, ED., Popper, AN., Fay, RR., editors. *Development of the auditory system*. New York: Springer.
- Chabot, N., Robert, S., Tremblay, R., Miceli, D., Boire, D. & Bronchti, G. (2007) Audition activates differently the visual system in neonatally enucleated mice compared to anophthalmic mutant. Article soumis.
- Chase, HB. & Chase, E.B. (1941) Studies on an anophthalmic strain of mice. I. Embryology of the eye region. *J. Morphol.*, 68, 279-301.
- Chase, HB. (1945) Studies on a anophthalmic strain of mice: V. Associated cranial nerves and brain centers. *J. Comp. Neurol.*, 83, 121-139.
- Clancy, B., Darlington, RB. & Finlay, BL. (2001) Translating developmental time across mammalian species. *Neuroscience*, 105, 7-17.
- Clarke, S. & Innocenti, GM. (1990) Auditory neurons with transitory axons to visual areas form short permanent projections. *Eur. J. Neurosci.*, 2, 227-242
- Cohen, LG., Celnik, P., Pascual-Leone, A., Corwell, B., Falz, L., Dambrosia, J., Honda, M., Sadato, N., Gerloff, C., Catala, MD. & Hallett, M. (1997) Functional relevance of cross-modal plasticity in blind humans. *Nature*, 389, 180-183.
- Cohen, LG., Weeks, RA., Sadato, N., Celnik, P., Ishii, K. & Hallett, M. (1999) Period of susceptibility for cross-modal plasticity in the blind. *Ann. Neurol.*, 45, 451-460.
- Coleman, JR. & Clerici, WJ. (1987) Sources of projections to subdivisions of the inferior colliculus in the rat. *J. Comp. Neurol.*, 262, 215-226.
- Cooper, HM., Herbin, M. & Nevo, E. (1993) Visual system of a naturally microphthalmic mammal: the blind mole rat, *Spalax ehrenbergi*. *J. Comp. Neurol.*, 328, 313-350.
- Cullen, MJ. & Kaiserman-Abramof, IR. (1976) Cytological organization of the dorsal lateral geniculate nuclei in mutant anophthalmic and postnatally enucleated mice. *J. Neurocytol.*, 5, 407-424.
- Datskovskaia, A., Carden, WB. & Bickford, ME. (2001) Y retinal terminals contact interneurons in the cat dorsal lateral geniculate nucleus. *J. Comp. Neurol.*, 430, 85-100.

- Dolleman-Van der Weel, MJ., Wouterlood, FG. & Witter, MP. (1994) Multiple anterograde tracing, combining Phaseolus vulgaris leucoagglutinin with rhodamine- and biotin-conjugated dextran amine. *J. Neurosci. Methods.*, 51, 9-21.
- Donnelly, JF., Thompson, SM. & Robertson, RT. (1983) Organization of projections from the superior colliculus to the thalamic lateral posterior nucleus in the rat. *Brain Res.*, 288, 315-319.
- Doron, N. & Wollberg, Z. (1994) Cross-modal neuroplasticity in the blind mole rat Spalax ehrenbergi: a WGA-HRP tracing study. *Neuroreport*, 5, 2697-2701.
- Doucet, JR. & Ryugo, DK. (2003) Axonal pathways to the lateral superior olive labeled with biotinylated dextran amine injections in the dorsal cochlear nucleus of rats. *J. Comp. Neurol.*, 461, 452-465.
- Druga, R. & Syka, J. (1984a) Ascending and descending projections to the inferior colliculus in the rat. *Physiol. Bohemoslov.*, 33, 31-42.
- Drugá, R. & Syka, J. (1984b) Projections from auditory structures to the superior colliculus in the rat. *Neurosci. Lett.*, 45, 247-252.
- Ehret, G. (1976) Critical bands and filter characteristics in the ear of the housemouse (*Mus musculus*) *Biol. Cynern.*, 24, 35-42.
- Ehret, G. (1997) The auditory cortex. *J. Comp. Physiol.*, 181, 547-557.
- Falchier, A., Clavagnier, S., Barone, P. & Kennedy, H. (2002) Anatomical evidence of multimodal integration in primate striate cortex. *J. Neurosci.*, 22, 5749-5759.
- Fernandez, E., Pelayo, F., Romero, S., Bongard, M., Marin, C., Alfaro, A. & Merabet, L. (2005) Development of a cortical visual neuroprosthesis for the blind: the relevance of neuroplasticity. *J. Neural. Eng.*, 4, R1-12.
- Finney, EM., Fine, I. & Dobkins, KR. (2001) Visual stimuli activate auditory cortex in the deaf. *Nat. Neurosci.*, 4, 1171-1173.
- Fries, W. & Distel, H. (1983) Large layer V1 neurons of monkey striate cortex (Meynert cells) project to the superior colliculus. *Proc. R. Soc. Lond. B. Biol. Sci.*, 219, 53-59.
- Fritzsch, B. (1993) Fast axonal diffusion of 3000 molecular weight dextran amines. *J. Neurosci. Methods*, 50, 95-103.

- Fritzsch, B., Farinas, I. & Reichardt, LF. (1997) Lack of neurotrophin 3 causes losses of both classes of spiral ganglion neurons in the cochlea in a region-specific fashion. *J. Neurosci.*, 17, 6213-6225.
- Frost, DO. (1981) Orderly anomalous retinal projections to the medial geniculate, ventrobasal, and lateral posterior nuclei of the hamster. *J. Comp. Neurol.*, 203, 227-256.
- Frost, DO. (1982) Anomalous visual connections to somatosensory and auditory systems following brain lesions in early life. *Brain Res.*, 255, 627-635.
- Frost, DO & Metin, C. (1985) Induction of functional retinal projections to the somatosensory system. *Nature*, 317, 162-164.
- Frost, DO. (1986) Development of anomalous retinal projections to nonvisual thalamic nuclei in Syrian hamsters: a quantitative study. *J. Comp. Neurol.*, 252, 95-105.
- Frost, D. (1988) Cellular thalamic mechanisms (Elsevier, Amsterdam), 447-464.
- Frost, DO. (1999) Functional organization of surgically created visual circuits. *Restor. Neurol. Neurosci.*, 15, 107-113.
- Gabriele, ML., Brunso-Bechtold, JK. & Henkel, CK. (2000) Plasticity in the development of afferent patterns in the inferior colliculus of the rat after unilateral cochlear ablation. *J. Neurosci.*, 20, 6939-6949.
- Garcia Del Cano, G., Gerrikagoitia, I. & Martinez-Millan, L. (2002) Plastic reaction of the rat visual corticocollicular connection after contralateral retinal deafferentation at the neonatal or adult stage: axonal growth versus reactive synaptogenesis. *J. Comp. Neurol.*, 446, 166-178.
- Garcia Del Cano, G., Uria, I., Gerrikagoitia, I. & Martinez-Millan, L. (2004) Connection from the dorsal column nuclei to the superior colliculus in the rat: topographical organization and somatotopic specific plasticity in response to neonatal enucleation. *J. Comp. Neurol.*, 468, 410-424.
- Garcia Del Cano, G., Gerrikagoitia, I., Alonso-Cabria, A. & Martinez-Millan, L. (2006) Organization and origin of the connection from the inferior to the superior colliculi in the rat. *J. Comp. Neurol.*, 499, 716-731.
- Garey, LJ. & de Courten, C. (1984) Structural development of the lateral geniculate nucleus and visual cortex in monkey and man. *Behav. Brain Res.*, 10, 3-13.
- Godement, P., Saillour, P. & Imbert, M. (1979) Thalamic afferents to the visual cortex in congenitally anophthalmic mice. *Neurosci. Lett.*, 13, 271-278.

- Goldreich, D. & Kanics, IM. (2003) Tactile acuity is enhanced in blindness. *J. Neurosci.*, 23, 3439-3445.
- Guénard, H., Boisseau, MR., Carré, F., Corompt, E., Demotes-Mainard, J., Devillier, P., Hanoune, J., Harf, A., Lacour, J-R., Lamour, Y., Lévy, B., Marthan, R., Martineaud, J-P., Minaire, Y., Mion, F., Paillard, M., Swyngedauw, B., Varène, P. & Vincent, J-D. (1996). Physiologie humaine, 2e éd., Éditions Pradel, Paris.
- Gurung, B. & Fritzsch, B. (2004) Time course of embryonic midbrain and thalamic auditory connection development in mice as revealed by carbocyanine dye tracing. *J. Comp. Neurol.*, 479, 309-327.
- Heil, P., Bronchti, G., Wollberg, Z. & Scheich, H. (1991) Invasion of visual cortex by the auditory system in the naturally blind mole rat. *Neuroreport*, 2, 735-738.
- Herbert, H., Aschoff, A. & Ostwald, J. (1991) Topography of projections from the auditory cortex to the inferior colliculus in the rat. *J. Comp. Neurol.*, 304, 103-22.
- Heumann, D. & Rabinowicz, T. (1980) Postnatal development of the dorsal lateral geniculate nucleus in the normal and enucleated albino mouse. *Exp. Brain Res.*, 38, 75-85.
- Hildebrand, C. & Waxman, SG. (1984) Postnatal differentiation of rat optic nerve fibers: electron microscopic observations on the development of nodes of Ranvier and axoglial relations. *J. Comp. Neurol.*, 224, 25-37.
- Hollenbeck, PJ. (1996) The pattern and mechanism of mitochondrial transport in axons. *Front Biosci.*, 1, 91-102.
- Horsburgh, GM., Lund, RD. & Hankin, MH. (1993) Retinal transplants in congenitally blind mice: patterns of projection and synaptic connectivity. *J. Comp. Neurol.*, 327, 323-40.
- Hunt, DL., King, B., Kahn, DM., Yamoah, EN., Shull, GE. & Krubitzer, L. (2005) Aberrant retinal projections in congenitally deaf mice: how are phenotypic characteristics specified in development and evolution? *Anat. Rec. A. Discov. Mol. Cell. Evol. Biol.*, 287, 1051-1066.
- Izraeli, R., Koay, G., Lamish, M., Heicklen-Klein, AJ., Heffner, HE., Heffner, RS. & Wollberg, Z. (2002) Cross-modal neuroplasticity in neonatally enucleated hamsters: structure, electrophysiology and behaviour. *Eur. J. Neurosci.*, 15, 693-712.

- Jacomme, AV., Nodal, FR., Bajo, VM., Manunta, Y., Edeline, JM., Babalian, A. & Rouiller, EM. (2003) The projection from auditory cortex to cochlear nucleus in guinea pigs: an in vivo anatomical and in vitro electrophysiological study. *Exp. Brain Res.*, 153, 467-476.
- Jain, N., Florence, SL., Qi, HX. & Kaas, JH. (2000) Growth of new brainstem connections in adult monkeys with massive sensory loss. *Proc. Natl. Acad. Sci. U S A*, 97, 5546-5550.
- Kahn, DM. & Krubitzer, L. (2002) Massive cross-modal cortical plasticity and the emergence of a new cortical area in developmentally blind mammals. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 99, 11429-11434.
- Kaiserman-Abramof, IR., Graybiel, AM. & Nauta, WJ. (1980) The thalamic projection to cortical area 17 in a congenitally anophthalmic mouse strain. *Neuroscience*, 5, 41-52.
- Kaiserman-Abramof, IR. (1983) Intrauterine enucleation of normal mice mimics a structural compensatory response in the geniculate of eyeless mutant mice. *Brain Res.*, 270, 149-153.
- Kandler, K. & Friauf, E. (1993) Pre- and postnatal development of efferent connections of the cochlear nucleus in the rat. *J. Comp. Neurol.*, 328, 161-184.
- Kaneko, T., Saeki, K., Lee, T. & Mizuno, N. (1996) Improved retrograde axonal transport and subsequent visualization of tetramethylrhodamine (TMR)-dextran amine by means of an acidic injection vehicle and antibodies against TMR. *J. Neurosci. Methods*, 65, 157-165.
- Kawabata, K., Maeda, S., Takanaga, A., Ito, H., Tanaka, K., Hayakawa, T. & Seki, M. (2003) Apoptosis and retinal projections in the dorsal lateral geniculate nucleus after monocular deprivation during the later phase of the critical period in the rat. *Anat. Sci. Int.*, 78, 104-110.
- King, AJ. & Parsons, CH. (1999) Improved auditory spatial acuity in visually deprived ferrets. *Eur. J. Neurosci.*, 11, 3945-3956.
- Kohn, G., el Shawwa, R. & el Rayyes, E. (1988) Isolated "clinical anophthalmia" in an extensively affected Arab kindred. *Clin. Genet.*, 33, 321-324.
- Kudo, M. & Niimi, K. (1978) Ascending projections of the inferior colliculus onto the medial geniculate body in the cat studied by anterograde and retrograde tracing techniques. *Brain Res.*, 155, 113-117.
- Kudo, M. (1981) Projections of the nuclei of the lateral lemniscus in the cat: an autoradiographic study. *Brain Res.*, 221, 57-69.

- Kudo, M., Moriya, M. & Mizuno, N. (1997) Auditory projections from the IC to the SCN by way of the LG in the mole, Mogera. *Neuroreport*, 8, 3405-3409.
- Kujala, T., Alho, K., Huotilainen, M., Ilmoniemi, RJ., Lehtokoski, A., Leinonen, A., Rinne, T., Salonen, O., Sinkkonen, J., Standertskjold-Nordenstam, CG. & Naatanen, R. (1997) Electrophysiological evidence for cross-modal plasticity in humans with early- and late-onset blindness. *Psychophysiology*, 34, 213-216.
- Kujala, T., Alho, K. & Naatanen, R. (2000) Cross-modal reorganization of human cortical functions. *Trends Neurosci.*, 23, 115-120.
- Langdan, RB. & Frost, DO. (1991) Transient retinal axon collaterals to visual and somatosensory thalamus in neonatal hamsters. *J. Comp. Neurol.*, 310, 200-214.
- Leake, PA., Snyder, RL. & Hradek, GT. (2002) Postnatal refinement of auditory nerve projections to the cochlear nucleus in cats. *J. Comp. Neurol.*, 448, 6-27.
- Laemle, LK., Strominger, NL. & Carpenter, DO. (2006) Cross-modal innervation of primary visual cortex by auditory fibers in congenitally anophthalmic mice. *Neurosci. Lett.*, 396, 108-12.
- Lessard, N., Paré, M., Lepore, F. & Lassonde, M. (1998) Early-blind human subjects localize sound sources better than sighted subjects. *Nature*, 395, 278-280.
- Levanen, S. & Hamdorf, D. (2001) Feeling vibrations: enhanced tactile sensitivity in congenitally deaf humans. *Neurosci. Lett.*, 301, 75-77.
- Liotti, M., Ryder, K. & Woldorff, MG. (1998) Auditory attention in the congenitally blind: where, when and what gets reorganized? *Neuroreport*, 9, 1007-1012.
- Lund, JS. (1973) Organization of neurons in the visual cortexm area 17, of the monkey (Macaca mulatta). *J. Comp. Neurol.*, 147, 455-496.
- Macaluso, E., Frith, CD. & Driver, J. (2000) Modulation of human visual cortex by crossmodal spatial attention. *Science*, 289, 1206-1208.
- Malmierca, MS., Merchan, MA., Henkel, CK. & Oliver, DL. (2002) Direct projections from cochlear nuclear complex to auditory thalamus in the rat. *J. Neurosci.*, 22, 10891-10897.
- Medina, L., Veenman, CL. & Reiner, A. (1997) Evidence for a possible avian dorsal thalamic region comparable to the mammalian ventral anterior, ventral lateral, and oral ventroposterolateral nuclei. *J. Comp. Neurol.*, 384, 86-108.

- Merzenich, MM., Nelson, RJ., Stryker, MP., Cynader, MS., Schoppmann, A. & Zook, JM. (1984) Somatosensory cortical map changes following digit amputation in adult monkeys. *J. Comp. Neurol.*, 224, 591-605.
- Metin, C. & Frost, DO. (1989) Visual responses of neurons in somatosensory cortex of hamsters with experimentally induced retinal projections to somatosensory thalamus. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 86, 357-361.
- Mogilner, A., Grossman, JA., Ribary, U., Juliet, M., Volkmann, J., Rapaport, D., Beasley, RW. & Llinas, RR. (1993) Somatosensory cortical plasticity in adult humans revealed by magnetoencephalography. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 90, 3593-3597.
- Mooney, RD. & Rhoades, RW. (1983) Neonatal enucleation alters functional organization in hamster's lateral posterior nucleus. *Brain Res.*, 285, 399-404.
- Mooney, RD., Savage, SV., Hobler, S., King, TD. & Rhoades, RW. (1992) Normal development and effects of deafferentation on the morphology of superior collicular neurons projecting to the lateral posterior nucleus in hamster. *J. Comp. Neurol.*, 315, 413-430.
- Nagyessy, L., Gal, V., Farkas, T. & Toldi, J. (2002) Cross-modal plasticity of the corticothalamic circuits in rats enucleated on the first postnatal day. *Eur. J. Neurosci.*, 12, 1654-1668.
- Niemeyer, W. & Starlinger, I. (1981a) Do the blind hear better? Investigations on auditory processing in congenital or early acquired blindness. I. Peripheral functions. *Audiology*, 20, 503-509.
- Niemeyer, W. & Starlinger, I. (1981b) Do the blind hear better? Investigations on auditory processing in congenital or early acquired blindness. II. Central functions. *Audiology*, 20, 510-515.
- Oztas, E. (2003) Neuronal tracing. *Neuroanatomy*, 2, 2-5.
- Payne, BR. (1992) Development of the auditory cortex. Romand, R., editor. *Development of the auditory and vestibular systems* 2. Amsterdam: Elsevier. p. 357-390.
- Pasquier, DA. & Villar, MJ. (1982) Subcortical projections to the lateral geniculate body in the rat. *Exp. Brain Res.*, 48, 409-419.
- Piché, M., Robitaille, N., Micelli, D., Lepore, F., Guillemot, JP & Bronchti, G. (2003) Auditory activation of visual structures in the neonatally enucleated rat : A c-Fos study. Brain plasticity and learning based therapy, Torino (Italy), July 6-8, 2003.

- Piché, M., Robert, S., Miceli, D. & Bronchi, G. (2004) Environmental enrichment enhances auditory takeover of the occipital cortex in anophthalmic mice. *Eur. J. Neurosci.*, 20, 3463-3472.
- Proksch, J. & Bavelier, D. (2002) Changes in the spatial distribution of visual attention after early deafness. *J. Cogn. Neurosci.*, 14, 687-701.
- Ptito, M., Giguere, JF., Boire, D., Frost, DO. & Casanova, C. (2001) When the auditory cortex turns visual. *Prog. Brain Res.*, 134, 447-458.
- Ptito, M. & Kupers, R. (2005) Cross-modal plasticity in early blindness. *J. Integr. Neurosci.*, 4, 479-488.
- Purves, D., Augustine, GJ, Fitzpatrick, D., Katz, LC., LaMantia, AS., McNamara, JO. & Williams, SM. (2003) Neurosciences, 2<sup>e</sup> éd., Éditions De Boeck Université, Bruxelles.
- Rauschecker, JP. & Shannon, RV. (2002) Sending sound to the brain. *Science*, 295, 1025-1029.
- Reese, BE. (1984) The projection from the superior colliculus to the dorsal lateral geniculate nucleus in the rat. *Brain Res.*, 305, 162-168.
- Rhoades, RW., Mooney, RD. & Fish, SE. (1985) Subcortical projections of area 17 in the anophthalmic mouse. *Brain Res.*, 349, 171-181.
- Robertson, RT., Poon, HK., Duran, MR. & Yu, J. (1989) Neonatal enucleations reduce number, size, and acetylcholinesterase histochemical staining of neurons in the dorsal lateral geniculate nucleus of developing rats. *Brain Res. Dev. Brain Res.*, 47, 209-225.
- Roder, B., Teder-Salejarvi, W., Sterr, A., Rosler, F., Hillyard, SA. & Neville, HJ. (1999) Improved auditory spatial tuning in blind humans. *Nature*, 400, 162-166.
- Roder, B., Rosler, F. & Neville, HJ. (2000) Event-related potentials during auditory language processing in congenitally blind and sighted people. *Neuropsychologia*, 38, 1482-1502.
- Roder, B., Stock, O., Bien, S., Neville, H. & Rosler, F. (2002) Speech processing activates visual cortex in congenitally blind humans. *Eur. J. Neurosci.*, 16, 930-936.
- Romand, R. (1992) Development of the auditory and vestibular systems 2. Amsterdam: Elsevier. 609p.

- Rouiller, EM. (1997) Functional organization of the auditory pathways. In: Ehret, G., Romand, R., editors. *The central auditory system*. New York: Oxford University Press, p. 3-96.
- Rubel, EW. & Fritzsch, B. (2002) Auditory system development: primary auditory neurons and their targets. *Ann. Rev. Neurosci.*, 25, 51-101.
- Sadato, N., Pascual-Leone, A., Grafman, J., Ibanez, V., Deiber, MP., Dold, G. & Hallett, M. (1996) Activation of the primary visual cortex by Braille reading in blind subjects. *Nature*, 380, 526-528.
- Sadato, N., Okada, T., Honda, M. & Yonekura, Y. (2002) Critical period for cross-modal plasticity in blind humans: a functional MRI study. *Neuroimage*, 16, 389-400.
- Sadato, N. (2005) How the blind "see" Braille: lessons from functional magnetic resonance imaging. *Neuroscientist*, 11, 577-582.
- Sefton, AJ. & Lam, K. (1984) Quantitative and morphological studies on developing optic axons in normal and enucleated albino rats. *Exp. Brain Res.*, 57, 107-117.
- Simmons, PA., Lemmon, V. & Pearlman, AL. (1982) Afferent and efferent connections of the striate and extrastriate visual cortex of the normal and reeler mouse. *J. Comp. Neurol.*, 211, 295-308.
- Sisk, CL. & Foster, DL. (2004) The neural basis of puberty and adolescence. *Nat. Neurosci.*, 7, 1040-1047.
- Sukekawa, K. (1988) Reciprocal connections between medial prefrontal cortex and lateral posterior nucleus in rats. *Brain Behav. Evol.*, 32, 246-251.
- Tardif, E., Delacuisine, B. & Probst, A. (2005) Clarke S. Intrinsic connectivity of human superior colliculus. *Exp. Brain Res.*, 166, 316-324.
- Toldi, J., Joo, F., Feher, O. & Wolff, JR. (1988) Modified distribution patterns of responses in rat visual cortex induced by monocular enucleation. *Neuroscience*, 24, 59-66.
- Toldi, J., Rojik, I. & Feher, O. (1994) Neonatal monocular enucleation-induced cross-modal effects observed in the cortex of adult rat. *Neuroscience*, 62, 105-114.
- Trevelyan, AJ. & Thompson, ID. (1995) Neonatal monocular enucleation and the geniculo-cortical system in the golden hamster: shrinkage in dorsal lateral geniculate nucleus and area 17 and the effects on relay cell size and number. *Vis. Neurosci.*, 12, 971-983.

- Tucker, P., Laemle, L., Munson, A., Kanekar, S., Oliver, ER., Brown, N., Schlecht, H., Vetter, M. & Glaser, T. (2001) The eyeless mouse mutation (ey1) removes an alternative start codon from the Rx/rax homeobox gene. *Genesis*, 31, 43-53.
- Veenman, CL, Reiner, A., & Honig, MG. (1992) Biotinylated dextran amine as an anterograde tracer for single- and double-labeling studies. *J. Neurosci. Methods*, 41, 239-254.
- Velenovsky, DS., Cetas, JS., Price, RO., Sinex, DG. & McMullen, NT. (2003) Functional subregions in primary auditory cortex defined by thalamocortical terminal arbors: an electrophysiological and anterograde labeling study. *J. Neurosci.*, 23, 308-316.
- Walsh, EJ. & Romand, R. (1992) Functional development of the cochlea and cochlear nerve. In: Romand R, editor. *Development of the auditory and vestibular systems 2*. Amsterdam: Elsevier. p 161-220.
- Warton, SS., Dyson, SE. & Harvey, AR. (1988) Visual thalamocortical projections in normal and enucleated rats: HRP and fluorescent dye studies. *Exp. Neurol.*, 100, 23-39.
- Weeks, R., Horwitz, D., Aziz-Sultan, A., Tian, B., Wessinger, CM., Cohen, LG., Hallett, M. & Rauschecker, JP. (2000) A positron emission tomographic study of auditory localization in the congenitally blind. *J. Neurosci.*, 20, 2664-2672.
- Winer, JA., Diehl, JJ. & Larue, DT. (2001) Projections of auditory cortex to the medial geniculate body of the cat. *J. Comp. Neurol.*, 430, 27-55.
- Winkelmann, E., Garey, LJ. & Brauer, K. (1985) Ultrastructural development of the dorsal lateral geniculate nucleus of genetically microphthalmic mice. *Exp. Brain Res.*, 60, 527-534.
- Wittenberg, GF., Werhahn, KJ., Wassermann, EM., Herscovitch, P. & Cohen, LG. (2004) Functional connectivity between somatosensory and visual cortex in early blind humans. *Eur. J. Neurosci.*, 20, 1923-1927.
- Wouterlood, FG. & Jorritsma-Byham, B. (1993) The anterograde neuroanatomical tracer biotinylated dextran-amine: comparison with the tracer Phaseolus vulgaris-leucoagglutinin in preparations for electron microscopy. *J. Neurosci. Methods*, 48, 75-87.
- Zrenner, E (2002) Will retinal implants restore vision? *Science*, 295, 1022-1025.

## ANNEXE A

### LISTE ET EFFETS DES ANALGÉSIQUES ET ANESTHÉSIQUES

#### ATRAVET™ de Ayerst

- **Nom :** maléate d'acépromazine
- **Effets et action:**
  - Entraîne une dépression de l'action du système nerveux central, une suppression de l'activité motrice spontanée et une relaxation musculaire prolongée.
  - Son utilisation est indiquée comme mesure pré-anesthésique en chirurgie mineure et majeure.

#### KETASET™ de Ayerst

- **Nom :** chlorhydrate de kétamine
- **Effets et action:**
  - Anesthésique général non barbiturique à action rapide.
  - État désigné d'anesthésie dissociée, car elle semble interrompre sélectivement l'association cérébrale avant de produire un blocage sensoriel somato-sensitif.
  - L'analgésie apparaît à des doses moindres et se prolonge après le retour de la conscience. Cette analgésie proviendrait d'une fixation sur les récepteurs morphiniques (à confirmer).
  - La plupart des animaux deviennent ataxiques 5 ou 6 minutes après l'injection des doses recommandées et l'anesthésie dure environ 30 minutes. La récupération est généralement graduelle si l'animal n'est pas stimulé ni manipulé, et elle est habituellement complète en moins de 4 à 5 heures.

#### ROMPUN™ de Bayer

- **Nom :** xylazine
- **Effets et action :**
  - Activités sédatrice (agoniste des récepteurs  $\alpha$ -2 adrénergiques) et analgésique exercées par une dépression des fonctions du système nerveux central, et action myorelaxante fondée sur l'inhibition de la transmission intra-neurale des influx dans le système nerveux central.
  - L'effet sédatif dure quelques heures; l'effet analgésique est de plus courte durée.
  - La sédation apparaît de 10 à 15 minutes après l'injection intra-musculaire ou intra-péritonale et de 3 à 5 minutes après l'administration intraveineuse.
  - Provoque un sommeil de 1 à 2 heures et une analgésie de 15 à 30 minutes.

### SOMNOTOL™ de MTC Pharmaceuticals

- **Nom :** pentobarbital sodique
- **Effets et action :**
  - Action dépressive au niveau du cortex cérébral et de la substance réticulée résultant de l'élévation du seuil d'excitation des neurones et de la prolongation du temps de récupération après excitation.
  - Inhibition de la phosphatase des cellules nerveuses et ainsi que la synthèse des nucléoprotéines, des phospholipides cérébraux, de la phosphate coenzyme A et de l'acétylphosphate qui précèdent la synthèse de l'acétylcholine.
  - Anesthésie jusqu'à 60 minutes.

### TEMGESIC™ de Schering-Plough

- **Nom :** buprénorphine
- **Effets et action :**
  - Analgésique opioïde, agoniste partiel des récepteurs morphiniques mu et antagoniste des récepteurs morphiniques kappa.
  - Activité analgésique beaucoup plus puissante et prolongée que la morphine.
  - Durée 6 à 12 heures selon l'espèce.
  - Indiqué pour le soulagement de douleurs modérées à sévères, comme pendant la période post-opératoire.

### XYLOCAÏNE™ de AstraZeneca Canada

- **Nom :** chlorhydrate de lidocaïne 2%
- **Effets et action :**
  - Utilisation indiquée comme anesthésique local.
  - Agit au niveau du neurone en interférant avec le processus d'excitation et de conduction; l'anesthésique bloque la conduction nerveuse par diminution de la perméabilité membranaire aux ions sodium qui survient lors de la phase de dépolarisation.
  - Blocage, dans l'ordre chronologique et en fonction de la dose, des fibres neuro-végétatives, sensitives thermo-algiques, proprioceptives, épicerques, puis motrices.
  - Demi-vie d'élimination : 2 heures.

## **ANNEXE B**

### **PROTOCOLE DE PERfusion PAR GRAVITATION**

- 1- Après l'anesthésie de l'animal (disparition complète des réflexes au pincement) par l'administration d'une dose létale de Somnotol 65 mg/ml (120 mg/kg), fixer celui-ci à la plaque de styrofoam à l'aide d'épingles, les quatre pattes bien écartées.
- 2- À l'aide d'une pince, soulever la peau au niveau abdominal et l'entrailler. Utiliser les ciseaux forts comme écarteurs pour détacher progressivement la peau du thorax, puis la couper latéralement pour la récliner vers le haut ou simplement la retirer.
- 3- Soulever avec une pince le processus xyphoïde (visible comme un point blanc au bas du sternum) et couper l'attache des muscles abdominaux sur le sternum et le bord inférieur des côtes le plus latéralement possible. Ainsi l'abdomen est ouvert et la face inférieure du diaphragme est visible.
- 4- Latéralement, ouvrir le diaphragme et le désinsérer du bord costal.
- 5- Couper les côtes latéralement de part et d'autre. Relever avec la pince le plastron costal et le détacher du péricarde. Couper le plastron ou simplement le remonter vers le haut pour éviter les saignements inutiles en utilisant les ciseaux forts pour l'y maintenir.
- 6- Ouvrir la valve de solution saline (PBS 0,01M 0,9% NaCl, pH 7,5); saisir fermement le cœur à l'aide de la pince hémostatique et insérer l'embout de seringue tronquée reliée à la tubulure dans l'apex du ventricule gauche.
- 7- Inciser l'oreillette droite à l'aide des ciseaux fins; s'assurer que le débit ne soit pas trop rapide et que le sang s'écoule bien de l'oreillette.
- 8- Détacher les pattes antérieures de l'animal; les rongeurs ayant de petites clavicules, les pattes en abduction tendent à comprimer les tissus cervicaux et à limiter la circulation carotidienne.
- 9- Les viscères, la peau glabre et surtout le foie deviennent clairs.
- 10- Dès que le rinçage optimal est atteint, tourner la valve et faire couler le fixateur (paraformaldéhyde 4% dans du PB 0,1M, pH 7,4-7,6); porter attention au débit.
- 11- Il y a habituellement l'apparition de mouvements lors de la fixation musculaire. Veiller à ce que l'embout de la seringue demeure en place et que le débit demeure adéquat.
- 12- La durée de fixation est de 10 à 20 minutes; l'animal est alors rigide et on peut dès lors procéder aux prélèvements nécessaires.

## ANNEXE C

### PROTOCOLE DE L'HISTOCHIMIE DU DEXTRAN-BIOTINE

- 1- Après la coupe au microtome à congélation, recueillir les coupes dans les filets prévus à cet effet et baignant dans une solution de tampon tris salin 0,05M, 0,9% NaCl, pH 8,0 (TBS).
- 2- Procéder à 3 rinçages de 5 minutes chacun, sous agitation, dans de nouvelles solutions de TBS.
- 3- Déposer les filets dans une solution de méthanol-peroxyde d'hydrogène (contenant 70% de méthanol et 0,5% d' $H_2O_2$  33% dans de l'eau distillée), sous agitation, pour une durée de 15 minutes.
- 4- Procéder, sous agitation, à 3 rinçages de 30 minutes chacun dans de nouvelles solutions de TBS contenant 0,5% de Triton X-100, pH 8,0 (TBS-Tx).
- 5- Transférer les coupes dans les plaques de 24 trous contenant le complexe avidine-biotine (150 µl de solution A et 150 µl de solution B dans 25 ml de TBS-Tx; 500 µl/trou) et incuber pendant 90 minutes sous agitation. Il est possible d'utiliser une solution 1 :1 avec une solution déjà utilisée (150 µl de l'ancienne solution A-B et 150 µl de solution A-B nouvellement préparée). Le complexe avidine-biotine doit être préparé au moins une heure avant l'incubation et pas plus de trois heures à l'avance.
- 6- Retransférer les coupes dans les filets et procéder à 3 rinçages de 30 minutes chacun, sous agitation, dans de nouvelles solutions de tampon tris 0,05M, pH 8,0 (TB).
- 7- Déposer les coupes dans une solution de TB contenant 0,4% de nickel ammonium sulfate hexahydrate (TB-Ni), sous agitation, pendant 10 minutes.
- 8- Déposer les coupes dans une solution de TB-Ni contenant du DAB (15 mg/100 ml), sous agitation, pendant 10 minutes.
- 9- Ajouter le  $H_2O_2$  33% (18,2 µl par 100ml) et laisser la réaction histochimique s'effectuer pendant 20 à 30 minutes, sous agitation.
- 10-Procéder, sous agitation, à 3 rinçages de 10 minutes chacun dans de nouvelles solutions de TB.
- 11-Effectuer le montage des coupes dès que possible, en laissant baigner les coupes dans une solution de tampon phosphate 0,01M (PB) avant le montage.

## **ANNEXE D**

### **PROTOCOLE DE DÉSHYDRATATION ET DE CONTRE-COLORATION NISSL**

#### **Déshydratation des coupes**

- 1- Plonger les lames dans deux récipients d'éthanol 70% différents et successifs pendant quelques secondes seulement.
- 2- Plonger les lames dans un récipient d'éthanol 95% et les y laisser durant une minute.
- 3- Plonger les lames dans trois récipients d'éthanol 100% différents et successifs pendant 3 minutes chacun.
- 4- Plonger les lames dans trois récipients de xylène différents et successifs pour une durée de 5 minutes chacun. Les lames peuvent, avant d'être recouvertes, demeurer dans le xylène après être passées dans le troisième récipient.
- 5- Procéder au recouvrement des lames avec des lamelles de verre et la colle particulière prévues à cette fin.

#### **Contre-coloration Nissl**

- 1- Dégraissage : passage des lames dans cinq récipients différents pendant une minute chacun.
  - a) éthanol 70%
  - b) éthanol 95%
  - c) éthanol 100%
  - d) éthanol 100%
  - e) xylène
- 2- Réhydratation : passage des lames dans six récipients différents.
  - a) xylène (1 min.)
  - b) éthanol 100% (1min.)
  - c) éthanol 100% (1 min.)
  - d) éthanol 95% (1 min)
  - e) éthanol 70% (1 min.)
  - f) eau distillée (3 min.)
- 3- Coloration
  - a) crésyli violet (variable, 3-10 minutes)
- 4- Déshydratation (voir le protocole plus haut)