

UNIVERSITÉ DU QUÉBEC

THÈSE PRÉSENTÉE À  
L'UNIVERSITÉ DU QUÉBEC À TROIS-RIVIÈRES

COMME EXIGENCE PARTIELLE  
DU DOCTORAT EN PSYCHOLOGIE

PAR  
NICOLE CHABOT

RÉORGANISATION SENSORIELLE ET INFLUENCE DE L'ENVIRONNEMENT  
CHEZ DES RONGEURS AVEUGLES

AVRIL 2010

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.



Ce document est rédigé sous la forme d'articles scientifiques, tel qu'il est stipulé dans les règlements des études de cycles supérieurs (Articles 138) de l'Université du Québec à Trois-Rivières. Les trois articles ont été rédigés selon les normes de publication de revues reconnues et approuvées par le Comité d'études de cycles supérieurs en psychologie. Le nom du directeur de recherche apparaît donc comme co-auteur des articles publiés et de l'article à soumettre pour publication.

## *Sommaire*

De nombreuses études démontrent que le cortex occipital, qui est normalement visuel, peut être activé par une tâche auditive ou somesthésique chez des personnes aveugles. Cette compensation sensorielle est présente chez les aveugles précoces et tardifs, néanmoins, elle diffère entre ces deux groupes. Qu'en est-il de cette différence ? Cette thèse de doctorat entend répondre à la question générale suivante : Quel est l'impact des facteurs, en particulier le moment de l'apparition de la perte de la vue et la richesse de l'environnement dans lequel croît l'individu, sur la réorganisation sensorielle chez les aveugles ? Pour ce faire deux modèles de souris aveugles ont été utilisés : une souche de souris mutante anophtalme ZRDCT/An qui ne développe pas de rétine ni de nerf optique et une autre souche, la souris C57BL/6 énucléée à la naissance. Une étude antérieure effectuée à notre laboratoire a démontré que le thalamus et le cortex visuel de la souris mutante anophtalme ZRDCT/An sont clairement activés par un stimulus auditif. De plus, l'activation auditive du cortex visuel est plus importante chez les souris élevées dans un milieu enrichi en comparaison à celles élevées dans un milieu appauvri. Suite à ces résultats, les deux modèles de cécité décrits plus haut nous permettent de répondre aux questions spécifiques suivantes : (i) Quel est l'impact du moment de l'apparition de la cécité sur la réorganisation sensorielle ? (ii) Est-ce que différentes conditions environnementales peuvent influencer cette réorganisation ? D'autre part, une étude qualitative complémentaire avec un autre modèle animal, le rat énucléé, est présentée dans cette thèse. Le rat, étant un animal chez qui la période critique de la compensation sensorielle se termine après la naissance, permet d'investiguer plus en profondeur cette

période critique. Cette dernière étude a été effectuée à parts égales entre Nicole Chabot et Robin Tremblay.

L'objectif principal de cette thèse de doctorat est de déterminer les facteurs ayant un rôle à jouer dans la réorganisation sensorielle chez les aveugles. Trois objectifs spécifiques en découlent. Le premier objectif est de comparer les effets fonctionnels et anatomiques de la cécité survenant à deux âges différents dans la même espèce animale, la souris. Pour ce faire, l'activité auditive évoquée par le c-Fos et les connexions sous-corticales des centres visuels ont été comparées entre les souris mutantes anophtalmes et les souris C57BL/6 énucléées à la naissance. Le deuxième objectif est de décrire l'influence de l'environnement – appauvri ou enrichi - dans lequel les souris ont grandi sur la réorganisation sensorielle en comparant l'activité auditive observée dans les centres visuels des souris mutantes et des souris énucléées à la naissance. L'étude complémentaire faite sur les rats énucléés aux jours post-nataux 8 à 15 ne remplit pas à proprement parler un objectif spécifique de cette thèse mais apporte des éléments de réponse hautement pertinents sur i) l'étendue de la période critique de l'activation auditive du cortex visuel primaire (V1) chez une autre espèce, ii) la corrélation entre l'activité auditive du cortex visuel primaire et la présence de fibres auditives provenant du collicule inférieur dans le noyau thalamique primaire visuel.

Le chapitre I démontre qu'il y a une différence majeure entre les deux modèles de cécité étudiés. Chez la souris mutante, l'activité auditive a été observée dans le thalamus visuel primaire de même que dans le cortex visuel primaire. Par contre, chez la souris énucléée à la naissance, l'activité auditive est observée principalement dans l'aire visuelle secondaire latérale jouxtant le cortex auditif primaire. Ces résultats sont corroborés par

l'étude de traçage qui confirme l'existence d'une connexion ectopique chez la souris mutante qui origine dans le collicule inférieur et se termine dans le thalamus visuel primaire et le noyau latéral postérieur. Cette connexion transmodale est absente chez la souris énucléée à la naissance.

Le chapitre II explore davantage la connectivité afférente du cortex visuel primaire chez la souris mutante anopthalmique ZRDCT/An. Nous observons les connexions normalement décrites chez cette souris et nous proposons qu'une des sources sous-corticales de l'activation auditive du cortex visuel primaire origine des projections du collicule inférieur vers le thalamus visuel primaire et le noyau latéral postérieur. Tous deux projettent vers le cortex visuel primaire. Cette étude démontre sans équivoque qu'aucune structure auditive sous-corticale n'est connectée directement avec le cortex visuel primaire chez la souris mutante ZRDCT/An.

Le chapitre III démontre quant à lui que la qualité de l'environnement n'influence en rien le volume du néocortex ni celui des structures d'intérêts étudiées soit le collicule inférieur, le corps genouillé latéro-dorsal, le cortex auditif primaire, le cortex visuel primaire et les cortex visuels secondaires latéral et médial. Par contre, l'environnement agit sur l'activité auditive évoquée dans le collicule inférieur, le corps genouillé latéro-dorsal et le cortex auditif primaire chez la souris mutante et pas chez les souris énucléées ni chez les contrôles.

Le chapitre IV démontre que le cortex visuel primaire peut être activé auditivement chez les rats énucléés jusqu'à P9. À P10 le cortex visuel primaire n'est habituellement pas activé par une stimulation auditive. Chez les rats énucléés à P11 et après, c'est le cortex visuel secondaire qui est activé auditivement. L'activation auditive

de V1 est corrélée avec la présence de la nouvelle connexion ectopique sous-corticale entre le collicule inférieur et le corps genouillé latéro-dorsal. Celle-ci est présente chez les rats énucléés jusqu'à P13 et est absente chez les rats énucléés à P15 et chez les rats contrôles. La connexion IC-LGNd semble être nécessaire, mais peut-être pas suffisante, pour activer auditivement le cortex visuel primaire.

Cette thèse de doctorat spécifie l'impact de deux facteurs pouvant influencer la plasticité transmodale. Tout d'abord, le moment d'apparition de la cécité semble jouer un rôle crucial. Cécités précoce et tardive ne vont pas façonner de la même manière la plasticité transmodale. La cécité précoce favorise l'élaboration d'une connexion ectopique sous-corticale tandis que la cécité plus tardive semble influencer la plasticité transmodale à un niveau cortical. Un deuxième facteur qui influence la plasticité transmodale est le milieu d'élevage. Celui-ci possède un effet sélectif sur la souche de souris. En effet, le milieu – enrichissement ou appauvrissement - semble n'affecter que l'activité auditive évoquée par le c-Fos dans les structures auditives des souris mutantes anophtalmes. Les résultats obtenus dans le cadre de cette thèse de doctorat permettent de mieux comprendre la subtilité des mécanismes adaptatifs de la plasticité. Ces résultats renforcent les connaissances actuelles pour que l'utilisation d'implants sensoriels soit un succès.

## Table des matières

Sommaire .....	iv
Table des matières.....	viii
Liste des tableaux.....	x
Liste des figures .....	xi
Remerciements.....	xiv
Introduction .....	1
Mise en situation de la recherche .....	2
Préambule .....	2
Les systèmes sensoriels.....	9
Le système visuel.....	11
Rétinopathie .....	14
Le système auditif.....	15
Tonotopie.....	18
Le système somatosensoriel.....	19
Somatotopie.....	21
Période critique et réorganisation sensorielle .....	23
Considérations méthodologiques.....	36
L'origine des espèces : la souris mutante anophtalme ZRDCT/An et la souris C57BL/6 .....	37
c-Fos.....	39
Stéréologie.....	40
Articles constituant la thèse .....	44
Chapitre 2 - Premier article: Audition Differently Activates the Visual System in Neonatally Enucleated Mice Compared to Anophthalmic Mutants .....	46
Contribution des auteurs.....	47
Résumé en français .....	48
Abstract .....	51
Introduction.....	52
Materials & methods.....	54
Results .....	62
Discussion.....	66
Acknowledgements.....	75
Abbreviations .....	76
References.....	77
Figures and tables captions.....	83
Figures and Tables.....	88
Annex1 Author Guidelines .....	100
Chapitre 3 - Deuxième article : Subcortical auditory input to the primary visual cortex in anophthalmic mice .....	112
Contribution des auteurs.....	113
Résumé en français .....	114

Abstract .....	116
Introduction.....	117
Materials and Methods.....	118
Results.....	120
Discussion.....	121
Reference List .....	124
Figures captions.....	131
Annexe 2 Guide for Authors.....	138
<b>Chapitre 4 - Troisième article : Selective effect of environmental enrichment on mutant anophthalmic mice .....</b>	<b>148</b>
Contribution des auteurs.....	149
Résumé en français .....	150
Abstract .....	152
Introduction.....	153
Materials & methods.....	154
Results.....	160
Discussion.....	162
Abbreviations .....	167
References.....	168
Figure and tables captions .....	173
<b>Résultats complémentaires.....</b>	<b>188</b>
Contexte théorique.....	189
Matériels et méthodes .....	190
Résultats .....	191
Discussion.....	198
<b>Discussion .....</b>	<b>200</b>
Réorganisation sous-corticale .....	202
Réorganisation corticale.....	208
Effets sous-corticaux et corticaux de l'environnement .....	210
Application des résultats.....	213
<b>Conclusion.....</b>	<b>215</b>
<b>Liste de références.....</b>	<b>218</b>

*Liste des tableaux*

Table 1. Prédiction des dates des évènements neuronaux en jour post-conception.....	11
Table 2. Animals details.....	98
Table 3. Methodological details describing design-based stereological study. ....	99
Table 4. Animals details.....	186
Table 5. Methodological details describing design-based stereological study. ....	187
Table 6. Animaux expérimentaux.....	191
Table 7. Nombre de rats qui présentent une activité auditive évoquée dans les aires visuelles.....	195
Table 8. Nombre de rats qui présentent la connexion IC-LGNd. ....	197

## *Liste des figures*

Figure 1. Équivalence temporelle entre espèces. ....	10
Figure 2. Voie visuelle chez l'humain. ....	13
Figure 3. Rétinotopie corticale droite chez l'humain. ....	15
Figure 4. Voie auditive chez l'humain. ....	17
Figure 5. Tonotopie de la membrane basilaire chez l'humain. ....	18
Figure 6. Tonotopie corticale humaine. ....	19
Figure 7. Voie somesthésique chez l'humain. ....	20
Figure 8. Homonculus sensoriel. ....	21
Figure 9. Somatotopie humaine. ....	22
Figure 10. Champ de tonneaux chez les rongeurs. ....	23
Figure 11. Mutation génétique M10L de la souris mutante. ....	38
Figure 12. L'échantillonnage aléatoire systématique. ....	41
Figure 13. Dissecteur optique. ....	42
Figure 14. Surestimation du nombre de cellules lors de l'échantillonnage. ....	43
Figure 15. Auditory evoked c-Fos immunoreactivity in the inferior colliculus .....	88
Figure 16. Auditory evoked c-Fos immunoreactivity in the lateral geniculate nucleus dorsal. ....	89
Figure 17. Auditory evoked c-Fos immunoreactivity in the primary auditory cortex. ....	90
Figure 18. Auditory evoked c-Fos immunoreactivity in the primary visual cortex. ....	91
Figure 19. Auditory evoked c-Fos immunoreactivity in the lateral secondary visual cortex. ....	92
Figure 20. Auditory evoked c-Fos immunoreactivity in the medial secondary visual cortex. ....	93
Figure 21. Tracer injection in a C57BL/6 eyed mouse. ....	94
Figure 22. Tracer injection in a ZRDCT/An mouse. ....	95
Figure 23. Tracer injection in a neonatally enucleated C57Bl/6 mouse. ....	96
Figure 24. Retrogradely labeled cells in AC following injection of BDA in the inferior colliculus. ....	97
Figure 25. Tracer (DBA 3000MW) injection in the primary visual cortex in an anophthalmic ZRDCT/An mouse .....	134
Figure 26. Tracer (fluorogold) injection in the primary visual cortex in an anophthalmic ZRDCT/An mouse .....	135
Figure 27. Tracer (DBA 10 000MW) injection in the inferior colliculus in an anophthalmic ZRDCT/An mouse .....	136
Figure 28. Tracer (DBA 10 000MW) injection in the auditory cortex in an anophthalmic ZRDCT/An mouse .....	137
Figure 29. Volume of cortical structures in experimental animals .....	178
Figure 30. Estimated number of neurons in the primary visual thalamus nucleus and in cortical structures in experimental animals .....	179
Figure 31. c-Fos immunoreactivity in the inferior colliculus evoked by an auditory stimulus .....	180
Figure 32. c-Fos immunoreactivity in the dorsal lateral geniculate nucleus evoked by an auditory stimulus .....	181

Figure 33. c-Fos immunoreactivity in the primary auditory cortex evoked by an auditory stimulus .....	182
Figure 34. c-Fos immunoreactivity in the primary visual cortex evoked by an auditory stimulus .....	183
Figure 35. c-Fos immunoreactivity in the secondary lateral visual cortex evoked by an auditory stimulus .....	184
Figure 36. c-Fos immunoreactivity in the secondary medial visual cortex evoked by an auditory stimulus .....	185
Figure 37. Activité auditive évoquée au niveau cortical .....	192
Figure 38. Activité auditive évoquée dans l'aire visuelle primaire. ....	193
Figure 39. Activité auditive évoqué dans l'aire visuelle secondaire .....	194
Figure 40. Afférences auditives dans le LGNd .....	196
Figure 41. Afférences auditives dans le thalamus visuel primaire.....	197
Figure 42. Schéma des connexions hétéromodales pour expliquer l'activation auditive des aires visuelles. ....	210
Figure 43. Contribution des travaux de recherche de la présente thèse au domaine de la plasticité transmodale.....	217

Socrate 470-399 av.J.-C.

Je sais que je ne sais rien oùδα ὄτι οὐδὲν οἶδα

### *Remerciements*

En premier lieu, j'aimerais remercier mon directeur de recherche, celui que je surnomme mon « papa poule », le Dr Gilles Bronchti. Merci de m'avoir accueillie dans votre équipe, de m'avoir guidée durant toutes ces années et d'avoir cru en moi surtout dans les moments où je ne croyais plus en moi. Même s'il a fallu vous convaincre, merci d'avoir investi autant de temps dans ma formation en neuroanatomie humaine... Je retiens de ces années passées à travailler auprès de vous qu'il ne faut pas avoir peur de recommencer et de parfaire son travail. Au final, quand je regarde ce que j'ai accompli durant mon doctorat, j'en suis très fière et vous y êtes pour beaucoup.

Je remercie également le Dr Denis Boire pour son implication dans mes travaux de recherche. Il a toujours pris le temps, même s'il avait d'autres feux à éteindre ailleurs, de me conseiller et de me donner un point de vue différent sur mon travail. Denis, merci pour tes conseils, pour ta vivacité d'esprit et pour ta façon de dédramatiser les petits pépins qui nous font tant suer et que nous sommes amenés à rencontrer sur la route de la recherche.

Je veux aussi remercier les chercheurs et les étudiants présents et passés du Groupe de Recherche en Neurosciences qui ont été mon public lors de mes premières présentations orales. Vos questions et vos commentaires m'ont permis d'avoir une autre perspective sur mes travaux de recherche.

Je veux prendre le temps de remercier mes collègues, certains volubiles et taquins, d'autres posés et réfléchis mais avec qui j'ai partagé plusieurs moments sérieux où on « discutait science » et on faisait avancer les choses mais aussi des moments où les échanges étaient plutôt ineptes. J'ai une pensée spéciale pour chacun d'entre vous, Karine

Arsenault, Fahd Awada, Virginie Boucher, Rollande Caron, Valérie Charbonneau, Anne-Chloé Chateaux, Nadia Desnoyers, Romain Despinasse, Kelly Francisque, Éloïse Forest-Allard, Sonia Guillemette, Marie-Eve Laramée, Dominic Larochelle, Jean-François Le Houillier, Marie-Ève Lemire, Ian Massé, Stéphanie Miceli, Johanne Pellerin, Stéphanie Prince, Mathieu Piché, Jean-François Richard, Stéphane Robert, Samuel Séguin, Cédric St-Pierre, Isabelle Tanneau et Robin Tremblay. Merci d'avoir été là, vous avez tous contribué à mon cheminement doctoral.

J'aimerais également remercier les secrétaires et les agente et assistante administrative des départements de psychologie et de chimie-biologie, Carol Kane, Francine Dion, Lise Daneault et Élise Lebordais. Elles ont toujours pris le temps de répondre à mes questions. Elles sont des piliers pour le bon fonctionnement de ces deux départements.

Une pensée toute spéciale est envoyée à Franz et à Gilberte. Même si vous êtes loin, vos encouragements sont toujours arrivés au bon moment. Qu'il est bon de se voir à travers vos yeux. C'est la petite tape sur l'épaule qui permet de continuer et d'aller plus loin.

Je tiens à remercier surtout : mon père Jean-Guy, ma mère Lucille, ma sœur Sylvie et ses trois frimousses Ahmadou, Habib et Mouhammad. Ma grande amie Annie, sans oublier Frédéric, Hugo et la petite dernière Mathilde. Mes beaux-parents Guideon et Hanna, Yariv, Jasmin, Laurent, Shani et Eran. Sans vous, sans votre aide et votre écoute, rien de tout cela n'aurait pu être possible. Peut être que pour vous ce n'était que des détails (de longues conversations au téléphone, des repas cuisinés avec amour, des crêpes

le dimanche midi, des journées de gardiennage, des sorties au resto ou en plein air, des voyages), mais tous ces détails ensoleillent la grisaille qui se pointe parfois en recherche.

Mes derniers remerciements, mais non les moindres, vont à Yuval ma puce, avec qui je partage mes plus grandes joies et mes tristesses depuis 12 ans. Spécialement pour tous les sacrifices que tu as faits afin de me permettre d'aller au bout de mes ambitions, je te dis mille mercis. À Zwi, qui dès son plus jeune âge, a dû apprendre à partager sa maman. Chaque jour je m'émerveille en te regardant. Merci aussi à deux êtres qui ont toujours su m'apporter de façon inconditionnelle chaleur et réconfort, Napoléon et Joséphine. Un dernier merci à Irena, sans le savoir, vous avez fait tellement pour moi.

*Introduction*

### *Mise en situation de la recherche*

Le succès fonctionnel des prothèses de substitution repose sur les mécanismes de la plasticité neuronale. Bien qu'il existe de nombreuses observations sur la plasticité transmodale chez les aveugles, humain ou modèles animaux, les mécanismes sous-jacents sont encore peu connus. Cette thèse entend approfondir les connaissances de ces mécanismes qui sont différemment sollicités selon que l'on soit un aveugle précoce ou un aveugle tardif.

### *Préambule*

Les aveugles ont des capacités auditives et tactiles supérieures aux voyants : mythe ou réalité ? Déjà en 1749, Diderot avance l'idée que les aveugles, pour pallier leur handicap, développent davantage leurs autres sens, l'audition et le toucher (Diderot, 2000). Sur le site internet de l'Institut National Canadien des Aveugles, on peut lire qu'en 1829, Louis Braille publie son livre « Method of Writing Words, Music, and Plain Song by Means of Dots, for Use by the Blind and Arranged by Them » qui porte sur le développement d'un nouveau système d'écriture, le Braille, qui permet aux aveugles, grâce à la sollicitation du sens du toucher, de lire et d'écrire. La toute première référence scientifique répertoriée qui porte sur la cécité et le toucher est publiée dans le journal Science en 1886 et est anonyme. Selon l'appréciation subjective de l'auteur inconnu, qui rapporte un article du Professeur Soret publié dans le Spectator, un aveugle peut

percevoir la beauté d'un objet au travers de l'appréciation de sa symétrie et de sa régularité, si et seulement si, il apprend à mieux utiliser son sens du toucher. Ceci équivaut, d'après l'auteur anonyme, au franchissement d'une étape dans le développement psychologique de l'individu. Plus tard, des travaux sur les avantages ou les désavantages perceptifs chez les aveugles sont effectués autant chez l'humain (Axelrod, 1959) que chez l'animal (Knudsen, 1988; Knudsen & Knudsen, 1985). La question fondamentale étant de savoir si la privation de la vision perturbe le développement des performances des modalités restantes ou si elle conduit à des performances supérieures.

Plusieurs chercheurs avancent que la cécité est nuisible au développement des habiletés spatiales dans les modalités restantes chez l'humain car la vision est utilisée pour calibrer les autres systèmes sensoriels (Axelrod, 1959; Cohen, 1974; Lewald, 2002a; Lewald, 2002b; Warren & Cleaves, 1971; Zwiers, Van Opstal, & Cruysberg, 2001). Des résultats provenant d'études faites sur le tectum de hibou, une structure mésencéphalique multimodale, suggèrent aussi que la vision sert à la calibration des cartes sensorielles pour la localisation d'un son (Luksch, Gauger, & Wagner, 2000). Chez le hibou aux paupières suturées, le développement topographique de la carte auditive spatiale sera dégradé (Knudsen, 1988; Knudsen, Esterly, & Du Lac, 1991). Aussi, le hibou qui porte un prisme latéralisant adaptera la localisation d'un son au champ visuel dégradé (Knudsen & Knudsen, 1985; Miller & Knudsen, 1999) si ce prisme est installé durant les huit premières semaines de vie, soit pendant la période critique de la formation des cartes sensorielles dans le tectum. Par contre, aux alentours du jour postnatal 200 (P200), cette capacité de réorganisation des cartes sensorielles s'amenuise (Brainard & Knudsen,

1998). Cette dernière étude a aussi montré que la fin de la période critique de la réorganisation sensorielle pour la localisation d'un son peut être retardée si le hibou a été élevé dans un environnement enrichi (Brainard & Knudsen, 1998).

Le tectum a son équivalent chez les mammifères avec le collicule supérieur. Des études utilisant aussi des prismes déformants ont été réalisées chez l'humain avec des résultats plus ambigus. Toutefois, les tâches impliquaient une orientation du corps et des membres supérieurs vers la source d'un son, tâches généralement prises en charge par le collicule supérieur (Lackner, 1976; Zwiers, Van Opstal, & Paige, 2003). D'autres études effectuées sur le collicule supérieur d'animaux suggèrent que la vision n'est pas la seule modalité qui permet l'alignement des cartes sensorielles. En effet, Covey et al. en 1987 a démontré que, chez la chauve-souris (*Pteronotus parnellii*) pratiquement aveugle, l'audition prend le relais pour la formation de l'alignement des cartes sensorielles dans le collicule supérieur. Parallèlement, Benedetti en 1992 démontre que chez la souris énucléée à la naissance, les vibrisses, organe principal de la somesthésie, guident le développement des cartes sensorielles dans cette même structure (voir aussi Benedetti & Ferro, 1994).

D'autre part, la perte de la vision conduit à des performances spatiales, auditives, tactiles ou langagières améliorées chez les aveugles. Rice, en 1970, a été l'un des premiers à étudier le concept de la meilleure acuité spatiale chez les aveugles. Plus tard, d'autres auteurs démontrent que les aveugles sont meilleurs que le voyant pour localiser la provenance d'un son dans l'espace (Collignon, Renier, Bruyer, Tranduy, & Veraart, 2006; Despres, Boudard, Candas, & Dufour, 2005; Doucet et al., 2004; Gougoux, Zatorre, Lassonde, Voss, & Lepore, 2005; Leclerc, Saint-Amour, Lavoie, Lassonde, &

Lepore, 2000; Lessard, Paré, Lepore, & Lassonde, 1998; Muchnik, Efrati, Nemeth, Malin, & Hildesheimer, 1991; Voss et al., 2004; Yabe & Kaga, 2005), surtout si celui-ci est présenté en périphérie (Fieger, Roder, Teder-Salejarvi, Hillyard, & Neville, 2006). De plus, la sensibilité acoustique des aveugles se manifeste aussi en des temps de détection plus rapide de changement de tonalité (Gougoux et al., 2004; Kujala et al., 1997; Kujala, Alho, Paavilainen, Summala, & Näätänen, 1992). Ces performances améliorées se traduisent aussi par une facilitation à avoir l'oreille absolue (Ross, Olson, & Gore, 2003), en des temps de réactions plus courts lors de détection sonore (Liotti, Ryder, & Woldorff, 1998; Röder et al., 1999; Stevens & Weaver, 2005) et en des temps de latence plus courts pour les potentiels évoqués auditifs (Manjunath et al., 1998; Röder, Rösler, & Neville, 1999). Il semble aussi que les aveugles possèdent des habiletés supérieures à naviguer dans l'espace grâce à l'écholocation (Dufour, Despres, & Candas, 2005; Kellogg, 1962). Suite à un entraînement, les voyants peuvent aussi développer des capacités d'écholocation (Ammons & Dallenbach, 1953; Hoshino & Kuroiwa, 2002), toutefois toujours à un degré moindre que les aveugles (Kellogg, 1962). Dans tous les cas par contre, les aveugles démontrent une meilleure discrimination grâce à l'écholocation des textures, de la grosseur et de la distance des objets (Kellogg, 1962). Au niveau tactile, les aveugles démontrent aussi une meilleure acuité car ils sont capables, avec leurs doigts, de percevoir une grille beaucoup plus fine que les voyants ne le peuvent (Cohen et al., 1997; Goldreich & Kanics, 2003; Van Boven, Hamilton, Kauffman, Keenan, & Pascual-Leone, 2000). Cette acuité rehaussée ne se limite pas qu'aux doigts. En effet, Chebat en 2007, a démontré que l'acuité tactile de la langue est meilleure chez l'aveugle. Cette aptitude est utilisée pour créer des prothèses de substitution sensorielle qui convertissent un stimulus

visuel capté par une caméra en stimulation électro-tactile sur la langue via des électrodes. Les performances langagières des aveugles sont aussi améliorées et surpassent celles des voyants (Amedi, Raz, Pianka, Malach, & Zohary, 2003). Les aveugles sont capables de traiter la parole beaucoup plus efficacement que les voyants (Niemeyer & Starlinger, 1981; Röder, Rosler, & Neville, 2000; Roder, Stock, Bien, Neville, & Rosler, 2002) surtout dans un environnement bruyant (Niemeyer & Starlinger, 1981).

L'imagerie cérébrale chez l'humain a démontré que, dans les cas de cécité précoce, le cortex occipital semble conserver sa taille et sa structure (Kujala et al., 1995; Phelps et al., 1981; Wanet-Defalque et al., 1988) et que, malgré l'absence de vision, l'activité métabolique y est élevée chez l'aveugle précoce comparé à l'aveugle tardif (Veraart et al., 1990; Wittenberg, Werhahn, Wassermann, Herscovitch, & Cohen, 2004). Ce n'est que quelques années plus tard que cette activation du cortex occipital des aveugles précoces est corrélée à une tâche tactile (Amedi, Jacobson, Hendler, Malach, & Zohary, 2002; Amedi et al., 2003; Buchel, Price, Frackowiak, & Friston, 1998; Burton et al., 2002; Cohen et al., 1997; Sadato et al., 1996; Sadato et al., 1998; Uhl, Franzen, Lindinger, Lang, & Deecke, 1991; Uhl, Franzen, Podreka, Steiner, & Deecke, 1993) ou auditive (De Volder et al., 1997; Kujala et al., 1995; Röder et al., 1999; Röder, Rösler, Hennighausen, & Näcker, 1996; Roder et al., 2002; Weeks et al., 2000).

Les avantages démontrés par les aveugles précoces (Burton, Sinclair, & McLaren, 2004; Veraart et al., 1990; Voss, Gougoux, Lassonde, Zatorre, & Lepore, 2006; Voss, Gougoux, Zatorre, Lassonde, & Lepore, 2008) sont corrélés avec l'activation du cortex strié par des stimuli non-visuels (Sadato et al., 1996). La validité fonctionnelle de cette activation a été corroborée par des études utilisant une stimulation magnétique

transcranienne (SMT) au niveau du cortex occipital. Le SMT altère la lecture du Braille chez l'aveugle (Cohen et al., 1997; Kupers et al., 2007) mais aussi le traitement linguistique (Amedi, Floel, Knecht, Zohary, & Cohen, 2004). De plus, des données cliniques recueillies auprès d'une patiente aveugle précoce confirment les résultats obtenus grâce au paradigme expérimental du SMT. En effet, suite à un accident vasculaire cérébral bilatéral localisé au niveau du cortex occipital, cette patiente est devenue alexique pour le Braille (Hamilton, Keenan, Catala, & Pascual-Leone, 2000). Une seule étude démontre une activation du cortex strié par une tâche de lecture du Braille chez les aveugles tardifs (Buchel et al., 1998), tâche qui probablement sollicite une mémoire visuelle présente chez ceux-ci. D'autres chercheurs qui ont étudié l'activation corticale lors de tâches auditives (Fieger et al., 2006; Kujala et al., 1997; Kujala, Alho, & Naatanen, 2000; Voss et al., 2006; Voss et al., 2008) ou tactiles (Burton et al., 2002; Burton, McLaren, & Sinclair, 2006; Burton et al., 2004; Burton, Snyder, Diamond, & Raichle, 2002; Goyal, Hansen, & Blakemore, 2006; Sadato, Okada, Honda, & Yonekura, 2002; Wittenberg et al., 2004) chez l'aveugle tardif montrent une activation du cortex extrastrié. Comment expliquer ces différences fonctionnelles observées entre les aveugles précoces et tardifs ?

Le fait qu'il y ait une différence de performance entre les aveugles précoces et tardifs suggère une différence dans la réorganisation sensorielle certainement suite à la fin d'une période critique (Cohen et al., 1999; Sadato et al., 2002). Les études faites chez les aveugles humains ne permettent pas d'élucider l'origine de ces différences entre les aveugles précoces et tardifs de même que les mécanismes neuronaux sous-jacents à cette plasticité transmodale, à l'inverse des modèles animaux. Les modèles animaux, qui ont

permis de mieux comprendre la cécité sont le rat-taupe, le furet énucléé, le rat énucléé, le hamster énucléé et la souris mutantes anophtalme, pour la cécité précoce, et le chat énucléé et la souris énucléée, pour la cécité tardive. Les données recueillies sur les différences entre les aveugles précoces et tardifs sont sous forme d'une mosaïque, à cause de la diversité des modèles utilisés et il manque une étude qui, dans un même modèle, regarderait les différents aspects de la plasticité transmodale suite à la survenue de la cécité à différents âges.

En résumé, il appert que la réorganisation sensorielle conduit à une expansion des aires cérébrales dédiées à l'audition ou à la somesthésie, ce qui pourrait expliquer les avantages perceptifs chez les aveugles par rapport aux voyants. Cette réorganisation sensorielle est influencée par le moment auquel survient la cécité. Il semble que le potentiel plastique est grand lorsque la cécité est précoce. De plus, la qualité de l'environnement pourrait agir sur la période critique comme démontré chez le hibou (Brainard & Knudsen, 1998) et donc, sur l'amplitude de la plasticité. La seule étude répertoriée sur l'augmentation d'utilisation d'un sens chez l'aveugle humain a été faite par Halliday et Evans en 1974 chez une sourde-aveugle-muette grabataire. L'enrichissement somatosensoriel a été utilisé pour élargir ses sources d'informations afférentes et avait comme but de la faire sourire. Une comparaison de l'effet de l'environnement sur les modèles animaux de plasticité transmodale est nécessaire.

L'objectif général de cette thèse est d'étudier chez la même espèce animale l'effet de la cécité, en testant sa survenue à deux âges différents, et de l'environnement sur la réorganisation sensorielle. C'est pourquoi la suite de l'introduction présentera l'organisation des systèmes visuel, auditif et somesthésique normaux, développera plus

en profondeur l'importance des périodes critiques dans la réorganisation sensorielle suite à une déprivation en périphérie du système nerveux et les effets de l'environnement sur le système nerveux. L'introduction se terminera par des considérations méthodologiques relatives aux études faites dans le cadre de cette thèse.

### *Les systèmes sensoriels*

Dans le but de mieux comprendre et de mieux visualiser les changements anatomiques associés à la plasticité transmodale, voici une présentation des systèmes sensoriels normaux chez l'humain. Des parallèles sont présentés pour les rongeurs. Même si les systèmes sensoriels se développent différemment selon les espèces, il est possible de faire des comparaisons entre elles (Clancy, Darlington, & Finlay, 2000) (figure 1). Il est aussi possible de traduire les étapes de développement du système nerveux et des systèmes sensoriels chez différents mammifères (Clancy et al., 2007; Clancy, Finlay, Darlington, & Anand, 2007) (Tableau 1).

Équivalence temporelle entre espèces				
Souris (G18,5)	Rat G(21,5)	limbique	Humain autre G(270)	cortex
8,3	9	23	25	29
8,7	9,5	26	27	32
9,1	10	28	30	35
9,5	10,5	30	33	39
9,9	11	33	35	42
10,3	11,5	35	38	45
10,7	12	38	41	48
11,1	12,5	40	43	52
11,5	13	43	46	55
11,9	13,5	45	48	58
12,3	14	47	51	61
12,7	14,5	50	54	65
13,2	15	52	56	68
13,6	15,5	55	59	71
14	16	57	62	74
14,4	16,5	60	64	78
14,8	17	62	67	81
15,2	17,5	64	70	84
15,6	18	67	72	87
16	18,5	69	75	91
16,4	19	72	78	94
16,8	19,5	74	80	97
17,2	20	77	83	100
17,6	20,5	79	86	104
18	21	82	88	107
<b>Naissance</b>	<b>Naissance</b>	84	91	110
P0,7	P1	89	96	117
P1,5	P2	94	101	123
P2,3	P3	99	107	130
P3,1	P4	103	112	136
P3,9	P5	108	117	143
P4,8	P6	113	123	149
P5,6	P7	118	128	155
P6,4	P8	123	133	162
P7,2	P9	128	139	168
P8	P10	133	144	175
P8,8	P11	138	149	181
P9,6	P12	142	154	188
P10,4	P13	147	160	194
P11,2	P14	152	165	201
		159	173	211
		164	178	217
		169	184	224
		174	189	230
		179	194	237
		184	199	243
		189	205	250
		194	210	256
		198	215	263
		203	221	<b>Naissance</b>

**Figure 1 Équivalence temporelle entre espèces.** Cette table permet de trouver l'équivalence des moments de développement neuronaux entre la souris, le rat et l'humain en suivant les lignes parcourant les colonnes. Les dates avant la naissance sont en caractères gras et sont en jours post conception. Les dates après la naissance, en caractères normaux, sont exprimées en jours postnataux (P). Le temps de gestation de l'espèce est indiqué en haut de la colonne, précédé d'un G. Noter qu'à la naissance, le degré de développement neuronal entre la souris et le rat sont au même stade mais qu'ils diffèrent du degré de maturité du développement neuronal humain. Adapté de Clancy et al. 2001.

Évènement neuronal	Souris	Rat	Humain
Début de la neurogénèse des cellules ganglionnaire	10.0	11.2	38.3
Début de la neurogénèse du corps géniculé latéro-dorsal	10.8	12.2	43.1
Début de la neurogénèse du corps géniculé médial	11.3	12.8	46.2
Début de la formation du chiasme optique	12.1	13.8	51.0
Début de la neurogénèse du collicule supérieur	12.6	14.4	54.0
Début de la neurogénèse du collicule inférieur	13.2	15.1	57.7
Début des projections V1-LGNd	16.5	19.2	95.4
Début des projections LGNd-V1	21.2	24.8	130.2
Début des projections du cortex visuel-collicule supérieur	22.8	26.8	142.6
Ouverture des yeux	30.2	35.7	159.9

**Table 1 Prédiction des dates des évènements neuronaux en jour post-conception.** Adapté de Clancy et al. 2001.

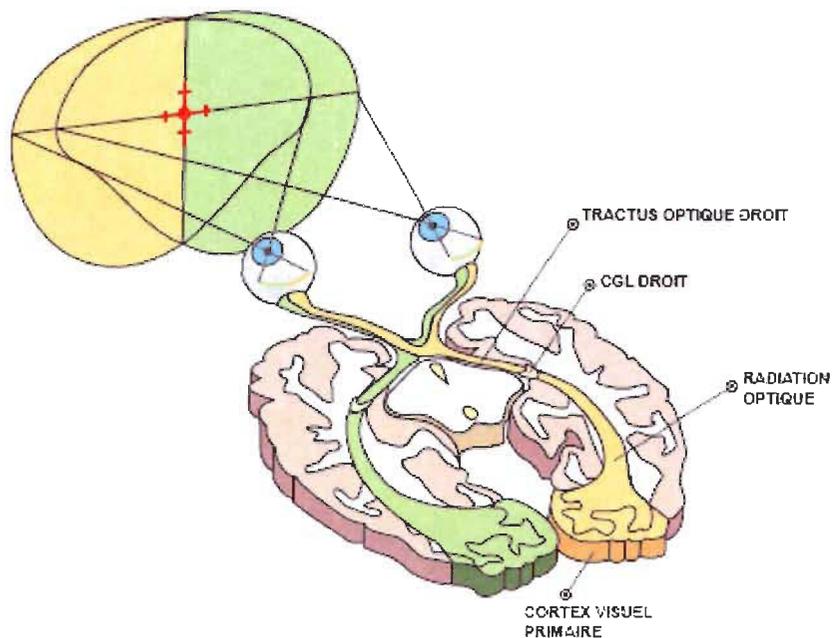
### *Le système visuel*

Le processus visuel commence lorsque la lumière frappe les récepteurs spécialisés, soit les cônes et les bâtonnets, localisés sur la rétine. L'information lumineuse est alors transformée en influx nerveux qui gagnent ultimement le cortex visuel. Les fibres des nerfs optiques sont constituées par les axones des cellules ganglionnaires localisées dans la rétine. Chez l'homme, le nerf optique s'achemine jusqu'au chiasme optique où une décussation partielle a lieu ; les fibres provenant de la rétine nasale décussent pour aller contralatéralement à leur point d'origine tandis que les fibres provenant de la rétine temporale restent ipsilatérales. Chez le rongeur, la position latérale des yeux a influencé le développement de la rétine nasale, qui occupe beaucoup plus de place que la rétine temporale. Après cette décussation partielle au niveau du chiasme optique, les fibres visuelles forment les tracts optiques. Une grande majorité de ces fibres, qui compose la racine latérale du tract optique, continue leur parcours sans s'arrêter jusqu'au noyau thalamique primaire visuel nommé le corps genouillé latéral dorsal (LGNd). Les axones du LGNd projettent, par les radiations optiques, vers le cortex visuel

primaire (V1), appelé aire 17 de Brodman ou aire striée, située dans la scissure calcarine chez les primates. C'est la voie rétino-géniculo-striée (figure 2).

Une deuxième voie, constituée par la racine médiale du tract optique se nomme la voie rétino-colliculaire ou rétino-tectale. La voie rétino-tectale possède plusieurs cibles mésencéphaliques et diencephaliques. Les trois cibles présentées ici sont celles utiles à la compréhension des travaux de recherche inclus dans cette thèse. La première cible des fibres de la racine médiale du tract optique est l'aire préteectale. La deuxième cible est le collicule supérieur, plus précisément ses couches superficielles. Pour y arriver, les fibres rétiniennes vont emprunter le brachium du collicule supérieur. La troisième cible est le noyau latéro-postérieur du thalamus. La voie rétino-tectale aboutit aux aires visuelles secondaires, ou aires 18 et 19 de Brodman, dites aussi aires extrastriées.

Les neurones de V1 projettent vers V2 de même que sur tous les noyaux sous-corticaux, c'est-à-dire LGNd, LP et SC. L'aire visuelle secondaire reçoit aussi des afférences de LP et elle projette à son tour vers V3 et ainsi de suite.



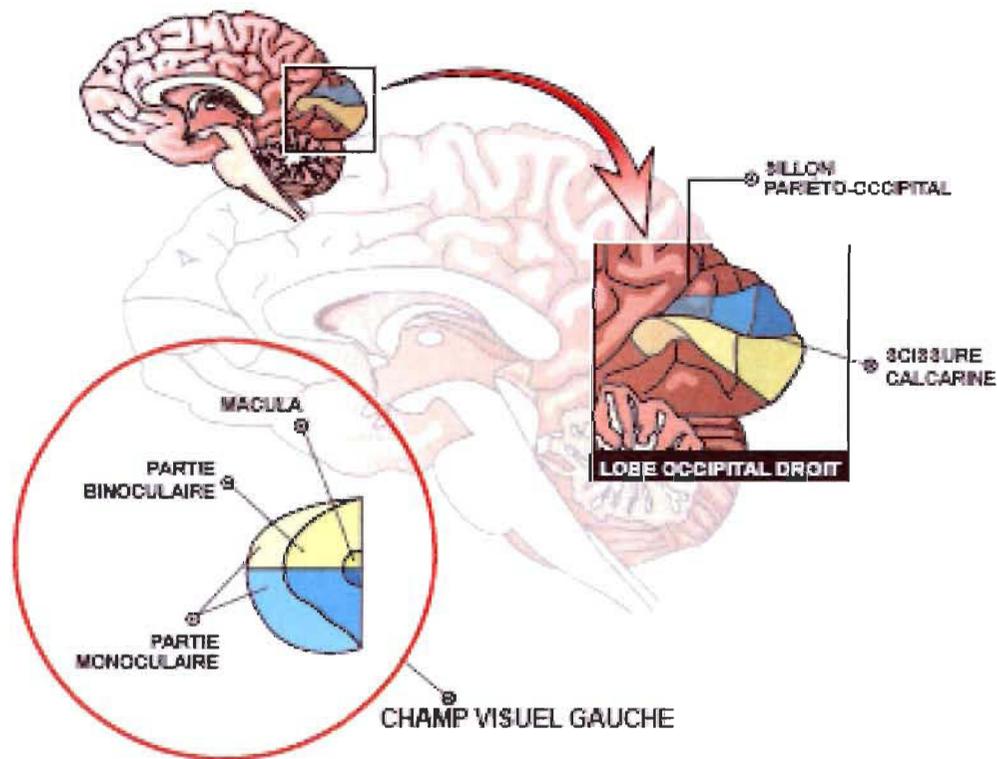
**Figure 2 Voie visuelle chez l'humain.** Le panneau du haut représente une vue latérale du cerveau humain avec un schéma de la voie rétinogéniculostriée. Le panneau du bas représente la même voie visuelle depuis le champ visuel jusqu'au cortex, en coupe horizontale. CGL= corps genouillé latéral.

Chez le chat il a été démontré que les afférences rétiniennes de chaque œil envahissent le corps genouillé latéral tout entier et s'entremêlent (Shatz, 1983; Sretavan & Shatz, 1986a; Sretavan & Shatz, 1986b). D'abord, le corps genouillé latéral reçoit des afférences binoculaires (Shatz & Kirkwood, 1984) mais suite à un processus de rétraction et d'élaboration axonales, les connexions se raffinent au jour embryonnaire 54 et à la naissance (gestation de 65 jours) le patron mature est présent (Shatz, 1983) : les neurones des cellules ganglionnaires innervent un territoire précis dans le corps genouillé latéral, c'est-à-dire que les axones provenant des deux yeux font synapse dans des couches séparées et localisées en alternance dans le corps genouillé latéral, chacune d'elle représentant un œil. Toujours chez le chat, il a aussi été démontré que les projections du corps genouillé latéral représentant l'œil droit ou gauche sont initialement entremêlées dans le cortex visuel et vont se ségréger pour définir les colonnes de dominance oculaire

du cortex visuel primaire (Levay, Stryker, & Shatz, 1978). À noter que chez les mammifères qui ont un LGNd stratifié, comme le chat et le primate, la ségrégation des axones en des couches séparées représentant les yeux dans le corps géniculé latéral est primordiale à la formation des colonnes de dominance oculaire du cortex visuel (Penn & Shatz, 2002) et que cette ségrégation est dépendante de l'activité (Goodman & Shatz, 1993; Hubel & Wiesel, 1965; Hubel & Wiesel, 1970). Une section de l'introduction sera consacrée à cette ségrégation dépendante de l'activité et à sa période critique.

### *Rétinotopie*

L'organisation générale du système visuel est telle que des cellules voisines de la rétine transmettent des informations à des sites voisins de leurs structures-cibles. C'est la rétinotopie qui est conservée tout le long des voies visuelles. Le champ visuel central est représenté sur la fovea et le champ visuel périphérique est représenté sur la rétine périphérique. Comme il y a plus de cellules ganglionnaires dont les champs récepteurs sont proches de la fovea que sur la rétine périphérique (Wikler, Williams & Rakic, 1990), la taille de la représentation de la vision centrale au niveau des structures visuelles, comme illustré dans le cortex visuel primaire sur la figure 3, est plus grande que celle de la vision périphérique.



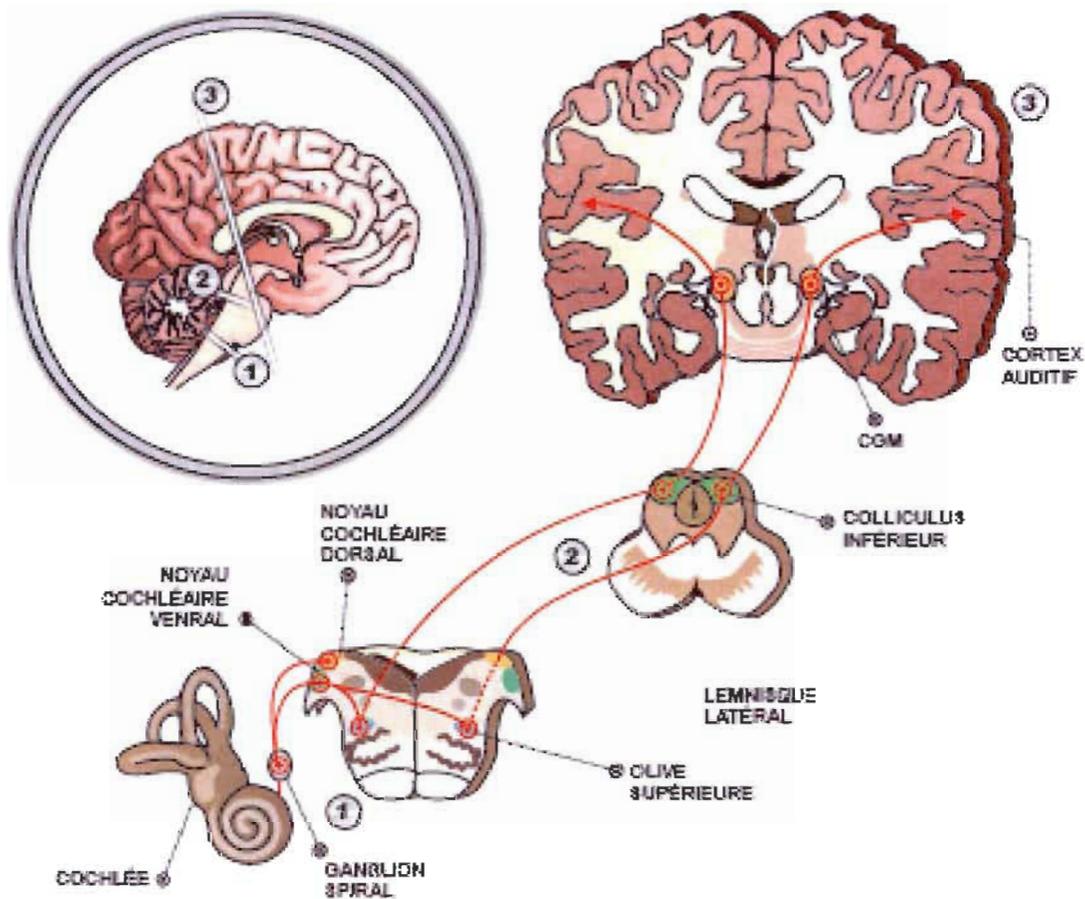
**Figure 3 Rétinotopie corticale droite chez l'humain.** Le cortex visuel primaire occupe une partie du lobe occipital. L'aire de la vision centrale (la fovea) est représentée au pôle occipital (zone foncée), de part et d'autre de la scissure calcarine. L'aire de la vision périphérique (zone pâle) est représentée plus antérieure, le long de la scissure calcarine. Le champ visuel supérieur est représenté en dessous de la scissure calcarine et le champ visuel inférieur au dessus.

#### *Le système auditif*

L'organe de Corti, situé sur tout le long de la membrane basilaire dans la cochlée, est en périphérie du système auditif, schématisé à la figure 4. Cet organe est constitué de cellules ciliées internes et externes qui sont responsables des phénomènes de transduction auditive. Les premiers neurones des voies auditives ont leur corps cellulaire dans le ganglion spinal de la cochlée. Les axones se regroupent pour former la partie auditive du nerf vestibulo-cochléaire et gagnent le noyau cochléaire. De ce noyau cochléaire, d'autres fibres nerveuses rejoignent le complexe de l'olive supérieure ipsilatérale (20%) ou l'olive

supérieure controlatérale (80%) en empruntant le corps trapézoïde comme décussation. Ainsi, chaque complexe olivaire supérieur reçoit des afférences auditives provenant des deux oreilles. De cette station, la majorité des neurones projettent directement vers le collicule inférieur en empruntant le lemnisque latéral, quelques-uns vont faire d'abord synapse dans les noyaux du lemnisque latéral. Une commissure est présente entre les deux collicules inférieurs. Les projections, qui sont majoritairement ipsilatérales, quittent le collicule inférieur par le brachium du collicule inférieur. Autant chez l'humain que chez les rongeurs, en amont du collicule inférieur, les projections se subdivisent en projections centrale et paracentrales. À partir du noyau central du collicule inférieur, les fibres nerveuses de la projection centrale projettent bilatéralement au niveau thalamique dans le noyau ventral du corps genouillé médian dont les neurones projettent, à leur tour, via les radiations acoustiques, vers le cortex auditif primaire, aussi nommé l'aire 41 de Brodman ou gyri tranverses de Heschl chez l'humain, sur le gyrus temporal supérieur. Les projections paracentrales quittent le noyau externe et le cortex dorsal du collicule inférieur pour aller rejoindre respectivement le noyau dorsal et le noyau médial du corps genouillé médian. Ces deux noyaux thalamiques projettent majoritairement vers la partie paracentrale du cortex auditif, aussi nommé aire 42 de Brodman.

La partie paracentrale du cortex auditif projette elle vers une troisième ceinture nommé l'aire paracentrale latérale qui correspond au planum temporal ou l'aire 22 de Brodman. De là, des projections vont vers le gyrus supramarginal et angulaire ainsi que vers le gyrus frontal inférieur qui sont des aires associatives. Chez le rongeur, le cortex auditif se subdivise en cortex primaire et plusieurs autres cortex secondaires. L'information est ensuite acheminée vers le cortex temporal associatif.



**Figure 4 Voie auditive chez l'humain.** Représentation du système auditif aux différents niveaux de l'encéphale. L'abréviation CGM réfère au corps géniculé médian.

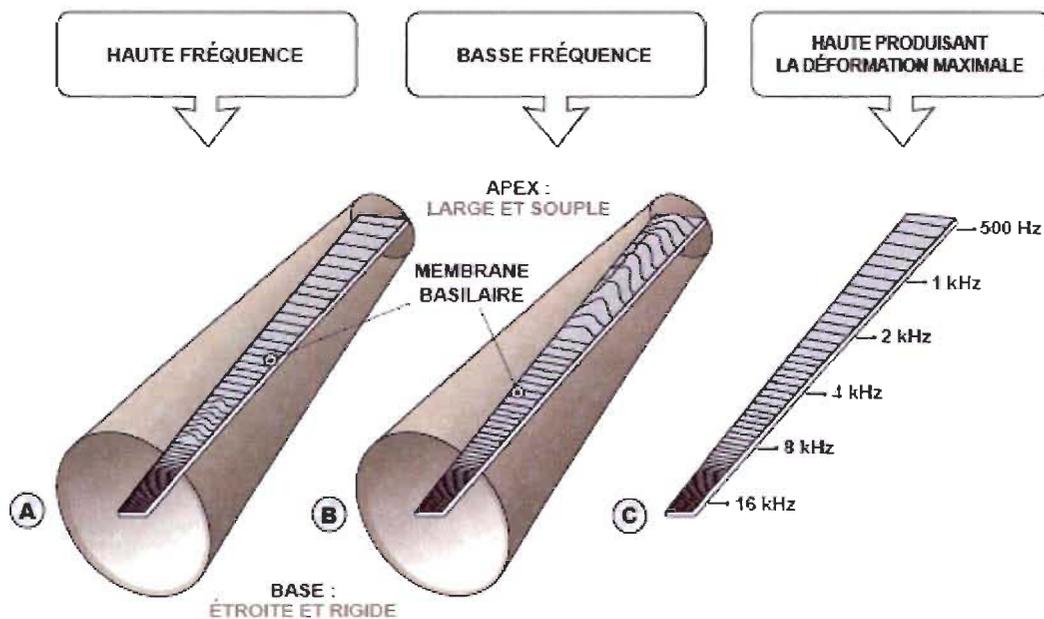
Comme pour le système visuel, l'aire auditive primaire projette vers l'aire auditive secondaire mais aussi vers tous les noyaux auditifs sous-corticaux.

Un son pur peut être audible pour l'humain si sa fréquence est comprise entre 20 Hz et 20 kHz. Notez que les vibrations de la parole, un son complexe, ont des fréquences de 100 Hz à 10 kHz (Bagot, 1999). La plupart des mammifères sont sensibles à une gamme de fréquences comparable (Bagot, 1999) mais certaines espèces se spécialisent dans les hautes fréquences comme le chien, le chat, la chauve-souris, le dauphin. Les

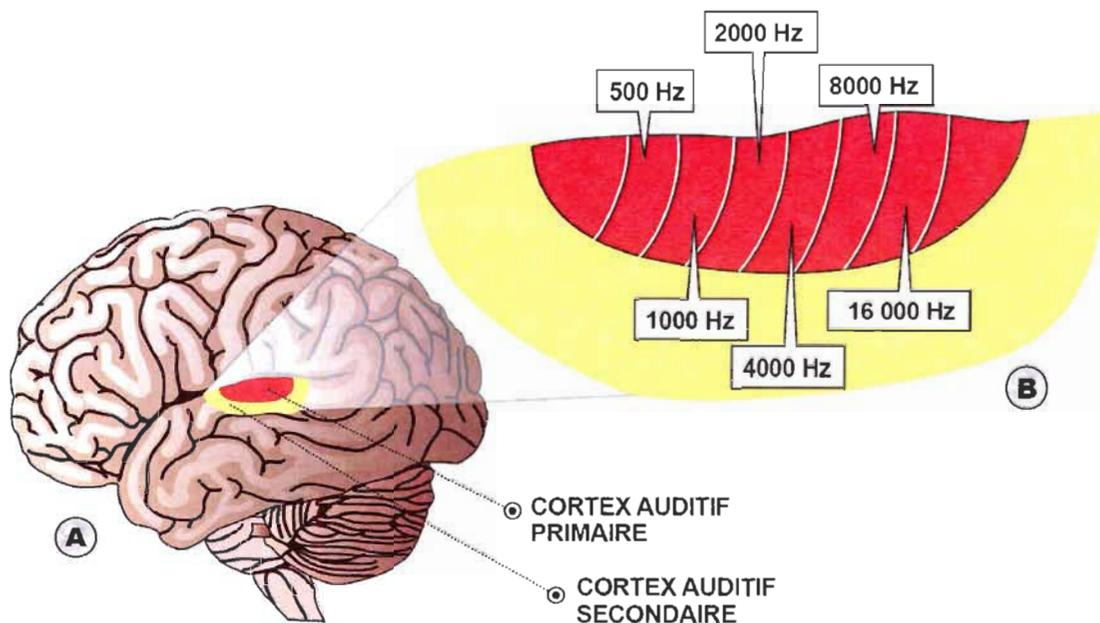
fréquences audibles chez la souris sont de 4 à 64 kHz (Ehret, 1975; Prosen, Dore, & May, 2003).

### *Tonotopie*

Dans le système auditif, il y a une correspondance précise entre la fréquence sonore et le lieu d'activation de la membrane basilaire. Les fréquences sonores élevées activent la base de la membrane basilaire, les fréquences basses activent son apex alors que les fréquences médianes activent le milieu de la membrane basilaire (figure 5). L'organisation en fréquence caractéristique depuis la périphérie jusqu'au cortex est ce que l'on appelle la tonotopie (figure 6).



**Figure 5 Tonotopie de la membrane basilaire chez l'humain.** La cochlée est représentée déroulée. a) Les sons de haute fréquence produisent une onde qui se propage sur la base de la membrane basilaire seulement. b) Les sons de basse fréquence produisent une onde qui se propage sur la membrane basilaire au niveau de l'apex seulement. c) Chaque endroit de la membrane répond à une fréquence préférentielle.

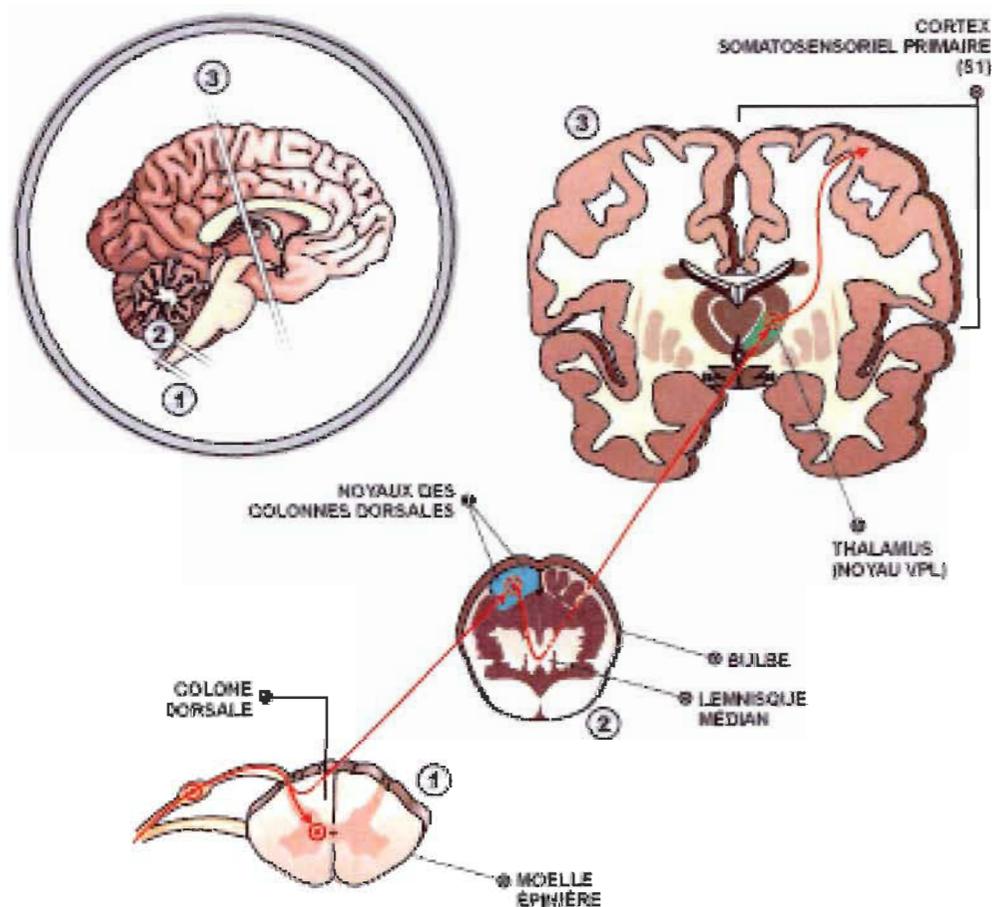


**Figure 6 Tonotopie corticale humaine.** a) Représentation de l'hémisphère gauche chez l'humain avec la scissure latérale où est enfouie une partie du cortex auditif. Le cortex auditif primaire est en rose et la ceinture d'aires auditives qui l'entourent est en jaune. b) L'apex de la cochlée est représenté sur la portion antérieure du cortex auditif primaire alors que la base de la cochlée est postérieure.

### *Le système somatosensoriel*

Parce qu'il est très peu abordé dans cette étude, le système somatosensoriel n'est présenté que succinctement, schématisé à la figure 7. L'organe de la somesthésie, le sens du toucher, est la peau qui contient les mécanorécepteurs. L'information en provenance des mécanorécepteurs est véhiculée par les fibres afférentes de la sensibilité dont leurs corps cellulaires se trouvent dans les ganglions sensoriels. Après les ganglions de la racine dorsale ou le ganglion trigéminal, les fibres se ramifient pour former le faisceau gracile, le faisceau cunéiforme et le faisceau trigéminal pour ensuite aller faire synapse dans les noyaux du même nom situés dans le myélocéphale. Des axones quittent ensuite les noyaux gracile et cunéiforme, par un faisceau de fibres appelé le lemnisque médian, et

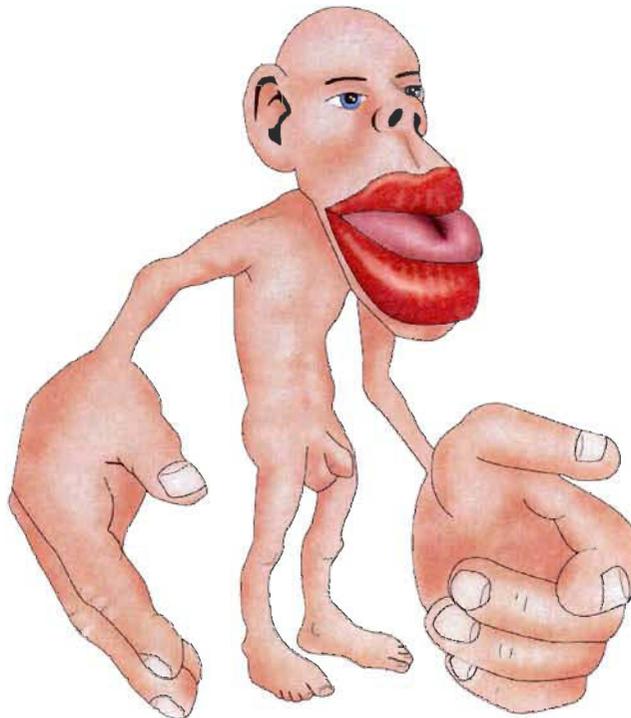
les axones quittent le noyau trigéminal par le lemnisque trigéminal. Les fibres cheminent d'abord dans la partie antérieure du tronc puis ensuite croisent la ligne médiane avant d'atteindre le noyau thalamique ventral postérieur du thalamus, la partie latérale pour les noyaux graciles et cunéiforme et la partie médiale pour le noyau trigéminal. À partir du thalamus, les axones traversent la capsule interne et rejoignent l'aire somesthésique primaire du cortex cérébral. L'aire somesthésique primaire projette vers l'aire somesthésique secondaire mais aussi, comme pour les systèmes visuel et auditif, vers tous les noyaux somesthésiques sous-corticaux.



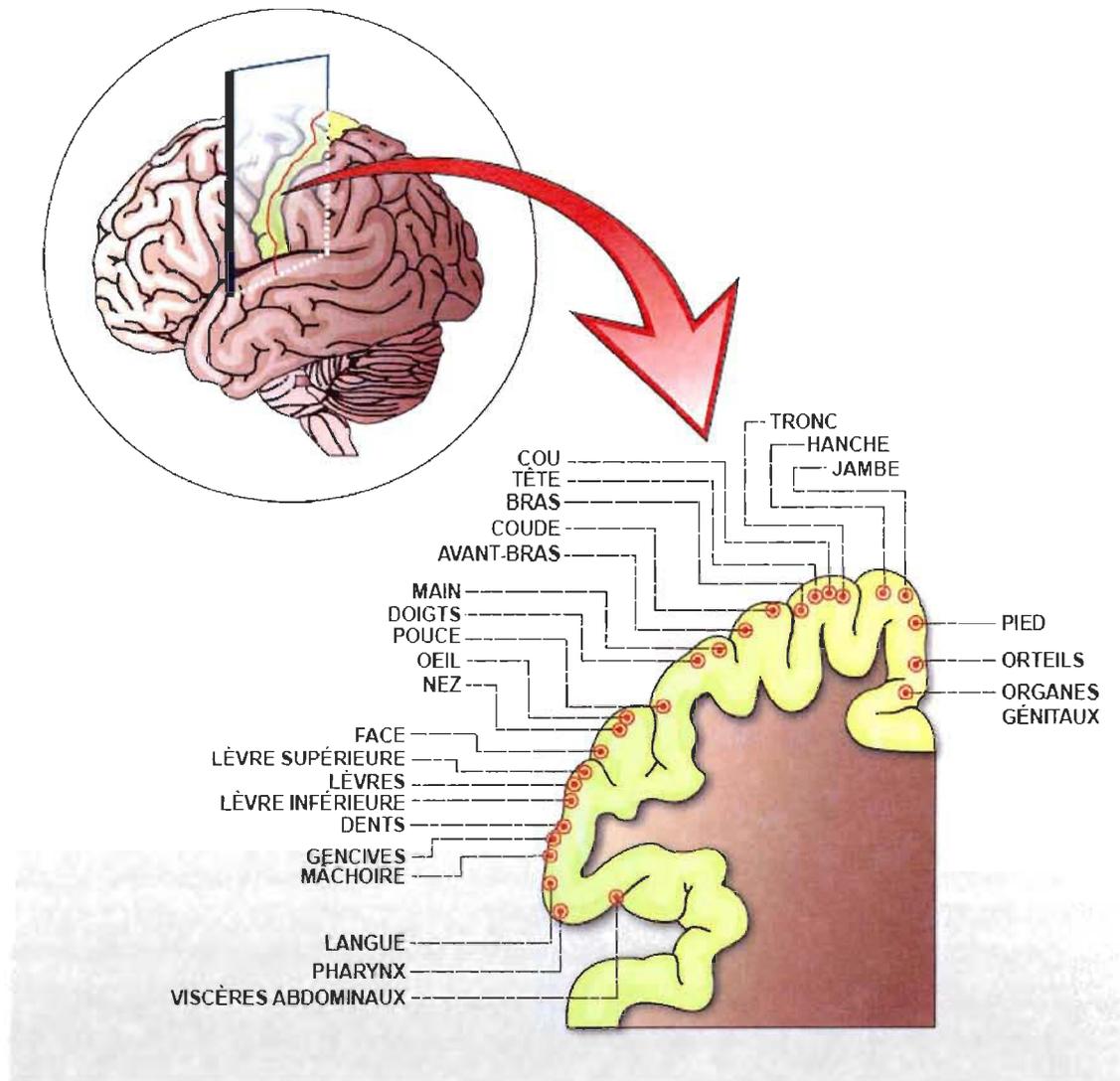
**Figure 7 Voie somesthésique chez l'humain.** Représentation de la voie épicrotique aux différents niveaux de l'encéphale. VPL= ventro-postérieur latéral.

### *Somatotopie*

Les champs récepteurs des neurones de S1 sont ordonnés de telle sorte qu'il existe une représentation des différentes parties du corps au niveau du cortex sensoriel primaire. Cette organisation conduit à reconnaître pour chaque point du cortex une partie correspondante du corps. C'est ce que l'on appelle la somatotopie. La représentation corticale relative de chacune des parties du corps est corrélée avec la densité des récepteurs en périphérie qui est illustrée avec l'homonculus sensoriel (figure 8). Ainsi, chez l'humain, les mains, les lèvres et la langue occupent une surface relativement importante du cortex sensoriel en comparaison à celle des jambes, de la partie supérieur du bras et du dos (figure 9).

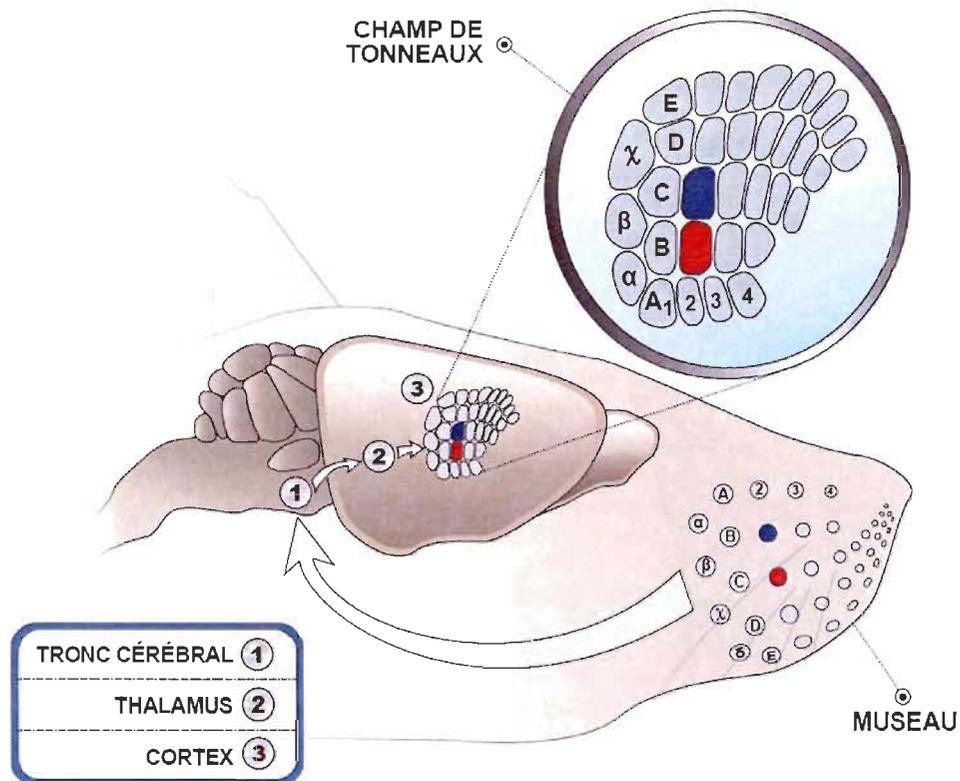


**Figure 8 Homonculus sensoriel.** La carte somatotopique ne reproduit pas à l'échelle les différentes parties du corps ce qui en fait une caricature. La représentation du corps est fonction de la densité des récepteurs sensoriels.



**Figure 9 Somatotopie humaine.** Coupe frontale schématisée au niveau du cortex somatosensoriel. Chacune des régions des aires somatosensorielles reçoit des informations des différentes parties du corps correspondantes, illustrées sur le schéma, qui les activent préférentiellement.

Chez les rongeurs, les vibrisses, qu'ils utilisent pour explorer leur environnement, sont très fortement représentées au niveau de S1. De fait, chacune des vibrisses active des neurones localisés dans une région particulière de S1, identifiée comme une partie cylindrique ressemblant à un tonneau (figure 10). La taille relative du champ de tonneaux sur le cortex démontre bien son importance chez les rongeurs.



**Figure 10 Champ de tonneaux chez les rongeurs.** La position des vibrisses au niveau du museau du rongeur est facilement comparable à la position corticale relative de l'ensemble du champ de tonneau, disposé lui aussi en cinq rangées dont chacun des tonneaux représente une vibrisse spécifique.

### *Période critique et réorganisation sensorielle*

Ce sont des processus cellulaires et moléculaires (molécules chimio-attractives vs chimio-répressives) qui guident les neurones en croissance pour trouver leur cible afin d'établir les contacts synaptiques et qui assurent la dépendance des neurones envers leur cible après que les contacts synaptiques aient été établis (facteurs neurotrophiques) (Cheng, Nakamoto, Bergemann, & Flanagan, 1995; Hamburger, 1958; Hamburger, 1977; Hollyday & Hamburger, 1976; Sretavan, Pure, Siegel, & Reichardt, 1995; Walter, Henke-Fahle, & Bonhoeffer, 1987; Walter, Kern-Veits, Huf, Stolze, & Bonhoeffer,

1987). Ces étapes de développement sont dites indépendantes de l'activité (Goodman & Shatz, 1993; Goodman, 1996; Tessier-Lavigne & Goodman, 1996). Une fois que la connectivité est mise en place dans ses grandes lignes, les influences environnementales ou l'expérience de l'individu peuvent modifier le câblage du cerveau en développement via l'activité nerveuse, ce qui a été démontré, entre autre, dans le système visuel animal (Fregnac, Shulz, Thorpe, & Bienenstock, 1988; Frenkel et al., 2006; Hubel & Wiesel, 1970; Hubel, Wiesel, & Levay, 1977; Kirkwood & Bear, 1994). On se réfère alors de processus dépendant de l'activité (Goodman & Shatz, 1993; Katz & Shatz, 1996). Les facteurs épigénétiques, tel que l'environnement, sont des facteurs qui interagissent avec le génome pour changer son expression. Par exemple, une étude de Waterland, Travisano, & Tahiliani en 2007 a démontré qu'un changement de régime alimentaire chez des souris affecte leur progéniture. La progéniture peut avoir un pelage brun, jaune ou tacheté en fonction de la manière dont le gène agouti est méthylé au cours du développement embryonnaire. Les femelles en gestation ayant reçu une alimentation avec un complément riche en méthyle (acide folique) ont eu une progéniture avec un pelage brun. Les femelles contrôles n'ayant pas reçu le complément d'acide folique ont eu des petits avec un pelage jaune. La structure du cerveau est quant à elle largement définie par des facteurs génétiques. Cette structure est aussi modulée par des facteurs épigénétiques. Cette modulation est importante pour l'adaptation de l'individu face à son environnement. Chaque individu a un environnement différent et c'est ce qui confère le caractère unique de chaque cerveau (Hensch, 2004).

L'influence de l'activité ou de l'environnement n'est possible que pendant une fenêtre temporelle précise, c'est la période critique. La durée de cette période critique

varie selon qu'elle est associée à une fonction ou à un comportement - plus la fonction est complexe, plus la durée de la période critique sera longue - ou à une espèce (Hensch, 2004). Ces périodes critiques, bien que variables, se définissent par des propriétés communes : i) une période critique exige d'un système, d'une fonction ou d'un comportement qu'il soit sensible aux influences environnementales pour son développement normal, ii) quand cette période est terminée, le système, la fonction ou le comportement n'est plus affecté par l'environnement et iii) réciproquement, le défaut d'exposition aux stimuli appropriés pendant la période critique rend difficile voire impossible un rattrapage de développement (Purves et al., 2001).

Un exemple classique qui illustre la période critique est celui de l'apprentissage du langage. Pour qu'un enfant apprenne un langage articulé, il doit y être exposé avant l'adolescence (Lenneberg, 1967). Les habiletés d'apprentissage d'une langue – ségrégation des mots, syntaxe, lexique...- sont considérées optimales vers l'âge de deux ou trois ans et passé cette période critique d'apprentissage, l'acquisition et la maîtrise de la langue maternelle est compromise (Serbetcioglu, 2001). Ces habiletés d'apprentissage sont basées d'abord et avant tout sur le babillage qui débute vers 6 mois et ce, indépendamment de la modalité utilisée : vocale ou gestuelle (Petitto & Marentette, 1991). Ces résultats démontrent qu'il est important pour un enfant sourd d'être exposé à une forme de langage symbolique durant la première année, comme le langage des signes, pour ne pas qu'un déficit de babillage s'installe. Il y a donc un modelage, une organisation du comportement verbal par l'expérience (Kuhl, 1994; Kuhl, Williams, Lacerda, Stevens, & Lindblom, 1992; Saffran, Senghas, & Trueswell, 2001; Werker & Tees, 2005). L'apprentissage du langage humain chez l'enfant est amélioré, en qualité et

en quantité lorsqu'il est en présence d'un tuteur social (Goldstein, King, & West, 2003) et, de même, l'apprentissage de la communication est aussi facilité chez les oiseaux lorsqu'il y a présence d'un tuteur social (Mooney, 1999).

Des études fonctionnelles avancent que lorsque les enfants cristallisent les phonèmes de leur langue maternelle, ils ne détectent plus les nuances de phonèmes dans une langue étrangère (Kuhl, 2004; Kuhl et al., 1992; Rivera-Gaxiola, Silva-Pereyra, & Kuhl, 2005). Doupe et al. (1999) suggèrent que les mécanismes neuronaux qui soutiennent l'apprentissage de la communication pourraient être similaires chez les humains et les oiseaux. Que se passe-t-il au niveau structurel quand il y a cristallisation des sons utilisés par les membres d'une espèce pour communiquer entre eux ? Wallhäusser et al. en 1987 ont pu montrer que dans l'ectostriatum des oisillons naissant les cellules ont beaucoup de boutons synaptiques. Dès que l'oisillon est en présence d'un signal acoustique qu'il associera à sa mère, ces mêmes cellules perdent la plupart de leurs boutons. Elle explique ce phénomène par un potentiel très large qu'ont les cellules à la naissance de fixer une forme maternelle et que dès que ce choix est fait, les possibilités de choisir diminuent drastiquement. C'est le phénomène connu sous le terme d'*imprinting*.

Les changements structuraux ne se limitent pas au processus d'apprentissage du langage. Une sur-utilisation d'un sens entraîne aussi des changements structuraux. Il a été observé chez les musiciens i) un plus grand planum temporal chez ceux qui ont l'oreille absolue (Schlaug, Jäncke, Huang, Staiger, & Steinmetz, 1995), ii) une augmentation de la représentation corticale des tons du piano chez les pianistes (Pantev et al., 1998) et iii) un agrandissement de la représentation corticale des doigts de la main gauche (sauf le pouce)

chez les joueurs d'instrument à cordes (Elbert, Pantev, Wienbruch, Rockstroh, & Taub, 1995). L'âge de début de l'apprentissage est important pour l'apparition de ces changements (Hensch, 2004).

Les recherches de Hubel et Wiesel (Hubel & Wiesel, 1962; Hubel & Wiesel, 1963; Hubel & Wiesel, 1965; Hubel & Wiesel, 1970; Wiesel & Hubel, 1963) sur le développement du système visuel chez le chat ont permis de comprendre les mécanismes neuronaux qui sous-tendent les périodes critiques et de démontrer l'importance de l'activité neuronale ou de l'expérience dans le développement de ce système sensoriel. Hubel et Wiesel en 1962 établissent, avec l'électrophysiologie, ce que sont les colonnes de dominance oculaire dans le cortex visuel primaire du chat adulte. Ils montrent que la majorité des neurones du cortex visuel primaire répondent à une stimulation binoculaire alors qu'un quart des neurones répondaient préférentiellement soit à une stimulation visuelle ipsilatérale soit à une stimulation visuelle controlatérale et que cette distribution de neurones qui forment les colonnes de dominance oculaire est gaussienne. Les auteurs, en 1963, démontrent que le débalancement dans l'expérience visuelle altère ces colonnes de dominance oculaire. En effet, les résultats d'électrophysiologie démontrent que chez un chaton qui a eu un œil suturé dès sa naissance et ce jusqu'à 2 mois et demi, aucun neurone ne peut être activé par l'œil qui a été occlus, la distribution des colonnes de dominance oculaire s'est décalée car tous les neurones étaient activés par les stimulations visuelle provenant de l'œil resté ouvert. Les enregistrements du corps géniculé latéral et de la rétine de l'œil occlus sont normaux, la réorganisation n'est que corticale. Même si l'œil privé de vision reste ouvert pendant des années, il n'y a pas de récupération. La formation des colonnes de dominance oculaire est dépendante de l'activité (Goodman &

Shatz, 1993; Hubel & Wiesel, 1965; Hubel & Wiesel, 1970; Swindale, 1988). Par contre, une privation monoculaire beaucoup plus longue chez le chat adulte, c'est-à-dire de 12 à 38 mois, n'a que peu d'effet sur la réorganisation des colonnes de dominance oculaire bien que l'activité neuronale soit globalement diminuée (Hubel & Wiesel, 1970). L'occlusion d'un œil chez le chat, aussi brève que six jours, n'a des effets sur les colonnes de dominance oculaire que si elle est faite dans les trois premiers mois de vie du chaton (Hubel & Wiesel, 1970). Ces résultats suggèrent donc que la période critique pour la mise en place des colonnes de dominance oculaire chez le chat se termine à trois mois. Des expériences similaires ont été faites chez le singe et elles démontrent que la période critique pour la mise en place des colonnes de dominance oculaire s'étend jusqu'à six mois (Levay, Wiesel, & Hubel, 1980) et que l'effet de la privation visuelle est optimal dans les premières semaines de vie (Horton & Hocking, 1997; Horton & Hocking, 1998). Durant la période critique, l'arborisation des terminaisons nerveuses des fibres du corps géniculé latéral associée à l'œil occlus diminue en taille et en complexité et ce, en moins d'une semaine, en réponse à la privation visuelle (Antonini & Stryker, 1993). Il est aussi possible de retarder le début de la période critique en plaçant en tout temps et dès la naissance l'animal dans l'obscurité (Cynader & Mitchell, 1980; Iwai, Fagiolini, Obata, & Hensch, 2003; Katagiri, Fagiolini, & Hensch, 2007; Mower, Berry, Burchfiel, & Duffy, 1981; Mower, Caplan, Christen, & Duffy, 1985; Timney, Mitchell, & Giffin, 1978). La fin de la période critique de la mise en place des colonnes de dominance oculaire se définit par l'atteinte de l'équilibre entre l'excitation et l'inhibition qui conduit en une consolidation structurale (Hensch, 2004), qui se reflète par un déclin de la motilité des épines dendritiques (Grutzendler, Kasthuri, & Gan, 2002). L'atteinte de la maturité des

circuits GABAergiques, qui est tardive, joue un rôle aussi dans la fermeture de la période critique (Gao, Wormington, Newman, & Pallas, 2000).

La localisation sonore est aussi soumise à une période critique. Les expériences faites sur le hibou démontrent que les cartes auditive et visuelle doivent être bien alignées dans le tectum pour permettre une localisation sonore adéquate. La formation des cartes sensorielles est dépendante de l'activité et a lieu dans les premières huit semaines de vie. Si un prisme déformant le champ visuel est installé au hibou durant ces huit premières semaines, le hibou ajustera sa carte auditive à la visuelle pour bien localiser le son. Aux alentours du jour postnatal 200 (P200), cette capacité de réorganisation s'amenuise (Brainard & Knudsen, 1998). De manière intéressante, la fin de la période critique peut être retardée si le hibou a été élevé dans un environnement enrichi (Brainard & Knudsen, 1998). La réorganisation des cartes sensorielles se fait sur la base de nouvelles connexions : i) une élaboration axonale et la formation de nouvelles synapses associées à la nouvelle carte visuelle et ii) la formation de nouveaux circuits GABAergiques qui inhibent les cartes sensorielles non-utilisées (DeBello, Feldman, & Knudsen, 2001; Zheng & Knudsen, 1999). En effet, les cartes sensorielles ne sont pas supprimées mais coexistent dans le tectum jusqu'à l'âge adulte et il est possible de les réactiver en remplaçant le prisme associé à l'élaboration de la carte auditive (Knudsen, 1998). De plus, même si à l'âge adulte la plasticité suite à la distorsion du champ visuel est très restreinte et limitée (Knudsen, 1998), il est possible de l'induire grâce à un entraînement durant lequel la déformation du champ visuel est incrémentée de quelques degrés seulement à la fois (Linkenhoker & Knudsen, 2002).

Une période critique s'applique aussi à la formation des champs de tonneaux, dans le système somatosensoriel. La formation de champ de tonneaux est régulée, entre autre, par des mécanismes cellulaires et moléculaires (Erzurumlu & Kind, 2001). Une souris knock-out des récepteurs NMDA n'est pas viable à la naissance mais il a été observé que cette souris n'avait pas de barillet (structures comparables aux tonneaux mais dans le noyau principal du nerf trigéminal) au niveau du tronc cérébral (Iwasato et al., 1997). La délétion de la sous-unité NR1 au niveau du cortex conduit à des animaux viables et à une dégradation du champ de tonneaux localisée dans le cortex somesthésique primaire (Iwasato et al., 2000). La cytoarchitecture des champs de tonneaux est visible à P4 (Rice & Van der Loos, 1977) et la présence de vibrisses en périphérie joue un rôle dans leur élaboration (Andrés & Van der Loos, 1985; Van der Loos & Woolsey, 1973) : une lésion néonatale des vibrisses, faite avant P5, conduit à une absence de formation des tonneaux corticaux (Jeanmonod, Rice, & Van der Loos, 1977; Van der Loos & Woolsey, 1973) de même qu'à une réduction de la densité des épines dendritiques au niveau du cortex somesthésique primaire (Ryugo, Ryugo, Globus, & Killackey, 1975). S'il y a une lésion partielle du champ de tonneaux en périphérie, par exemple de la rangée C (voir la figure 10), il y a diminution de l'espace dédié à la rangée C et une expansion des tonneaux des rangées B et D (Jeanmonod, Rice, & Van der Loos, 1981). Cette réorganisation n'est possible que si les lésions sont faites avant P5. À noter qu'une interaction a été décrite entre la technique de déprivation somesthésique (épilation versus cautérisation) et l'environnement (standard ou enrichi) dans lequel l'animal est élevé : si l'animal élevé dans un milieu enrichi a les vibrisses cautérisées il aura une

meilleure orientation spatiale qu'un animal cautérisé élevé en milieu appauvri (Symons & Tees, 1990).

Auparavant, le cerveau adulte était considéré comme figé, peu plastique, mais il semble qu'il soit capable de se réorganiser afin de s'adapter, lui aussi, à des modifications de sa périphérie sensorielle (Diamond, 2001; Kujala et al., 1997). Des phénomènes de compensation chez des animaux adultes suite à des lésions rétiniennes (Chino, 1995; Chino, Kaas, Smith, Langston, & Cheng, 1992; Chino, Smith, III, Kaas, Sasaki, & Cheng, 1995; Kaas et al., 1990) ou suite à la destruction partielle de la cochlée (Rajan, Irvine, Wise, & Heil, 1993; Robertson & Irvine, 1989) ont été observés. Mais, c'est dans le système somesthésique que les adaptations sensorielles adultes sont les plus importantes. Chez le singe *Aotus trivirgatus*, un entraînement répétitif à utiliser fréquemment les mêmes doigts étalé sur plusieurs mois conduit à une expansion de la représentation corticale des doigts les plus sollicités (Jenkins, Merzenich, Ochs, Allard, & Guic-Robles, 1990). D'autre part, chez un singe *Aotus trivirgatus* adulte à qui on a amputé un doigt, il y aura une phase de silence de la part de neurones innervant ce doigt amputé, mais deux mois après l'amputation, ces mêmes neurones peuvent être activés par les doigts adjacents (Merzenich et al., 1984). De telles réorganisations sensorielles sont aussi possibles chez l'humain. Lors du développement normal de la main, les doigts sont d'abord fusionnés et une mort cellulaire programmée s'occupe de séparer les doigts. Dans le cas de la syndactylie, cette mort cellulaire est insuffisante, ce qui conduit à une fusion des doigts. Dans sa forme légère, elle se manifeste par des doigts palmés alors que dans sa forme grave, les éléments osseux peuvent être fusionnés (Larsen, 2003). Mogilner et al. en 1993 décrivent la représentation des doigts au niveau du cortex

somesthésique chez des personnes atteintes de syndactylie, avant et après une chirurgie réparatrice ayant lieu à l'âge adulte. La carte corticale de la main avant la chirurgie présentait un chevauchement au niveau des moignons ce qui reflète la fusion des doigts en périphérie. Moins d'une semaine après la chirurgie séparatrice des doigts, la carte corticale représentant les doigts, dorénavant rendus fonctionnels, s'est réorganisée pour aboutir à des territoires précis représentant chacun des doigts.

Tous les exemples exposés jusqu'à maintenant décrivent la réorganisation sensorielle intramodale lorsqu'un sens est partiellement lésé. Lorsqu'un sens manque en totalité, comme lors de la cécité, une réorganisation sensorielle est aussi possible et des modèles animaux sont disponibles pour étudier les mécanismes de cette réorganisation transmodale. Au niveau des réorganisations transmodales anatomiques, l'énucléation néonatale chez la souris conduit à une augmentation du nombre de neurones et de la densité synaptique dans le cortex auditif (Heumann & Rabinowicz, 1982; Ryugo et al., 1975), de même qu'à une expansion du champ de tonneaux (Bronchti, Schönenberger, Welker, & Van der Loos, 1992; Rauschecker, Tian, Korte, & Egert, 1992). Au niveau des réorganisations sensorielles fonctionnelles, l'électrophysiologie a démontré que l'énucléation chez la souris conduit à une facilitation du traitement de l'information acoustique par l'aire visuelle primaire (Bonaventure, Wioland, & Karli, 1985) et que cette facilitation n'est possible que si l'énucléation est effectuée avant P15 (Bonaventure et al., 1985). Aussi, chez le rat-taupe, un stimulus auditif (Bronchti et al., 2002; Heil, Bronchti, Wollberg, & Scheich, 1991) et somesthésique (Bronchti et al., 2002; Necker, Rehkämper, & Nevo, 1992) active le cortex occipital. L'activation auditive du cortex occipital du hamster énucléé (Izraeli et al., 2002), de la souris anophtalme (Bonaventure

& Karli, 1968; Piché, Robert, Miceli, & Bronchti, 2004), et de l'opossum énucléé (Kahn & Krubitzer, 2002; Karlen, Kahn, & Krubitzer, 2006) a aussi été observée. Des stimuli somatosensoriels activent aussi le cortex occipital le rat énucléé à la naissance (Toldi, Rojik, & Fehér, 1994) et l'aire ectosylvienne antérieure chez le chat aveugle (Rauschecker & Korte, 1993). Des stimulations auditives activent aussi l'aire ectosylvienne antérieure chez le chat énucléé à la naissance (Yaka, Yinon, Rosner, & Wollberg, 2000). Chez le rat-taupe, l'activation de l'aire visuelle primaire semble être d'origine sous-corticale car il a été montré que le LGNd est activé par une stimulation auditive (Bronchti, Heil, Scheich, & Wollberg, 1989). C'est d'ailleurs la première fois que l'activation auditive du thalamus visuel a pu être démontrée. Ce résultat fonctionnel a été corroboré par une étude de traçage neuronale qui démontre la présence d'une connexion entre le collicule inférieur et le LGNd (Doron & Wollberg, 1994). Cette connexion IC-LGNd, aussi présente chez le hamster énucléé à la naissance (Izraeli et al., 2002) et chez la souris mutante anophtalme (Piché et al., 2004), serait impliquée dans l'activation auditive du cortex occipital. Une seule autre équipe a rapporté chez la souris mutante anophtalme ZRDCT/An une autre source d'activation auditive du cortex visuel primaire : une connexion directe et réciproque entre IC et V1 (Laemle, Strominger, & Carpenter, 2006). Alors qu'en est-il vraiment de la source sous-corticale d'activation auditive du cortex visuel primaire de la souris mutante ZRDCT/An ? Des travaux de recherche effectués dans le cadre de cette thèse vont apporter des éléments de réponses.

La période critique semble influencer grandement la réorganisation transmodale. Chez l'humain, la cécité conduit à une différence dans la réorganisation sensorielle selon qu'elle soit présente avant ou après la période critique. Il a été démontré que l'activité

métabolique du cortex visuel primaire chez les aveugles précoces est plus élevée que celle retrouvée dans le cortex visuel primaire des aveugles tardifs (Veraart et al., 1990; Wittenberg et al., 2004). C'est peut-être ce qui explique que la cécité précoce, contrairement à une cécité tardive, conduit à de meilleures performances dans la localisation sonore (Fieger et al., 2006; Voss et al., 2006; Voss et al., 2008) ou lors de la lecture du Braille (Burton et al., 2004). Aussi, la cécité précoce et la cécité tardive vont conduire à une activation des zones corticales différentes lors de tâches auditive ou somesthésique. Comme mentionné auparavant, le cortex occipital est activé lors de la lecture du Braille chez les aveugles précoces seulement (Cohen et al., 1999; Sadato et al., 2002) ou lors de stimulation du cortex somesthésique primaire (Wittenberg et al., 2004). Lors de détection de visages par le toucher, l'aire hMT/V5 et la partie du gyrus fusiforme spécialisée dans la reconnaissance des visages, ne sont activées que chez les aveugles tardifs (Goyal et al., 2006). Burton et al., en 2004, démontrent que l'activation du cortex occipital lors de la lecture du Braille est similaire chez l'aveugle précoce et l'aveugle tardif, la différence tient à une diminution de l'amplitude de l'activation avec l'augmentation de l'âge lors de l'apparition de la cécité. Une seule étude démontre une activation somesthésique des aires extrastriées chez l'aveugle précoce et une activation de l'aire striée chez l'aveugle tardif (Buchel et al., 1998). Cette activation de l'aire striée chez l'aveugle tardif pourrait être tributaire de la tâche qui sollicite l'imagerie mentale (Merabet, Amedi, & Pascual-Leone, 2006).

Donc, nous savons que le moment de l'apparition de la cécité - précoce ou tardive - et la non-utilisation ou la sur-utilisation d'un sens influence la réorganisation sensorielle. En plus, un autre facteur, l'environnement, est réputé agir sur l'organisation

sensorielle et il peut prendre différentes formes pour exercer son influence. Il peut se décrire comme étant le milieu extracellulaire qui secrète des molécules qui servent à guider la croissance axonale (Tessier-Lavigne, 1992; Tessier-Lavigne, 1994; Tessier-Lavigne & Goodman, 1996; Tessier-Lavigne & Placzek, 1991; Tessier-Lavigne, Placzek, Lumsden, Dodd, & Jessell, 1988). Il peut être un noyau (cellules cibles) qui, atteint par l'axone en croissance, secrète des facteurs neurotrophiques, ce qui permet d'adapter le nombre de neurones à la taille de la cible et de maintenir la nouvelle connexion (Hofer & Barde, 1988). L'influence de l'environnement peut aussi passer par la présence ou non d'un sens ou d'un organe, sa sous-utilisation ou sa sur-utilisation, la qualité des interactions sociales, une stimulation passive ou active ou encore à la quantité et la qualité des stimulations sensorielles offertes à un individu lors de son développement. Le terme environnement dans cette thèse fait référence aux stimulations sensorielles offertes car il a été démontré qu'un environnement enrichi a un effet sur le cortex en stimulant son développement (Diamond, 1988; Diamond, Krech, & Rosenzweig, 1964), influence le développement des systèmes sensoriels (Bartoletti, Medini, Berardi, & Maffei, 2004; Blakemore & Mitchell, 1973; Blakemore & Van Sluyters, 1975; Cancedda et al., 2004; Sale et al., 2004), affecte la grosseur et le nombre de neurones dans l'aire 17 et 18 (Beaulieu & Colonnier, 1989a) et peut repousser la fin de la période critique lors de l'établissement de la localisation sonore (Brainard & Knudsen, 1998). Certains auteurs avancent aussi que les effets de l'environnement sont variables selon la souche de l'animal (Brillaud, Morillion, & de, 2005; Tsai, Pachowsky, Stelzer, & Hackbarth, 2002). Peu d'études ont étudié l'influence de l'environnement sur la compensation sensorielle transmodale. Une étude de notre laboratoire indique que l'enrichissement de

l'environnement conduit à une augmentation de la compensation transmodale chez la souris anophtalme (Piché et al., 2004). Une autre étude, plus ancienne, considère que la cécité est un enrichissement pour l'audition car il y a une augmentation du nombre d'épines dendritiques dans le cortex auditif de la souris anophtalme (Ryugo et al., 1975).

La synthèse de la mosaïque de résultats obtenus auprès de tous ces modèles animaux n'est pas aisée : le hamster et l'opossum sont des animaux altriciaux (Clancy, Darlington, & Finlay, 2001), le rat est le seul animal non-altricial chez qui des stimuli somesthésiques ou auditif activent le cortex visuel primaire suite à une énucléation néonatale (Piché et al., 2007; Toldi, Joo, Feher, & Wolff, 1988; Toldi et al., 1994) et la souris anophtalme est un modèle de cécité équivalent à celui d'une énucléation intrautérine (Cüllen & Kaiserman-Abramof, 1976; Kaiserman-Abramof, 1983). À ce jour, aucune étude ne porte sur la réorganisation sensorielle fonctionnelle et anatomique suite à une cécité précoce ou tardive à l'intérieur d'une même espèce en plus d'y préciser l'influence de l'environnement sur la réorganisation sensorielle transmodale.

Pour répondre à ces deux aspects, nous avons utilisé deux modèles de souris aveugles : la souris mutante anophtalme ZRDCT/An qui représente un modèle de cécité précoce car elle n'a pas de formation de rétine ni de nerf optique et la souris C57BL/6 énucléée à la naissance.

### *Considérations méthodologiques*

Les procédures expérimentales décrites dans les articles scientifiques (chapitres 2, 3 et 4) expliquent la méthodologie utilisée dans le cadre de cette thèse. Dans cette section de considération méthodologique, quelques précisions supplémentaires sont décrites sur des points qui ne sont pas traités plus loin.

*L'origine des espèces : la souris mutante anophtalme ZRDCT/An et la souris C57BL/6*

Dans le but de mieux comprendre les effets de la mutation de la souris ZRDCT/An, voici tout d'abord une présentation succincte du développement embryologique normal de l'œil tiré de Larsen (2003). Lorsque les vésicules optiques sont formées, elles commencent à migrer latéralement pour que la portion la plus distale de la vésicule atteigne l'ectoderme superficiel. La vésicule optique s'invagine alors dans sa portion la plus distale pour former la cupule optique. En même temps, le tronc de cette vésicule optique se rétrécit pour former le pédicule optique. Dans le but d'irriguer le cristallin, l'artère hyaloïdienne gagne la cupule optique par un sillon longitudinal, la fente colobomique, situé sur la face ventrale du pédicule optique. Les lèvres de ce sillon se ferment emprisonnant l'artère hyaloïdienne et sa veine satellite.

La souris mutante anophtalmique ZRDCT/An est étudiée dans notre laboratoire depuis 2002. Elle a été décrite pour la première fois au début des années quarante. Chase & Chase (1941) décrivent qu'environ 90% de cette souche ne développe ni œil ni nerf optique même s'il y a présence et intégrité des paupières, des orbites, de la conjonctive palpébrale et de la glande de Harder. Un peu plus tard, en 1944, ils expliquent que cette souche ZRDCT/An est dérivée de sa souche de souris B qu'il avait reçue de C.C. Little en 1938, président de Jackson Laboratory. Le phénotype « sans yeux » (eyeless) avait d'abord été observé dans une colonie d'une autre souche de souris, la souche R, par C.C. Little. Les individus sans yeux de la souche R ont été sélectionnés pour le développement de la souche de souris B. Chase en 1941, avec sa description embryologique des ZRDCT/An, avance que les cupules optiques se forment à E10, comme les souris contrôles C57BL/6, mais qu'un défaut de fermeture de la fente colobomique à E11 est



La souris contrôle C57BL/6 est issue elle aussi du Laboratoire Jackson. Chase & Chase, en 1942, expliquent que cette souche est composée de souris de sous-lignées 6 et 10. Les phénotypes obtenus lors de croisements de ces sous-lignées avec la souris de souche B étant très similaires, il a été décidé de regrouper le tout sous l'appellation C57BL/6. En ce sens, la souris C57BL/6 partage un ancêtre commun certain avec la souris mutante anophtalme. Quelques cas de souris C57BL/6 naissent avec soit une microphthalmie ou une anophtalmie (Chase, 1942; Pierro & Spiggle, 1967; Robinson, Holmgren, & Dewey, 1993; Smith, Roderick, & Sundberg, 1994) et peut-être cet ancêtre commun en est l'explication.

#### *c-Fos*

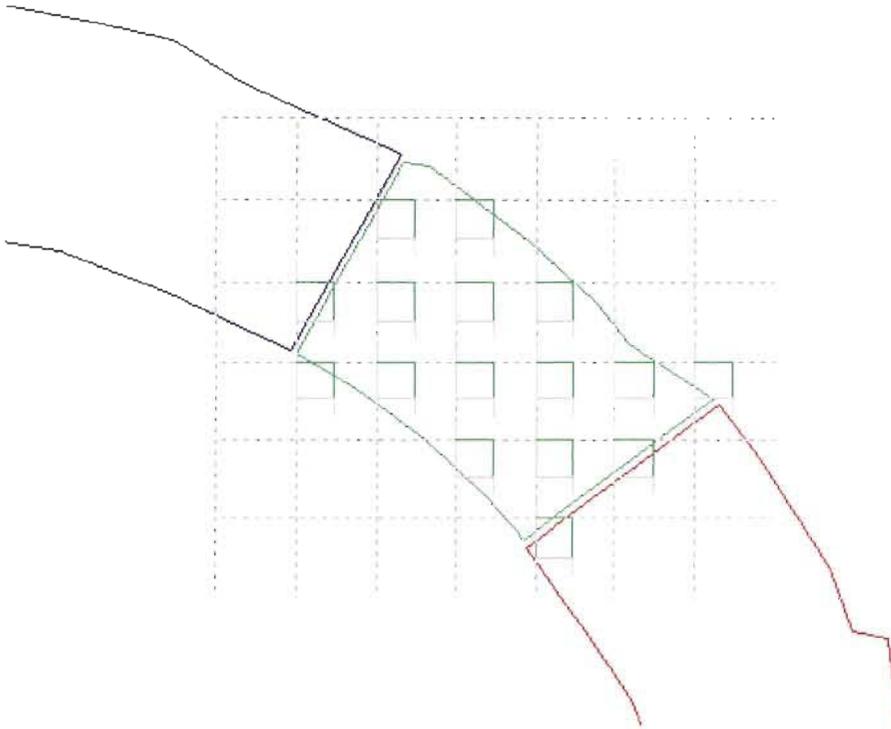
Le c-fos est un « immediate early gene » reconnu pour être un marqueur de l'activité neuronale très sensible car son expression est induite quelques minutes après le début de l'exposition au stimulus (Chao & Nestler, 2004). Il est un proto-oncogène donc impliqué dans la régulation de la prolifération cellulaire, la différenciation et la transformation cellulaire. Le c-fos est aussi impliqué dans la régulation d'autres gènes eux-mêmes reliés à la plasticité à long terme du système nerveux (Kaczmarek & Chaudhuri, 1997; Kovacs, 1998). Les protéines c-Fos, FosB, FRA-1, Fra-2 et DeltafosB font partie de la famille Fos. C'est à partir des neurones en culture que la cascade d'évènement aboutissant à la synthèse de la protéine c-Fos a été élucidée. Les récepteurs NMDA, activés par le glutamate et par l'ouverture des canaux calciques voltage-dépendants conduisent à l'activation du proto-oncogène c-fos. Le c-fos est alors transcrit et l'ARNm traduit en protéine c-Fos. La protéine c-Fos migre alors vers le noyau et

forme le complexe AP-1 qui agit comme un facteur de transcription. Le marquage immunohistochimique de la protéine c-Fos a donc une résolution nucléaire, ce qui est un avantage par rapport à un autre marqueur de l'activité neuronale, le 2-déoxyglucose, qui lui n'a pas une résolution cellulaire. Aussi, le niveau d'activité constitutive de la protéine c-Fos est très bas (Herdegen & Leah, 1998) comparativement à d'autres marqueurs d'activation neuronale comme la protéine zif268 (Worley et al., 1991). La protéine c-Fos a aussi l'avantage d'avoir une induction rapide et passagère en comparaison aux autres membres de sa famille (Chao & Nestler, 2004), ce qui en fait une excellente candidate pour une cartographie fonctionnelle.

### *Stéréologie*

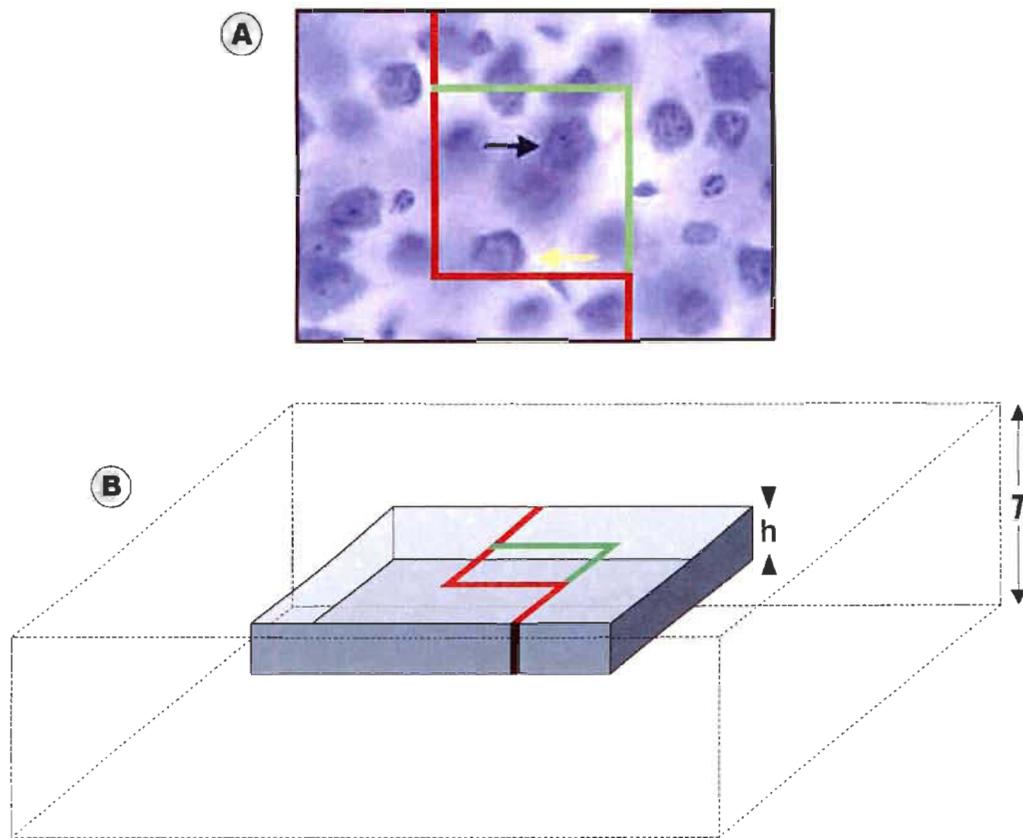
La stéréologie permet de construire une représentation 3-D à partir de coupes histologiques dans le but d'en extraire des données quantitatives précises issues de l'analyse de la forme, de la taille et du nombre d'objets dans un volume défini. La stéréologie est la seule méthode acceptée par la communauté scientifique pour déterminer avec précision et de manière non biaisée, le nombre de cellules présentes à l'intérieur d'une structure cérébrale. La quantification stéréologique dans les études de cette thèse ont été faite à l'aide du logiciel Stereo Investigator. L'outil de base est la sonde, un environnement graphique, qui a pour but de délimiter aléatoirement les sites d'échantillonnage dans la structure cérébrale d'intérêt. La sonde sélectionnée est de type dissecteur optique. Le principe fondamental de la stéréologie est que chaque cellule a la chance de faire partie de l'échantillon et qu'aucune d'entre elles ne puisse être comptabilisée plus d'une fois (Mouton, 2002).

Sur la délimitation de la structure d'intérêt, le logiciel applique aléatoirement une grille d'échantillonnage et dans chaque carré de cette grille se trouve une fenêtre de comptage, toujours placée au même endroit (figure 12).



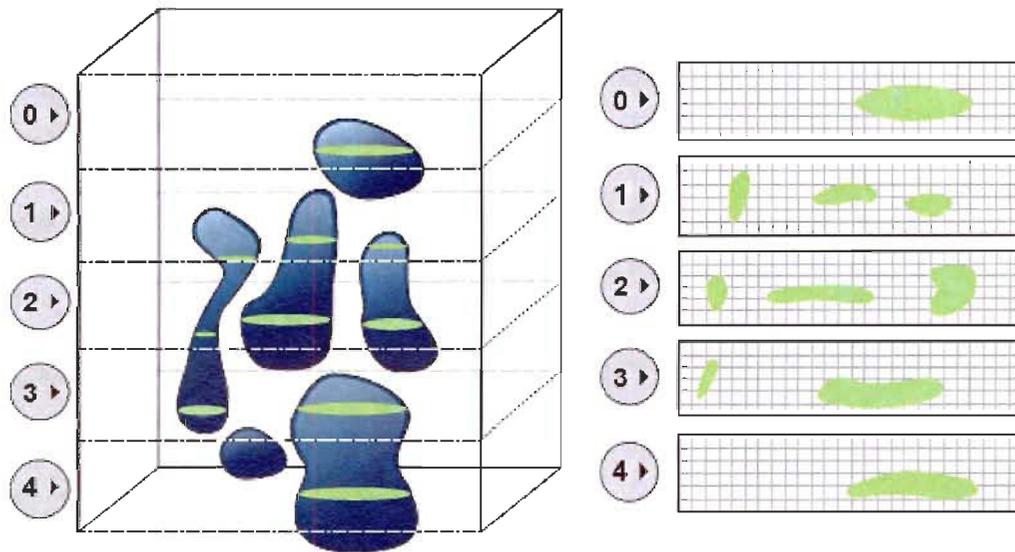
**Figure 12 L'échantillonnage aléatoire systématique.** La grille, en gris, est appliquée sur la surface à échantillonner (contour en vert). Chacun des coins supérieurs gauches touchant à la surface verte contient une fenêtre de comptage.

C'est ce que l'on appelle l'échantillonnage aléatoire systématique. C'est dans ces fenêtres de comptage, et uniquement dans celles-ci, qu'aura lieu le décompte cellulaire. Ces fenêtres de comptage sont en fait un dissecteur optique ; un cube dont deux faces sont dites d'inclusion (axe des X), deux faces sont dites d'exclusion (axe des Y) et deux autres face sont dites de protection (axe des Z). Lorsqu'une cellule touche ou fait partie de la zone d'inclusion, elle est comptabilisée. Si par contre, une cellule touchant la zone d'exclusion et est située dans la zone de protection, elle ne sera pas comptabilisée (figure 13).



**Figure 13 Dissecteur optique.** Sur la figure A, les lignes rouges représentent les faces d'exclusion du dissecteur optique tandis que les vertes sont celles d'inclusion. La cellule pointée à l'aide de la flèche noire est comptabilisée, par contre, la cellule pointée avec la flèche jaune ne l'est pas. La figure B représente la zone de protection dont l'épaisseur se calcule par  $T-h$ .

L'épaisseur de la coupe en plus de la taille et la forme irrégulière des cellules peuvent conduire à une surestimation de leur nombre car elles peuvent se retrouver sur plusieurs coupes (figure 14). Cette façon de procéder permet donc d'estimer, de façon non biaisée, une seule fois les cellules.



**Figure 14 Surestimation du nombre de cellules lors de l'échantillonnage.** Alors que dans un bloc de tissu contenant six cellules, dix cellules sont comptabilisées sur cinq coupes sériées.

En connaissant l'épaisseur, le nombre et la distance entre les coupes, le logiciel fournit une estimation du nombre de cellules contenues dans la structure d'intérêt. Pour déterminer la justesse de l'estimation, des coefficients d'erreur sont calculés (Gundersen, Jensen, Kieu, & Nielsen, 1999). Celui utilisé dans le cadre de cette thèse est le coefficient d'erreur de Gundersen. Ce coefficient d'erreur est calculé à partir de deux types de variances, la variance intra-sections et la variance inter-sections. La variance intra-section représente la variation de la distribution des cellules à l'intérieur d'une même coupe. Comme ce ne sont pas tous les neurones qui sont marqués positivement à la protéine c-Fos ou qu'il n'y a pas le même nombre de neurones dans les couches corticales, il faut donc que chacun d'eux puisse faire partie de l'échantillonnage, de là l'importance de l'échantillonnage aléatoire systématique. Si la distribution à l'intérieur d'une section est

trop hétérogène, il faut donc préférer une grille d'échantillonnage qui favorise un plus grand nombre de fenêtre de comptage. La taille de la fenêtre de comptage influence aussi la valeur de la variance. Le nombre de cellules dans la fenêtre de comptage doit être le plus constant possible. Donc, si les cellules sont peu densément distribuées la fenêtre de comptage devra être plus grande et inversement si les cellules sont densément distribuées. La variance inter-section reflète la distribution des cellules d'une coupe à l'autre. Si dans une coupe il y a beaucoup de cellules et peu sont retrouvées dans la coupe suivante analysée, le coefficient d'erreur en sera augmenté. Pour diminuer cette variance inter-sections, il est possible d'augmenter le nombre de sections analysées.

#### *Articles constituant la thèse*

L'objectif général de cette thèse est d'étudier chez la même espèce animale l'effet de la cécité, précoce et tardive, et de l'environnement sur la réorganisation sensorielle chez les aveugles. L'impact de ces facteurs sera étudié sur deux modèles de souris aveugles soit la souris mutante anophtalme ZRDCT/An et la souris C57BL/6 énucléée à la naissance. Le modèle contrôle est la souris C57BL/6 intacte. Quatre objectifs spécifiques ont été établis dans le cadre de cette thèse. Le premier objectif est de comparer à l'intérieur de la même espèce, les effets fonctionnel et anatomique d'une cécité précoce et d'une cécité plus tardive. Pour ce faire, l'activité auditive et les connexions sous-corticales des centres visuels ont été comparés entre les souris mutantes anophtalmes et les souris C57BL/6 énucléées à la naissance. La partie fonctionnelle de l'étude réalisée avec l'immunohistochimie de la protéine c-Fos a été effectuée par Nicole Chabot alors que Stéphane Robert a effectué les injections du traceur neuronal dans le cadre de son projet de maîtrise. Ces résultats sont inclus dans la présente thèse car ils font

partie de l'article (Chabot et al., 2007). Le deuxième objectif de cette thèse est de valider les afférences auditives sous-corticales chez les souris mutantes en utilisant des traceurs neuronaux hautement sensibles. Le troisième objectif est de clarifier si l'enrichissement affecte également l'activité auditive dans les structures identifiées lors de la première étude qui sont touchées par la réorganisation sensorielle ou si l'effet n'est que localisé que dans quelque unes de celles-ci. Et le quatrième objectif est de spécifier l'effet de l'environnement sur l'activité auditive chez les souris contrôles de même que chez les souris aveugles. La troisième étude répond à ces deux derniers objectifs en utilisant trois modèles de souris: la souris mutante *ZRDCT/An*, la souris *C57BL/6* énuclée à la naissance et la souris contrôle *C57BL/6* élevées dans des conditions appauvries ou enrichies.

*Chapitre 2 - Premier article: Audition Differently Activates the Visual System in Neonatally Enucleated Mice Compared to Anophthalmic Mutants*

*Contribution des auteurs*

Nicole Chabot a effectué le volet immunohistochimique de même que l'analyse, les statistiques et l'écriture de cet article : Chabot, N., Robert, S., Tremblay, R., Miceli, D., Boire, D., Bronchti, G. (2007). Audition Differently Activates the Visual System in Neonatally Enucleated Mice Compared to Anophthalmic Mutants. *European Journal of Neuroscience*, 8, 2334-2348, sous les conseils de Denis Boire et la supervision de Gilles Bronchti. Stéphane Robert a effectué les injections du traceur neuronal assisté de Robin Tremblay. La version anglaise de l'article a été corrigée par Dom Miceli.

*Résumé en français*

Le cortex occipital qui est normalement visuel peut être activé par une autre modalité sensorielle, comme l'audition ou le toucher, chez une personne aveugle. Ce phénomène de compensation transmodale est possible suite à une cécité précoce et tardive. Par contre, cette compensation sensorielle comporte certaines différences entre ce qui se produit chez les aveugles précoces et les aveugles tardifs. Ceci supporte l'hypothèse d'une réorganisation possible des voies sensorielles chez les aveugles précoces mais non chez les aveugles tardifs. L'utilisation de l'immunohistochimie de la protéine c-Fos faisant suite à un bruit blanc, et des injections du traceur neuronal antérograde dextran biotin dans le collicule inférieur nous a permis d'étudier l'influence du moment de la survenue précoce ou tardive de la cécité sur la compensation sensorielle transmodale chez une souris mutante anophtalme ZRDCTA/n de même que chez une souris normale C57BL6 énucléée à la naissance. La souris mutante anophtalme ZRDCT/An représente une cécité précoce car elle ne développe jamais de rétine ni de nerf optique tout en conservant son thalamus et son cortex visuel. La souris énucléée à la naissance représente un modèle de cécité un plus tardif car à la naissance, ses voies visuelles afférentes qui sont intégrées sont sectionnées. Nous avons observé chez la souris mutante des noyaux marqués au c-Fos dans le thalamus visuel primaire – la partie dorsale du corps géniculé latéral - de même que dans l'aire visuelle primaire (V1). Quelques noyaux aussi ont été observés dans l'aire visuelle secondaire (V2). Chez la souris énucléée à la naissance, nous avons observé que l'activité auditive évoquée est principalement située dans V2 et moins dans V1. Aucun noyau marqué au c-Fos n'a été observé dans le thalamus visuel. Les études de traçage neuronal nous ont permis

de confirmer les différences fonctionnelles observées entre les souris mutantes anophtalmes et les souris énucléées à la naissance. En effet, le traçage neuronal a révélé la présence chez la souris mutante anophtalme d'une connexion partant du collicule inférieur et allant vers la partie dorsale du corps géniculé latéral de même que vers le noyau thalamique latéral postérieur tandis que chez la souris énucléée à la naissance, les fibres auditives partant du collicule inférieur ne se retrouvent que dans le noyau latéral postérieur. Aucune fibre auditive n'a été observée dans le thalamus visuel chez les souris normales. Nous suggérons par cette étude anatomo-fonctionnelle que l'activité prénatale spontanée de la rétine est responsable de la différence dans la réorganisation sensorielle transmodale chez nos deux types de souris aveugles.

**Receiving Editor: Dr Zoltán Molnár**

**Title:** Audition Differently Activates the Visual System in Neonatally Enucleated Mice Compared to Anophthalmic Mutants

**Authors and affiliations:**

Nicole Chabot<sup>1,3</sup>, Stéphane Robert<sup>2,3</sup>, Robin Tremblay<sup>2,3</sup>, Dom Miceli<sup>1</sup>, Denis Boire<sup>2,3</sup> and Gilles Bronchti<sup>2,3</sup>

<sup>1</sup> Département de Psychologie, Université du Québec à Trois-Rivières, Trois-Rivières, Canada <sup>2</sup> Département de Chimie-Biologie, Université du Québec à Trois-Rivières, Trois-Rivières, Canada <sup>3</sup> Groupe de Recherche en Neurosciences, Université du Québec à Trois-Rivières, Trois-Rivières, Canada.

**Corresponding author:** Dr Gilles Bronchti,  
Université du Québec à Trois-Rivières,  
3351 boul. des Forges, CP 500,  
Trois-Rivières, Québec,  
G9A 5H7, Canada.  
Fax number: +819-376-5084,  
e-mail: gilles.bronchti@uqtr.ca

**Running title:** Auditory Activation of the Visual System in Blind Mice

**Total number of page:** 31

**Total number of figures:** 10

**Total number of tables:** 2

**Total number of word in (i) the whole manuscript:** 6669

**(ii) the Abstract:** 230

**(iii) the Introduction:** 547

**Keywords:** Blindness, auditory cortex, cerebral cortex, c-Fos, crossmodal plasticity

*Abstract*

The occipital cortex, normally visual, can be activated by auditory or somatosensory tasks in the blind. This cross-modal compensation appears after early or late-onset of blindness with differences in activation between early- and late-blind. This could support the hypothesis of a reorganization of sensory pathways in the early blind that does not occur in later onset blindness. Using immunohistochemistry of the c-Fos protein following a white noise stimulus and injections of the anterograde tracer dextran-biotin in the inferior colliculus, we studied how the occurrence of blindness influences cross-modal compensation in the mutant anophthalmic mouse strain and in C57BL/6 mice enucleated at birth. We observed, in mutant mice, immunolabelled nuclei in the visual thalamus - the dorsal lateral geniculate nucleus - in the primary visual area (V1) and a few labeled nuclei in the secondary visual area (V2). In enucleated mice, we observe auditory activity mainly in V2 but also sparsely in V1. No labeled cells could be found in the visual thalamus. Tracing studies confirmed the difference between anophthalmic and birth-enucleated mice: while the first group shows inferior colliculus projections entering both the dorsal lateral geniculate and the latero-posterior nuclei, in the second, auditory fibers were found only within the latero-posterior thalamic nucleus. None were found in controls with intact eyes. We suggest that the prenatal period of spontaneous retinal activity shapes the differences of the sensory reorganization in mice.

### *Introduction*

Several animal models have been used to study the mechanisms underlying cross-modal plasticity. In particular, activation of the occipital cortex by non-visual stimuli has been demonstrated in blind animals. For instance, auditory activation of the occipital cortex was demonstrated in the blind mole rat using electrophysiology and 2-deoxyglucose (2DG) techniques (Heil et al., 1991; Bronchti et al., 2002). In the same species, stimulation of the facial vibrissae was also reported to activate the occipital cortex (Necker et al., 1992; Bronchti et al., 2002). Similar activation of the visual cortical areas by auditory stimuli have been shown in neonatally enucleated hamsters (Izraeli et al., 2002), in an anophthalmic mouse strain (Bonaventure & Karli 1968; Piché et al., 2004), and in neonatally enucleated opossums (Kahn & Krubitzer 2002; Karlen et al., 2006). Somatosensory stimuli also activate the visual cortex in neonatally enucleated rats (Toldi et al., 1994b). Single-neurons recording demonstrate that auditory and tactile stimuli activate neurons in the anterior ectosylvian visual area in neonatally visually deprived cat (Rauschecker & Korte 1993).

This cortical activation seems to be of subcortical origin in the blind mole rat since the dorsal part of the lateral geniculate nucleus (LGNd) was shown to be activated by auditory stimuli (Bronchti et al., 1989). Moreover, an axonal tracing study demonstrated a neuronal connection between the inferior colliculus (IC) and the LGNd in this subterranean blind mammal (Doron & Wollberg 1994). A similar IC-LGNd connection was shown to give rise to the auditory activation of the occipital cortex in neonatally enucleated hamsters (Izraeli et al., 2002) and in ZRDCT/An mice (Piché et al., 2004). The mutant mouse ZRDCT/An is studied as a model of human anophthalmia (Tucker et

al., 2001) and certainly constitutes the earliest visual deafferentation known in mammals in view of the fact that its retinal axons never reach the thalamus (Chase 1945). In non-human primates, the existence of projections from primary and secondary auditory fields to striate and extra-striate cortex have been described (Falchier et al., 2002; Schroeder & Foxe 2005).

All the animals cited above were used to demonstrate crossmodal compensation occurring after early visual deprivation. The comparison between all these models is difficult: hamsters and opossums are altricial species (Clancy et al., 2001); the rat is the only non altricial species where crossmodal activation of the visual cortex was reported after postnatal enucleation; while anophthalmic mice mimic enucleation of mice at embryonic but not at postnatal ages (Cullen & Kaiserman-Abramov 1976; Kaiserman-Abramov 1983c). None of these studies reported, in the same species, the outcome of a later destruction of the visual periphery. In human functional Magnetic Resonance Imaging (fMRI) studies, evidence of functional connectivity between sensory areas have been shown (Watkins et al., 2006) and differences in functional abilities have been described between early- and late-onset of blindness in humans (Buchel et al., 1998; Sadato et al., 2002; Wittenberg et al., 2004; Pascual-Leone et al., 2005). Recently, it has been shown that a repetitive transcranial magnetic stimulation applied onto the primary somatosensory cortex activates the peristriate cortex in early blind but not in late-blind individuals (Wittenberg et al., 2004). Differences in the distribution of cortical activation following early and late onset of blindness clearly suggest that the time at which vision loss occurs influences the functional and anatomical compensatory mechanisms.

The main objective of the present study was to compare the functional and anatomical effect of an early versus a later onset of blindness in the same species. To that end, the auditory activity and subcortical connections of visual centers were compared in the ZRDCT/An mouse, a congenital anophthalmic mutant, with those found in normal C57BL/6 mice enucleated at birth.

### *Materials & methods*

#### Mice

The different animals used in our investigation are shown in Table 2. The ZRDCT/An anophthalmic mice (n=14) were born and raised in our inbred colony. This mutant mouse was first described by Chase and Chase (1941) and is particular in that it lacks eyes and optic nerves. No other effect of the mutation has been described. Birth-enucleated mice were of the C57BL/6 strain (n=14) and intact C57BL/6 mice served as controls (n=14). The latter strain is closely related to the ZRDCT/An mice and has also been used as a control by Chase and Chase (1979; 1980; 1983b), Kaiserman-Abramov (1984) and Olavarria (1984). All animals were adults when sacrificed. For the c-Fos study, the animals were between 85 and 120 days and for the tracing study, the animals were between 60 and 150 days of age. All animals were kept in our laboratory facilities with a light/dark cycle of 14/10 hours, respectively. All experimental procedures were approved by the University Animal Care Committee and were carried out in accordance with the guidelines set forth by the Canadian Council on Animal Care.

### Neonatal enucleation

Bilateral enucleations were performed on C57BL/6 mice pups within 24h of birth. The mother and at least one pup from each litter were transferred to a new cage while the other pups were kept in the nesting cage until the end of the procedure (about 30 minutes). Under deep anesthesia by hypothermia, the palpebral fissure was opened with a scalpel and the eyeball pushed out with forceps. The optic nerve and the ophthalmic artery were then sectioned. Ocular orbits were filled with Gelfoam (Upjohn, Kalamazoo, Michigan) to avoid hemorrhage. The pups were kept warm under a heat lamp before being returned to the nest. From each litter, about half of the pups underwent the surgical enucleation while the others were kept as intact controls. The nest cage was returned to the colony and the mother and the pup re-introduced into the nest cage.

### c-Fos experiment

Under light anesthesia by isoflurane inhalation (Aerrane; Janssen Pharmaceutica, Beerse, Belgium), a silicon plug was placed in the right external ear canal to ensure asymmetrical auditory stimulation. This procedure is useful to authenticate the auditory origin of the activation observed in visual structures (Heil & Scheich 1986; Bronchti et al., 1989). Mystacial whiskers were trimmed to skin level to limit somatosensory activation. Each animal (see Table 2) was then placed in a custom-made anechoic chamber overnight. The next morning, the mice were stimulated with white noise bursts randomly delivered through two loudspeakers, at an intensity of 90 dB sound pressure level for 60 minutes after which they were anesthetized with a lethal injection of sodium pentobarbital (Somnotol, MTC Pharmaceuticals, Cambridge, Ontario; i.p.: 120 mg/kg). The animals

were then perfused transcardially with 0.01M PBS followed by 4% paraformaldehyde in 0.1 M phosphate buffer, pH 7,4 (PB). The brains were dissected out and were carefully examined along the ventral surface to confirm the absence of optic nerves in the enucleated and the ZRDCT/An mice. About 10% of ZRDCT/An mice have one or two eye remnants or even an occasional eye with a lens, although the latter is never fully normal-sized (Chase 1945). The brains were postfixed for 2 hours and cryoprotected in 30% sucrose for about 24 hours. Frozen serial sections were cut (50  $\mu$ m) in the coronal plane and collected in two sets, one processed for c-Fos immunohistochemistry and the other counterstained with Cresyl Violet for the cytoarchitectonic identification of subcortical structures and cortical areas. The immunohistochemical free-floating procedure used a rabbit polyclonal anti-c-Fos (Ab-2) antibody (Calbiochem, San Diego, California, USA, 1:20 000 dilution), a biotinylated goat anti-rabbit secondary antibody (Vector laboratory, Burlington, Ontario, Canada, 1/500 dilution), avidin-biotin complex (Elite Vectastain, Vector Laboratories, Burlington, Ontario), and a nickel-intensified DAB protocol. A few sections were examined under the microscope before stopping the reaction. This was done to ensure a maximal staining of the labeled nuclei, thus limiting variation in staining density. The sections were then mounted on gelatinized slides, air-dried, dehydrated and cover-slipped. Control sections from each brain were processed according to the same immunohistochemical procedure but with the omission of either the primary or secondary antibody. Under these circumstances, no labeled nuclei could be identified in all the structures examined.

Cell counts in the auditory and visual cortices and inferior colliculus

In order to compare the auditory activity within the structures of interest (SOI) in the different experimental groups (control mice; mutant mice; enucleated mice), the total number of c-Fos-IR nuclei was estimated in each SOI using the optical fractionator, an unbiased stereological procedure (West et al., 1991). Every fourth coronal section (50  $\mu\text{m}$ -thick), processed for c-Fos immunoreactivity and cut through either the primary auditory cortex (AC), the primary visual cortex (V1), the lateral and medial secondary visual cortex (V2l and V2m, respectively) or the inferior colliculus (IC) were analyzed on a Leica DMRB microscope (Leica Microsystems, North York, Ontario, Canada) equipped with a three-axis computer-controlled stepping motor system (0.1  $\mu\text{m}$  resolution) coupled to a personal computer and to a color CCD camera (Optronix, MicroBrightField, Williston, Vermont). Only structures contralateral to the stimulated unplugged ear were sampled because of the asymmetrical auditory stimulation leading to an asymmetrical labeling of c-Fos nuclei. The auditory thalamic nucleus - the medial geniculate - was not selected as a structure of interest in our quantification protocol, even if this structure is strongly activated by the auditory stimulus, because of the inconsistent labeling found in its principal, ventral, division (Carretta et al., 1999). The StereoInvestigator software version 6.0 (MicroBrightField, Williston, Vermont) was used to collect data from ten animals in each of the experimental groups. For each section, the contours of the SOI were first traced at low magnification (2.5x, 0.07 aperture). We applied the cytoarchitectonic criteria described by Caviness (1975) to differentiate occipital and temporal cortices, as the criteria used in delineating these two cortical fields in normal mice are valid in ZRDCT/An and enucleated animals. Then, at high magnification (100 x, 1.3 aperture), the optical fractionator probe was applied to count

labeled nuclei found within a minimum of 10 sites per area. The same sampling probe, with the same sampling grid (210 x 210  $\mu\text{m}$ ) and counting frame (100 x 100  $\mu\text{m}$ ) parameters was applied to all animals without the experimenter knowing which group they belonged to. Guard zones of 2  $\mu\text{m}$  at the top and bottom of the sections were used. The precision of the sampling is assessed by the Gundersen coefficient of error (CE). This CE represents the precision in the estimation of the population size (Gundersen et al., 1999). It takes into account the distribution of the positive nuclei-IR in the tissue, the inter- and intra-section variation and the total number of the positive nuclei-IR counted. A lower value of the CE corresponds to a better estimation of the population size. The methodological details describing the design-based stereological study are presented in Table 3.

#### Cell counts in the dorsal lateral geniculate nucleus

The LGNd in blind mice is a very small structure (Cullen & Kaiserman-Abramof 1976). Therefore, the quantification of IR-nuclei in LGNd was not based on a stereological estimation as in other SOI but on the exhaustive count of the c-Fos positively labeled nuclei. To that end, all the 50 $\mu\text{m}$ -thick coronal sections from the LGNd contralateral to the stimulated ear were processed for c-Fos immunocytochemistry. These animals were the same as those used for the cortical and IC quantifications. Since alternate sections were Nissl-counterstained for cytoarchitectonic identification, all labeled nuclei were plotted and counted on every second section. Correspondingly, the distribution shown in the box plots of Figure 2 represents approximately half the total number of LGNd cells activated by the auditory stimulus in each animal. This procedure of quantifying cells may lead to an overestimation of the total number of cells in the LGNd because we did not use guard

zones. Nevertheless, since the section thickness was considerable (50  $\mu\text{m}$ ) in comparison to the diameter of the IR-nuclei (8  $\mu\text{m}$  in average), the sampling error is small. In fact, very few IR-nuclei would have been cut in the lower or higher focal plane of the section and counted by error. Moreover, it should be noted that this error is constant when comparing counts between different animals and any correction factor would yield lower numbers in all groups that would nevertheless be proportional to those presented in Figure 2.

#### c-Fos-IR nuclei plotting

To illustrate the distribution pattern of c-Fos-IR nuclei, the contours of AC, V1, V2m, V2l, and the LGNd were traced in 4 consecutive sections using NeuroLucida software (MicroBrightField, Williston, Vermont) at low magnification (2.5x). In the same animal, all of the contours belonging to any one SOI were aligned with each other. At a higher magnification (40x) all c-Fos-IR nuclei found in each SOI were plotted. Then, the superposition of contours and markers was processed with the Neuroexplorer software (MicroBrightField, Williston, Vermont) to show the distribution pattern of c-Fos-IR nuclei within each SOI.

#### Statistical analysis

The significance of differences in the mean values recorded within the SOI of the different experimental groups was tested with a General Linear Model Multivariate analysis followed by the Tamhane *post hoc* test. All statistical analyses were carried out

with SPSS 12.0 for Windows (SPSS inc. Chicago, Illinois, USA) with a significance level of  $p < 0.05$ .

### Neuronal tracing

For neuronal tracing, a volume of 0.5  $\mu$ l of biotinylated dextran (BDA) (Molecular Probes, Cedarlane Laboratories, Ontario) was pressure-injected into the central nucleus of the IC (CIC) of the mice from each group under deep anesthesia. The latter was achieved with an intraperitoneal (i.p.) injection of Atravet (Ayerst, Montreal, Quebec; 1mg/kg) followed 5 minutes later by a combined ketamine and xylazine anaesthesia (i.p.; Ketaset; Ayerst and Rompun, Bayer Inc., Toronto, Ontario; 100 and 4 mg/kg, respectively). The animals were placed in a stereotaxic apparatus and a small amount of Xylocaine 2% (AstraZeneca Canada, Mississauga, Ontario) was injected locally under the scalp prior to incision. Control mice were protected from ocular dryness by application of an ophthalmic ointment (Polysporin; Pfizer Canada, Toronto, Ontario). A longitudinal incision was made along the midline and the posterior part of the skull was exposed. Using a surgical microscope, a small craniotomy was performed just posterior to the lambdoïd suture allowing a dorsal view of the IC. The dura-mater over the area of penetration was carefully removed and a glass micropipette (40  $\mu$ m tip diameter) filled with a 5% solution of BDA (10 000 MW; Molecular Probes, Cedarlane Laboratories, Ontario, Canada) in 0.01 M phosphate-buffered saline (0.9% NaCl, pH 7.4, PBS), was inserted to a depth of 1 mm below the surface of the IC. The pressure injection (microInjector, Tritech Research, Los Angeles, CA, USA) was made over a period of 10 minutes and the micropipette was left in place for a further 10 min before being carefully

withdrawn. The mice were then kept warm until they recovered from anesthesia and postoperative pain was managed with buprenorphine (i.p.; Temgesic, Schering-Plough, Hertfordshire, UK; 0.009 mg/kg) injected one hour after the surgery.

Following a survival period of 10 to 14 days and under deep anesthesia obtained with a lethal dose of sodium pentobarbital (i.p.; Somnotol, MTC Pharmaceuticals, Cambridge, Ontario; 120 mg/kg), the mice were sacrificed and perfused transcardially with 0.01M PBS followed by 4% paraformaldehyde in 0.1 M PB, pH 7.4. The brains were then dissected out and the absence of optic nerves was checked in blind mice. The brains were post-fixed for 2h in the same fixative and cryoprotected in phosphate buffered 30% sucrose. Frozen serial sections were cut (50  $\mu$ m) in the coronal plane and collected in 2 sets, one processed for BDA histochemistry and the other counterstained with Cresyl Violet for the cytoarchitectonic identification of subcortical structures. Free-floating sections were treated for 15 minutes with 0.5% H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> and 70% methanol to quench endogenous peroxidase, and thoroughly rinsed in 50 mM Tris-HCl-buffered saline (pH 8.0) containing 0.5% Triton X-100 (TBS-Tx). The sections were then incubated 90 minutes at room temperature employing an Avidin-Biotin Complex kit (Elite Vectastain, Vector Laboratories, Burlington, Ontario) in TBS-Tx, pH 8.0. Labeled fibers were revealed using the nickel-intensified DAB protocol, in which the sections were incubated in 0.02% H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>. The sections were mounted in 2 sets, one directly dehydrated in ethanol, cleared in xylene, and cover-slipped with Permount mounting media and the other, counterstained with Cresyl Violet for the cytoarchitectonic delineation of relevant structures.

The BDA-labeled fibers were viewed with a Leica DMRB microscope (Leica Microsystems, North York, Ontario, Canada) and photographed with a CCD camera (Optronix, MicroBrightField, Williston, Vermont) using Picture Frame software (MicroBrightField, Williston, Vermont).

## *Results*

### c-Fos experiments

For all experimental animals, a silicon earplug was placed in the right ear (see Materials and Methods) and this led to asymmetrical c-Fos labeling in the SOI with stronger labeling on the side contralateral (right) to the auditory stimulation. Only the latter contralateral side was sampled. There are no age differences between the c-Fos experimental groups ( $F=0.18$ ;  $p>0.05$ ) nor between groups in the tracing experiments ( $F=0.136$ ;  $p>0.05$ ). The Gundersen coefficients of error (CE), which represent the precision in the estimation of the population size, were never higher than 9% in structures where substantial labeled nuclei were observed.

### Inferior colliculus

As expected, auditory stimuli induced c-Fos expression in the contralateral IC in all mice (Figure 15A). The General Linear Model multivariate analysis revealed no significant difference between experimental groups in their auditory evoked c-Fos activity (Figure 15B).

### Dorsal lateral geniculate nucleus

As shown in Figure 16A, auditory stimulation activated the primary visual thalamus - the LGNd - only in the mutant mouse. The Tamhane *post hoc* test shows that the mutant

strain exhibited higher auditory evoked c-Fos activity in LGNd than all the other groups ( $p < 0.001$  - Figure 16B). For this structure, there is no Gundersen coefficient of error because of the quantification method used (see Materials and Methods).

#### Auditory cortex

The photomicrographs of contralateral sections and the c-Fos-IR nuclei plots illustrate clearly in all experimental groups that the auditory stimulus activated cortical layers II-III IV and VI and to a lesser degree layer V of the auditory cortex. Layer IV was the most intensely labeled (Figure 17A). The Tamhane *post hoc* test revealed no significant difference between experimental groups in their auditory-evoked c-Fos (Figure 17B).

#### Primary visual cortex

The plot of the c-Fos-IR nuclei and the photomicrographs (Figure 18A) show that the auditory stimulation induced c-Fos expression in very few cells in the primary visual cortex in normal mice. These were found mainly in supragranular layers and in layer VI. Labeling is more intense in mutant and enucleated mice, labeled cells being located in layers II-IV and VI. In mutant mice, a distinct higher density of IR cells was observed in layer IV. The coefficients of error in control (up to 16%) and enucleated (up to 18%) mice are particularly high since almost no c-Fos labeling was sampled within the primary visual cortex in these two strains. The Tamhane *post hoc* test, performed on the means of experimental groups, revealed that the mutant group exhibited a higher level of c-Fos activity in V1 as a result of the auditory stimulation than either the control ( $p < 0.002$ ) or enucleated group ( $p < 0.01$  - Figure 18B).

### Lateral secondary visual cortex

The photomicrographs and plot of all the c-Fos-IR nuclei (Figure 19A) illustrate that the most intense c-Fos labeling was found in the enucleated animals. This was confirmed by the Tamhane *post hoc* test which revealed that only this group differs from the others ( $p < 0.01$  - Figure 19B). The c-Fos-IR cells are distributed in layers II-III and VI, mainly close to the border with AC, and only a few dispersed cells are found in the bottom half of layer V. Although the number of c-Fos-IR nuclei in the mutant mouse is not different from that in controls, their distribution is similar to that found in the enucleated animals, close to AC. In the mutant and control mice, the coefficient of error can be as high as 14 and 16% respectively. This can be explained by the fact that only a few marked c-Fos-IR nuclei were identified within the lateral secondary visual cortex.

### Medial secondary visual cortex

In controls, the plots of all the c-Fos-IR nuclei and the photomicrographs show only a few dispersed c-Fos labeled cells. A greater number of cells were observed in mutant and enucleated mice. These cells were evenly distributed throughout all cortical layers except for layer I (Figure 20A). The Tamhane *post hoc* test revealed that enucleated and mutant mice showed higher auditory evoked c-Fos immunoreactivity in V2m than control mice ( $p < 0.02$  and  $p < 0.05$  respectively - Figure 20B). In the control mice, the CE is also high (up to 22%) due to the fact that only a few c-Fos-IR nuclei were observed within the secondary visual cortex.

## Tracing experiments

### Control mice

The bulk of the labeled axons followed the usual anterograde trajectory from the CIC through the brachium of the inferior colliculus (BIC) to the ventral division of the ipsilateral medial geniculate nucleus (MGNv) (fig 21A, B). Normal retrograde transport was also noticed to varying degrees in the auditory cortex where cell bodies were clearly seen (Fig. 24, upper row). The dorsal division of the lateral geniculate nucleus (LGNd), the primary retinal thalamic target, was devoid of label in control mice (Fig. 21D). However, in two cases it was possible to observe a few isolated thin and short labeled fibers within the medial part of the thalamic latero-posterior nucleus (LP), a higher-order visual target (Fig. 21E) which receives direct retinal input.

### Mutant mice

Following BDA injections, axonal arbors were found localized in the MGNv as in normal mice (Fig. 22B), but in addition, in every case a few anterograde labeled fibers were observed in the LGNd, near its inferior border with the intergeniculate leaflet (IGL) (Fig. 22D). These fibers were short, rather thick and large synaptic endings were clearly visible. As previously reported (Heumann & Rabinowicz 1980), Nissl-stained sections through the thalamus revealed that the LGNd is somewhat smaller in ZRDCT/An than in normal mice (Fig. 22C). The BDA label was also detected in the LP and the labeled fibers, rarely more than two in number, seemed to course through the structure without giving rise to varicosities or synaptic boutons (Fig. 22E). Retrograde transport was also

consistently observed in the auditory cortex (Fig. 24, middle row). It should be noted that retrogradely labeled cells could not be found in any other cortical area.

#### Neonatally enucleated mice

As in control and congenitally blind mice, the normal connection between IC and MGN is preserved (Fig. 23B). Careful examination of the thalamus failed to reveal the presence of labeled fibers in the LGNd of all neonatally enucleated mice (Fig. 23D). However, in two animals, BDA histochemistry revealed the presence of very thin fibers in the LP (Fig. 23E). The size of LGNd also appeared to be considerably diminished when compared to that of control mice (Fig. 23C), as has previously been reported for neonatally enucleated (P0) mice (Cullen & Kaiserman-Abramof 1976). Retrogradely labeled cells were found throughout AC but in no other cortical area (Fig. 24, lower row).

#### *Discussion*

This study demonstrates major differences between these two animal models of blindness. In the mutant anophthalmic mouse, auditory driven c-Fos expression was observed in the LGNd and in V1. In the neonatally enucleated mouse, neither auditory afferents nor auditory activation could be demonstrated in LGNd nor in V1. However, in the latter case, stronger auditory activity was observed in V2 abutting the auditory cortex. These results suggest that the prenatal absence of retinal afferents to the LGNd in the ZRDCT mutant mice is instrumental in the establishment of novel ascending connections from the inferior colliculus to the visual thalamus. Following early post-natal enucleation,

it is more likely that cross-modal auditory activation of the visual cortex might have a cortical origin.

#### The mutant mouse

The activation patterns of AC in our experiments are in agreement with previous studies on the expression of c-Fos following auditory stimuli and were similar in blind and control mice. Pure tones activate frequency-specific columns of cells located in layers II-IV and VI and prolonged exposure further recruits numerous cells outside defined isotonic columns and in layer V (Scheich & Zusratter 1995; Zusratter et al., 1995). Layer V activation was interpreted as representing the organization of auditory output. In the present experiments, relatively long exposures to broadband white noise are consistent with these observations and numerous c-Fos IR cells were found in all layers except layer I. We also observe a distinctive intensely labeled layer IV. Such activation of this thalamorecipient layer is not always obvious in illustrations provided in other reports but can be seen in photomicrographs of auditory cortex of the behaving rat (Carretta et al., 1999), of the brown bat (Qian et al., 1996) and in the auditory cortex of the Mongolian gerbil (Zusratter et al., 1995).

The auditory activation pattern of the primary visual cortex was typical of V1 of normal mice following a visual stimulation with c-Fos-IR nuclei mainly localized in the thalamorecipient layers II-III IV and VI (Amir & Stewart 1999). This pattern is similar to that found in AC with the exception of layer V which was densely labeled in AC but not in V1. As the output layer, auditory cortex layer V was shown in our tracing study to be involved in the feedback connection with IC and may also be involved in feedforward connections between temporal and occipital areas (Bai et al., 2004). It is difficult to

ascertain whether the laminar distribution of labeled cells indicates that V1 in the mutant mouse is activated by thalamocortical afferents and receives its auditory information directly through the connection established between IC and the LGNd. It has been suggested that the anatomical crosstalk between cortical layers makes it difficult to determine the source of the signal driving the expression of the c-Fos gene (Kaczmarek & Chaudhuri 1997). In our experiments, partial correlations between the number of c-Fos immunoreactive cells, keeping AC as a constant in order to control for differences in the efficacy of the auditory stimulation between animals, does not show a significant correlation between the number of IR cells in the primary visual cortex and LGNd. Therefore, the activation of layer IV may not be indicative of a direct thalamic activation but could rather be the result of the transmission of visual information from layer IV to layers II-III, subsequently to infragranular layers V and VI and then back to layer IV. In addition, it has been suggested that c-Fos expression is dependant upon NMDA receptor activity and that direct thalamorecipient cells of layer IV are devoid of these receptors (Kaczmarek & Chaudhuri 1997).

However, V1 activation might be related to the novel IC-LGNd projection as there are instances in which c-Fos expression in corresponding thalamic and cortical areas appear to be decoupled (Correa-Lacarcel et al., 2000). Similarly, c-Fos studies in the auditory system in mice have shown that basal activity levels in IC are generally high and very variable and do not necessarily correspond to activity levels in auditory cortex (Wallhäusser-Franke et al., 1996; Wallhäusser-Franke et al., 2003; Mahlke & Wallhäusser-Franke 2004).

The fact that mutant mice have a greater expression of auditory evoked c-Fos labeling in V1 than control and enucleated mice and that they also possess a direct connection between the inferior colliculus and LGNd suggests that this ectopic pathway contributes to the auditory activation of V1. This projection is quite sparse, similar to that described in the blind-mole rat (Doron & Wollberg 1994) and in the neonatally enucleated hamster (Izraeli et al., 2002). In the mole rat, this connection was sufficient to activate the visual thalamus (Bronchti et al., 1989) and subsequently a substantial activation of the primary visual cortex was observed (Bronchti et al., 2002). However, our observation cannot rule out the contribution of other routes by which auditory information can reach V1 in these animals. In neonatal enucleated and in normal hamsters (Izraeli et al., 2002) sporadic retrogradely labeled cells were observed in A1 following HRP injections in V1. In addition, very early enucleated opossums show a direct connection from AC to V1 (Karlen & Krubitzer 2006). Other pathways can also explain auditory activations of the primary visual cortex in these animals. Indeed, there is evidence for a quite robust ascending connection from the inferior colliculus to the lateral posterior thalamic nucleus in ZRDCT/An mice and for an enhanced extrageniculate thalamocortical pathway to area 17, arising from the nucleus lateralis posterior (Kaiserman-Abramov et al., 1980).

A recent contribution presented evidence for direct and reciprocal connections between IC and V1 in the ZRDCT/An mouse (Laemle et al., 2006). Our observations are at odds with this data. First, scanning of all visual and auditory cortical areas in all cases in which the IC has been injected with biotinylated dextrans has revealed a significant amount of cells in A1 but no trace of any retrogradely labeled cells in any visual cortical areas. Secondly, we found no evidence for anterogradely labeled axons neither in auditory nor

in visual cortical areas following IC injections, confirming the absence of direct colliculo-cortical projections. In our material, the injections were clearly confined to IC and labeling observed in the medial geniculate complex is typical of IC projection patterns.

The secondary visual cortex was only weakly labeled with a significantly stronger activation compared to eyed controls only in V2m. Although not statistically more numerous than in the control group, the labeled nuclei found in V2l were generally distributed close to the border with AC. Since this pattern was found in the enucleated mice as well, we will discuss it below.

The neonatally enucleated mouse

As expected, auditory stimulation yielded neuronal activity in both the inferior colliculus and the auditory cortex in the neonatally enucleated mouse. In contrast with our findings in the mutant groups, the activity quantified in LGNd and V1 in the enucleated mice was not different from that found in control animals. This observation is commensurate with the results of the tracing study in which no auditory fibers could be found entering the LGNd in the enucleated animals and reinforces the hypothesis raised above that the IC-LGNd connection contributes effectively to the activation of V1 in the anophthalmic mutant.

In contrast, an unequivocal activation was seen in the secondary visual cortex. In V2l, the auditory activity was typically localized at the border region adjacent to AC. In enucleated hamsters, there is also an extended region of cortex responsive to auditory stimulations (Izraeli et al., 2002). Whether this result represented a hypertrophy of the hamster's auditory cortex or an auditory activation of the adjacent V2l was not

determined (Izraeli et al., 2002). We surmise that in the present material the extended auditory activation is within V2l. Firstly, the laminar distribution of c-Fos expressing cells is different between V2l and auditory cortex. Secondly we applied the cytoarchitectonic criteria described by Caviness (1975) to differentiate occipital and temporal cortices, as the criteria used in delineating these two cortical fields in normal mice remain valid in ZRDCT/An and enucleated animals. The occipital cortex in Nissl stained sections is obviously laminated and exhibits a clear cell poor layer Va. Conversely, the temporal cortex is not as clearly laminated and does not show a distinct cell poor layer Va. In addition, retrogradely labeled cells following tracer injections in the inferior colliculus were located typically in primary auditory cortex and none were found in the lateral portion of V2l activated by auditory stimulation.

Auditory activity can reach V2l through several pathways. There is evidence for projections to V2l directly for auditory cortex in normal rodents. A belt area with visual-auditory multisensory neurons was described at the occipital/temporal border (Paperna & Malach 1991; Wallace et al., 2004). The incidence of these multisensory neurons declines rapidly, with none being found 500  $\mu\text{m}$  medial or lateral to this border zone. The auditory activity observed in our study is located similarly in a 500  $\mu\text{m}$  wide strip of occipital cortex abutting auditory cortex. This would suggest that the auditory activation of V2l results from unmasked projections in enucleated mice. Although less intense, a similar pattern was also found in the ZRDCT/An mice but we have no explanation why these pathways do not equally allow for auditory evoked c-Fos labeling in control mice.

In the present study, the medial part of V2m was also clearly labeled in enucleated as well as in ZRDCT/An mice but displayed a different laminar pattern of activation

compared to V2l. Its activation could originate from either AC or the laterodorsal thalamic nucleus. The laterodorsal thalamic nucleus receives a direct projection from AC in gerbil (Budinger et al., 2006) and projects directly to V2m in normal intact and in enucleated rats (Warton et al., 1988). We never observed IC efferent fibers entering this thalamic nucleus. A direct connection between AC and V2m has also been shown in gerbil (Budinger et al., 2006).

An interesting question that needs to be investigated is the functionality of V1 in neonatally enucleated mice. In this case, the involvement of V1 in audition would appear to be negligible. It is certainly not activated by vision, but we cannot exclude a possible take-over by the somatosensory system. Asanuma and Stanfield (1990) demonstrated somatosensory afferents in the LGNd of neonatally enucleated mice as well as in mice suffering ocular retardation. Somatosensory stimulation was reported to activate V1 in neonatally enucleated rats as well (Toldi et al., 1994a).

Comparison between our animal models of blindness

The strength of this study resides in the comparison of the two animal models: in the mutant ZRDCT/An, the cross-modal plasticity is primarily subcortical whereas it seems to be largely cortical in the neonatally enucleated mouse. The difference observed can be attributed to the stage of development when visual deprivation occurs. The consequences resulting from the mutated gene expression of Rx/rax are not likely to be responsible for these differences because the mutation has very localized effects on the hypothalamus anatomy (Silver 1977; Laemle & Rusa 1992) and can disrupt intrinsic circadian rhythms (Faradji-Prevautel et al., 1990; Laemle & Ottenweller 1998) directly linked to the absence of retinofugal fibers. This gene is expressed in overlapping domains of the

anterior neural ectoderm, which correspond to the forebrain and retinal fields and later in the optic vesicle (Ohuchi et al., 1999; D'Aniello et al., 2006). Indeed, anophthalmic mice have an atrophy of the LGNd and of the optical layer of the superior colliculus in comparison of the controls animals C57Bl6 (Chase 1945) but the neonatally enucleated mice also present a smaller LGNd than the control animals. At birth, the critical period for the redirection of inferior collicular axons toward the LGNd is over. Intrauterine enucleation of C57BL/6 mice, between embryonic days E14 and E19, has shown that the visual thalamus contains synaptic terminals similar to retinal terminals comparable to what also occurs in the ZRDCT/An mouse (Kaiserman-Abramov 1983a). The origin of these terminals is unknown. They could be terminals of cortical origin, as suggested by the authors, or from the inferior colliculus. Altricial species are often used to avoid the difficulty of performing surgery on embryos. For instance, enucleated at birth, the ferret, opossum and hamster all show evidence of cross-modal plasticity at the subcortical level. At birth, the hamster exhibits the developmental stage of a mouse at E16 (Clancy et al., 2001). Therefore, a neonatal enucleation performed on a hamster would be similar to an intrauterine enucleation on a mouse, occurring before or around the time of arrival of retinal fibers in the LGNd. However, to our knowledge, these early blind models have never been compared to enucleations performed later in the same species.

Special attention should be given to the neonatally enucleated rat, as this animal seems to have an extended critical period for crossmodal reorganization at the subcortical level. In contrast to the neonatally enucleated mouse, its primary visual cortex can be activated by a non-visual stimulus (Toldi et al., 1994a). This V1 activation is still present when the

bilateral enucleation is performed before the end of the first postnatal week (Toldi et al., 1990).

The main finding in the present study remains that there is a clear difference in the activity patterns evoked by an auditory stimulation in enucleated and mutant blind mice. This indicates that the prenatal period of development provides cues for the subsequent development of cortical connectivity underlying the differences in the distribution of auditory activation of the cortex.

The difference between ZRDCT and neonatally enucleated mice resides in the absence of retinal afferents to LGNd. Therefore, spontaneous activity of the visual system is non-existent during the late prenatal period in ZRDCT mice since they never develop an optic cup, retina and optic nerve. This short period of prenatal deprivation could be sufficient to induce the difference in cross-modal activations of visual cortices since both ZRDCT and enucleated mice are deprived of visual information from birth. Recent evidence supports the possibility that spontaneous activity in the visual system is important in shaping cortical response properties and connections (Huberman et al., 2006; Hanganu et al., 2006). In addition, thalamocortical connections are functional in the subplate and in the deep cortical plate at embryonic ages and could influence cortical circuit formation before birth since they can depolarize subplate cells during thalamocortical axon side-branch formation (Friauf & Shatz 1991; Hanganu et al., 2002; Higashi et al., 2002; Molnar et al., 2003) . The role of this early spontaneous activity remains ill defined.

Although further investigation is needed to fully characterize the two animal models of blindness, our results shed new light on reports regarding early blind humans and late-onset blindness. Recently, a PET scan study suggested that the inhibitory patterns differ

between early-blind and sighted individuals; the sighted individuals inhibit their occipital cortex in a binaural sound location task whereas no inhibition is happening in the occipital cortex of early-blind persons (Gougoux et al., 2005). Also, in early-blind humans, Braille-reading activates the primary visual area (Cohen et al., 1999) whereas this activation declines with age of blindness onset, reaching sighted control levels in early adolescence (Sadato et al., 2002). Similar results have been obtained with transcranial magnetic stimulation (TMS). Applying TMS over the medial occipital cortex disrupts Braille-reading performance in the early-blind but not in the late-blind (Cohen et al., 1999). There is evidence that the occipital cortex of people who have lost their sight late in life is activated during sound localization (Voss et al., 2006). However, careful examination of figure 1 in the latter report indicates that the evoked activity is mainly distributed over extrastriate areas and this is similar to that which we observed in mice enucleated at birth. Also, Goyal (2006) has shown that in later-onset blindness, a Braille-reading task activates MT/V5. This differential pattern of visual cortex activation might be important to take into account in the mechanisms that will assure the success or failure of a visual implant.

#### *Acknowledgements*

We are grateful to Mrs Rollande Caron and Marie-Ève Lemire for their support and precious advice in regard to animal care and maintenance. Special thanks to Dr Jean-François Quessy for his help with the statistical analyses. This work was supported by grants from the Natural Sciences and Engineering Research Council of Canada and from

the Fonds Québécois de la Recherche sur la Nature et les Technologies. NC was supported by grants from the Fondation de l'Université du Québec à Trois-Rivières.

*Abbreviations:*

2DG: 2-deoxyglucose  
AC: auditory cortex  
AUd: secondary auditory cortex dorsal  
AUv: secondary auditory cortex ventral  
BDA: dextran-biotin  
BIC: Brachium of the inferior Colliculus  
CE: Gundersen Coefficient of Error  
fMRI: functional Magnetic Resonance Imaging  
CIC: central nucleus of the inferior colliculus  
DAB: 3,3-Diaminobenzidine  
EE: Enriched Environment  
E number: Embryonic age  
HRP: Horse Radish Peroxidase  
IC: inferior colliculus  
IGL: Intergeniculate leaflet  
-IR-: -ImmunoReactive-  
LGNd: lateral geniculate nucleus dorsal part  
LP: Latero-Posterior nucleus  
LSD: Least Significant Difference  
MGN(v): Medial Geniculate Nucleus (ventral division)  
MT/V5: Middle Temporal visual area  
NMDA: N-methyl-D-Aspartate  
PB: Phosphate Buffer  
P number: Postnatal day  
PBS: Phosphate Buffer Saline  
(r)TMS: (repetitive) Transcranial Magnetic Stimulation  
SE: Standard Environment  
SOI: Structure of Interest  
V1: primary visual cortex  
V2l: secondary visual cortex lateral part  
V2m: secondary visual cortex medial part  
TBS-Tx: Tris-HCl-Buffered Saline-Triton X-100

### References

- Amir,S. & Stewart,J. (1999) Conditioned and unconditioned aversive stimuli enhance light-induced fos expression in the primary visual cortex. *Neurosci.*, **89**, 323-327.
- Asanuma,C. & Stanfield,B.B. (1990) Induction of somatic sensory inputs to the lateral geniculate nucleus in congenitally blind mice and in phenotypically normal mice. *Neurosci.*, **39(3)**, 533-545.
- Bai,W.Z., Ishida,M. & Arimatsu,Y. (2004) Chemically defined feedback connections from infragranular layers of sensory association cortices in the rat. *Neurosci.*, **123**, 257-267.
- Bonaventure,N. & Karli,P. (1968) Apparition au niveau du cortex visuel de potentiels évoqués d'origine auditive chez la souris privée de photorécepteurs. *J.Physiol.(Paris)*, **60**, 407.
- 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.
- 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. A 2-deoxyglucose study of subcortical centers. *J.Comp.Neurol.*, **284**, 253-274.
- Buchel,C., Price,C., Frackowiak,R.S.J. & Friston,K. (1998) Different activation patterns in the visual cortex of late and congenitally blind subjects. *Brain*, **121**, 409-419.
- Budinger,E., Heil,P., Hess,A. & Scheich,H. (2006) Multisensory processing via early cortical stages: connections of the primary auditory cortical field with other sensory systems. *Neurosci.*, **143**, 1065-1083.
- Carretta,D., Hervé-Minvielle,A., Bajo,V.M., Villa,A.E.P. & Rouiller,E.M. (1999) c-Fos expression in the auditory pathways related to the significance of acoustic signals in rats performing a sensory-motor task. *Brain Res.*, **841**, 170-183.
- Caviness,V.S., Jr. (1975) Architectonic map of neocortex of the normal mouse. *J.Comp.Neurol.*, **164**, 247-263.
- Chase,H.B. (1945) Studies on an anophthalmic strain of mice: V. Associated cranial nerves and brain centers. *J.Comp.Neurol.*, **83**, 121-139.
- Chase,H.B. & Chase,E.B. (1941) Studies on an anophthalmic strain of mice. I. Embryology of the eye region. *J.Morphol.*, **68**, 279-401.

Clancy,B., Darlington,R.B. & Finlay,B.L. (2001) Translating developmental time across mammalian species. *Neurosci.*, **105**, 7-17.

Cohen,L.G., Weeks,R.A., Sadato,N., Celnik,P., Ishii,K. & Hallett,M. (1999) Period of susceptibility for cross-modal plasticity in the blind. *Ann.Neurol.*, **45**, 451-460.

Correa-Lacarcel,J., Pujante,M.J., Terol,F.F., menar-Garcia,V., Puchades-Orts,A., Ballesta,J.J., Lloret,J., Robles,J.A. & Sanchez-del-Campo,F. (2000) Stimulus frequency affects c-fos expression in the rat visual system. *J.Chem.Neuroanat.*, **18**, 135-146.

Cüllen,M.J. & Kaiserman-Abramof,I.R. (1976) Cytological organization of the dorsal lateral geniculate nuclei in mutant anophthalmic and postnatally enucleated mice. *J.Neurocytol.*, **5**, 407-424.

D'Aniello,S., d'Aniello,E., Locascio,A., Memoli,A., Corrado,M., Russo,M.T., Aniello,F., Fucci,L., Brown,E.R. & Branno,M. (2006) The ascidian homolog of the vertebrate homeobox gene Rx is essential for ocellus development and function. *Differentiation*, **74**, 222-234.

Doron,N. & Wollberg,Z. (1994) Cross-modal neuroplasticity in the blind mole rat *Spalax ehrenbergi*: a WGA-HRP tracing study. *Neuroreport.*, **5**, 2697-2701.

Falchier,A., Clavagnier,S., Barone,P. & Kennedy,H. (2002) Anatomical Evidence of Multimodal Integration in Primate Striate Cortex. *J.Neurosci.*, **22**, 5749-5759.

Faradji-Prevautel,H., Cespuglio,R. & Jouvret,M. (1990) Circadian rest-activity rhythms in the anophthalmic, monocular and binocular ZRDCT/An mice. Retinal and serotonergic (raphe) influences. *Brain Res.*, **526**, 207-216.

Friauf,E. & Shatz,C.J. (1991) Changing patterns of synaptic input to subplate and cortical plate during development of visual cortex. *J.Neurophysiol.*, **66**, 2059-2071.

Gougoux,F., Zatorre,R.J., Lassonde,M., Voss,P. & Lepore,F. (2005) A functional neuroimaging study of sound localization: visual cortex activity predicts performance in early-blind individuals. *PLoS.Biol.*, **3**, e27.

Goyal,M.S., Hansen,P.J. & Blakemore,C.B. (2006) Tactile perception recruits functionally related visual areas in the late-blind. *Neuroreport.*, **17**, 1381-1384.

Gundersen,H.J., Jensen,E.B., Kieu,K. & Nielsen,J. (1999) The efficiency of systematic sampling in stereology--reconsidered. *J.Microsc.*, **193**, 199-211.

Hanganu,I.L., Ben-Ari,Y. & Khazipov,R. (2006) Retinal waves trigger spindle bursts in the neonatal rat visual cortex. *J.Neurosci.*, **26**, 6728-6736.

Hanganu,I.L., Kilb,W. & Luhmann,H.J. (2002) Functional synaptic projections onto subplate neurons in neonatal rat somatosensory cortex. *J.Neurosci.*, **22**, 7165-7176.

Heil,P., Bronchti,G., Wollberg,Z. & Scheich,H. (1991) Invasion of the visual cortex by the auditory system in the naturally blind mole rat. *Neuroreport.*, **2**, 735-738.

Heil,P. & Scheich,H. (1986) Effects of unilateral and bilateral cochlea removal on 2-deoxyglucose patterns in the chick auditory system. *J.Comp.Neurol.*, **252**, 279-301.

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.

Higashi,S., Molnar,Z., Kurotani,T. & Toyama,K. (2002) Prenatal development of neural excitation in rat thalamocortical projections studied by optical recording. *Neurosci.*, **115**, 1231-1246.

Huberman,A.D., Speer,C.M. & Chapman,B. (2006) Spontaneous retinal activity mediates development of ocular dominance columns and binocular receptive fields in V1. *Neuron*, **52**, 247-254.

Izraeli,R., Koay,G., Lamish,M., Heicklen-Klein,A.J., Heffner,H.E., Heffner,R.S. & Wollberg,Z. (2002) Cross-modal neuroplasticity in neonatally enucleated hamsters: structure, electrophysiology and behaviour. *Eur.J.Neurosci.*, **15**, 693-712.

Kaczmarek,L. & Chaudhuri,A. (1997) Sensory regulation of immediate early gene expression in mammalian visual cortex: implications for functional mapping and neural plasticity. *Brain Res.Rev.*, **23**, 237-256.

Kahn,D.M. & Krubitzer,L. (2002) Massive cross-modal cortical plasticity and the emergence of a new cortical area in developmentally blind mammals. *Proc.Natl.Acad.Sci.U.S.A.*, **99**, 11429-11434.

Kaiserman-Abramov,I.R. (1979) Quantitative comparison of spines in layer V neurons of the striate cortex in anophthalmic mutant and normal mice. *Brain Res.*, **179**, 385-389.

Kaiserman-Abramov,I.R. (1983a) Intrauterine enucleation of normal mice mimics a structural compensatory response in the geniculate of eyeless mutant mice. *Brain Res.*, **270**, 149-153.

Kaiserman-Abramov,I.R. (1983b) Intrauterine enucleation of normal mice mimics a structural compensatory response in the geniculate of eyeless mutant mice. *Brain Res.*, **270**, 149-153.

Kaiserman-Abramov,I.R. (1983c) Intrauterine enucleation of normal mice mimics a structural compensatory response in the geniculate of eyeless mutant mice. *Brain Res.*, **270**, 149-153.

Kaiserman-Abramov,I.R., Graybiel,A.M. & Nauta,W.J.H. (1980) The thalamic projection to cortical area 17 in a congenitally anophthalmic mouse strain. *Neurosci.*, **5**, 41-52.

- Karlen,S.J., Kahn,D.M. & Krubitzer,L. (2006) Early blindness results in abnormal corticocortical and thalamocortical connections. *Neurosci.*, **142**, 843-858.
- Karlen,S.J. & Krubitzer,L. (2006) The evolution of the neocortex in mammals: intrinsic and extrinsic contributions to the cortical phenotype. *Novartis.Found.Symp.*, **270**, 146-159.
- Laemle,L.K. & Ottenweller,J.E. (1998) Daily patterns of running wheel activity in male anophthalmic mice. *Physiol.Rev.*, **64**, 165-171.
- Laemle,L.K. & Rusa,R. (1992) VIP-like immunoreactivity in the suprachiasmatic nuclei of a mutant anophthalmic mouse. *Brain Res.*, **589**, 124-128.
- Laemle,L.K., Strominger,N.L. & Carpenter,D.O. (2006) Cross-modal innervation of primary visual cortex by auditory fibers in congenitally anophthalmic mice. *Neurosci.Lett.*, **396**, 108-112.
- Mahlke,C. & Wallhäusser-Franke,E. (2004) Evidence for tinnitus-related plasticity in the auditory and limbic system, demonstrated by arg3.1 and c-fos immunocytochemistry. *Hear.Res.*, **195**, 17-34.
- Molnar,Z., Higashi,S. & Lopez-Bendito,G. (2003) Choreography of early thalamocortical development. *Cereb.Cortex*, **13**, 661-669.
- Necker,R., Rehkämper,G. & Nevo,E. (1992) Electrophysiological mapping of body representation in the cortex of the blind mole rat. *Neuroreport.*, **3**, 505-508.
- Ohuchi,H., Tomonari,S., Itoh,H., Mikawa,T. & Noji,S. (1999) Identification of chick rax/rx genes with overlapping patterns of expression during early eye and brain development. *Mech.Dev.*, **85**, 193-195.
- Olavarria,J.F. & Van Sluyters,R.C. (1984) Callosal connections of the posterior neocortex in normal eyed, congenitally anophthalmic, and neonatally enucleated mice. *J.Comp.Neurol.*, **230**, 249-268.
- Paperna,T. & Malach,R. (1991) Patterns of sensory intermodality relationships in the cerebral cortex of the rat. *J.Comp.Neurol.*, **308**, 432-456.
- Pascual-Leone,A., Amedi,A., Fregni,F. & Merabet,L.B. (2005) The plastic human brain cortex. *Annu.Rev.Neurosci.*, **28**, 377-401.
- Piché,M., Robert,S., Miceli,D. & Bronchti,G. (2004) Environmental enrichment enhances auditory takeover of the occipital cortex in anophthalmic mice. *Eur.J.Neurosci.*, **20**, 3463-3472.
- Qian,Y., Wu,M. & Jen,P.H.S. (1996) Tracing the auditory pathways to electrophysiologically characterized neurons with HRP and Fos double-labeling technique. *Brain Res.*, **731**, 241-245.

- Rauschecker, J.P. & Korte, M. (1993) Auditory compensation for early blindness in cat cerebral cortex. *J. Neurosci.*, **13**, 4538-4548.
- 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.
- Scheich, H. & Zusratter, W. (1995) Mapping of stimulus features and meaning in gerbil auditory cortex with 2-deoxyglucose and c-Fos antibodies. *Behav. Brain Res.*, **66**, 195-205.
- Schroeder, C.E. & Foxe, J. (2005) Multisensory contributions to low-level, 'unisensory' processing. *Curr. Opin. Neurobiol.*, **15**, 454-458.
- Silver, J. (1977) Abnormal development of the suprachiasmatic nuclei of the hypothalamus in a strain of genetically anophthalmic mice. *J. Comp. Neurol.*, **176**, 589-606.
- Toldi, J., Farkas, T. & Völgyi, B. (1994a) Neonatal enucleation induces cross-modal changes in the barrel cortex of rat. A behavioural and electrophysiological study. *Neurosci. Lett.*, **167**, 1-4.
- Toldi, J., Feher, O., Joo, F., Antal, A. & Wolff, J.R. (1990) Sodium bromide treatment influences the plasticity of somatosensory responses in the rat cortex as induced by enucleation. *Neurosci.*, **37**, 675-683.
- Toldi, J., Rojik, I. & Fehér, O. (1994b) Neonatal monocular enucleation-induced cross-modal effects observed in the cortex of adult rat. *Neurosci.*, **62**, 105-114.
- Tucker, P., Laemle, L., Munson, A., Kanekar, S., Oliver, E.R., 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.
- Voss, P., Gougoux, F., Lassonde, M., Zatorre, R.J. & Lepore, F. (2006) A positron emission tomography study during auditory localization by late-onset blind individuals. *Neuroreport.*, **17**, 383-388.
- Wallace, M.T., Ramachandran, R. & Stein, B.E. (2004) A revised view of sensory cortical parcellation. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.*, **101**, 2167-2172.
- Wallhäuser-Franke, E., Braun, S. & Langner, G. (1996) Salicylate alters 2-DG uptake in the auditory system: A model for tinnitus? *Neuroreport.*, **7**, 1585-1588.
- Wallhäuser-Franke, E., Mahlke, C., Oliva, R., Braun, S., Wenz, G. & Langner, G. (2003) Expression of c-fos in auditory and non-auditory brain regions of the gerbil after manipulations that induce tinnitus. *Exp. Brain Res.*, **153**, 649-654.
- Warton, S.S., Dyson, S.E. & Harvey, A.R. (1988) Visual thalamocortical projections in normal and enucleated rats: HRP and fluorescent dye studies. *Exp. Neurol.*, **100**, 23-39.

Watkins,S., Shams,L., Tanaka,S., Haynes,J.D. & Rees,G. (2006) Sound alters activity in human V1 in association with illusory visual perception. *Neuroimage.*, **31**, 1247-1256.

West,M.J., Slomianka,L. & Gundersen,H.J. (1991) Unbiased stereological estimation of the total number of neurons in the subdivisions of the rat hippocampus using the optical fractionator. *Anat.Rec.*, **231**, 482-497.

Wittenberg,G.F., Werhahn,K.J., Wassermann,E.M., Herscovitch,P. & Cohen,L.G. (2004) Functional connectivity between somatosensory and visual cortex in early blind humans. *Eur.J.Neurosci.*, **20**, 1923-1927.

Zuschratter,W., Gass,P., Herdegen,T. & Scheich,H. (1995) Comparison of frequency-specific c-Fos expression and fluoro- 2-deoxyglucose uptake in auditory cortex of gerbils (*Meriones unguiculatus*). *Eur.J.Neurosci.*, **7**, 1614-1626.

*Figures and tables captions*

Fig 15 Auditory evoked c-Fos immunoreactivity in the inferior colliculus. (A) Photomicrographs of sections demonstrating c-Fos activity in the IC contralateral to the stimulated ear of control, mutant and enucleated mice. Scale bars = 500  $\mu\text{m}$ . (B) Box plot describing the distribution of the estimated numbers of c-Fos-IR nuclei in the whole inferior colliculus in each group. The horizontal lines indicate the minimum, the 25th percentile, the median, the 75th percentile and the maximum points for each data set. The dashed line indicates the mean. Mean and standard deviation for each group are displayed at the bottom of the box-plot. Note that the auditory activity in IC does not differ among the experimental groups.

Fig 16 Auditory evoked c-Fos immunoreactivity in the lateral geniculate nucleus dorsal. (A) Photomicrographs of sections demonstrating c-Fos activity in the LGNd contralateral to the stimulated ear in control, mutant and enucleated mice. On the right side of each photographs is displayed the corresponding plot of all the c-Fos-IR nuclei found in 4 consecutive sections through the visual thalamus. Scale bars = 500  $\mu\text{m}$  (identical for photomicrographs and plots). (B) Box plot describing the distribution of the number of c-Fos-IR nuclei counted in LGNd in each group. Parameters as in figure 1. *P* values obtained with the *post hoc* test Tamhane are indicated on box plot. Note that the auditory activity can be found in LGNd in mutant mice only. Also, note the reduced size of the LGNd in the mutant and the enucleated mice in comparison to the control mouse.

Fig 17 Auditory evoked c-Fos immunoreactivity in the primary auditory cortex. (A) Photomicrographs of sections demonstrating c-Fos activity in the AC contralateral to the stimulated ear in control, mutant and enucleated mice. Arrangement of the pictures

and plottings as in figure 2. The plotting depicts all the c-Fos-IR nuclei found in 4 consecutive sections through the temporal cortex. The cortical layers are indicated above the plot. Scale bars = 500  $\mu\text{m}$  (identical for photomicrographs and plots). (B) Box plot describing the distribution of the estimated numbers of c-Fos-IR nuclei throughout AC in each group. Parameters as in figure 1. Note that the auditory activity in AC, including the secondary auditory cortex dorsal and ventral (AUd, AUv), does not differ among all the experimental groups.

Fig 18 Auditory evoked c-Fos immunoreactivity in the primary visual cortex. (A) Photomicrographs of sections demonstrating c-Fos activity in V1 contralateral to the stimulated ear in control, mutant and enucleated mice. Organization of the pictures and plottings as in figure 2. The plotting depicts all the c-Fos-IR nuclei found in 4 consecutive sections through the occipital cortex. Scale bars = 500  $\mu\text{m}$  (identical for photomicrographs and plots). Note that the auditory activity is mainly present in layers IV and VI in the mutant mice. (B) Box plot describing the distribution of the estimated numbers of c-Fos-IR nuclei throughout V1 in each group. Parameters as in figure 1. *P* values obtained with the *post hoc* test Tamhane are indicated on box plot. While the auditory activity in V1 seems to be stronger in the enucleated mice in comparison to the control mice this difference is not statistically significant.

Fig. 19 Auditory evoked c-Fos immunoreactivity in the lateral secondary visual cortex. (A) Photomicrographs of sections demonstrating c-Fos activity in V2l contralateral to the stimulated ear in control, mutant and enucleated mice. Organization of the pictures and plottings as in figure 2. The plotting depicts all the c-Fos-IR nuclei found in 4 consecutive sections through the occipital cortex. Scale bars = 500  $\mu\text{m}$

(identical for photomicrographs and plots). Note that the auditory activity in the enucleated mice is mainly present close to the border with AC and in supragranular layers. (B) Box plot describing the distribution of the estimated numbers of c-Fos-IR nuclei throughout V2l in each group. Parameters as in figure 2. *P* values obtained with the *post hoc* test Tamhane are indicated on box plot. While the auditory activity in V2l seems to be stronger in the enucleated mice in comparison to the mutant mice this difference is not statistically significant.

Fig 20 Auditory evoked c-Fos immunoreactivity in the medial secondary visual cortex. (A) Photomicrographs of sections demonstrating c-Fos activity in the V2m contralateral to the stimulated ear in control, mutant and enucleated mice. Organization of the pictures and plottings as in figure 2. The plotting depicts all the c-Fos-IR nuclei found in 4 consecutive sections through the occipital cortex. Scale bars = 500  $\mu$ m (identical for photomicrographs and plots). Note that the auditory activity in the enucleated mice is evenly distributed in V2m. (B) Box plot describing the distribution of the estimated numbers of c-Fos-IR nuclei throughout V2m in each group. Parameters as in figure 2. *P* values obtained with the *post hoc* test Tamhane are indicated on box plot. Note that the difference between enucleated and mutant is not statistically significant.

Fig 21. Tracer injection in a C57BL/6 eyed mouse. (A) The injection site of the tracer in the inferior colliculus is presented with photomicrographs of five serial sections that cover the entire extent of the injection. Note that the injection avoids the superior colliculus (B) Photomicrograph of a section through the MGN illustrating the terminal arborization of the incoming IC fibers. (C) Photomicrograph of a Nissl stained coronal section through the visual thalamus. Contours of LGNd and LP are delineated. Squares

correspond to the enlarged areas from LGNd and LP presented in D and E, respectively. (D, E) LGNd and LP, respectively, in the section, adjacent to C, reacted for BDA histochemistry. Note that LGNd is devoid of BDA label, while few axons are seen in LP. Scale bars = 100  $\mu\text{m}$  for all photographs.

Fig. 22 Tracer injection in a ZRDCT/An mouse. The organization of the plate is as in Fig. 7. Note in C the reduced size of LGNd and LP as compared to that of the normal control. Note also the thick ramified auditory fibers, coming from the inferior colliculus, with numerous terminals within LGNd in D and the long fibers with small varicosities passing through the medial part of LP in E. Scale bars = 100 $\mu\text{m}$ .

Fig 23 Tracer injection in a neonatally enucleated C57Bl/6 mouse. The organization of the plate is as in Fig. 7. Note in C the reduced size of LGNd and LP as compared to that of the normal control. The square delineates the enlarged area in E. Note in D that LGNd is devoid of BDA label, while a thin auditory fiber is found in LP (E). Scale bars = 100 $\mu\text{m}$ .

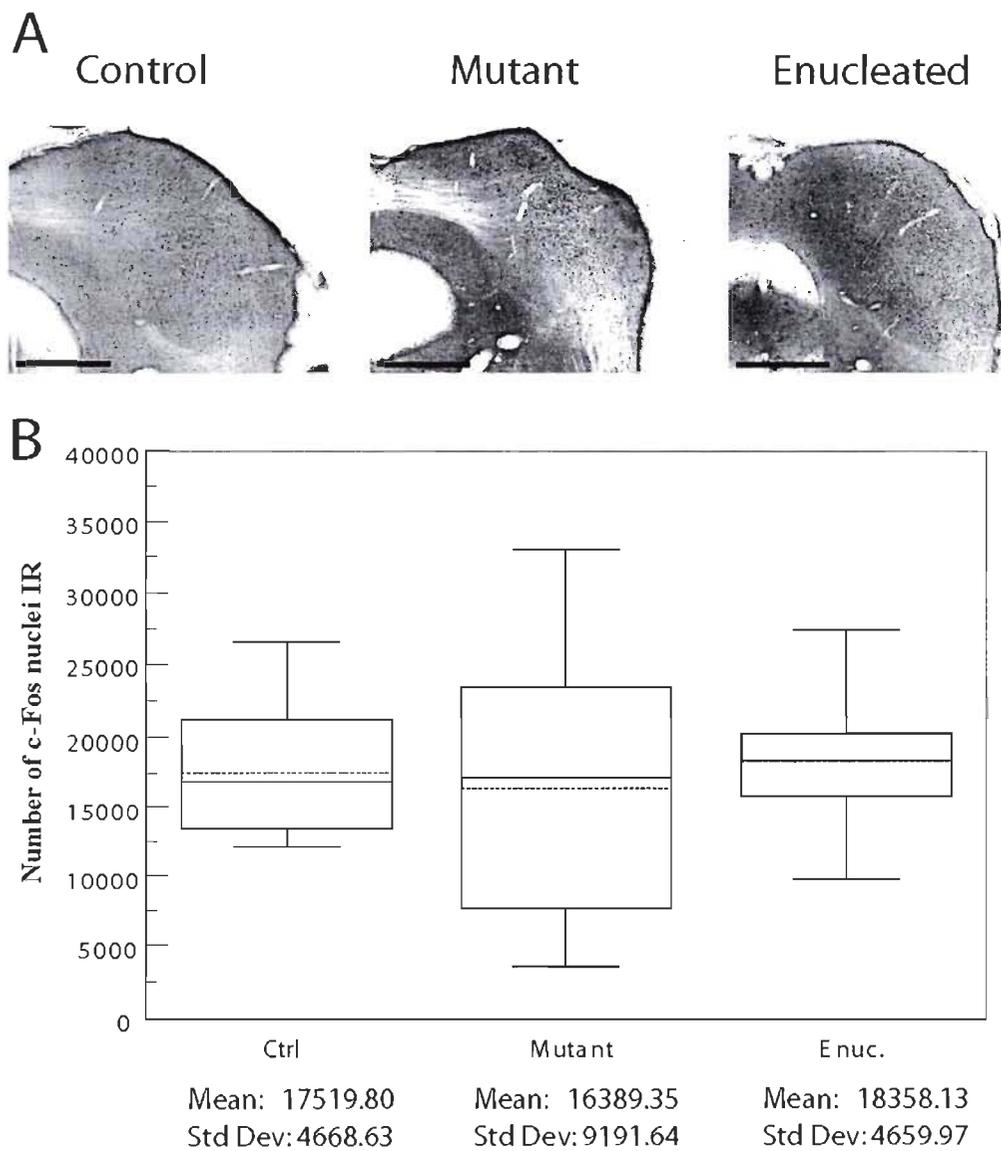
Fig 24 Retrogradely labeled cells in AC following injection of BDA in the inferior colliculus. Series of photomicrographs from coronal sections that undergone BDA histochemistry. Experimental groups are organized in rows with controls, mutants and enucleated mice represented on the upper, middle and lower row respectively (these are the same cases presented in Fig. 7 – 9). The left column offers a general view of the posterior cortex at the border between occipital and temporal cortices; middle column depicts high magnifications of the Nissl counterstained corresponding sections to allow precise delimitation between AC and V2l (see text for criteria); the right column shows high magnifications of the BDA reacted sections at the same level. The black line

indicates, in each section, the exact border between AC and V2l. The important point here is that all retrogradely labeled somata are within AC exclusively. Thin arrows in the lower right photomicrograph point to the pale labeled somata. Scale bars = 500 $\mu$ m.

Table 2 Animals details. This table summarizes all experimental animals used in the experimentation

Table 3 Methodological details describing design-based stereological study. Note that there are two sets of settings, one for the estimation of the number of c-Fos-IR nucleus and one for the estimation of the number of neurons. The set of settings is similar for all animals in each structure, except in LGNd for the c-Fos experiment. The  $m=1$  is used in the newer Gundersen's CE estimate formula (Gundersen, 1999).

*Figures and Tables*



**Figure 15** Auditory evoked c-Fos immunoreactivity in the inferior colliculus

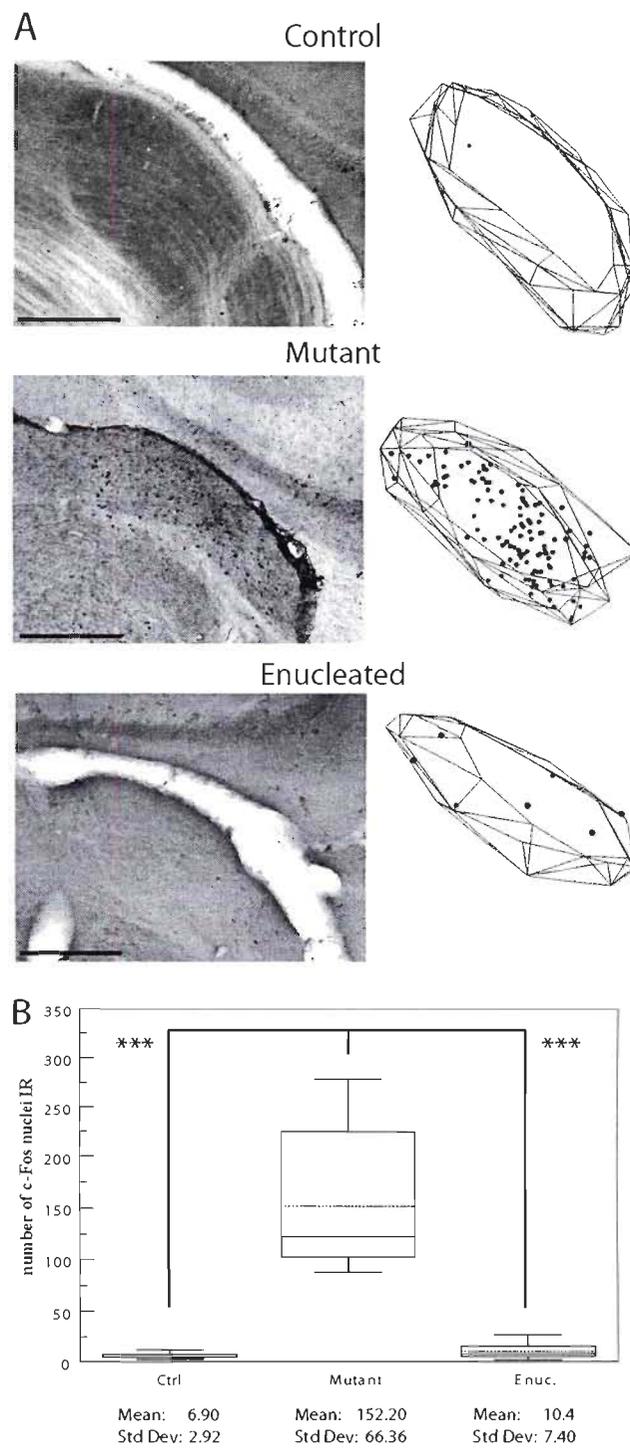


Figure 16 Auditory evoked c-Fos immunoreactivity in the lateral geniculate nucleus dorsal.

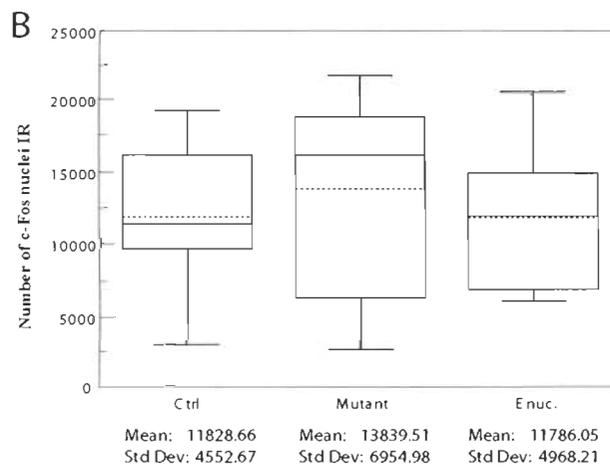
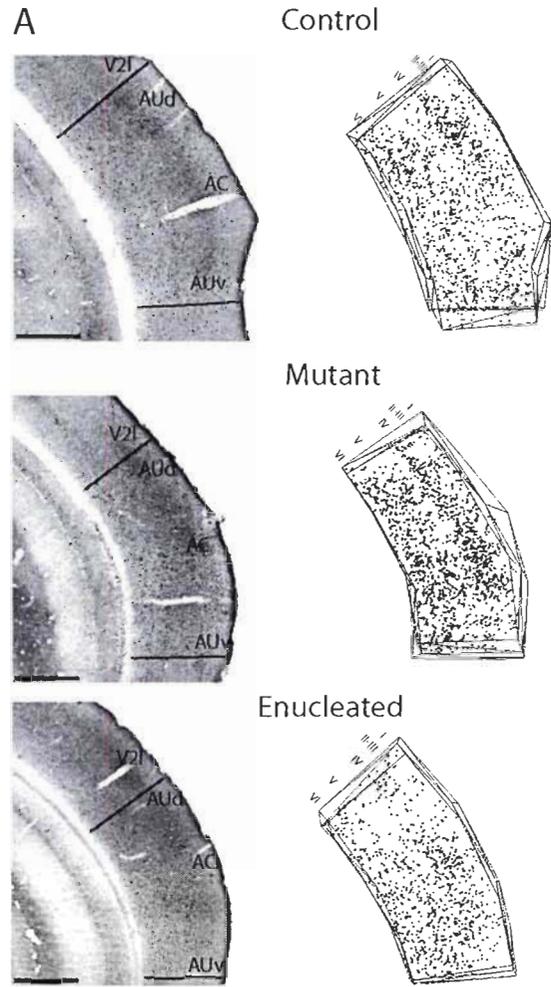


Figure 17 Auditory evoked c-Fos immunoreactivity in the primary auditory cortex.

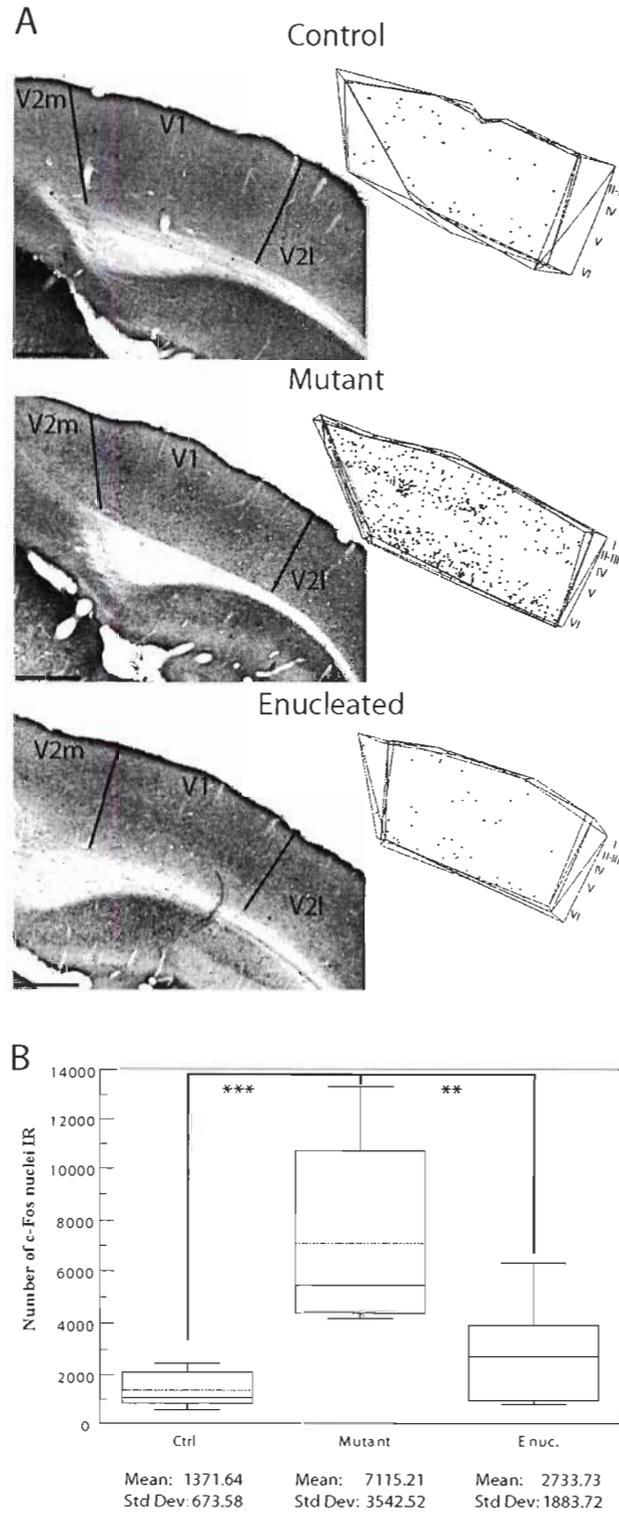
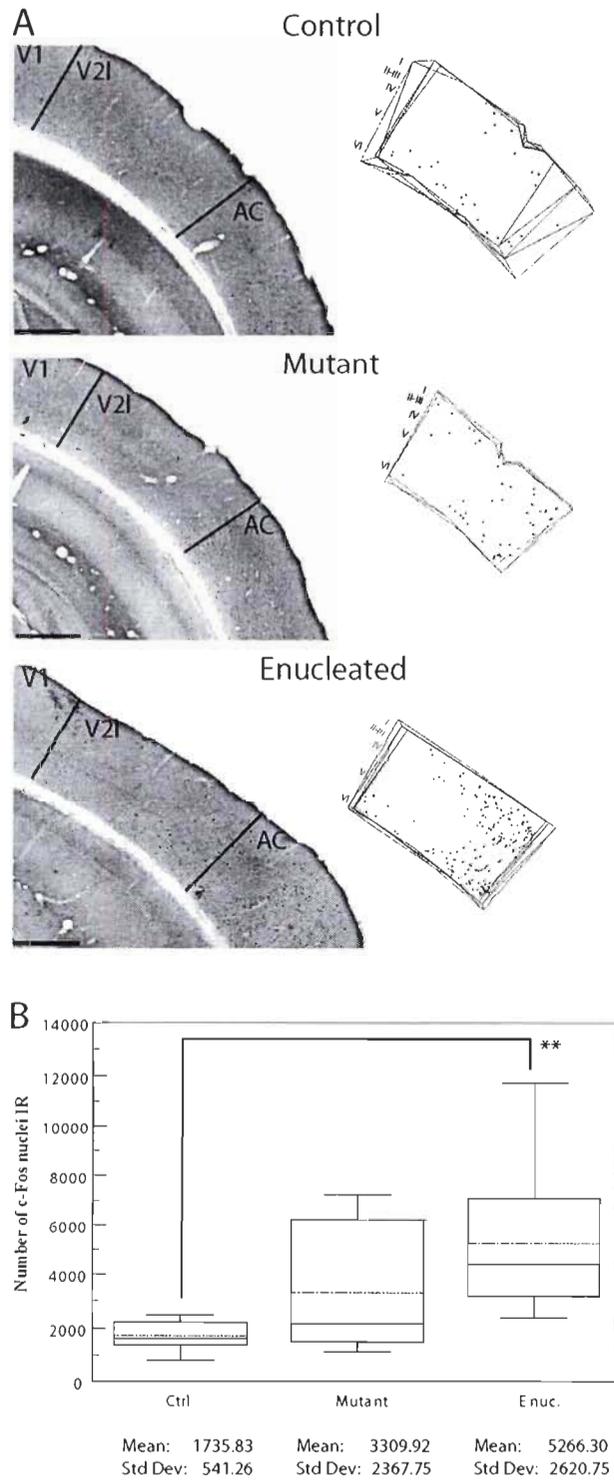


Figure 18 Auditory evoked c-Fos immunoreactivity in the primary visual cortex.



**Figure 19** Auditory evoked c-Fos immunoreactivity in the lateral secondary visual cortex.

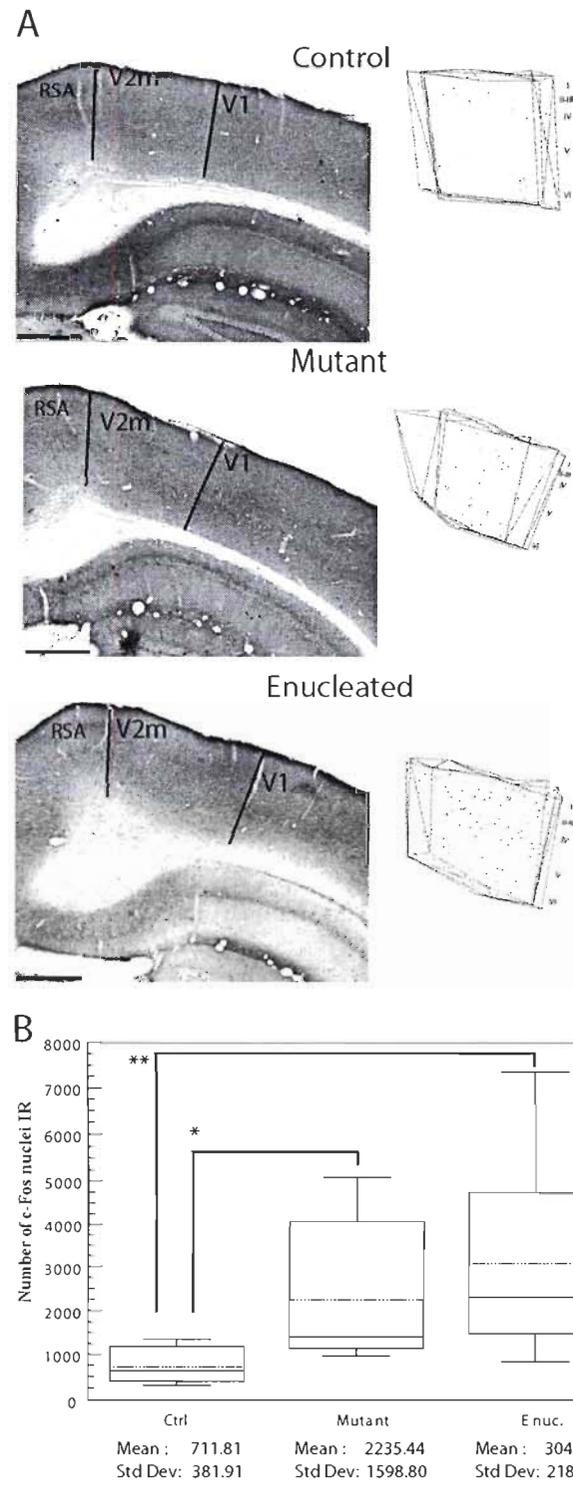
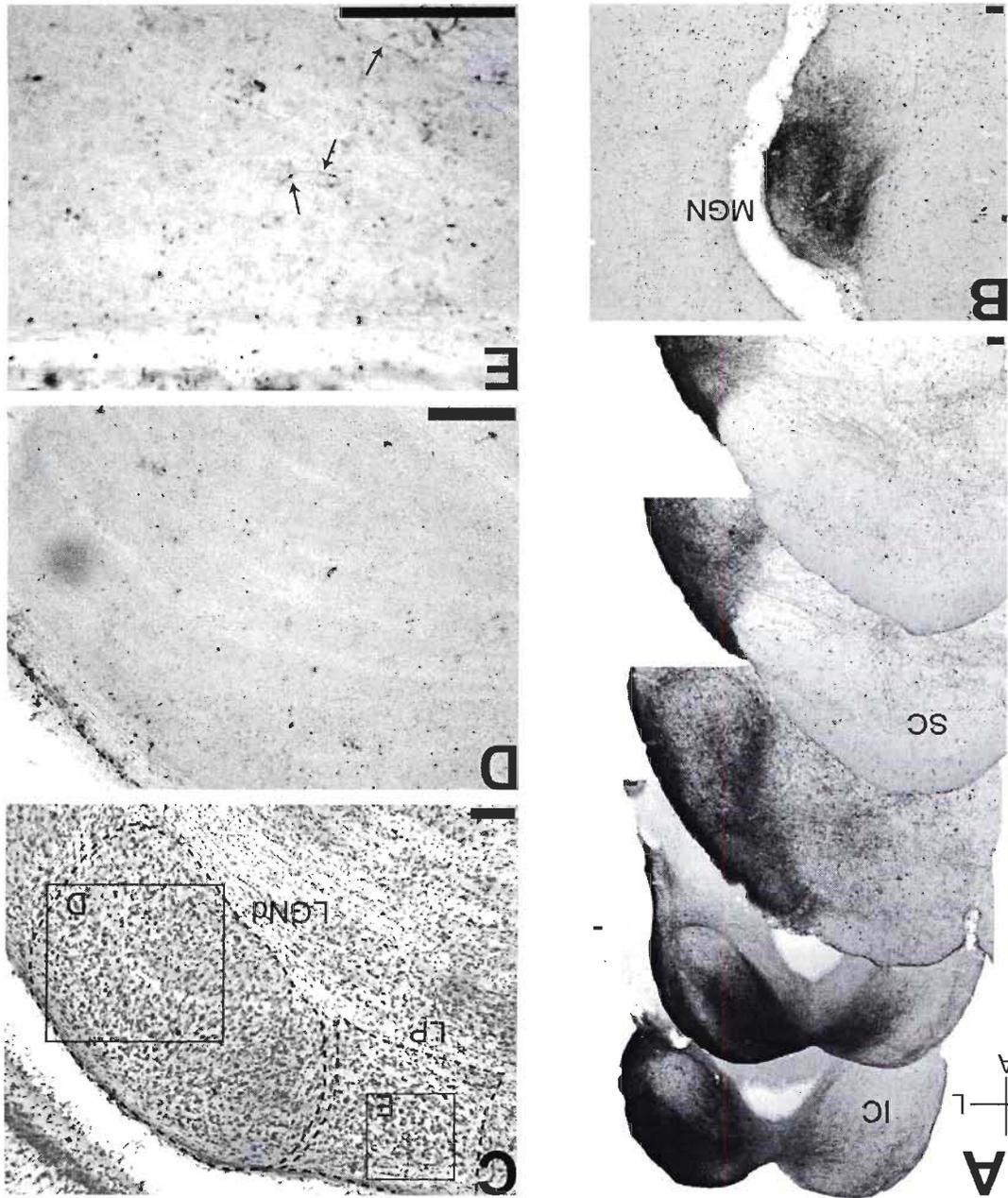


Figure 20 Auditory evoked c-Fos immunoreactivity in the medial secondary visual cortex.

Figure 21 Tracer injection in a C57BL/6 eyed mouse.



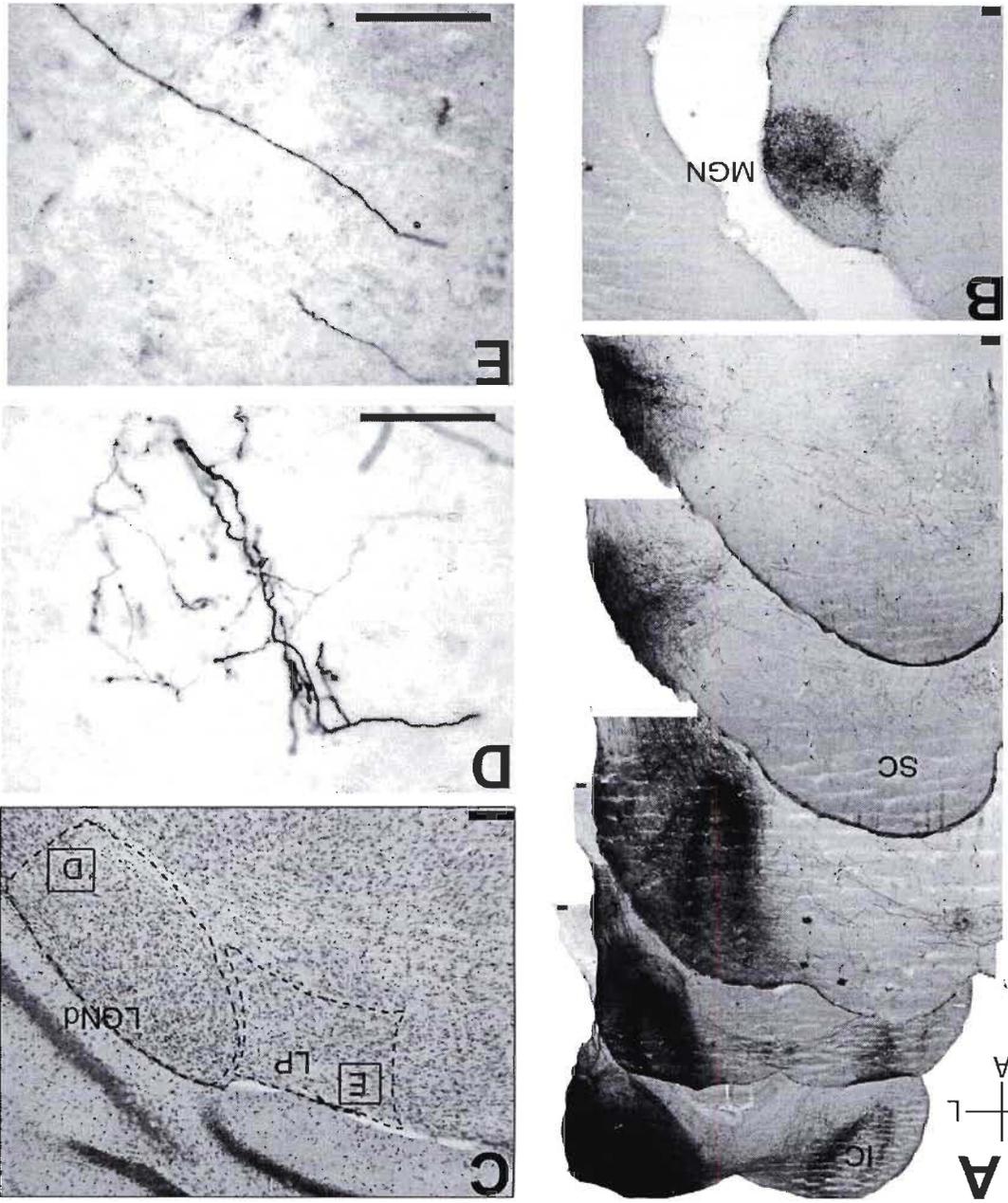
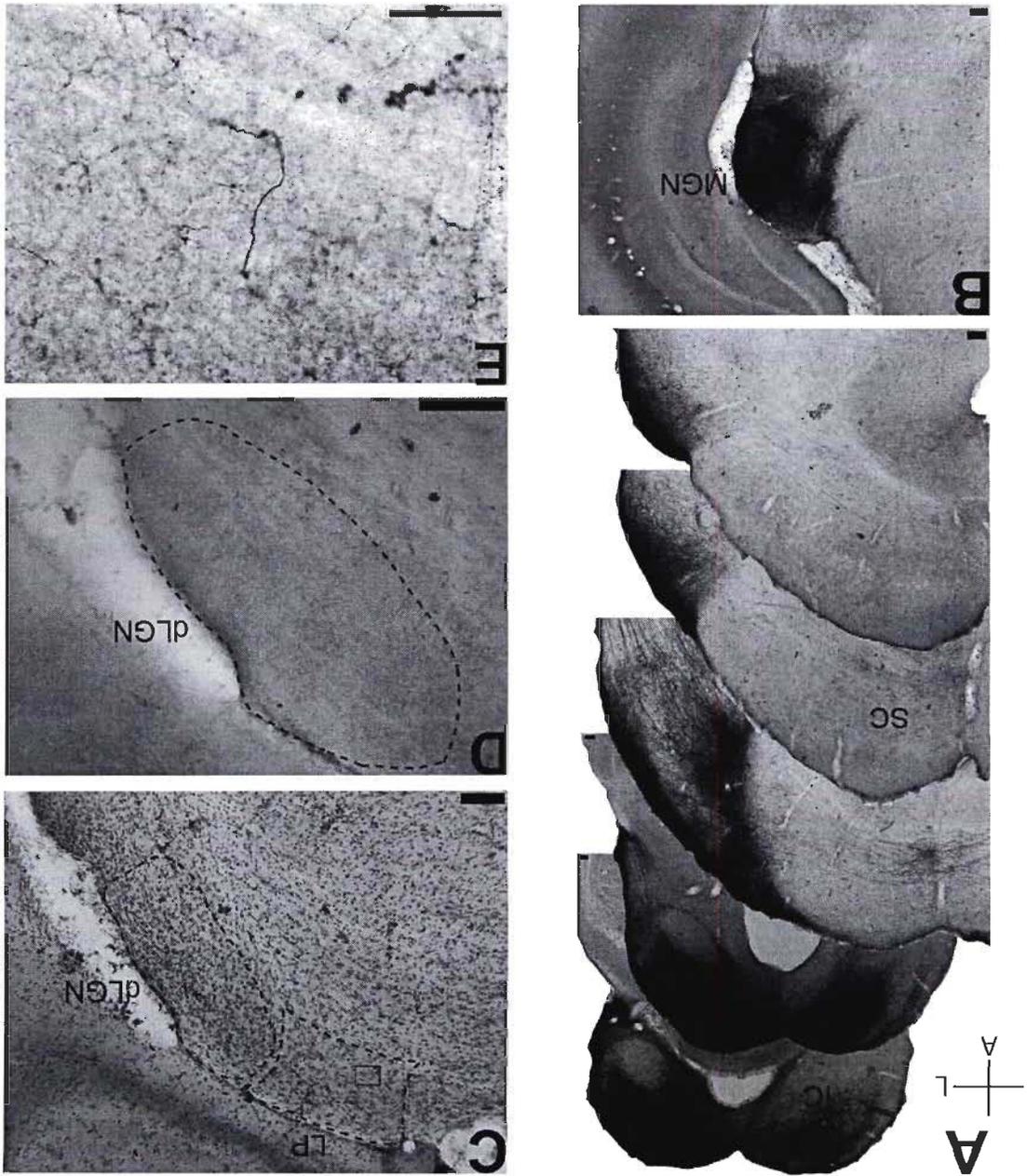


Figure 22 Tracer injection in a ZRDCT/An mouse.

Figure 23 Tracer injection in a neonatally enucleated C57Bl/6 mouse.



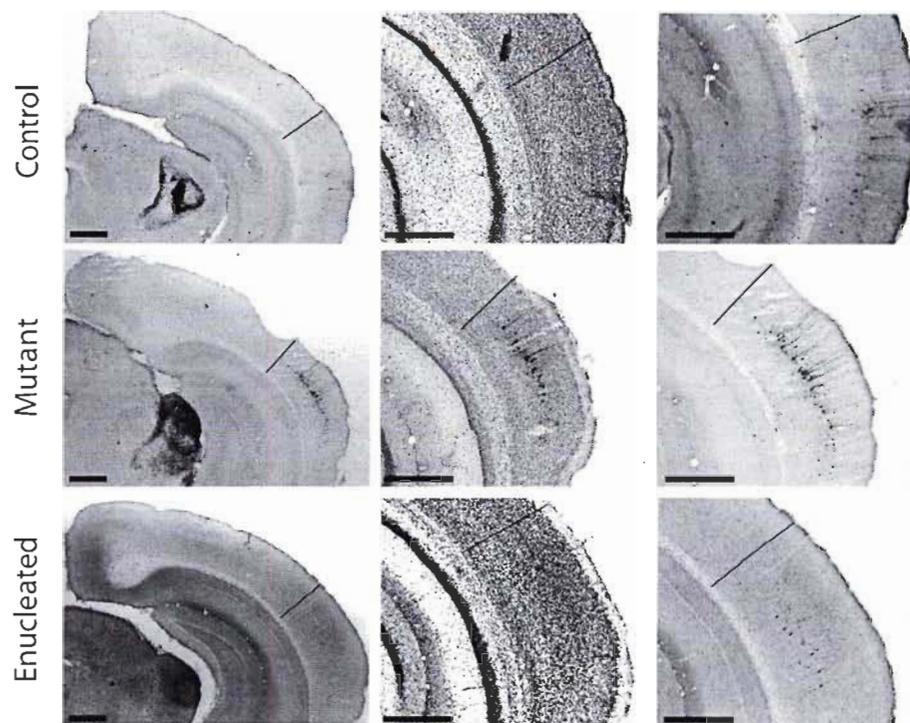


Figure 24 Retrogradely labeled cells in AC following injection of BDA in the inferior colliculus.

Experiment and strain	Number of animals	Mean Age in days
c-Fos		
Control	10	102
Enucleated	10	103
Mutant	10	103
Neuronal Tracing		
Control	4	105
Enucleated	4	98
Mutant	4	113

**Table 2** Animals details

	IC	LGNd	AC	V1	V2l	V2m
Mean no.of investigated sections	9	10	7	9	8	8
Mean no.of investigated microscopic fields	142	-	143	194	143	112
Mean section thickness after histologic processing	15	-	14	14	15	14
Settings						
• base area $\mu\text{m}^2$	10 000	-	10 000	10 000	10 000	10 000
• height $\mu\text{m}$	11	-	10	10	11	10
• guard zones $\mu\text{m}$	4	-	4	4	4	4
• distance between counting spaces $\mu\text{m}$	210	-	210	210	210	210
Mean no.of counted cells	833	57	608	191	173	105
Coefficient of error	Gundersen m=1	-	Gundersen m=1	Gundersen m=1	Gundersen m=1	Gundersen m=1

Table 3 Methodological details describing design-based stereological study. The m=1 is used in the newer Gundersen's CE estimate formula (Gundersen, 1999).

## *Annexe1 Author Guidelines*

### Preparation of the Manuscript

#### Research Reports

The major part of each Issue of EJM is devoted to *Research Reports*. These must describe significant and original observations and provide sufficient detail for the observations to be critically evaluated and, if necessary, repeated. *Research Reports* do not normally exceed 12 printed pages in *EJM*, but the length of a paper will not, in itself, preclude publication. In general, allow 1,350 words - including references and legends - per printed page and subtract 600 words for each table and figure.

#### Formatting your manuscript

##### General

The format of your manuscript should be as follows: Title page, Abstract, Introduction, Materials and Methods, Results, Discussion, Acknowledgements, Abbreviations, References, Tables, Figure Legends and Figures. First (main) mentions of figures and tables in the text should be in numerical order. Headings and sub-headings should not end with a full stop. The manuscript should be formatted in double spacing and the lines should not be numbered. The text of your paper should be saved as a .doc file. Manuscripts are expected to document the origin and specificity of reagents used, particularly antibodies, to document institutional authorization for conducting research in humans and animals, to conduct adequate statistical analyses and comprehensively report statistical results, and to be written in English.

## Title Page

The Title page must include:

- The proposed Journal section and the author's nomination for Associate Editor (at the top right-hand side of the page)
- A clear and concise title
- The authors name(s) and surnames

Note: Authors who normally write their names in non-Latin characters may include both a transliterated version of their names, followed in parenthesis by their names in their native writing system. Any non-Latin languages that can be represented in Unicode characters will be accepted.

- The address(es) from which the work originated
- The name, address, fax number and e-mail address of the person who will deal with correspondence, including proofs (which are sent electronically)
- A running title not in excess of 50 characters and spaces
- The total number of pages, figures, tables and equations
- The total number of words in: (i) the whole manuscript; (ii) the Abstract; and (iii) the Introduction.
- A list of four or five keywords not appearing in the title, preceded by "Keywords:"

If the species used does not appear in the title, it should be included in the keywords and be mentioned in the first few lines of the abstract

## Abstract

*Research Reports* and *Review Articles* should start with an Abstract, which appears before the main body of the text for use in abstracting database services. The Abstract should be written in complete sentences and should provide a summary *not exceeding 250 words*, in a form comprehensive to any neuroscientist and suitable for publication without the full article text. Thus, if references are used in an abstract, they must include the author(s), journal title, volume number, page span, and year. Abbreviations should be avoided as far as possible in the Abstract.

## Main text

### *Introduction*

The main part of a *Research Report* should start with a brief Introduction, *not exceeding 500 words*, which outlines the historical or logical origins of the study and clearly states the aim of the study and/or hypothesis to be tested, without repeating the Abstract or summarizing the results.

*Materials and methods* The methods should be described in sufficient detail for the observations to be critically evaluated and, if necessary, repeated by interested readers.

(i) *Experimental subjects* When human subjects are used, manuscripts must be accompanied by a statement that the experiments were undertaken with the understanding and written consent of each subject, and that the study conforms with The Code of Ethics of the World Medical Association (Declaration of Helsinki), printed in the *British Medical Journal* (18 July 1964).

When experimental animals are used, it is important to define species, strain, sex, age, supplier, and numbers of animals used (as well as distribution of animals across groups). If genetically modified mice are used, the genetic background has to be indicated, including the generation since the founder and the number of backcrosses (if applicable) to an inbred strain. The Materials and methods section must briefly but explicitly state measures which were taken to minimize pain or discomfort, e.g. type and dose of anaesthetic used. Experiments should be carried out in accordance with the European Communities Council Directive of 24 November 1986 (86/609/EEC) or with the Guidelines laid down by the NIH in the US regarding the care and use of animals for experimental procedures.

All studies using human or animal subjects should include an explicit statement in the Materials and Methods section identifying the Review and Approval Committee for each study. Editors reserve the right to reject papers if there is doubt whether appropriate procedures have been used.

*(ii) Suppliers* Suppliers of materials should be named and, with the exception of well-known suppliers, such as Sigma, Kodak and Zeiss, their location (town, state/county, country) included.

*(iii) Reagents*

The origin and specificity of reagents, notably antibodies, oligonucleotides, cDNA constructs, need to be documented, including the nucleic acid sequence or peptide sequence used. Nucleic acid probes should be fully sequenced when applicable. Control

experiments that were conducted to ensure the specificity of the method (immunohistochemistry, immunoprecipitation, in situ hybridization) should be described, along with key references to previous work with this reagent. For antibodies, the documentation includes, in addition, a precise description of the antigen, the nature of the antibody (species, purification), the supplier, catalogue number, and specificity tests performed (e.g., Western blot, immunoprecipitation, validation with knockout tissue, etc), as recommended by Saper (Saper CB, An open letter to our readers on the use of antibodies, *Journal of Comparative Neurology* 493:477-478).

*(iv) Microscopy and digital photography*

Information necessary to evaluate the resolution of images from microscopy (type of microscope, numerical aperture of the lens) should be provided. It is necessary to identify what forms of digital manipulation were employed in preparing images from digital photography (e.g., adjusting brightness, contrast, sharpness, evenness of illumination, etc.). If images were retouched, it is essential to identify these changes. For quantification of digital parameters (signal intensity, size or number of objects), precise information about the procedure, normalization, and calibration (if applicable) has to be provided.

*Results and Statistical Analyses* The observations should be presented with minimal reference to earlier literature or to possible interpretations. The main statistical results should be described in the result section. The description of statistical results in the figure legends should be limited to important *post hoc* comparisons. The description of the statistical results should include the proper statistical term (such as the *F* statistic) as well as the degrees of freedom. In case of corrections, such as for the violation of the

sphericity assumption, it is most informative if the original degrees of freedom are cited together with the corrected p-value. We are also encouraging the referencing of exact p-values, as recommended by Greenwald et al. (Greenwald A, Gonzalez R, Harris R, Guthrie D Effects sizes and p-values: what should be reported and what should be replicated. *Psychophysiology* 33: 157-183).

### *Discussion*

The Discussion may usefully start with a brief summary of the major findings, but repetition of parts of the Abstract or of the Results section should be avoided.

### *Acknowledgements*

A short statement about grant and other financial support should be given, along with a list of contributions from collaborators who are not co-authors (it is implicit that they agree with this mention).

### *Abbreviations*

Abbreviations should be kept to an absolute minimum. Their use saves relatively little space and adds greatly to a reader's sense of confusion. In general, abbreviations should not appear in the Abstract, and sentences that contain more than a single abbreviation merit careful review. Abbreviations must be used more than four times in an article, and consistently, before their use can be permitted except where an abbreviation is in wide general use (e.g. ACh) or replaces a cumbersome long term. The word must always be written out in full when first used and the proposed abbreviation given in parentheses. A

list of all abbreviations used in the text and their meanings must be provided (in alphabetic order).

## References

All references must be listed, and all listed references must be cited at least once in the main text (particular care is needed to check this after any modification or revision of the text). Citations in the text should be given in parenthesis, e.g. (Blanc & White, 1985; Weiss *et al.*, 1986) except when the author's name is part of a sentence, e.g. "White (1985) reported that ... ". Where there are two authors, both should be named, but with three or more, only the first author's name plus '*et al.*' should be given. Note that when more than one paper refers to the same first authors in the same year, a, b, c suffixes must be used in the text and reference list to avoid ambiguities, written as (Weiss *et al.*, 1986a; White, 1986a, c).

## *Reference list*

There should be a list of references in alphabetic order according to the name of the first author and then chronologically where several papers by the same author are cited. No characters (e.g. numbers or tabs) should appear before the first authors name. The titles of journals should be abbreviated in accordance with the *World List of Scientific Periodicals*, 4th edition. Single-word titles, e.g. *Psychoneuroendocrinology*, should not be abbreviated.

All authors should be included in each reference appearing in the Reference List; these should not be abbreviated to *et al.*

Only published and 'In Press', i.e. accepted for publication in a specific journal or book references should be included in the reference list.

Journal articles should be formatted as follows:

Lancaster, B. & Boxall, A. R. (1998) Tyrosine kinases and synaptic transmission. *Eur. J. Neurosci.*, **10**, 2-7. Note the emboldening of the Volume number.

Books should be listed as follows:

Matthews, G.G. (1997) *Neurobiology*. Blackwell Science, Oxford.

Katz, D.I. (1997) Traumatic brain injury. In Mills, V.M., Cassidy, J.W. & Katz, D.I. (eds), *Neurologic Rehabilitation. A Guide to Diagnosis, Prognosis and Treatment Planning*. Blackwell Science, Oxford, pp. 105-143.

Symposia contributions should take a similar format to books, including the place and date of the meeting, the name and location of the organiser/publisher, both overall and contribution titles, all authors and Editors names, and page number(s):

Fuss, S.H., Çelik, A. & Korsching, S.I. (2001) Levels of olfactory information processing in the zebrafish olfactory bulb. In Elsner, N. & Kreuzberg, G.W. (eds), *Göttingen Neurobiology Report 2001. Proceedings of the 4th Meeting of the German Neuroscience Society 2001*, Vol. II, 28th Göttingen Neurobiology Conference. Georg Thieme Verlag, Stuttgart, p. 474.

Tables

- These must be supplied as editable text and not as embedded figures/objects.
- They should have a bold title and appear in the text following the references
- All columns should have a heading

#### Figures

- All figures and tables should be uploaded separately and must be labelled with a figure or table number.
- DO NOT use Windows picture & fax viewer to create your images; this is not an appropriate graphic application and will not create high-resolution images. Photoshop or IrfanView (free download on Web) may be used. The figures need to be of a high resolution and saved as .tiff files (300 d.p.i. for colour/half tone and 800 d.p.i. for line work (black line art, white background), or saved as .eps or .doc files.
- The initial upload of lower resolution images is sufficient (.jpg files allowed; 2 MB maximally); upon acceptance high resolution TIFF images are requested
- To ensure accurate conversion of characters, standard fonts such as Times, Times New Roman, Ariel or Helvetica should be used for preparing the text and figures
- Symbol font should be used to convert Greek characters and other non-standard characters such as the degree symbol.

There is no limit to the number of figures per manuscript, but authors should use them sparingly, making sure that each figure is relevant to the text and that the figures are presented and numbered in the order in which they are mentioned in the text. When there

are large numbers of figures, layout problems are less likely to occur if the figures are of similar shapes and sizes.

### *Figure legends*

These should explain each figure as fully as possible, referring the reader to the text only on rare occasions in order to avoid repeating in the legends material that must be included in the text. All abbreviations used in the figures should be explained in each legend when there are less than five abbreviations used; for legends with large numbers of abbreviations, the authors should include these in the abbreviations list (see above).

### *Colour figures*

Colour reproduction costs are charged per page of colour. Colour figures that are sequentially numbered can be placed on the same page to reduce costs. Avoiding a mix of colour panels with black and white ones can reduce costs, improve reproduction and allow more space for the colour. Authors will be asked to return a signed copy of the completed Colourwork Agreement Form prior to publication:  
<http://www.blackwellpublishing.com/pdf/ejn/pdf>

### *Cover illustrations*

If you have any colour illustrations, either appearing in your paper or relating to it, that would make good images for the front cover, please submit them by email with a short legend to the Editorial Office, indicating to which paper the photograph belongs

Supplementary Material

Supplementary material such as data sets or additional figures or tables may be submitted for review purposes. However, these will not be published in the print edition of the journal but may be included in the online edition, or a link to the information given. Supplementary material should appear at the end of the manuscript, i.e. following the figures.

#### Production quality artwork guidelines

All electronic artwork sent to the publishers should conform to these standards. Please refer to [http://www.blackwellpublishing.com/authors/submit\\_illustr.asp?site=1](http://www.blackwellpublishing.com/authors/submit_illustr.asp?site=1) for detailed guidelines on electronic artwork. Files need to be of a high resolution and preferably TIFF files (300 d.p.i. for colour/half tone and 800 d.p.i. for line work) or EPS files. TIFF files can be saved with LZW compression to reduce file size (Photoshop). Files can also be zipped with WinZip. Files with colour should be saved as CMYK ready for production work (not RGB).

Figures should be numbered as a single series and each figure should be clearly labelled with the name of the author(s), the title of the paper and the figure number. Wherever possible figures should be submitted in their desired final size, to fit the width of a single column of text, i.e. 88 mm wide, or where necessary they should be 184 mm in maximum width. The final size of the printed figure cannot exceed 230 x 184 mm including legends, and where a reduction is required this should be indicated on the figures. Any lettering should be no less than 2 mm in height in the printed figure and should be in proportion to the overall dimensions of the figure.

All symbols and letters must be produced clearly, and labels should be large enough for the final reduction and should show clearly against the background. Where several figures are mounted together they should be squared accurately and separated by about 5 mm. All of the figures in such a group should have approximately the same contrast values. Where regions of particular importance can be identified it is useful to indicate these on a transparent or semi-transparent overlay. Instructions to printers regarding required contrast values or detail will help the printer to produce the best results.

### *Colour plates*

The full cost of publishing colour figures must be met by the authors. The cost per printed page with colour is £450 + VAT. These charges are waived for all Review Articles, and on request for authors from former Eastern Bloc countries publishing *Research Articles*. A signed copy of the completed Colour Agreement Form must be sent to the publishers before colour work can be processed. The Journal allows authors to publish figures in colour free of charge in the online edition if requested on submission. Authors must then provide their figures in digital format (EPS or TIFF files at high resolution) and indicate to the Editorial Office that they wish to publish in black and white in the print edition and in colour in the online edition. In this case, (a) a single version of the figure should be supplied in colour which will be converted by the publishers to black and white for the print journal and (b) the figure legend should not refer to colour as it will be used for both print and online editions.

*Chapitre 3 - Deuxième article : Subcortical auditory input to the primary visual cortex in anophthalmic mice*

*Contribution des auteurs*

Nicole Chabot a effectué le traçage neuronal avec le dextran biotin, assisté de Marie-Eve Laramée et de Robin Tremblay, de même que l'analyse de tous les résultats. Valérie Charbonneau a effectué le traçage neuronal avec le fluorogold. L'écriture de cet article Chabot, N., Charbonneau, V., Laramée, M.E., Tremblay, R., Boire, D., Bronchti, G. (2008). Subcortical auditory input to the primary visual cortex in anophthalmic mice. *Neuroscience Letters*, 433, 129-134 a été faite par Nicole Chabot sous les conseils de Denis Boire et la supervision de Gilles Bronchti.

*Résumé en français*

Nombre d'études anatomiques et fonctionnelles montrent qu'une stimulation auditive peut activer le cortex visuel chez les aveugles précoces tant chez l'humain que chez l'animal. Les études anatomiques faites chez les modèles animaux de cécité précoce démontrent clairement la présence d'une connexion intermodale qui permet l'acheminement de l'information auditive vers cortex visuel primaire. La présence d'une connexion intermodale corticocorticale entre le cortex auditif et le cortex visuel a été démontrée de même qu'une nouvelle connexion entre le collicule inférieur et le thalamus visuel. Une publication (L.K.Laemle, N.L.Strominger, D.O.Carpenter, Cross-modal innervation of primary visual cortex by auditory fibers in congenitally anophthalmic mice, *Neurosci. Lett.* 396 (2006) 108-112.) suggère la présence d'une connexion directe entre le collicule inférieur et le cortex visuel primaire chez la souris mutante anophtalme ZRDCT/An. Ceci impliquerait que la souris mutante anophtalme serait le seul vertébré connu à ce jour possédant une connexion directe entre le tectum et un cortex sensoriel primaire. J'ai étudié la possibilité de la présence de cette connexion particulière chez la souris mutante anophtalme ZRDCT/An à l'aide traceur neuronal très sensible. Nous avons observé les connexions normales décrites chez la ZRDCT/An entre : i) le collicule inférieur et la partie dorsale du corps géniculé latéral, ii) le cortex visuel primaire et le collicule supérieur, iii) le noyau latéral postérieur et le cortex visuel primaire et entre iv) le collicule inférieur et le corps géniculé médian. Nous démontrons aussi sans équivoque que les structures auditives sous-corticales n'ont pas de projection vers le cortex visuel primaire chez la souris mutante anophtalme. Plus particulièrement, nous n'observons aucune projection directe du mésencéphale auditif dans ce modèle animal de cécité.

- i) Title:** Subcortical auditory input to the primary visual cortex in anophthalmic mice
- ii) Authors:** Nicole Chabot, Valérie Charbonneau, Stéphane Robert, Marie-Eve Laramée, Denis Boire and Gilles Bronchti
- iii) Affiliation:** Université du Québec à Trois-Rivières, Groupe de Recherche en Neurosciences
- iv) Number of pages including figures:** 18
- Number of figures: 4  
number of tables: 0
- v) Corresponding author:** Dr Gilles Bronchti  
Université du Québec à Trois-Rivières  
Département de Chimie-Biologie  
3351 boul. des Forges, CP 500  
Trois-Rivières, Québec  
Canada  
phone: + 819-376-5011 ext 3352  
fax: + 819-376-5084  
email: gilles.bronchti@uqtr.ca
- vi) Acknowledgement:** We are grateful to Mrs Rollande Caron and Nadia Desnoyers for their support and precious advice in regard to animal care and maintenance. Special thanks to Marc Larocque for his help with the technical assistance on the iontophoresis device. This work was supported by grants from the Natural Sciences and Engineering Research Council of Canada. NC was supported by fellowships from the Fondation de l'Université du Québec à Trois-Rivières. This work was supported by NSREC grants to GB and DB.

*Abstract*

Anatomical and imaging studies show ample evidence for auditory activation of the visual cortex following early onset of blindness in both humans and animal models. Anatomical studies in animal models of early blindness clearly show intermodal pathways through which auditory information can reach the primary visual cortex. There is clear evidence for intermodal corticocortical pathways linking auditory and visual cortex and also novel connections between the inferior colliculus and the visual thalamus. A recent publication (L.K.Laemle, N.L.Strominger, D.O.Carpenter, Cross-modal innervation of primary visual cortex by auditory fibers in congenitally anophthalmic mice, *Neurosci. Lett.* 396 (2006) 108-112.) suggested the presence of a direct reciprocal connection between the inferior colliculus and the primary visual cortex (V1) in congenitally anophthalmic ZRDCT/An mice. This implies that this mutant mouse would be the only known vertebrate having a direct tectal connection with a primary sensory cortex. The presence of this peculiar pathway was reinvestigated in the ZRDCT/An mouse with highly sensitive neuronal tracers. We found the connections normally described in the ZRDCT/An mouse between: i) the inferior colliculus and the dorsal lateral geniculate nucleus, ii) V1 and the superior colliculus, iii) the lateral posterior nucleus and V1 and between iv) the inferior colliculus and the medial geniculate nucleus. We also show unambiguously that the auditory sub-cortical structures do not connect the primary visual cortex in the anophthalmic mouse. In particular, we find no evidence of a direct projection from the auditory mesencephalon to the cortex in this animal model of blindness.

### *Introduction*

There is ample evidence that early loss of sight and congenital blindness lead to cross-modal activation of the visual cortex by auditory and somatosensory stimuli [1-6]. In addition these activations seem to be correlated with enhanced sensory discrimination capabilities [7-12]. In three animal models of early blindness, the blind mole rat, the neonatally enucleated hamster and the anophthalmic mutant ZRDCT/An mouse, auditory information can be conveyed to the visual thalamus by a connection between the inferior colliculus (IC) and the dorsal lateral geniculate nucleus (LGNd) [13-16]. In addition, in bilaterally enucleated opossums, the primary visual cortex also receives input from auditory and somatosensory thalamus and cortex [17]. Similar connections are also found in ZRDCT/An mice [18]. Therefore, the visual system in these blind animals receives auditory information at different levels of processing: cortical and subcortical. At the cortical level, there is also recent evidence for intermodal connections in normal animals [19;20]. In this respect, a recent contribution [21] describes an additional reciprocal auditory-visual pathway providing auditory information from the inferior colliculus transmitted monosynaptically to the primary visual cortex without a thalamic relay. This study therefore suggests that in the ZRDCT anophthalmic mouse, auditory activation of the visual cortex can originate from three pathways: i) cortico-cortical ii) thalamo-cortical and iii) tecto-cortical providing auditory information at three levels of processing.

The presence of a direct connection between the IC and the visual cortex is unprecedented. There is only one known example of a direct ascending connection from the mesencephalic tectum to the telencephalon without a thalamic relay in vertebrates; the ascending quinto-frontal pathways in birds, linking the principal sensory nucleus of the trigeminal nerve and the basorostral pallial nucleus [22]. The subcortical afferents of

the visual cortex were investigated in ZRDCT anophthalmic mutant mice in order to verify the presence of this unusual novel ascending sensory pathway to the cortex.

#### *Materials and Methods*

We used 18 anophthalmic ZRDCT/An mice in this study. The ZRDCT/An mice were born and raised in our inbred colony. This mutant mouse was first described by Chase & Chase [23] and it lacks eyes and optic nerves. No other effect of the mutation has been described. In five cases biotinylated dextran-amine (BDA) of 3000 molecular weight (MW), was injected in the primary visual cortex (V1, 3.5 mm caudal and 1.8 mm lateral to bregma). In three other cases, fluorogold, a pure retrograde tracer, was injected in V1. The high molecular weight tracer (BDA 10,000 MW) which yields better anterograde labeling than the other 2 tracers [24;25], was injected in the inferior colliculus (5 mm caudal and 1 mm lateral to bregma) in five cases, and in the auditory cortex (2,2. mm caudal and 4.1 mm lateral to bregma) in five other cases. Tracers were pressure-injected into the central nucleus of the IC and pushed by iontophoresis in the cortical areas. Deep anesthesia was achieved with inhalation of isoflurane 1,5% and vital signs were constantly verified throughout the surgeries. Postoperative pain was managed with buprenorphine (i.p.; Temgesic, Schering-Plough, Hertfordshire, UK; 0.009 mg/kg) injected before the animals were placed in a stereotaxic apparatus. A longitudinal incision was made along the midline and the posterior part of the skull was exposed. Using a surgical microscope, a small craniotomy was performed over the area of interest. The dura-mater over the area of penetration of the micropipette was carefully cut to avoid compression of the underlying brain and ultimately necrosis. Then a glass micropipette (30  $\mu$ m tip diameter) filled with a 5% solution of BDA in 0.01 M phosphate-buffered

saline, was inserted to a depth of 1 mm below the surface of the IC or 0.450 mm below the pial surface of the primary visual or auditory cortex. The pressure injections in IC (microInjector, Tritech Research, Los Angeles, CA, USA) were made over a period of 10 minutes and the micropipette was left in place for a further 10 min before being carefully withdrawn. The iontophoretic injections were done over a period of 15 minutes (positive current of 1.75 - 2.5  $\mu$ A, 7 seconds on / 7 seconds off). The skin was sutured and the mice were then kept warm until they recovered from anesthesia and returned to their cages.

Following a survival period of 10 to 14 days and under deep anesthesia obtained with a lethal dose of sodium pentobarbital (i.p.; Eutanyl, 120 mg/kg, CDMV, Ste Hyacinthe, PQ Canada), the mice were sacrificed and perfused transcardially with 0.01M PBS followed by 4% paraformaldehyde in 0.1 M PB, pH 7.4. The brains were then dissected out and the absence of subdermal eye was checked in every case. The brains were post-fixed for 2h in the same fixative and cryoprotected in phosphate buffered 30% sucrose. Frozen serial sections were cut (50  $\mu$ m) in the coronal plane. Free-floating sections were treated with 0.5% H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> and 70% methanol to quench endogenous peroxidase, and thoroughly rinsed in 50 mM Tris-HCl-buffered saline (pH 8.0) containing 0.5% Triton X-100 (TBS-Tx). The sections were then incubated at room temperature employing an Avidin-Biotin Complex kit (Elite Vectastain, Vector Laboratories, Burlington, Ontario) in TBS-Tx, pH 8.0. Labeled fibers were revealed using the nickel-intensified DAB protocol, in which the sections were incubated in 0.02% H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>. The sections were mounted in 2 sets, one directly dehydrated in ethanol, cleared in xylenes, and cover-slipped with Permount mounting media and the other, counterstained with Cresyl Violet for the cytoarchitectonic delineation of relevant structures.

The sections were viewed with a Leica DMRB microscope (Leica Microsystems, North York, Ontario, Canada) and photographed with a CCD camera (Optronix, MicroBrightField, Williston, Vermont) using Picture Frame software (MicroBrightField, Williston, Vermont). Adequate measures were taken to minimize pain or discomfort to animals. Experiments have been carried out in accordance with the National Institute of Health Guide for the Care and Use of Laboratory Animals (NIH Publications No. 80-23).

### *Results*

Each structure of interest has been screened along its full antero-posterior extent in search for labeled somata and fibers. The sections presented in each panel of the figures are representatives of the observations made on our experimental animals. The injections in the primary visual cortex were limited to the known cytoarchitectonic boundaries of V1 [26] (Figures 25A and 26A – A'). Following these injections, we observed numerous retrogradely labeled neurons in the LGNd, confirming the proper localization of the tracer injection. Some labeled cells were also present in the lateral posterior thalamic nucleus (LP) (Figures 25B, 26B – B'). The mesencephalic projection originating from V1 is confined to the superior colliculus and more precisely to the optical layers of the superior colliculus. (Figure 25C – D). The inferior colliculus remained devoid of any labeling following tracer injections in the primary visual cortex (Figures 25C – E, 26D'). The injections in the inferior colliculus (Figure 27A) also fail to show a direct ascending connection to the visual cortex in the anophthalmic mouse. Anterograde labeling is observed in the primary auditory thalamic nucleus - the medial geniculate nucleus (MGN) as expected (Figure 27B). Moreover, retrogradely labeled somata are clearly present in the auditory cortex (Figure 27B). The delimitation of the cortical areas was

possible with the Nissl counterstained adjacent sections (Figure 27C' - D' respectively). There, we confirmed that the retrograde labeling is located in layer V pyramidal cells, as it has been demonstrated previously [15] (Figure 27C - C'). No labeling of any kind could be observed in the primary visual cortex following the injection of the inferior colliculus (Figure 27D - D').

Injections in the auditory cortex were performed to confirm the descending cortical projections to the inferior colliculus and as a comparison with those made in V1. They resulted in anterogradely labeled terminals in the MGN (Figure 28A), as expected, and in the inferior (Figure 28B-C) and the superior colliculi (Figure 28B-D). The fibers found in the superior colliculus are located in the intermediate layers, which are multimodal and devoted to the somatosensory and auditory inputs.

### *Discussion*

In search for the subcortical source of auditory input to the primary visual cortex in the anophthalmic mouse, we confirmed, with highly sensitive neuronal retrograde and anterograde tracers the well-documented ascending connection between LGNd - V1 and LP - V1 in this animal [27-31]. The connection between LP and V1 is known to be enhanced in the anophthalmic mouse as compared to normal sighted C57BL6 mice [27;32]. Since LGNd and LP receive auditory input from the ipsilateral IC [15], this pathway may well be a source of auditory input to V1. It is unlikely the sole source of this activation. Corticocortical connections originating in the auditory cortical areas were shown to activate V1 even in normal eyed animals[19;33]. The intermodal corticocortical

connections seem to expand in the animal models of early blindness in comparison with normal sighted controls [17]. Altogether, these source of auditory input to V1 can explain the c-Fos immunoreactivity observed in V1 following auditory stimulation[15;34]. Laemle and collaborators reported auditory evoked potentials recorded within the depth of the primary visual cortex at latency of about 8 ms, with a peak latency around 15 ms. These values are close to those reported in the *rodless* mutant mouse [35], but somehow shorter than those recorded in the mole-rat [13;36] or in the enucleated hamster [14] (between 20 and 40). However, they are consistent with the sources of input described here given that short latency AEP can be recorded in somatosensory or visual cortex of normal sighted animals [37;38] without direct tecto-cortical input. As for the observed efferent cortical connections, the descending projections from V1 to the optical layers of the superior colliculus and from AC to the mesencephalic tectum - the superior and the inferior colliculi - are normally present in the mutant anophthalmic ZRDCT/An mouse [27]. No evidence was found of neither anterograde labeling in the visual cortex following BDA injections in the inferior colliculus nor evidence of retrograde labeling in the inferior colliculus following fluorogold injections in the visual cortex.

Therefore, our experiments do not support the presence of a direct and reciprocal connection between IC and V1 in the mutant anophthalmic ZRDCT/An mouse as reported by Laemle [21]. Dextran-Biotin neuronal tracers have been widely used to trace pathways in central nervous system of adult individuals [16;19;24;25;39-47] in contrast with the unusual use of the carbocyanine dye reported by Laemle and collaborators. The bilateral connections between V1 and IC were observed in unfixed brains kept in buffered saline for 72 hours, a period long enough to cause destruction of the brain tissue

and labeling artefacts. Indeed, whereas Dil yields usually quite superb axonal and somatodendritic labeling, none of these could be distinguished in this publication. Considering the currently available data, there is no evidence for a direct tecto-cortical connection in mammals.

*Reference List*

- [1] G.F.Wittenberg, K.J.Werhahn, E.M.Wassermann, P.Herscovitch, L.G.Cohen, Functional connectivity between somatosensory and visual cortex in early blind humans, *Eur. J. Neurosci.* 20 (2004) 1923-1927.
- [2] D.Bavelier, H.J.Neville, Cross-modal plasticity: Where and how?, *Nature Rev. Neurosci.* 3 (2002) 443-452.
- [3] C.Poirier, O.Collignon, C.Scheiber, L.Renier, A.Vanlierde, D.Tranduy, C.Veraart, A.G.De Volder, Auditory motion perception activates visual motion areas in early blind subjects, *Neuroimage* 31 (2006) 279-285.
- [4] T.Kujala, M.J.Palva, O.Salonen, P.Alku, M.Huotilainen, A.Jarvinen, R.Naatanen, The role of blind humans' visual cortex in auditory change detection, *Neurosci. Lett.* 379 (2005) 127-131.
- [5] L.Merabet, G.Thut, B.Murray, J.Andrews, S.Hsiao, A.Pascual-Leone, Feeling by sight or seeing by touch?, *Neuron* 42 (2004) 173-179.
- [6] T.Kujala, M.Huotilainen, J.Sinkkonen, A.I.Ahonen, K.Alho, M.S.Hämäläinen, R.J.Ilmoniemi, M.Kajola, J.E.T.Knuutila, J.Lavikainen, O.Salonen, J.Simola, C.-G.Standertskjöld-Nordenstam, H.Tiitinen, S.O.Tissari, R.Näätänen, Visual cortex activation in blind humans during sound discrimination, *Neurosci. Lett.* 183 (1995) 143-146.

- [7] O.Collignon, L.Renier, R.Bruyer, D.Tranduy, C.Veraart, Improved selective and divided spatial attention in early blind subjects, *Brain Res.* 1075 (2006) 175-182.
- [8] A.Amedi, N.Raz, P.Pianka, R.Malach, E.Zohary, Early 'visual' cortex activation correlates with superior verbal memory performance in the blind, *Nat. Neurosci.* 6 (2003) 758-766.
- [9] P.Voss, M.Lassonde, F.Gougoux, M.Fortin, J.P.Guillemot, F.Lepore, Early- and late-onset blind individuals show supra-normal auditory abilities in far-space, *Curr. Biol.* 14 (2004) 1734-1738.
- [10] B.Röder, W.Teder-Sälejärvi, A.Sterr, F.Rösler, S.A.Hillyard, H.J.Neville, Improved auditory spatial tuning in blind humans, *Nature* 400 (1999) 162-166.
- [11] N.Lessard, M.Paré, F.Lepore, W.Lassonde, Early-blind human subjects localize sound sources better than sighted subjects, *Nature* 395 (1998) 278-280.
- [12] A.Dufour, O.Despres, V.Candas, Enhanced sensitivity to echo cues in blind subjects, *Exp. Brain Res.* 165 (2005) 515-519.
- [13] G.Bronchti, P.Heil, R.Sadka, A.Hess, H.Scheich, Z.Wollberg, Auditory activation of 'visual' cortical areas in the blind mole rat (*Spalax ehrenbergi*), *Eur. J. Neurosci.* 16 (2002) 311-329.
- [14] R.Izraeli, G.Koay, M.Lamish, A.J.Heicklen-Klein, H.E.Heffner, R.S.Heffner, Z.Wollberg, Cross-modal neuroplasticity in neonatally enucleated hamsters: structure, electrophysiology and behaviour, *Eur. J. Neurosci.* 15 (2002) 693-712.

- [15] N.Chabot, S.Robert, R.Tremblay, D.Miceli, D.Boire, G.Bronchti, Audition activates differently the visual system in neonatally enucleated mice compared to anophthalmic mutant, *Eur J Neurosci* 26 (2007) 2334-2348.
- [16] M.Piché, S.Robert, D.Miceli, G.Bronchti, Environmental enrichment enhances auditory takeover of the occipital cortex in anophthalmic mice, *Eur. J. Neurosci.* 20 (2004) 3463-3472.
- [17] S.J.Karlen, D.M.Kahn, L.Krubitzer, Early blindness results in abnormal corticocortical and thalamocortical connections, *Neurosci.* 142 (2006) 843-858.
- [18] Charbonneau,V., Chabot,N., Boucher,V., Bronchti,G. and Boire,D., Convergence of non-visual sensory inputs in primary visual cortex of the blind anophthalmic mutant mouse. In: 2007, p. 714.13.
- [19] E.Budinger, P.Heil, A.Hess, H.Scheich, Multisensory processing via early cortical stages: connections of the primary auditory cortical field with other sensory systems, *Neurosci.* 143 (2006) 1065-1083.
- [20] A.Falchier, S.Clavagnier, P.Barone, H.Kennedy, Anatomical evidence of multimodal integration in primate striate cortex, *J. Neurosci.* 22 (2002) 5749-5759.
- [21] L.K.Laemle, N.L.Strominger, D.O.Carpenter, Cross-modal innervation of primary visual cortex by auditory fibers in congenitally anophthalmic mice, *Neurosci. Lett.* 396 (2006) 108-112.

- [22] J.M.Wild, J.J.Arends, H.P.Zeigler, Telencephalic connections of the trigeminal system in the pigeon (*Columba livia*): a trigeminal sensorimotor circuit, *J Comp Neurol.* 234 (1985) 441-464.
- [23] H.B.Chase, E.B.Chase, Studies on an anophthalmic strain of mice. I. Embryology of the eye region, *J. Morphol.* 68 (1941) 279-401.
- [24] A.Reiner, C.L.Veenman, L.Medina, Y.Jiao, N.Del Mar, M.G.Honig, Pathway tracing using biotinylated dextran amines, *J. Neurosci. Methods* 103 (2000) 23-37.
- [25] A.Vercelli, M.Repici, D.Garbossa, A.Grimaldi, Recent techniques for tracing pathways in the central nervous system of developing and adult mammals, *Brain Res. Bull.* 51 (2000) 11-28.
- [26] V.S.Caviness, Jr., Architectonic map of neocortex of the normal mouse, *J. Comp. Neurol.* 164 (1975) 247-263.
- [27] R.W.Rhoades, R.D.Mooney, S.E.Fish, Subcortical projections of area 17 in the anophthalmic mouse, *Dev. Brain Res.* 17 (1985) 171-181.
- [28] I.R.Kaiserman-Abramov, A.M.Graybiel, W.J.H.Nauta, The thalamic projection to cortical area 17 in a congenitally anophthalmic mouse strain, *Neurosci.* 5 (1980) 41-52.

- [29] R.W.Guillery, S.L.Feig, D.P.Van Lieshout, Connections of higher order visual relays in the thalamus: A study of corticothalamic pathways in cats, *J. Comp. Neurol.* 438 (2001) 66-85.
- [30] A.N.Karamanlidis, R.A.Gioli, Thalamic inputs to the rabbit visual cortex: identification and organization using horseradish peroxidase (HRP), *Exp. Brain Res.* 29 (1977) 191-199.
- [31] M.R.Dursteler, C.Blakemore, L.J.Garey, Uptake of horseradish peroxidase by geniculo-cortical axons in the golden hamster: analysis by computer reconstruction, *Exp. Brain Res.* 29 (1977) 487-500.
- [32] P.Godement, P.Saillour, M.Imbert, Thalamic afferents to the visual cortex in congenitally anophthalmic mice, *Neurosci. Lett.* 13 (1979) 271-278.
- [33] M.W.Miller, B.A.Vogt, Direct connections of rat visual cortex with sensory, motor and association cortices, *J. Comp. Neurol.* 226 (1984) 184-202.
- [34] Piché,M., Chabot,N., Lepore,F., Guillemot,J.-P., Bronchti,G. and Miceli,D., Auditory activity in visual cortex in anophthalmic and monophthalmic rats. In: 2004, p. 66.3.
- [35] N.Bonaventure, N.Wioland, P.Karli, Enhanced sensory convergence to the visual cortex in the rodless (rd/rd) mouse, *Doc. Ophthalmol.* 61 (1985) 97-103.

- [36] R.S.Sadka, Z.Wollberg, Response properties of auditory activated cells in the occipital cortex of the blind mole rat: an electrophysiological study, *J. Comp Physiol A Neuroethol. Sens. Neural Behav. Physiol* 190 (2004) 403-413.
- [37] G.V.Simpson, R.T.Knight, Multiple brain systems generating the rat auditory evoked potential. I. Characterization of the auditory cortex response, *Brain Res.* 602 (1993) 240-250.
- [38] H.Takahashi, M.Nakao, K.Kaga, Multiple neural origins of early auditory evoked potential of rat, *Neurosci.* 148 (2007) 845-856.
- [39] A.Erisir, M.Dreusicke, Quantitative morphology and postsynaptic targets of thalamocortical axons in critical period and adult ferret visual cortex, *J. Comp Neurol.* 485 (2005) 11-31.
- [40] T.Voigt, T.Opitz, A.D.de Lima, Activation of early silent synapses by spontaneous synchronous network activity limits the range of neocortical connections, *J. Neurosci.* 25 (2005) 4605-4615.
- [41] L.J.Cauller, B.Clancy, B.W.Connors, Backward cortical projections to primary somatosensory cortex in rats extend long horizontal axons in layer I, *J. Comp. Neurol.* 390 (1998) 297-310.
- [42] M.Beneyto, J.A.Winer, D.T.Larue, J.J.Prieto, Auditory connections and neurochemistry of the sagulum, *J. Comp. Neurol.* 401 (1998) 329-351.

- [43] K.A.Coleman, G.E.Baker, J.Mitrofanis, Topography of fibre organisation in the corticofugal pathways of rats, *J. Comp. Neurol.* 381 (1997) 143-157.
- [44] M.P.M.Arts, H.J.Groenewegen, J.G.Veening, A.R.Cools, Efferent projections of the retrorubral nucleus to the substantia nigra and ventral tegmental area in cats as shown by anterograde tracing, *Brain Res. Bull.* 40 (1996) 219-228.
- [45] A.Angelucci, F.Clasca, M.Sur, Anterograde axonal tracing with the subunit B of cholera toxin: A highly sensitive immunohistochemical protocol for revealing fine axonal morphology in adult and neonatal brains, *J. Neurosci. Methods* 65 (1996) 101-112.
- [46] J.M.Alisky, D.L.Tolbert, Differential labeling of converging afferent pathways using biotinylated dextran amine and cholera toxin subunit B, *J. Neurosci. Methods* 52 (1994) 143-148.
- [47] H.M.Brandt, A.V.Apkarian, Biotin-dextran: a sensitive anterograde tracer for neuroanatomic studies in rat and monkey, *J. Neurosci. Methods* 45 (1992) 35-40.

*Figures captions*

Figure 25. Tracer (DBA 3000MW) injection in the primary visual cortex in an anophthalmic ZRDCT/An mouse.

(A) Photomicrograph of the injection site in V1. Note that the injection is well centered within V1 and does not reach the white matter. In addition to the injection site, a conspicuous cortical column, localized in the lateral secondary visual area (V2L) near the border with the primary visual cortex, is labeled. (B) Photomicrograph through the visual thalamic nuclei - LGNd and LP, respectively. The empty arrows point to retrogradely labeled cells in both nuclei. Contours of the LGNd and the LP nuclei are delineated with the dashed line. (C) Photomicrographs from six evenly spaced serial sections are presented to cover the antero-posterior extent of the dorsal mesencephalon. Note that the cortical projections are confined to the superior colliculus, the inferior colliculus being devoid from any labeling. The square above the superior colliculus of the second section indicates the area illustrated at higher magnification in D. (D) High magnification of the superficial layers of the superior colliculus. The arrows point to the anterogradely labeled cortical fibers into the superficial layers, which typically receive inputs from V1. (E) A high magnification of the inferior colliculus shows no retrograde labeling originating from the injection site.

Figure 26. Tracer (fluorogold) injection in the primary visual cortex in an anophthalmic ZRDCT/An mouse

Upper row, photomicrographs of the Nissl counterstained sections through (A) the injection site in V1, (B) the LGNd and the LP, and (C) the IC. Lower row (A', B' and C') displays photomicrographs of the same sections showing the retrogradely labeled cells. In A and A', the solid lines represent the borders between V1 and the secondary visual

cortices. Note that the injection is well centered within V1 and does not reach the white matter. In B and B', contours of the LGNd and the LP. Some retrograde labeling is found in LP but the main retrograde labeling is located in LGNd which is a typical outcome of a V1 injection. In C and C', note that the inferior colliculus is devoid of any retrograde labeling originating from V1. Scale bars = 500  $\mu$ m in all photomicrographs

Figure 27. Tracer (DBA 10 000MW) injection in the inferior colliculus in an anophthalmic ZRDCT/An mouse

(A) Photomicrograph of the injection site in the IC. Note that the injected tracer fills up the IC. (B) Photomicrograph of a section through the medial geniculate nucleus illustrating the thalamic arborization of the collicular fibers. Note the retrogradely labeled cells in the adjacent temporal cortex. Squares delineate the enlarged areas presented on the lower rows of the figure. (C, D) Enlargement of the auditory (C) and of the primary visual (D) cortices. The cortical areas were delimited precisely using the corresponding, adjacent, Nissl-stained sections (respectively C' and D'). In C and C', the line delineate the border between AC and V2l. In D and D', the line indicates the limit between V1 and V2l. Note the retrogradely labeled cells in layer V in the auditory cortex. Note also that the primary visual cortex is completely devoid of DBA label.

Figure 28 Tracer (DBA 10 000MW) injection in the auditory cortex in an anophthalmic ZRDCT/An mouse

(A) Photomicrograph of the injection site in the auditory cortex. The injection is well localized within the temporal auditory cortex. Note that the descending projections towards the primary auditory thalamic nucleus - the medial geniculate nucleus - are visible in the same section. (B) Low magnification of the inferior and the superior

colliculi. The squares delineate the high magnifications of the inferior and the superior colliculi presented in C and D respectively. (C) High magnification of the IC. Note that the auditory fibers originating from the auditory cortex are found in this mesencephalic nucleus. (D) High magnification of the superior colliculus. Note that the labeling is found in the intermediate layers of the superior colliculus. In C and D, the labeling is exclusively anterograde. No retrogradely labeled cells are found neither in the inferior colliculus nor in the superior colliculus. Scale bars = 500  $\mu\text{m}$  for all photographs

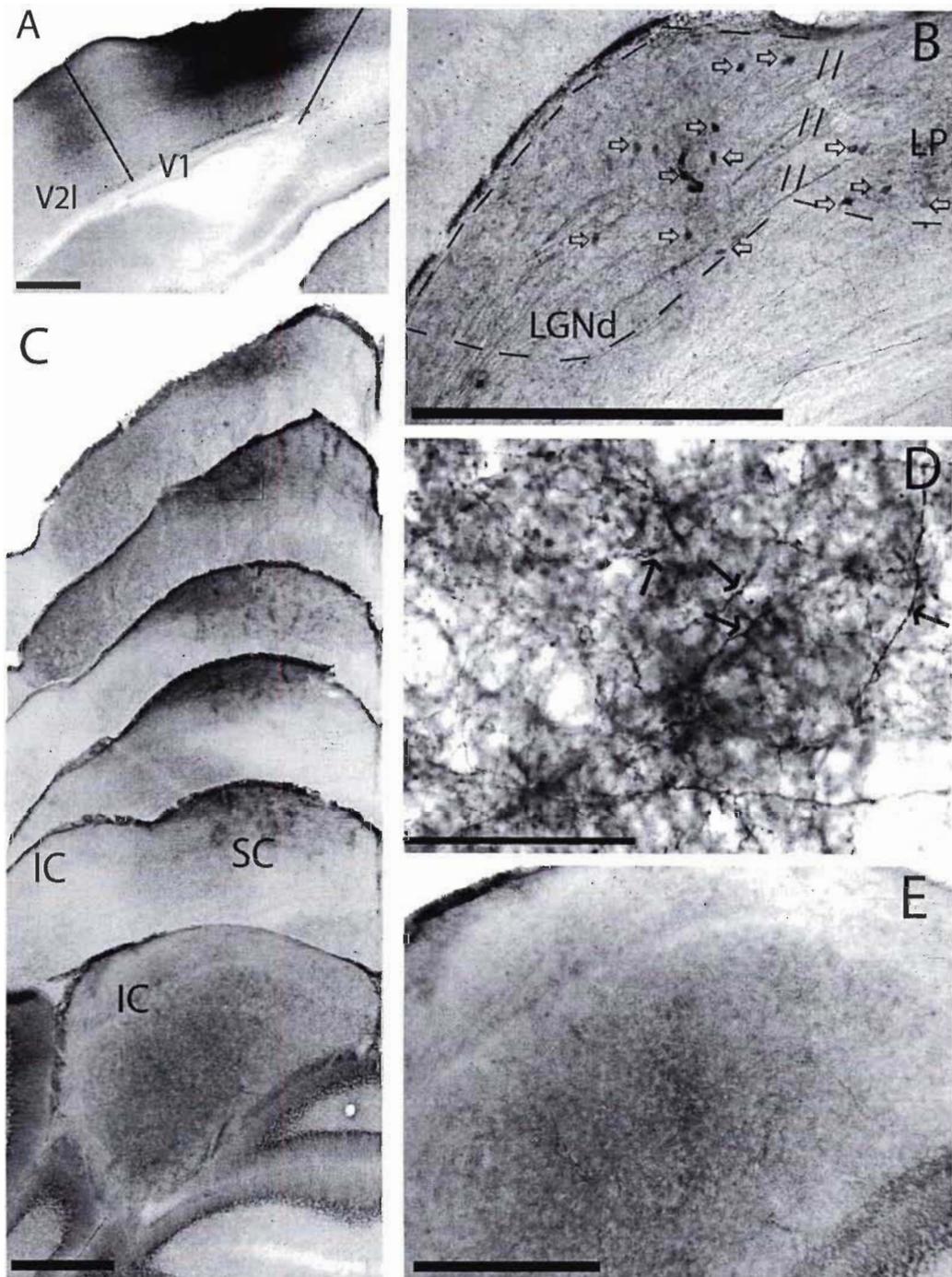


Figure 25 Tracer (DBA 3000MW) injection in the primary visual cortex in an anophthalmic ZRDCT/An mouse

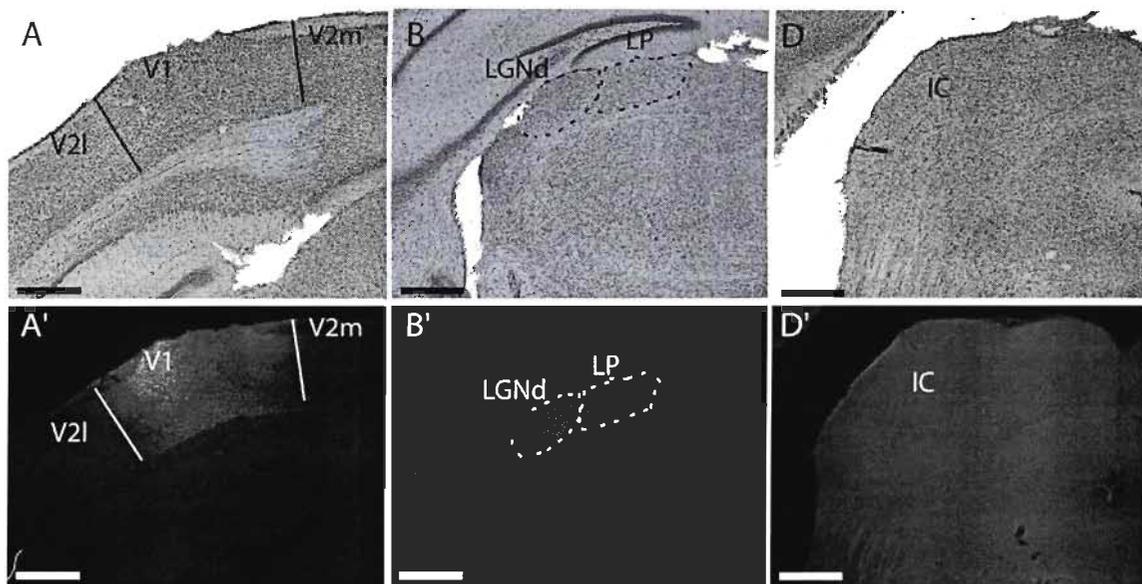


Figure 26 Tracer (fluorogold) injection in the primary visual cortex in an anophthalmic ZRDCT/An mouse

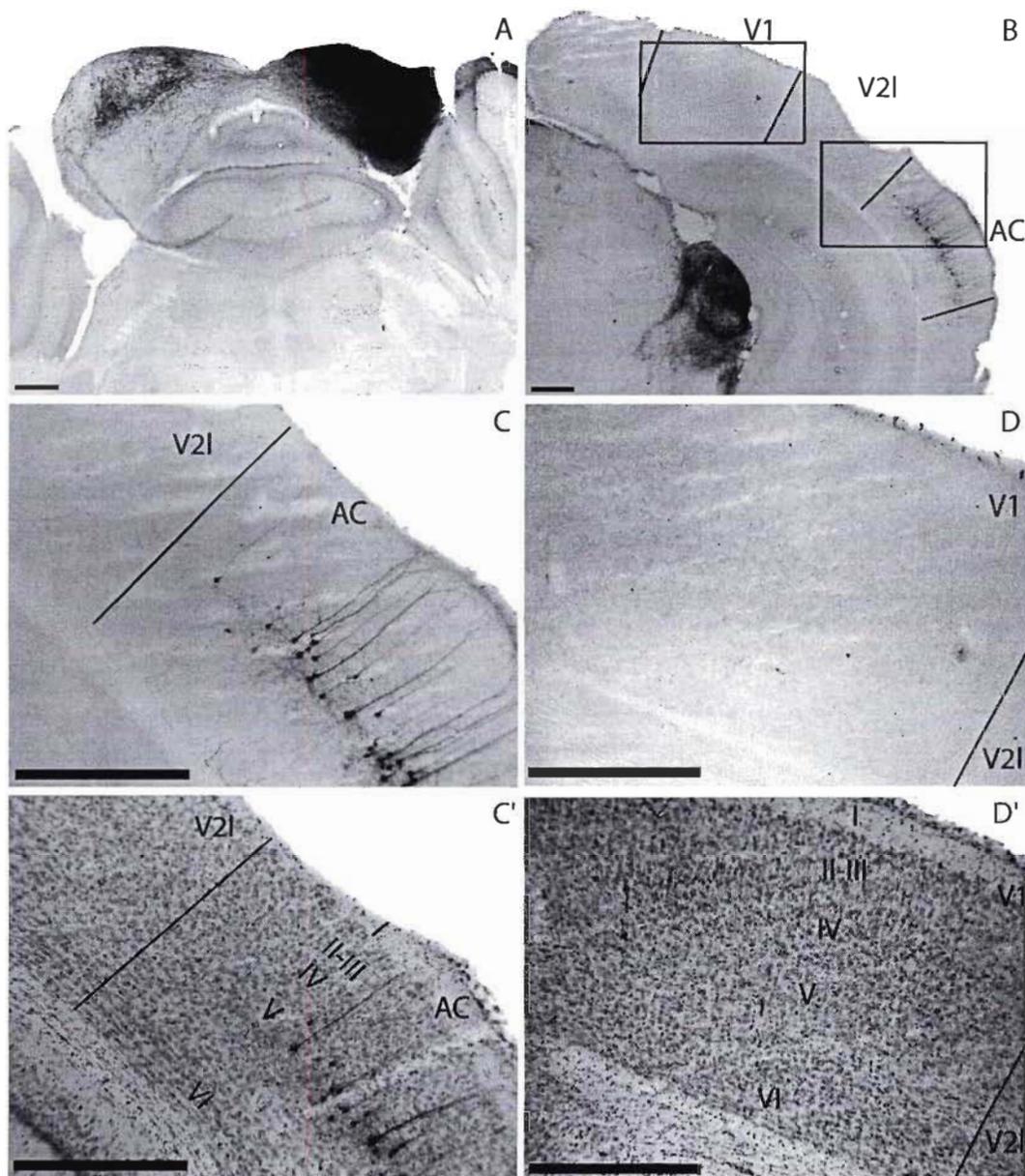
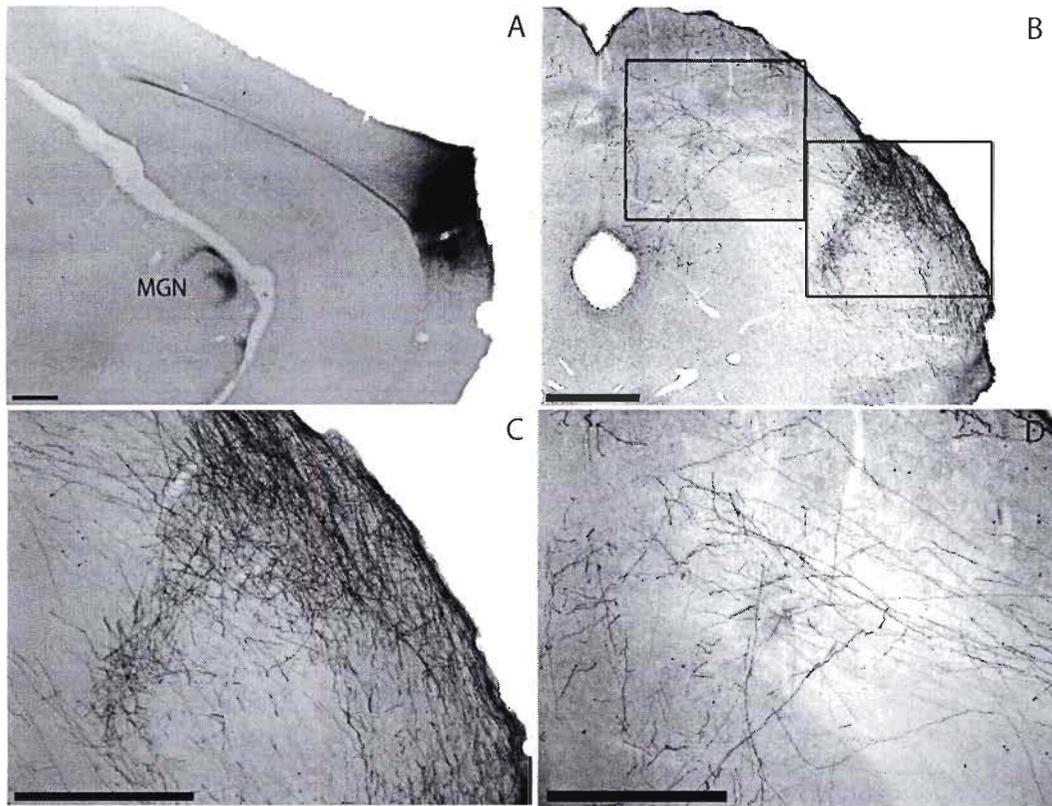


Figure 27 Tracer (DBA 10 000MW) injection in the inferior colliculus in an anophthalmic ZRDCT/An mouse



**Figure 28** Tracer (DBA 10 000MW) injection in the auditory cortex in an anophthalmic ZRDCT/An mouse

*Annexe 2 Guide for Authors*

Submission of a paper to *Neuroscience Letters* is understood to imply that it deals with original material not previously published, and that it is not being considered for publication elsewhere. Manuscripts submitted under multiple authorship are reviewed on the assumption that all listed authors concur with the submission and that a copy of the final manuscript has been approved by all authors and tacitly or explicitly by the responsible authorities in the laboratories where the work was carried out. If accepted, the article shall not be published elsewhere in the same form, in either the same or another language, without the consent of the Editors and Publisher. Manuscripts of length up to a maximum of 5000 words (the author should reduce this word count by approximately 250 for each figure included) will be considered for publication. Papers that are longer than six pages in the journal will be returned to authors for shortening. Articles should be written in English, and should be complete in all respects. The layout and style should adhere strictly to the instructions given under "Organisation of the Article" and, in particular, the reference style of *Neuroscience Letters*.

The author must declare that all experiments on human subjects were conducted in accordance with the Declaration of Helsinki (↪ <http://www.wma.net>) and that all procedures were carried out with the adequate understanding and written consent of the subjects.

The author must also certify that formal approval to conduct the experiments described has been obtained from the human subjects review board of their institution and could be

provided upon request.

When experimental animals are used, the methods section must clearly indicate that adequate measures were taken to minimize pain or discomfort. Experiments should be carried out in accordance with the European Communities Council Directive of 24 November 1986 (86/609/EEC), or the National Institute of Health Guide for the Care and Use of Laboratory Animals (NIH Publications No. 80-23) revised 1996, or the UK Animals (Scientific Procedures) Act 1986.

Authors of papers in *Neuroscience Letters* may cite a "personal communication" only if the submission is accompanied by a letter from the person referenced in the personal communication. This letter should state that the persons cited have been given the opportunity to review the part of the manuscript citing them and that they give their approval to being cited in this manner.

No revisions or updates will be incorporated after the article has been accepted and sent to the Publisher (unless approved by the Editors).

The Neuroscience Peer Review Consortium

*Neuroscience Letters* is a member of the Neuroscience Peer Review Consortium (NPRC).

The NPRC has been formed to reduce the time expended and, in particular, the duplication of effort by, and associated burden on reviewers involved in the peer review of original neuroscience research papers. It is an alliance of neuroscience journals that

have agreed to accept manuscript reviews from other Consortium journals. By reducing the number of times that a manuscript is reviewed, the Consortium will reduce the load on reviewers and Editors, and speed the publication of research results.

If a manuscript has been rejected by another journal in the Consortium, authors can now submit the manuscript to *Neuroscience Letters* and indicate that the referees' reports from the first journal be made available to the Editors of *Neuroscience Letters*.

It is the authors' decision as to whether or not to indicate that a set of referee's reports should be forwarded from the first journal to *Neuroscience Letters*. If an author does not wish for this to happen, the manuscript can be submitted to *Neuroscience Letters* without reference to the previous submission. No information will be exchanged between journals except at the request of authors. However, if the original referees' reports suggested that the paper is of high quality, but not suitable for the first journal, then it will often be to an author's advantage to indicate that referees' reports should be made available. Authors should revise the original submission in accordance with the first journal's set of referee reports, reformat the paper to *Neuroscience Letters* specification and submit the paper to *Neuroscience* with a covering letter describing the changes that have been made, and informing the Editors that they are happy for referees' reports to be forwarded from the first Consortium journal. Authors will be asked upon submission to *Neuroscience Letters* the title of the first journal submitted to and the manuscript ID that was given by that journal. The editorial office of *Neuroscience Letters* will request the referees' reports from the first journal.

The Editors of *Neuroscience Letters* will use forwarded referees' reports at their discretion. The Editors may use the reports directly to make a decision, or they may request further reviews if they feel such are necessary. Visit <http://nprc.incf.org> for a list of Consortium journals, as well as further information on the scheme.

Submission items include Cover Letter, Reviewer Suggestions, Manuscript (including Title Page, Abstract, Manuscript Text, References and Table/Figure Legends), Tables and Figures. Revised manuscripts should also be accompanied by a unique file (separate from the covering letter) with responses to reviewers' comments. The preferred order of files is as follows: Cover Letter, Reviewer Suggestions, Response to Reviews (revised mss. only), Manuscript file(s), Table(s), Figure(s). Files should be labelled with appropriate and descriptive file names (e.g. SmithText.doc, Fig1.eps, Table3.doc). Upload text, tables and graphics as separate files. Do not import figures or tables into the text document. Authors must send the names and email addresses for 8-10 suggested referees. Although NSL does not guarantee these reviewers will be used, the editors take these suggestions under consideration. These recommendations help the journal speed the editorial process.

Length of manuscripts will in no case be more than 6 printed pages (5000 words) of the journal. As an approximate guide to authors for judging the length of their paper, the following estimation may be used: heading + abstract = 0.5-0.6 pages; 3 type-written (double-spaced) pages = 1 printed page; (when using a word-processor) 850 words or

5300 characters = 1 printed page; 3 single-column wide or 2 double-column wide figures plus legends = 1 printed page; 3 single-column wide or 2 double-column wide tables = 1 printed page; 17 references = 0.5 printed page.

Text files should be supplied in one of the following formats: Microsoft Word or WordPerfect, Windows or Macintosh formatted. Ensure that the letter "l" and the digit "1" (also letter "O" and digit "0") have been used properly, and format your article (tabs, indents, etc.) consistently. Characters not available on your wordprocessor (Greek letters, mathematical symbols, etc.) should not be left open, but indicated by a unique code (e.g.  $\alpha$ , @, #, etc. for the Greek letter alpha). Such codes should be used consistently throughout the entire text. Please make a list of such codes and provide a key.

When accepted articles are processed, most formatting codes will be removed or replaced so there is no need for you to use excessive layout styling. In addition, do not use options such as automatic word breaking, justified layout, double columns or automatic paragraph numbering (especially for numbered references). However do use bold face, italic, subscripts, superscripts etc. for scientific nomenclature.

When preparing tables, if you are using a table grid, please use only one grid for each separate table and not a grid for each row. If no grid is being used, use tabs to align columns, not spaces.

Graphic files: See the Elsevier website for guidelines for preparing electronic artwork:

⇒ <http://www.elsevier.com/artworkinstructions>. (Note: Only TIFF or EPS formats are acceptable formats.) Each figure should be a separate file and not be embedded in the text. All graphic files must be submitted in sufficiently high resolution (300 dpi for grayscale or colour images and 600-1000 dpi for line art) to allow for printing.

No hardcopy manuscripts or illustrations are to be sent to the Editors unless specifically requested. The Publisher and Editors regret that they are unable to return copies of hardcopy submissions.

Title page. The title page should contain the following items: (i) complete title (preferably no chemical formulas or arbitrary abbreviations); (ii) full names of all authors; (iii) complete affiliations of all authors; (iv) the number of text pages of the whole manuscript (including figures and tables) and the number of figures and tables; (v) the name and complete address of the corresponding author (as well as telephone number, facsimile number and E-mail address, and if available URL address) to whom correspondence and proofs should be sent; (vi) acknowledgements.

Keywords. 3-6 keywords or phrases should be provided; preferably, these should be selected from the body of the text.

Abstract. An Abstract of up to 250 words describing the purpose of the study, the methods, and the results should precede the main text.

In general, the main text should be organized as follows: Introduction, Materials and methods, Results, Discussion, Acknowledgements, References.

Literature references. Citation of literature references in the text should be given at the appropriate places by numbers in square brackets. All references cited in the text should be listed at the end of the manuscript on a separate page, arranged in alphabetical order of first author and numbered consecutively. All items in the list of references should be cited in the text and, conversely, all references cited in the text must be presented in the list. References to periodicals must be complete, including name and initials of the authors cited, title of paper referred to, abbreviated journal title, volume, year, and first and last page numbers of the article (see example 1). The abbreviations of journal titles should conform to those adopted by the List of Serial Title Word Abbreviations, CIEPS/ISDS, Paris, 1985 (ISBN 2-904938-02-8). The form of literature references to books should be: author, initials, title of book, title of series and volume number (if applicable), publisher and city, year and page numbers referred to (see example 3). References to authors contributing to multi-author books or to proceedings printed in book form should be similar to those for monograph books (see example 2).

Examples:

[1] K. Allan, M.C. Doyle, M.D. Rugg, An event related potential study of word-stem cued recall, *Cognitive Brain Res.* 4 (1996) 251-262.

[2] R.R. Mize, Conservation of basic synaptic circuits that mediate GABA inhibition in the subcortical visual system. In: F.E. Bloom (Ed.), *Neuroscience: From the Molecular to the Cognitive*. Progress in Brain Research, Vol. 100, Elsevier, Amsterdam, 1994, pp.

123-132.

[3] L.W. Swanson, A. Bjorklund, T. Hokfelt (Eds.), *Integrated Systems of the CNS, Part III: Cerebellum, Basal Ganglia, Olfactory System*. *Handbook of Chemical Neuroanatomy*, Vol. 12, Elsevier, Amsterdam, 1996, 600 pp.

Illustrations. Authors should consult the Elsevier website for guidelines for preparing (electronic) artwork: <http://www.elsevier.com/artworkinstructions> . N.B. With Web submission, only the following formats are acceptable: TIFF, and EPS. Illustrations will appear either across a single column (=8.3 cm) or a whole page (=17.6 cm). The illustrations should be numbered in Arabic numerals according to the sequence of appearance in the text, where they are referred to as Fig. 1, Fig. 2, etc.

If illustrations (or other small parts) of articles or books already published elsewhere are used in papers submitted to *Neuroscience Letters*, the written permission of the authors and publisher concerned must be included with the manuscript. The original source must be indicated in the legend of the illustration in these cases.

Colour reproduction. Illustrations will be reproduced in colour in the web versions of the journal at no cost to the author. Authors will be required to pay a fee towards the extra costs incurred in colour reproduction within the printed journal. Please apply to the publisher for colour rate.

Colourful e-Products. If, together with your accepted article, you submit usable colour figures then Elsevier will ensure, at no additional charge, that these figures will appear in

colour on the web (e.g., ScienceDirect and other sites) regardless of whether or not these illustrations are reproduced in colour in the printed version. For colour reproduction in print, you will receive information regarding the costs from Elsevier after receipt of your accepted article. For further information on the preparation of electronic artwork, please see <http://www.elsevier.com/artworkinstructions>.

*Please note:* Because of technical complications which can arise by converting colour figures to 'grey scale' (for the printed version should you not opt for colour in print) authors will be requested, after acceptance, to submit in addition usable black and white illustrations corresponding to all the colour illustrations.

Figure legends should be concise and clear and should not duplicate the body of the text. Each illustration must have a title and an explanatory legend. The title should be part of the legend and not be reproduced on the figure itself. The legends should be placed on a separate page at the end of the manuscript and begin with the number of the illustration they refer to. All symbols and abbreviations used in the figure must be explained.

Tables. Tables should be so constructed that they, together with their captions and legends, will be intelligible with minimal reference to the text. Tables of numerical data should each be typed (with double-spacing) on a separate page, numbered in sequence in Arabic numerals (Table 1, 2, etc.) and referred to in the text as Table 1, Table 2, etc. The title of the table should appear above it. A detailed description of its contents and footnotes should be given below the body of the table.

Multimedia files. The journal is able to accept electronic supplementary material to support and enhance your scientific research. Supplementary files offer additional possibilities to publish supporting applications, movies, animation sequences, high-resolution images, background datasets and sound clips. Any files supplied will be published online alongside the electronic version of your article in Elsevier web products, including ScienceDirect.

In order to ensure that your submitted material is directly usable, please ensure that data files are provided in one of our recommended file formats. Full details can be accessed on Elsevier's Author Gateway

When supplementary files are supplied, an additional 'supplementary' figure list should also be submitted. Any supplementary material that is not directly referred to from within the text of your manuscript should be referred to via use of a footnote to the article title. In addition, it is also recommended that a short description is provided for each supplementary file supplied. When published online, the descriptive texts will appear as captions alongside links to the relevant supplementary files.

Please note that any supplementary material supplied is subject to the normal peer review process.

*Chapitre 4 - Troisième article : Selective effect of environmental enrichment on mutant anophthalmic mice*

*Contribution des auteurs*

Nicole Chabot a effectué toutes les étapes de cette recherche sous la supervision de Gilles Bronchti. Denis Boire a participé à l'analyse des résultats. Article à soumettre au journal European Journal of Neuroscience.

*Résumé en français*

Il est connu que l'environnement enrichi stimule le développement de l'écorce corticale, facilite la récupération suite à un traumatisme et conduit à un plus grand nombre de neurones. Ces effets de l'environnement ont été étudiés chez des animaux contrôles. On ne connaît pas l'effet que peut avoir l'environnement sur l'étendue de la plasticité transmodale chez des animaux ayant perdu un sens. Dans une étude antérieure, nous avons démontré chez des modèles aveugles de souris que le collicule inférieur (CI), le corps géniculé latéro-dorsal (LGNd), les cortex auditif primaire (AC) visuel primaire (V1) et secondaires (V2) étaient impliqués dans la plasticité transmodale. Est-ce que la qualité de l'environnement affecte l'activité auditive dans chacune de ces structures d'intérêt ou seulement dans quelques unes de celles-ci? Dans cette présente étude, nous avons pour but de vérifier si i) l'environnement influence seulement les structures corticales ou si son effet est aussi présent dans les structures sous-corticales impliquées dans la plasticité transmodale et ii) les effets de l'environnement affectent de façon similaire les souris anophtalmes, énucléées à la naissance et les contrôles. Nos résultats démontrent que l'enrichissement de l'environnement influence l'activité auditive chez les souris anophtalmes dans le CI, AC et LGNd. La qualité de l'environnement n'affecte ni le volume du néocortex ni le volume des structures d'intérêts. La différence observée dans l'activité auditive évoquée dans CI, AC et LGNd ne peut être expliquée par des changements dans le volume du néocortex ou dans le volume des structures d'intérêts. Nous concluons donc que ces écarts d'activation auditive dans les structures d'intérêts sont dus à l'environnement dans lequel les souris mutantes ont été élevées.

**Section and Senior Editor:**

Development/Plasticity/Repair Neuroscience, Dr. Moses Chao

**Title:** Selective effect of environmental enrichment on mutant anophthalmic mice

**Abbreviated title:** Enrichment and anophthalmic mice

**Authors and affiliations:**

Nicole Chabot<sup>1,3</sup>, Denis Boire<sup>2,3</sup> and Gilles Bronchti<sup>2,3</sup>

<sup>1</sup> Département de Psychologie, Université du Québec à Trois-Rivières, Trois-Rivières, Canada <sup>2</sup> Département de Chimie-Biologie, Université du Québec à Trois-Rivières, Trois-Rivières, Canada <sup>3</sup> Groupe de Recherche en Neurosciences, Université du Québec à Trois-Rivières, Trois-Rivières, Canada

**Corresponding author:**

Gilles Bronchti, Université du Québec à Trois-Rivières, Département de Chimie-Biologie, 3351 Boul. des Forges CP 500, Trois-Rivières, Québec, Canada, G9A 5H7.  
gilles.bronchti@uqtr.ca

**Number of figures and tables:** 8 figures and 2 tables

**Number of pages:** 26 pages

**Keywords:** Enrichment, Cross-modal plasticity, Blindness, Visual system, auditory system, c-Fos immunohistochemistry

**Acknowledgements:** We are grateful to Nadia Desnoyers for her support and precious advice in regard to animal care and maintenance. This work was supported by grants from the Natural Sciences and Engineering Research Council of Canada and from the Fonds Québécois de la Recherche sur la Nature et les Technologies. NC was supported by grants from the Fondation de l'Université du Québec à Trois-Rivières.

*Abstract*

Environmental enrichment can stimulate cortical development, improve recuperation following trauma and increase the number of neurons in the primary visual cortex. The effects of an enriched environment have been studied in normal animals, for the most part on the hippocampus. Only a few studies have investigated the effect of environment on sensory-deprived animals in which cross-modal plasticity occurs. It has been shown that the brain structures involved in this cross modal plasticity in blind mice are: the inferior colliculus (IC), the auditory cortex (AC), the visual thalamus - the dorsal part of the lateral geniculate nucleus (LGNd) - and the primary (V1) and secondary (V2) visual cortices. It is still unclear whether the quality of the environment affects the auditory activity in all these structures or only in part of them. The present study, investigates i) if environment enrichment affects only the cortical structures or also the subcortical structures involved in this auditory-to-visual cross-modal re-organization and ii) whether enrichment affects (similarly) anophthalmic mutant as well as control mice with normal vision. The study suggests that the environment has affects only the auditory evoked activity in the mutant mice and only in IC, AC and LGNd. The quality of the environment appears to affect neither the volume of the neocortex nor the volume of the structures of interest and therefore, the differences observed in the auditory evoked c-Fos activation of the IC, AC and LGNd in the experimental groups cannot be explained by the anatomical parameters. We conclude that the observed differences of the auditory-evoked activity in those auditory structures are due to the environment itself in which the mice have been raised.

### *Introduction*

Environmental enrichment stimulates cortical development (Diamond et al., 1987; Diamond et al., 1964) and influences the development of sensory systems (Blakemore & Mitchell 1973; Blakemore & Van Sluylers 1975; Cancedda et al., 2004; Rosenzweig et al., 1969). It also affects the size and the numerical density of neurons in cortical areas 17 and 18 (Beaulieu & Colonnier 1989) and promotes recovery following brain traumatic injury (Kleim et al., 2003). Moreover, environmental enrichment seems to have an optimal effect at the cortical level (Diamond 2001). Most studies on the effects of the environment have been conducted on normal well-being animals (Andin et al., 2007; Artola et al., 2006; Bredy et al., 2003; Cain et al., 2006; Chapillon et al., 1999; Connor & Diamond 1982; Engineer et al., 2004; Ickes et al., 2000; Percaccio et al., 2005; Torasdotter et al., 1996). Only a few studies document the effects of the environment on sensory deprived animals (Piché et al., 2004; Ryugo et al., 1975). Piché and his collaborators (2004) have shown that environmental enrichment enhances the expression of cross-modal plasticity in the blind mutant anophthalmic ZRDCT/An mouse. Auditory evoked activity in the occipital cortex was more robust in mutant mice raised in an enriched environment than in mutant mice raised under standard housing conditions. Ryugo (1975) suggested that blindness can be considered as an enrichment for audition and somesthesia. Recently, we have shed new light on the structures involved in this cross-modal reorganization, comparing the anophthalmic mutant with neonatally enucleated mice in order to distinguish between the effect of later-onset blindness from blindness at birth (Chabot et al., 2007). The structures involved in the cross-modal effects are the inferior colliculus (IC) as a source of the auditory input to the visual thalamus, the

lateral geniculate nucleus dorsal part (LGNd), the auditory cortex (AC), the primary visual cortex (V1) and the secondary visual cortex both in the lateral (V2l) and medial (V2m) parts. The main objectives of the present study are i) to clarify whether the enrichment affects the auditory activity in the whole of these structures or only in part of them and ii) to determine if the enrichment has an impact on auditory activated structures in mice with normal vision well as in the blind mice. We used three types of mice raised in an enriched environment or in impoverished housing: the mutant ZRDCT/An; the neonatally enucleated C57BL/6 mice and the normal sighted C57BL/6.

### *Materials & methods*

#### Mice

Table 4 gives details on all the animals used in our study. The ZRDCT/An anophthalmic mutant mice (n=10) were born and raised in our own inbred colony. First described by Chase and Chase this strain never develops eyes or optic nerves. The neonatally enucleated C57BL/6 (10) and the control C57BL/6 mice (n=10) are a close relative to the ZRDCT/An mice and have also been used as a control by Chase and Chase (1945), Kaiserman-Abramov (1983), Olavarria (1984) and in our laboratory (2007). All animals were adults, 60 to 90 days old, and were kept in our laboratory facilities with a light/dark cycle of 14/10 hours. All experimental procedures were approved by the University Animal Care Committee and were carried out in accordance with the guidelines set forth by the Canadian Council on Animal Care.

#### Standard environment (SE)

The mice were born and raised in standard mouse cages, with food and water *ad libitum*

placed on the cage lid. The cages were 13x18x29 cm with a floor of a fine layer of wood chips and contained one plastic tube.

#### Enriched environment (EE)

The mice were born and raised in large rat cages 20x25x47 cm containing numerous plastic tubes dispersed within a 12 cm thick layer of wooden chips which the mice used to build galleries and nests. The tubes were moved around once a week. The mice had free access to food and water but the food was scattered all over the cage requiring that the animal explore and search for it.

#### Neonatal enucleation

Enucleations were performed in the first 24 hours following birth. All pups but one were left in their home cage. The mother and that pup were transferred to a new cage. This procedure lowers the risk of cannibalism afterwards. Under anesthesia induced by hypothermia, the palpebral fissure was opened with a scalpel, the eyeballs were exposed and the optic nerve and artery sectioned. The orbits were filled with surgical foam (Gelfoam, Upjohn, Kalamazoo, MI, USA). The pups were then dried, warmed and returned to their home cage.

#### c-Fos experiment and Cytoarchitecture study

To ensure asymmetrical auditory stimulation a silicon plug was placed in the right external ear canal, under light anesthesia by isoflurane inhalation (Aerrane; Janssen Pharmaceutica, Beerse, Belgium). This procedure permits the determination of the auditory origin of the activation observed in visual structures (Bronchti et al., 1989; Heil & Scheich 1986). In addition, mystacial whiskers were trimmed to skin level to limit

somatosensory activation. Following these preparations, each animal (see Table 1) was placed in a custom-made anechoic chamber overnight. The next morning, mice were stimulated with white noise bursts randomly delivered through two loudspeakers, at an intensity of 90 dB sound pressure level for 60 minutes, sacrificed with a lethal injection of sodium pentobarbital (Somnotol, MTC Pharmaceuticals, Cambridge, Ontario; i.p.: 120 mg/kg) and perfused transcardially with 0.01M PBS followed by 4% paraformaldehyde in 0.1 M phosphate buffer, pH 7.4. The brains were dissected out, postfixed for 2 hours in the fixative and cryoprotected in 30% sucrose for about 24 hours. Frozen serial sections were cut (50  $\mu$ m) in the coronal plane and collected in two sets, one processed for c-Fos immunohistochemistry and the other counterstained with Cresyl Violet for the cytoarchitectonic identification of subcortical structures and cortical areas.

Immunohistochemical revelation of c-fos protein expression was performed on free-floating sections using a rabbit polyclonal anti-c-Fos (Ab-5) antibody (Calbiochem, San Diego, California, USA, 1:20,000 dilution), a biotinylated goat anti-rabbit secondary antibody (Vector laboratory, Burlington, Ontario, Canada, 1/500 dilution), avidin-biotin complex (Elite Vectastain, Vector Laboratories, Burlington, Ontario), and a nickel-intensified DAB reaction. For the DAB-nickel protocol, the brain sections were incubated with hydrogen peroxide for staining c-Fos-immunoreactive (-IR) nuclei. A few sections were examined under the microscope before stopping the reaction. This was done to ensure maximal staining of the labeled nuclei, thus limiting variation in staining density. The sections were mounted on gelatinized slides, dehydrated and cover-slipped. Control sections from each brain were processed according to the same immunohistochemical procedure without either the primary or secondary antibodies. Under these circumstances,

no labeled nuclei could be identified in all the structures examined.

#### Definition of the structures of interest (SOI)

The delineation of regions of interest was performed on Nissl counterstained coronal sections. The SOI are the inferior colliculus (IC), the dorsal part of the lateral geniculate nucleus (LGNd), the primary auditory cortex (AC), the primary visual cortex (V1), the secondary visual cortex lateral part (V2l) and the secondary visual cortex medial part (V2m).

#### c-Fos-IR quantification and cytoarchitecture study

In order to compare the auditory activity and the number of neurons within the SOI in the six experimental groups (control mice SE; control mice EE; mutant mice SE; mutant mice EE; neonatally enucleated SE; neonatally enucleated EE), an estimation of the total number of c-Fos-IR nuclei and an estimation of the number of neurons was performed in each SOI using the optical fractionator, an unbiased stereological procedure. The analyses were performed using a Leica DMRB microscope (Leica Microsystems, North York, Ontario, Canada) equipped with a three-axis computer-controlled stepping motor system (0.1  $\mu\text{m}$  resolution) coupled to a personal computer and to a color CCD camera (Optronix, MicroBrightField, Williston, Vermont). Every fourth coronal section processed for the c-Fos immunocytochemistry and cut through the IC, AC, V1, V2l and V2m was used for the estimation of the total number of c-Fos-IR nuclei. Only structures contra-lateral to the stimulated, unplugged ear were sampled. Every sixth Nissl counterstained coronal sections and cut through the IC, LGNd, AC, V1, V2l and V2m was used for obtaining estimates of the total neuronal population and volumes. The Stereo-Investigator software version 7.0 (MicroBrightField, Williston, Vermont) was

used to collect data from five animals in each of the experimental groups. For each section, the contours of the SOI were first traced under a 2.5x objective (0.07 aperture). Subsequently, stereological sampling with the optical fractionator was applied, under a 100x objective (1.3 aperture), to count the labeled nuclei. The same sampling probe with the same parameters of the grid (210 x 210  $\mu\text{m}$  for c-Fos experimentation and 250 x 250  $\mu\text{m}$  for neuronal counting) and the counting frame (100 x 100  $\mu\text{m}$  for c-Fos experimentation and 30 x 30  $\mu\text{m}$  for neuronal counting) was applied to all animals without the experimenter knowing to which group they belonged. The methodological details describing the design-based stereological study are presented in Table 5. In the experimental groups where homogenous and intense labeling is present, the Gundersen coefficients of error (CE) which represent the precision in the estimation of the population size were never higher than 9%. Since the same parameters were used during the study, in cases or areas where the labeling was sparse the CE was as high as 16%.

#### c-Fos-IR quantification in the dorsal lateral geniculate nucleus

The whole of the 50 $\mu\text{m}$ -thick coronal sections processed for c-Fos immunohistochemistry and cut through the LGNd contralateral to the stimulated ear were analyzed in all experimental animals. All labeled nuclei were plotted and counted on every second section since alternate sections were Nissl-counterstained for cytoarchitectonic identification. Thus, the number values shown in Figure 4B represent approximately half of the total number of LGNd cells activated by the auditory stimulus in each animal. Because there is no guard zone, this procedure of quantifying cells may over-estimate the total number of cells in LGNd. Nevertheless, because the section thickness was considerable (50  $\mu\text{m}$ ) in comparison of the diameter of the IR-nuclei (8  $\mu\text{m}$  in average),

the sampling error is small. In fact, very few IR-nuclei would have been cut in the lower or higher focal plane of section and counted in error. Moreover, it should be noted that this error is constant when comparing counts between different animals and any correction factor would yield proportionally lower numbers in all results presented in Figure 33B.

#### c-Fos-IR nuclei plotting

To illustrate the distribution pattern of c-Fos-IR nuclei, the contours of LGNd, AC, V1, V2l and V2m were traced in four consecutive sections using NeuroLucida software (MicroBrightField, Williston, Vermont) at 2.5x objective. In the same animal, all of the contours belonging to any one SOI were aligned with each other and at 40x objective all c-Fos-IR nuclei found in each SOI were plotted. Then, the superposition of contours and markers was processed with the Neuroexplorer software (MicroBrightField, Williston, Vermont) to build a 3D reconstruction of the distribution pattern of c-Fos-IR nuclei within each SOI.

#### Statistical analysis

The significant differences in the mean values recorded within the SOI of the different experimental groups was tested with an ANOVA followed by *post hoc* tests; the Fisher Least Significant Difference (LSD), a multiple comparison test. All statistical analyses were carried out with SPSS 12.0 for Windows (SPSS inc. Chicago, Illinois, USA) with a significance level of  $p < 0.05$ .

## *Results*

### Cytoarchitectonic study

We did look for some parameters in the cytoarchitectonic study such as the volume of neocortex, the volume of structures of interest and the number of neurons in order to analyze in greater detail the effect of enrichment. For most parameters the estimated sizes were greater in the controls than in the mutants. This is expected given that the C57BL6 have a larger body size than the ZRDCT/An mice. The controls have a greater total neocortical ( $p < 0.001$ ; Fig. 29A), AC, V1 and V2l ( $p < 0.001$ ; Fig. 29B-29C-29D respectively) volumes than the mutant mice. Similar results about the volume of the AC, V1 and V2l ( $p < 0.001$ ; Fig. 29B-29C-29D respectively) are found. No significant difference was observed between the volume of V2m in the controls and mutant mice (Fig. 29E). Also, the controls have a greater number of neurons in the LGNd, AC, V1 and in V2l ( $p < 0.001$ ; Fig. 30A-30B-30C-30D respectively) but in V2m and in the IC the number of neurons are equivalent ( $p > 0.05$ ; Fig. 30E-30F). We did not observe a significant effect of environment either in the controls or in the mutant mice for all measured parameters<sup>1</sup>.

### c-Fos experiments

#### *Inferior colliculus*

Auditory stimuli induced c-Fos expression in the contralateral IC in all mice (Fig. 31A). The Fisher LSD post hoc test revealed that the effect of environment is present only within the mutant mice groups. Indeed, the auditory evoked c-Fos activity in the IC was significantly stronger in the mutant EE group than in the mutant SE and control EE

---

<sup>1</sup> The data about the neocortical volume and the number of neurons will be collected later

groups ( $p < 0.001$  and  $p < 0.05$ ). The mutant SE group displayed less auditory-evoked c-Fos activity in the IC than all the other groups ( $p < 0.05$  and  $p < 0.01$ ; Fig. 31B). Auditory evoked c-fos expression was similar in the neonatally enucleated mice and in the control animals (Figure 31B).

#### *Dorsal lateral geniculate nucleus*

There was no significant auditory c-fos expression in controls and in neonatally enucleated mice and no significant effects of environmental enrichment (Fig. 32A). Auditory stimulation induced c-fos expression in the LGNd in the mutant mouse and showed strong influence of environmental enrichment. The mutant EE group exhibited greater auditory evoked c-Fos activity in LGNd than all the other groups ( $p < 0.001$ ). Although lower than what is observed in the mutant EE group, the level of c-Fos activity in LGNd of the mutant SE group was, as expected, well above that of the two control and the two neonatally enucleated groups ( $p < 0.001$ ; Fig. 32B).

#### *Medial lateral geniculate nucleus*

No significant auditory evoked c-Fos expression was found in the primary auditory thalamic nucleus.

#### *Auditory cortex*

The labeling patterns illustrated by the photomicrographs and the plots (Figure 33A) were similar to those obtained in the earlier study in our laboratory (Chabot et al., 2007). Although environmental enrichment had no significant effect on auditory evoked c-fos expression in the auditory cortex of control and enucleated mice, the mutant EE group displayed more intense auditory-evoked c-Fos activity in AC than the mutant SE and the control EE groups ( $P < 0.001$ ; Fig. 33B).

### *Primary visual cortex*

The labeling patterns illustrated by the photomicrographs and the plots (Figure 34A) are similar to those obtained in the earlier study in our laboratory (Chabot et al., 2007). The ANOVA, performed on the means of experimental groups, revealed that no difference can be related to the environment in controls, in mutant or in neonatally enucleated mice even though the mutant mice have a greater auditory evoked activity in V1 than the control and neonatally enucleated mice ( $P < 0.001$  and  $P < 0,01$ ; Fig. 34B).

### *Lateral secondary visual cortex*

The labeling patterns illustrated by the photomicrographs and the plots (Figure 35A) are similar to those obtained in the earlier study in our laboratory (Chabot et al., 2007). The significant auditory activity in V2l revealed by the ANOVA ( $P < 0.01$ ), is found in the neonatally enucleated mice the level of which was not affected by the environment.

### *Medial secondary visual cortex*

The labelling patterns illustrated by the photomicrographs and the plots (Figure 36A) are similar to those obtained in the earlier study (Chabot et al., 2007). Auditory evoked c-fos expression in V2m was not significantly affected by environmental enrichment in any experimental group ( $P < 0.05$ ; Fig. 36B).

### *Discussion*

The data presented here show that the environment did not affect the volume of the neocortex or that of the structures of interest in both mouse strains. Nevertheless, the enriched environment we used influences the auditory evoked c-Fos-IR in the mutant mice but not in the controls or in the neonatally enucleated mice. An enriched environment significantly enhances auditory activity in the mutant IC, LGNd and AC

compared to standard housed mice.

#### Anatomical effect of environment on experimental animals

Differences in brain size and volume of neocortical areas of interest between the two strains were commensurate with those previously reported for ZRDCT mice (Chase 1945; Kaiserman-Abramof et al., 1980). Environmental enrichment did not alter the size and neuronal numbers in the studied brain structures in all our experimental groups. This contrasts with previously reported increases of the number and density of neurons and of the volume of some brain structures in animals raised in enriched environments. Most of the recent literature on the subject concerns the hippocampus, one of the most plastic telencephalic structures which is known to be particularly involved in spatial exploration and in memory (Bindu et al., 2007; Catlow et al., 2009; Darmopil et al., 2008; Dhanushkodi et al., 2007; Fan et al., 2007; Galani et al., 2007; Li et al., 2007; Llorens-Martin et al., 2007; McNair et al., 2007; Mirochnic et al., 2009; Pereira et al., 2009; Xu et al., 2009). Environmental enrichment has been shown to increase neocortical thickness (Bennett et al., 1964; Diamond et al., 1964), neuronal (Diamond 1988), and dendritic size (Greenough & Volkmar 1973; Holloway 1966), and number and the size of dendritic spines (Black et al., 1990; Mollgaard et al., 1971). It could be expected that these effects would translate into an increased cortical volume but such an effect was not observed in our enriched animals. This discrepancy could be explained by a different methodology for the data acquisition. i.e., optical micrometer in Diamond (1964) and in Bennett (1964) studies versus stereology in the present work. The differences in the type of housing and nature of the environmental enrichment could also contribute to this discrepancy. For instance, Diamond (1964) and Bennett (1964) studies animals in an environment enriched

by more intense social interactions, by housing twelve rats in a large cage in the presence of toy objects. Since there is no standard in the quality of environment used with rodents in experimental paradigms, comparison demands caution (Dinse 2004; Nithianantharajah & Hannan 2006).

Auditory evoked c-Fos activity in C57BL/6 mice is not affected by environment

Control and neonatally enucleated C57BL/6 animals have equivalent auditory evoked c-Fos activity in the inferior colliculus and in the primary auditory cortex regardless of the environmental conditions.. Strain-dependant effects of enrichment have been previously reported For instance, control rats raised in modestly enriched conditions performed no better than standard-raised animals in a spatial orientation test while rats with memory deficit demonstrated a significantly improved performance when raised in the same enriched environment (Brillaud et al. 2005). Another study suggested that environmental enrichment largely rescued behavioral and neuronal abnormalities in fragile X syndrome mouse model but did not affect the C57BL/6 control mice (Restivo et al., 2005). Also, MacPherson and collaborators (2008) have shown that continuous environmental enrichment significantly increased object recognition in a mouse model of corpus callosum agenesis, but not in control C57BL/6 mice. It has been proposed that the influence of enrichment could be strain specific (Abramov et al., 2008; Tsai et al., 2002) and that the emotional state of the C57BL/6 mouse strain is not affected by the environment but is in other strains used in their experiments (Augustsson et al., 2003; Chapillon et al., 1999; Navailles et al., 2008).

That the auditory system of C57BL/6 mice appears impervious to environmental

enrichment in the present study could also be explained by the absence of specific auditory enrichment. Neurons in rats' auditory cortex submitted to auditory enrichment paradigms has better response strength, threshold, selectivity and latency and an improved auditory spatial representation (Cai et al., 2009; Engineer et al., 2004).

We cannot exclude the possibility that the enriched environment we used in our study affected the characteristics or the activation of the hippocampus or of the somatosensory cortex in the C57BL/6 animals.

#### Effect of environment on auditory evoked c-Fos activity in mutant mice

While, the observed pattern of auditory evoked c-Fos activity in the inferior colliculus is typical of a response to noise bursts in mice (Brown & Liu 1995), in the enriched mutant we observed a much higher c-Fos auditory evoked activity in this nucleus than in mice raised in standard housing. This result is consistent with that observed by Piché (2004) (this result is unpublished) with similar experimental groups of mice.

The auditory evoked expression of c-Fos in the inferior colliculus and AC in mutant mice raised in the standard conditions is the lowest of all four groups. This pattern replicates itself upstream into AC. The auditory activation of the visual structures - which is obviously found only in mutant mice - is also significantly affected by the environment. The enriched mutant showed an increased activity in LGNd compared to that found in their littermates raised in standard environment. At the cortical level, in V1 and V2, we observed a relatively high inter-individual variability, illustrating the differential individual responses to the same environment (Darmopil et al., 2008). Such variability could mask the influence of the environment on the c-Fos auditory evoked

immunoreactivity in the visual cortices that was previously reported as significant (Piché, 2004).

The poor auditory c-Fos evoked activity of the standard mice could be explained by the fact that the standard housing we provided is considered as an impoverished environment. Environment influences the anxiety-like behaviour (Chapillon et al., 1999; Chourbaji et al., 2008; Moncek et al., 2004) and impoverished environment could lead to stress and depression (Chourbaji et al., 2008; Chourbaji et al., 2005). It exacerbates the stress while enrichment seems to rescue this emotional state (Chourbaji et al., 2008). The neurotrophin hypothesis postulates that stress causes a reduction of BDNF (Chourbaji et al., 2008) the level of which is decreased in animals raised in standard environment (Zhu et al., 2006). BDNF seems to be involved in the characteristic phenotypes of emotion and depression (Ridder et al., 2005).

In conclusion, the data presented here suggest two possibilities that could explain the differences in the auditory evoked activity between the mutant anophthalmic mice and the C57BL/6 enucleated. First, the discrepancies could be due to i) the different strains of mice or ii) the difference in the onset of blindness since early-onset and late-onset of blindness do not influence in the same manner the crossmodal compensation (Chabot et al., 2007, Bavelier et al., 2002, Pascual-Leone et al., 2005). More studies would be needed to investigate this point. Also with these data, we confirm partially the proposition of Ryugo (1975) that a visual differentiation is an enrichment to audition because our enriched anophthalmic mice but not our enriched enucleated mice have enhanced auditory activity than control mice.

*Abbreviations:*

V1: primary visual cortex  
V2l: secondary visual cortex lateral part  
V2m: secondary visual cortex medial part  
AC: auditory cortex  
IC: inferior colliculus  
LGNd: lateral geniculate nucleus dorsal part  
2DG: 2-deoxyglucose  
SE: Standard Environment  
EE: Enriched Environment  
PBS: Phosphate Buffer Saline  
DAB: 3,3-Diaminobenzidine  
-IR-: -ImmunoReactive-  
SOI: Structure of Interest  
LSD: Least Significant Difference  
BDA: dextran-biotin  
TBS-Tx: Tris-HCl-Buffered Saline-Triton X-100  
CE: Gundersen Coefficient of Error  
BIC: Brachium of the inferior Colliculus  
MGN(v): Medial Geniculate Nucleus (ventral division)  
LP: Latero-Posterior nucleus  
NMDA: N-methyl-D-Aspartate  
E number: Embryonic age  
P number: Postnatal day

### References

- Abramov,U., Puusaar,T., Raud,S., Kurrikoff,K. & Vasar,E. (2008) Behavioural differences between C57BL/6 and 129S6/SvEv strains are reinforced by environmental enrichment. *Neurosci.Lett.*, **443**, 223-227.
- Andin,J., Hallbeck,M., Mohammed,A.H. & Marcusson,J. (2007) Influence of environmental enrichment on steady-state mRNA levels for EAAC1, AMPA1 and NMDA2A receptor subunits in rat hippocampus. *Brain Res.*, **1174**, 18-27.
- Artola,A., von Frijtag,J.C., Fermont,P.C., Gispen,W.H., Schrama,L.H., Kamal,A. & Spruijt,B.M. (2006) Long-lasting modulation of the induction of LTD and LTP in rat hippocampal CA1 by behavioural stress and environmental enrichment. *Eur.J.Neurosci.*, **23**, 261-272.
- Augustsson,H., van de Weerd,H.A., Kruitwagen,C.L. & Baumans,V. (2003) Effect of enrichment on variation and results in the light/dark test. *Lab Anim*, **37**, 328-340.
- Beaulieu,C. & Colonnier,M. (1989) Number and size of neurons and synapses in the motor cortex of cats raised in different environmental complexities. *J Comp Neurol.*, **289**, 178-181.
- Bennett,E.L., Diamond,M.C., Krech,D. & Rosenzweig,M.R. (1964) Chemical and anatomical plasticity of the brain. *Science*, **164**, 610-619.
- Bindu,B., Alladi,P.A., Mansooralikhan,B.M., Srikumar,B.N., Raju,T.R. & Kutty,B.M. (2007) Short-term exposure to an enriched environment enhances dendritic branching but not brain-derived neurotrophic factor expression in the hippocampus of rats with ventral subicular lesions. *Neurosci.*, **144**, 412-423.
- Black,J.E., Isaacs,K.R., Anderson,B.J., Alcantara,A.A. & Greenough,W.T. (1990) Learning causes synaptogenesis, whereas motor activity causes angiogenesis, in cerebellar cortex of adult rats. *Proc.Natl.Acad.Sci.USA*, **87**, 5568-5572.
- Blakemore,C. & Mitchell,D.E. (1973) Environmental modification of the visual cortex and the neural basis of learning and memory. *Nature*, **241**, 467-468.
- Blakemore,C. & Van Sluyters,R.C. (1975) Innate and environmental factors in the development of the kitten's visual cortex. *J.Physiol.(Lond.)*, **248**, 663-716.
- Bredy,T.W., Humpartzoomian,R.A., Cain,D.P. & Meaney,M.J. (2003) Partial reversal of the effect of maternal care on cognitive function through environmental enrichment. *Neurosci.*, **118**, 571-576.
- Brillaud,E., Morillion,D. & de,S.R. (2005) Modest environmental enrichment: effect on

a radial maze validation and well being of rats. *Brain Res.*, **1054**, 174-182.

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. A 2-deoxyglucose study of subcortical centers. *J.Comp.Neurol.*, **284**, 253-274.

Brown,M.C. & Liu,T.S. (1995) Fos-like immunoreactivity in central auditory neurons of the mouse. *J.Comp.Neurol.*, **357**, 85-97.

Cai,R., Guo,F., Zhang,J., Xu,J., Cui,Y. & Sun,X. (2009) Environmental enrichment improves behavioral performance and auditory spatial representation of primary auditory cortical neurons in rat. *Neurobiol.Learn.Mem.*.

Cain,M.E., Green,T.A. & Bardo,M.T. (2006) Environmental enrichment decreases responding for visual novelty. *Behav.Processes*, **73**, 360-366.

Cancedda,L., Putignano,E., Sale,A., Viegi,A., Berardi,N. & Maffei,L. (2004) Acceleration of visual system development by environmental enrichment. *J.Neurosci.*, **24**, 4840-4848.

Catlow,B.J., Rowe,A.R., Clearwater,C.R., Mamcarz,M., Arendash,G.W. & Sanchez-Ramos,J. (2009) Effects of environmental enrichment and physical activity on neurogenesis in transgenic PS1/APP mice. *Brain Res.*, **1256**, 173-179.

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. *Eur J Neurosci*, **26**, 2334-2348.

Chapillon,P., Manneche,C., Belzung,C. & Caston,J. (1999) Rearing environmental enrichment in two inbred strains of mice: 1. Effects on emotional reactivity. *Behav.Genet.*, **29**, 41-46.

Chase,H.B. (1945) Studies on an anophthalmic strain of mice: V. Associated cranial nerves and brain centers. *J.Comp.Neurol.*, **83**, 121-139.

Chourbaji,S., Brandwein,C., Vogt,M.A., Dormann,C., Hellweg,R. & Gass,P. (2008) Nature vs. nurture: Can enrichment rescue the behavioural phenotype of BDNF heterozygous mice? *Behav.Brain Res.*.

Chourbaji,S., Zacher,C., Sanchis-Segura,C., Spanagel,R. & Gass,P. (2005) Social and structural housing conditions influence the development of a depressive-like phenotype in the learned helplessness paradigm in male mice. *Behav.Brain Res.*, **164**, 100-106.

Connor,J.R. & Diamond,M.C. (1982) A comparison of dendritic spine number and type on pyramidal neurons of the visual cortex of old adult rats from social or isolated environments. *J Comp Neurol.*, **210**, 99-106.

Darmopil,S., Petanjek,Z., Mohammed,A.H. & Bogdanovic,N. (2008) Environmental

enrichment alters dentate granule cell morphology in oldest-old rat. *J.Cell Mol.Med.*

Dhanushkodi,A., Bindu,B., Raju,T.R. & Kutty,B.M. (2007) Exposure to enriched environment improves spatial learning performances and enhances cell density but not choline acetyltransferase activity in the hippocampus of ventral subicular-lesioned rats. *Behav.Neurosci.*, **121**, 491-500.

Diamond,M.C. (1988) *Enriching heredity* The Free Press, New York.

Diamond,M.C. (2001) Response of the brain to enrichment. *An.Acad.Bras.Cienc.*, **73**, 211-220.

Diamond,M.C., Greer,E.R., York,A., Lewis,D., Barton,T. & Lin,J. (1987) Rat cortical morphology following crowded-enriched living conditions. *Exp.Neurol.*, **96**, 241-247.

Diamond,M.C., Krech,D. & Rosenzweig,M.R. (1964) The effect of an enriched environment on the rat cerebral cortex. *J Comp Neurol.*, **123**, 111-119.

Dinse,H.R. (2004) Sound case for enrichment. Focus on "environmental enrichment improves response strength, threshold, selectivity, and latency of auditory cortex neurons". *J.Neurophysiol.*, **92**, 36-37.

Engineer,N.D., Percaccio,C.R., Pandya,P.K., Moucha,R., Rathbun,D.L. & Kilgard,M.P. (2004) Environmental enrichment improves response strength, threshold, selectivity, and latency of auditory cortex neurons. *J.Neurophysiol.*, **92**, 73-82.

Fan,Y., Liu,Z., Weinstein,P.R., Fike,J.R. & Liu,J. (2007) Environmental enrichment enhances neurogenesis and improves functional outcome after cranial irradiation. *Eur.J.Neurosci.*, **25**, 38-46.

Galani,R., Berthel,M.C., Lazarus,C., Majchrzak,M., Barbelivien,A., Kelche,C. & Cassel,J.C. (2007) The behavioral effects of enriched housing are not altered by serotonin depletion but enrichment alters hippocampal neurochemistry. *Neurobiol.Learn.Mem.*, **88**, 1-10.

Greenough,W.T. & Volkmar,F.R. (1973) Pattern of dendritic branching in occipital cortex of rats reared in complex environments. *Exp.Neurol.*, **40**, 491-504.

Heil,P. & Scheich,H. (1986) Effects of unilateral and bilateral cochlea removal on 2-deoxyglucose patterns in the chick auditory system. *J.Comp.Neurol.*, **252**, 279-301.

Holloway,H.W. (1966) Dendritic branching:some preliminary results of training and complexity in rat visual cortex. *Brain Res.*, **2**, 393-396.

Ickes,B.R., Pham,T.M., Sanders,L.A., Albeck,D.S., Mohammed,A.H. & Granholm,A.C. (2000) Long-term environmental enrichment leads to regional increases in neurotrophin levels in rat brain. *Exp.Neurol.*, **164**, 45-52.

- Kaiserman-Abramof, I.R. (1983) Intrauterine enucleation of normal mice mimics a structural compensatory response in the geniculate of eyeless mutant mice. *Brain Res.*, **270**, 149-153.
- Kaiserman-Abramof, I.R., Graybiel, A.M. & Nauta, W.J.H. (1980) The thalamic projection to cortical area 17 in a congenitally anophthalmic mouse strain. *Neurosci.*, **5**, 41-52.
- Kleim, J.A., Jones, T.A. & Schallert, T. (2003) Motor enrichment and the induction of plasticity before or after brain injury. *Neurochem. Res.*, **28**, 1757-1769.
- Li, C., Niu, W., Jiang, C.H. & Hu, Y. (2007) Effects of enriched environment on gene expression and signal pathways in cortex of hippocampal CA1 specific NMDAR1 knockout mice. *Brain Res. Bull.*, **71**, 568-577.
- Llorens-Martin, M.V., Rueda, N., Martinez-Cue, C., Torres-Aleman, I., Florez, J. & Trejo, J.L. (2007) Both increases in immature dentate neuron number and decreases of immobility time in the forced swim test occurred in parallel after environmental enrichment of mice. *Neurosci.*, **147**, 631-638.
- MacPherson, P., McGaffigan, R., Wahlsten, D. & Nguyen, P.V. (2008) Impaired fear memory, altered object memory and modified hippocampal synaptic plasticity in split-brain mice. *Brain Res.*, **1210**, 179-188.
- McNair, K., Broad, J., Riedel, G., Davies, C.H. & Cobb, S.R. (2007) Global changes in the hippocampal proteome following exposure to an enriched environment. *Neurosci.*, **145**, 413-422.
- Mirochnic, S., Wolf, S., Staufenbiel, M. & Kempermann, G. (2009) Age effects on the regulation of adult hippocampal neurogenesis by physical activity and environmental enrichment in the APP23 mouse model of Alzheimer disease. *Hippocampus*.
- Mollgaard, K., Diamond, M.C., Bennett, E.L., Rosenzweig, M.R. & Lindner, B. (1971) Quantitative synaptic changes with differential experience in rat brain. *Int. J. Neurosci.*, **2**, 113-128.
- Moncek, F., Duncko, R., Johansson, B.B. & Jezova, D. (2004) Effect of environmental enrichment on stress related systems in rats. *J. Neuroendocrinol.*, **16**, 423-431.
- Navailles, S., Hof, P.R. & Schmauss, C. (2008) Antidepressant drug-induced stimulation of mouse hippocampal neurogenesis is age-dependent and altered by early life stress. *J. Comp. Neurol.*, **509**, 372-381.
- Nithianantharajah, J. & Hannan, A.J. (2006) Enriched environments, experience-dependent plasticity and disorders of the nervous system. *Nat. Rev. Neurosci.*, **7**, 697-709.
- Olavarria, J.F. & Van Sluyters, R.C. (1984) Callosal connections of the posterior neocortex in normal eyed, congenitally anophthalmic, and neonatally enucleated mice.

*J.Comp.Neurol.*, **230**, 249-268.

Percaccio,C.R., Engineer,N.D., Pruette,A.L., Pandya,P.K., Moucha,R., Rathbun,D.L. & Kilgard,M.P. (2005) Environmental enrichment increases paired-pulse depression in rat auditory cortex. *J.Neurophysiol.*, **94**, 3590-3600.

Pereira,L.O., Nabinger,P.M., Strapasson,A.C., Nardin,P., Goncalves,C.A., Siqueira,I.R. & Netto,C.A. (2009) Long-term effects of environmental stimulation following hypoxia-ischemia on the oxidative state and BDNF levels in rat hippocampus and frontal cortex. *Brain Res.*, **1247**, 188-195.

Piché,M., Robert,S., Miceli,D. & Bronchti,G. (2004) Environmental enrichment enhances auditory takeover of the occipital cortex in anophthalmic mice. *Eur.J.Neurosci.*, **20**, 3463-3472.

Restivo,L., Ferrari,F., Passino,E., Sgobio,C., Bock,J., Oostra,B.A., Bagni,C. & Ammassari-Teule,M. (2005) Enriched environment promotes behavioral and morphological recovery in a mouse model for the fragile X syndrome. *Proc.Natl.Acad.Sci.U.S.A.*, **102**, 11557-11562.

Ridder,S., Chourbaji,S., Hellweg,R., Urani,A., Zacher,C., Schmid,W., Zink,M., Hortnagl,H., Flor,H., Henn,F.A., Schutz,G. & Gass,P. (2005) Mice with genetically altered glucocorticoid receptor expression show altered sensitivity for stress-induced depressive reactions. *J.Neurosci.*, **25**, 6243-6250.

Rosenzweig,M.R., Bennett,E.L., Diamond,M.C., Wu,S.Y., Slagle,R.W. & Saffran,E. (1969) Influences of environmental complexity and visual stimulation on development of occipital cortex in rat. *Brain Res.*, **14**, 427-445.

Ryugo,D.K., Ryugo,R., Globus,A. & Killackey,H.P. (1975) Increased spine density in auditory cortex following visual or somatic deafferentiation. *Brain Res.*, **90**, 143-146.

Torasdotter,M., Metsis,M., Henriksson,B.G., Winblad,B. & Mohammed,A.H. (1996) Expression of neurotrophin-3 mRNA in the rat visual cortex and hippocampus is influenced by environmental conditions. *Neurosci.Lett.*, **218**, 107-110.

Tsai,P.P., Pachowsky,U., Stelzer,H.D. & Hackbarth,H. (2002) Impact of environmental enrichment in mice. 1: effect of housing conditions on body weight, organ weights and haematology in different strains. *Lab Anim*, **36**, 411-419.

Xu,X., Ye,L. & Ruan,Q. (2009) Environmental enrichment induces synaptic structural modification after transient focal cerebral ischemia in rats. *Exp.Biol.Med.(Maywood.)*, **234**, 296-305.

Zhu,S.W., Yee,B.K., Nyffeler,M., Winblad,B., Feldon,J. & Mohammed,A.H. (2006) Influence of differential housing on emotional behaviour and neurotrophin levels in mice. *Behav.Brain Res.*, **169**, 10-20.

*Figure and tables captions:*

## Figure 29. Volume of cortical structures in experimental animals

Box plots describing the distribution of the volume of the neocortex (A), the auditory cortex (B), the primary visual cortex (C), the lateral part of the secondary visual cortex (D) and the medial part of the secondary visual cortex (E). Parameters are as in figure 1B. *P* values obtained with the ANOVA are indicated on box plots. Note that the control mice have a greater volume of neocortex, AC, V1 and V2l in comparison to the mutant mice ( $p < 0.001$ ). Also note that enrichment has no effect.

## Figure 30. Estimated number of neurons in the primary visual thalamus nucleus and in cortical structures in experimental animals

Box plots describing the distribution of the estimated numbers of neurons of each group in the dorsal part of the lateral geniculate nucleus (A), the primary auditory cortex (B), the primary visual cortex (C), the lateral part of the secondary visual cortex (D), the medial part of the secondary visual cortex (E) and the inferior colliculus (F). Parameters are as in figure 1B. *P* values obtained with the ANOVA are indicated on box plots. Note that the controls have a greater number of neurons in LGNd, AC, V1, and V2l than the mutant mice ( $p < 0.001$ ). The number of neurons in V2m and in IC is similar in controls and in mutant mice. Also note that the enrichment has no effect on the number of neurons.

## Figure 31. c-Fos immunoreactivity in the inferior colliculus evoked by an auditory stimulus

(A) Photomicrographs of sections demonstrating the c-Fos activity in the IC contralateral to the stimulated ear of control (upper row) and mutant (lower row) mice raised in standard (left column) or in enriched (right column) environment. Scale bars = 500  $\mu\text{m}$ .

(B) Box plot describing the distribution of the estimated numbers of c-Fos-IR nuclei in each group. The horizontal black lines indicate the minimum, the 25th percentile, the median, the 75th percentile and the maximum points of the data set. The dashed line indicates the mean. Mean and standard deviation of each group are indicated under the plot. The hooks and asterisks on top and bottom of boxes indicate significant differences between groups at  $P < 0.05$  (\*),  $P < 0.01$  (\*\*) and  $P < 0.001$  (\*\*\*) obtained with post-hoc test Least Significant Difference (LSD). Note that the environment has no effect on the controls animals. In the mutant mice however, the enriched environment raises the auditory evoked activity in IC above that found in controls and in contrast, mice raised in standard environment have a reduced auditory evoked activity.

Figure 32. c-Fos immunoreactivity in the dorsal lateral geniculate nucleus evoked by an auditory stimulus

(A) Photomicrographs of sections demonstrating the c-Fos activity in the LGNd contralateral to the stimulated ear of experimental animals. On the right side of each photograph is displayed the corresponding plot of all c-Fos-IR nuclei found in four consecutive sections through the thalamus. Arrangement of photomicrographs is as in figure 32A. Scale bars = 500  $\mu\text{m}$  (identical for photomicrographs and plots). (B) Box plot describing the distribution of the total number of c-Fos-IR nuclei in each group. Parameters are as in figure 32B.  $P$  values obtained with the post hoc test LSD are

indicated on box plot. Note that only in the mutant mice auditory activity can be found in LGNd and that it is enhanced in animals raised in enriched environment.

Figure 33. c-Fos immunoreactivity in the primary auditory cortex evoked by an auditory stimulus

(A) Photomicrographs of sections demonstrating the c-Fos activity in the AC contralateral to the stimulated ear in experimental animals. Arrangement of photomicrographs and plots is as in figure 33A. The plots depict all the c-Fos-IR nuclei found in four consecutive sections through the auditory cortex. The cortical layers as identified in the corresponding Nissl stained sections, are indicated above the plot. Scale bars = 500  $\mu\text{m}$  (identical for photomicrographs and plots). (B) Box plot describing the distribution of the estimated numbers of c-Fos-IR nuclei in each group. Parameters are as in figure 1B. *P* values obtained with the post-hoc LSD test are indicated on box plots. Note that the enrichment has an effect only on mutant mice. Indeed, the enriched mutant group stands over the standard mutant and the enriched control groups.

Figure 34. c-Fos immunoreactivity in the primary visual cortex evoked by an auditory stimulus

(A) Photomicrographs of sections demonstrating the c-Fos activity in V1 contralateral to the stimulated ear in experimental animals. Arrangement of photomicrographs and plots is as in figure 33A. The plots depict all the c-Fos-IR nuclei found in four consecutive sections through V1. The cortical layers are indicated above the plot. Scale bars = 500  $\mu\text{m}$  (identical for photomicrographs and plots). (B) Box plots describing the distribution

of the estimated numbers of c-Fos-IR nuclei in each group. Parameters are as in figure 32B. *P* values obtained with the ANOVA are indicated on box plots. Note that the enrichment has no effect either on mutant or on control mice.

Figure 35. c-Fos immunoreactivity in the secondary lateral visual cortex evoked by an auditory stimulus

(A) Photomicrographs of sections demonstrating the c-Fos activity in the V2l contralateral to the stimulated ear in experimental animals. Arrangement of photomicrographs and plots is as in figure 33A. The plots depict all the c-Fos-IR nuclei found in four consecutive sections through V2l. The cortical layers are indicated above the plot. Scale bars = 500  $\mu\text{m}$  (identical for photomicrographs and plots). (B) Box plots describing the distribution of the estimated numbers of c-Fos-IR nuclei in each group. Parameters are as in figure 32B.

Figure 36. c-Fos immunoreactivity in the secondary medial visual cortex evoked by an auditory stimulus

(A) Photomicrographs of sections demonstrating the c-Fos activity in the V2m contralateral to the stimulated ear in experimental animals. Arrangement of photomicrographs and plots is as in figure 33A. The plots depict all the c-Fos-IR nuclei found in four consecutive sections through the occipital cortex. The cortical layers are indicated above the plot. Scale bars = 500  $\mu\text{m}$  (identical for photomicrographs and plots). (B) Box plots describing the distribution of the estimated numbers of c-Fos-IR nuclei in each group. Parameters are as in figure 32B. *P* values obtained with the ANOVA are

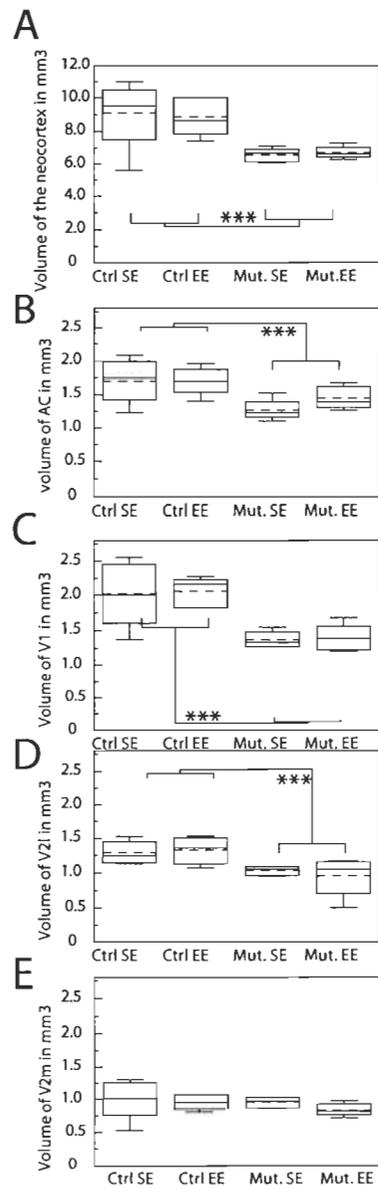
indicated on box plots. Note that the enrichment has no effect on the auditory evoked activity among the strains even though the mutant have a higher auditory activity in V2m than the control mice.

#### Table 4. Animals details

This table summarizes all experimental animals used in the experimentation

#### Table 5. Methodological details describing design-based stereological study

Methodological details of the design-based stereological study. Note that there are two sets of settings, one for the estimation of the number of c-Fos-IR nucleus and one for the estimation of the number of neurons. The set of settings is similar for all animals in each structure, except in LGNd for the c-Fos experiment.



**Figure 29** Volume of cortical structures in experimental animals

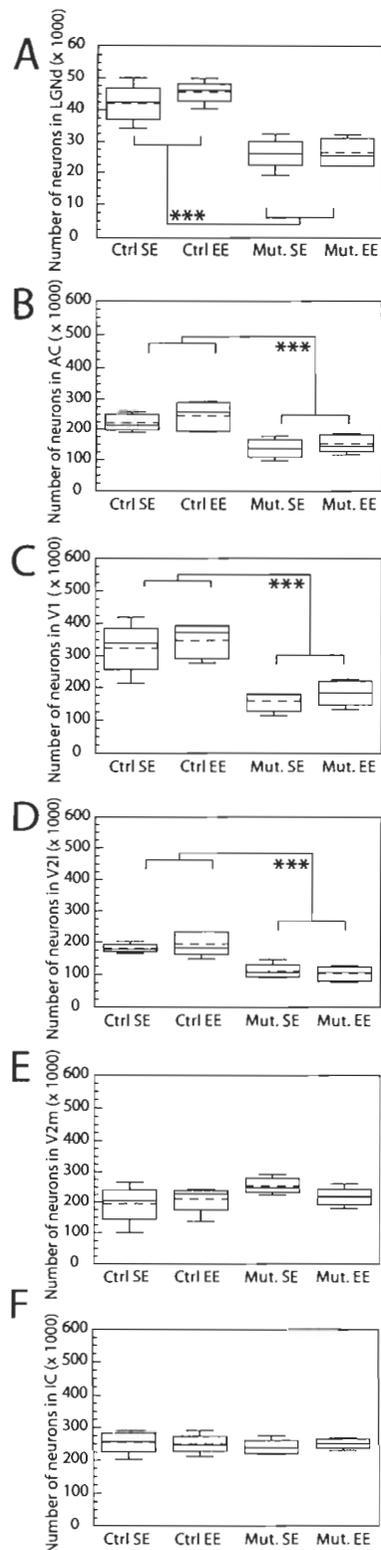


Figure 30 Estimated number of neurons in the primary visual thalamus nucleus and in cortical structures in experimental animals

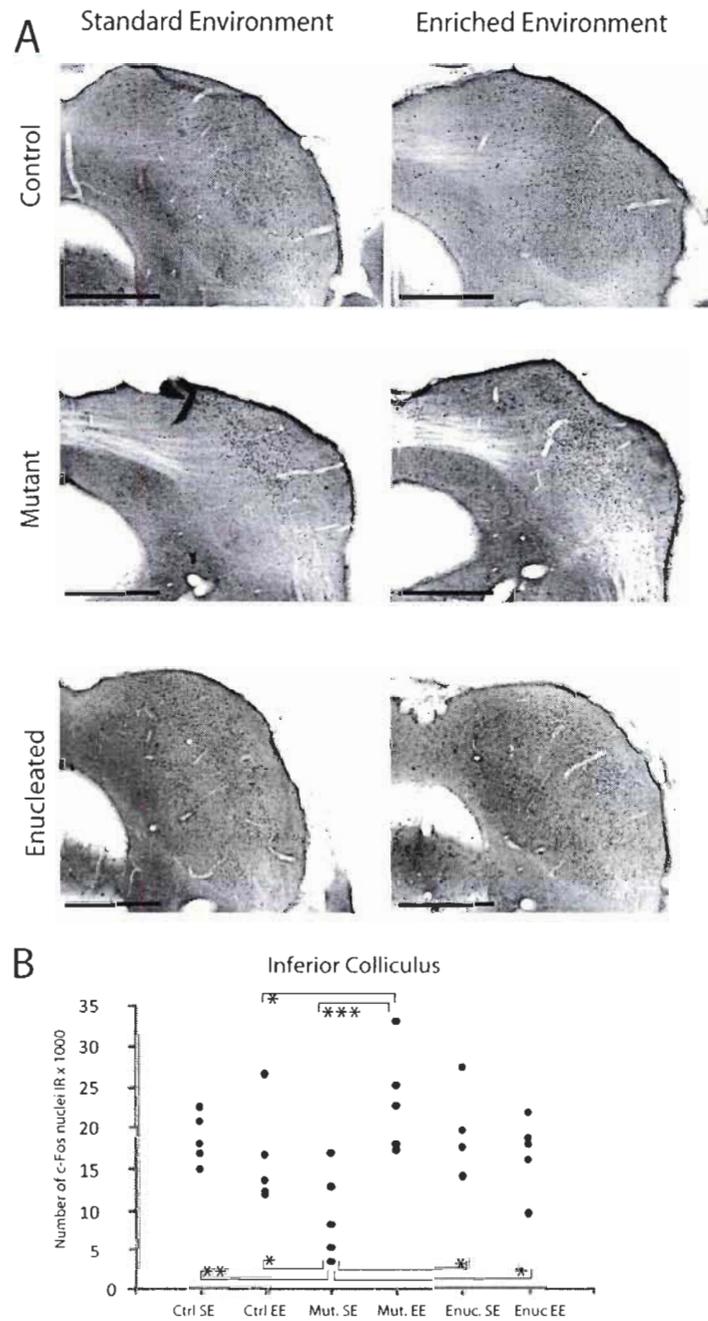
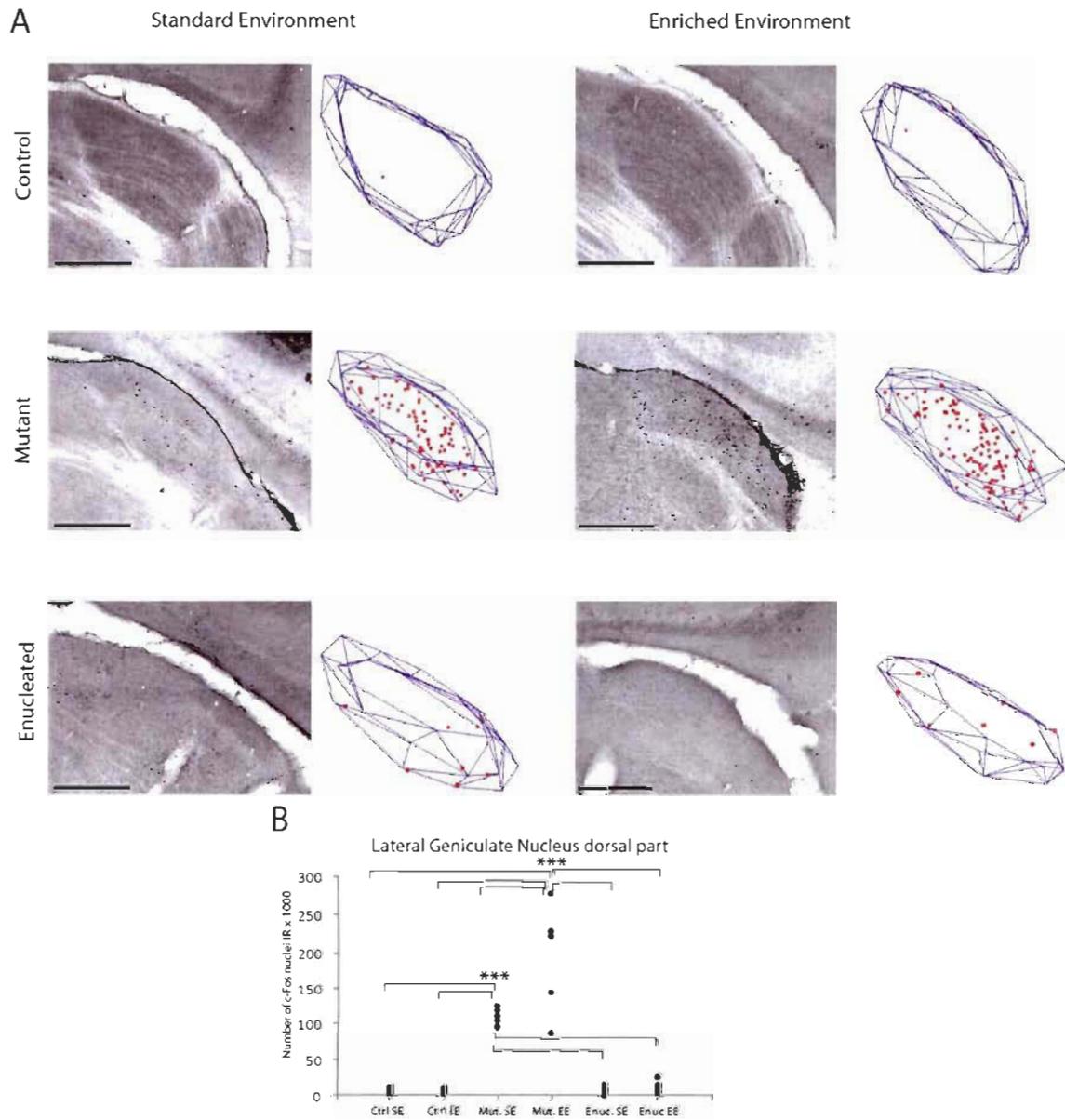


Figure 31 c-Fos immunoreactivity in the inferior colliculus evoked by an auditory stimulus



**Figure 32** c-Fos immunoreactivity in the dorsal lateral geniculate nucleus evoked by an auditory stimulus

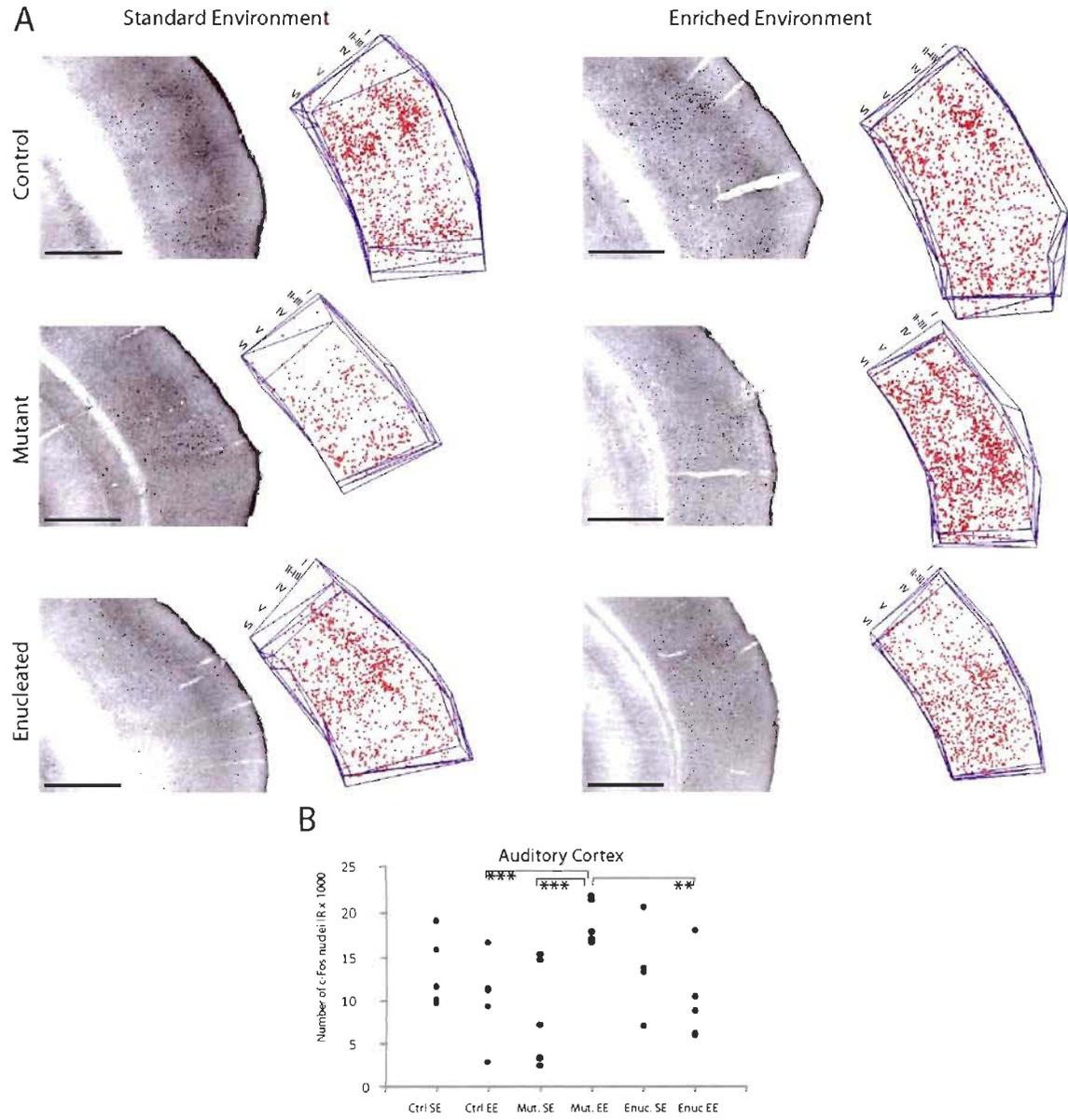


Figure 33 c-Fos immunoreactivity in the primary auditory cortex evoked by an auditory stimulus

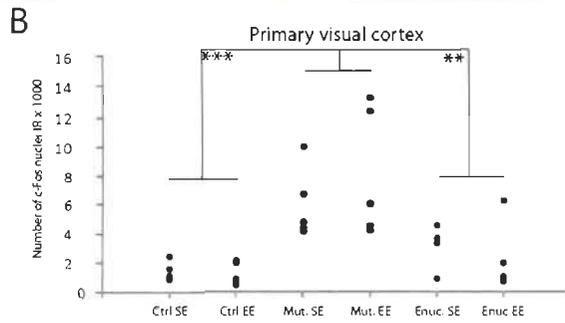
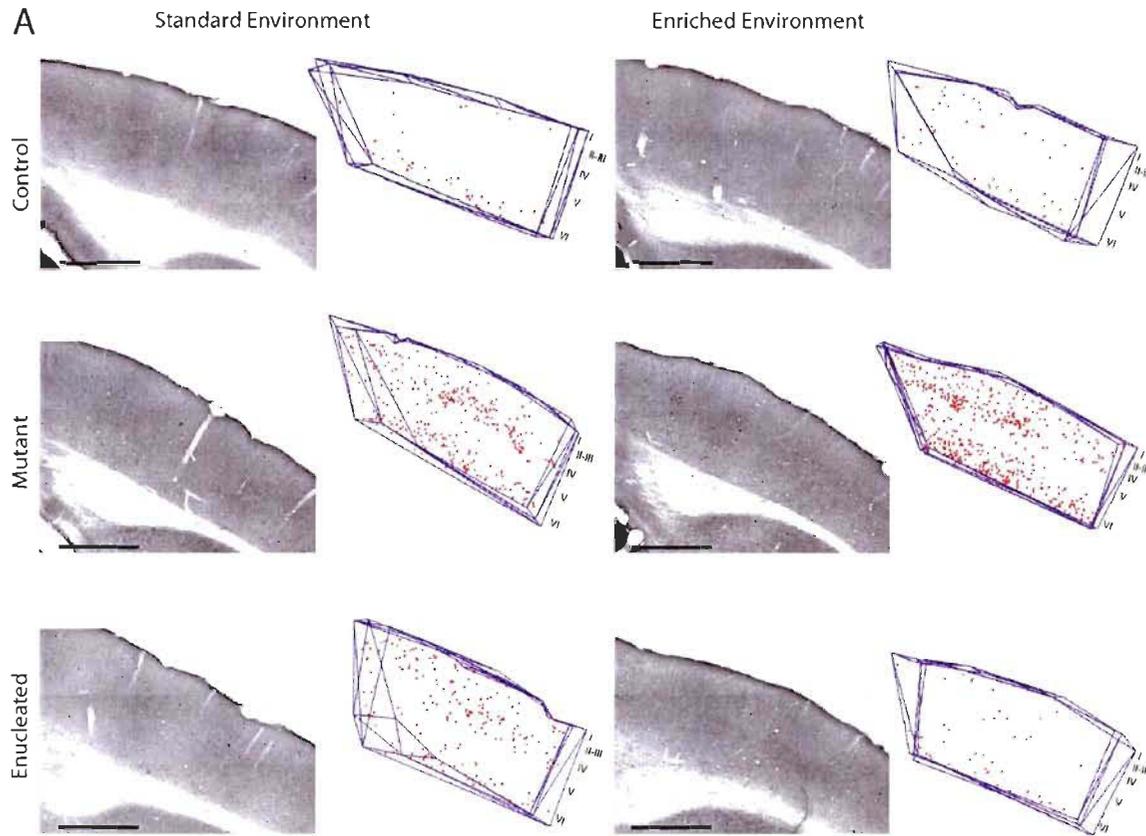
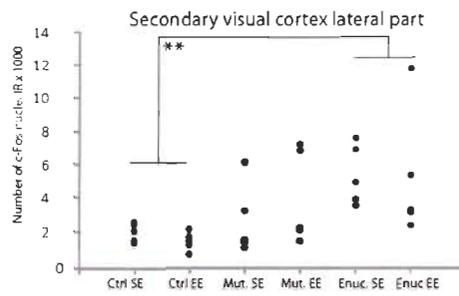
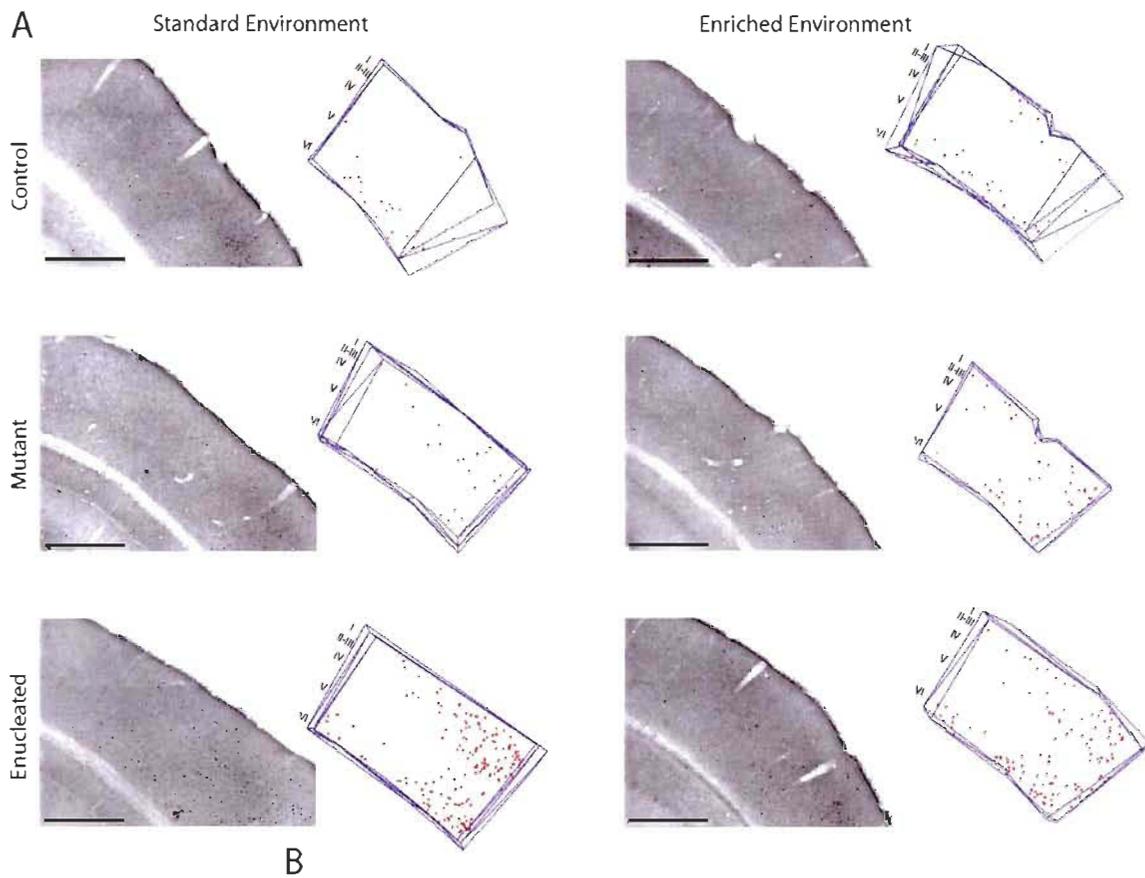


Figure 34 c-Fos immunoreactivity in the primary visual cortex evoked by an auditory stimulus



**Figure 35** c-Fos immunoreactivity in the secondary lateral visual cortex evoked by an auditory stimulus

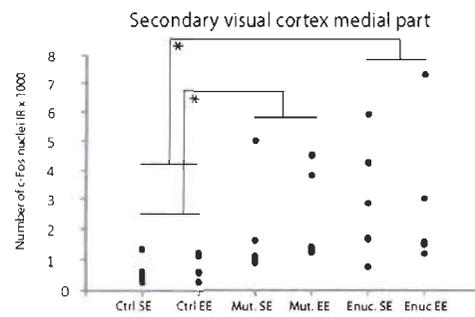
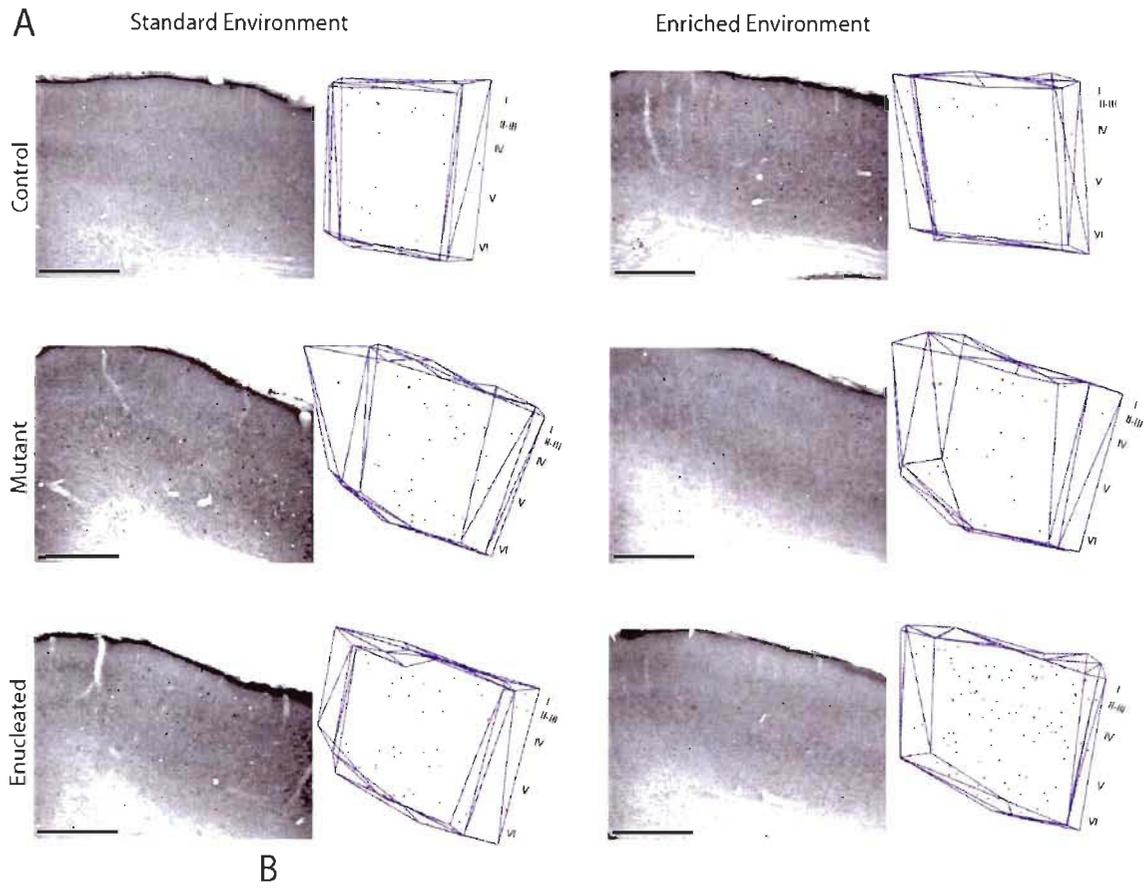


Figure 36 c-Fos immunoreactivity in the secondary medial visual cortex evoked by an auditory stimulus

Experiment and strain	Environment	Number of animals
<b>c-Fos and neuronal counting</b>		
Control	standard	5
Control	enriched	5
Mutant	standard	5
Mutant	enriched	5
<b>Total</b>		<b>20</b>

Table 4 Animals details

<b>c-Fos experiment</b>	IC	LGNd	AC	V1	V2l	V2m
Mean number of investigated sections	9	10	7	9	8	8
Mean number of disectors	142	-	143	194	143	112
Mean section thickness after histologic processing	15	-	14	14	15	14
Settings						
• base area $\mu\text{m}^2$	10 000	-	10 000	10 000	10 000	10 000
• height $\mu\text{m}$	12.5	-	12.5	12.5	12.5	12.5
• guard zones $\mu\text{m}$	2	-	2	2	2	2
• distance between counting spaces $\mu\text{m}$	210	-	210	210	210	210
Mean number of counted cells	833	57	608	191	173	105
Coefficient of error	0.04	-	0.04	0.09	0.10	0.14
<b>Cytoarchitectonic study</b>						
Mean number of investigated sections	9	10	7	9	8	8
Mean number of disectors	109	49	93	102	72	59
Mean section thickness after histologic processing	15	14	13	13	13	13
Settings						
• base area $\mu\text{m}^2$	900	900	900	900	900	900
• height $\mu\text{m}$	11	11	11	11	11	11
• guard zones $\mu\text{m}$	2	2	2	2	2	2
• distance between counting spaces $\mu\text{m}$	250	250	250	250	250	250
Mean number of counted cells	492	248	349	469	278	347
Coefficient of error	0.05	0.06	0.05	0.05	0.06	0.05

**Table 5 Methodological details describing design-based stereological study.**

*Résultats complémentaires*

Les résultats de cette étude complémentaire ne sont pas encore publiés sous forme d'article. Néanmoins, ils sont présentés dans cette thèse sous forme d'article scientifique simplifié.

### *Contexte théorique*

Chez la souris anophtalme, il y a activation auditive de V1 et il y a présence de la connexion ectopique IC-LGNd. Chez la souris énucléée à la naissance, il y a absence d'activation auditive dans V1 et il y a absence de la connexion ectopique IC-LGNd. Par contre, V2 est activé auditivement. Les travaux de maîtrise de Le Houillier en 2007 ont montré que des fibres auditives provenant du collicule inférieur entrent dans le thalamus visuel lors de la première semaine post-natale, chez la souris anophtalme mais aussi chez la souris contrôle C57BL/6. La connexion ectopique IC-LGNd se stabilise vers la fin de la première semaine post-natale seulement chez la souris anophtalme. L'énucléation néonatale, bien qu'effectuée une semaine avant l'arrivée des premières fibres exploratrices provenant du CI n'entraîne pas leur stabilisation chez la souris C57Bl/6. La période critique semble donc être close à P0. En effet, une étude plus ancienne a démontré que si l'énucléation est performée avant la naissance, in-utero l'organisation cytologique du thalamus visuel de la souris C57Bl/6 est identique à celle retrouvée chez les souris anophtalmes (Cullen & Kaiserman-Abramof, 1976; Kaiserman-Abramof, 1983). Le modèle souris ne permet donc pas l'étude de la cloture de la période critique

pour la formation de connexions transmodales sous-corticales. Des travaux ont démontré que chez le rat énucléé à la naissance, le cortex visuel primaire peut être activé par une stimulation auditive ou somesthésique (Piché et al., 2007; Toldi et al., 1988). L'activation somesthésique du cortex visuel a été observée chez des rats énucléés aussi tard qu'à P8 (Toldi et al., 1988). Il est donc fort probable que chez le rat la période critique est plus tardive que chez la souris. Nous avons donc voulu : i) préciser l'étendue de la période critique lors de laquelle l'énucléation mène à une activation auditive de V1 et ii) vérifier si cette activation auditive est corrélée à la présence d'une connexion IC-LGNd. Dans un premier temps, nous pourrions, chez le rat valider que la connexion IC-LGNd est nécessaire à l'activation auditive de V1.

#### *Matériels et méthodes*

Un total de 54 rats Long Evans ont été utilisés dans cette étude : 26 dans l'étude fonctionnelle et 28 dans l'étude anatomique. L'énucléation a été performée sur 48 rats âgés de P4 à P15 (voir le tableau 6 pour la distribution des âges), 6 rats ont été utilisés comme contrôles. L'énucléation s'est faite sous anesthésie à l'isoflurane. Le reste du protocole d'énucléation est identique à celui décrit dans la première étude (voir Materials and Methods, chapitre 2). À l'âge adulte, les rats ont été soumis à une stimulation auditive bilatérale, un bruit blanc. La veille de la stimulation, les vibrisses mystaciales ont été coupées et les animaux ont été placés dans une chambre anéchoïque afin de limiter les sources de stimulations. La perfusion, l'immunohistochimie de la protéine c-Fos et la coloration Nissl ont été effectuées selon les mêmes procédures que celles de la première étude (voir Materials and Methods, chapitre 2). L'analyse qualitative du patron de marquage auditif cortical a été faite à l'aide d'un microscope Olympus BX51WI. Une

cartographie de tous les noyaux immunopositivement marqués a été faite avec le logiciel Neurolucida (MicroBrightfield, Vermont, USA) sur les coupes représentatives. Ces coupes sont utilisées dans les figures afin d'illustrer le patron de marquage auditifs dans les aires corticales. Le traceur DBA 10 000 a été injecté dans le centre du collicule inférieur des rats énucléés adultes. Le protocole d'injection du traceur est identique à celui décrit dans la première étude (voir Materials and Methods, chapitre 2), à l'exception des coordonnées stéréotaxiques du collicule inférieur qui sont de 9mm caudal, de 4mm ventral et de 1,7 mm latéral à bregma chez le rat.

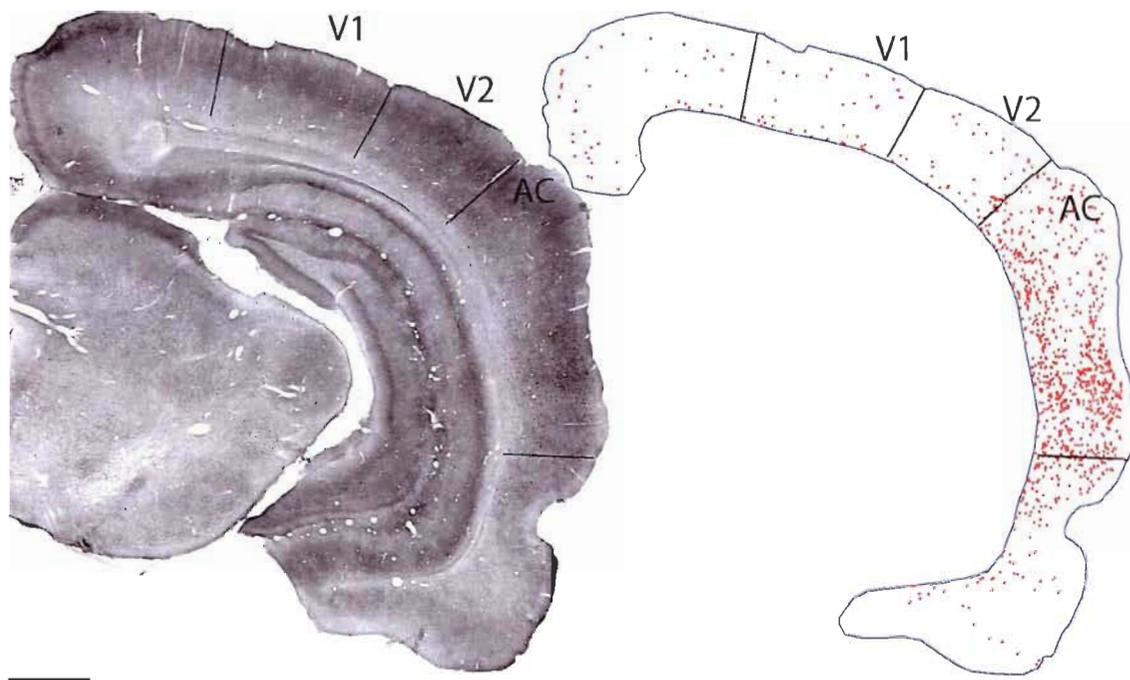
	<b>c-Fos</b>	<b>Traçage</b>	<b>Total</b>
<b>Énucléation</b>	<b><i>n</i></b>	<b><i>n</i></b>	
contrôle	3	3	6
P4	3	3	6
P7	-	2	2
P8	3	5	8
P9	6	2	8
P10	4	3	7
P11	3	2	5
P13	2	3	5
P15	2	5	7
<b>Total</b>	<b>26</b>	<b>28</b>	<b>54</b>

**Table 6 Animaux expérimentaux.**

### *Résultats*

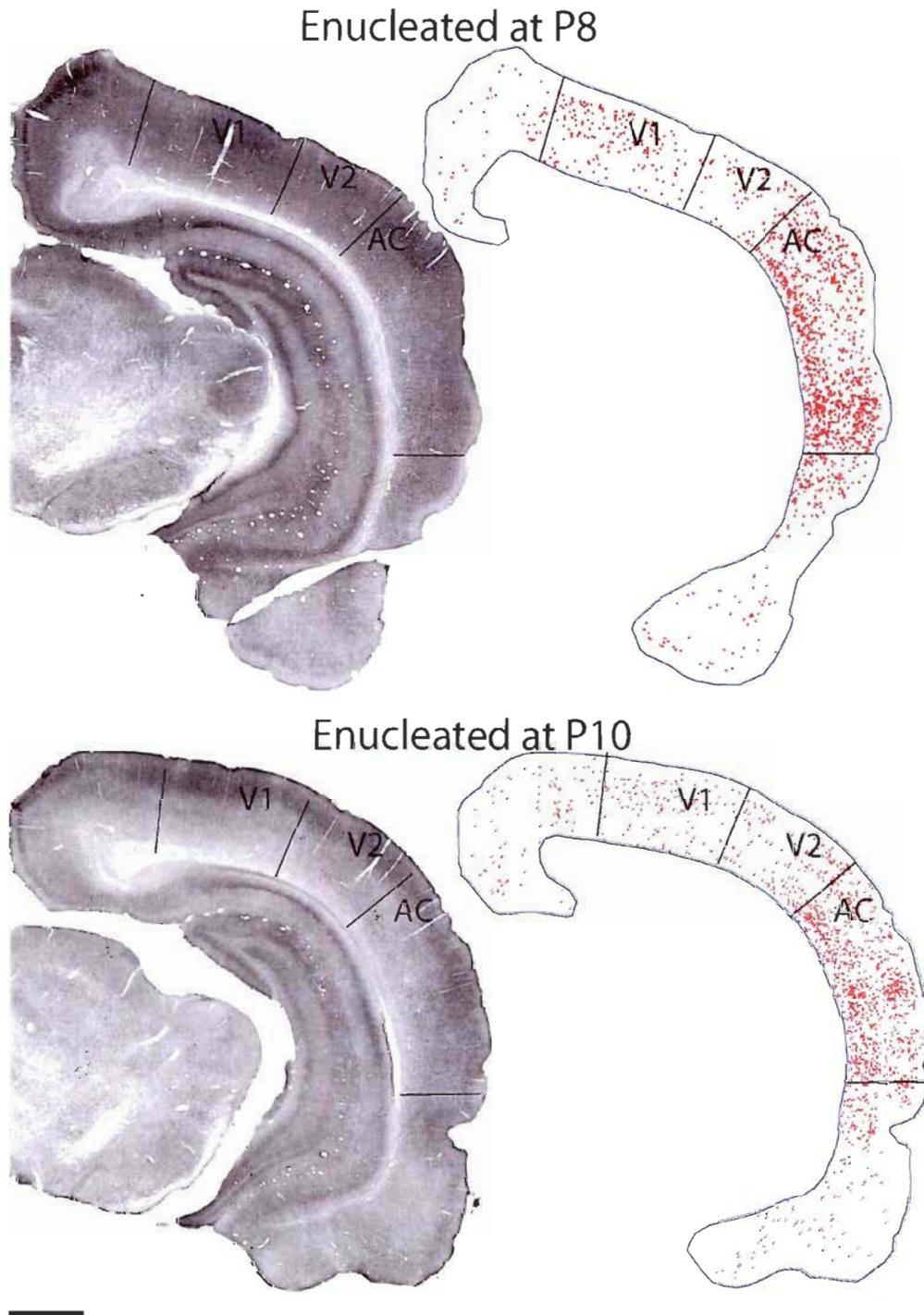
Une forte immunoréactivité à la protéine c-Fos a été observée au niveau du cortex auditif de tous les animaux suite à la stimulation auditive (figures 37, 38, 39). Chez le rat contrôle, c'est la seule structure corticale qui est activée auditivement (Figure 37). Par contre, le cortex visuel primaire est activé aussi chez les rats énucléés antérieurement à P10 (Figure 38). À P10, cette activation de V1 est présente seulement chez certains rats (voir tableau 7).

## Sighted Control

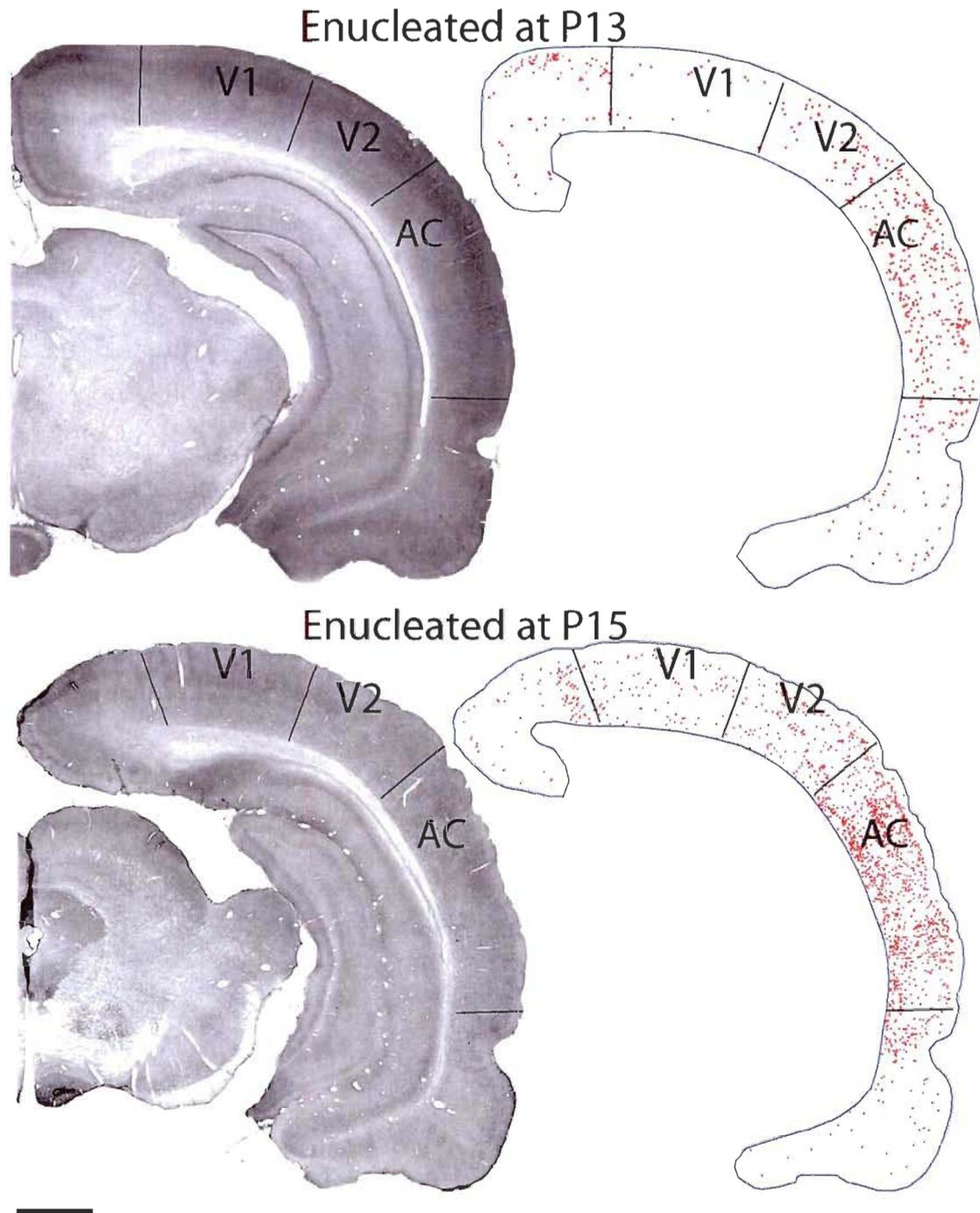


**Figure 37** **Activité auditive évoquée au niveau cortical.** À gauche, photographie du cortex qui montre les noyaux immunopositivement marqués à la protéine c-Fos suite à la stimulation auditive. À droite, cartographie virtuelle représentant les noyaux immunopositivement marqués à la protéine c-Fos de la photo à gauche. On peut voir que chez le rat contrôlé, seul son cortex auditif est activé par la stimulation auditive

L'énucléation faite à P10 et plus tard conduit à une immunoréaction de la protéine c-Fos dans les aires visuelles secondaires tandis que l'aire visuelle primaire est dénuée de marquage auditif (Figure 39).



**Figure 38** Activité auditive évoquée dans l'aire visuelle primaire. À gauche, photographie du cortex qui montre les noyaux immunopositivement marqués à la protéine c-Fos suite à la stimulation auditive. À droite, cartographie virtuelle représentant les noyaux immunopositivement marqués à la protéine c-Fos de la photo à gauche. On peut voir que V1 est activé auditivement chez les rats énucléés à P8. À P10, un seul rat, celui illustré, voit son cortex visuel primaire activé par la stimulation auditive



**Figure 39** Activité auditive évoqué dans l'aire visuelle secondaire À gauche, photographie du cortex qui montre les noyaux immunopositivement marqués à la protéine c-Fos suite à la stimulation auditive. À droite, cartographie virtuelle représentant les noyaux immunopositivement marqués à la protéine c-Fos de la photo à gauche. On peut voir que chez les rats énucléés après P10, c'est le cortex visuel secondaire qui est activé auditivement

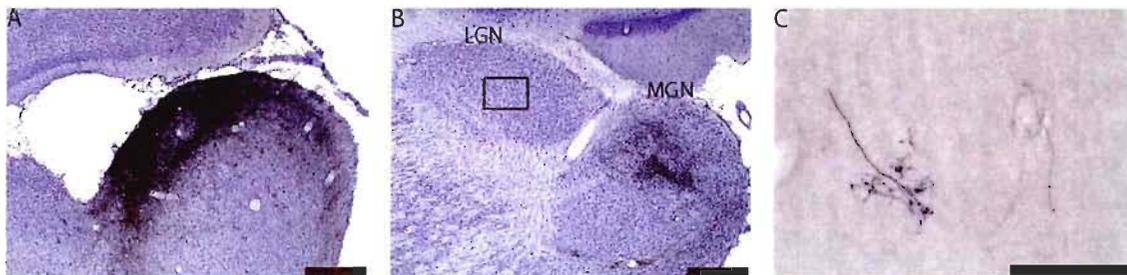
Énucléation	<i>n</i>	Activation auditive		
		V1	V2l	V2m
contrôle	3	0	0	0
P4	3	3	3	3
P7	-	-	-	-
P8	3	1	3	3
P9	6	5	6	6
P10	4	1	4	4
P11	3	0	3	3
P13	2	0	2	2
P15	2	0	2	2

**Table 7 Nombre de rats qui présentent une activité auditive évoquée dans les aires visuelles**

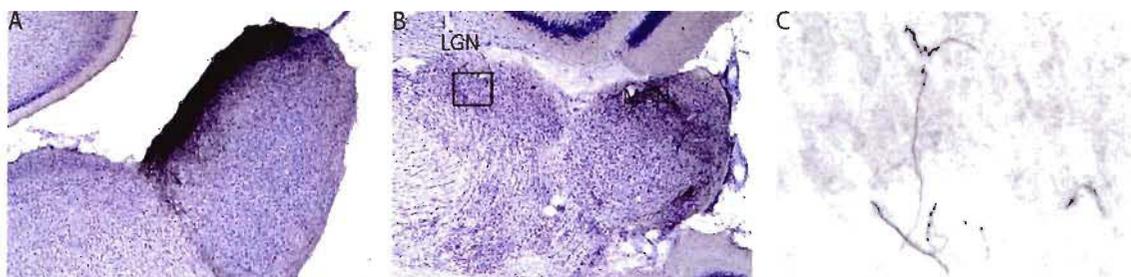
L'injection du traceur neuronal antérograde dextran biotine 10 000MW dans le collicule inférieur entraîne chez tous les rats un marquage intensif du noyau auditif dans le thalamus, le corps geniculé médial. Des fibres auditives ramifiées, arborant de nombreux boutons synaptiques en sont aussi présentes dans le LGNd des rats énucléés à P13 ou avant (Figure 40).

Malgré quelques fibres auditives de type en passant, présentes chez un rat contrôle sur trois et chez deux rats sur cinq énucléés à P15, il n'y a pas de fibre auditive ramifiée dans le thalamus visuel des rats énucléés à P15 et des rats contrôles (Figure 41). Le tableau 8 résume le nombre de cas de rats énucléés aux différents âges qui présentent des fibres auditives dans le LGNd.

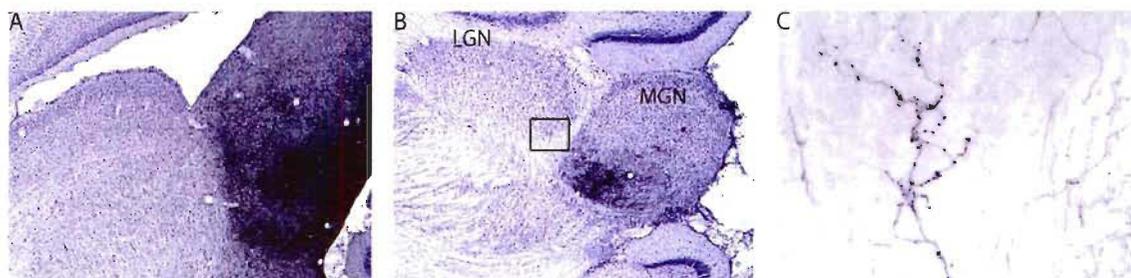
## Énucléation à P8



## Énucléation à P10

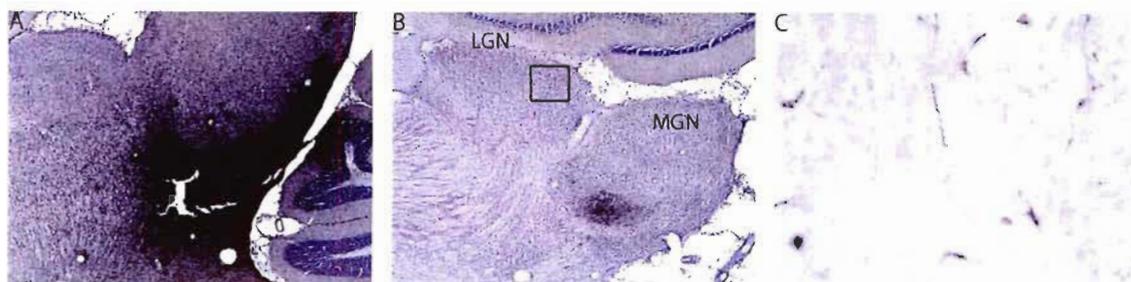


## Énucléation à P13

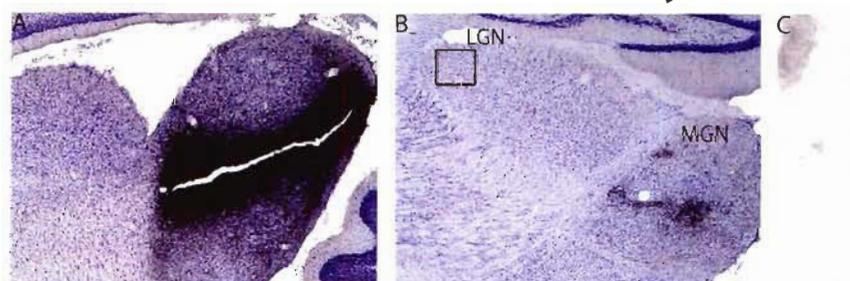


**Figure 40 Afférences auditives dans le LGNd.** Chez les rats énucléés jusqu'à l'âge de P13, il y a présence de fibres auditives dans le thalamus visuel primaire. Ces fibres sont ramifiées et comportent beaucoup de boutons synaptiques. Échelle= 500 microns

## Énucléation à P15



## Contrôle voyant



**Figure 41** Afférences auditives dans le thalamus visuel primaire. La présence de fibres auditives, petites et non ramifiées, dans le thalamus visuel primaire est visible chez les rats énucléés à P15 de même que chez le rat contrôle.

Énucléation	<i>n</i>	Connexion IC-LGNd
contrôle	3	1
P4	3	3
P7	2	2
P8	5	5
P9	2	1
P10	3	3
P11	2	2
P13	3	3
P15	5	2

**Table 8** Nombre de rats qui présentent la connexion IC-LGNd.

### *Discussion*

Les résultats obtenus chez le rat énucléé de P4 à P15 démontrent que l'activation auditive de l'aire visuelle primaire est corrélée avec la présence de la connexion IC-LGNd. Ces résultats sont en accord avec ceux observés dans d'autres modèles animaux de cécité précoce soit la souris anophtalme, le hamster énucléé à la naissance et le rat taupe (Chabot et al., 2007; Doron & Wollberg, 1994; Izraeli et al., 2002; Piché et al., 2004) qui présentent aussi une activation auditive de V1 corrélée avec la présence de la connexion IC-LGNd. Dans d'autres modèles de cécité précoce, comme l'opossum énucléé à la naissance, l'activation auditive de V1 n'a pas été corrélée avec la présence d'une connexion transmodale sous-corticale de IC vers LGNd (Kahn & Krubitzer, 2002; Karlen et al., 2006). La connexion IC-LGNd n'a simplement pas été étudiée dans ces autres modèles de cécité précoce mais les résultats observés chez la souris anophtalme, le hamster énucléé et le rat taupe peuvent nous faire suspecter qu'elle est présente. L'activation auditive de l'aire visuelle primaire chez l'aveugle précoce humain corrélée avec la présence d'une connexion IC-LGNd n'a jamais pu être étudiée mais, une étude récente suggère la présence de cette connexion chez les anophtalmes humains (Bridge, Cowey, Ragge, & Watkins, 2009).

Néanmoins, cette corrélation n'est pas toujours observée car la présence des fibres auditives de P11 à P13 ne transmettent visiblement pas l'information auditive à V1. Cela pourrait être dû à la maturation du système GABAergique car avant d'être inhibiteurs, les neurones GABAergiques sont d'abord excitateurs (Boller & Schmidt, 2001) et ce, jusqu'aux alentours de P12-P13 chez le rat (Nomura, 1980). Il est probable que lorsque

les neurones GABAergiques du LGNd deviennent matures, le poids relatif de l'inhibition soit trop grand en comparaison à celui de l'excitation et l'information sensorielle n'est pas transmise à V1 mais est tenue silencieuse. Or, avant P11, les neurones GABAergiques étant excitateurs, ils contribuent à l'acheminement des informations sensorielles du LGNd vers V1. La maturation du système GABAergique peut aussi expliquer que les fibres résiduelles auditives observées chez des rats énucléés à P15 et chez un contrôle ne sont pas suffisantes pour activer V1. Le changement dans la morphologie des fibres auditives chez les rats énucléés à P15 et chez le contrôle pourrait s'expliquer par un processus Hebbien. Nous ne pouvons pas écarter non plus que si ces fibres sont rendues silencieuses, elles pourraient être activées lors de conditions propices (Théoret, Merabet, & Pascual-Leone, 2004). D'autres études seraient nécessaires pour éclaircir le rôle des fibres auditives dans le LGNd chez les rats énucléés tardivement.

*Discussion*

L'objectif général de cette thèse était d'étudier, chez la même espèce animale, l'effet de la cécité, précoce et tardive, et de l'environnement sur la réorganisation sensorielle chez des aveugles. L'impact de ces facteurs a été étudié sur trois modèles de rongeurs aveugles soit des souris aveugles : mutante anophtalme ZRDCT/An et la souris C57BL/6 énucléée à la naissance et des rats énucléés. Les objectifs spécifiques de la présente thèse étaient de i) comparer les effets fonctionnels et anatomiques de la cécité survenant à deux âges différents dans la même espèce animale et de ii) décrire l'influence de l'environnement – appauvri ou enrichi - dans lequel les souris ont grandi sur la réorganisation sensorielle.

Chez la souris mutante, l'activité auditive évoquée par le c-Fos a été observée dans le LGNd de même que principalement dans le cortex visuel primaire et moindrement dans le cortex visuel secondaire. Ces mêmes aires corticales sont activées chez les aveugles humains précoces (Cohen et al., 1999; Sadato et al., 1996; Sadato et al., 2002). Le traçage neuronal a confirmé les travaux de Piché et al., (2004), c'est-à-dire la présence de la nouvelle connexion chez la souris mutante du collicule inférieur vers le thalamus visuel primaire et le noyau latéral postérieur (Chabot et al., 2007). Aucune connexion directe et réciproque entre le collicule inférieur et l'aire visuelle primaire n'a pu être observée (Chabot et al., 2008). Par contre, chez la souris énucléée à la naissance, l'activité auditive est observée principalement dans l'aire visuelle secondaire latérale

(Chabot et al., 2007). Cette activation auditive ressemble à celle retrouvée chez les aveugles humains tardifs (Sadato et al., 2002). Aucune activité auditive n'est significativement observée dans le LGNd ni dans le cortex visuel primaire et la nouvelle connexion transmodale IC-LGNd n'est pas présente chez la souris énucléée à la naissance (Chabot et al., 2007). Ces résultats suggèrent que la période critique pour l'élaboration d'une connexion transmodale audition-vision soit déjà dépassée à la naissance pour la souris. Chez le rat énucléé, le cortex visuel primaire peut être auditivement activé jusqu'à P9 alors que la connexion IC-LGNd est présente, ce qui correspond à ce que nous avons défini comme un modèle de cécité précoce. Lorsque la connexion ectopique IC-LGNd n'est plus élaborée, c'est l'aire visuelle secondaire qui est activée par l'audition, ce qui ressemble à ce qui est observé chez les aveugles humains tardifs. Il semble donc que l'activation auditive de V1 soit en lien avec la présence de la connexion IC-LGNd qui caractérise nos modèles de cécité précoce.

#### *Réorganisation sous-corticale*

Les résultats de cette thèse obtenus avec des modèles animaux de cécité, soit la souris anophtalme et les souris et rats énucléés, nous permettent de conclure lorsque V1 est activé auditivement, il y a présence de la connexion IC-LGNd. Nos résultats sont en accord avec ceux observés dans les rares études sur la cécité précoce qui ont recherché cette connexion chez la souris anophtalme, le hamster énucléé à la naissance et le rat taupe (Doron & Wollberg, 1994; Izraeli et al., 2002; Piché et al., 2004) qui présentent aussi une activation auditive de V1 corrélée avec la présence de la connexion IC-LGNd. Dans les autres modèles de cécité précoce, comme l'opossum énucléé, le cortex visuel primaire est activé par des stimuli auditifs (Kahn & Krubitzer, 2002; Karlen et al., 2006)

mais la recherche de la connexion IC-LGNd n'a pas été effectuée. De même, chez l'aveugle précoce humain, V1 est activé par l'audition (De Volder et al., 1997; Kujala et al., 1995; Röder et al., 1999; Röder et al., 1996; Roder et al., 2002; Veraart et al., 1990; Weeks et al., 2000) mais cette activation n'a jamais été corrélée avec la présence de la connexion IC-LGNd car cette connexion ne peut pas être recherchée chez l'humain. Dans les études sur la surdité précoce, aucune recherche d'une présence de connexion ectopique sous-corticale - des fibres du tract optique qui projetteraient vers MGM - n'a été effectuée pour expliquer l'activation visuelle de A1 observée chez le chat (Rebillard, Carlier, Rebillard, & Pujol, 1977) et chez l'humain (Finney, Clementz, Hickok, & Dobkins, 2003; Finney, Fine, & Dobkins, 2001).

Nous démontrons dans cette thèse la corrélation entre l'activation auditive de V1 et la présence de la connexion IC-LGNd chez la souris anophtalme et chez le rat énucléé. La connexion intermodale au niveau thalamique est-elle vraiment responsable de l'activité corticale observée dans V1? Nous ne montrons qu'une corrélation entre les deux qui, bien qu'elle soit forte, n'implique pas une causalité. Un autre modèle expérimental vient pourtant soutenir ce lien. Vers la fin des années 80 et au début des années 90, la technique du recâblage sensoriel (rewiring) a été développée chez le hamster (Frost, 1981) et le furet (Sur & Garraghty, 1987; Sur, Garraghty, & Roe, 1988). En détruisant d'une part, les cibles normales des fibres rétinothalamiques et en déafférentant d'autre part, les noyaux thalamiques spécifiques auditif ou somesthésique, les chercheurs ont permis l'établissement de nouvelles connexions entre l'œil et le noyau thalamique auditif (Frost, Boire, Gingras, & Ptito, 2000; Sur et al., 1988) ou somesthésique (Bhide & Frost, 1992; Frost, 1981). Dans tous ces cas, une activité

visuelle complexe a pu être observée dans les cortex correspondants. Par exemple, le cortex auditif qui se développe sur la base de stimuli visuelles présente une carte rétinotopique du champ visuel de même que des cellules sensibles à l'orientation (Roe, Pallas, Hahm & Sur, 1990; Sharma, Angelucci & Sur, 2000; Sur, 2004). Les résultats obtenus par les études de rewiring indiquent que la modalité d'un noyau sensoriel thalamique ou d'un cortex sensoriel primaire peut être spécifiée par les projections qu'il reçoit pendant son développement. La déafférentation d'une cible a donc un impact majeur sur sa potentielle colonisation par une autre modalité (Sur et al., 1988). À noter que dans les modèles de recâblage, c'est toujours le système visuel qui colonise les autres systèmes, jamais l'inverse. Dans cette thèse, nous avons montré que le système visuel, lorsque déafférenté, fait un appel de connexion ectopique auditive.

Dans le cadre de son mémoire de maîtrise en 2007, Le Houillier a démontré que l'arrivée des fibres auditives dans le thalamus visuel s'effectue à la fin de la première semaine postnatale chez les souris contrôles et chez les souris anophtalmes. Les fibres auditives ectopiques établissent une connexion chez les souris anophtalmes. Chez les souris voyantes, les fibres auditives ont quitté le LGNd à P10. Nos résultats démontrent que chez les souris énucléées à la naissance, ces fibres auditives n'établissent pas établi de contacts dans le LGNd. Dans notre étude chez le rat, quelques fibres auditives semblent avoir résisté à l'élimination dans le LGNd de certains rats énucléés à P15 et chez un rat contrôle. Des fibres transitoires font partie du développement normal (Bhide & Frost, 1992), certaines ont pu se maintenir, toutefois en nombre insuffisant pour activer le cortex visuel.

L'absence de la connexion IC-LGNd chez les souris énucléées à la naissance nous indique que la période critique pour l'établissement de cette connexion est déjà finie ou terminée. Cela pourrait s'expliquer par le fait qu'il y avait jusqu'à la naissance, une arrivée de fibres rétiniennes dans le LGNd, ayant fait en sorte de conditionner le LGNd en une structure visuelle. La modalité d'un noyau sensoriel thalamique est spécifiée par les projections qu'il reçoit pendant son développement (Sur et al., 1988), ce qui empêche l'établissement de fibres d'une autre modalité. Une autre explication possible serait que la déprivation visuelle chez la souris n'ait pas engendré une déstabilisation de la barrière d'éphrine. Une étude montre que l'énucléation embryonnaire ne perturbe pas la concentration d'éphrines déjà présentes dans le tectum de poulet embryonnaire (Cheng, Nakamoto, Bergemann & Flanagan, 1995).

Comme les périodes critiques diffèrent selon les systèmes sensoriels et selon l'espèce (Hensch, 2004), la présence de la connexion IC-LGNd chez le rat énucléé jusqu'à P13 pourrait s'expliquer par une modification du gradient de molécules d'éphrines (EphA) qui guident la croissance axonale par principe d'attraction et de répulsion. Jusqu'à environ P13, l'environnement cellulaire pourrait être favorable à la croissance axonale. La voie rétino-géniculée contient habituellement un gradient d'EphA, résultant en une attirance pour les gradients d'éphrines complémentaires A2 et A5 au niveau du LGNd. L'absence potentielle de ce gradient d'EphA pourrait affecter le gradient d'éphrine A2 et A5 en changeant la signalisation axonale dans son environnement proche. Le MGN, pour sa part, est riche en éphrine B3. L'interaction entre les éphrines A2/A5 et B3 crée normalement une répulsion entre le MGN et LGNd (Lyckman et al., 2001). Dans le cas du rat énucléé jusqu'à l'âge de P13, comme cela

pourrait aussi être le cas chez la souris anophtalme, il est fort probable que la ségrégation entre les voies auditives et visuelles soit perturbée en raison de l'absence d'une barrière d'éphrines fonctionnelles. Cette instabilité pourrait être une des causes de la colonisation des fibres auditives vers le thalamus visuel chez la souris mutante et le rat énucléé. Lorsque la barrière d'éphrine disparaît, il pourrait y avoir à ce moment une possibilité de passage de fibres auditives qui vont explorer le LGNd pour ensuite, se rétracter ou s'établir sur place comme c'est le cas chez la souris mutante vers P7 et chez le rat énucléé jusqu'à P13. Cette explication reste spéculative compte tenu des lacunes dans les connaissances sur la barrière d'éphrines. En effet, les résultats des recherches effectuées sur des souris embryonnaire (Cheng & Flanagan, 1994) ou sur des souris adultes (Knoll, Isenmann, Kilic, Walkenhorst, Engel, Wehinger & al., 2001) démontrent que la barrière d'éphrines est déjà en place au jour embryonnaire et que la concentration d'éphrine diminue chez l'adulte. À ce jour, aucune étude cinétique n'a été faite concernant la barrière d'éphrines. Il est donc difficile de conclure sur une déstabilisation de celle-ci, même si ce phénomène reste plausible. Les études sur les éphrines et le système visuel montrent leur rôle dans la direction des fibres rétino-fuges. L'implication des éphrines dans l'établissement de la connexion IC-LGNd est donc théorique chez la souris anophtalme et chez le rat énucléé. Par contre, il a été démontré que les éphrines sont aussi responsables de la croissance axonale dans le système olfactif en développement (Knoll, Zarbalis, Wurst & Drescher, 2001). Des études seraient nécessaires pour investiguer le rôle des éphrines dans nos modèles de cécité précoce.

La présence de la connexion sous-corticale transmodale IC-LGNd n'exclut pas la présence d'autres connexions ectopiques sous-corticales qui n'ont pas été vérifiées dans

notre étude. La seule autre source sous-corticale étudiée dans cette étude est une connexion directe et réciproque entre IC-V1 qui ne s'est pas avérée. Par contre, une autre connexion pourrait être possible entre le thalamus auditif et le thalamus visuel chez la souris mutante ZRDCT/An. Dans un autre modèle animal, le rat-taupe, la cytoarchitecture typique des structures visuelles ne serait plus apparente et la présence de la connexion MGM-LGNd a été avancée (Necker et al., 1992; Rehkämper, Necker, & Nevo, 1994). D'autres études ont réfuté ces résultats en démontrant que le LGNd est bel et bien présent chez le rat taupe et qu'il est utilisé pour l'audition (Bronchti et al., 1989; Doron & Wollberg, 1994). Chez notre souris anophtalme, le LGNd est présent et comme dans le cas du rat taupe, il sert à véhiculer les informations auditives vers l'aire visuelle primaire. Dans nos modèles de rongeurs aveugles, la cytoarchitecture observée dans les aires visuelles suite à une coloration Nissl, respecte les critères décrits par Caviness (1975). Il ne semble donc pas que ce soit une expansion du cortex auditif dans les aires visuelles. De plus, les études de traçage faites sur nos animaux ont clairement démontré, et en particulier chez nos souris, que le cortex auditif a une connectivité distincte du cortex visuel secondaire (Chabot et al., 2007; 2008).

Une boucle d'activation auditive transthalamique ne peut pas être exclue chez la souris mutante. Comme chez la gerboise (Budinger, Heil, & Scheich, 2000), suite à une injection dans AC, des fibres ont été retrouvées au niveau du thalamus visuel primaire (figure 43). Cette voie, pour la première fois décrite par Charbonneau (Charbonneau, Laramee, Bronchti, & Boire, 2008) chez la souris anophtalme, pourrait aussi expliquer en partie l'activation auditive du cortex visuel primaire en relayant l'information auditive du

cortex auditif vers le thalamus visuel primaire et de là, l'information auditive est acheminée par la connexion normale LGNd-V1.

### *Réorganisation corticale*

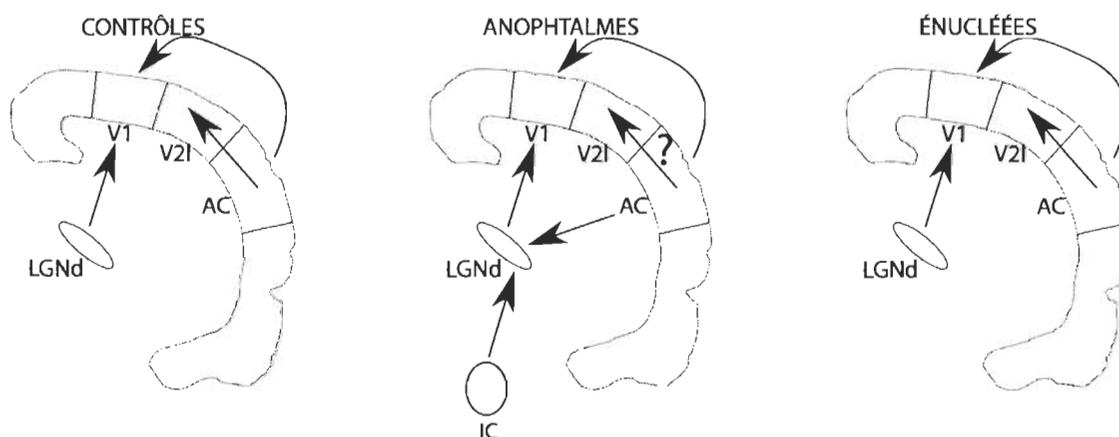
Il a été proposé que le néocortex soit une structure plus plastique, donc plus facilement malléable, plus adaptative que les structures sous-corticales (Kaas, 1999). Les structures sous-corticales se développent in-utéro. Leur développement se fait dans un environnement contrôlé, dans un environnement homogène, à moins d'une anomalie comme une anophtalmie, ce qui laisse peu de place à la plasticité. Le cortex quant à lui, a besoin de stimulation provenant de l'environnement de l'individu pour arriver à maturité. L'individu sera exposé à ces stimulations après la naissance. C'est ce qui explique pourquoi, chez les vertébrés, le cortex est soumis à l'influence post-natale (Wallace & Stein, 2007).

L'activation auditive des cortex visuels pourrait être basée sur l'intégration multisensorielle corticale. Il n'est pas exclu qu'une partie de l'activité auditive observée avec l'immunohistochimie de la protéine c-Fos provienne d'une connexion directe entre le cortex auditif primaire et le cortex visuel primaire, tel que montré chez l'opposum énucléé bilatéralement (Karlen et al., 2006). Des connexions entre les aires primaires chez les animaux normaux ont été aussi démontrées (Budinger, Heil, Hess, & Scheich, 2006; Campi, Bales, Grunewald, & Krubitzer, 2010; Cappe & Barone, 2005; Cappe, Rouiller, & Barone, 2009; Falchier, Clavagnier, Barone, & Kennedy, 2002; Schroeder & Foxe, 2005). Une connexion AC-V1 est présente chez nos souris anophtalmes et énucléées à la naissance de même que chez nos contrôles (Charbonneau et al., 2008; Laramee, Chabot, Charbonneau, Bronchti, & Boire, 2008). Les analyses statistiques faites

dans cette thèse démontrent qu'il y a de l'activité auditive dans l'aire visuelle primaire des souris anophtalmes mais pas dans celle des souris énucléées à la naissance ni celle des souris contrôles (Chabot et al., 2007). En observant les photos des aires visuelles primaires des souris énucléées et des souris contrôles (figure 19,) quelques somas immunopositivement marqués sont retrouvés dans les couches supra- et infra-granulaires. Ce patron d'activation correspond au patron de projection AC-V1, c'est-à-dire que les terminaisons nerveuses des projections de AC se trouvent dans les couches supra- et infra-granulaires de V1 (Laramée et al., 2008). La connexion AC-V1 chez nos trois groupes de souris pourrait expliquer ce patron d'activation dans l'aire visuelle primaire (figure 43).

Une étude montre que des neurones visuels sont présents dans le cortex auditif primaire chez le singe (Cappe & Barone, 2005; Cappe et al., 2009). Ceci suggère que les cortex sensoriels primaires ne sont pas uniquement unimodaux (Budinger et al., 2006; Schroeder & Foxe, 2005). Chez l'humain adulte, l'électroencéphalographie - qui mesure des ondes électriques- a montré qu'un stimulus auditif induit des potentiels évoqués (Event-Related Potentiel) dans le cortex temporal alors qu'ils sont absents du cortex occipital (Neville et al., 1997). Par contraste, chez le bébé de 6 mois, le même stimulus auditif engendre des ERPs autant dans le cortex temporal que occipital, ce qui suggère une faible spécificité et une redondance des connexions à cet âge (Neville & Bavelier, 2002). Entre 6 et 36 mois, l'amplitude des ERPs auditifs dans le cortex occipital diminue alors que celle dans le cortex temporal reste inchangée. Donc chez l'humain, ces résultats suggèrent aussi la présence de connexions entre les aires primaires sensorielles (Neville & Bavelier, 2002).

L'activation auditive de l'aire visuelle secondaire peut provenir de projections du cortex auditif vers l'aire visuelle secondaire latérale (figure 42) qui ont été mises en évidence chez les souris C57/BL6 contrôle et énucléée à la naissance (Laramée, Charbonneau, Bronchti, & Boire, 2008a; Laramée, Charbonneau, Bronchti, & Boire, 2008b). On peut suspecter que cette connexion AC-V2l soit aussi présente chez la souris anophtalmique.



**Figure 42 Schéma des connexions hétéromodales pour expliquer l'activation auditive des aires visuelles.** En plus de la connexion normale visuelle entre le LGNd et V1, une connexion directe entre AC et V1 a été observée chez les souris contrôles, anophtalmes et énucléées à la naissance (Charbonneau et al., 2008; Laramée et al., 2008). Une connexion entre AC et V2l a aussi été mise en évidence chez les souris contrôles et énucléées (Laramée et al., 2008a, Laramée et al., 2008b). Bien que pas encore vérifiée, cette connexion AC-V2l est potentiellement présente chez les souris anophtalmes. La souris anophtalmes possède aussi une connexion ectopique entre Ic et le LGNd et entre AC et le LGNd. Cette connexion peut être aussi une source d'activation auditive de V1 car les informations auditives sont envoyées au LGNd pour ensuite être acheminées vers V1.

#### *Effets sous-corticaux et corticaux de l'environnement*

La majorité des études faites sur l'effet de l'enrichissement avance que l'enrichissement a un effet préférentiel au niveau du cortex cérébral (Diamond, 2001; Diamond, Ingham, Johnson, Bennett, & Rosenzweig, 1976; Diamond, Rosenzweig, Bennett, Lindner, & Lyon, 1972; Mohammed et al., 2002; Rosenzweig et al., 1969; Rosenzweig, Bennett, & Diamond, 1967). Ceci pourrait s'expliquer par le fait que le cortex cérébral est très plastique (Kaas, 1991). Néanmoins, les résultats obtenus dans le

cadre de cette thèse indiquent que l'enrichissement a un effet tant sur le cortex auditif que sur le collicule inférieur et le LGNd chez les souris anophtalmes. La qualité de l'environnement n'influence pas le volume du néocortex ni celui des structures d'intérêts étudiées soit le collicule inférieur, le corps genouillé latéro-dorsal, le cortex auditif primaire, le cortex visuel primaire et les cortex visuels secondaires latéral et médial chez nos souris aveugles et les contrôles.

Certaines études proposent que l'enrichissement de l'environnement conduise : à des somas plus gros, à une augmentation du nombre de neurones au niveau du cortex (Beaulieu & Colonnier, 1989a, 1989b; Diamond, 1988) et de l'hippocampe (Kempermann, Gast, & Gage, 2002), à une augmentation du nombre d'épines dendritiques et à une amélioration des fonctions cognitives (Kobayashi, Ohashi, & Ando, 2002; Rosenzweig & Bennett, 1996). Par contre, d'autres auteurs soutiennent que l'enrichissement de l'environnement n'influence pas les structures cérébrales. Bhide et ses collaborateurs (1985) ne trouvent aucun effet de l'environnement sur la densité neuronale ni sur le diamètre des synapses dans le cortex visuel primaire de rats. Les effets de l'enrichissement ne sont pas observés de façon constante dans la documentation scientifique. Cela peut être dû à une méthodologie différente pour la collecte de données (Bedi & Bhide, 1988). Par exemple, les équipes de Diamond et de Beaulieu ont utilisé une technique non-stéréologique qui conduit à des erreurs systématiques. Diamond et ses collaborateurs ont compté le nombre de neurones qu'ils observaient au travers des oculaires du microscope. Cette façon de quantifier ne prend pas en compte l'épaisseur de la coupe, ce qui conduit forcément à un biais d'estimation. De plus, l'échantillonnage aléatoire n'a pas été utilisé. L'équipe de Beaulieu a pris en compte l'épaisseur du cortex

mais pas celui de la coupe dans leur calcul, ce qui conduit aussi à un biais d'estimation. Les équipes qui ont étudié l'effet de l'environnement en estimant le nombre de neurones à l'aide d'une technique non-biaisée, la stéréologie, arrivent, comme nous, à la conclusion que l'environnement n'a pas d'effet sur le nombre de neurones (Bedi & Bhide, 1988; Bhide & Bedi, 1985). Ces différences méthodologiques devraient être prises en considération avant de tirer des conclusions sur l'effet de l'environnement (Bedi & Bhide, 1988).

L'environnement n'a pas d'effet sur l'activité auditive des souris énucléées à la naissance. Pourtant, il a été démontré que l'environnement allonge la fermeture de la période critique lors de l'élaboration des cartes auditives dans le collicule supérieur (Brainard & Knudsen, 1998). Nous avons montré que l'environnement n'affecte pas les souris que nous avons utilisées comme contrôle ou comme perte de vue tardive mais seulement les souris mutantes. Il est possible que la différence de sensibilité à l'environnement de nos différents modèles soit le reflet de différence entre les souches utilisées (Brillaud, Morillion, & de Seze 2005; Tsai, Pachowsky, Stelzer & Hackbarth 2002). Pour préciser l'effet de l'environnement, le modèle du rat énucléé à différents stade de développement et élevé dans différents milieux pourrait être intéressant. D'autres expériences seraient nécessaires.

Un enrichissement sonore de l'environnement conduit à une facilitation fonctionnelle et donc à une réponse auditive plus forte et à un abaissement du seuil de détection. Ces changements induits par l'enrichissement auditif sont visibles en moins de deux semaines (Engineer et al., 2004). Si l'animal est placé dans un environnement standard, ces gains sont perdus en moins d'une semaine (Dinse, 2004). Ceci signifie que

pour que les gains perdurent, l'entraînement auditif doit être renouvelé de façon continue. Cela signifie-t-il que l'enrichissement n'entraîne pas de consolidations structurales au niveau cortical ? Si tel est le cas, est-ce que des consolidations structurales sous-corticales sont possibles ? Caleo en 2009 a démontré que le bourgeonnement des fibres des cellules ganglionnaires est augmenté suite à une lésion rétinienne chez le rat vivant dans un milieu enrichi. Il est donc possible que dans le cas de nos anophtalmes, l'environnement enrichi conduit à un renforcement de la connexion IC-LGNd et l'environnement appauvri conduit à une diminution de la connexion IC-LGNd. Ceci expliquerait nos résultats obtenus chez la souris mutante.

#### *Application des résultats*

Le succès fonctionnel des prothèses de substitution repose sur les mécanismes de la plasticité neuronale. Les résultats de cette thèse mettent en lumière deux cas de figures différents de plasticité cérébrale selon le moment d'apparition de la cécité. Le premier cas de figure a lieu lors d'une cécité précoce. Il décrit une réorganisation massive du traitement de l'activité auditive qui a lieu, en plus du système auditif, dans une structure visuelle sous-corticale, le LGNd, et le cortex visuel primaire. Le LGNd et le cortex visuel primaire deviennent donc auditifs. Le deuxième cas de figure survient lors d'une cécité un peu plus tardive. En plus du système auditif, le traitement de l'information auditive est effectué par le cortex visuel secondaire. Dans ce cas-ci, à quoi sert le cortex visuel primaire ? On ne peut pas exclure qu'il soit recruté par la somesthésie.

Est-ce que, dans ces deux cas, l'implantation d'une prothèse sensorielle aura le même effet ? Deux types de dispositifs sont étudiés i) le branchement d'une micropuce ou d'une caméra sur le nerf optique ou ii) l'implantation d'une micropuce directement sur

le cortex visuel primaire, cette micropuce étant reliée à une caméra (Merabet, Rizzo, Amedi, Somers, & Pascual-Leone, 2005). Si une caméra est branchée sur le nerf optique d'un aveugle précoce, les stimuli en provenance de l'appareil vont stimuler le LGNd qui lui, est déjà recruté par une autre modalité. Est-ce que le LGNd saura intégrer des informations visuelles après avoir traité des stimuli d'une autre modalité ? Rien n'est moins sûr. Chez les aveugles tardifs, représentés par notre modèle de souris énucléée à la naissance, il est possible que le LGNd et le cortex visuel primaire soient encore capable de traiter des stimuli visuels en provenance d'une caméra installée sur le nerf optique.

Lors d'implantation de puce sur le cortex, l'information visuelle arrive directement au cortex visuel primaire. Mais, si le LGN et V1 traitent déjà des stimuli d'une autre modalité, comme chez l'aveugle précoce, la stimulation électrique de V1 sera-t-elle perçue comme une stimulation visuelle ou plutôt auditive ? Alors que chez l'aveugle tardif, son cortex visuel primaire a déjà procédé à un traitement d'informations visuelles, il serait alors possible de recruter à nouveau ce cortex par des stimuli visuels (Cowey & Walsh, 2000). L'aveugle tardif est peut être celui à prioriser pour l'installation d'un tel dispositif alors que l'aveugle précoce aura avantage à utiliser une prothèse de substitution sensorielle (Ward & Meijer, 2009). Bien sûr la technologie n'est pas encore optimale mais pour être garant de succès, il est important de comprendre les subtilités des mécanismes adaptatifs de la plasticité.

*Conclusion*

Les résultats obtenus dans le cadre de cette thèse de doctorat permettent de conclure que les objectifs généraux et spécifiques ont été atteints. Il a été montré que l'environnement a des effets très ciblés sur la réorganisation fonctionnelle. L'environnement enrichi favorise l'activation auditive des structures auditives uniquement chez la souris anophtalme. De plus, il a été possible de comparer à l'intérieur de la même espèce animale, les effets fonctionnels et anatomiques d'une cécité précoce et d'une cécité tardive. Les différences d'activation auditives corticales observées entre les souris mutantes/rats énucléés jusqu'à P9 et les souris énucléées à la naissance/rats énucléés après P10 correspondent aux différences d'activation observées chez les humains aveugles précoces et tardifs. Chez les humains aveugles précoces, les aires visuelles primaire et secondaire sont activées auditivement alors que ce ne sont que les aires visuelles secondaires qui sont activées auditivement chez les aveugles tardifs. Le rat énucléé à P9 et, même si cela puisse sembler paradoxal, la souris énucléée à la naissance sont de bons modèles de cécité tardive. Les travaux de cette thèse démontrent pour la première fois qu'il y a une corrélation entre l'activation auditive de l'aire visuelle primaire lors de la cécité précoce et la présence d'une connexion ectopique IC-LGNd. Son corollaire est aussi vérifié : lorsqu'il y a absence d'activation auditive dans l'aire visuelle primaire (dans le cas de cécité tardive) la connexion IC-LGNd est absente. Un schéma récapitulatif de la contribution de cette thèse est présenté à la figure 43. Ces

résultats corroborent le rôle prépondérant de la période critique dans la réorganisation sensorielle et mettent en avant le rôle des connexions sous-corticales.

	Humain		Animal	
	Précoce	Tardif	Précoce	Tardif
Activation	V1-V2	V2	V1-V2	V2
Connexion sous-corticale	<p>Bridge et al., en 2009, citent des résultats de cette thèse pour proposer qu'il y a présence d'une connexion IC-LGNd chez les humains anophtalmes</p>	<p>D'autres résultats de cette thèse suggèrent que la connexion IC-LGNd est absente chez les humains aveugles tardifs</p>	<p>↑ IC</p> <p>LGNd</p>	<p>NON</p> <p>LGNd</p> <p>IC</p>

**Figure 43 Contribution des travaux de recherche de la présente thèse au domaine de la plasticité transmodale.** En rouge, l'apport de cette thèse au domaine de la plasticité transmodale. En noir, les connaissances apportées par les travaux de d'autres équipes de recherche. Il est connu qu'une stimulation non-visuelle active les aires visuelles primaire et secondaire chez l'aveugle humain précoce et l'aire visuelle secondaire chez l'aveugle humain tardif. Dans les modèles animaux qui reflètent une cécité précoce, ce sont aussi les aires visuelles primaire et secondaire qui sont activées par une stimulation non-visuelle. En plus, il y a présence d'une connexion IC-LGNd. Aux connaissances déjà acquises, les travaux de cette thèse ajoutent les données d'un modèle animal - la souris énucléée à la naissance - qui reflète une cécité tardive. L'activation non-visuelle s'observe dans l'aire visuelle secondaire et il y a absence de la connexion IC-LGNd. De plus, des résultats de recherche de cette thèse sont cités par des chercheurs d'un autre laboratoire pour suggérer la présence de la connexion IC-LGNd chez des humains anophtalmes. D'autres résultats de cette thèse suggèrent l'absence de la connexion IC-LGNd chez l'aveugle humain tardif.

## Liste de références

- The sense of touch, and the teaching of the blind (1886). *Science*, 7, 271-272.
- Amedi, A., Floel, A., Knecht, S., Zohary, E., & Cohen, L. G. (2004). Transcranial magnetic stimulation of the occipital pole interferes with verbal processing in blind subjects. *Nature Neuroscience*, 7, 1266-1270.
- Amedi, A., Jacobson, G., Hendler, T., Malach, R., & Zohary, E. (2002). Convergence of visual and tactile shape processing in the human lateral occipital complex. *Cerebral Cortex*, 12, 1202-1212.
- Amedi, A., Raz, N., Pianka, P., Malach, R., & Zohary, E. (2003). Early 'visual' cortex activation correlates with superior verbal memory performance in the blind. *Nature Neuroscience*, 6, 758-766.
- Ammons, C. H. & Dallenbach, K. M. (1953). Facial vision: the perception of obstacles out of doors by blindfolded and blindfolded-deafened subjects. *American Journal of Psychology*, 66, 519-553.
- Andrés, F. L. & Van der Loos, H. (1985). From sensory periphery to cortex: The architecture of the barrelfield as modified by various manipulations of the mouse whiskerpad. *Anatomy and Embryology*, 172, 11-20.
- Antonini, A. & Stryker, M. P. (1993). Rapid remodeling of axonal arbors in the visual cortex. *Science*, 260, 1819-1821.
- Axelrod, S. (1959). *Effect of early blindness: performance of blind and sighted children on tactile and auditory tasks*. New York: American Foundation for the Blind.
- Bagot, J. D. (1999). *Information, sensation et perception*. Paris: Armand Collin.
- Bartoletti, A., Medini, P., Berardi, N., & Maffei, L. (2004). Environmental enrichment prevents effects of dark-rearing in the rat visual cortex. *Nature Neuroscience*, 7, 215-216.
- Bear, M. F., Connors, B. W., & Paradiso, M. A. (2002). *Neurosciences À la découverte du cerveau*. Rueil-Malmaison: Lippincott Williams & Wilkins.
- Beaulieu, C. & Colonnier, M. (1989a). Effects of the richness of the environment on six different cortical areas of the cat cerebral cortex. *Brain Research*, 495, 382-386.
- Beaulieu, C. & Colonnier, M. (1989b). Number of neurons in individual laminae of areas 3B, 4 gamma, and 6a alpha of the cat cerebral cortex: a comparison with major visual areas. *Journal of Comparative Neurology*, 279, 228-234.

Bedi, K. S. & Bhide, P. G. (1988). Effects of environmental diversity on brain morphology. *Early Human Development*, *17*, 107-143.

Benedetti, F. (1992). The development of the somatosensory representation in the superior colliculus of visually deprived mice. *Developmental Brain Research*, *65*, 173-178.

Benedetti, F. & Ferro, I. (1994). Implantation of artificial whiskers on the ears of newborn mice induces visual re-mapping in the superior colliculus. *Neuroscience Letters*, *168*, 45-48.

Bhide, P. G. & Bedi, K. S. (1985). The effects of a 30 day period of environmental diversity on well-fed and previously undernourished rats: neuronal and synaptic measures in the visual cortex (area 17). *Journal of Comparative Neurology*, *236*, 121-126.

Bhide, P. G. & Frost, D. O. (1992). Axon substitution in the reorganization of developing neural connections. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, *89*, 11847-11851.

Blakemore, C. & Mitchell, D. E. (1973). Environmental modification of the visual cortex and the neural basis of learning and memory. *Nature*, *241*, 467-468.

Blakemore, C. & Van Sluyters, R. C. (1975). Innate and environmental factors in the development of the kitten's visual cortex. *Journal of Physiology (London)*, *248*, 663-716.

Boller, M. & Schmidt, M. (2001). Postnatal maturation of GABA(A) and GABA(C) receptor function in the mammalian superior colliculus. *European Journal of Neuroscience*, *14*, 1185-1193.

Bonaventure, N. & Karli, P. (1968). Apparition au niveau du cortex visuel de potentiels évoqués d'origine auditive chez la souris privée de photorécepteurs. *Journal de Physiologie (Paris)*, *60*, 407.

Bonaventure, N., Wioland, N., & Karli, P. (1985). Enhanced sensory convergence to the visual cortex in the rodless (rd/rd) mouse. *Documenta Ophthalmologica*, *61*, 97-103.

Brainard, M. S. & Knudsen, E. I. (1998). Sensitive periods for visual calibration of the auditory space map in the barn owl optic tectum. *Journal of Neuroscience*, *18*, 3929-3942.

Bridge, H., Cowey, A., Ragge, N., & Watkins, K. (2009). Imaging studies in congenital anophthalmia reveal preservation of brain architecture in 'visual' cortex. *Brain*, *132*, 3467-3480.

Brillaud, E., Morillion, D., & de, S. R. (2005). Modest environmental enrichment: effect on a radial maze validation and well being of rats. *Brain Research, 1054*, 174-182.

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*). *European Journal of Neuroscience, 16*, 311-329.

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. A 2-deoxyglucose study of subcortical centers. *Journal of Comparative Neurology, 284*, 253-274.

Bronchti, G., Schönenberger, N., Welker, E., & Van der Loos, H. (1992). Barreldfield expansion after neonatal eye removal in mice. *Neuroreport, 3*, 489-492.

Buchel, C., Price, C., Frackowiak, R. S. J., & Friston, K. (1998). Different activation patterns in the visual cortex of late and congenitally blind subjects. *Brain, 121*, 409-419.

Budinger, E., Heil, P., Hess, A., & Scheich, H. (2006). Multisensory processing via early cortical stages: connections of the primary auditory cortical field with other sensory systems. *Neuroscience, 143*, 1065-1083.

Budinger, E., Heil, P., & Scheich, H. (2000). Functional organization of auditory cortex in the Mongolian gerbil (*Meriones unguiculatus*). IV. Connections with anatomically characterized subcortical structures. *European Journal of Neuroscience, 12*, 2452-2474.

Burton, H., McLaren, D. G., & Sinclair, R. J. (2006). Reading embossed capital letters: an fMRI study in blind and sighted individuals. *Human Brain Mapping, 27*, 325-339.

Burton, H., Sinclair, R. J., & McLaren, D. G. (2004). Cortical activity to vibrotactile stimulation: an fMRI study in blind and sighted individuals. *Human Brain Mapping, 23*, 210-228.

Burton, H., Snyder, A. Z., Conturo, T. E., Akbudak, E., Ollinger, J. M., & Raichle, M. E. (2002). Adaptive changes in early and late blind: a fMRI study of Braille reading. *Journal of Neurophysiology, 87*, 589-607.

Burton, H., Snyder, A. Z., Diamond, J. B., & Raichle, M. E. (2002). Adaptive changes in early and late blind: a FMRI study of verb generation to heard nouns. *Journal of Neurophysiology, 88*, 3359-3371.

Caleo, M., Tropea, D., Rossi, C., Gianfranceschi, L., & Maffei, L. (2009). Environmental enrichment promotes fiber sprouting after deafferentation of the superior colliculus in the adult rat brain. *Experimental Neurology*.

Campi, K. L., Bales, K. L., Grunewald, R., & Krubitzer, L. (2010). Connections of auditory and visual cortex in the prairie vole (*Microtus ochrogaster*): evidence for multisensory processing in primary sensory areas. *Cerebral Cortex*, *20*, 89-108.

Cancedda, L., Putignano, E., Sale, A., Viegi, A., Berardi, N., & Maffei, L. (2004). Acceleration of visual system development by environmental enrichment. *Journal of Neuroscience*, *24*, 4840-4848.

Cappe, C. & Barone, P. (2005). Heteromodal connections supporting multisensory integration at low levels of cortical processing in the monkey. *European Journal of Neuroscience*, *22*, 2886-2902.

Cappe, C., Rouiller, E. M., & Barone, P. (2009). Multisensory anatomical pathways. *Hearing Research*, *258*, 28-36.

Caviness, V. S., Jr. (1975). Architectonic map of neocortex of the normal mouse. *Journal of Comparative Neurology*, *164*, 247-263.

Chabot, N., Charbonneau, V., Laramee, M. E., Tremblay, R., Boire, D., & Bronchti, G. (2008). Subcortical auditory input to the primary visual cortex in anophthalmic mice. *Neuroscience Letters*.

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. *European Journal of Neuroscience*, *26*, 2334-2348.

Chao, J. & Nestler, E. J. (2004). Molecular neurobiology of drug addiction. *Annual Review of Medicine*, *55*, 113-132.

Charbonneau, V., Laramee, M. E., Bronchti, G., & Boire, D. (2008). Primary sensory cortices are linked by direct feedback connections in the anophthalmic, enucleated and normal mice. A retrograde tracing study. *Society for Neuroscience Abstracts*, *457.19*.

Chase, H. B. (1942). Studies on an Anophthalmic Strain of Mice. III. Results of Crosses with Other Strains. *Genetics*, *27*, 339-348.

Chase, H. B. (1944). Studies on an Anophthalmic Strain of Mice. IV. a Second Major Gene for Anophthalmia. *Genetics*, *29*, 264-269.

Chase, H. B. & Chase, E. B. (1941). Studies on an anophthalmic strain of mice. I. Embryology of the eye region. *Journal of Morphology*, *68*, 279-401.

Chebat, D. R., Rainville, C., Kupers, R., & Ptito, M. (2007). Tactile-'visual' acuity of the tongue in early blind individuals. *Neuroreport*, *18*, 1901-1904.

Cheng, H. J. & Flanagan, J. G. (1994). Identification and cloning of ELF-1, a developmentally expressed ligand for the Mek4 and Sek receptor tyrosine kinases. *Cell*, 79, 157-168.

Cheng, H. J., Nakamoto, M., Bergemann, A. D., & Flanagan, J. G. (1995). Complementary gradients in expression and binding of ELF-1 and Mek4 in development of the topographic retinotectal projection map. *Cell*, 82, 371-381.

Chino, Y. M. (1995). Adult plasticity in the visual system. *Canadian Journal of Physiology and Pharmacology*, 73, 1323-1338.

Chino, Y. M., Kaas, J. H., Smith, E. L., Langston, A. L., & Cheng, H. (1992). Rapid reorganization of cortical maps in adult cats following restricted deafferentation in retina. *Vision Research*, 32, 789-796.

Chino, Y. M., Smith, E. L., III, Kaas, J. H., Sasaki, Y., & Cheng, H. (1995). Receptive-field properties of deafferentated visual cortical neurons after topographic map reorganization in adult cats. *Journal of Neuroscience*, 15, 2417-2433.

Clancy, B., Darlington, R. B., & Finlay, B. L. (2000). The course of human events: predicting the timing of primate neural development. *Developmental Science*, 3, 57-6.

Clancy, B., Darlington, R. B., & Finlay, B. L. (2001). Translating developmental time across mammalian species. *Neuroscience*, 105, 7-17.

Clancy, B., Finlay, B. L., Darlington, R. B., & Anand, K. J. (2007). Extrapolating brain development from experimental species to humans. *Neurotoxicology*, 28, 931-937.

Clancy, B., Kersh, B., Hyde, J., Darlington, R. B., Anand, K. J., & Finlay, B. L. (2007). Web-based method for translating neurodevelopment from laboratory species to humans. *Neuroinformatics*, 5, 79-94.

Cohen, L. G., Celnik, P., Pascual-Leone, A., Corwell, B., Faiz, L., Dambrosia, J. et al. (1997). Functional relevance of cross-modal plasticity in blind humans. *Nature*, 389, 180-183.

Cohen, L. G., Weeks, R. A., Sadato, N., Celnik, P., Ishii, K., & Hallett, M. (1999). Period of susceptibility for cross-modal plasticity in the blind. *Annals of Neurology*, 45, 451-460.

Cohen, M. M. (1974). Changes in auditory localization following prismatic exposure under continuous and terminal visual feedback. *Perceptual & Motor Skills*, 38, 1202.

Collignon, O., Renier, L., Bruyer, R., Tranduy, D., & Veraart, C. (2006). Improved selective and divided spatial attention in early blind subjects. *Brain Research*, 1075, 175-182.

Covey, E., Hall, W. C., & Kobler, J. B. (1987). Subcortical connections of the superior colliculus in the mustache bat, *Pteronotus parnellii*. *Journal of Comparative Neurology*, 263, 179-197.

Cowey, A. & Walsh, V. (2000). Magnetically induced phosphenes in sighted, blind and blindsighted observers. *Neuroreport*, 11, 3269-3273.

Cüllen, M. J. & Kaiserman-Abramof, I. R. (1976). Cytological organization of the dorsal lateral geniculate nuclei in mutant anophthalmic and postnatally enucleated mice. *Journal of Neurocytology*, 5, 407-424.

Cullen, M. J. & Kaiserman-Abramof, I. R. (1976). Cytological organization of the dorsal lateral geniculate nuclei in mutant anophthalmic and postnatally enucleated mice. *Journal of Neurocytology*, 5, 407-424.

Cynader, M. & Mitchell, D. E. (1980). Prolonged sensitivity to monocular deprivation in dark-reared cats. *Journal of Neurophysiology*, 43, 1026-1040.

De Volder, A. G., Bol, A., Blin, J., Robert, A., Arno, P., Grandin, C. et al. (1997). Brain energy metabolism in early blind subjects: Neural activity in the visual cortex. *Brain Research*, 750, 235-244.

DeBello, W. M., Feldman, D. E., & Knudsen, E. I. (2001). Adaptive axonal remodeling in the midbrain auditory space map. *Journal of Neuroscience*, 21, 3161-3174.

Despres, O., Boudard, D., Candas, V., & Dufour, A. (2005). Enhanced self-localization by auditory cues in blind humans. *Disability & Rehabilitation*, 27, 753-759.

Diamond, M. C. (1988). *Enriching heredity*. New York: The Free Press.

Diamond, M. C. (2001). Response of the brain to enrichment. *Annal Academia Brasileira de Ciências*, 73, 211-220.

Diamond, M. C., Ingham, C. A., Johnson, R. E., Bennett, E. L., & Rosenzweig, M. R. (1976). Effects of environment on morphology of rat cerebral cortex and hippocampus. *Journal of Neurobiology*, 7, 75-85.

Diamond, M. C., Krech, D., & Rosenzweig, M. R. (1964). The effect of an enriched environment on the rat cerebral cortex. *Journal of Comparative Neurology*, 123, 111-119.

Diamond, M. C., Rosenzweig, M. R., Bennett, E. L., Lindner, B., & Lyon, L. (1972). Effects of environmental enrichment and impoverishment on rat cerebral cortex. *Journal of Neurobiology*, 3, 47-64.

Diderot, D. (2000). *Lettre sur les aveugles*. Paris: Flammarion.

Dinse, H. R. (2004). Sound case for enrichment. Focus on "environmental enrichment improves response strength, threshold, selectivity, and latency of auditory cortex neurons". *Journal of Neurophysiology*, *92*, 36-37.

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, M. E., Guillemot, J. P., Lassonde, M., Gagne, J. P., Leclerc, C., & Lepore, F. (2004). Blind subjects process auditory spectral cues more efficiently than sighted individuals. *Experimental Brain Research*.

Doupe, A. J. & Kuhl, P. K. (1999). Birdsong and human speech: Common Themes and Mechanisms. *Annual Review of Neuroscience*, *22*, 567-631.

Dufour, A., Despres, O., & Candas, V. (2005). Enhanced sensitivity to echo cues in blind subjects. *Experimental Brain Research*, *165*, 515-519.

Ehret, G. (1975). Masked Auditory Thresholds, Critical Ratios, and Scales of the Basilar Membrane of the Housemouse (*Mus musculus*). *Journal of Comparative Physiology*, *103*, 329-341.

Elbert, T., Pantev, C., Wienbruch, C., Rockstroh, B., & Taub, E. (1995). Increased cortical representation of the fingers of the left hand in string players. *Science*, *270*, 305-307.

Engineer, N. D., Percaccio, C. R., Pandya, P. K., Moucha, R., Rathbun, D. L., & Kilgard, M. P. (2004). Environmental enrichment improves response strength, threshold, selectivity, and latency of auditory cortex neurons. *Journal of Neurophysiology*, *92*, 73-82.

Erzurumlu, R. & Kind, P. (2001). Neural activity: sculptor of 'barrels' in the neocortex. *Trends in Neurosciences*, *24*, 589-595.

Falchier, A., Clavagnier, S., Barone, P., & Kennedy, H. (2002). Anatomical evidence of multimodal integration in primate striate cortex. *Journal of Neuroscience*, *22*, 5749-5759.

Fieger, A., Roder, B., Teder-Salejarvi, W., Hillyard, S. A., & Neville, H. J. (2006). Auditory spatial tuning in late-onset blindness in humans. *Journal of Cognitive Neuroscience*, *18*, 149-157.

Finney, E. M., Clementz, B. A., Hickok, G., & Dobkins, K. R. (2003). Visual stimuli activate auditory cortex in deaf subjects: evidence from MEG. *Neuroreport*, *14*, 1425-1427.

Finney, E. M., Fine, I., & Dobkins, K. R. (2001). Visual stimuli activate auditory cortex in the deaf. *Nature Neuroscience*, *4*, 1171-1173.

Fregnac, Y., Shulz, D., Thorpe, S., & Bienenstock, E. (1988). A cellular analogue of visual cortical plasticity. *Nature*, *333*, 367-370.

Frenkel, M. Y., Sawtell, N. B., Diogo, A. C., Yoon, B., Neve, R. L., & Bear, M. F. (2006). Instructive effect of visual experience in mouse visual cortex. *Neuron*, *51*, 339-349.

Frost, D. O. (1981). Orderly anomalous retinal projections to the medial geniculate, ventrobasal, and lateral posterior nuclei of the hamster. *Journal of Comparative Neurology*, *203*, 227-256.

Frost, D. O., Boire, D., Gingras, G., & Ptito, M. (2000). Surgically created neural pathways mediate visual pattern discrimination. *Proceedings of the National Academy of Sciences U.S.A.*, *97*, 11068-11073.

Gao, W. J., Wormington, A. B., Newman, D. E., & Pallas, S. L. (2000). Development of inhibitory circuitry in visual and auditory cortex of postnatal ferrets: immunocytochemical localization of calbindin- and parvalbumin-containing neurons. *Journal of Comparative Neurology*, *422*, 140-157.

Goldreich, D. & Kanics, I. M. (2003). Tactile acuity is enhanced in blindness. *Journal of Neuroscience*, *15*, 3439-3445.

Goldstein, M. H., King, A. P., & West, M. J. (2003). Social interaction shapes babbling: testing parallels between birdsong and speech. *Proceedings of the National Academy of Sciences U.S.A.*, *100*, 8030-8035.

Goodman, C. S. & Shatz, C. J. (1993). Developmental mechanisms that generate precise patterns of neuronal connectivity. *Cell*, *72 Suppl*, 77-98.

Goodman, C. S. (1996). Mechanisms and Molecules that Control Growth Cone Guidance. *Annual Review of Neuroscience*, *19*, 341-377.

Gougoux, F., Lepore, F., Lassonde, M., Voss, P., Zatorre, R. J., & Belin, P. (2004). Neuropsychology: pitch discrimination in the early blind. *Nature*, *430*, 309.

Gougoux, F., Zatorre, R. J., Lassonde, M., Voss, P., & Lepore, F. (2005). A functional neuroimaging study of sound localization: visual cortex activity predicts performance in early-blind individuals. *PLoS Biology*, *3*, e27.

Goyal, M. S., Hansen, P. J., & Blakemore, C. B. (2006). Tactile perception recruits functionally related visual areas in the late-blind. *Neuroreport*, *17*, 1381-1384.

Grutzendler, J., Kasthuri, N., & Gan, W. B. (2002). Long-term dendritic spine stability in the adult cortex. *Nature*, *420*, 812-816.

Gundersen, H. J., Jensen, E. B., Kieu, K., & Nielsen, J. (1999). The efficiency of systematic sampling in stereology--reconsidered. *Journal of Microscopy*, *193*, 199-211.

Halliday, G. W. & Evans, J. H. (1974). Somatosensory enrichment of a deaf, blind, retarded adolescent through vibration. *Perceptual & Motor Skills*, 38, 880.

Hamburger, V. (1958). Regression versus peripheral control of differentiation in motor hypoplasia. *American Journal of Anatomy*, 102, 365-409.

Hamburger, V. (1977). The developmental history of the motor neuron. *Neuroscience Research - Program Bulletin*, 15 Suppl, iii-37.

Hamilton, R., Keenan, J. P., Catala, M., & Pascual-Leone, A. (2000). Alexia for Braille following bilateral occipital stroke in an early blind woman. *Neuroreport*, 11, 237-240.

Heil, P., Bronchti, G., Wollberg, Z., & Scheich, H. (1991). Invasion of the visual cortex by the auditory system in the naturally blind mole rat. *Neuroreport*, 2, 735-738.

Hensch, T. K. (2004). Critical period regulation. *Annual Review of Neuroscience*, 27, 549-579.

Herdegen, T. & Leah, J. D. (1998). Inducible and constitutive transcription factors in the mammalian nervous system: control of gene expression by Jun, Fos and Krox, and CREB/ATF proteins. *Brain Research Reviews*, 28, 370-490.

Heumann, D. & Rabinowicz, T. (1982). Postnatal development of the visual cortex of the mouse after enucleation at birth. *Experimental Brain Research*, 46, 99-106.

Hofer, M. M. & Barde, Y. A. (1988). Brain-derived neurotrophic factor prevents neuronal death in vivo. *Nature*, 331, 261-262.

Hollyday, M. & Hamburger, V. (1976). Reduction of the naturally occurring motor neuron loss by enlargement of the periphery. *Journal of Comparative Neurology*, 170, 311-320.

Horton, J. C. & Hocking, D. R. (1997). Timing of the critical period for plasticity of ocular dominance columns in macaque striate cortex. *Journal of Neuroscience*, 17, 3684-3709.

Horton, J. C. & Hocking, D. R. (1998). Effect of early monocular enucleation upon ocular dominance columns and cytochrome oxidase activity in monkey and human visual cortex. *Visual Neuroscience*, 15, 289-303.

Hoshino, O. & Kuroiwa, K. (2002). A neural network model of the inferior colliculus with modifiable lateral inhibitory synapses for human echolocation. *Biological Cybernetics*, 86, 231-240.

Hubel, D. H. & Wiesel, T. N. (1962). Receptive fields, binocular interaction and functional architecture in the cat's visual cortex. *Journal of Physiology* 160, 106-154.

Hubel, D. H. & Wiesel, T. N. (1963). Receptive fields of cells in striate cortex of very young, visually unexperienced kittens. *Journal of Neurophysiology*, *26*, 994-1002.

Hubel, D. H. & Wiesel, T. N. (1965). Binocular interaction in striate cortex of kittens reared with artificial squint. *Journal of Neurophysiology*, *28*, 1041-1059.

Hubel, D. H. & Wiesel, T. N. (1970). The period of susceptibility to the physiological effects of unilateral eye closure in kittens. *Journal of Physiology*, *206*, 419-436.

Hubel, D. H., Wiesel, T. N., & Levay, S. (1977). Plasticity of ocular dominance columns in monkey striate cortex. *Philosophical Transaction of the Royal Society of London B Biological Sciences*, *278*, 377-409.

Institut national canadien pour les aveugles. <http://www.cnib.ca/en/living/braille/louis-braille/Default.aspx>

Iwai, Y., Fagiolini, M., Obata, K., & Hensch, T. K. (2003). Rapid critical period induction by tonic inhibition in visual cortex. *Journal of Neuroscience*, *23*, 6695-6702.

Iwasato, T., Datwani, A., Wolf, A. M., Nishiyama, H., Taguchi, Y., Tonegawa, S. et al. (2000). Cortex-restricted disruption of NMDAR1 impairs neuronal patterns in the barrel cortex. *Nature*, *406*, 726-731.

Iwasato, T., Erzurumlu, R. S., Huerta, P. T., Chen, D. F., Sasaoka, T., Ulupinar, E. et al. (1997). NMDA receptor-dependent refinement of somatotopic maps. *Neuron*, *19*, 1201-1210.

Izraeli, R., Koay, G., Lamish, M., Hecklen-Klein, A. J., Heffner, H. E., Heffner, R. S. et al. (2002). Cross-modal neuroplasticity in neonatally enucleated hamsters: structure, electrophysiology and behaviour. *European Journal of Neuroscience*, *15*, 693-712.

Jeanmonod, D., Rice, F. L., & Van der Loos, H. (1977). Mouse somatosensory cortex: Development of the alterations in the barrel field which are caused by injury to the vibrissal follicles. *Neuroscience Letters*, *6*, 151-156.

Jeanmonod, D., Rice, F. L., & Van der Loos, H. (1981). Mouse somatosensory cortex alterations in the barrel field following receptor injury at different early postnatal ages. *Neuroscience*, *6*(8), 1503-1535.

Jenkins, W. M., Merzenich, M. M., Ochs, M. T., Allard, T. T., & Guic-Robles, E. (1990). Functional reorganization of primary somatosensory cortex in adult owl monkeys after behaviorally controlled tactile stimulation. *Journal of Neuroscience*, *63*(1), 82-104.

Kaas, J. H. (1991). Plasticity of sensory and motor maps in adult mammals. *Annual Review of Neuroscience*, *14*, 137-167.

Kaas, J. H. (1999). Is most of neural plasticity in the thalamus cortical? *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, *96*, 7622-7623.

Kaas, J. H., Krubitzer, L. A., Chino, Y. M., Langston, A. L., Polley, E. H., & Blair, N. (1990). Reorganization of retinotopic cortical maps in adult mammals after lesions of the retina. *Science*, *248*, 229-231.

Kaczmarek, L. & Chaudhuri, A. (1997). Sensory regulation of immediate early gene expression in mammalian visual cortex: implications for functional mapping and neural plasticity. *Brain Research Reviews*, *23*, 237-256.

Kahn, D. M. & Krubitzer, L. (2002). Massive cross-modal cortical plasticity and the emergence of a new cortical area in developmentally blind mammals. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, *99*, 11429-11434.

Kaiserman-Abramof, I. R. (1983). Intrauterine enucleation of normal mice mimics a structural compensatory response in the geniculate of eyeless mutant mice. *Brain Research*, *270*, 149-153.

Karlen, S. J., Kahn, D. M., & Krubitzer, L. (2006). Early blindness results in abnormal corticocortical and thalamocortical connections. *Neuroscience*, *142*, 843-858.

Katagiri, H., Fagiolini, M., & Hensch, T. K. (2007). Optimization of somatic inhibition at critical period onset in mouse visual cortex. *Neuron*, *53*, 805-812.

Katz, L. C. & Shatz, C. J. (1996). Synaptic activity and the construction of cortical circuits. *Science*, *274*, 1133-1138.

Kellogg, W. N. (1962). Sonar system of the blind. *Science*, *137*, 399-404.

Kempermann, G., Gast, D., & Gage, F. H. (2002). Neuroplasticity in old age: sustained fivefold induction of hippocampal neurogenesis by long-term environmental enrichment. *Annals of Neurology*, *52*, 135-143.

Kirkwood, A. & Bear, M. F. (1994). Hebbian synapses in visual cortex. *Journal of Neuroscience*, *14*, 1634-1645.

Knoll, B., Isenmann, S., Kilic, E., Walkenhorst, J., Engel, S., Wehinger, J., Bahr, M. & Drescher, U. (2001). Graded expression patterns of ephrin-As in the superior colliculus after lesion of the adult mouse optic nerve. *Mechanisms of Development*, *106*, 119-127.

Knoll, B., Zarbalis, K., Wurst, W., & Drescher, U. (2001). A role for the EphA family in the topographic targeting of vomeronasal axons. *Development*, *128*, 895-906.

Knudsen, E. I. (1988). Early blindness results in a degraded auditory map of space in the optic tectum of the barn owl. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, *85*, 6211-6214.

Knudsen, E. I. (1998). Capacity for plasticity in the adult owl auditory system expanded by juvenile experience. *Science*, *279*, 1531-1533.

Knudsen, E. I., Esterly, S. D., & Du Lac, S. (1991). Stretched and upside-down maps of auditory space in the optic tectum of blind-reared owls; Acoustic basis and behavioral correlates. *Journal of Neuroscience*, *11*, 1727-1747.

Knudsen, E. I. & Knudsen, P. F. (1985). Vision guides the adjustment of auditory localization in young barn owls. *Science*, *230*, 545-548.

Kobayashi, S., Ohashi, Y., & Ando, S. (2002). Effects of enriched environments with different durations and starting times on learning capacity during aging in rats assessed by a refined procedure of the Hebb-Williams maze task. *Journal of Neuroscience Research*, *70*, 340-346.

Kovacs, K. J. (1998). c-Fos as a transcription factor: a stressful (re)view from a functional map. *Neurochemistry International*, *33*, 287-297.

Kuhl, P. K. (1994). Learning and representation in speech and language. *Current Opinion in Neurobiology*, *4*, 812-822.

Kuhl, P. K. (2004). Early language acquisition: cracking the speech code. *Nature Reviews Neuroscience*, *5*, 831-843.

Kuhl, P. K., Williams, K. A., Lacerda, F., Stevens, K. N., & Lindblom, B. (1992). Linguistic experience alters phonetic perception in infants by 6 months of age. *Science*, *255*, 606-608.

Kujala, T., Alho, K., Huottilainen, M., Ilmoniemi, R. J., Lehtokoski, A., Leinonen, A. et al. (1997). Electrophysiological evidence for cross-modal plasticity in humans with early- and late-onset blindness. *Psychophysiology*, *34*, 213-216.

Kujala, T., Alho, K., Kekoni, J., Hämäläinen, H., Reinikainen, K., Salonen, O. et al. (1995). Auditory and somatosensory event-related brain potentials in early blind humans. *Experimental Brain Research*, *104*, 519-526.

Kujala, T., Alho, K., & Naatanen, R. (2000). Cross-modal reorganization of human cortical functions. *Trends in Neurosciences*, *23*, 115-120.

Kujala, T., Alho, K., Paavilainen, P., Summala, H., & Näätänen, R. (1992). Neural plasticity in processing of sound location by the early blind: An event-related potential study. *Electroencephalography and Clinical Neurophysiology: Evoked Potentials*, *84*, 469-472.

Kupers, R., Pappens, M., de Noordhout, A. M., Schoenen, J., Ptito, M., & Fumal, A. (2007). rTMS of the occipital cortex abolishes Braille reading and repetition priming in blind subjects. *Neurology*, *68*, 691-693.

Lackner, J. R. (1976). Influence of abnormal postural and sensory conditions on human sensorimotor localization. *Environmental Biology and Medicine*, *2*, 137-177.

Laemle, L. K., Strominger, N. L., & Carpenter, D. O. (2006). Cross-modal innervation of primary visual cortex by auditory fibers in congenitally anophthalmic mice. *Neuroscience Letters*, *396*, 108-112.

Laramee, M. E., Chabot, C., Charbonneau, V., Bronchti, G., & Boire, D. (2008). Auditory and visual primary cortices are linked by direct feedback connections in the mouse: single axon reconstruction and c-Fos activation pattern. SFN .

Laramee, M. E., Charbonneau, V., Bronchti, G., & Boire, D. (4-4-2008a). Étude de la convergence multisensorielle dans les cortex sensitifs primaires chez la souris. Journée scientifique du GRSV et de l'École d'optométrie, Université de Montréal.

Laramee, M. E., Charbonneau, V., Bronchti, G., & Boire, D. (5-25-2008b). Multisensory convergence in low order cortical areas: a fine structure analysis. 2nd Annual Canadian Neuroscience Meeting .

Larsen, W. J. (2003). Embryologie humaine 2ième édition française. Bruxelles, De Boeck Université.

Le Houillier, J. F. (2007). *Étude des connexions intermodales chez la souris anophthalmique ZRDCT/An en développement.*

Leclerc, C., Saint-Amour, D., Lavoie, M. E., Lassonde, M., & Lepore, F. (2000). Brain functional reorganization in early blind humans revealed by auditory event-related potentials. *Neuroreport*, *11*, 545-550.

Lenneberg, E. H. (1967). *The biological foundations of language.* New York: Wiley.

Lessard, N., Paré, M., Lepore, F., & Lassonde, W. (1998). Early-blind human subjects localize sound sources better than sighted subjects. *Nature*, *395*, 278-280.

Levay, S., Stryker, M. P., & Shatz, C. J. (1978). Ocular dominance columns and their development in layer IV of the cat's visual cortex: a quantitative study. *Journal of Comparative Neurology*, *179*, 223-244.

Levay, S., Wiesel, T. N., & Hubel, D. H. (1980). The development of ocular dominance columns in normal and visually deprived monkeys. *Journal of Comparative Neurology*, *191*, 1-51.

Lewald, J. (2002a). Opposing effects of head position on sound localization in blind and sighted human subjects. *European Journal of Neuroscience*, *15*, 1219-1224.

Lewald, J. (2002b). Vertical sound localization in blind humans. *Neuropsychologia*, *40*, 1868-1872.

Linkenhoker, B. A. & Knudsen, E. I. (2002). Incremental training increases the plasticity of the auditory space map in adult barn owls. *Nature*, *419*, 293-296.

Liotti, M., Ryder, K., & Woldorff, M. G. (1998). Auditory attention in the congenitally blind: where, when and what gets reorganized? *Neuroreport*, *9*, 1007-1012.

Luksch, H., Gauger, B., & Wagner, H. (2000). A candidate pathway for a visual instructional signal to the barn owl's auditory system. *Journal of Neuroscience*, *20*, RC70.

Lyckman, A. W., Jhaveri, S., Feldheim, D. A., Vanderhaeghen, P., Flanagan, J. G., & Sur, M. (2001). Enhanced plasticity of retinthalamic projections in an ephrin-A2/A5 double mutant. *Journal of Neuroscience*, *21*, 7684-7690.

Manjunath, N. K., Srinivas, R., Nirmala, K. S., Nagendra, H. R., Kumar, A., & Telles, S. (1998). Shorter latencies of components of middle latency auditory evoked potentials in congenitally blind compared to normal sighted subjects. *International Journal of Neuroscience*, *95*, 173-181.

Merabet, L. B., Amedi, A., & Pascual-Leone, A. (2006). Activation of the visual cortex by Braille reading in blind subjects. In S.G.Lomber & J. J. Eggermont (Eds.), *Reprogramming the cerebral cortex* (pp. 377-393). Oxford: Oxford University Press.

Merabet, L. B., Rizzo, J. F., Amedi, A., Somers, D. C., & Pascual-Leone, A. (2005). What blindness can tell us about seeing again: merging neuroplasticity and neuroprostheses. *Nature Reviews Neuroscience*, *6*, 71-77.

Merzenich, M. M., Nelson, R. J., Stryker, M. P., Cynader, M. S., Schoppmann, A., & Zook, J. M. (1984). Somatosensory cortical map changes following digit amputation in adult monkeys. *Journal of Comparative Neurology*, *224*, 591-605.

Miller, G. L. & Knudsen, E. I. (1999). Early visual experience shapes the representation of auditory space in the forebrain gaze fields of the barn owl. *Journal of Neuroscience*, *19*, 2326-2336.

Mogilner, A., Grossman, J. A. I., Ribary, U., Joliot, M., Volkman, J., Rapaport, D. et al. (1993). Somatosensory cortical plasticity in adult humans revealed by magnetoencephalography. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, *90*, 3593-3597.

Mohammed, A. H., Zhu, S. W., Darmopil, S., Hjerling-Leffler, J., Ernfors, P., Winblad, B. et al. (2002). Environmental enrichment and the brain. *Progress in Brain Research*, 138, 109-133.

Mooney, R. (1999). Sensitive periods and circuits for learned birdsong. *Current Opinion in Neurobiology*, 9, 121-127.

Morse, D. E. & McCann, P. S. (1984). Neuroectoderm of the early embryonic rat eye. Scanning electron microscopy. *Investigative Ophthalmology & Visual Science*, 25, 899-907.

Mouton, P. R. (2002). *Principles and Practices of Unbiased Stereology An Introduction for Bioscientists*. Baltimore and London: The Johns Hopkins University Press.

Mower, G. D., Berry, D., Burchfiel, J. L., & Duffy, F. H. (1981). Comparison of the effects of dark rearing and binocular suture on development and plasticity of cat visual cortex. *Brain Research*, 220, 255-267.

Mower, G. D., Caplan, C. J., Christen, W. G., & Duffy, F. H. (1985). Dark rearing prolongs physiological but not anatomical plasticity of the cat visual cortex. *Journal of Comparative Neurology*, 235, 448-466.

Muchnik, C., Efrati, M., Nemeth, E., Malin, M., & Hildesheimer, M. (1991). Central auditory skills in blind and sighted subjects. *Scandinavian Audiology*, 20, 19-23.

Necker, R., Rehkämper, G., & Nevo, E. (1992). Electrophysiological mapping of body representation in the cortex of the blind mole rat. *Neuroreport*, 3, 505-508.

Neville, H. & Bavelier, D. (2002). Human brain plasticity: evidence from sensory deprivation and altered language experience. *Progress in Brain Research*, 138, 177-188.

Neville, H. J., Coffey, S. A., Lawson, D. S., Fischer, A., Emmorey, K., & Bellugi, U. (1997). Neural systems mediating American sign language: effects of sensory experience and age of acquisition. *Brain and Language*, 57, 285-308.

Niemeyer, W. & Starlinger, I. (1981). Do the blind hear better? Investigations on auditory processing in congenital or early acquired blindness. II. Central functions. *Audiology*, 20, 510-515.

Nomura, Y. (1980). [Functional development of the synaptic transmission in the rat CNS and its interaction with drugs (author's transl)]. *Nippon Yakurigaku Zasshi*, 76, 413-427.

Pantev, C., Oostenveld, R., Engelien, A., Ross, B., Roberts, L. E., & Hoke, M. (1998). Increased auditory cortical representation in musicians. *Nature*, 392, 811-814.

Penn, A. A. & Shatz, C. J. (2002). Principles of endogenous and sensory activity-dependant brain development. The visual system. In H. Lagercrantz, M. Hanson, P. Evrard, & C. Rodeck (Eds.), *The new born brain* (pp. 204-225). Cambridge: Cambridge University Press.

Petitto, L. A. & Marentette, P. F. (1991). Babbling in the manual mode: evidence for the ontogeny of language. *Science*, *251*, 1493-1496.

Phelps, M. E., Mazziotta, J. C., Kuhl, D. E., Nuwer, M., Packwood, J., Metter, J. et al. (1981). Tomographic mapping of human cerebral metabolism visual stimulation and deprivation. *Neurology*, *31*, 517-529.

Piché, M., Chabot, N., Bronchti, G., Miceli, D., Lepore, F., & Guillemot, J. P. (2007). Auditory responses in the visual cortex of neonatally enucleated rats. *Neuroscience*, *145*, 1144-1156.

Piché, M., Robert, S., Miceli, D., & Bronchti, G. (2004). Environmental enrichment enhances auditory takeover of the occipital cortex in anophthalmic mice. *European Journal of Neuroscience*, *20*, 3463-3472.

Pierro, L. J. & Spiggle, J. (1967). Congenital eye defects in the mouse. I. Corneal opacity in C57black mice. *Journal of Experimental Zoology*, *166*, 25-33.

Prosen, C. A., Dore, D. J., & May, B. J. (2003). The functional age of hearing loss in a mouse model of presbycusis. I. Behavioral assessments. *Hearing Research*, *183*, 44-56.

Purves, D., Augustine, G. J., Fitzpatrick, D., Katz, L. C., LaMantia, A.-S., & McNamara, J. O. (2001). *Neurosciences*. (2ère édition française ed.) Paris, Bruxelles: De Boeck Université s.a.

Rajan, R., Irvine, D. R. F., Wise, L. Z., & Heil, P. (1993). Effect of unilateral partial cochlear lesions in adult cats on the representation of lesioned and unlesioned cochleas in primary auditory cortex. *Journal of Comparative Neurology*, *338*, 17-49.

Rauschecker, J. P. & Korte, M. (1993). Auditory compensation for early blindness in cat cerebral cortex. *Journal of Neuroscience*, *13*, 4538-4548.

Rauschecker, J. P., Tian, B., Korte, M., & Egert, U. (1992). Crossmodal changes in the somatosensory vibrissa/barrel system of visually deprived animals. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, *89*, 5063-5067.

Rebillard, G., Carlier, E., Rebillard, M., & Pujol, R. (1977). Enhancement of visual responses on the primary auditory cortex of the cat after an early destruction of cochlear receptors. *Brain Research*, *1290*, 1620-1640.

Rehkämper, G., Necker, R., & Nevo, E. (1994). Functional anatomy of the thalamus in the blind mole rat *Spalax ehrenbergi*: An architectonic and

electrophysiologically controlled tracing study. *Journal of Comparative Neurology*, 347, 570-584.

Rice, C. E. (1970). Early blindness, early experience, and perceptual enhancement. *American Foundation for the Blind, Research Bulletin*, 22, 1-22.

Rice, F. L. & Van der Loos, H. (1977). Development of the barrels and barrel field in the somatosensory cortex of the mouse. *Journal of Comparative Neurology*, 171, 545-560.

Rivera-Gaxiola, M., Silva-Pereyra, J., & Kuhl, P. K. (2005). Brain potentials to native and non-native speech contrasts in 7- and 11-month-old American infants. *Developmental Science*, 8, 162-172.

Robertson, D. & Irvine, D. R. F. (1989). Plasticity of frequency organization in auditory cortex of guinea pigs with partial unilateral deafness. *Journal of Comparative Neurology*, 282, 456-471.

Robinson, M. L., Holmgren, A., & Dewey, M. J. (1993). Genetic control of ocular morphogenesis: defective lens development associated with ocular anomalies in C57BL/6 mice. *Experimental Eye Research*, 56, 7-16.

Röder, B., Rösler, F., Hennighausen, E., & Näcker, F. (1996). Event-related potentials during auditory and somatosensory discrimination in sighted and blind human subjects. *Cognitive Brain Research*, 4, 77-93.

Röder, B., Rösler, F., & Neville, H. J. (1999). Effects of interstimulus interval on auditory event-related potentials in congenitally blind and normally sighted humans. *Neuroscience Letters*, 264, 53-56.

Röder, B., Rosler, F., & Neville, H. J. (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. *European Journal of Neuroscience*, 16, 930-936.

Röder, B., Teder-Sälejärvi, W., Sterr, A., Rösler, F., Hillyard, S. A., & Neville, H. J. (1999). Improved auditory spatial tuning in blind humans. *Nature*, 400, 162-166.

Roe, A.W., Pallas S.L., Hahm J.O., Sur M. (1990). A map of visual space induced in primary auditory cortex. *Science*, 250, 818-820.

Rosenzweig, M. R. & Bennett, E. L. (1996). Psychobiology of plasticity: Effects of training and experience on brain and behavior. *Behavioural Brain Research*, 78, 57-65.

Rosenzweig, M. R., Bennett, E. L., & Diamond, M. C. (1967). Effects of differential environments on brain anatomy and brain chemistry. *Proceedings of the Annual Meeting of the American Psychopathological Association*, 56, 45-56.

Rosenzweig, M. R., Bennett, E. L., Diamond, M. C., Wu, S. Y., Slagle, R. W., & Saffran, E. (1969). Influences of environmental complexity and visual stimulation on development of occipital cortex in rat. *Brain Research*, 14, 427-445.

Ross, D. A., Olson, I. R., & Gore, J. C. (2003). Cortical plasticity in an early blind musician: an fMRI study. *Magnetic Resonance Imaging*, 21, 821-828.

Ryugo, D. K., Ryugo, R., Globus, A., & Killackey, H. P. (1975). Increased spine density in auditory cortex following visual or somatic deafferentiation. *Brain Research*, 90, 143-146.

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., Pascual-Leone, A., Grafman, J., Deiber, M. P., Ibanez, V., & Hallett, M. (1998). Neural networks for Braille reading by the blind. *Brain*, 121 ( Pt 7), 1213-1229.

Sadato, N., Pascual-Leone, A., Grafman, J., Ibañez, V., Deiber, M. P., Dold, G. et al. (1996). Activation of the primary visual cortex by Braille reading in blind subjects. *Nature*, 380, 526-528.

Saffran, J. R., Senghas, A., & Trueswell, J. C. (2001). The acquisition of language by children. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 98, 12874-12875.

Sale, A., Putignano, E., Cancedda, L., Landi, S., Cirulli, F., Berardi, N. et al. (2004). Enriched environment and acceleration of visual system development. *Neuropharmacology*, 47, 649-660.

Schlaug, G., Jäncke, L., Huang, Y. X., Staiger, J. F., & Steinmetz, H. (1995). Increased corpus callosum size in musicians. *Neuropsychologia*, 33, 1047-1051.

Schroeder, C. E. & Foxe, J. (2005). Multisensory contributions to low-level, 'unisensory' processing. *Current Opinion in Neurobiology*, 15, 454-458.

Serbetcioglu, M. B. (2001). Critical learning period for speech acquisition and screening techniques in early detection of hearing impairment. *Turkish Journal of Pediatrics*, 43, 128-132.

Sharma, J., Angelucci A. & Sur M. (2000). Induction of visual orientation modules in auditory cortex. *Nature*, 404, 841-847.

Shatz, C. J. (1983). The prenatal development of the cat's retinogeniculate pathway. *Journal of Neuroscience*, 3, 482-499.

Shatz, C. J. & Kirkwood, P. A. (1984). Prenatal development of functional connections in the cat's retinogeniculate pathway. *Journal of Neuroscience*, 4, 1378-1397.

Smith, R. S., Roderick, T. H., & Sundberg, J. P. (1994). Microphthalmia and associated abnormalities in inbred black mice. *Laboratory Animal Science*, 44, 551-560.

Sretavan, D. W., Pure, E., Siegel, M. W., & Reichardt, L. F. (1995). Disruption of retinal axon ingrowth by ablation of embryonic mouse optic chiasm neurons. *Science*, 269, 98-101.

Sretavan, D. W. & Shatz, C. J. (1986a). Prenatal development of cat retinogeniculate axon arbors in the absence of binocular interactions. *Journal of Neuroscience*, 6, 990-1003.

Sretavan, D. W. & Shatz, C. J. (1986b). Prenatal development of retinal ganglion cell axons: segregation into eye-specific layers within the cat's lateral geniculate nucleus. *Journal of Neuroscience*, 6, 234-251.

Stevens, A. A. & Weaver, K. (2005). Auditory perceptual consolidation in early-onset blindness. *Neuropsychologia*, 43, 1901-1910.

Sur M. (2004). Rewiring cortex: cross-modal plasticity and its implications for cortical development and function. In: G.A. Calvert, C. Spence, B.E. Stein (Eds). *The Handbook of Multisensory Processes*. (pp 681-694) Cambridge: MIT Press.

Sur, M. & Garraghty, P. E. (1987). Functional visual projections induced into auditory thalamus and cortex: implications for thalamic and cortical information processing. *Neuroscience* 22 supp., S428.

Sur, M., Garraghty, P. E., & Roe, A. W. (1988). Experimentally induced visual projections into auditory thalamus and cortex. *Science*, 242, 1437-1441.

Swindale, N. V. (1988). Role of visual experience in promoting segregation of eye dominance patches in the visual cortex of the cat. *Journal of Comparative Neurology*, 267, 472-488.

Symons, L. A. & Tees, R. C. (1990). An examination of the intramodal and intermodal behavioral consequences of long-term vibrissae removal in rats. *Developmental Psychobiology*, 23, 849-867.

Tessier-Lavigne, M. (1992). Axon guidance by molecular gradients. *Current Opinion in Neurobiology*, 2, 60-65.

Tessier-Lavigne, M. (1994). Axon guidance by diffusible repellants and attractants. *Current Opinion in Genetics & Development*, 4, 596-601.

Tessier-Lavigne, M. & Goodman, C. S. (1996). The molecular biology of axon guidance. *Science*, 274, 1123-1133.

Tessier-Lavigne, M. & Placzek, M. (1991). Target attraction: are developing axons guided by chemotropism? *Trends in Neurosciences*, 14, 303-310.

Tessier-Lavigne, M., Placzek, M., Lumsden, A. G., Dodd, J., & Jessell, T. M. (1988). Chemotropic guidance of developing axons in the mammalian central nervous system. *Nature*, 336, 775-778.

Théoret, H., Merabet, L., & Pascual-Leone, A. (2004). Behavioral and neuroplastic changes in the blind: evidence for functionally relevant cross-modal interactions. *Journal of Physiology Paris*, 98, 221-233.

Timney, B., Mitchell, D. E., & Giffin, F. (1978). The development of vision in cats after extended periods of dark-rearing. *Experimental Brain Research*, 31, 547-560.

Toldi, J., Joo, F., Feher, O., & Wolff, J. R. (1988). Modified distribution patterns of responses in rat visual cortex induced by monocular enucleation. *Neuroscience*, 24, 59-66.

Toldi, J., Rojik, I., & Fehér, O. (1994). Neonatal monocular enucleation-induced cross-modal effects observed in the cortex of adult rat. *Neuroscience*, 62, 105-114.

Tsai, P. P., Pachowsky, U., Stelzer, H. D., & Hackbarth, H. (2002). Impact of environmental enrichment in mice. 1: effect of housing conditions on body weight, organ weights and haematology in different strains. *Laboratory Animal*, 36, 411-419.

Tucker, P., Laemle, L., Munson, A., Kanekar, S., Oliver, E. R., Brown, N. et al. (2001). The eyeless mouse mutation (*ey1*) removes an alternative start codon from the *Rx/rax* homeobox gene. *Genesis*, 31, 43-53.

Uhl, F., Franzen, P., Lindinger, G., Lang, W., & Deecke, L. (1991). On the functionality of the visually deprived occipital cortex in early blind persons. *Neuroscience Letters*, 124, 256-259.

Uhl, F., Franzen, P., Podreka, I., Steiner, M., & Deecke, L. (1993). Increased regional cerebral blood flow in inferior occipital cortex and cerebellum of early blind humans. *Neuroscience Letters*, 150, 162-164.

Van Boven, R. W., Hamilton, R. H., Kauffman, T., Keenan, J. P., & Pascual-Leone, A. (2000). Tactile spatial resolution in blind braille readers. *Neurology*, 54, 2230-2236.

Van der Loos, H. & Woolsey, T. A. (1973). Somatosensory cortex: structural alterations following early injury to sense organs. *Science*, *179*, 395-398.

Veraart, C., De Volder, A. G., Wanet-Defalque, M. C., Bol, A., Michel, Ch., & Goffinet, A. M. (1990). Glucose utilization in human visual cortex is abnormally elevated in blindness of early onset but decreased in blindness of late onset. *Brain Research*, *510*, 115-121.

Voss, P., Gougoux, F., Lassonde, M., Zatorre, R. J., & Lepore, F. (2006). A positron emission tomography study during auditory localization by late-onset blind individuals. *Neuroreport*, *17*, 383-388.

Voss, P., Gougoux, F., Zatorre, R. J., Lassonde, M., & Lepore, F. (2008). Differential occipital responses in early- and late-blind individuals during a sound-source discrimination task. *Neuroimage*, *40*, 746-758.

Voss, P., Lassonde, M., Gougoux, F., Fortin, M., Guillemot, J. P., & Lepore, F. (2004). Early- and late-onset blind individuals show supra-normal auditory abilities in far-space. *Current Biology*, *14*, 1734-1738.

Wallace, M. T. & Stein, B. E. (2007). Early experience determines how the senses will interact. *Journal of Neurophysiology*, *97*, 921-926.

Wallhäusser, E. & Scheich, H. (1987). Auditory imprinting leads to differential 2-deoxyglucose uptake and dendritic spine loss in the chick rostral forebrain. *Developmental Brain Research*, *31*, 29-44.

Walter, J., Henke-Fahle, S., & Bonhoeffer, F. (1987). Avoidance of posterior tectal membranes by temporal retinal axons. *Development*, *101*, 909-913.

Walter, J., Kern-Veits, B., Huf, J., Stolze, B., & Bonhoeffer, F. (1987). Recognition of position-specific properties of tectal cell membranes by retinal axons in vitro. *Development*, *101*, 685-696.

Wanet-Defalque, M. C., Veraart, C., De Volder, A. G., Metz, R., Michel, Ch., Doms, G. et al. (1988). High metabolic activity in the visual cortex of early blind human subjects. *Brain Research*, *446*, 369-373.

Ward J, Meijer P. (2009). Visual experiences in the blind induced by an auditory sensory substitution device. *Consciousness and Cognition*, [Epub ahead of print]. PMID: 19955003.

Warren, D. H. & Cleaves, W. T. (1971). Visual-proprioceptive interaction under large amounts of conflict. *Journal of Experimental Psychology*, *90*, 206-214.

Waterland RA, Travisano M, Tahiliani KG (2007). Diet-induced hypermethylation at agouti viable yellow is not inherited transgenerationally through the

female. *Federation of American Societies for Experimental Biology Journal*, 12, 3380-3385.

Weeks, R., Horwitz, B., Aziz-Sultan, A., Tian, B., Wessinger, C. M., Cohen, L. G. et al. (2000). A positron emission tomographic study of auditory localization in the congenitally blind. *Journal of Neuroscience*, 20, 2664-2672.

Werker, J. F. & Tees, R. C. (2005). Speech perception as a window for understanding plasticity and commitment in language systems of the brain. *Developmental Psychobiology*, 46, 233-251.

Wiesel, T. N. & Hubel, D. H. (1963). Single cell responses in striate cortex of kittens deprived of vision in one eye. *Journal of Neurophysiology*, 26, 1003-1017.

Wittenberg, G. F., Werhahn, K. J., Wassermann, E. M., Herscovitch, P., & Cohen, L. G. (2004). Functional connectivity between somatosensory and visual cortex in early blind humans. *European Journal of Neuroscience*, 20, 1923-1927.

Wikler, K.C., Williams, R.W., Rakic, P. (1990). Photoreceptor mosaic: number and distribution of rods and cones in the rhesus monkey retina. *Journal of Comparative Neurology*, 297, 499-508.

Worley, P. F., Christy, B. A., Nakabeppu, Y., Bhat, R. V., Cole, A. J., & Baraban, J. M. (1991). Constitutive expression of zif268 in neocortex is regulated by synaptic activity. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 88, 5106-5110.

Yabe, T. & Kaga, K. (2005). Sound lateralization test in adolescent blind individuals. *Neuroreport*, 16, 939-942.

Yaka, R., Yinon, U., Rosner, M., & Wollberg, Z. (2000). Pathological and experimentally induced blindness induces auditory activity in the cat primary visual cortex. *Experimental Brain Research*, 131, 144-148.

Zheng, W. & Knudsen, E. I. (1999). Functional selection of adaptive auditory space map by GABAA-mediated inhibition. *Science*, 284, 962-965.

Zwiers, M. P., Van Opstal, A. J., & Cruysberg, J. R. (2001). Two-dimensional sound-localization behavior of early-blind humans. *Experimental Brain Research*, 140, 206-222.

Zwiers, M. P., Van Opstal, A. J., & Paige, G. D. (2003). Plasticity in human sound localization induced by compressed spatial vision. *Nature Neuroscience*, 6, 175-181.