

**UNIVERSITÉ DU QUÉBEC**

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

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

**PAR  
JEAN-FRANÇOIS LE HOUILLIER**

**ÉTUDE DES CONNEXIONS INTERMODALES CHEZ LA SOURIS  
ANOPHTALMIQUE ZRDCT/AN EN DÉVELOPPEMENT**

**FÉVRIER 2007**

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.

## AVANT-PROPOS

Mon arrivée au laboratoire de neuroanatomie fonctionnelle ne s'est pas faite au hasard. Après avoir pris connaissance du type de recherche effectué par le docteur Bronchti, j'ai décidé d'aller le rencontrer dans l'espoir d'y faire mon stage de fin de baccalauréat. Par la suite, j'ai pris la décision de poursuivre en maîtrise puisque, d'une part, mon projet était déjà relativement bien amorcé et, d'autre part, je m'étais bien intégré à l'équipe en tant que souffre-douleur officiel du laboratoire.

Les travaux réalisés dans notre laboratoire depuis les trois dernières années peuvent être comparés à une histoire présentée en trilogie. Le premier volet de l'histoire est d'abord raconté par Mathieu Piché. C'est l'histoire prenante d'une souris mutante aveugle qui arrive à activer son cortex visuel à l'aide d'une stimulation auditive. La seconde partie du récit, continué par Stéphane Robert, nous entraîne dans une aventure épique où l'on découvre que cette souris possède une connexion anormale entre son système auditif et visuel. La dernière partie de l'histoire se termine sur une note dramatique, alors que la souris se remémore son développement pour enfin comprendre l'origine de sa connexion intermodale.

J'ai eu l'occasion de côtoyer plusieurs personnes dynamiques lors de mon passage au laboratoire de neuroanatomie fonctionnelle. Je voudrais d'abord remercier mon directeur de recherche, le docteur Gilles Bronchti, qui a été pour moi autant source de motivation que d'admiration. On ne peut que vanter ses grandes qualités de pédagogue, son dévouement pour ses étudiants, ainsi que son sens critique exceptionnel. Je le remercie aussi d'avoir eu confiance en moi en me donnant un poste d'assistantat en histologie, travail qui me tenait particulièrement à cœur puisque je désirais également toucher à l'enseignement.

Je voudrais également remercier le docteur Mathieu Piché, pour qui j'ai un immense respect et beaucoup d'admiration. Il a été pour moi un très grand modèle de professionnalisme. "Souvent imité, jamais égalé" est un adage qui lui convient à merveille. Un merci tout particulier à mon grand ami Stéphane Robert qui a toujours été là pour moi dans les bons comme dans les mauvais moments. Malgré l'impression constante que j'avais de toujours être « l'ombre de Steph », je réalise aujourd'hui que nous nous complétions le plus simplement du monde, et jamais je n'oublierai la grande complicité que nous avons eue ensemble durant toutes ces années.

Merci à Nicole Chabot, qui a souvent fait office de maman pour moi au laboratoire en m'aidant dans mes manipulations et en tolérant mon humour particulier. Merci à Robin Tremblay, le clown en chef du laboratoire, pour sa contribution humoristique riche en langage douteux et en blagues salées de toutes sortes. Il est la preuve que l'on peut conjuguer efficacement science et humour au quotidien. Merci à Dominic Larochelle pour son aide précieuse dans la complétion de certains résultats de mon projet de recherche.

Un immense merci à madame Rollande Caron, technicienne de l'animalerie, qui s'occupe aussi bien de ses animaux que des étudiants qui passent à l'animalerie. Merci à Marie-Ève Lemire, technicienne dans notre laboratoire, qui était toujours prête à me dépanner lorsque j'avais des questions sur un protocole quelconque.

Comment oublier la dynamique équipe ayant partagée le laboratoire avec nous ? Merci au Dr Guy Massicotte, Caroline Ménard, Marc-André Martel, Dr Christian Patenaude et le reste de leur équipe pour avoir été si sympathique avec moi et pour les nombreux fous rires lors de discussions plus variées les unes que les autres. Merci également au Groupe de Recherche en Neurosciences, sous la direction du Dre Maria-Grazia Martinoli, pour l'ensemble des conférences fort intéressantes et instructives sur divers sujets.

Je voudrais aussi remercier Dr Michel Cyr et Dr Denis Boire pour leurs conseils avisés. Merci à madame Lise Daneault, à la gestion des ressources humaines, pour les nombreuses fois où elle a su me dépanner de manière très efficace. Un grand merci au Dr Pierre Tancrède pour son dévouement à mon égard en tant que responsable aux études de cycles supérieurs.

Mes plus sincères remerciements à ma famille, qui a toujours été présente pour me supporter moralement et surtout financièrement durant tout le long de ma maîtrise. Finalement, j'aimerais dédier les dernières lignes de mes remerciements à la personne la plus importante à mes yeux, ma copine Julie St-Laurent. Ses talents d'infographiste, sa patience et son incroyable dévouement à mon égard auront permis la réalisation de superbes affiches scientifiques ainsi que mon mémoire. Merci pour tout.

## RÉSUMÉ

Durant le développement embryonnaire et postnatal, le système nerveux central a la capacité de modifier l'organisation de ses connexions synaptiques. On retrouve également ces modifications lors d'une coupure avec l'organe récepteur, congénitale ou acquise, d'un de nos sens. Par exemple, plusieurs études ont démontré que le système auditif arrive à coloniser le système visuel chez l'aveugle. Ce mécanisme de compensation est désigné par le terme plasticité intermodale en raison de la réorganisation anatomique et fonctionnelle des voies entre deux ou plusieurs modalités.

Des études réalisées chez certains rongeurs naturellement aveugles (rat-taupes) ou ayant été énucléés à la naissance (hamsters, rats, furets) ont toutes montré la présence d'une connexion commune entre leur système auditif et visuel. Cette connexion, qui relie le collicule inférieur (tronc cérébral auditif) et le corps géniculé latéro-dorsal (thalamus visuel), a également été investiguée lors d'études antérieures chez la souris ZRDCT/An, dans notre laboratoire. Cette souche de souris anophtalmique a la particularité de ne pas développer de rétine ni de voie rétino-géniculée, en raison d'une mutation. Malgré son handicap visuel, elle possède toutes les autres structures visuelles retrouvées chez les souris qui voient normalement. Sachant que cette souris présente elle aussi une connexion entre ces deux systèmes sensoriels à l'âge adulte, nous avons étudié la formation de cette connexion durant son développement.

Le but de notre étude était de déterminer le moment précis où cette connexion se forme dans le cerveau de la souris ZRDC/An en comparaison à une souris voyante et d'investiguer les modèles sur lesquelles une telle connexion pouvait apparaître. Deux hypothèses concernant l'apparition d'une telle connexion ont été mises à l'épreuve. La première supposait que lors du développement de l'innervation des différentes structures sensorielles, les connexions se forment majoritairement de manière précise et que certaines connexions dites ectopiques, normalement éliminées, seraient stabilisées chez la souris

ZRDCT/An. À l'inverse, la deuxième hypothèse proposait plutôt l'apparition de nouvelles synapses entre des structures normalement sans connexion entre elles.

Afin de vérifier nos hypothèses, nous avons inséré des cristaux de traceurs fluorescents lipophiles Dil dans le collicule inférieur des souriceaux ZRDCT/An et de souris contrôles C57Bl/6. Ces traceurs nous ont permis de suivre, par diffusion le long des membranes axonales, la trajectoire suivie par les fibres auditives provenant du collicule inférieur. L'étude de ces fibres marquées à différents âges nous a alors permis de déterminer le moment exact de l'apparition de la connexion intermodale.

Nos résultats indiquent que la connexion entre le collicule inférieur et le corps géniculé latéro-dorsal apparaît de manière significative au 7<sup>ième</sup> jour postnatal chez la souris anophtalmique ZRDCT/An. Il semblerait que l'absence de compétition des afférences permet aux fibres auditives en provenance du collicule inférieur de faire synapse dans le thalamus visuel. Ces résultats sont supportés par le fait que des fibres auditives exploratrices ont également été aperçues dans le thalamus visuel des souris C57Bl/6 vers le 7<sup>ième</sup> jour postnatal, pour ensuite se rétracter et complètement disparaître au 10<sup>ième</sup> jour postnatal. Cependant, il n'est pas exclu que certains mécanismes, tels que des modifications au niveau des molécules de guidage axonal, puissent faciliter la connexion intermodale entre les systèmes auditif et visuel.

**Mots-clés :** anophtalmique, aveugle, connexion ectopique, collicule inférieur, corps géniculé latéro-dorsal, corps géniculé médian, développement, diffusion, Dil, ephrine, fibre exploratrice, guidage axonal, plasticité, reconnexion, système auditif, système visuel, ZRDCT/An.

# TABLE DES MATIÈRES

<b>AVANT-PROPOS .....</b>	<b>ii</b>
<b>RÉSUMÉ.....</b>	<b>v</b>
<b>TABLE DES MATIÈRES.....</b>	<b>vii</b>
<b>LISTE DES TABLEAUX .....</b>	<b>ix</b>
<b>LISTE DES FIGURES .....</b>	<b>x</b>
<b>LISTE DES ABRÉVIATIONS .....</b>	<b>xii</b>
<b>CHAPITRE 1 - INTRODUCTION.....</b>	<b>1</b>
1.1 La souris anophtalmique ZRDCT/An.....	1
1.2 Anatomie et mise en place des systèmes sensoriels .....	3
1.2.1 Généralités.....	3
1.2.2 Anatomie et développement du système auditif .....	5
1.2.3 Anatomie et développement du système visuel.....	9
1.3 Plasticité du système nerveux.....	17
1.3.1 Plasticité intramodale.....	18
1.3.2 Plasticité intermodale.....	18
1.3.3 Mécanismes de la plasticité intermodale .....	22
1.3.4 Périodes critiques de la plasticité du cerveau .....	25
1.4 Développement du système nerveux .....	27
1.4.1 Croissance de l'axone .....	27
1.4.2 Guidage axonal.....	28
1.4.3 Élimination des cellules et des synapses .....	32
1.4.4 Réorganisation synaptique activité-dépendante .....	33
1.5 Objectifs de la recherche .....	35
1.5.1 Objectifs spécifiques.....	36
1.5.2 Importance et originalité de la recherche.....	38
<b>CHAPITRE 2 - MATÉRIEL ET MÉTHODES.....</b>	<b>39</b>
2.1 Rationnel du choix du traceur neuroanatomique.....	39
2.2 Démarche expérimentale de l'étude .....	41
2.2.1 Nombre et types de souris .....	41
2.2.2 Extraction des cerveaux.....	42
2.2.3 Préparation des cerveaux.....	43
2.2.4 Microscopie et prise de photos.....	44



<b>CHAPITRE 3 - RÉSULTATS</b> .....	<b>45</b>
3.1 Souris contrôles .....	45
3.1.1 Site d'insertion du traceur .....	45
3.1.2 Thalamus .....	46
3.1.3 Cortex .....	46
3.2 Souris anophtalmiques .....	52
3.2.1 Site d'insertion du traceur .....	52
3.2.2 Thalamus .....	52
3.2.3 Cortex .....	58
3.3 Apparition de la connexion entre IC et LGNd.....	58
<b>CHAPITRE 4 - DISCUSSION ET CONCLUSION</b> .....	<b>60</b>
Considérations techniques.....	60
Marquage au niveau du noyau LP .....	61
Changements au niveau des guides axonaux .....	61
Établissement tardif de la connexion intermodale IC-LGNd.....	62
Conclusion .....	67
<b>BIBLIOGRAPHIE</b> .....	<b>68</b>
<b>ANNEXE A</b> .....	<b>80</b>
<b>ANNEXE B</b> .....	<b>81</b>

## LISTE DES TABLEAUX

<b>Tableau 2-1</b>	Nombre d'animaux utilisés pour chaque groupe .....	42
<b>Tableau 3-1</b>	Nombre d'animaux montrant la connexion intermodale IC-LGNd.....	59

## LISTE DES FIGURES

<b>Figure 1-1</b>	Organisation somatotopique de la représentation de la surface du corps au niveau du cortex somatosensoriel .....	4
<b>Figure 1-2</b>	Schématisation des voies auditives ascendantes.....	5
<b>Figure 1-3</b>	Coupe frontale au niveau du collicule inférieur chez la souris.....	6
<b>Figure 1-4</b>	Coupe frontale au niveau du corps géniculé médian chez la souris.....	7
<b>Figure 1-5</b>	Schématisation des voies visuelles ascendantes .....	10
<b>Figure 1-6</b>	Planche anatomique de la face dorsale du tronc cérébral .....	12
<b>Figure 1-7</b>	Coupe frontale au niveau du corps géniculé latéro-dorsal et du noyau latéro-postérieur chez la souris.....	14
<b>Figure 1-8</b>	Voie rétino-thalamo-corticale normale chez le hamster normal et « reconnecté » .....	20
<b>Figure 1-9</b>	Facteurs hypothétiques affectant la quantité de projections rétiniennes anormales vers le MGN.....	21
<b>Figure 1-10</b>	Mécanismes proposés de la plasticité intermodale.....	24
<b>Figure 1-11</b>	Fasciculation des axones et cône de croissance.....	27
<b>Figure 1-12</b>	Les principaux guides axonaux .....	29
<b>Figure 1-13</b>	Rôle des gradients d'ephrines A2/A5 et EphA5 dans les voies rétino-tectale et rétino-géniculée.....	31
<b>Figure 1-14</b>	Processus d'élimination synaptique .....	33
<b>Figure 1-15</b>	Modèle de plasticité des synapses de Hebb.....	35
<b>Figure 1-16</b>	Schématisation de la problématique de cette étude .....	36
<b>Figure 1-17</b>	Hypothèses de recherche des bases sur lesquelles la connexion IC-LGNd s'établit chez la souris ZRDCT/An.....	37
<b>Figure 2-1</b>	Structure chimique du Dil .....	40
<b>Figure 2-2</b>	Photographie d'un cerveau de souriceau marqué au Dil .....	43

<b>Figure 3-1</b>	Microphotographies du marquage des fibres auditives d'une souris voyante C57Bl/6 à P5.....	47
<b>Figure 3-2</b>	Microphotographies du marquage des fibres auditives d'une souris voyante C57Bl/6 à P6.....	48
<b>Figure 3-3</b>	Microphotographies du marquage des fibres auditives d'une souris voyante C57Bl/6 à P7.....	49
<b>Figure 3-4</b>	Microphotographies du marquage des fibres auditives d'une souris voyante C57Bl/6 à P8.....	50
<b>Figure 3-5</b>	Microphotographies du marquage des fibres auditives d'une souris voyante C57Bl/6 à P10.....	51
<b>Figure 3-6</b>	Microphotographies du marquage des fibres auditives d'une souris anophtalmique ZRDCT/An à P5.....	53
<b>Figure 3-7</b>	Microphotographies du marquage des fibres auditives d'une souris anophtalmique ZRDCT/An à P6.....	54
<b>Figure 3-8</b>	Microphotographies du marquage des fibres auditives d'une souris anophtalmique ZRDCT/An à P7.....	55
<b>Figure 3-9</b>	Microphotographies du marquage des fibres auditives d'une souris anophtalmique ZRDCT/An à P8.....	56
<b>Figure 3-10</b>	Microphotographies du marquage des fibres auditives d'une souris anophtalmique ZRDCT/An à P10.....	57
<b>Figure 3-11</b>	Microphotographie d'une fibre marquée au Dil dans A1 chez une souris ZRDCT/An à P10.....	58
<b>Figure 3-12</b>	Schématisation des connexions sensorielles chez la souris voyante et chez la souris anophtalmique ZRDCT/An.....	59

## LISTE DES ABRÉVIATIONS

A1	Cortex auditif primaire
APT	Noyau prétectal antérieur
BDNF	Facteur neurotrophique dérivé du cerveau
CAMs	Molécules d'adhésion cellulaire
CIC	Noyau central du collicule inférieur
DiA	4-(4-(dihexadecylamino)styryl)-N-methylpyridinium iodide
DiD	1,1'-dioctadecyl-3,3,3',3'-tetramethylindodicarbocyanine perchlorate
Dil	1,1'-dioctadecyl-3,3,3',3'-tetramethyl-indo-carbocyanine perchlorate
DiO	3,3'-dioctadecyloxacarbocyanine perchlorate
Eph	Récepteur tyrosine kinase des ephrines
IC	Collicule inférieur
I.P.	Intra péritonéal
LGN	Corps géniculé latéral
LGNd	Corps géniculé latéro-dorsal
LGNv	Corps géniculé latéro-ventral
LL	Faisceau lemnisque latéral
LP	Noyau latéro-postérieur du thalamus
LTD	Dépression à long terme
LTP	Potentialisation à long terme
MGN	Corps géniculé médian
MGNd	Corps géniculé médian dorsal
MGNv	Corps géniculé médian ventral
NGF	Facteur de croissance du nerf
OPT	Noyau prétectal olivaire
PAF	Paraformaldehyde
PB	Tampon phosphate
PBS	Tampon phosphate salin
PTP	Noyau prétectal postérieur
RGCs	Cellules ganglionnaires rétiniennes
SC	Collicule supérieur
V1	Cortex visuel primaire
V2	Cortex visuel secondaire

# CHAPITRE 1

## INTRODUCTION

Il est maintenant bien connu que le cerveau a une capacité d'adaptation et de réorganisation extraordinaire. De nombreuses études ont confirmé le fait que les aveugles ont effectivement une capacité de discrimination supérieure à celles des individus normaux dans certaines tâches auditives ou tactiles (Sadato et al., 1996; Lessard et al., 1998; Goldreich & Kanics, 2003). Plusieurs modèles animaux ont fait l'objet de recherche sur le système visuel, permettant à la communauté scientifique d'avoir une meilleure compréhension des mécanismes inhérents à de tels phénomènes entre modalités sensorielles. Dans le présent projet, nous investiguons l'apparition d'une connexion reliant le système auditif au système visuel chez la souris anophtalmique ZRDCT/An en développement.

### 1.1 La souris anophtalmique ZRDCT/An

La souris mutante de souche ZRDCT/An, de par son phénotype très particulier, constitue un modèle animal équivalent à 2.4% des patients anophtalmiques humains, les autres cas étant dû à d'autres mutations ou mécanismes épigénétiques (Kohn et al., 1988; Voronina et al., 2004). Découverte au tout début des années 40, cette souris a la particularité de ne jamais développer de globe oculaire, de rétine et de voie rétino-géniculée. L'orbite oculaire est présente, mais est entièrement occupée par une large glande lacrymale (Chase & Chase, 1941).

La mutation responsable de l'anophtalmie de la souris ZRDCT/An porte le nom *ey1* et s'effectue par le remplacement de la méthionine<sup>10</sup> par une leucine<sup>10</sup> (M10L), affectant ainsi la traduction d'un codon de départ AUG au niveau du gène *Rx/rax* du chromosome 18. Il en résulte alors une réduction de production de la protéine Rx, essentielle lors de la formation précoce de la rétine (Tucker et al., 2005). Bien que la souris ZRDCT/An ait un génotype *ey1* homozygote, la pénétrance (pourcentage de l'expressivité du gène) de la mutation est parfois

incomplète. De ce fait, environ 10% des souris de cette souche mutante ont un ou même parfois deux yeux microphthalmiques, souvent avec colobomes. Contrairement à leurs semblables, il est toutefois possible d'observer chez ces rares cas la présence de nerfs optiques (Chase & Chase, 1941; Faradji et al., 1980).

D'un point de vue neuroanatomique, il est intéressant de constater que, malgré l'absence de rétine et de voie rétino-géniculée, la souris anophtalmique possède les principaux centres visuels au niveau thalamique et cortical. Ces structures visuelles ayant été préservées présentent également un schéma de connexion normal entre eux mais sont cependant réduites en comparaison avec celles des souris possédant un système visuel normalement constitué (Chase, 1945; Godement et al., 1979; Kaiserman-Abramov et al., 1980).

Il a récemment été montré dans notre laboratoire, par la technique de traçage neuronal avec du dextran-biotine, qu'une connexion aberrante existe entre une structure auditive du tronc cérébral (le collicule inférieur, IC) et le thalamus visuel (le corps géniculé latéro-dorsal, LGNd) de la souris ZRDCT/An adulte (Piché et al., 2004). On a également pu montrer, à l'aide de la technique du c-Fos, que cette connexion anormale est fonctionnelle, c'est-à-dire qu'elle permet l'activation du LGNd et du cortex visuel lors d'une stimulation auditive. Il n'est toutefois pas exclus qu'une partie de l'activité enregistrée provienne d'une connexion directe entre cortex auditif primaire et cortex visuel primaire chez la souris anophtalmique, tel que montré très récemment chez l'opposum énucléé bilatéralement (Karlen et al., 2006).

Ce n'est pas la première fois que la connexion fonctionnelle IC-LGNd est répertoriée chez un animal aveugle. Cette connexion a aussi été montrée chez le rat-taupe *Nannospalax ehrenbergi*, un rongeur souterrain devenu aveugle au cours d'un long processus évolutif (Doron & Wollberg, 1994) ainsi que chez le hamster adulte énucléé à la naissance (Izraeli et al., 2002). Cette connexion

n'est pas seulement l'apanage de quelques rongeurs puisqu'elle a aussi été montrée chez la taupe japonaise adulte du genre *Mogera* (Kudo, 1997).

La connexion entre IC et LGNd sera un élément central et récurrent au cours de ce texte. Afin de mieux comprendre l'importance globale de ce lien anormal et pourtant bien présent entre les systèmes auditif et visuel de la souris mutante, il est important de bien comprendre certains concepts inhérents au développement du système nerveux et à la neuroplasticité. Mais avant d'aborder ces thèmes en détail, il est d'abord nécessaire de présenter les structures et les voies des systèmes auditif et visuel.

## **1.2 Anatomie et mise en place des systèmes sensoriels**

### **1.2.1 Généralités**

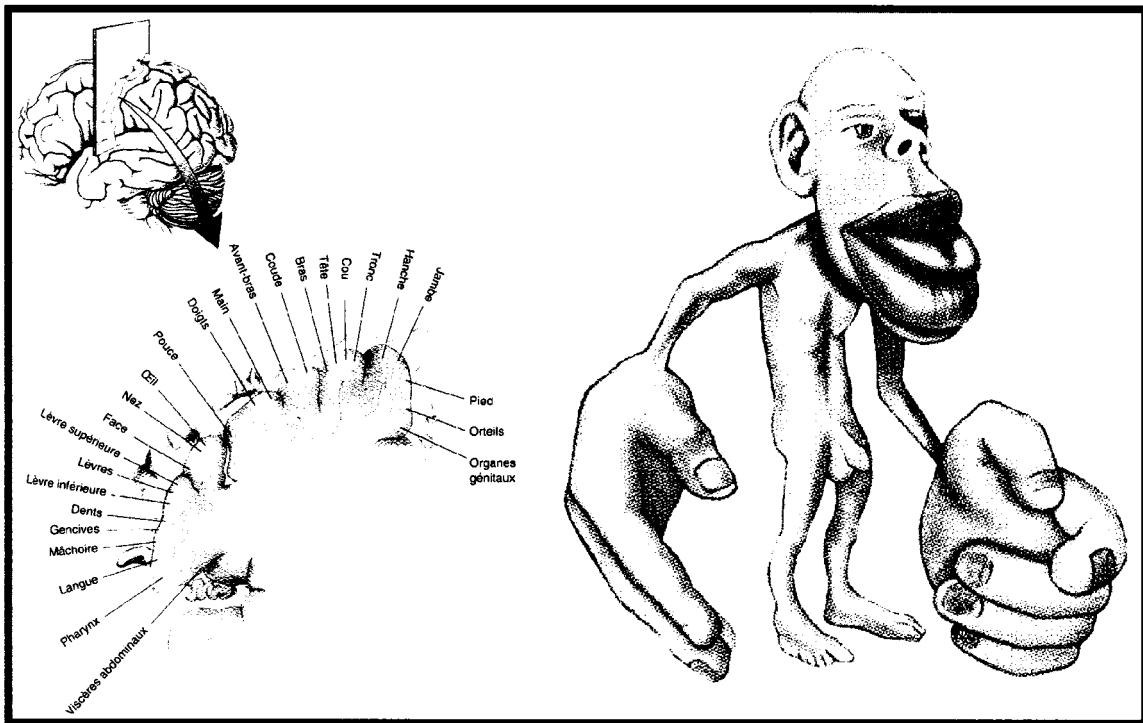
Dans le système nerveux des mammifères, l'ensemble des modalités sensorielles, de l'organe récepteur jusqu'au cortex cérébral, sont ségréguées (à l'exception de quelques centres polymodaux dont nous reparlerons plus loin). Pour chaque modalité, les faisceaux ascendants empruntent des voies indépendantes les unes des autres et passent par des noyaux différents. Avant d'arriver au cortex, l'information sensorielle passe par le thalamus, un important relais composé de plusieurs parties traitant diverses modalités. Ultimement, l'information sensorielle, qu'elle soit de nature auditive ou visuelle, aboutit dans le cortex correspondant, dans ce cas-ci le cortex temporal pour l'audition et occipital pour la vision. Chez l'humain, l'ensemble du néocortex, dont font partie les cortex sensoriels, est constitué de six couches cytoarchitectoniques facilement identifiables en microscopie optique. L'information sensorielle ascendante ne suit pas un seul et unique chemin pour se rendre à destination. On retrouve plusieurs voies parallèles, dites redondantes, tant dans le système auditif que visuel.

L'information sensorielle est organisée de manière topographique, sous forme de cartes, à tous les niveaux des voies ascendantes de chaque modalité. Si



nous prenons l'exemple du système somesthésique, l'homonculus de Penfield (Penfield & Rasmussen, 1950) est la représentation du corps sur le cortex somesthésique primaire où chaque partie a une surface d'une taille relative à son importance (Fig. 1-1).

Pour la vision et l'audition, il existe une rétinotopie et une tonotopie, qui sont respectivement les cartes de la rétine (champ visuel) et de la cochlée (fréquences des tonalités). On retrouve ces représentations dans tous les noyaux sensoriels principaux. Il est important de mentionner que ces cartes sont modifiables et s'adaptent aux changements de la périphérie.



**Figure 1-1 Organisation somatotopique de la représentation de la surface du corps au niveau du cortex somatosensoriel.** Tiré et modifié de Neurosciences : À la découverte du cerveau (Bear et al., 2002).

### 1.2.2 Anatomie et développement du système auditif

Le traitement de l'information auditive est extrêmement complexe. En effet, l'oreille interne mesure un grand nombre de paramètres sonores dont la forme de l'onde, sa phase, sa fréquence et son intensité. Les informations en provenance d'une oreille empruntent majoritairement le côté controlatéral (80% de l'information), mais voyagent également du côté ipsilatéral (20% de l'information). Des commissures existent à tous les niveaux, à l'exception du thalamus, afin d'assurer la communication entre les structures auditives bilatéralement. La figure 1-2 illustre la disposition du système auditif de la cochlée jusqu'au cortex auditif.

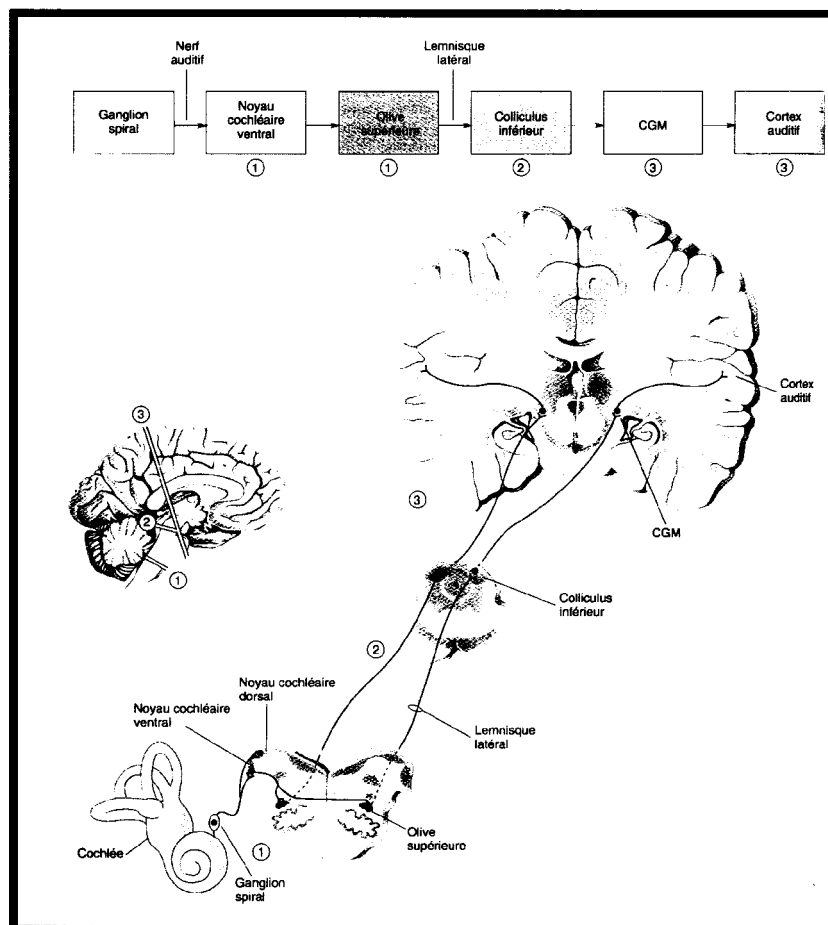
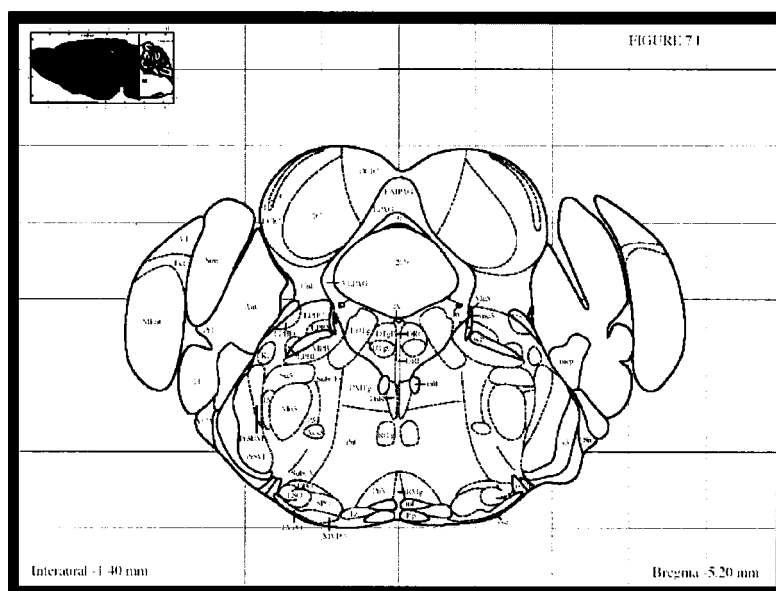


Figure 1-2 Schématisation des voies auditives ascendantes. Tiré de Neurosciences : À la découverte du cerveau (Bear et al., 2002).

La cochlée, via l'organe de Corti, reçoit l'information auditive et la redirige par le nerf auditif vers les noyaux cochléaires situés au niveau du pont. De ces noyaux, l'influx auditif est transporté par le lemnisque latéral (LL) jusqu'au collicule inférieur (IC), un important relais auditif situé dans le toit du mésencéphale caudal (Fig. 1-3).

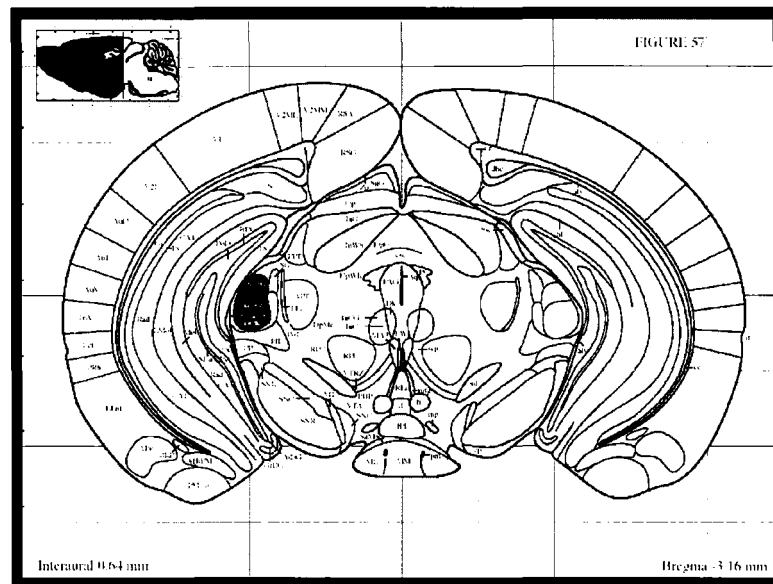
Chez les rongeurs, on divise généralement le IC en trois portions distinctes, soit le noyau central (CIC), le cortex externe et le cortex dorsal. En passant par le brachium du IC, CIC envoie des projections organisées de manière tonotopique vers le corps géniculé médian ventral (MGNv), le principal centre auditif du thalamus. Le cortex dorsal du collicule inférieur envoie, quant à lui, des projections non-tonotopiques vers le corps géniculé médian dorsal (MGNd), le noyau auditif secondaire du thalamus (Druga & Syka, 1984; Payne, 1992).



**Figure 1-3 Coupe frontale au niveau du collicule inférieur chez la souris.**

Tiré et modifié de l'atlas *The Mouse Brain in Stereotaxic Coordinates* (Paxinos & Franklin, 2001).

Le cortex externe du IC est en contact avec des structures ne possédant pas de vocation purement auditive. Il a été montré chez le rat que cette région reçoit des projections des couches auditives du collicule supérieur. Elle envoie également des projections dans les noyaux de la colonne dorsale, relais sensoriels du système somesthésique (Coleman & Clerici, 1987). Il est important de mentionner que IC reçoit aussi de nombreuses afférences en provenance d'autres noyaux du tronc ainsi que du cortex auditif.



**Figure 1-4 Coupe frontale au niveau du corps géniculé médian chez la souris.** Tiré et modifié de l'atlas *The Mouse Brain in Stereotaxic Coordinates* (Paxinos & Franklin, 2001).

Après avoir franchi le IC, l'influx auditif poursuit sa route vers le corps géniculé médian (MGN), un relais thalamique obligatoire pour les fibres auditives primaires et secondaires (Fig. 1-4). Le cortex temporal est la cible terminale des influx auditifs ascendants. On y trouve le cortex auditif primaire (A1) recevant les projections auditives primaires du MGNv. Le cortex A1, comme toutes les structures faisant partie de la voie auditive primaire, reproduit le patron tonotopique de la cochlée. Les zones corticales connexes à A1 sont des aires

auditives secondaires. Ces dernières reçoivent plutôt des projections auditives secondaires venant du MGNd.

La mise en place des différents relais s'effectue au stade embryonnaire. Chez le rat, la connexion entre les noyaux cochléaires et IC ne se développerait qu'à partir du dix-huitième jour embryonnaire (E18; E0 étant la période de 24 heures suivant la conception) (Kandler & Friauf, 1993). Cette même projection s'installe dès E16.5 chez la souris (Gurung et Fritzs, 2004) en supposant que le développement du système auditif de la souris devance d'environ deux jours celui du rat (Fritzs & Nichols, 1993). Les projections entre IC et MGN, ainsi que celles entre MGN et le cortex auditif, s'observent quant à elles dès E13.5 chez la souris (Gurung & Fritzs, 2004). Les connexions auditives colliculo-thalamiques et thalamo-corticales se développent donc avant même que IC reçoive des projections en provenance des noyaux cochléaires. On sait aujourd'hui que les connexions auditives centrales chez la souris se développent avant même qu'elles ne traitent l'information sensorielle vers le septième jour postnatal (P7; P0 étant la période de 24 heures suivant la naissance). Ainsi, malgré le fait que les connexions entre les différents relais auditifs soient déjà en place à la naissance, elles ne seront fonctionnelles qu'à P7.

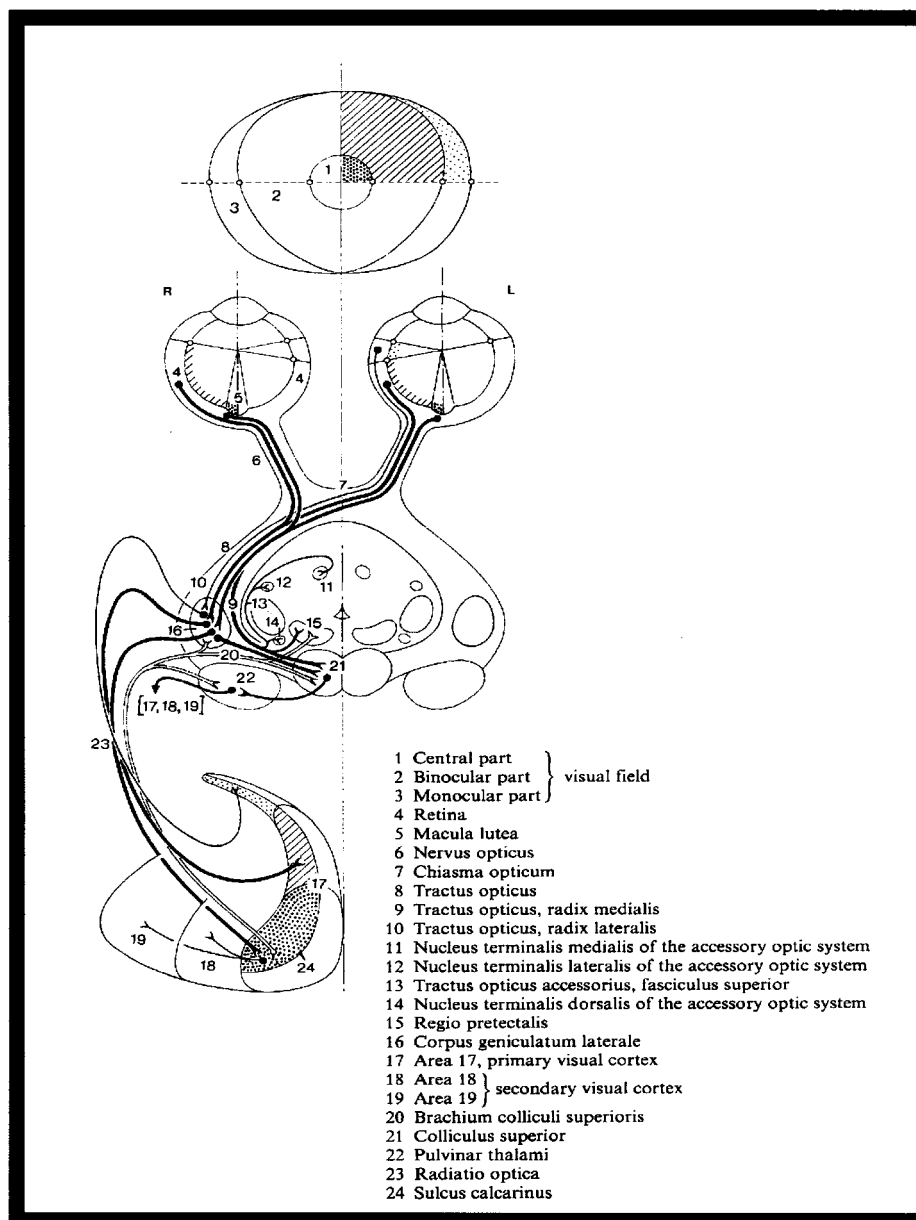
Ces observations suggèrent que les projections de IC et du MGN sont topographiquement spécifiques dès le départ et que seul un léger ajustement local peut s'effectuer chez le nouveau-né, avant ou après une mise en place fonctionnelle de l'audition. Cela nous amène à penser que l'émergence des connexions auditives, et peut-être même leur organisation tonotopique, seraient indépendantes des stimuli auditifs (Cant, 1988). Par contre, l'organisation fine des afférences peut dépendre de l'activité sonore chez le nouveau-né (Gabriele et al., 2000; Leake et al., 2002; Rubel & Fritzs, 2002), aussi bien que de la présence d'une quantité suffisante d'afférences (Fritzs et al., 1997).

### 1.2.3 Anatomie et développement du système visuel

La rétine, un mince feuillet de tissu neural tapissant le globe oculaire, capte la lumière pour ensuite la convertir en signaux électriques. Tout comme l'audition traite l'information selon un patron tonotopique, l'information visuelle est organisée selon un patron rétinotopique qui sera recréé dans les noyaux visuels tout au long des voies ascendantes. La distribution des photorécepteurs à l'intérieur de la rétine n'est pas uniforme et leur répartition varie considérablement selon l'espèce. Cela reflète, en quelque sorte, l'importance relative des différents éléments de l'environnement pour un organisme particulier. Les primates (humains inclusivement), par exemple, possèdent sur la région centrale de la rétine une zone spécialisée, la fovéa, où la densité de photorécepteurs est nettement supérieure au reste de la rétine. De plus, la majorité des cellules ganglionnaires rétiniennes (RGCs), les cellules nerveuses qui composent le nerf optique, projettent surtout au cortex visuel via un relais thalamique alors qu'une minorité seulement projette vers le SC. Chez les rongeurs, par contre, la rétine ne comporte pas de fovéa et la majorité des RGCs projettent vers SC plutôt que vers le cortex visuel.

Ces deux cas permettent de mettre en relief les caractéristiques visuelles pour ces deux ordres de mammifères différents. Le système visuel du primate, majoritairement dédié à la vision précise, le renseigne surtout sur la nature (couleur, forme, texture) des objets qui l'entourent alors que le système visuel du rongeur le renseigne plutôt sur les changements qui se produisent dans son environnement visuel.

Le nombre de noyaux recevant des projections directes de la rétine est peu élevé quand on le compare au nombre de structures à fonction visuelle dans le cerveau. Certains de ces noyaux récipiendaires agissent plutôt comme centres de relais (LGNd), alors que d'autres intègrent directement l'information visuelle qu'ils reçoivent (SC). Il est possible de distinguer plusieurs voies visuelles d'importances variables partant de la rétine (Fig. 1-5).



**Figure 1-5 Schématisation des voies visuelles ascendantes.** Tiré de Human Central Nervous System (Nieuwenhuys et al., 1988).

La rétine projette d'une part vers le préteectum, situé au pôle rostral du mésencéphale. Cette structure, souvent considérée comme une entité unique, contient plusieurs groupes de noyaux distincts : le noyau prétectal olivaire (OPT), les noyaux prétectaux antérieur et postérieur (APT et PTP), le noyau prétectal médian et le noyau du tractus optique. Chez le rat, par exemple, le

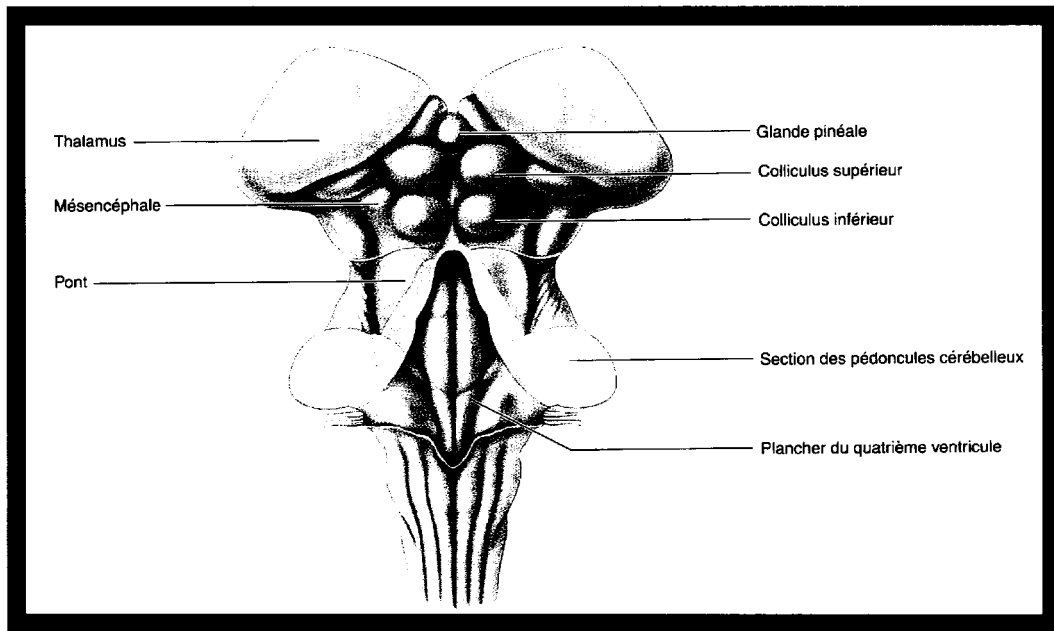
préteetum est la cible d'environ 13% des axones rétino-fuges (Toga & Collins, 1981). La majorité de ces projections sont controlatérales mais certaines RGCs projettent aux PTO et PTP bilatéraux. Le noyau du tractus optique reçoit uniquement des projections controlatérales, alors que APT ne reçoit aucune afférence rétinienne directe.

D'autre part, la rétine des mammifères projette également vers trois petits noyaux positionnés bilatéralement le long des surfaces ventrale et latérale du mésencéphale. Ces noyaux forment le système optique accessoire. Ce dernier, ainsi que le préteetum, sont tous deux importants dans le contrôle des mouvements oculaires et dans la stabilisation du regard sur une cible.

Chez les rongeurs, la voie visuelle la plus importante en terme d'afférences (au moins 90%) est la voie rétinotectale (Linden & Perry, 1983). Compte tenu de l'importance de cette voie, il est clair que les autres voies visuelles se composent majoritairement de collatérales des axones rétinotectaux. Le terme tectum fait référence au collicule supérieur, une structure laminaire mésencéphalique bilatéralisé qui forme, avec IC, la lame quadrijumelle (Fig 1-6). Les couches superficielles représentent le monde visuel selon une carte rétinotopique simple. La vision nasale est représentée dans la portion caudale du SC alors que la vision temporale se retrouve dans sa portion rostrale.

Le tectum visuel envoie des projections en direction de structures thalamiques telles que le corps géniculé latéro-ventral (LGNv), LGNd, le noyau latéro-postérieur (LP) (Mason & Groos, 1981; Donnelly et al., 1983; Mackay-Sim et al., 1983; Reese, 1984), ainsi qu'aux différents noyaux préteetaux (Taylor et al., 1986).





**Figure 1-6** Planche anatomique de la face dorsale du tronc cérébral humain. *On peut y observer l'emplacement des collicules inférieures et supérieures.* Tiré de Atlas of Human Anatomy (Wolf-Heidegger, 2000).

Des connexions intracolliculaires entre les couches superficielles (I, II et III) et profondes (les couches motrices IV, V, VI et VII) sont également présentes chez les rongeurs (Bickford & Hall, 1989). Le rôle du SC ne se limite pas au simple déclenchement de mouvements oculaires (comme la saccade). On sait qu'il est impliqué dans les réactions d'évitements (Redgrave & Dean, 1981), les mouvements d'orientation vers une nouvelle cible (Goodale et al., 1978) et dans l'attention visuelle (Wurtz et al., 1982; Sprague, 1991). On parle souvent du collicule supérieur comme d'une structure polymodale puisque, en plus d'avoir plusieurs fonctions liées à la vision et la motilité de l'œil, certaines de ses couches intermédiaires traitent de l'information auditive et contiennent également des cartes topographiques somatosensorielles (Meredith & Stein, 1986).

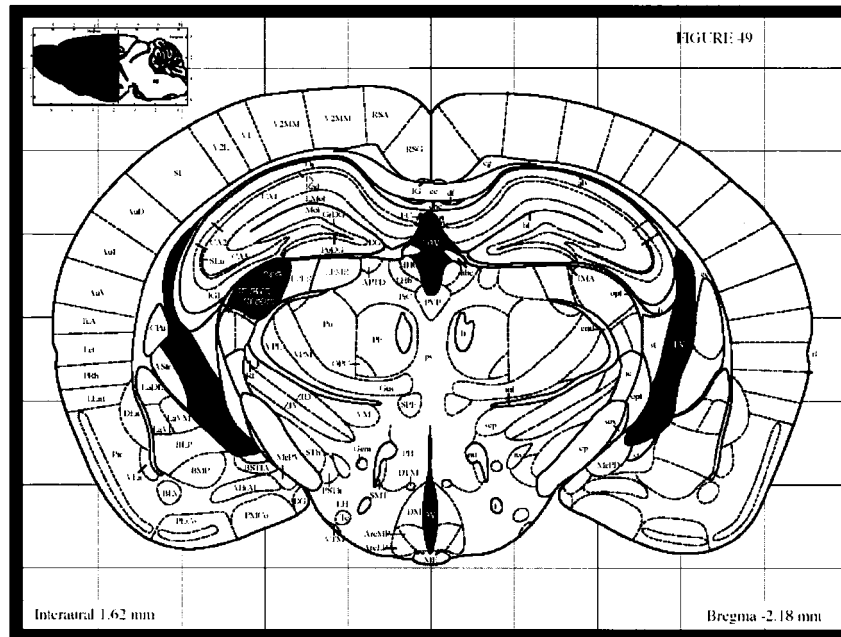
La rétine envoie également des projections vers le noyau latéro-postérieur (LP), un noyau du thalamus visuel secondaire chez les rongeurs (Ling et al., 1997).

Ce noyau constitue en quelque sorte l'équivalent du pulvinar chez quelques rongeurs dont le rat, le hamster et la souris (Lyon & al., 2003). Son rôle précis dans le système visuel est encore relativement indéterminé. On sait toutefois que ce noyau est polymodal puisqu'il reçoit également des afférences somatosensorielles (Mooney & Rhoades, 1983; Negyessy et al., 2002). Il reçoit surtout des afférences du SC et ses axones projettent surtout vers le cortex visuel secondaire (V2).

La dernière voie visuelle est la voie rétino-géniculo-corticale, très importante chez l'humain, mais tout de même bien présente chez les rongeurs. L'information visuelle partant de la rétine emprunte le nerf optique jusqu'au chiasme optique, où l'information visuelle est partiellement croisée. L'information visuelle aboutit au thalamus visuel, plus précisément au niveau du LGNd (Fig. 1-7). Chez le primate, la vision nasale subit une décussation vers le côté opposé au niveau du chiasme optique, mais la vision temporale reste du même côté et l'influx poursuit sa route à travers le tractus optique. Le principe naso-temporal n'est pas aussi simple chez les espèces non primates; chez ces derniers, les axones en route vers le chiasme optique tendent à perdre leur organisation rétinotopique au profit d'une organisation plutôt chronotopique, où les fibres s'organisent de manière différente selon l'âge, pour ensuite retrouver et conserver leur organisation rétinotopique au niveau du chiasme optique (Guillery et al., 1995).

Le corps géniculé latéral, noyau principal du thalamus visuel, se subdivise en trois portions distinctes: LGNd, la couche cellulaire intergéniculée et LGNv. La zone située entre LGNd et LGNv est désignée par le terme feuillet intergéniculé. Cette couche de cellules reçoit des afférences directes de la rétine (Moore & Card, 1994). Le faisceau géniculo-hypothalamique émergeant de cette zone est grandement impliqué dans les rythmes circadiens (Harrington & Russak, 1989). Une autre connexion, cette fois-ci entre l'intergéniculé et la glande pinéale, a aussi été montrée chez le gerbil (Mikkelsen et al., 1991) et le rat (Mikkelsen &

Moller, 1990). Cette voie serait probablement la cause de l'influence de l'activité rétinienne sur la production de mélatonine.



**Figure 1-7 Coupe frontale au niveau du corps géniculé latéro-dorsal et du noyau latéro-postérieur chez la souris. La portion colorée en rouge correspond au LGNd tandis que LP est coloré en vert.** Tiré et modifié de l'atlas *The Mouse Brain in Stereotaxic Coordinates* (Paxinos & Franklin, 2001).

Le LGNd constitue la principale structure thalamique transférant l'information de la rétine au cortex visuel. Contrairement aux neurones du SC ou du cortex visuel, les neurones du LGNd reproduisent fidèlement les informations reçues de la rétine (Hubel & Wiesel, 1961). Le LGNd n'est pas qu'un simple relais; il est suggéré que l'information visuelle y est régularisée et renforcée avant d'atteindre le cortex (Steriade & Llinas, 1988). Il a été montré que seulement 10-20% des synapses retrouvées sur les neurones de relais thalamique sont d'origine rétinienne. La moitié de ces synapses proviennent des cellules de la couche IV du cortex visuel; un tiers a comme origine des interneurons inhibiteurs ou GABAergiques. La plupart des synapses restantes proviennent de

sites cholinergiques, noradrénergiques et sérotoninergiques (Sherman & Koch, 1986).

Chez l'humain, LGNd est constitué de six couches cellulaires distinctes. Les axones de l'œil ipsilatéral atteignent les couches 2, 3 et 5, alors que les axones de l'œil controlatéral innervent plutôt les couches 1, 4 et 6. Les couches 1 et 2, appelées magnocellulaires, sont composées de cellules de grande taille et innervées par des cellules ganglionnaires de type Y. Les couches 3 à 6 sont quant à elles dites parvocellulaires, c'est-à-dire faites de cellules de petite taille recevant les projections des cellules ganglionnaires de type X. Le LGNd reçoit certes des projections en provenance de la rétine, mais la plupart de ses afférences proviennent en fait de la couche VI de V1, tant chez la souris (Kaiserman-Abramof et al., 1980) que chez l'homme (Sillito & Jones, 2002; Andolina et al., 2007). Cette voie corticofuge exercerait une rétroaction au niveau du thalamus visuel et entraînerait une modification de l'information visuelle reçue. L'information visuelle quitte ensuite le thalamus visuel et se dirige vers le cortex visuel en empruntant les radiations optiques.

Le cortex visuel, aussi appelé cortex strié, est divisé en six couches cytoarchitectoniques semblables chez les différents mammifères, du rongeur au macaque. Les axones thalamocorticaux en provenance du LGNd se terminent principalement au niveau de la couche IV de V1, tant chez la souris (Simmons et al., 1982) que chez le singe (Rezak & Benevento, 1979). Chez la plupart des mammifères, la couche I reçoit surtout des projections cortico-corticales, alors que les couches II et III reçoivent surtout des afférences verticales de la couche IV. Les projections corticales destinées aux autres zones corticales et sous-corticales s'effectuent majoritairement par l'entremise des cellules pyramidales des couches III (projections intracorticales seulement), V et VI.

Les axones traversant le corps calleux pour se rendre au cortex controlatéral proviennent des couches supragranulaires II et III ainsi que des couches

infragranulaires V et VI, tel que montré chez le chat et le rat (Innocenti & Caminiti, 1980; Olavarria & Sluyters, 1983). Les projections partant de la couche V et VI ont également comme cibles des structures sensorielles thalamiques et, de plus, la presque totalité des influx nerveux se dirigeant vers les centres moteurs de la moelle épinière et du tronc cérébral proviennent des cellules de la couche V (Deschenes & al., 1994). L'information visuelle atteignant V1 est expédiée vers les aires extrastriées qui gèreront les différentes fonctions de l'interprétation visuelle telles que l'analyse des couleurs, des formes, des reliefs et des mouvements.

Les études portant sur l'ontogenèse des cellules rétiniennes chez plusieurs mammifères (souris, rats, chats, lapins et singes) ont révélé des similitudes intéressantes entre les espèces. Il semblerait que le développement des cellules rétiniennes de tous ces animaux soit régit par une séquence cytogénique en deux vagues (Carter-Dawson & LeVail, 1979; Zimmerman et al., 1988; Reichenbach & Robinson, 1995). La première vague entraîne d'abord la formation des cônes, des cellules horizontales, ganglionnaires et amacrines. En fin de première vague, les bâtonnets sont également formés. La seconde vague mène ensuite à la formation des bâtonnets, des cellules bipolaires et enfin des cellules de Müller.

Chez la souris et le rat, les RGCs sont générées très tôt dans la rétine, soit entre E10 et E15. À partir de E14, ces cellules émettent déjà des projections se dirigeant vers les différents centres visuels (Horsburgh & Sefton, 1986). Le SC se forme à E10.5 et E12.5 chez la souris et le rat, respectivement. Il recevra les projections de la rétine à partir de E14.5 et E15.5 chez ces deux espèces (Lund & Bunt, 1976).

La lamination des couches superficielles du SC ne commencera que vers le jour de la naissance pour la souris et à P3 chez le rat (Robinson & Dreher, 1990). Ce noyau ne recevra des projections précises du cortex visuel que vers la première

semaine post-natale chez les deux espèces (Thong & Dreher, 1986; Robinson & Dreher, 1990). La formation du LGNd se produit entre E10.5 et 12.5 chez la souris et E13.5 à 15.5 chez le rat. Les fibres rétiniennes atteignent ce noyau dès E14 chez le rat et entre E14 et E16 chez la souris (Lund et al., 1973; Godement et al., 1984; Edwards et al., 1986).

Les projections géniculo-corticales atteignent la couche IV du cortex visuel à P4 chez le rat et P0 chez la souris, alors que la projection géniculo-corticale se produit à E14 chez le hamster (Miller et al., 1993), soit deux jours avant la naissance.

La formation du cortex s'étale sur plusieurs jours puisque les couches I à VI ne se forment pas toutes simultanément. Prenons la souris comme exemple. C'est d'abord la couche I qui se forme très tôt au cours du développement. Les couches VI et V se forment ensuite de E11 à E13 et E12 à E15, respectivement. Les couches II, III et IV se formeront quant à elles de E15 à E17. Des projections corticofuges atteindront LGNd à P0 (Robinson & Dreher, 1990).

### **1.3 Plasticité du système nerveux**

Bien que la structure du cerveau soit largement définie par des facteurs génétiques, elle est également modulée par différents facteurs épigénétiques tels que l'expérience lié à l'apprentissage et l'environnement dans lequel l'individu évolue. Le système nerveux possède ainsi la capacité de modifier son organisation et de s'adapter à sa périphérie. Ce phénomène porte le nom de neuroplasticité ou plasticité cérébrale.

Cette réorganisation peut survenir à la suite de différents évènements, incluant le développement et la maturation normale d'un organisme, l'apprentissage, une lésion du système nerveux ou une déprivation sensorielle, comme la perte de la vision par exemple. Les subtilités de cette plasticité varient donc grandement dans le système nerveux; elles donnent naissance à des altérations très

spécifiques selon la nature de l'expérience, sa période de survenue et les systèmes impliqués (Bavelier & Neville, 2002). Ces changements peuvent se produire dans une même modalité ou entre plusieurs modalités différentes.

### **1.3.1 Plasticité intramodale**

Une déprivation sensorielle peut résulter d'une anomalie du développement ou encore d'un traumatisme, comme par exemple une déafférentation de la périphérie ou l'exérèse d'un organe sensoriel (Bavelier & Neville, 2002). Suite à une telle déprivation, les zones des cartes topographiques ne recevant plus d'influx nerveux sont alors colonisées par les fibres nerveuses des zones adjacentes toujours innervées.

Une étude menée sur le chat nous offre un exemple concret de plasticité intramodale. À l'aide d'un faisceau laser, des lésions rétiniennes circonscrites et limitées ont été effectuées dans l'œil de plusieurs chats. De 2 à 24 semaines plus tard, des données obtenues par électrophysiologie au niveau de l'aire visuelle primaire montrent une réorganisation topographique étendue au niveau de la projection de la zone ayant subi une lésion (Calford et al., 2000).

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

### **1.3.2 Plasticité intermodale**

Nous avons précédemment vu que les voies sensorielles, pour chaque modalité, sont séparées. Ces voies peuvent cependant être court-circuitées ou

modifiées, particulièrement dans les cas de déprivations sensorielles, pour ainsi rendre possible la communication entre deux de ces systèmes. Il est ici question de plasticité intermodale, qui peut être définie comme l'ensemble des modifications anatomiques et fonctionnelles avantageant une modalité sensorielle au profit d'une autre.

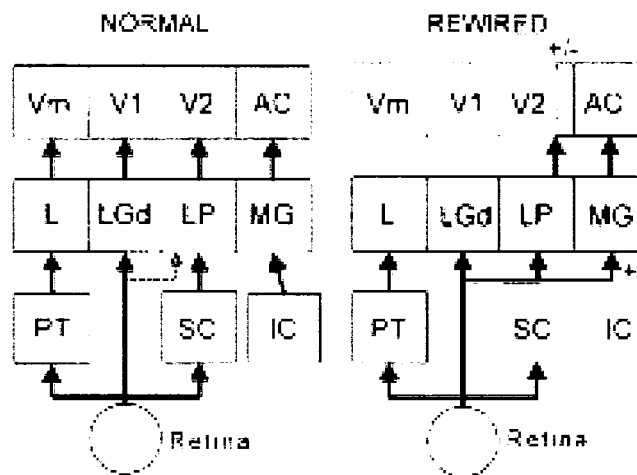
La déafférentation visuelle des aveugles, par exemple, entraîne l'utilisation de leur cortex visuel pour des tâches auditives (Weeks et al., 2000) et somesthésiques (Sadato et al., 1996; Cohen et al., 1997; Wittenberg et al., 2004). Le système auditif des sourds, en théorie inutilisé, est également sollicité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

De nombreux chercheurs utilisent également la technique du « rewiring » afin de solliciter des phénomènes de plasticité intermodale. Cette technique consiste à modifier chirurgicalement certains éléments d'une ou de plusieurs voies sensorielles afin de modifier leurs trajectoires. Une étude, réalisée chez le hamster, a montré que des fibres du tract optique supérieur vont coloniser de façon permanente le noyau ventrobasal (noyau thalamique somatosensoriel) lorsque le tectum est complètement enlevé et que les afférences du noyau ventrobasal sont sectionnées (Bhide & Frost, 1992).

Une seconde étude, toujours chez le hamster, montre que l'ablation du cortex visuel, du tectum et du IC, provoque des changements au niveau des cibles rétiniennes (Fig. 1-8). Les principaux changements, à la suite de cette chirurgie, se situent au niveau du noyau LP et de MGN. Ce dernier qui, rappelons-le, est un noyau auditif du thalamus, reçoit maintenant des afférences de la rétine. Il projette toujours vers le cortex auditif qui reçoit donc maintenant des



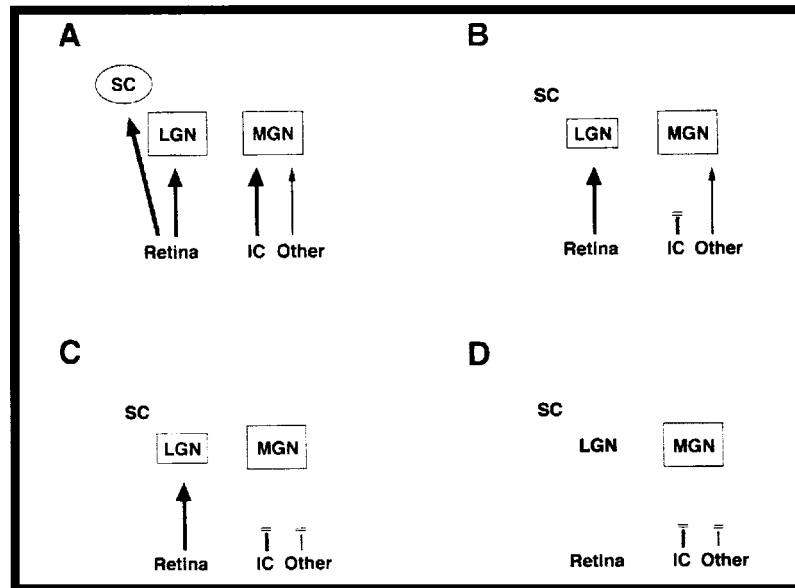
informations visuelles. Le noyau LP, pour sa part, reçoit bien plus d'afférences rétiniennes qu'en temps normal.



**Figure 1-8 Voie rétino-thalamo-corticale normale chez le hamster normal et « reconnecté ».** Les structures en pointillés ont été enlevées afin de modifier les chemins empruntés par les afférences rétiniennes. Tiré de Surgically created neural pathways mediate visual pattern discrimination (Frost et al., 2000).

Le furet a également été l'objet de nombreuses études de « rewiring » des connexions visuelles (Pallas et al., 1990; Sur et al., 1990; Gao & Pallas, 1999; Pallas et al., 1999). L'une de ces études a procédé de la manière suivante pour démontrer la reconnection des fibres rétino-fuges vers le MGN. Dans un premier temps, ils ont procédé à l'ablation du SC et coupé les fibres auditives du LL pour observer s'il y aurait colonisation du MGN par des fibres rétino-fuges. Dans un deuxième temps, les auteurs de l'étude ont en plus coupé toutes les autres afférences du MGN pour vérifier s'il y aurait des changements au niveau de la colonisation du MGN. En dernier lieu, ils ont fait l'ablation du LGN dans le même but que les instances précédentes. Il s'est avéré que le MGN a effectivement été colonisé par des fibres visuelles en provenance de la rétine, mais le fait d'enlever le LGN n'a pas vraiment influencé la quantité d'afférences vers le MGN. Cette étude a donc montré que la déafférentation d'une cible a un impact

majeur sur sa potentielle colonisation par une autre modalité « X ». De plus, cet impact est plus important que celui causé par l'absence des cibles normales des afférences de cette même modalité « X » (Fig. 1-9).



**Figure 1-9 Facteurs hypothétiques affectant la quantité de projections rétiniennes anormales vers le MGN.** A) *Projections normales*; B) *Technique fréquemment utilisée pour induire des projections rétiniennes vers MGN*; C) *Proposition d'enlever toutes les afférences normales du MGN pour induire davantage de projections rétiniennes vers ce dernier*; D) *Proposition d'enlever les cibles normales des projections rétiniennes jumelée à celle d'enlever toutes les afférences normales du MGN afin d'induire un maximum de projections rétiniennes vers MGN*. Tiré de Brainstem inputs to the ferrets medial geniculate nucleus and the effect of early deafferentation on novel retinal projections to the auditory thalamus (Angelucci et al., 1998).

La souris ZRDCT/An est d'un grand intérêt dans le contexte des problématiques liées à la réorganisation des connexions puisqu'elle est naturellement dépourvue de rétine et de voie rétino-géniculée. D'ailleurs, les travaux précédemment réalisés dans notre laboratoire à l'aide des techniques du c-Fos

et du dextran-biotine montrent qu'une réorganisation des connexions s'effectue aussi chez cette souris mutante par un « rewiring naturel » fonctionnel des fibres auditives au niveau du thalamus visuel (Piché et al., 2004).

### 1.3.3 Mécanismes de la plasticité intermodale

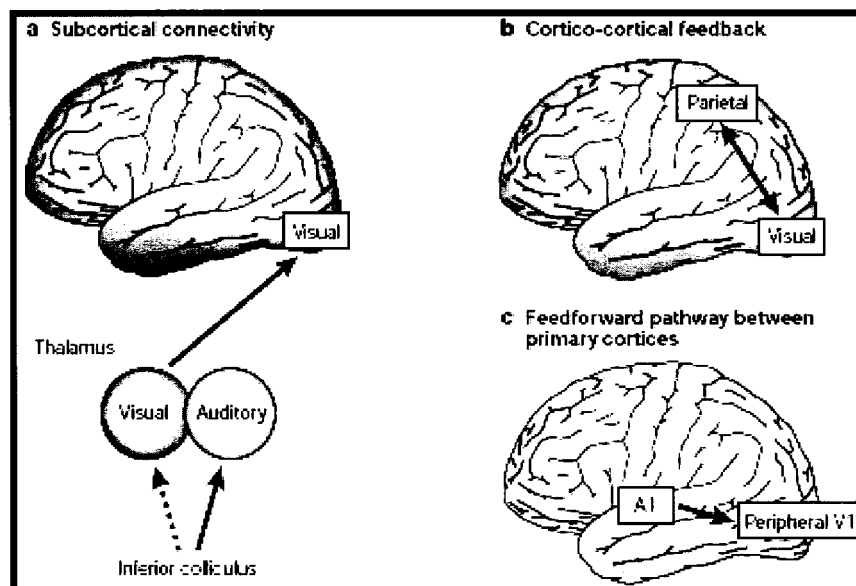
Plusieurs mécanismes ont été suggérés dans le but d'élucider la mobilisation d'un système sensoriel au profit d'autres modalités (Fig. 1-10). Une première hypothèse suppose une modification des connexions locales, entraînant ainsi une réorganisation des cartes sensorielles corticales (Bavelier & Neville, 2002). Il y a ici un parallèle à faire avec les mécanismes connus de plasticité intramodale. Une étude menée sur le singe de nuit *Aotus trivirgatus boliviensis*, montrant une reprise fonctionnelle de la représentation corticale d'un doigt amputé par celle des doigts voisins, nous offre un exemple concret de plasticité intramodale (Merzenich et al., 1984). Une telle réorganisation a aussi été démontrée chez le singe ayant subi une déafférentation d'une main, mais cette fois le cortex, répondant jadis aux stimuli de la main déafférentée, est recruté par des afférences provenant d'aussi loin que du visage (Jain et al, 2000). Ainsi, il n'est pas exclu que les mécanismes impliqués dans la plasticité intramodale puissent l'être également dans la plasticité intermodale. En absence d'afférences rétiniennes, la carte visuelle pourrait alors subir l'extension des représentations corticales auditives et somesthésiques.

Une deuxième hypothèse correspond à une réorganisation des connexions sous-corticales (Bavelier & Neville, 2002). Cette forme de plasticité, qui semble se limiter aux organismes en développement, repose sur deux sous-hypothèses : 1) la stabilisation de connexions transitoires devenues fonctionnelles chez l'aveugle alors qu'elles dégénèrent chez le voyant, et 2) la formation de nouvelles connexions. Des méthodes de traçage neuronal ont permis d'illustrer la présence de connexions auditives ectopiques dans le thalamus visuel du rat-taupe *Nannospalax erhenbergi* aveugle (Doron & Wollberg, 1994) et du hamster énucléé à la naissance (Izraeli et al., 2002). On

retrouve aussi des projections rétiniennes aberrantes au niveau du thalamus auditif chez la souris congénitalement sourde (Hunt et al., 2005). Non seulement y a-t-il présence de fibres ectopiques dans le thalamus visuel chez le rat-taupe et le hamster énucléé, mais de plus ces connexions semblent fonctionnelles, c'est-à-dire qu'elles permettent l'activation du cortex visuel lors d'une stimulation auditive (Bronchti et al., 2002; Izraeli et al., 2002). Plusieurs études révèlent également une plasticité sous-corticale attribuable à une énucléation monoculaire qui se manifeste par des altérations des projections rétino-colliculaires et rétino-géniculées chez la souris (Godement et al., 1980), le rat (Lund et al., 1973), le hamster (Hsiao, 1984), l'opposum (Lent & Mendez-Otero, 1980) et le macaque (Rakic, 1981). Une expérience précédemment réalisée dans notre laboratoire avec des souris énucléées à la naissance a d'ailleurs montré la présence de quelques fibres auditives à l'intérieur du noyau LP, dans le thalamus visuel. Toutefois, aucune trace de marquage n'a été retrouvée au niveau du LGNd chez ces dernières (Chabot et al., 2005; Robert, 2006). Des travaux sont cependant en cours dans notre laboratoire afin de mieux comprendre la réorganisation des connexions sous-corticales chez la souris énucléée à la naissance.

Une troisième hypothèse est basée sur des modifications s'opérant au niveau des connexions cortico-corticales (Bavelier & Neville, 2002). Chez le voyant, le recrutement et l'activation de régions corticales inféro-temporales, qui sont importantes pour visuellement reconnaître un objet, peuvent être amplifiés par une stimulation tactile de la main située ipsilatéralement à la cible visuelle (Macaluso et al., 2000). L'analyse de cette connectivité fonctionnelle propose que cette amplification serait modulée via des rétroprojections en provenance de régions polymodales, tel le cortex pariétal, vers les aires corticales visuelles. Quelques études d'imagerie chez l'aveugle et le sourd abordent la possibilité que cette connexion cortico-corticale, et spécialement celle impliquant le cortex pariétal, puisse constituer une source de réarrangement intermodal (Bavelier et al., 2000; Weeks et al., 2000). Par exemple, il se produit chez le sourd un

renforcement fonctionnel des connexions entre le cortex pariétal et visuel lorsqu'il y a sollicitation de leur champ visuel périphérique (Bavelier et al., 2000). De plus, ce même cortex pariétal viendrait activer le cortex visuel puisqu'ils sont successivement activés lors d'une tâche d'attention auditive (Liotti et al., 1998); ces connexions pariétales seraient donc impliquées dans l'activation auditive du cortex visuel (Weeks et al., 2000). Malgré le fait que l'on ne connaisse pas toute la gamme des changements liés à la réorganisation cortico-corticale, il semble clair que cette connectivité demeure modifiable même à l'âge adulte (Bavelier & Neville, 2002).



**Figure 1-10 Mécanismes proposés de la plasticité intermodale**

*A) Réorganisation des connexions sous-corticales; B) Changement dans les connexions cortico-corticales; C) Stabilisation de connexions entre les cortex primaires.* Tiré et modifié de Cross-modal plasticity : Where and how? (Bavelier & Neville, 2002).

Une quatrième hypothèse consiste en la stabilisation de connexions entre les différents cortex primaires (Bavelier & Neville, 2002). Absente chez l'adulte voyant, une connexion entre les cortex visuel et auditif primaires a été montrée

chez des chats et hamsters immatures (Frost, 1988; Clarke & Innocenti, 1990). Chez le primate adulte, une connexion entre le cortex auditif primaire (A1) et la portion de V1 qui représente la vision périphérique a déjà été observée (Falchier et al., 2002; Rockland et al., 2003). Chez les sourds, la dégénérescence de cette connexion réduirait l'interaction entre les projections auditives et visuelles dans cette zone de convergence, expliquant ainsi leurs meilleurs aptitudes au niveau du champ visuel périphérique (Bavelier & Neville, 2002). Chez les aveugles, ce renforcement de la connexion A1-V1, attribuable à l'absence d'afférences visuelles, pourrait contribuer au recrutement de V1 lors de tâches auditives.

#### **1.3.4 Périodes critiques de la plasticité du cerveau**

Le cerveau est donc une structure capable de s'adapter à son environnement. Cette capacité d'adaptation est d'autant plus grande lorsqu'un individu est soumis à un tel changement en bas âge. Ainsi, plus un individu subira un traumatisme quelconque tôt dans la vie, mieux s'effectuera son rétablissement et son adaptation. L'effet de l'âge ou du stade de développement sur les mécanismes de plasticité intermodale constitue une variable très importante; il en est de même des noyaux et aires impliqués, qu'ils soient primaires, secondaires ou une combinaison des deux. Il existe effectivement, autant chez l'humain que chez l'animal, différentes périodes critiques durant lesquelles l'expérience peut significativement altérer les performances comportementales de l'organisme et les aspects relatifs à la structure et/ou les fonctions du cerveau (Bavelier & Neville, 2002). Au-delà de ces périodes, lorsqu'elles existent, la plasticité du cerveau est moindre et limitée.

Le concept de période critique appliqué à l'activité synaptique pouvant modifier la connectivité lors du développement a été initialement introduit par Hubel et Wiesel, lors de leurs travaux sur le système visuel (Hubel & Wiesel, 1965). À l'aide de méthodes anatomiques et neurophysiologiques, ces auteurs ont montré que l'expérience visuelle, pendant les premiers stades du

développement, constitue un déterminant majeur dans la mise en place des voies visuelles.

Depuis, plusieurs études ont porté sur l'implication de la perte de la vue précoce en opposition avec la perte tardive. À partir de méthodes d'imagerie, on remarque que l'aveugle précoce, c'est-à-dire l'individu qui est aveugle de naissance ou qui a perdu la vision avant l'âge de 14 à 16 ans, utilise davantage son cortex occipital à la suite d'une stimulation du cortex somesthésique primaire, comparativement à l'individu ayant perdu la vue plus tardivement. (Cohen et al., 1999; Burton et al., 2002; Sadato et al., 2002; Wittenberg et al., 2004). Cette activation pourrait impliquer une modulation du circuit par le cortex visuel associatif (Sadato et al., 2002). Cette possible connexion cortico-corticale ectopique serait ainsi renforcée en bas âge et permettrait une meilleure utilisation compensatoire du cortex visuel de l'aveugle précoce. Au niveau sous-corticale, un mécanisme similaire aux projection du IC qui migrent vers le LGNd pourrait également se produire chez l'aveugle précoce ou héréditaire, tel que vu précédemment chez la souris congénitalement aveugle (Hunt et al., 2005), le rat-taupe (Doron & Wollberg, 1994) et le hamster énucléé (Izraeli et al., 2002). De plus, il serait également plus facile pour les individus ayant perdu la vue avant la période critique de développer une réorganisation anatomique supplémentaire aux processus cognitifs comme l'attention et l'entraînement, processus qui expliquerait à eux seuls les phénomènes de plasticité observés chez l'adulte (Kujala et al., 1997; Goldreich & Kanics, 2003).

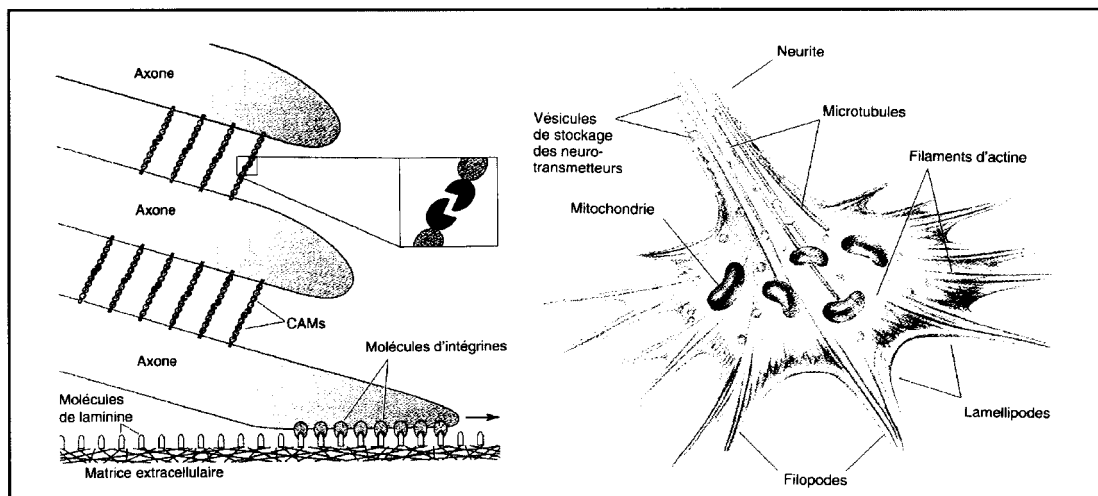
Le concept des périodes critiques n'est qu'un des nombreux paramètres accompagnant irrémédiablement l'individu en développement vers le stade adulte. Voyons maintenant un peu plus en détails les différentes étapes du développement du système nerveux.

## 1.4 Développement du système nerveux

Au cours de la différenciation, les neurones émettent des axones qui doivent trouver les cibles appropriées. Le développement de ce vaste réseau de connexions, la formation des voies, se déroule en trois grandes étapes : la sélection de la voie à suivre, la sélection de la cible et la sélection de la position des terminaisons dans cette cible. Cette section est un peu plus générale et touchera à divers concepts de base liée au développement du système nerveux en général.

### 1.4.1 Croissance de l'axone

À partir du moment où les cellules nerveuses ont migré à leurs positions finales ou peu avant, le prolongement axonal commence sa croissance. L'axone s'allonge à partir de son extrémité distale au moyen d'une structure spécialisée que l'on nomme cône de croissance (Fig. 1-11).



**Figure 1-11 Fasciculation des axones (à gauche) et cône de croissance (à droite).** *L'axone du bas se développe sur la matrice extracellulaire. Les axones se collent les uns aux autres par l'intermédiaire de CAMs.* Tiré et modifié de Neurosciences: À la découverte du cerveau (Bear et al., 2002).



Ces nombreuses extensions, appelées lamellipodes et filipodes, lui permettent de sonder son environnement. Le cône de croissance sert principalement à orienter l'axone dans la direction appropriée.

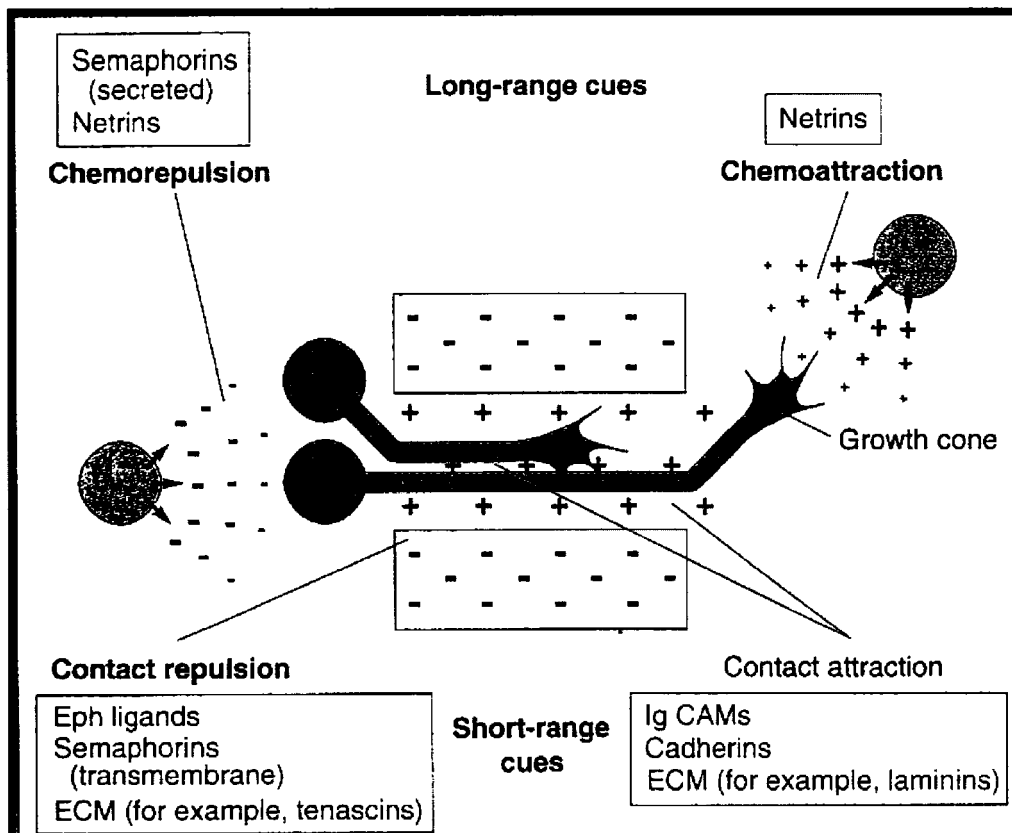
La croissance n'intervient que si la matrice extracellulaire contient les protéines appropriées qui seront reconnues par les filipodes. L'axone en développement produit des intégrines qui se lient aux molécules d'adhésion de la matrice extracellulaire, un genre de substrat dit « permissif » parmi un océan d'autres substrats « répulsifs » pour le cône de croissance. Les axones ayant la même destination peuvent faciliter leur déplacement en se liant entre eux avec des molécules d'adhésion cellulaire (CAMs), tel qu'illustré à la figure 1-11 (Tessier-Lavigne & Goodman, 1996).

#### **1.4.2 Guidage axonal**

Avant de pouvoir former une synapse en entrant en contact avec sa cible, l'axone doit d'abord savoir comment s'y rendre. L'établissement des voies nerveuses se fait d'abord par les axones dits pionniers. Ces axones s'étirent au fur et à mesure que le cerveau se développe et servent de guide pour le développement plus tardif des autres axones, qui compléteront la voie nerveuse vers la même cible. Le cheminement des axones vers leurs cibles est davantage un jeu d'interactions attraction/répulsion, dépendant de la nature des molécules et des récepteurs présents sur les axones en développement, tel qu'illustré à la figure 1-12 (Tessier-Lavigne & Goodman, 1996). Les molécules d'adhésion cellulaire comme les immunoglobulines CAMs, les cadhérines et la laminine peuvent entre autres agir comme facteurs d'attraction mais une autre catégorie importante de molécules porteuses d'information influencent le développement des cellules en diffusant jusqu'aux axones de croissance.

Ces molécules diffusibles, les facteurs de chémoattraction, sont difficiles à identifier en raison de leur présence infinitésimale dans l'individu en développement. La famille de molécules chémoattractives la mieux

caractérisée est probablement celle des nétrines. Ces molécules, présentent entre autres dans la moelle épinière, agissent sur divers sites clés où les axones doivent décider s'ils franchissent la ligne médiane ou s'ils restent du même côté, comme par exemple lors de la formation du faisceau spino-thalamique. On les retrouve aussi ailleurs, où leur fonction est sensiblement la même; au niveau du chiasme optique, du corps calleux et au site de décussation du nerf crânien IV, par exemple (Livesey & Hunt, 1997; Cavalcante et al., 2002).



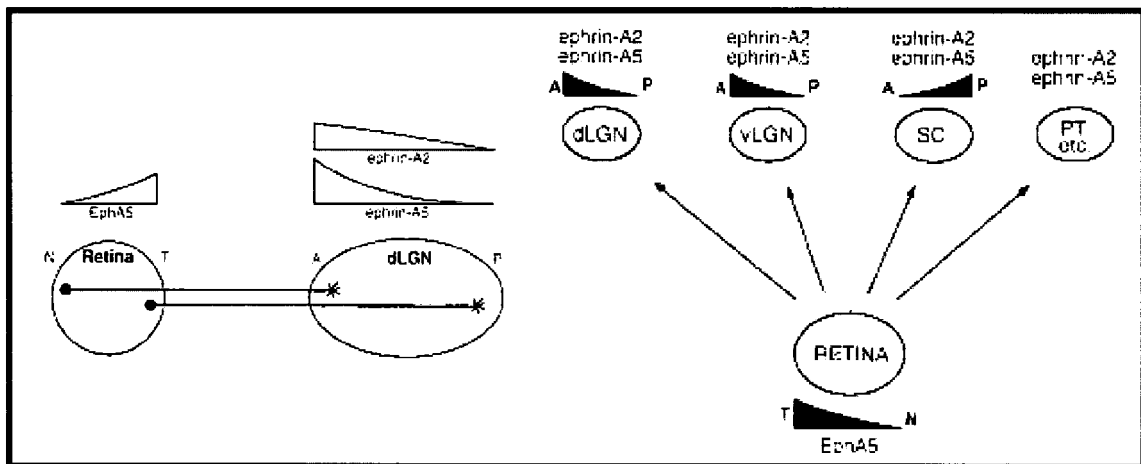
**Figure 1-12 Les principaux guides axonaux.** *Survol des principales molécules faisant parti des quatre grands types de mécanismes contribuant au guidage des cônes de croissance : attraction de contact, chémoattraction, répulsion de contact et enfin chémorépulsion.* Tiré de *The molecular biology of axon guidance* (Tessier-Lavigne & Goodman, 1996).

On retrouve aussi des molécules chémorépusives qui font exactement le contraire des précédentes en dictant aux axones en développement où ne pas aller. On retrouve parmi elles des molécules en relation avec les oligodendrocytes, les cellules formant la myéline du système nerveux central. Une seconde classe de molécules chémorépusives sont très présentes durant le développement neural : les sémaphorines. Ces molécules se lient à la surface des cellules ou de la matrice extracellulaire où elles peuvent empêcher la croissance d'axones voisins. Elles peuvent exister sous forme de sécrétion ou de protéines de surface. Concrètement, les sémaphorines ont le pouvoir de résorber la croissance de certains cônes de croissance et d'arrêter ainsi complètement la croissance des axones ciblés (Niclou et al., 2006, Pasterkamp & Verhaagen, 2006).

Plus récemment, de nouvelles molécules ont été promues au statut de molécules chimiotrophiques. On retrouve les facteurs sécrétés slits et leurs récepteurs robo. Ces deux molécules sont fortement associées aux nétrines en ce sens qu'elles servent à empêcher le retour de l'axone lorsque ce dernier franchit une ligne médiane en raison des facteurs chimiotropes des nétrines (Jia et al., 2005; Webber & Raz, 2006).

À l'intérieur du système visuel, l'exemple le plus souvent utilisé de guidage axonal vers une cible précise est celui du système rétino-tectal. Dans la rétine comme dans le tectum, on a retrouvé plusieurs molécules qui montraient un gradient de concentration selon l'emplacement nasal/temporal et supérieur/inférieur dans la rétine et dans le tectum. Ces molécules, appelées ephrines, sont actuellement les candidats les plus prometteurs quant aux molécules-clés de guidage axonal dans les systèmes sensoriels (Cheng et al., 1995; Dreschner et al., 1995; Tessier-Lavigne, 1995; Tessier-Lavigne & Goodman, 1996).

Les ephrines ligands et leurs récepteurs Eph tyrosine-kinase sont des molécules jouant un rôle majeur dans la ségrégation des voies sensorielles. Les axones exprimant un gradient de tel ou tel récepteur Eph se verront attirés et/ou repoussés par des gradients de plusieurs types d'ephrines. Ultiment, l'axone trouvera le ou les gradients d'ephrines complémentaires à ses propres récepteurs Eph, le menant vers une cible précise. Au niveau des voies rétino-tectale et rétino-géniculée, on retrouve surtout un jeu d'interaction entre les ephrines A2, A5 et le récepteur EphA5 tel qu'illustré à la figure 1-13 (Feldheim et al., 1998; Feldheim et al., 2000).



**Figure 1-13 Rôle des gradients d'ephrines A2/A5 et EphA5 dans les voies rétino-tectale et rétino-géniculée.** *Le gradient postérieur→antérieur des ephrines A2 et A5 au niveau des structures visuelles est complémentaire au gradient d'EphA5 exprimé par les projections rétiniennes.* Tiré de Topographic guidance labels in a sensory projection of the forebrain (Feldheim et al., 1998).

Plusieurs études montrent que l'ephrine-A2, un ligand pour le récepteur Eph Mek4, est exprimé dans un gradient rostral-caudal, guidant avec succès les axones rétino-fuges vers leurs positions correctes dans le tectum. Les ephrines servent à la fois de facteurs chémoattractifs et chémorépulsifs. Le plus souvent, les gradients combinés de plusieurs ephrines différents entrent en synergie et

dictent à la fois à l'axone de ne pas aller à l'endroit X mais aussi de se diriger vers l'endroit Y.

Depuis le début des années 2000, plusieurs études très intéressantes ont été faites quant aux rôles des ephrines dans la plasticité intermodale entre les systèmes auditif et visuel, par exemple. Certains chercheurs du Massachusetts Institute of Technology (MIT), sous la direction de M. Sur, ont investigué les gradients d'ephrines à l'intérieur des voies auditives et visuelles. En utilisant des souris knock-out d'ephrines A2/A5, ils ont montré qu'en l'absence du mur d'ephrines A2 et A5 entre le MGN et le LGN et après chirurgie des IC et CS, les afférences du LGN arrivent à coloniser MGN avec aisance (Lyckman et al, 2001). Ces résultats suggèrent que chez l'individu normal, des signaux dictant aux fibres visuelles d'innover le thalamus auditif déafférenté pourraient tenter, sans succès, de compétitionner avec les barrières d'ephrines en place.

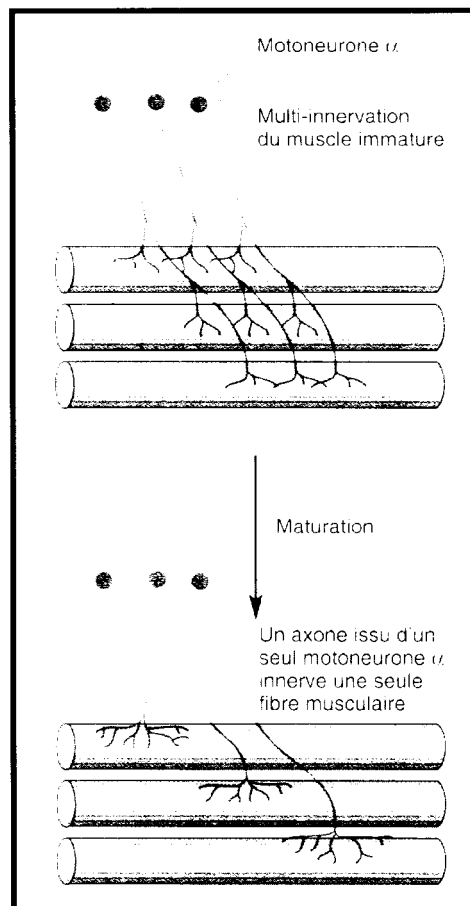
### **1.4.3 Élimination des cellules et des synapses**

Durant le développement des voies sensorielles, des populations entières de cellules sont appelées à être éliminées. Ce processus de mort cellulaire programmée est en relation avec une compétition pour des facteurs trophiques.

Les cibles des axones produisent des neurotrophines, des protéines trophiques faisant office de guide vers les axones présynaptiques. Les membres les plus importants de cette famille sont le facteur de croissance du nerf (NGF), le NT-3, le NT-4 et le facteur neurotrophique dérivé du cerveau (BDNF). On peut, d'une certaine façon, voir les neurotrophines comme des éléments bloquant le programme d'autodestruction initialement installé dans tous les axones en développement. Les axones ayant subi l'action des neurotrophines sont donc les seuls à survivre, un peu comme dans le cas d'une sélection naturelle.

L'effet concret de cette élimination massive est en fait d'affiner les connexions. À titre d'exemple, là où au départ dix axones projetaient tous vers trois endroits

de manière non-spécifique, on se retrouve après l'élimination excédentaire des cellules et des synapses avec trois axones qui projettent chacun à un seul endroit spécifique (Fig. 1-14).



**Figure 1-14 Processus d'élimination synaptique.** *Initialement, chaque fibre musculaire est innervée par plusieurs motoneurones alpha. Pendant le développement, toutes ces afférences dégèrent et, à la fin du développement, chaque fibre est innervée par un seul motoneurone.* Tiré et modifié de Neurosciences : À la découverte du cerveau (Bear et al., 2001).

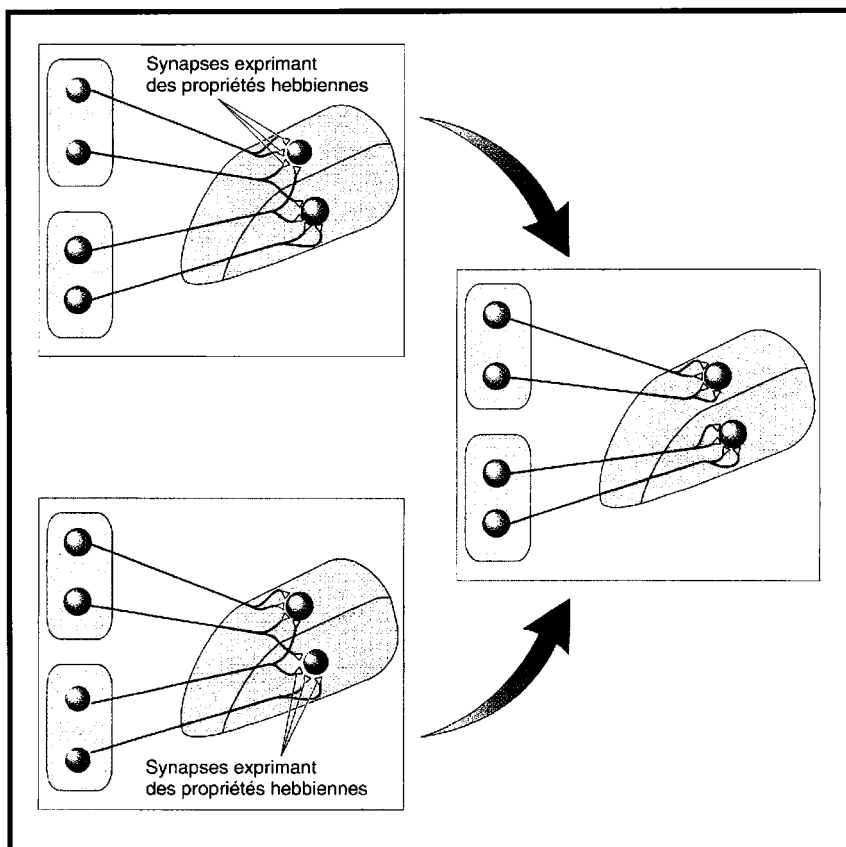
#### 1.4.4 Réorganisation synaptique activité-dépendante

La réorganisation synaptique représente l'étape finale dans le processus de sélection de la destination de l'axone. Contrairement à la plupart des autres

étapes plus précoces de la formation des connexions neuronales, la réorganisation synaptique est une conséquence de l'activité neuronale et de la transmission synaptique. Il apparaît donc que, dans le cas du système visuel, la performance de ce dernier à l'âge adulte est déterminée, jusqu'à un certain point, par la qualité de l'environnement visuel durant la période postnatale.

La ségrégation des axones pourrait être liée à un processus de stabilisation synaptique par lequel seules survivent les axones dont les terminaisons sont activées au même moment que le neurone cible au niveau post-synaptique. Cette hypothèse, formulée pour la première fois en 1949 par le psychologue Donald Hebb, est maintenant bien connue sous le nom de postulat de Hebb (Fig. 1-15).

On peut appliquer ce postulat à un exemple concret, comme la réorganisation des axones présynaptiques du LGNd. Imaginons deux cellules cibles du LGN recevant des afférences de deux afférences partant de chaque œil. Initialement, les afférences visuelles se terminent dans des champs se superposant très largement. Les deux afférences partant d'un même œil sont actives en même temps. Le neurone correspondant du LGNd est activé mais pas l'autre en raison d'une innervation partielle de cet œil. L'activation de cette voie rétino-géniculée induit alors l'expression de propriétés hebbiennes venant renforcer l'activité de cette voie. Imaginons le même scénario avec l'autre œil et l'autre neurone du LGNd. Au fil du temps, les neurones actifs en même temps constitueront des réseaux. Les connexions présynaptiques qui ne sont pas synchronisées seront éliminées dû à une activité insuffisante. Le résultat final est que chaque cible du LGNd reçoit des afférences bien précises de chaque œil, sans aucune superposition. Le principe est le même pour les colonnes de dominance oculaire au niveau du cortex strié chez les mammifères.



**Figure 1-15** **Modèle de plasticité des synapses de Hebb.** *Deux neurones du LGNd reçoivent des afférences des deux yeux. Au départ, les afférences se terminent dans des champs qui se superposent très largement. Sous l'effet de l'activité neuronale, seules les connexions étant capable d'induire un potentiel d'action dans un neurone post-synaptique du LGNd seront stabilisées.* Tiré de Neurosciences : À la découverte du cerveau (Bear et al., 2002).

### 1.5 Objectifs de la recherche

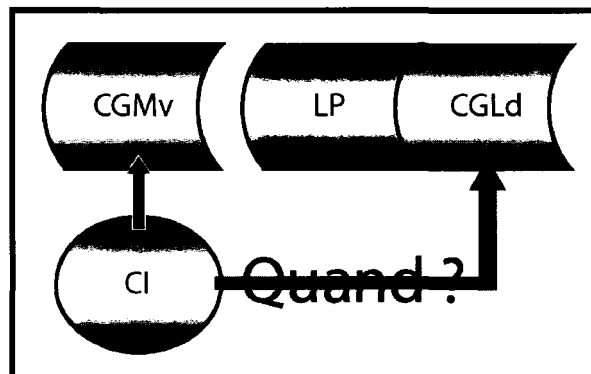
L'objectif général de recherche du laboratoire est l'étude des modifications anatomiques et fonctionnelles dans le cerveau de rongeurs aveugles. Préalablement à cette étude, il a été montré dans notre laboratoire que le cortex visuel de la souris mutante ZRDCT/An est activé par des stimuli auditifs (Piché et al., 2004). D'autres part, cette connexion intermodale chez l'adulte se retrouve entre le collicule inférieur, un relais auditif, et le corps géniculé



latérodorsal, le noyau visuel principal du thalamus (Robert, 2006). La présente étude est une suite à des travaux antérieurs ayant démontré la présence d'une connexion commune entre IC et LGNd chez la souris ZRDCT/An (Piché et al., 2006; Robert, 2006). Mon objectif principal était de cibler le moment précis où la connexion IC-LGNd fait son apparition chez la souris anophtalmique ZRDCT/An en développement.

### 1.5.1 Objectifs spécifiques

Ce projet visait à observer la connexion entre IC et LGNd chez des souris anophtalmiques ZRDCT/An de différents âges postnataux à l'aide d'une technique de traçage neuroanatomique (Fig. 1-16). Nos hypothèses, proposant des mécanismes sur l'établissement de cette connexion intermodale, reposent en partie sur la présence ou non de la connexion IC-LGNd à la naissance ou son apparition durant les premiers jours postnataux de la souris.

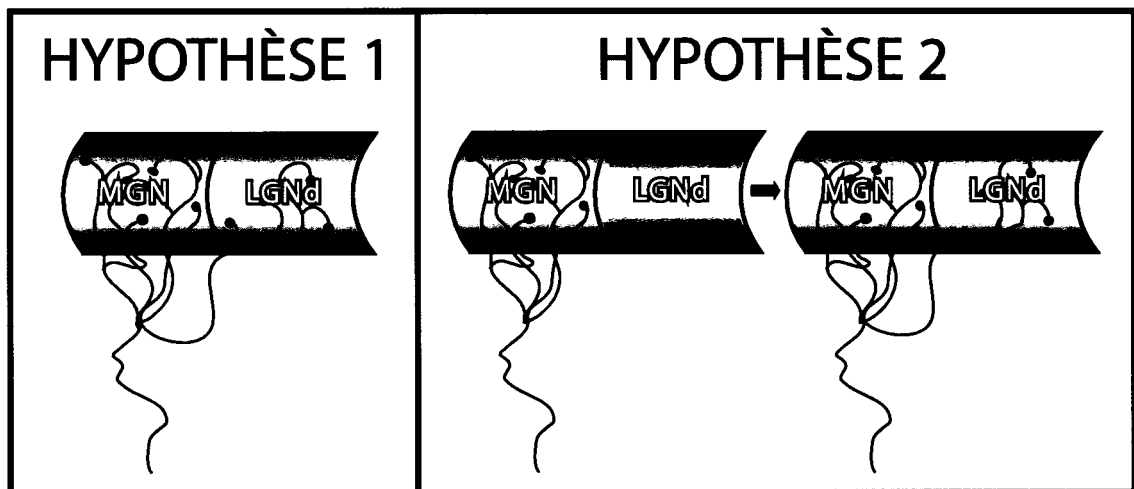


**Figure 1-16 Schématisation de la problématique de cette étude.** *Nous cherchons à connaître le moment précis auquel le système auditif colonise le système visuel par l'entremise d'une connexion entre IC et LGNd chez la souris ZRDCT/An.* Schéma réalisé par l'auteur.

Rappelons que, chez la souris normale, le LGN se forme entre E10.5 et E12.5 et reçoit des afférences rétiniennes à partir de E14. De plus, les fibres auditives partant de IC atteignent le thalamus auditif à E13.5 chez la souris voyante. Dans

ce contexte, il est possible d'imaginer que certaines de ces fibres auditives pourraient déjà coloniser le LGN vers les jours E14 à 16. La transmission thalamo-corticale au niveau du cortex cérébral s'effectue quelque peu avant la naissance, c'est-à-dire que cette connexion devient fonctionnelle vers E19 (Molnar et al., 2003). Cependant, on sait que le système visuel continue de se développer après la naissance chez la souris. Il n'est donc pas impossible que de nouvelles connexions se développent après la naissance. Nos hypothèses quant aux mécanismes possibles de l'établissement de la connexion IC-LGND sont donc les suivantes :

Dans l'instance où la connexion est déjà présente à P0, nous pourrions penser que : 1) le cerveau établit un patron de connexions grossier mais, en l'absence d'afférences visuelles vers le LGNd, la connexion normalement transitoire IC-LGND est déjà stabilisée à la naissance et le restera tout au long de la vie de la souris (Fig. 1-17).



**Figure 1-17** Hypothèses de recherche des bases sur lesquelles la connexion IC-LGND s'établit chez la souris ZRDCT/An. *L'hypothèse 1 propose des connexions stabilisées établies à partir d'un patron de connexion diffus et non spécifique, tandis que l'hypothèse 2 suggère plutôt l'établissement*

*d'une nouvelle connexion basée sur la stabilisation d'une connexion ectopique éliminée en temps normal.* Schéma réalisé par l'auteur.

Dans le cas où la connexion n'apparaît qu'au cours du développement, nous estimerons plutôt que : 2) la colonisation intermodale du LGNd par les fibres auditives se fait par l'entremise d'une toute nouvelle connexion qui, en temps normal, n'arriverait pas à faire synapse en raison des afférences rétiniennes vers le LGNd (Fig. 1-17).

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

Par ce projet de recherche, nous visons à mieux connaître les bases sur lesquelles les connexions intermodales se forment et se stabilisent dans les cas de déprivations sensorielles. Bien que de telles études ont déjà été faites sur d'autres modèles animaux tels que le hamster et le rat-taupe, il n'en reste pas moins que la souris anophtalmique est un modèle unique en ce sens où elle possède des structures visuelles cérébrales tout en étant naturellement et précocement aveugle. Les phénomènes de plasticité intermodale sont donc susceptibles d'être différents de ceux rapportés chez les animaux énucléés à la naissance, dont les voies visuelles étaient déjà en place et fonctionnelles avant la déafférentation. Nous nous devons de vérifier sur quelles bases se forme la connexion entre le collicule inférieur et le corps géniculé latéro-dorsal afin de compléter les expériences précédemment faites au laboratoire.

## **CHAPITRE 2**

### **MATÉRIEL ET MÉTHODES**

#### **2.1 Rationnel du choix du traceur neuroanatomique**

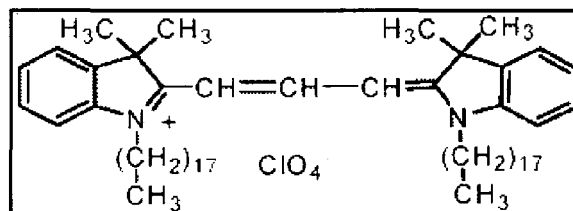
Les carbocyanines sont des traceurs fluorescents hautement lipophiles nettement avantageux lors de travaux réalisés sur du tissu fixé. Le fait qu'ils soient lipophiles leur permet de diffuser à l'intérieur de l'axone sans avoir recours à un transport actif, de toute façon non disponible lorsque l'animal est décédé. Le mécanisme d'action de ces traceurs n'est pas encore totalement compris. Deux mécanismes d'action ont été proposés à ce jour pour tenter d'expliquer le fonctionnement exact du transport passif des carbocyanines à travers la membrane axonale. Le premier mécanisme suggère leur insertion dans le feuillet externe des membranes cellulaires. Ces fragments de membranes sont alors chargés dans des vésicules qui, par déplacement lipidique, sont transportées à l'intérieur de la cellule. Le deuxième mécanisme propose un mécanisme différent pour les carbocyanines à longues queues lipophiles. Ces dernières, après avoir pénétré la membrane cellulaire, s'étendraient par diffusion latérale le long de la membrane (Köbbert et al., 2000).

Les carbocyanines sont encore à ce jour reconnues comme les meilleurs traceurs post-mortem depuis leurs premières utilisations durant les années 80 (Honig & Hume, 1986; Godement et al., 1987). Le marquage par carbocyanine est remarquablement clair et précis. Il est non-toxique et permet aussi de voir avec précision la morphologie des dendrites. Là où plusieurs traceurs passifs sortent des cellules marquées, les carbocyanines se démarquent encore des autres en restant fidèlement à l'intérieur de la même cellule.

La grande famille des carbocyanines est composée de plusieurs molécules différentes en couleur et en efficacité générale. Cela permet de faire du marquage double ou triple en appliquant simplement des traceurs différents aux

endroits désirés. Les principaux carbocyanines utilisées dans la littérature sont les suivants : Dil, DiO, DiD, DiA et DiAsp.

Le Dil, de son vrai nom 1,1'-dioctadécyl-3,3,3',3'-tetraméthyl-indo-carbocyanine perchlorate (Molecular Probes, Eugene, Oregon), est la première molécule de carbocyanine à avoir été synthétisée (Fig. 2-1). Le Dil est de loin le traceur le plus efficace de sa famille en vertu de ses propriétés. Lorsqu'on le compare aux autres carbocyanines, il est plus résistant à la lumière, plus stable, diffuse plus rapidement et apparaît plus clairement au microscope (Köbbert et al., 2000). Il est considéré comme le meilleur traceur neuroanatomique post-mortem pour l'observation des fibres nerveuses (Thanos et al., 1994; Köbbert et al., 2000).



**Figure 2-1 Structure chimique du Dil.** Tiré de la fiche technique du Dil sur le site web de Molecular Probes ([www.molecularprobes.com](http://www.molecularprobes.com)).

Son action est optimisée dans un tissu fixé par du paraformaldéhyde phosphaté (PAF) 2% à 4%. Bien que sa vitesse de migration puisse varier très faiblement selon la grosseur de l'axone, on l'estime entre 100 à 400  $\mu\text{m}$  par jour. Le défi avec cette technique est de bien jauger le temps de diffusion du Dil car plus ce dernier migre loin et longtemps, plus il perd de précision et de clarté. Le Dil a été utilisé dans plusieurs études importantes portant sur le traçage des voies visuelles en rapport avec la plasticité intermodale entre les système visuel et auditif (Godement et al., 1987; Veenman et al., 1992; Bhide & Frost, 1992; Miller et al., 1993; Mey & Thanos, 1993; Hong & Thanos, 1996; Lyckman et al., 2001). En raison de la longueur des axones dans notre système visuel, par exemple, le

Dil est moins indiqué pour les tissus humains post-mortem, mais ce traceur n'en demeure pas moins aussi efficace pour l'étude des connexions courtes.

La plupart des carbocyanines peuvent également servir de traceurs à transport actif antérograde (Godement et al., 1987) et rétrograde (Vanselow et al., 1989). Bien que ces traceurs aient une efficacité respectable dans le tissu vivant, on retrouve depuis les années 90 de bien meilleurs traceurs neuroanatomiques *in vivo*, ce qui explique que le Dil n'est généralement utilisé que sur les tissus fixés. Bien que la raison reste encore inconnue, la littérature montre que *in-vivo* le Dil est un très bon traceur antérograde mais s'avère être par contre un traceur rétrograde de second choix pour le système visuel.

## **2.2 Démarche expérimentale de l'étude**

### **2.2.1 Nombre et types de souris**

Dans le cadre de cette étude, deux souches de souris différentes ont été utilisées. Les souris expérimentales ZRDCT/An proviennent d'une colonie que notre laboratoire entretient à l'animalerie de l'UQTR. Les souris contrôles C57Bl/6 sont également issues d'une colonie entretenue dans cette même animalerie. L'ensemble de ces souris sont de plus subdivisées en sous-groupes selon l'environnement standard ou enrichi dans lequel elles évoluent. Ce paramètre est important pour d'autres études réalisées dans notre laboratoire mais est négligeable dans cette étude en raison du très jeune âge de nos souris.

Un total de 33 souriceaux anophtalmiques ZRDCT/An (5 x P0, 8 x P5, 3 x P6, 3 x P7, 4 x P8 et 7 x P10) et 15 souriceaux C57Bl/6 (3 pour chaque âge) ont été sacrifiés pour cette étude (Tableau 2-1). Une attention particulière a été apportée aux orbites et à la surface ventrale de chaque cerveau afin de s'assurer que toutes les souris ZRDCT/An n'avaient ni œil ni nerf optique. Toutes les procédures qui suivent ont été approuvées par le conseil de bons

soins aux animaux de l'UQTR et sont en accord avec les protocoles du Conseil canadien de protection des animaux.

**Tableau 2-1** Nombre d'animaux utilisés pour chaque groupe

Souche et âge	Nombre d'animaux
C57Bl/6 contrôles	
P0	3
P5	3
P6	3
P7	3
P8	3
P10	3
ZRDCT/An anophtalmiques	
P0	5
P5	8
P6	3
P7	3
P8	4
P10	7

### 2.2.2 Extraction des cerveaux

On administre d'abord une dose létale de pentobarbital sodique (i.p.; Somnotol, MTC Pharmaceuticals, Cambridge, Ontario; 120 mg/kg) à l'animal. Lorsque les réflexes ont totalement disparu, on perfuse la souris en introduisant une solution saline dans le ventricule gauche du coeur de l'animal, suivi d'une solution fixatrice, la paraformaldéhyde 4% (dans du PB 0.1M, pH 7.4). La procédure complète de perfusion se retrouve en annexe (Annexe B). L'animal est par la suite décapité afin de permettre l'extraction du cerveau.

Le crâne est finement disséqué avec une lame de scalpel et des ciseaux fins de façon à extraire le cerveau sans l'abîmer. Il arrive parfois que la perfusion ne se déroule pas comme prévu et que le cerveau ne soit pas très bien fixé. Dans de

pareils cas, nous procédons à une post-fixation d'environ une semaine en plongeant le cerveau dans la solution de paraformaldéhyde 4%.

### 2.2.3 Préparation des cerveaux

Lorsque le cerveau est bien fixé, on peut procéder à l'insertion du traceur. Un petit cristal de Dil est inséré à l'aide d'une aiguille à l'intérieur du collicule inférieur droit de l'animal. On met ensuite le cerveau dans un petit contenant de verre contenant du PBS 0.01M (0.9% NaCl, pH 7.4) qui sera incubé pendant une durée de 2 à 4 semaines (dépendamment de l'âge de notre animal) dans une étuve à 37°C. Cette période d'incubation permet au traceur de migrer par diffusion le long des axones, assez longtemps pour qu'il soit possible de voir tant les connexions allant vers le thalamus que celle venant du cortex auditif (Fig. 2-2).



**Figure 2-2 Photographie d'un cerveau de souris marqué au Dil.** *Le marquage du Dil est tellement fort au site d'insertion qu'il est visible à l'œil nu. Notez le marquage bien circonscrit à l'intérieur du IC. Le marquage jaune au niveau de V1 controlatéral est dû à l'insertion de DiA dans le cadre d'un essai de double marquage.* Photographie prise par l'auteur. Échelle : 2.5 mm

Lorsque la période d'incubation est terminée, on sort le cerveau de l'étuve pour le préparer à l'enrobage dans l'agarose 4%. Cette technique consiste à mettre le cerveau dans un petit contenant en plastique que l'on recouvre d'agarose liquide se solidifiant à basse température. La solution adhère aux parois du



cerveau en épousant bien la forme de ce dernier, puis est mis au réfrigérateur quelques minutes afin de durcir le tout. Le bloc d'agarose est ensuite taillé en forme de pyramide ou de trapèze afin d'augmenter la surface de contact de la base du bloc et à la fois de réduire un peu le contact frontal direct entre le bloc et la lame qui coupera le cerveau. Il est important de bien s'assurer que le cerveau est bien droit à l'intérieur du bloc. Le bloc est ensuite fixé sur le plateau de coupe d'un vibratome (Lancer Series 1000) et coupé en tranches coronales de 100  $\mu\text{m}$ .

Avant de mettre sur lames, chaque tranche de cerveau est trempée 10 minutes dans une solution de bisbenzimidazole (Hoechst 33258, Sigma-Aldrich Canada Ltd., Oakville, Ontario; 2.5  $\mu\text{g/ml}$  PBS 0.01M). Cette contre-coloration sert à faire un marquage nucléaire des cellules afin d'obtenir une vue cytologique des coupes. Les coupes sont ensuite montées sur des lames de verre puis recouvertes de Geltol (Thermo Shandon, Pittsburgh, Pennsylvania), une solution de montage permettant au tissu de conserver son intégrité et empêcher les coupes de se déshydrater. On recouvre ensuite avec une lamelle, puis on scelle le tout avec du vernis à ongles à consistance épaisse.

#### **2.2.4 Microscopie et prise de photos**

L'observation des coupes a été faite à l'aide d'un microscope à fluorescence Leica DMRB (Leica Microsystems, North York, Ontario). Les filtres pour la rhodamine- $\beta$ -isothiocyanate (RITC) et pour les ultra-violets (UV) ont été utilisés pour l'observation du Dil et des cellules en cytologie, respectivement. Les photographies ont été prises avec une caméra digitale (Optronics, Goleta, California) intégrée au microscope en association avec le logiciel Picture Frame du système d'analyse Neurolucida (MicroBrightField, Williston, Vermont). Le traitement et le montage des photographies sous forme de planches ont été entièrement réalisés avec les logiciels Adobe Photoshop CS2 et Adobe Illustrator CS2. Les structures anatomiques ont été identifiées à l'aide de l'atlas "The Mouse Brain in Stereotaxic Coordinates" (Paxinos & Franklin, 2001).

## **CHAPITRE 3**

### **RÉSULTATS**

L'insertion du traceur fluorescent Dil à l'intérieur du IC nous a permis, par diffusion le long des fibres auditives marquées, de suivre les voies auditives ascendantes jusqu'au MGN, le principal noyau auditif du thalamus. En vérifiant aussi la présence de fibres marquées au niveau du LGNd, il a été possible de montrer la présence ou l'absence de la connexion intermodale pour divers groupes d'âges tant chez les souris expérimentales que chez les souris contrôles.

#### **3.1 Souris contrôles**

##### **3.1.1 Site d'insertion du traceur**

Dans tous les cas expérimentaux, le marquage est resté confiné à l'ensemble du IC sans atteinte du SC. Comme le cristal de Dil a été placé à la main au niveau du CIC sans instrument de précision, il est normal que le traceur ait pu marquer les autres portions du IC. Cela ne peut pas nuire à nos résultats puisque nous cherchons de toute façon une connexion entre le IC dans son ensemble et le LGNd. En suivant les fibres auditives le long du brachium du IC, le traceur arrive dans tous les cas à marquer fortement et précisément le MGN, principal noyau thalamique de l'audition.

Le marquage est surtout prédominant au niveau de la portion ventrale du MGN puisque c'est cette région qui reçoit les afférences du CIC. L'intensité du marquage de la portion ventrale dépend, quant à elle, de l'ingérence du Dil dans la ceinture externe du IC. Lorsque le cristal de Dil pénètre davantage cette région du IC, les projections vers MGNv seront davantage marquées. Le traceur diffuse également vers le IC controlatéral par la commissure entre les deux collicules. Ces projections n'ont aucune conséquence sur les résultats de la présente étude.

### 3.1.2 Thalamus

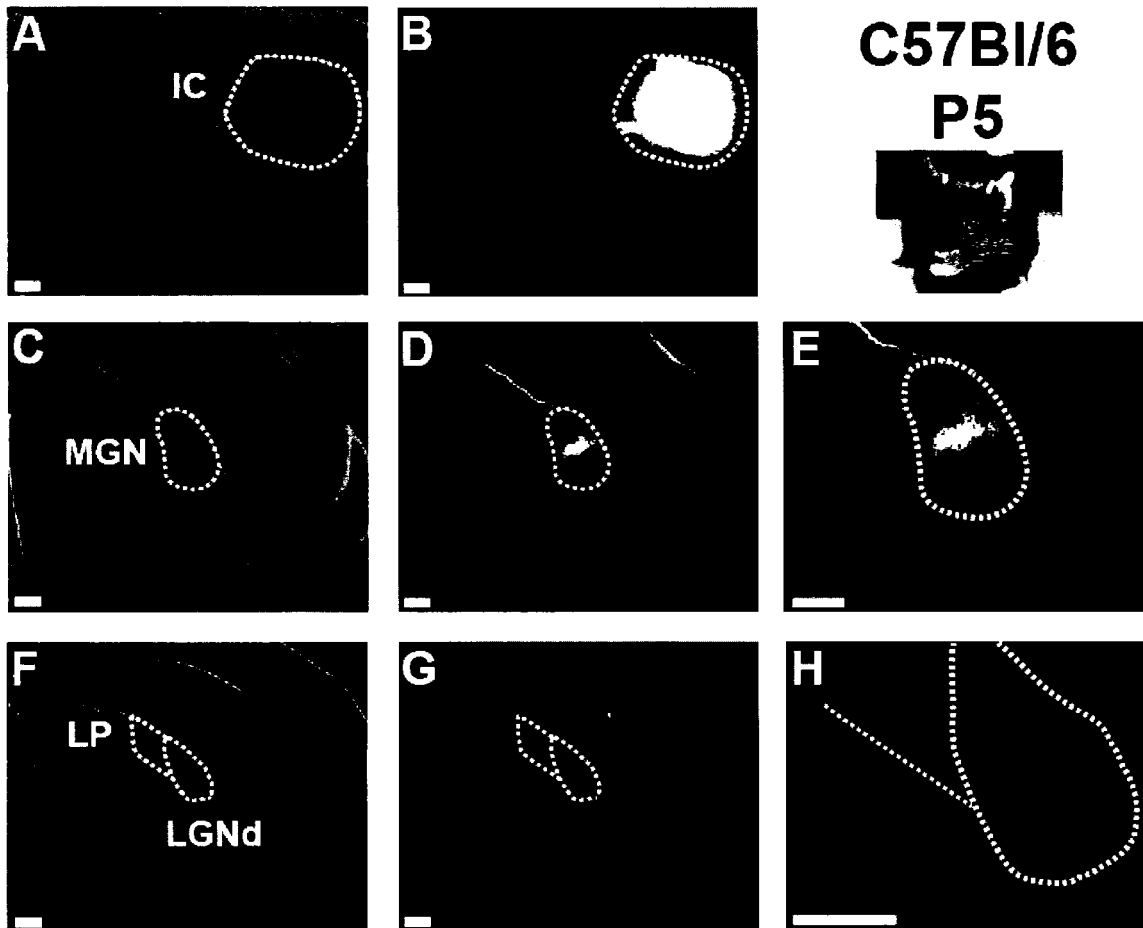
À P0, P5 et P6, les fibres marquées en provenance du IC se terminent exclusivement au niveau du thalamus auditif (Fig. 3-1 et 3-2; photographies de P0 non incluses). Dans tous nos contrôles de ces âges, aucun marquage n'a été trouvé au niveau du LGNd. À P7 et P8, en plus du marquage normal du MGN, il a été possible d'observer des fibres auditives marquées au Dil, en bordure et même à l'intérieur du LGNd et du noyau LP (Fig. 3-3 et 3-4).

À très fort grossissement, il est possible de voir les cônes de croissance qui « scrutent l'environnement » à la recherche de signaux chimiques (photographies non disponible). Ces fibres exploratrices semblent ne faire synapse ni au LGNd ni au noyau LP; on ne retrouve en effet aucun bouton synaptique au niveau de ces deux structures thalamiques. Ainsi, de telles fibres ont été observées chez deux sujets à P6 et deux autres sujets à P7, totalisant quatre souris sur un total de sept. Nous reviendrons sur ces résultats dans la section Discussion.

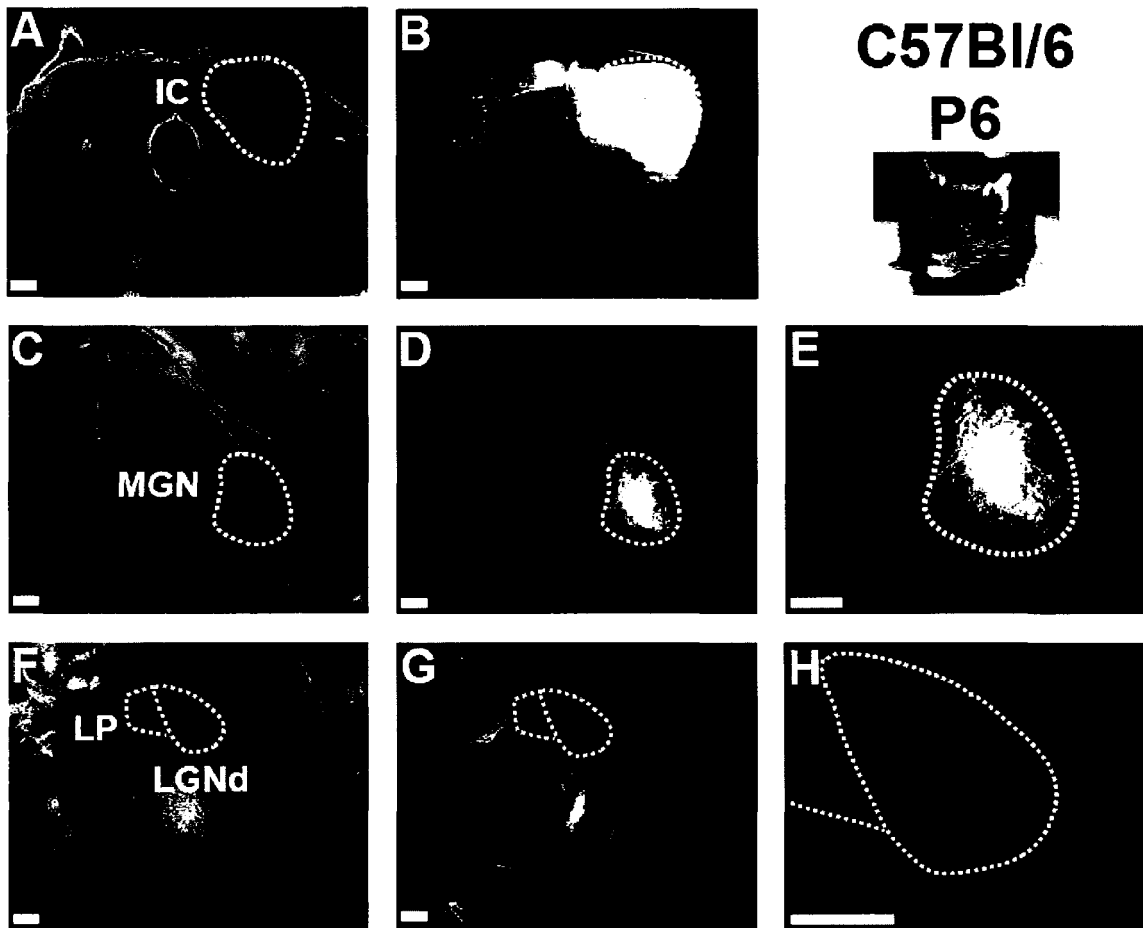
Chez les souriceaux au jour P10, outre le marquage normal du MGN par les fibres auditives, aucune fibre auditive n'est observée au niveau du LGNd et du LP, et ce, chez la totalité de nos sujets (Fig. 3-5).

### 3.1.3 Cortex

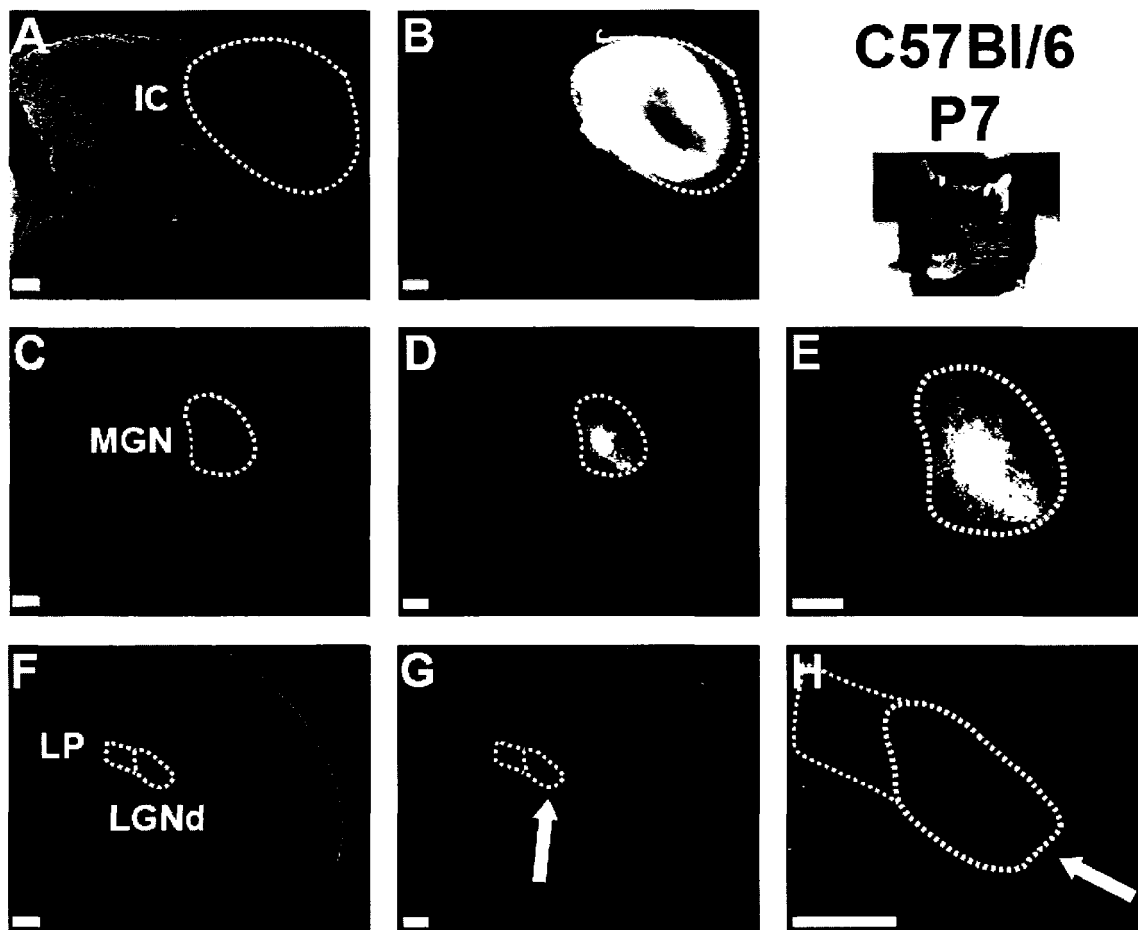
Des fibres auditives sont également marquées au niveau du cortex auditif A1. Puisqu'un temps de diffusion de deux semaines nous procure un marquage optimal au niveau du thalamus, ces fibres rétrogrades venant du cortex ne sont pas toujours visibles chez nos sujets en raison de la grande distance entre le IC et A1. Aucun marquage n'a été observé au niveau du cortex visuel.



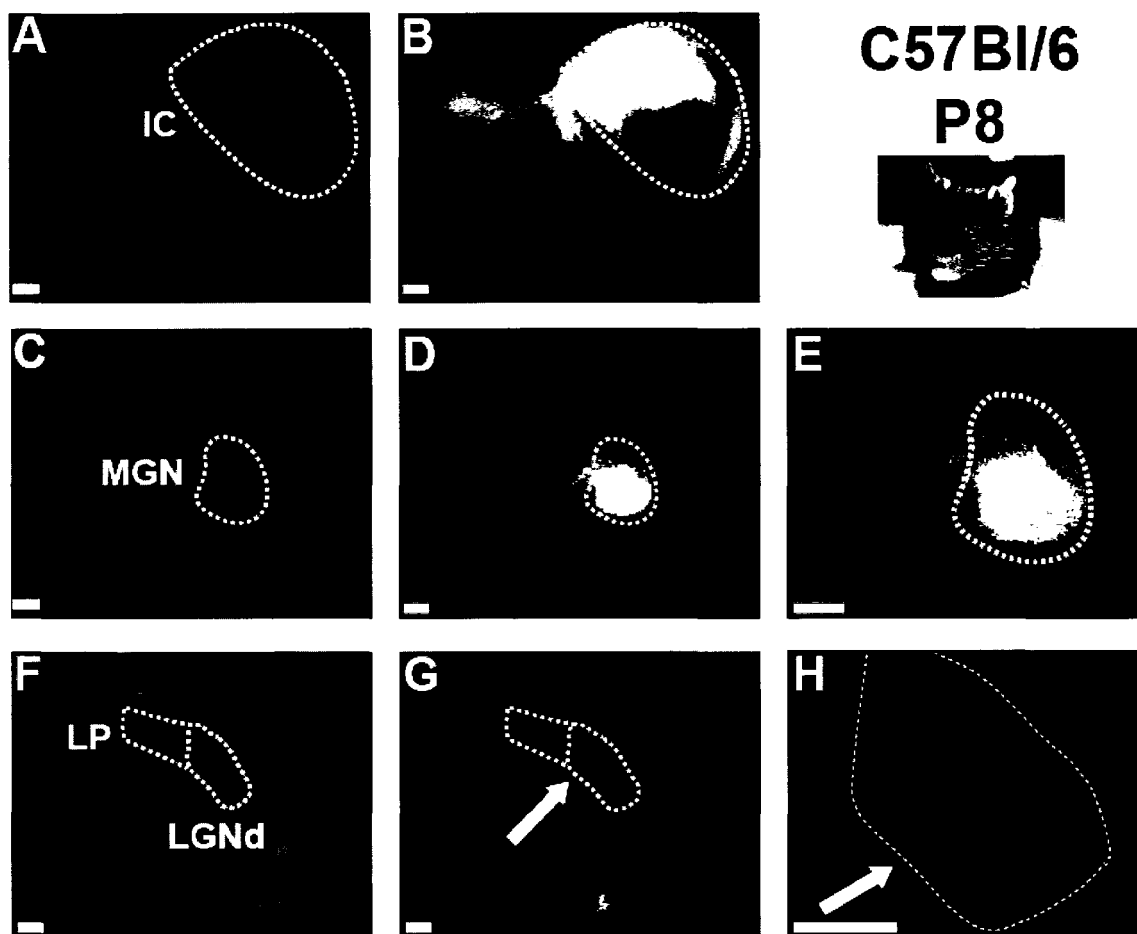
**Figure 3-1** Microphotographies du marquage des fibres auditives d'une souris voyante C57Bl/6 à P5. A) Vue cytochrome du site d'insertion du traceur au niveau du CIC; B) Marquage du Dil au site d'insertion; C) Vue cytochrome du MGN; D) Marquage de l'arborisation axonale des projections du IC vers MGN. La portion ventrale du MGN est très fortement marquée par le Dil; E) Léger grossissement du MGN; F) Vue cytochrome du LGNd et du noyau LP; G) Absence de marquage auditif dans le LGNd et LP; H) Fort grossissement du LGNd et d'une partie du LP. Notez la fibre auditive sous LP. Elle se trouve dans la voie auditive interne, en route vers SC. Échelle : 100  $\mu$ m.



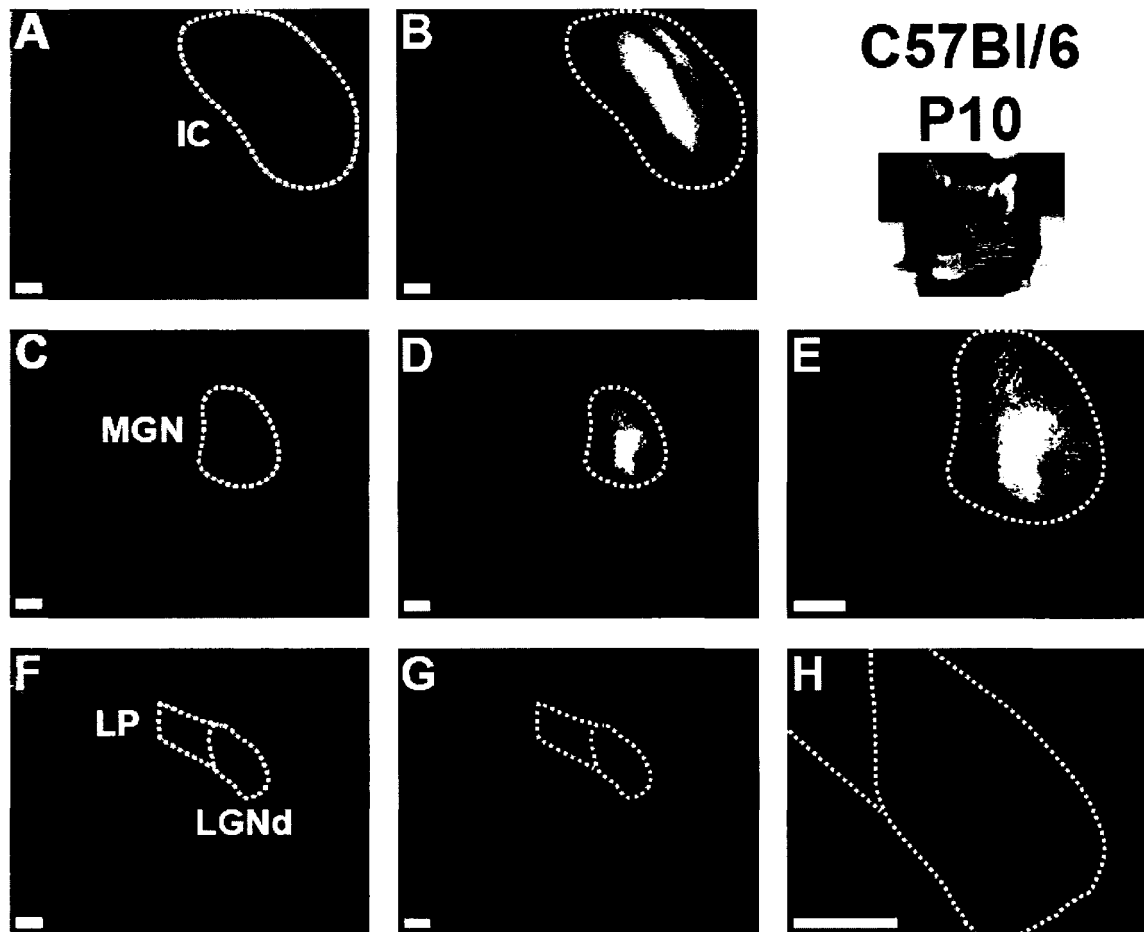
**Figure 3-2** Microphotographies du marquage des fibres auditives d'une souris voyante C57Bl/6 à P6. A) Vue cytohistologique du site d'insertion du traceur au niveau du CIC; B) Marquage du Dil au site d'insertion; C) Vue cytohistologique du MGN; D) Marquage de l'arborisation axonale des projections du IC vers MGN. La totalité du MGN est très fortement marquée par le Dil; E) Léger grossissement du MGN; F) Vue cytohistologique du LGNd et du noyau LP; G) Absence de marquage auditif dans le LGNd et LP; H) Fort grossissement du LGNd et d'une partie du LP. Aucune fibre auditive exploratrice n'a été observée à proximité des structures visuelles du thalamus. Échelle : 100  $\mu$ m.



**Figure 3-3** Microphotographies du marquage des fibres auditives d'une souris voyante C57Bl/6 à P7. A) Vue cytochrome du site d'insertion du traceur au niveau du CIC; B) Marquage du Dil au site d'insertion; C) Vue cytochrome du MGN; D) Marquage de l'arborisation axonale des projections du IC vers MGN. La totalité du MGN est très fortement marquée par le Dil; E) Léger grossissement du MGN; F) Vue cytochrome du LGNd et du noyau LP; G) Présence de marquage auditif dans le LGNd; H) Fort grossissement du LGNd et de LP. Une fibre auditive exploratrice peut être observée à proximité des structures visuelles du thalamus. Échelle : 100  $\mu$ m.



**Figure 3-4** Microphotographies du marquage des fibres auditives d'une souris voyante C57Bl/6 à P8. A) Vue cytochrome du site d'insertion du traceur au niveau du CIC; B) Marquage du Dil au site d'insertion; C) Vue cytochrome du MGN; D) Marquage de l'arborisation axonale des projections du IC vers MGN. La portion ventrale du MGN est très fortement marquée par le Dil; E) Léger grossissement du MGN; F) Vue cytochrome du LGNd et du noyau LP; G) Présence de marquage auditif dans le LGNd et en bordure du noyau LP; H) Fort grossissement du LGNd et d'une partie de LP. Une fibre auditive exploratrice peut être observé circulant dans la portion ventro-médiale du LGNd. Les limites de LP ont été retirées de l'image afin de ne pas cacher la fibre auditive longeant le noyau. Échelle : 100  $\mu$ m.



**Figure 3-5** Microphotographies du marquage des fibres auditives d'une souris voyante C57Bl/6 à P10. A) Vue cytochrome du site d'insertion du traceur au niveau du CIC; B) Marquage du Dil au site d'insertion; C) Vue cytochrome du MGN; D) Marquage de l'arborisation axonale des projections du IC vers MGN. La totalité du MGN est très fortement marquée par le Dil; E) Léger grossissement du MGN; F) Vue cytochrome du LGNd et du noyau LP; G) Absence totale de marquage auditif dans le LGNd et le noyau LP; H) Fort grossissement du LGNd et d'une partie de LP. Échelle : 100  $\mu$ m.



### **3.2 Souris anophtalmiques**

Les résultats obtenus lors de cette étude seront présentés sous la forme de plusieurs groupes de huit photos toujours disposées de la même manière. Les photographies de la première rangée montre le site d'insertion du traceur; celles de la deuxième rangée montre le MGN suivi d'un léger grossissement de ce dernier; la dernière rangée de photographies montrent quant à elles le LGN, suivi d'un fort grossissement de ce dernier. La première colonne représente une vue cytologique de ces structures alors que les autres colonnes permettent de voir le traceur Dil à l'aide du filtre RITC. La souche et l'âge de la souris sont indiqués dans le coin supérieur droit.

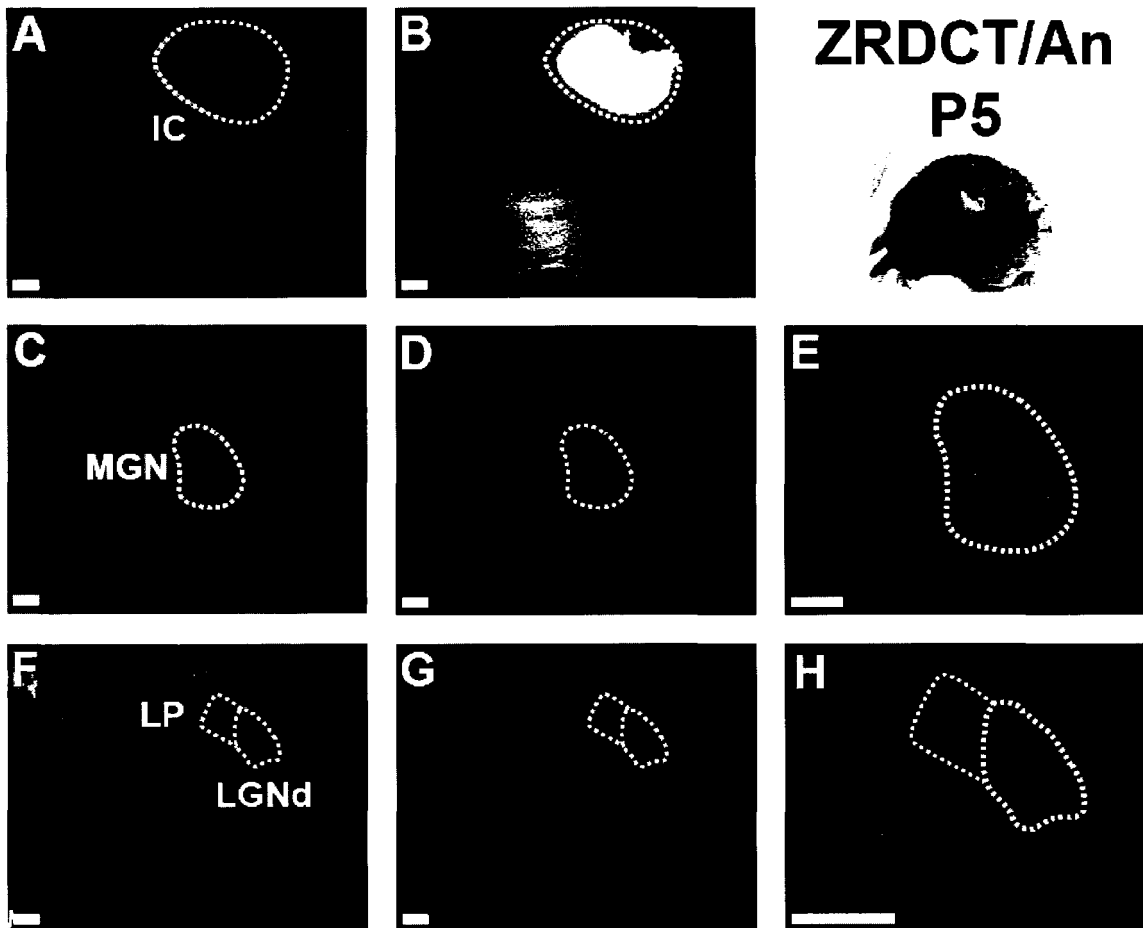
#### **3.2.1 Site d'insertion du traceur**

L'insertion du traceur se fait de la même manière chez les souris expérimentales. On observe les mêmes projections issues du IC que chez les souris C57Bl/6 : le marquage de la voie auditive est semblable à celui réalisé chez nos souris contrôles.

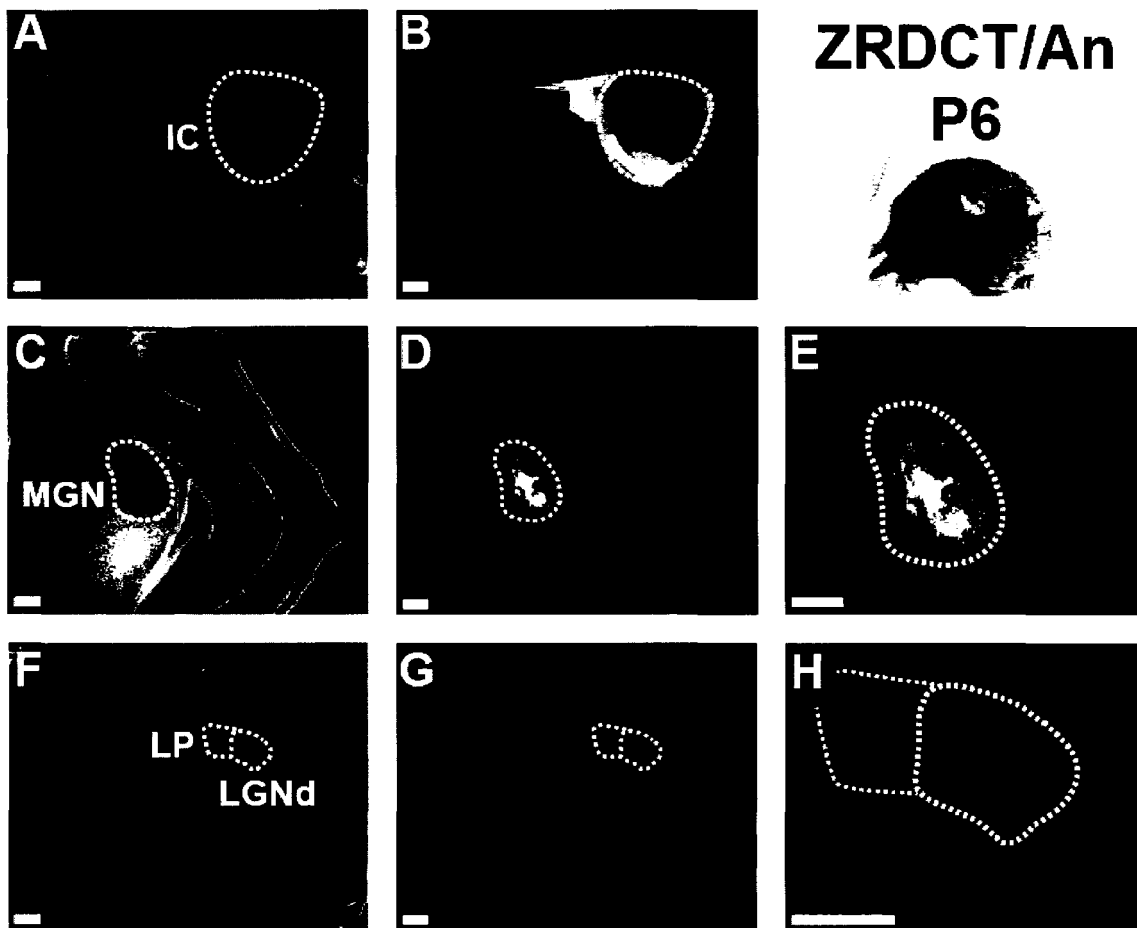
#### **3.2.2 Thalamus**

Le MGNv apparaît encore ici clair et bien défini. On arrive également à observer quelques fibres marquées dans le MGNd. Nous n'avons trouvé aucune trace de marquage à l'intérieur du LGNd et de LP chez nos souriceaux âgés de P0 et P5 (Fig. 3-6; photographies de P0 non incluses).

Ce n'est qu'à partir de P6 qu'un très petit marquage apparaît au niveau du LGNd chez une des trois souris observées (Fig. 3-7).

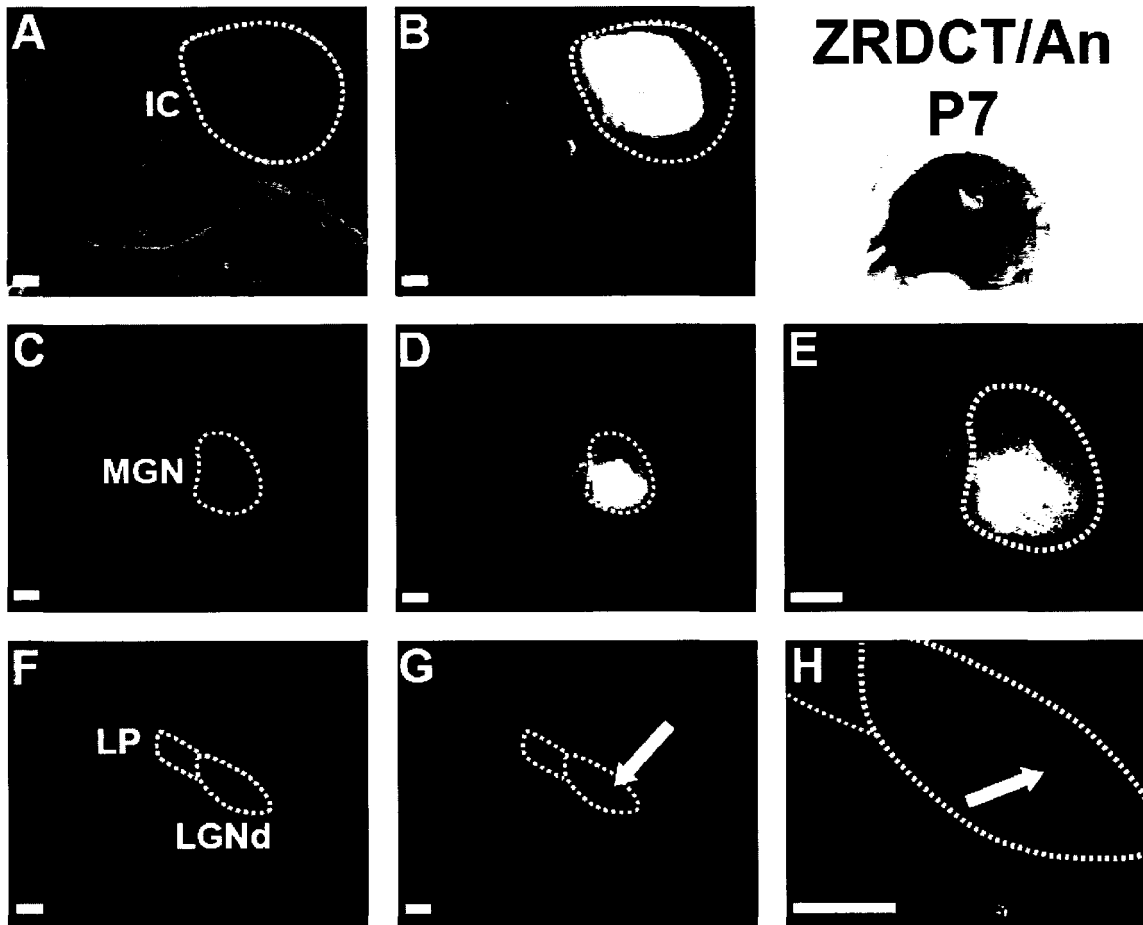


**Figure 3-6** Microphotographies du marquage des fibres auditives d'une souris anophtalmique ZRDCT/An à P5. A) *Vue cytologique du site d'insertion du traceur au niveau du CIC*; B) *Marquage du Dil au site d'insertion*; C) *Vue cytologique du MGN*; D) *Marquage de l'arborisation axonale des projections du IC vers MGN. La portion ventrale du MGN est marquée par le Dil*; E) *Léger grossissement du MGN*; F) *Vue cytologique du LGNd et du noyau LP*; G) *Absence de marquage auditif dans le LGNd et dans le noyau LP*; H) *Fort grossissement du LGNd et de LP*. Échelle : 100  $\mu$ m.



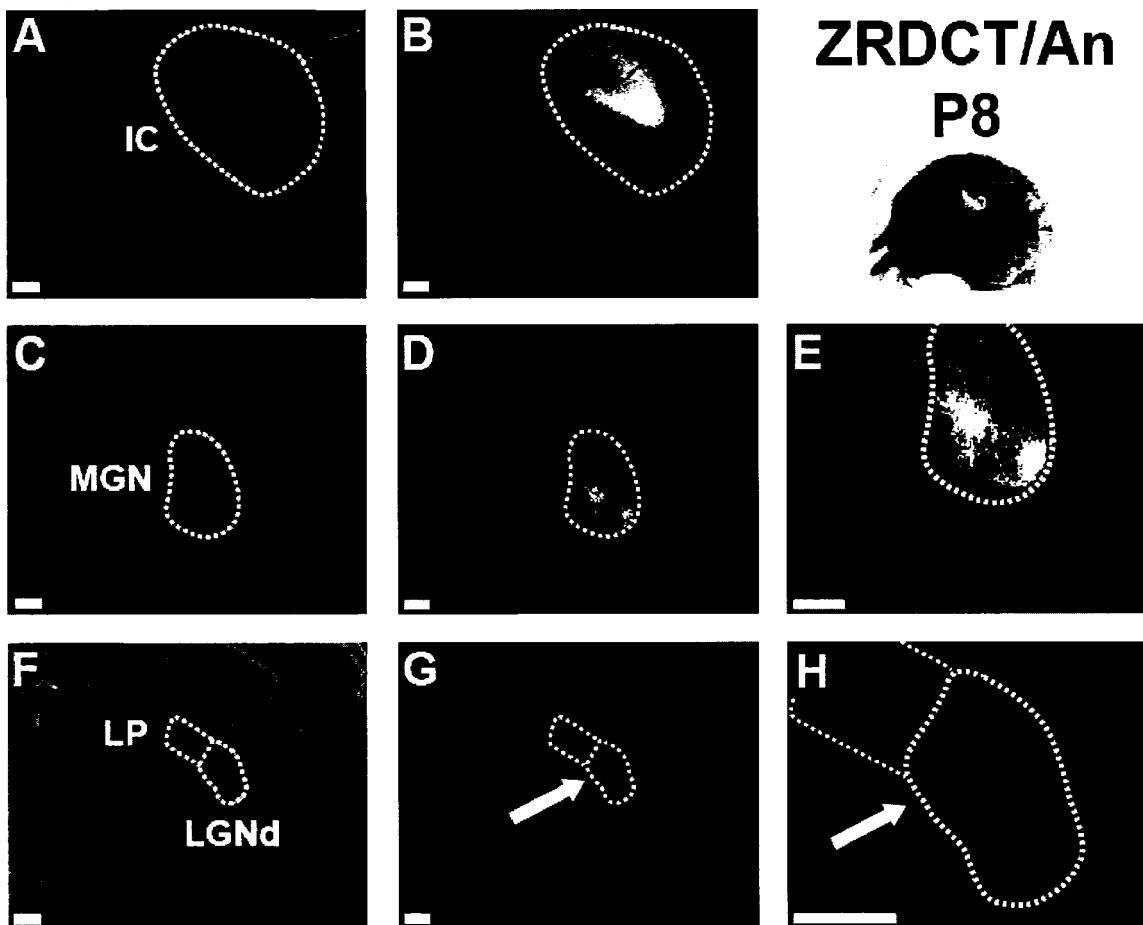
**Figure 3-7** Microphotographies du marquage des fibres auditives d'une souris anophtalmique ZRDCT/An à P6. A) *Vue cytochrome du site d'insertion du traceur au niveau du CIC*; B) *Marquage du Dil au site d'insertion*; C) *Vue cytochrome du MGN*; D) *Marquage de l'arborisation axonale des projections du IC vers MGN. La presque totalité du MGN est fortement marquée par le Dil*; E) *Léger grossissement du MGN*; F) *Vue cytochrome du LGNd et du noyau LP*; G) *Présence d'un très faible marquage auditif dans le LGNd (indiscernable à ce grossissement)*; H) *Fort grossissement du LGNd et de LP. On peut voir un léger point fluorescent dans le LGNd*. Échelle : 100  $\mu$ m.

Au jour P7, on retrouve des fibres marquées dans LGNd pour la totalité des souris mutantes observées. On peut voir la présence d'une à deux fibres qui passent au niveau du LGNd (Fig. 3-8).

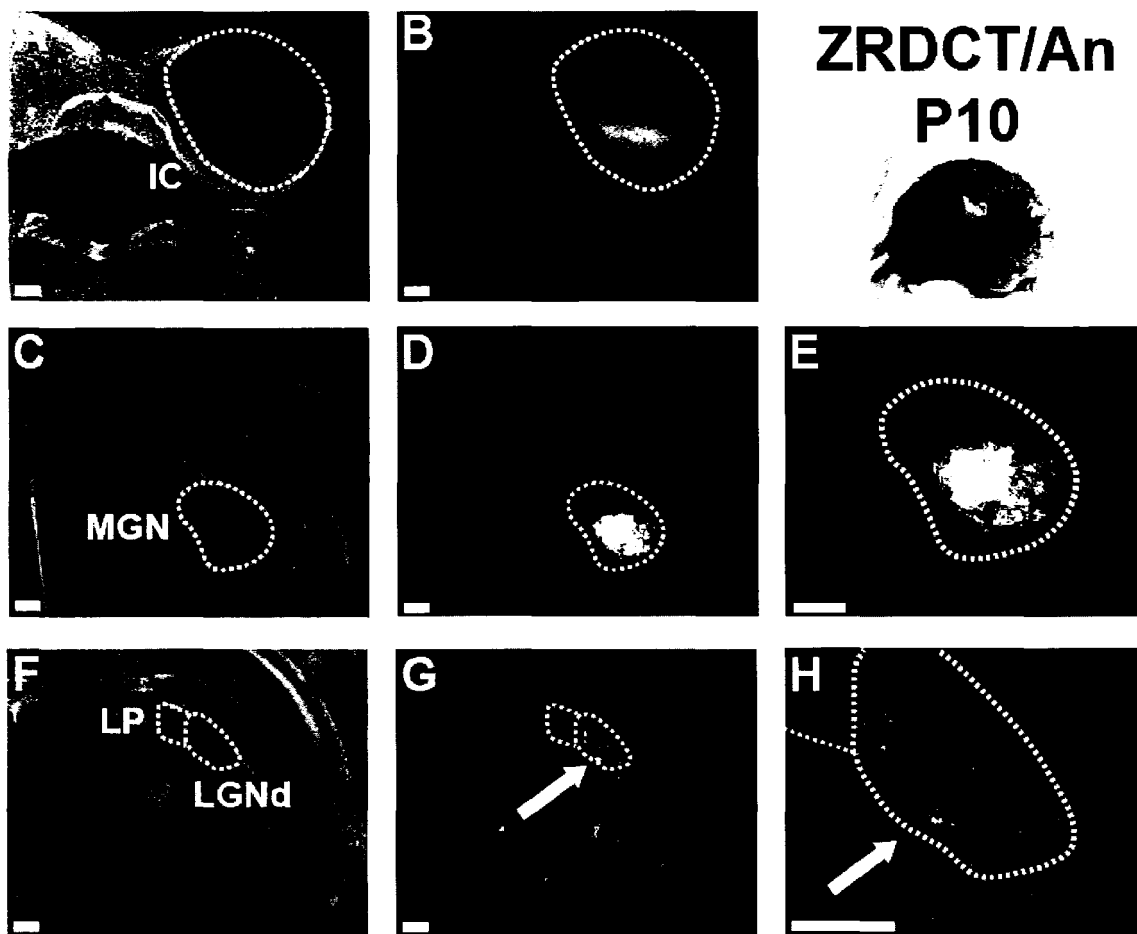


**Figure 3-8** Microphotographies du marquage des fibres auditives d'une souris anophtalmique ZRDCT/An à P7. A) Vue cytochimique du site d'insertion du traceur au niveau du CIC; B) Marquage du Dil au site d'insertion; C) Vue cytochimique du MGN; D) Marquage de l'arborisation axonale des projections de l'IC vers MGN. La portion ventrale du MGN est fortement marquée par le Dil; E) Léger grossissement du MGN; F) Vue cytochimique du LGNd et du noyau LP; G) Présence d'une fibre auditive dans le LGNd; H) Fort grossissement du LGNd et de d'une partie de LP. On peut très bien voir la fibre marquée dans le LGNd. Échelle : 100  $\mu$ m.

Les souris observées à P8 révèlent un marquage bien plus présent de fibres auditives dans le LGNd. Les axones sont plus nombreux et il est possible de voir des boutons synaptiques à fort grossissement (Fig. 3-9).



**Figure 3-9** Microphotographies du marquage des fibres auditives d'une souris anophtalmique ZRDCT/An à P8. A) Vue cytologique du site d'insertion du traceur au niveau du CIC; B) Marquage du Dil au site d'insertion; C) Vue cytologique du MGN; D) Marquage de l'arborisation axonale des projections du IC vers MGN. La portion ventrale du MGN est fortement marquée par le Dil; E) Léger grossissement du MGN; F) Vue cytologique du LGNd et du noyau LP; G) Présence de nombreuses fibres auditives dans le LGNd; H) Fort grossissement du LGNd et de LP. On arrive à voir beaucoup plus de fibres dans le LGNd qu'aux âges précédents. Cependant, le noyau LP reste vide. Échelle : 100  $\mu$ m.

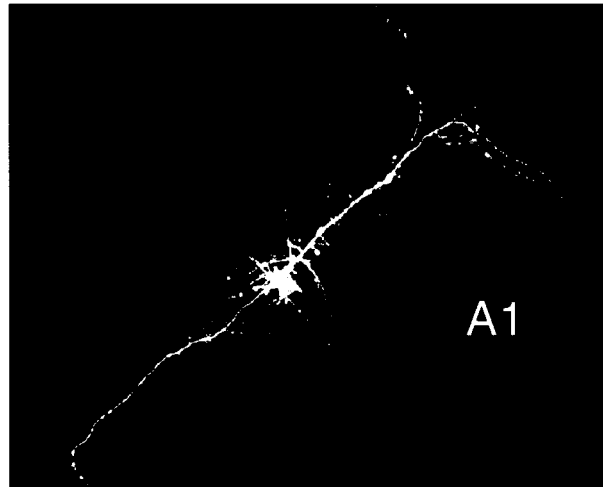


**Figure 3-10** Microphotographies du marquage des fibres auditives d'une souris anophtalmique ZRDCT/An à P10. A) Vue cytochrome du site d'insertion du traceur au niveau du CIC; B) Marquage du Dil au site d'insertion; C) Vue cytochrome du MGN; D) Marquage de l'arborisation axonale des projections du IC vers MGN. La portion ventrale du MGN est fortement marquée par le Dil; E) Léger grossissement du MGN; F) Vue cytochrome du LGNd et du noyau LP; G) Présence de nombreuses fibres auditives fortement marquées dans le LGNd; H) Fort grossissement du LGNd et d'une partie de LP. Les fibres auditives sont aussi présentes qu'à P8 et semblent avoir établi des connexions synaptiques stables. Le noyau LP est toujours vide. Échelle : 100  $\mu$ m.

Au jour P10, nous avons pu observer dans le LGNd quelques fibres auditives aussi claires et bien définies que celles retrouvées dans le MGN (Fig. 3-10). Les fibres marquées présentes au LGNd sont bien plus nombreuses que vers les jours P7 et P8. Contrairement aux sujets contrôles présentant du marquage au LGNd, aucune trace de fibres auditives n'a été retrouvée dans LP chez les souris expérimentales, tous âges confondus.

### 3.2.3 Cortex

Les fibres auditives partant du cortex auditif vers IC sont également marquées chez la souris anophtalmique (Fig. 3-11).

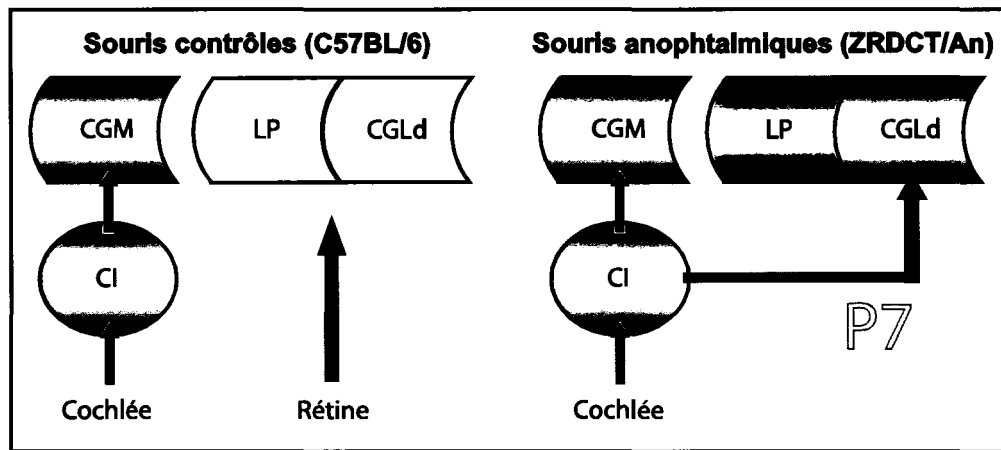


**Figure 3-11** Microphotographie d'une fibre marquée au Dil dans A1 chez une souris ZRDCT/An à P10. *En partant du collicule inférieur, le traceur a diffusé rétrogradement le long d'un axone corticofuge.*

### 3.3 Apparition de la connexion entre IC et LGNd

À la lumière de ces résultats, la connexion intermodale entre le système auditif et le système visuel semble donc s'établir dès P6 au niveau du LGNd et fait synapse à P7 (voir le Tableau 3-1 pour davantage de détails); ce lien entre IC et

LGNd est dès lors appelé à devenir une connexion fonctionnelle à part entière pour le reste de la vie de la souris anophtalmique (Fig. 3-12).



**Figure 3-12** Schématisation des connexions sensorielles chez la souris voyante et chez la souris anophtalmique ZRDCT/An. Le système auditif débute sa colonisation du système visuel à P7. Cette connexion intermodale se stabilise et perdure durant la vie adulte de la souris mutante. Schéma réalisé par l'auteur.

**Tableau 3-1** Nombre d'animaux montrant la connexion intermodale IC-LGNd

Souche et âge	Présence de fibres marquées dans LGN
<b>C57Bl/6 contrôles</b>	
P0	0 / 3
P5	0 / 3
P6	0 / 3
P7	2 / 3
P8	2 / 3
P10	0 / 3
<b>ZRDCT/An anophtalmiques</b>	
P0	0 / 5
P5	0 / 8
P6	1 / 3
P7	3 / 3
P8	4 / 4
P10	7 / 7



## **CHAPITRE 4**

### **DISCUSSION ET CONCLUSION**

Nous avons vu que l'arrivée des fibres auditives marquées dans le thalamus visuel s'effectue à la fin de la première semaine postnatale tant chez les souris contrôles que chez les souris anophtalmiques. Nos résultats suggèrent que ces fibres auditives ectopiques n'établissent une connexion permanente que chez le groupe de souris aveugles. Il semblerait que ces mêmes fibres, chez les souris voyantes, aient déjà quitté le LGNd à P10. Ces résultats nous imposent une réflexion quant aux différences dans la mise en place des réseaux de connexions neuronales sensoriels chez les sujets qui voient et ceux qui ne voient pas.

#### **Considérations techniques**

Les sujets expérimentaux n'ont pas été sélectionnés en fonction de leur sexe. À ce jour, aucune différence n'a été démontrée quant aux différences des connexions des voies visuelles ou auditives entre les sexes chez les souris. De plus, si différence il y a, le fait que les souris utilisées soient encore en développement rend négligeable les erreurs potentiellement causées par un tel paramètre.

L'analyse de nos résultats a quelque peu souffert de l'absence d'atlas se spécialisant dans le développement postnatal du cerveau chez les rongeurs. Au mieux de nos connaissances, seul le "Golgi Atlas of the Postnatal Mouse Brain" (Valverde, 1998) est présentement disponible sur le marché. Il s'agit d'un très petit atlas ne disposant que de 24 planches de cerveaux en vue frontale. Par opposition à ce manque, on retrouve sur le marché une multitude d'atlas contenant des planches de cerveaux de souris et de rats à tous les stades de l'embryogénèse et à l'âge adulte. Nous avons donc dû nous baser sur l'atlas "The Mouse Brain in Stereotaxic Coordinates" (Paxinos & Franklin, 2001) pour identifier nos structures auditives et visuelles chez nos souriceaux.

Heureusement, même chez les souriceaux nouveaux-nés, ces structures sont facilement identifiables et leurs limites aisément discernables lorsque observées au microscope.

### **Marquage au niveau du noyau LP**

Nous avons noté la présence d'un marquage au niveau du noyau LP chez nos souris contrôles et l'absence de ce dernier chez les souris mutantes. La présence de fibres auditives marquées dans ce noyau chez les souris contrôles est fort probablement due à l'exploration du territoire par les cônes de croissance, de la même façon que pour le LGNd. Nous n'aurions pas été surpris de voir un peu de marquage au noyau LP pour deux principales raisons. D'une part, la souris ZRDCT/An adulte montre une légère présence de fibres auditives à l'intérieur du LP (Robert, 2006). D'autre part, on ne retrouve des fibres auditives que dans LP et non dans le LGNd chez les souris énucléées adultes (Chabot, 2005; Robert, 2006). Cependant, le LP pourrait être colonisé un peu plus tard que le LGNd, car la plupart des structures secondaires sont souvent innervées après les primaires et ont la caractéristique d'être davantage plastiques, pour une plus longue période de temps.

### **Changements au niveau des guides axonaux**

Les chercheurs travaillant sur les guides axonaux dans le développement et la plasticité du système visuel accordent de plus en plus d'importance aux ephrines. Nous pensons aussi qu'une modification du gradient de ces molécules pourrait être en partie la cause de la colonisation du système visuel par le système auditif chez la souris anophtalmique. Ces molécules changent la signalisation de la croissance axonale au gré des stades du développement et chacune de ces molécules ont des interactions très spécifiques d'attraction et/ou de répulsion entre elles. Ces interactions sont d'autant plus complexes qu'elles changent également en fonction de leur emplacement à l'intérieur des voies sensorielles (Feldheim et al., 1998; Feldheim et al., 2000). Les gradients d'ephrines au niveau des voies sensorielles auditives et visuelles peuvent aussi

être modifiés par l'ablation de structures sous-corticales telles que IC et SC (Lyckman & Sur, 2001).

La souris ZRDCT/An, comme on le sait, n'a pas de voie rétino-géniculée. Cette voie contient habituellement un gradient d'EphA, résultant en une attirance pour les gradients d'ephrines complémentaires A2 et A5 au niveau du LGNd et d'autres structures visuelles (Fig. 1-14). Il est alors possible de supposer que, chez notre souris mutante, l'absence potentiel de ce gradient d'EphA affecte le gradient d'ephrine A2 et A5 en changeant la signalisation axonale dans son environnement proche. Le MGN, pour sa part, est riche en ephrine B3. L'interaction entre les ephrines A2/A5 et B3 crée normalement une répulsion entre le MGN et LGNd. Dans le cas de la souris ZRDCT/An, il est fort probable que la ségrégation entre les voies auditives et visuelles soit chamboulée en raison de l'absence d'une barrière d'ephrines fonctionnelle. Cette instabilité est peut-être une des causes de la colonisation des fibres auditives vers les structures visuelles. Aucune étude n'a encore été réalisée à ce sujet sur notre souris expérimentale.

### **Établissement tardif de la connexion intermodale IC-LGNd**

Nous avons été étonnés de constater l'arrivée des fibres auditives dans le LGNd vers P7 chez les souris anophtalmiques. Pourquoi les fibres en provenance de IC attendent-elles si tardivement avant de tenter une colonisation du thalamus visuel ? N'aurait-il pas été plus efficace pour IC d'envoyer des projections vers le thalamus visuel en même temps que celles destinées au MGN, soit vers E13.5 (Gurung & Fritsch, 2004) ? Ces projections, éliminées lors de l'affinement des connexions au cours d'une période avoisinant la naissance, auraient peut-être pu faire synapse au niveau du LGNd en absence d'afférences rétiniennes.

N'oublions pas que le système visuel chez la souris continue de se développer même après la naissance. Au cours de ce développement, les gradients

d'ephines présents au niveau des axones et des structures sensorielles changent (Inatani, 2005; Flanagan, 2006). Ainsi, il est bien possible que des projections non spécifiques provenant du système auditif aient déjà tenté une approche des structures visuelles au stade embryonnaire, mais sans succès.

Il est aussi possible que les projections tardives du IC vers LGNd soient le résultat d'une substitution axonale retardée. Nous avons précédemment vu, en introduction, que le mécanisme de stabilisation des connexions normalement transitoires n'est pas aussi simple qu'on pourrait le croire. Les fibres ectopiques ayant la possibilité de faire synapse avec une structure donnée sont souvent quand même éliminées, ou du moins résorbées, un peu à la manière des fibres pionnières lors du développement du système nerveux. Il est supposé que ces fibres renvoient un signal (feed-back) vers son lieu d'origine afin de confirmer la possibilité d'une connexion. Elles laissent alors le soin à d'autres fibres plus tardives de faire synapse avec la structure ciblée (Bhide & Frost, 1992).

Bien que ce phénomène ait surtout été observé pour des projections rétiniennes, nous ne rejetons pas la possibilité que des fibres auditives aient déjà exploré LGNd peu avant la naissance pour ensuite envoyer de nouvelles fibres mieux préparées à faire synapse avec le thalamus visuel. Cependant, les fibres transitoires sont presque immédiatement remplacées dans le cas de l'étude précédente. Dans notre étude, comme nous n'avons pas retrouvé de fibres à P0 et à P5, il aurait fallu au moins 7 jours entre la résorption des fibres pionnières (supposons, au mieux, le jour précédant la naissance) et l'apparition des fibres auditives formant la connexion avec LGNd (P6). Malgré cela, nous n'excluons pas la possibilité que des fibres auditives aient pu explorer LGNd avant la naissance. Ce point pourrait être clarifié en étendant cette étude à des animaux de multiples âges embryonnaires.

On retrouve un très grand nombre d'études traitant de la plasticité intermodale. Malheureusement, la très grande majorité de ces études concerne le plus

souvent la colonisation par le système visuel d'autres modalités, suite à l'ablation d'afférences ou de cibles somatosensorielles ou auditives. Par exemple, une étude a montré que, chez le hamster, des fibres d'origine rétinienne persistantes jusqu'à P4 dans le thalamus somatosensoriel, avant d'être éliminées (Langdon & Frost, 1991). Cette connexion entre les fibres rétiniennes du IOT et le complexe ventro-basal est toutefois stabilisée lorsque les principales cibles rétiniennes normales sont détruites (Frost, 1986).

En temps normal, les collatérales des fibres du IOT projetant vers les autres modalités dégénèrent mais, en absence de cibles normales, ces collatérales sont renforcées ainsi que d'autres afférences rétiniennes projetant vers le noyau LP. Le système de la vision semble donc utiliser ses collatérales du IOT pour coloniser le thalamus somatosensoriel, de la même façon que le système auditif utilise les fibres du IC pour coloniser le thalamus visuel.

Plusieurs travaux réalisés sur la colonisation par le système auditif du système visuel existent, mais ces derniers se limitent généralement au niveau cortical sans explorer les mécanismes sous-corticaux. En effet, les rares études faisant mention de l'établissement d'une connexion intermodale entre IC et LGNd dans un contexte développemental font plutôt référence à la stabilisation de connexions transitoires présentes depuis le stade embryonnaire et non pas de nouvelles fibres arrivant après la naissance. Ces travaux concernent le rat-taupe (Bronchti et al., 1989) et le hamster énucléé à la naissance (Izraeli et al., 2002).

Les travaux de Bronchti *et al.* (1989) ont montré, chez le rat-taupe, une activation du LGN par des stimuli auditifs. Suite à cette étude, Doron & Wollberg (1994) ont pu montrer que cette connexion intermodale chez le rat-taupe provenait de nombreuses fibres collatérales issues de la connexion entre IC et MGN.

Plus tard, une étude s'est basée sur les résultats précédemment obtenus chez le rat-taupe pour vérifier si le chemin emprunté par les stimuli auditifs vers le cortex visuel était le même chez les hamsters énucléés (Izraeli et al., 2002). L'injection d'un traceur d'agglutinine de germe de blé jumelé à la peroxydase de raifort (WGA-HRP) au niveau du LGNd a permis l'observation, chez ces animaux énucléés, de cellules rétrogradement marquées à l'intérieur du IC.

Des traçages au WGA-HRP dans les aires occipitales de ces animaux ont résultés en un fort marquage rétrograde et antérograde du LGNd ipsilatéral et du noyau LP. Les connexions réciproques entre LGNd et le cortex sont toujours conservées; cela a été démontré chez le hamster énucléé (Rhoades & Fish, 1983), la souris ZRDCT/An (Kaiserman-Abramov et al., 1980) et le rat-taupe (Heil et al., 1991). Cela suggère une très grande stabilité de ce système de projections. Contrairement à la souris ZRDCT/An, le rat-taupe naît avec des connexions rétino-fuges normales mais réduites. Il est intrigant de noter que, malgré des milliers d'années après que leurs ancêtres aient décidé d'adopter un style de vie souterrain, la connexion entre la rétine et LGNd existe encore pendant les deux premières semaines postnatales chez les nouveaux-nés (Bronchti et al., 1991). Cette connexion transitoire dégénère ensuite graduellement, laissant le LGNd libre de recevoir des fibres auditives.

L'origine de la connexion entre IC et LGNd est-elle la même chez tous ces différents modèles animaux ? Il est possible d'assumer que les stimuli auditifs relayés au cortex visuel chez les animaux énucléés comme chez le rat-taupe passent effectivement par la connexion normale entre LGNd et le cortex visuel (Heil et al., 1991; Bronchti et al., 2002; Sadka & Wollberg, 2004). Toutefois, la latence des cellules auditives dans le cortex visuel variait considérablement par rapport aux cellules du cortex auditif, dans l'expérience des hamsters énucléés. Cela suggère plus d'une origine des informations auditives vers les centres visuels, impliquant un circuit sous-cortical relativement complexe.

Les fibres rétrogrades en provenance du LGNd dans les travaux réalisés sur le rat-taupe montraient un marquage clair et précis au niveau de CIC. L'application subséquente de traceur au CIC résultait en un marquage très intense des fibres antérogrades vers le LGNd (Doron & Wollberg, 1994). Il est donc fortement supposé que la plupart des fibres auditives présentes dans le LGNd des rat-taupes proviennent soit d'arborisations terminales très denses en provenance de IC, soit de fortes collatérales de la connexion IC-MGN colonisant le système visuel, ou les deux. Chez les hamsters aveugles, le marquage rétrograde des fibres de la connexion LGNd-IC et le marquage rétrograde et antérograde de la connexion entre LGNd et le cortex visuel étaient très semblables à ce qui avait été montré chez le rat-taupe. Il est donc raisonnable de penser que le mécanisme de colonisation du système visuel par le système auditif chez ces deux rongeurs aveugles, un naturellement, l'autre expérimentalement, est similaire.

Les connexions aberrantes d'origine cortico-corticale ne sont pas pour autant à négliger. En effet, il a très récemment été montré qu'il existait, chez l'opposum énucléé à P4, une projection originant de A1 vers V1 (Karlen et al., 2006). La présence d'une telle connexion ectopique chez notre modèle animal laisse planer la possibilité que cette connexion entre A1 et V1 puisse mettre en œuvre des mécanismes Hebbien qui stabiliseraient la projection de IC vers le LGNd. En effet, des mécanismes de renforcement engendrés par un phénomène de compétition des afférences pour une même cible, pourraient hypothétiquement être impliqués. En sollicitant V1 pour s'y projeter, des fibres en provenance de A1 entrerait en compétition avec des fibres du LGNd pour faire synapse dans l'aire visuelle. La connectivité entre V1 et LGNd est affectée par l'énucléation bilatérale chez l'opposum (diminution du nombre de cellules rétrogradement marquées par rapport aux contrôles); une projection A1-V1 pourrait donc faciliter la stabilisation de la projection IC-LGNd chez la souris ZRDCT/An.

Nous avons donc pu constater que nos résultats, supportant l'hypothèse de départ voulant que l'apparition d'une nouvelle connexion tardive se stabilise chez la souris ZRDCT/An, diffèrent des autres cas semblables dans la littérature. Cependant, l'arrivée simultanée de fibres auditives exploratrices dans le LGNd chez les souris expérimentales et contrôles à P7 semble tout de même indiquer que la connexion entre IC et LGNd, chez la souris ZRDCT/An, est effectivement le résultat d'une stabilisation des connexions synaptiques entre les fibres auditives de passage et le LGNd.

### **Conclusion**

La présente étude a montré que la souris anophtalmique ZRDCT/An est un modèle pertinent et unique en son genre pour l'étude de la plasticité intermodale. Chez cette souris, le collicule inférieur établit une connexion durable avec le corps géniculé latéro-dorsal à partir du sixième jour postnatal. Cette connexion normalement transitoire est dans ce cas-ci stabilisée, probablement en raison de l'absence de fibres rétinienne au niveau du thalamus visuel. Une caractérisation des ephrines au niveau du thalamus visuel et de la voie auditive lemniscale de la souris mutante permettrait probablement de mieux comprendre les bases sur lesquels la connexion IC-LGNd s'installe et se stabilise.



## BIBLIOGRAPHIE

- Angelucci A., Clasca F. & Sur M. (1998) Brainstem inputs to the ferret medial geniculate nucleus and the effect of early deafferentation on novel retinal projections to the auditory thalamus. *J. Comp. Neurol.*, 400, 417-439.
- Antolina I.M., Jones H.E., Wang W., Sillito A.M. (2007) Corticothalamic feedback enhances stimulus response precision in the visual system. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.*, 104, 1695-1690.
- Bavelier D., Tomann A., Hutton C., Mitchell T., Corina D., Liu G. & Neville H. (2000) Visual attention to the periphery is enhanced in congenitally deaf individuals. *J. Neurosci.*, 20, RC93.
- Bavelier D. & Neville H.J. (2002) Cross-modal plasticity : Where and how? *Nature Reviews Neuroscience*, 3, 443-452
- Bear, M.F, Connors, B.W & Paradiso, M.A. (2002), *Neurosciences : À la découverte du cerveau*, Éditions Pradel, Paris.
- Bhide P.G. & Frost D.O. (1992) Axon substitution in the reorganization of developing neural connections. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 15, 11847-11851.
- Bickford M.E. & Hall W.C., (1989) Collateral projection of predorsal bundle cells of the superior colliculus in the rat. *J. Comp.Neurol.*, 283, 86-106.
- Bronchti G., Heil P., Scheich H. & Wollberg Z. (1989) Auditory pathway and auditory activation of primary visual targets in the blind mole rat (*Spalax ehrenbergi*): I. 2-deoxyglucose study of subcortical centers. *J. Comp. Neurol.*, 284, 253-274.
- Bronchti G., Rado R., Terkel J. & Wollberg Z. (1991) Retinal projections in the blind mole rat: a WGA-HRP tracing study of a natural degeneration. *Brain. Res. Dev. Brain Res.*, 58, 159-170.
- Bronchti G., Heil P., Sadka R., Hess A., Scheich H. & Wollberg Z. (2002) Auditory activation of "visual" cortical areas in the blind mole rat (*Spalax ehrenbergi*). *Eur. J. Neurosci.*, 16, 311-329.
- Burton H., Snyder 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. *J. Neurophysiol.*, 88, 3359-3371.
- Calford M.B., Wang C., Taglianetti V., Waleszczyk W.J., Burke W., Dreher B. (2000) Plasticity in adult cat visual cortex (area 17) following circumscribed monocular lesions of all retinal layers. *J. Physiol.*, 524, 587-602.

- Cant N.B. (1998) Structural development of the mammalian central auditory pathways. In: Rudel E.D., Popper A.N., Fay R.R., editors. *Development of the auditory system*. New York: Springer.
- Carter-Dawson L.D. & LeVail M.W. (1979) Rods and cones in the mouse retina. II. Autoradiographic analysis of cell generation using tritiated thymidine. *J. Comp. Neurol.*, 188, 263-272.
- Cavalcante L.A, Garcia-Abreu J., Moura Neto V., Silva L.C, Weissmuller G. (2002) Modulators of axonal growth and guidance at the brain midline with special reference to glial heparan sulfate proteoglycans. *An. Acad. Bras. Cienc.*, 74, 691-716.
- Chabot N., Piché M., Robert S. & Bronchti G. (2005) Anophthalmia, enucleation and environment affect differently the extent of the sensory compensation in mice. 35th annual meeting of Society for Neuroscience, Washington (USA), November 12-16 2005.
- Chase H.B. Chase E.B. (1941) Studies on an anophthalmic strain of mice. I. Embryology of the eye region. *J. Morphol.*, 68, 279-301.
- Chase H.B. (1945) Studies on a anophthalmic strain of mice: V. Associated cranial nerves and brain centers. *J. Comp. Neurol.*, 83.121-139.
- 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.
- Clarke S. & Innocenti G.M. (1990) Auditory neurons with transitory axons to visual areas form short permanent projections. *Eur. J. Neurosci.*, 2, 227-242
- Cohen L.G., Celnik P., Pascual-Leone A., Corwell B., Falz L., Dambrosia J., Honda M., Sadato N., Gerloff C., Catala M.D. & Hallett M. (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. *Ann. Neurol.*, 45, 451-460.
- Coleman J.R. & Clerici W.J. (1987) Sources of projections to subdivisions of the inferior colliculus in the rat. *J. Comp. Neurol.*, 262, 215-226.
- Deschenes M., Bourassa J. & Pinault D. (1994) Corticothalamic projections from layer V cells in rat are collaterals of long-range corticofugal axons. *Brain Res.*, 664, 215-9.

- Donnelly J.F., Thompson S.M. & Robertson R.T. (1983) Organization of projections from the superior colliculus to the thalamic lateral posterior nucleus in the rat. *Brain Res.*, 288, 315-319.
- Doron N. & Wollberg Z. (1994) Cross-modal neuroplasticity in the blind mole rat *Spalax ehrenbergi*: a WGA-HRP tracing study. *Neuroreport*, 5, 2697-2701.
- Dreschner U., Kremoser, C., Handwerker, C., Loschinger, J., Noda, M. & Bonhoeffer, F. (1995) *In vitro* guidance of retinal ganglion cell axons by RAGs, a 25 kDa tectal protein related to ligands for Eph receptor tyrosine kinases. *Cell* 82, 359-370.
- Druga R. & Syka J. (1984) Ascending and descending projections to the inferior colliculus in the rat. *Physiol. Bohemoslov.*, 33, 31-42.
- Edwards M.A., Schneider G.E. & Caviness V.S.Jr. (1986) Development of the crossed retinocollicular projection in the mouse. *J. Comp. Neurol.*, 248, 410-421.
- Falchier A, Clavagnier S, Barone P, Kennedy H. (2002) Anatomical evidence of multimodal integration in primate striate cortex. *J. Neurosci.*, 22, 5749-5759.
- Faradji H. Cespuglio R., Rondot G., Paut L., & Jouvet M. (1980) Absence of light-dark entrainment on the sleep-waking cycle in mice with intact visual perception. *Brain Res.*, 202(1), 41-49.
- Feldheim D.A., Vanderhaeghen P., Hansen M.J., Frisen J., Lu Q., Barbacid M. & Flanagan J.G. (1998) Topographic guidance labels in a sensory projection to the forebrain. *Neuron*, 21, 1303-1313.
- Feldheim D.A., Kim Y.I., Bergemann A.D., Frisen J., Barbacid M & Flanagan J.G. (2000) Genetic analysis of ephrine-A2 and ephrine-A5 shows their requirement in multiple aspects of retinocollicular mapping. *Neuron*, 25, 563-574.
- Finney E.M., Fine I. & Dobkins K.R. (2001) Visual stimuli activate auditory cortex in the deaf. *Nat. Neurosci.*, 4, 1171-1173.
- Flanagan J.G. (2006) Neural map specification by gradients. *Curr. Opin. Neurobiol.*, 16, 59-66.
- Fritsch B. & Nichols D.H. (1993) Dil reveals a prenatal arrival of efferents at the differentiating otocyst of mice. *Hear Res.*, 65, 51-60.
- Fritsch B., Farinas I. & Reichardt L.F. (1997) Lack of neurotrophin 3 causes losses of both classes of spiral ganglion neurons in the cochlea in a region-specific fashion. *J. Neurosci.*, 17, 6213-6225.

- Frost D.O. (1986) Development of anomalous retinal projections to nonvisual thalamic nuclei in Syrian hamsters: a quantitative study. *J Comp Neurol.*, 252, 95-105.
- Frost, D.O. (1988) Cellular thalamic mechanisms (Elsevier, Amsterdam), 447-464.
- Frost D.O., Boire D., Gingras G. & Ptito M. (2000) Surgically created neural pathways mediate visual pattern discrimination. *Proc. Natl. Acad. Sci. U S A*, 97, 11068-11073.
- Gabriele M.L., Brunso-Bechtold J.K. & Henkel C.K. (2000) Plasticity in the development of afferent patterns in the inferior colliculus of the rat after unilateral cochlear ablation. *J. Neurosci.*, 20, 6939-6949.
- Gao W.J. & Pallas S.L. (1999) Cross-modal reorganization of horizontal connectivity in auditory cortex without altering thalamocortical projections. *J. Neurosci.*, 19, 7940-7950.
- Garraghty P.E. & Sur M. (1990) Morphology of single intracellularly stained axons terminating in area 3b of macaque monkeys. *J. Comp. Neurol.*, 294, 583-593.
- Godement P., Saillour P. & Imbert M. (1979) Thalamic afferents to the visual cortex in congenitally anophthalmic mice. *Neurosci. Lett.*, 13, 271-278.
- Godement P., Saillour P., Imbert M. (1980) The ipsilateral optic pathway to the dorsal lateral geniculate nucleus and superior colliculus in mice with prenatal or postnatal loss of one eye. *J. Comp. Neurol.*, 190, 611-626.
- Godement P, Salaun J. & Imbert M. (1984) Prenatal and postnatal development of retinogeniculate and retinocollicular projections in the mouse. *J. Comp. Neurol.* 230, 552-575.
- Godement P., Vanselow J., Thanos S. & Bonhoeffer F. (1987) A study in developing visual systems with a new method of staining neurones and their processes in fixed tissue. *Development*, 101, 697-713.
- Goldreich D. & Kanics I.M. (2003) Tactile acuity is enhanced in blindness. *J. Neurosci.*, 23, 3439-3445.
- Goodale M.A., Foreman N.P., Milner A.D. (1978) Visual orientation in the rat: a dissociation of deficits following cortical and collicular lesions. *Exp. Brain Res.*, 31, 445-457.
- Guillery R.W., Mason C.A. & Taylor J.S. (1995) Developmental determinants at the mammalian optic chiasm. *J. Neurosci.*, 15, 4727-4737.

- Gurung B. & Fritzsch B. (2004) Time course of embryonic midbrain and thalamic auditory connection development in mice as revealed by carbocyanine dye tracing. *J. Comp. Neurol.*, 479, 309-327.
- Harrington M.E. & Russak B. (1989) Ablation of the geniculo-hypothalamic tract alters circadian activity rhythms hamsters housed under constant light. *Physiol. And Behav.*, 42, 183-189.
- Hebb D.O. (1949) The organization of behaviour. John Wiley & Sons, New-York.
- Heil P., Bronchti G., Wollberg Z. & Scheich H. (1991) Invasion of visual cortex by the auditory system in the naturally blind mole rat. *Neuroreport*, 2, 735-738.
- Honig M.G. & Hume R.I. (1986) Fluorescent carbocyanine dyes allow living neurons of identified origin to be studied in long-term cultures. *J. Cell Biol.*, 103, 171-87.
- Hong Y.M. & Thanos S. (1996) A quantitative approach to identify and isolate pure populations of fluorescently labeled adult retinal ganglion cells using a pressure-driven microaspiration technique. *Neurosci Lett.*, 214, 111-114.
- Horsburgh G.M. & Sefton A.J. (1986) The early development of the optic nerve and chiasm in embryonic rat. *J. Comp. Neurol.*, 243, 547-566.
- Hsiao K. (1984) Bilateral branching contributes minimally to the enhanced ipsilateral projection in monocular Syrian golden hamsters. *J. Neurosci.*, 4, 368-373.
- Hubel D.H. & Wiesel T.N. (1961) Integrative action in the cat's lateral geniculate body. *J. Physiol.*, 155, 385-398.
- Hubel D.H. & Wiesel T.N. (1965) Binocular interaction in striate cortex of kittens reared with artificial squint. *J. Neurophysiol.*, 28, 1041-59.
- Hunt D.L., King B., Kahn D.M., Yamoah E.N., Shull G.E. & Krubitzer, L. (2005) Aberrant retinal projections in congenitally deaf mice: how are phenotypic characteristics specified in development and evolution? *Anat. Rec. A. Discov. Mol. Cell. Evol. Biol.*, 287, 1051-1066.
- Inatani M. (2005) Molecular mechanisms of optic axon guidance. *Naturwissenschaften*, 92,549-561.
- Innocenti G.M. & Caminiti R. (1980) Postnatal shaping of callosal connections from sensory areas. *Exp. Brain Res.*, 38, 381-94.
- 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.
- Jain N., Florence S.L., Qi HX. & Kaas J.H. (2000) Growth of new brainstem connections in adult monkeys with massive sensory loss. *Proc. Natl. Acad. Sci. U S A.*, 97, 5546-5550.
- Jia L., Cheng L. & Raper J. (2005) Slit/Robo signaling is necessary to confine early neural crest cells to the ventral migratory pathway in the trunk. *Dev. Biol.* 282, 411-421.
- Kaiserman-Abramof I.R., Graybiel A.M. & Nauta W.J. (1980) The thalamic projection to cortical area 17 in a congenitally anophthalmic mouse strain. *Neuroscience*, 5, 41-52.
- Kandler K. & Friauf E. (1993) Pre- and postnatal development of efferent connections of the cochlear nucleus in the rat. *J. Comp. Neurol.*, 328, 161-184.
- Karlen S.J., Kahn D.M. & Krubitzer, L. (2006) Early blindness results in abnormal corticocortical and thalamocortical connections. *Neuroscience*, 142, 843-858.
- Kobbert C., Apps R., Bechmann I., Lanciego J.L., Mey J. & Thanos S. (2000) Current concepts in neuroanatomical tracing. *Prog. Neurobiol.*, 62, 327-351.
- Kohn G., el Shawwa R. & el Rayyes E. (1988) Isolated "clinical anophthalmia" in an extensively affected Arab kindred. *Clin. Genet.*, 33, 321-324.
- Kudo M., Moriya M. & Mizuno N. (1997) Auditory projections from the IC to the SCN by way of the LG in the mole, *Mogera*. *Neuroreport*, 8, 3405-3409.
- Kujala T., Alho K., Huotilainen M., Ilmoniemi R.J., Lehtokoski A., Leinonen A., Rinne T., Salonen O., Sinkkonen J., Standertskjold-Nordenstam C.G. & Naatanen R. (1997) Electrophysiological evidence for cross-modal plasticity in humans with early- and late-onset blindness. *Psychophysiology*, 34, 213-216.
- Langdon R.B. & Frost, D.O. (1991) Transient retinal axon collaterals to visual and somatosensory thalamus in neonatal hamsters. *J. Comp. Neurol.*, 310, 200-214.
- Leake P.A., Snyder R.L. & Hradek G.T. (2002) Postnatal refinement of auditory nerve projections to the cochlear nucleus in cats. *J. Comp. Neurol.*, 448, 6-27.
- Lent R. & Mendez-Otero R. (1980) Plasticity of the ipsilateral retinotectal projection in early enucleated opossums: changes in retinotopy and magnification factors. *Neurosci. Lett.*, 18, 37-43.

- Lessard N., Paré M., Lepore F. & Lassonde M. (1998) Early-blind human subjects localize sound sources better than sighted subjects. *Nature*, 395, 278-280.
- Levanen S. & Hamdorf D. (2001) Feeling vibrations: enhanced tactile sensitivity in congenitally deaf humans. *Neurosci. Lett.*, 301, 75-77.
- Linden R. & Perry V.H. (1983) Massive retinotectal projection in rats. *Brain Res.*, 272, 145-149.
- Ling C., Schneider G.E., Northmore D. & Jhaveri S. (1997) Afferents from the colliculus, cortex, and retina have distinct terminal morphologies in the lateral posterior thalamic nucleus. *J. Comp. Neurosci.*, 24, 467-483.
- Liotti M., Ryder K. & Woldorff M.G. (1998) Auditory attention in the congenitally blind: where, when and what gets reorganized? *Neuroreport*, 9, 1007-1012
- Livesey F.J. & Hunt S.P., (1997); Netrin and netrin receptor expression in the embryonic mammalian nervous system suggests roles in retinal, striatal, nigral, and cerebellar development. *Mol. Cell Neurosci.*, 8, 417-429.
- Lund R.D., Cunningham T.J. & Lund J.S. (1973) Modified optic projections after unilateral eye removal in young rats. *Brain Behav. Evol.*, 8, 51-72.
- Lund R.D. & Bunt A.H. (1976) Prenatal development of central optic pathways in albino rats. *J. Comp. Neurol.*, 165, 247-264.
- Lyckman A.W., Jhaveri S., Feldheim D.A., Vanderhaeghen P., Flanagan J.G. & Sur M. (2001) Enhanced plasticity of retinothalamic projections in an ephrine-A2/A5 double mutant. *J. Neurosci.*, 21, 7684-7690.
- Lyon D.C., Jain N. & Kaas, J.H. (2003) The visual pulvinar in tree shrews II. Projections of four nuclei to areas of visual cortex. *J. Comp. Neurol.*, 467, 607-627.
- Macaluso E., Frith C.D. & Driver J. (2000) Modulation of human visual cortex by crossmodal spatial attention. *Science*, 289, 1206-1208.
- Mackay-Sim A., Sefton A.J. & Martin P.R. (1983) Subcortical projections to lateral geniculate and thalamic reticular nuclei in hooded rat. *J. Comp. Neurol.*, 213, 24-35.
- Mason R. & Groos G.A. (1981) Cortico-recipient and tecto-recipient visual zones in the rat's lateral posterior (pulvinar) nucleus: an anatomical study. *Neurosci. Lett.*, 25, 107-112.

- Meredith M.A. & Stein B.E. (1986) Visual, auditory, and somatosensory convergence on cells in superior colliculus results in multisensory integration. *J. Neurophysiol.*, 56, 640-662.
- 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. *J. Comp. Neurol.*, 224, 591-605.
- Mey J. & Thanos S. (1993) Development of the visual system of the chick: a review. *J. Hirnforsch.*, 33,673-702.
- Mikkelsen J.D., Cozzi B. & Moller M. (1991) Efferent projections from the lateral geniculate nucleus to the pineal complex of the Mongolian gerbil (*Meriones unguiculatus*). *Cell Tissue Res.*, 264, 95-102.
- Mikkelsen J.D. & Moller M. (1990) A direct neural projection from the intergeniculate leaflet of the lateral geniculate nucleus to the deep pineal gland of the rat, demonstrated with *Phaseolus vulgaris*-leucoagglutinin. *Brain Res.*, 520, 342-346.
- Miller B., Chou L. & Finlay B.L. (1993) The early development of thalamocortical and corticothalamic projections. *J. Comp. Neurol.*, 335, 16-41.
- Mogilner A., Grossman J.A., Ribary U., Juliot M., Volkmann J. Rapaport D., Beasley R.W. & Llinas R.R. (1993) Somatosensory cortical plasticity in adult humans revealed by magnetoencephalography. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 90, 3593-3597.
- Molnar Z., Higashi S. & Lopez-Bendito G. (2003) Choreography of early thalamocortical development. *Cereb. Cortex*, 13, 661-669.
- Mooney R.D. & Rhoades R.W. (1983) Neonatal enucleation alters functional organization in hamster's lateral posterior nucleus. *Brain Res.*, 285, 399-404.
- Moore R.Y. & Card J.P. (1994) Intergeniculate leaflet: an anatomically and functionally distinct subdivision of the lateral geniculate complex. *J. Comp. Neurol.*, 344, 403-430.
- Negyessy L., Gal V., Farkas T. & Toldi J. (2002) Cross-modal plasticity of the corticothalamic circuits in rats enucleated on the first postnatal day. *Eur. J. Neurosci.*, 12, 1654-1668.
- Ni S.Y.K. & Dreher B. (1981) Morphology of the rat ganglion cells projecting to the thalamus and midbrain. *Proc. Austr. Physiol. Pharmacol. Soc.*, 12, 97P.
- Niclou S.P., Ehlert E.M. & Verhaagen J. (2006) Chemorepellent axon guidance molecules in spinal cord injury. *J. Neurotrauma.*, 23, 409-421



- Nieuwenhuys R., Voogd J. & vanHuijzen, C. (1988) *The human central nervous system, 3<sup>rd</sup> edition*, Springer-Verlag, Berlin.
- Olavarria J. & Van Sluyters R.C. (1983) Widespread callosal connections in infragranular visual cortex of the rat. *Brain Res.*, 279, 233-237.
- Pallas S.L., Littman T. & Moore D.R. (1999) Cross-modal reorganization of callosal connectivity without altering thalamocortical projections. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 96, 8751-8756.
- Pallas S.L., Roe A.W. & Sur M. (1990) Visual projections induced into the auditory pathway of ferrets. I. Novel inputs to primary auditory cortex (AI) from the LP/pulvinar complex and the topography of the MGN-AI projection. *J. Comp. Neurol.*, 298, 50-68.
- Pasterkamp R.J. & Verhaagen J. (2006) Semaphorins in axon regeneration: developmental guidance molecules gone wrong? *Philos. Trans. R. Soc. Lond. B Biol. Sci.*, 361, 1499-511.
- Payne B.R. (1992) Development of the auditory cortex. Romand R., editor. *Development of the auditory and vestibular systems 2*. Amsterdam: Elsevier. p. 357-390.
- Paxinos G.E. & Franklin K.B.J. (2001) *The mouse brain in stereotaxic coordinates, 2<sup>nd</sup> edition*, Academic Press, San Diego.
- Penfield 1950 W. & Rasmussen T. (1950) *The cerebral cortex of man. A clinical study of localization of function*. Macmillan, New-York.
- 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.
- Proksch J. & Bavelier D. (2002) Changes in the spatial distribution of visual attention after early deafness. *J. Cogn. Neurosci.*, 14, 687-701.
- Rakic P. (1981) Development of visual centers in the primate brain depends on binocular competition before birth. *Science*, 214, 928-931.
- Redgrave P. & Dean P. (1981) Gnawing and changes in reactivity produced by microinjections of picrotoxin into the superior colliculus of rats. *Psychopharmacology*, 75, 198-203.
- Reese B.E. (1984) The projection from the superior colliculus to the dorsal lateral geniculate nucleus in the rat. *Brain Res.*, 305, 162-168.

- Reichenbach A. & Robinson S.R. (1995) Phylogenetic constraints on retinal organization and development. *Prog. Retin. Eye Res.*, 15, 139-171.
- Rezak M., Benevento L.A. (1979) A comparison of the organization of the projections of the dorsal lateral geniculate nucleus, the inferior pulvinar and adjacent lateral pulvinar to primary visual cortex (area 17) in the macaque monkey. *Brain Res.*, 167, 19-40.
- Rhoades R.W. & Fish S.E. (1983) Bilateral enucleation alters visual callosal but not corticotectal or corticogeniculate projections in hamsters. *Exp. Brain Res.*, 51, 451-462
- Robert S. (2006) Étude des connexions neuronales entre les systèmes visuel et auditif dans le cerveau de rongeurs aveugles. *Mémoire de maîtrise, Université du Québec à Trois-Rivières.*
- Rockland K.S. & Ojima H. (2003) Multisensory convergence in calcarine visual areas in macaque monkeys. *Int. J. Psychophysiol.*, 50, 661-669.
- Robinson S.R. & Dreher B. (1990) The visual pathways of eutherian mammals and marsupials develop according to a common timetable. *Brain Behav. Evol.*, 36, 177-195.
- Rubel E.W. & Fritzsche B. (2002) Auditory system development: primary auditory neurons and their targets. *Annu. Rev. Neurosci.*, 25, 51-101.
- Sadato N., Pascual-Leone A., Grafman J., Ibanez V., Deiber M.P., Dold G. & Hallett M. (1996) Activation of the primary visual cortex by Braille reading in blind subjects. *Nature*, 380, 526-528.
- Sadato N., Okada T., Honda M. & Yonekura Y. (2002) Critical period for cross-modal plasticity in blind humans: a functional MRI study. *Neuroimage*, 16, 389-400.
- Sadka R.S. & Wollberg, Z. (2004) Response properties of auditory activated cells in the occipital cortex of the blind mole rat: an electrophysiological study. *J. Comp. Physiol.*, 190, 403-413.
- Sherman S.M. & Koch C. (1986) The control of retinogeniculate transmission in the mammalian geniculate lateral nucleus. *Exp. Brain Res.*, 63, 1-20.
- Sillito A.M. & Jones H.E. (2002) Corticothalamic interactions in the transfer of visual information. *Philos. Trans. R. Soc. Lond. B. Biol. Sci.*, 357, 1739-1752.
- Simmons P.A., Lemmon V., Pearlman A.L. (1982) Afferent and efferent connections of the striate and extrastriate visual cortex of the normal and reeler mouse. *J. Comp. Neurol.*, 211, 295-308.

- Sprague J.M. (1991) The role of the superior colliculus in facilitating visual attention and form perception. *Proc. Nat. Ac. Sc. USA*, 88, 1286-1290.
- Steriade M. & Llinas R.R. (1988) The functional states of the thalamus and the associated neuronal interplay. *Physiol. Rev.* 68, 649-742.
- Sur M., Pallas S.L. & Roe R.W. (1990) Cross-modal plasticity in cortical development: differentiation and specification of sensory neocortex. *Trends Neurosci.*, 13, 227-233.
- Taylor A.M., Jeffery G. & Lieberman A.R. (1986) Subcortical afferent and efferent connections of the superior colliculus in the rat and comparisons between albino and pigmented strains. *Exp. Brain. Res.*, 62, 131-142.
- Tessier-Lavigne M. (1995) Eph receptor tyrosine kinases, axon repulsion, and the development of topographic maps. *Cell*, 82, 345-348.
- Tessier-Lavigne M. & Goodman C.S. (1996) The molecular biology of axon guidance. *Science*, 274, 1123-1133.
- Thanos S., Kacza J., Seeger J. & Mey J. (1994) Old dyes for new scopes: the phagocytosis-dependent long-term fluorescence labelling of microglial cells in vivo. *Trends Neurosci.*, 17, 177-182.
- Thong I.G. & Dreher B. (1986) The development of the corticotectal pathway in the albino rat. *Dev. Brain Res.*, 25, 227-238.
- Toga A.W. & Collins R.C. (1981) Metabolic response of optic centers to visual stimuli in the albino rat: anatomical and histological consideration. *J. Comp. Neurol.*, 199, 443-464.
- 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.
- Valverde F. (1998) Golgi Atlas of the Postnatal Mouse Brain, Springer-Verlag, Berlin.
- Vanselow J., Thanos S., Godement P., Henke-Fahle S. & Bonhoeffer F. (1989) Spatial arrangement of radial glia and ingrowing retinal axons in the chick optic tectum during development. *Brain Res. Dev. Brain. Res.*, 45, 15-27.
- Veenman C.L., Reiner A., & Honig M.G. (1992) Biotinylated dextran amine as an anterograde tracer for single- and double-labeling studies. *J. Neurosci. Methods*, 41, 239-254.

- Voronina V.A., Kozhemyakina E.A., O'Kernick C.M., Kahn N.D., Wenger S.L., Linberg J.V., Schneider A.S. & Mathers P.H. (2004) Mutations in the human RAX hemeobox gene in a patient with anophthalmia and sclerocornea. *Hum. Mol. Genet.*, 13, 315-322.
- Webber A. & Raz Y. (2006) Axon guidance cues in auditory development. *Anat. Rec. A. Discov. Mol. Cell. Evol. Biol.*, 288, 390-6.
- Weeks R., Horwitz D., Aziz-Sultan A., Tian B., Wessinger C.M., Cohen L.G., Hallett M. & Rauschecker J.P. (2000) A positron emission tomographic study of auditory localization in the congenitally blind. *J. Neurosci.*, 20, 2664-2672.
- 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.
- Wolf-Heidegger G. (2000) *Atlas of human anatomy, 5<sup>th</sup> edition*, Petra Köpf-Maier, Berlin.
- Wurtz R.H., Goldberg M.E. & Robinson D.L. (1982) Brain mechanisms of visual attention. *Sci. Am.*, 246, 124-135.
- Zimmerman R.P., Polley E.H. & Fortney R.L. (1988) Cell birthdays and rate of differentiation of ganglion and horizontal cells of the developing cat's retina. *J. Comp. Neurol.*, 274, 77-90.

## **ANNEXE A**

### **LISTE ET EFFETS DES ANALGÉSIFIQUES**

#### **SOMNOTOL™ de MTC Pharmaceuticals**

**Nom :** Pentobarbital sodique

**Action et effets :**

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

## **ANNEXE B**

### **PROTOCOLE DE PERFUSION PAR GRAVITATION**

1. Après l'anesthésie de l'animal (disparition des réflexes au pincement) par l'administration d'une dose létale de Somnotol 65 mg/ml (120 mg/kg), fixer celui-ci à la plaque de styrofoam à l'aide d'épingles, les quatre pattes bien écartées.
2. À l'aide d'une pince, soulever la peau au niveau abdominal et l'entailler. Utiliser les ciseaux forts comme écarteurs pour détacher progressivement la peau du thorax, puis la couper latéralement pour la récliner vers le haut ou simplement la retirer.
3. Soulever avec une pince le processus xyphoïde (visible comme un point blanc au bas du sternum) et couper l'attache des muscles abdominaux sur le sternum et le bord inférieur des côtes le plus latéralement possible. Ainsi l'abdomen est ouvert et la face inférieure du diaphragme est visible.
4. Latéralement, ouvrir le diaphragme et le désinsérer du bord costal.
5. Couper les côtes latéralement de part et d'autre. Relever avec la pince le plastron costal et le détacher du péricarde. Couper le plastron ou simplement le remonter vers le haut pour éviter les saignements inutiles en utilisant les ciseaux forts pour l'y maintenir.
6. Ouvrir la valve de solution saline (PBS 0,01M 0,9% NaCl, pH 7,5); saisir fermement le cœur à l'aide de la pince hémostatique et insérer l'embout de seringue tronquée, reliée à la tubulure, dans l'apex du ventricule gauche.

7. Inciser l'oreillette droite à l'aide des ciseaux fins; s'assurer que le débit ne soit pas trop rapide et que le sang s'écoule bien de l'oreillette.
8. Détacher les pattes antérieures de l'animal; les rongeurs ayant de petites clavicules, les pattes en abduction tendent à comprimer les tissus cervicaux et à limiter la circulation carotidienne.
9. Les viscères, la peau glabre et surtout le foie deviennent clairs.
10. Dès que le rinçage optimal est atteint, tourner la valve et faire couler le fixateur (paraformaldéhyde 4% dans du PB 0,1M, pH 7,4-7,6); porter attention au débit.
11. Il y a habituellement l'apparition de mouvements lors de la fixation musculaire. Veiller à ce que l'embout de seringue demeure en place et que le débit demeure adéquat.
12. La durée de fixation est de 10 à 20 minutes; l'animal est alors rigide et on peut dès lors procéder aux prélèvements nécessaires.

Remarque : La perforation du ventricule gauche vers le ventricule droit se remarque par un blanchiment rapide des poumons et l'écoulement de liquide par le nez.