

UNIVERSITÉ DU QUÉBEC

MÉMOIRE

PRÉSENTÉ À

L'UNIVERSITÉ DU QUÉBEC À TROIS-RIVIÈRES

COMME EXIGENCE PARTIELLE

DE LA MAÎTRISE EN PSYCHOLOGIE

PAR CAROL HUDON

DISTRIBUTION DES RÉCEPTEURS AU GLUTAMATE NMDA ET AMPA

DANS LE SYSTÈME VISUEL DU PIGEON (*COLUMBA LIVIA*)

ET EFFETS D'UNE LÉSION RÉTINIENNE UNILATÉRALE PRÉCOCE

OCTOBRE 1997

Université du Québec à Trois-Rivières

Service de la bibliothèque

Avertissement

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

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

**Ce document est rédigé sous la forme d'un article scientifique, tel qu'il est stipulé dans les règlements des études avancées (art. 16.4) de l'Université du Québec à Trois-Rivières. L'article a été rédigé selon les normes de publication d'une revue reconnue et approuvée par le Comité d'études avancées en psychologie. Le nom du directeur de recherche pourrait donc apparaître comme co-auteur de l'article soumis pour publication.**

## Sommaire

Il existe très peu de travaux sur l'étude des récepteurs au glutamate dans le système visuel aviaire. Les objectifs de la présente étude sont d'une part, d'établir la distribution des récepteurs *N*-methyl-D-aspartate (NMDA) et  $\alpha$ -amino-3-methyl-4-isoxazopropionate (AMPA) dans le système visuel du pigeon (*Columba livia*) et d'autre part, de quantifier leurs modifications après une lésion rétinienne unilatérale précoce (1 jour après l'éclosion), produite par l'injection intraoculaire d'acide kainique. À l'âge adulte (3 mois après l'éclosion), les cerveaux de 7 pigeons ont été traités par une technique d'autoradiographie quantitative employant les radioligands [<sup>3</sup>H]glutamate et [<sup>3</sup>H]AMPA. Chez les trois animaux contrôles, les plus hauts niveaux de liaisons [<sup>3</sup>H]glutamate ont été décrits dans le *nucleus dorsolateralis anterior thalami* (DLA), le *tectum opticum* (TO) et les trois subdivisions du Wulst visuel : *hyperstriatum accessorium* (HA), *hyperstriatum intercalatus superior* (HIS), *hyperstriatum dorsale* (HD) alors que pour les liaisons [<sup>3</sup>H]AMPA, ils ont été rapportés dans le HA, le HIS, le HD et dans les couches superficielles 2-6 du TO. Chez les quatre animaux expérimentaux, la lésion rétinienne précoce a entraîné, d'une part, des réductions bilatérales des récepteurs NMDA dans le *nucleus isthmi pars parvocellularis* (Ipc) et le HIS et d'autre part, des hausses bilatérales dans le DLA. En ce qui concerne les récepteurs AMPA, la déafférentation a provoqué des réductions bilatérales dans le *nucleus geniculatus lateralis ventralis* (GLv) et le DLA, des réductions du côté déafférenté dans le *nucleus rotundus* (Rt) et le TO superficiel, des augmentations bilatérales dans les couches

profondes 7-13 du TO et finalement, des augmentations du côté intact dans l'Ipc et le *nucleus isthmi pars magnocellularis* (Imc). Les résultats suggèrent que les projections rétiniennes aviaires sur le TO, le GLv et le DLA sont glutamatergiques, et que les récepteurs non-NMDA sont prédominants dans le système visuel du pigeon. Les changements induits par la lésion rétinienne précoce sont discutés en terme de mécanismes de réorganisation tels des pertes de récepteurs pré- ou postsynaptiques, de même que des mécanismes compensatoires de *down-* ou d'*up-regulation*.

TABLE DES MATIÈRES

1. Sommaire .....	iii
2. Table des matières .....	v
3. Remerciements .....	vi
4. Partie I - Version française de l'article .....	1
Contexte théorique .....	2
Méthode .....	9
Résultats .....	11
Discussion .....	13
Annexe .....	19
5. Partie II - Version anglaise de l'article .....	24

## Remerciements

D'abord, je remercie mon directeur de recherche, monsieur Dom Miceli, pour son aide tout au long de la réalisation de ce mémoire et pour m'avoir permis de réaliser un stage de recherche à Paris. À ce sujet, je tiens également à exprimer ma gratitude à monsieur Jacques Repérant pour m'avoir si bien accueilli au sein de son laboratoire et à madame Monique Medina pour sa grande disponibilité lors des deux semaines qu'a duré ce stage. De plus, je ne saurais trop remercier messieurs Guy Massicotte et Luc Marchand de l'intérêt qu'ils ont manifesté à l'égard de cette recherche. Leurs compétences et leurs précieuses suggestions ont constitué un apport important dans la réalisation de ce mémoire.

Par ailleurs, l'aide financière qui m'a été offerte par le CRSNG a grandement facilité la réalisation de ma maîtrise et elle fut très appréciée. Un grand merci aussi à monsieur Michel Bélanger pour son assistance et ses compétences en photographie, à monsieur Louis Laurencelle pour ses remarques utiles quant au choix des analyses statistiques et à madame Manon Lebel pour son travail et la fraîcheur de nos conversations.

Je tiens également à exprimer toute ma reconnaissance envers mes parents, Christine et Annie. Sans votre support lors de certaines périodes de découragement, je ne sais comment j'aurais pu passer au travers de ma deuxième année de maîtrise. Par ailleurs, je ne saurai jamais assez remercier mon père pour ses judicieux conseils et ses encouragements tout au long de ces deux années. Enfin, à Geneviève et Stéphanie, merci infiniment pour votre disponibilité lors de la traduction de mon article.

À vous tous, j'exprime ma sincère gratitude. Ma réussite est en partie la vôtre.

## **Partie 1 - Version française de l'article**



La première partie de ce mémoire rédigé sous forme d'article scientifique traitera d'abord du contexte théorique détaillé de la recherche réalisée et ensuite, la méthode employée et les résultats obtenus seront résumés. Cette partie se terminera par une discussion des résultats où divers éléments d'explication seront proposés. L'article en anglais rédigé selon les normes de la revue *Brain Research* constituera l'essentiel de la deuxième partie de ce document.

### Contexte théorique<sup>1</sup>

Le système visuel (SV) des oiseaux est constitué de deux principales voies : les voies thalamofuge et tectofuge. En ce qui concerne la première, les fibres de la rétine se projettent d'abord contralatéralement au complexe thalamique dorsolatéral ou plus spécifiquement, au *nucleus dorsolateralis anterior thalami* (DLA). Ensuite, le relais se fait ipsi- et contralatéralement jusqu'aux trois subdivisions du Wulst visuel : *hyperstriatum accessorium* (HA), *hyperstriatum intercalatus superior* (HIS) et *hyperstriatum dorsale* (HD) (Gao, Wu, Frost et Wang, 1995 ; Rogers, 1996). Les régions du HA et du HIS superficiel reçoivent des afférences de la zone thalamique ipsilatérale alors que les régions du HD et du HIS profond en reçoivent de la zone thalamique contralatérale (Miceli, Peyrichoux et Repérant, 1975). Plus précisément,

---

<sup>1</sup> Les références de la première partie de ce document se trouvent en annexe (page 19).

l'aire dorsale du Wulst visuel (HA) reçoit des informations principalement en provenance de l'oeil contralatéral, l'aire ventrale (HD) reçoit surtout de l'oeil ipsilatéral alors que l'aire intermédiaire (HIS) reçoit des deux yeux. La voie thalamofuge représente le plus important système ascendant transmettant l'information visuelle au télencéphale (Adret et Rogers, 1989) et elle est l'équivalente de la voie géniculostriée des mammifères (Miceli, Gioanni, Repérant, et Peyrichoux, 1979 ; Bagnoli et Burkhalter, 1983 ; Adret et Rogers, 1989 ; Bredenkötter et Bischof, 1990 ; Rogers, 1996).

En ce qui concerne la voie tectofuge, les fibres de la rétine se projettent dans un premier temps aux couches superficielles du *tectum opticum* (TO) contralatéral (Wang, Felix et Frangi, 1978) et dans un deuxième temps, les neurones des couches profondes du TO envoient leurs efférences ipsi- et contralateralement au *nucleus rotundus* (Rt) qui, soit dit en passant, est le plus gros noyau du diencephale (Adret et Rogers, 1989). Finalement, les fibres tectofuges terminent leur route dans la région ectostriatale ipsilatérale du télencéphale (Bredenkötter et Bischof, 1990 ; Gao et al., 1995). La voie visuelle tectofuge équivaut, sur le plan fonctionnel, au système colliculo-thalamo-cortical des mammifères (Crossland et Uchwat, 1979 ; Rogers, 1996).

Outre ces deux grands systèmes, le SV aviaire est composé de plusieurs autres structures anatomiques. Parmi elles se retrouvent le *nucleus geniculatus lateralis ventralis* (GLv), le *nucleus isthmi pars parvocellularis* (Ipc) et le *nucleus isthmi pars magnocellularis* (Imc) ; ces structures influencent ou sont influencées par des régions

anatomiques appartenant aux systèmes thalamofuge et tectofuge. Le GLv reçoit des collatérales d'axones rétino-tectaux de même que des afférences en provenance du TO et du Wulst (Crossland et Uchwat, 1979). Les noyaux isthmiques Imc et Ipc sont, quant à eux, liés de façons réciproque et topographique avec le TO (Sakamoto, Ito et Ueda, 1981 ; Güntürkün et Remy, 1990 ; Wang, Wu et Felix, 1995b). Ces noyaux reçoivent du TO ipsilatéral et se reprojettent ipsilatéralement aux couches tectales superficielles (Repérant, Miceli et Raffin, 1977 ; Sakamoto et al., 1981 ; Güntürkün, 1987 ; Güntürkün et Remy, 1990 ; Wu, Wang et Felix, 1994 ; Wang, Wang et Frost, 1995a). Même si les afférences de l'Imc ne sont pas aussi bien connues que celles de l'Ipc (Wang et al., 1995a), quelques données semblent indiquer que ce noyau reçoit des projections tectales ipsilatérales (Repérant et al., 1977 ; Güntürkün, 1987)

Le système visuel aviaire se distingue de celui des mammifères en ce qu'il présente une décussation complète de ses fibres rétinienne. Plus précisément, chez l'oiseau, toutes les projections quittant la rétine croisent vers l'hémisphère cérébral contralatéral lorsqu'elles parviennent au chiasma optique. À titre comparatif, chez les rats et les primates, cette décussation ne touche, respectivement, que 90 % et 50 % des fibres rétinienne ; les projections restantes poursuivent leur route vers l'hémisphère ipsilatéral (Rosenzweig et Leiman, 1989).

Rogers (1996) a proposé que chez la plupart des espèces animales, l'organisation du SV est asymétrique quant à sa structure et sa chimie. En effet, des asymétries ont été

observées chez quelques espèces aviaires mais, de loin, le plus grand nombre a été rapporté chez le poulet domestique (Güntürkün et Hahmann, 1994). Sur le plan comportemental, l'asymétrie visuelle du poulet mettrait à contribution deux grands types de traitement des informations. Les circuits associés à l'oeil droit seraient sollicités pour catégoriser les stimuli en fonction de leurs caractéristiques communes (p.ex., nourriture et non-nourriture) alors que les circuits liés à l'oeil gauche traiteraient de façon détaillée ou spécifique les propriétés d'un stimulus ; ils spécifieraient le caractère nouveau ainsi que la position spatiale de ce stimulus (Güntürkün et Hahmann, 1994 ; Rogers, 1996). Sur le plan anatomique, l'asymétrie dans le système thalamofuge du poulet se traduit par un plus grand nombre de projections entre le thalamus gauche et l'hyperstriatum droit qu'entre le thalamus droit et l'hyperstriatum gauche (Rogers, 1996). L'organisation asymétrique du SV tectofuge n'a pas encore été étudiée chez le poulet mais chez le pigeon adulte, elle est reconnue. En effet, chez cet oiseau, le Rt gauche reçoit ses afférences des deux TO alors que le Rt droit les reçoit presque exclusivement du TO droit. (Güntürkün et Melsbach, 1992 ; Rogers, 1996).

Le glutamate (Glu) est un transmetteur synaptique appartenant à la famille des acides aminés. Chez les invertébrés, il agit essentiellement comme transmetteur neuromusculaire (Rosenzweig et Leiman, 1989) alors que chez les espèces animales vertébrées, il constitue un neurotransmetteur excitateur largement répandu dans le système nerveux central (SNC) (Morino, Bahro, Cuénod et Streit, 1990 ; Chalmers et McCulloch, 1991 ; Moore, 1993 ; Barnes et Henley, 1994 ; Romano et al., 1995). Par le

fait même, les récepteurs au Glu sont eux aussi très abondants dans le SNC (Zavitsanou, Mitsacos et Kouvelas, 1994). Il existe plusieurs types de ces récepteurs. Dans leur ouvrage consacré à la description et aux propriétés des différents neurotransmetteurs connus, Meunier et Shvaloff (1995) ont classifié les récepteurs au Glu selon trois sous-types distincts: le récepteur *N*-methyl-D-aspartate (NMDA), et les récepteurs non-NMDA. Ces derniers sont  $\alpha$ -amino-3-hydroxy-5-methyl-4-isoxazolepropionate (AMPA) et 2-carboxy-3-carboxy methyl-4-isopropenyl-pyrrolidine (kainate).

Une grande variété de rôles sont attribués aux récepteurs au Glu. Effectivement, ces récepteurs sont sollicités, entre autres, dans les mécanismes de nociception (Daw, Stein et Fox, 1993), de neurotoxicité (Chalmers et McCulloch, 1991), de motricité (Daw et al., 1993) et d'apprentissage (Rauschecker, 1991). De plus, au cours du développement de l'animal ainsi qu'à l'âge adulte, la juxtaposition ou la colocalisation de certains types de récepteurs au Glu contribuerait au phénomène de la plasticité synaptique (Meunier et Shvaloff, 1995), l'un des apports les plus importants des récepteurs au Glu dans le SNC (Rauschecker, 1991 ; Gao et al., 1995). Au sein du SV, ils joueraient un rôle particulièrement crucial dans les processus fonctionnels-adaptatifs qui surviennent durant la maturation des voies visuelles (Czepita, Reid et Daw, 1994).

Rauschecker (1991) a défini la plasticité synaptique comme étant une capacité de réorganisation des connexions synaptiques sous l'influence de l'environnement alors que Meunier et Shvaloff (1995) ont parlé d'un renforcement des relations synaptiques à

la suite de la coactivation de deux neurones, l'activité de l'un facilitant l'activité de l'autre. L'activation des récepteurs au Glu semble essentielle à l'induction et au maintien de plusieurs formes de plasticité synaptique. D'une part, la phosphorylation directe des récepteurs au Glu exerce une influence importante sur des fonctions physiologiques telles la neurotransmission excitatrice, l'efficacité synaptique et les mécanismes sous-jacents aux processus neurodégénératifs (Kozlowski, Jones et Shallert, 1994 ; Roche, Tingley, Whittemore et Huganir, 1994). D'autre part, la plasticité synaptique est rendue possible en partie grâce au phénomène de potentialisation à long terme (PLT). La PLT requiert l'intervention des récepteurs NMDA (Rauschecker, 1991; Gao et al., 1995) et elle consiste en une augmentation stable et persistante de l'amplitude électrique des neurones (Rosenzweig et Leiman, 1989), ce qui contribue à renforcer les connexions d'un certain réseau synaptique.

Malgré l'importance potentielle des récepteurs au Glu dans la maturation et le fonctionnement du cerveau, peu de recherches, jusqu'à maintenant, ont étudié la distribution et la régulation de leurs sites dans des circuits polysynaptiques tel le SV (Chalmers et McCulloch, 1991). Il est cependant de plus en plus évident que ces récepteurs jouent un rôle essentiel dans la vision. Ainsi, dans le cortex visuel, en bloquant l'activité du récepteur NMDA par iontophorèse avec AP5, il se produit une diminution de la réponse en proportion constante ; cette diminution est indépendante de l'intensité de la stimulation (Daw et al., 1993). Par ailleurs, il a été démontré qu'une déafférentation pouvait entraîner une modification de la concentration des récepteurs au

Glu dans le SV. Chez le rat, Chalmers et McCulloch (1991) ont montré qu'une énucléation orbitale unilatérale entraîne, entre 10 et 20 jours post-énucléation, une diminution significative des liaisons [ $^3\text{H}$ ]AMPA dans le colliculus supérieur (CS) déafférenté alors qu'à 20 jours, elle entraîne une augmentation de 15% des liaisons [ $^3\text{H}$ ]kainate dans la même structure. Dans des conditions expérimentales similaires, les liaisons [ $^3\text{H}$ ]glutamate ne subissent cependant aucune altération au sein des structures visuelles déafférentées. Par ailleurs, en cousant unilatéralement une paupière chez des rats, Kumar, Shliebs et Bigl (1994) ont observé, au jour 18 postnatal, des réductions de 40% et 20% respectivement des liaisons [ $^3\text{H}$ ]CNQX et [ $^3\text{H}$ ]kainate dans toutes les couches du cortex visuel.

Les études de localisation des récepteurs au Glu au sein du SV aviaire sont très peu nombreuses. Chez le pigeon, Albin, Sakurai, Makowiec et Gilman (1991) ont localisé AMPA dans les couches moléculaires du cervelet et NMDA dans les couches granulaires. Par ailleurs, Gao et al. (1995) ont montré que NMDA et AMPA coexistent dans le noyau diencephalique Rt. Chez le poulet, des liaisons [ $^3\text{H}$ ]CNQX importantes ont été rapportées dans les couches superficielles du TO, dans les noyaux isthmiques Ipc et Imc ainsi que dans la couche HA du Wulst visuel (Zavitsanou et al., 1994). Enfin, l'existence de liaisons L- $^3\text{H}$ ]glutamate a été démontrée dans le noyau thalamique DLA et l'*hyperstriatum ventrale* (HV) du Wulst visuel (Mitsacos, Dermon, Stassi et Kouvelas, 1990).

Les objectifs de la présente étude sont, d'une part, de déterminer la distribution des récepteurs NMDA et AMPA dans le SV du pigeon et d'autre part, de mettre en évidence leurs modifications ou leur réorganisation suite à une lésion rétinienne unilatérale précoce (1 jour post-éclosion). Comme le pigeon présente une décussation complète des fibres rétiniennes, il s'avère intéressant d'étudier son SV dans des conditions de déafférentation car les effets d'une lésion rétinienne sont essentiellement restreints à un hémisphère dans les structures primaires du SV.

### Méthode<sup>1</sup>

L'étude a été effectuée sur 7 pigeons voyageurs (*Columba livia*). Après de quatre animaux, une journée après l'éclosion, une lésion de la rétine a été pratiquée sous anesthésie par l'injection intraoculaire unilatérale d'acide kainique. Cet acide constitue un agent qui, en grande concentration, détruit sélectivement les cellules de la rétine aviaire par un phénomène d'hyperpolarisation (Ingham et Morgan, 1983 ; Ehrlich, Teuchert et Morgan, 1987). À l'âge adulte (trois mois après l'éclosion), tous les pigeons ont été sacrifiés sous anesthésie profonde et les cerveaux ont été rapidement retirés de la boîte crânienne. Aussitôt extraits, les encéphales ont été entreposés à -80°C jusqu'à ce qu'ils soient coupés à l'aide d'un microtome cryostat. Chaque coupe obtenue a été

---

<sup>1</sup> Pour les détails des divers éléments ayant mené à la réalisation de la recherche, veuillez vous référer à l'article rédigé selon les normes de la revue de publication (deuxième partie). Dans cette section, ne seront décrites que les grandes lignes de la méthode employée.



montée sur une lame gélatinée et toutes les lames ont été entreposées à  $-80^{\circ}\text{C}$  en vue d'une technique d'autoradiographie quantitative employant des radioligands spécifiques.

La technique d'autoradiographie a été réalisée en respectant les grandes lignes de méthodes déjà publiées (Barnes et Henley, M., 1993 ; Zavitsanou et al, 1994 ; Gagné et al, 1997). Les grandes étapes de cette technique sont les suivantes: 1. préincubation des coupes dans un tampon Tris-acétate ; 2. incubation et application des radioligands [ $^3\text{H}$ ]glutamate et [ $^3\text{H}$ ]AMPA sur les tissus ; 3. rinçage, lavage et séchage rapide des tissus ; 4. exposition des coupes sur une pellicule photographique sensible au tritium ; 5. développement des autoradiogrammes.

Les autoradiogrammes des coupes de cerveau et les standards tritium ont été digitalisés à l'aide d'un microscope optique et d'une caméra transmettant les images sur un ordinateur de type MacIntosh. Sur l'ordinateur, les densités optiques des différentes structures visuelles étudiées ont été converties en unités radioactives et ce, en utilisant les valeurs connues des standards tritium de même qu'un logiciel d'analyse d'image.

Pour chaque structure visuelle échantillonnée, les mesures de densité des récepteurs NMDA, AMPA ont été effectuées bilatéralement sur les différentes coupes de cerveau. Les moyennes en pmol/g ont été comptabilisées et analysées à l'aide du logiciel *Statview 4.02*. Pour comparer les concentrations bilatérales des différents récepteurs chez les animaux contrôles et pour évaluer les effets de la lésion rétinienne

chez les animaux expérimentaux, les données compilées ont été soumises à des tests-t pairés et à des ANOVA combinées à des tests *post hoc* de Sheffé.

Au sein de la voie thalamofuge, les structures ayant fait l'objet d'analyses sont le DLA ainsi que les trois subdivisions du Wulst visuel : HA, HIS et HD alors que dans la voie tectofuge, ce sont le TO et le Rt. De plus, trois autres structures visuelles ont été étudiées : le GLv, l'Ipc et l'Imc. Il est à noter que le TO, le DLA et le GLv constituent des structures visuelles primaires (c'est-à-dire qu'elles reçoivent des projections rétiniennes directes) alors que les autres sont secondaires (reçoivent des afférences rétiniennes de deuxième ordre).

### Résultats<sup>1</sup>

Les résultats chez les animaux contrôles ont révélé une distribution relativement homogène des récepteurs NMDA de même que des valeurs de liaisons [<sup>3</sup>H]glutamate relativement faibles dans les structures visuelles étudiées. En fait, hormis le TO, le DLA, et les trois subdivisions du Wulst où des densités légèrement plus élevées ont été observées, la plupart des structures ont montré une faible affinité au radioligand [<sup>3</sup>H]glutamate. Chez les animaux expérimentaux, la lésion rétinienne précoce a entraîné des réductions bilatérales des densités de récepteurs NMDA dans l'Ipc (de -2,1 à -2,6 %) et le HIS (de -8,7

---

<sup>1</sup> Pour les tableaux et figures illustrant les résultats obtenus dans cette étude, veuillez vous référer à l'article scientifique rédigé selon les normes de la revue de publication (deuxième partie).

à -9,2 %) alors que des hausses bilatérales ont été obtenues dans le DLA (de +14,4 à +15,0%).

En ce qui concerne les liaisons [<sup>3</sup>H]AMPA chez les animaux contrôles, les plus hautes densités ont été mesurées dans les couches superficielles 2-6 du TO de même que dans les différentes parties du Wulst visuel. Par ailleurs, tandis que les structures primaires GLv et DLA ont montré des niveaux de liaisons moyennement élevés, les structures secondaires Rt, Ipc et Imc semblent celles où l'on retrouve le moins de récepteurs AMPA. Les analyses quantitatives des autoradiogrammes [<sup>3</sup>H]AMPA n'ont révélé aucune différence de densité significative entre les structures visuelles gauches et droites des animaux contrôles mais dans le Rt, il existe une forte tendance à l'asymétrie. En effet, sur toutes les coupes de la région diencephalique, de plus grandes quantités récepteurs AMPA (22,9%) ont été mesurées dans le Rt gauche par rapport au Rt droit. Chez les animaux expérimentaux, la lésion rétinienne précoce a provoqué des réductions bilatérales des liaisons [<sup>3</sup>H]AMPA dans le GLv (de -29,6 à -45,0 %) et le DLA (de -31,0 à -35,7 %) et des diminutions limitées au côté déafférenté dans le Rt (-17,1 %) et les couches superficielles du TO (-57,0 %). Par ailleurs, des augmentations des mêmes liaisons ont été observées du côté intact dans l'Ipc (+27,3 %) et l'Imc (+22,0 %) alors que dans les couches profondes 7-13 du TO, ces augmentations sont bilatérales (+39,8 à +40,1 %).

## Discussion

### *Distribution normale des récepteurs NMDA et AMPA*

Les résultats sur la distribution normale des récepteurs au Glu au sein du système visuel corroborent ceux obtenus chez le pigeon (Gao et al., 1995) et le poulet (Mitsacos, Dermon, Stassi et Kouvelas, 1990 ; Zavitsanou et al., 1994). En effet, il a été démontré que les récepteurs NMDA et AMPA coexistent dans le Rt et que ces derniers s'y retrouvent en plus grand nombre (Gao et al., 1995). Par ailleurs, comme chez le poulet, les plus fortes concentrations de récepteurs NMDA ont été observées dans le DLA et le TO (Mitsacos et al., 1990), alors que les récepteurs AMPA se sont retrouvés en plus grande quantité dans le TO et les couches visuelles du Wulst (Zavitsanou et al., 1994). En ce qui concerne les densités élevées de récepteurs au Glu dans le TO, l'analyse au violet crésyl des coupes adjacentes aux autoradiogrammes a permis d'observer que NMDA et AMPA se localisent principalement dans les couches superficielles 2-6. Tous les travaux sur le Glu au sein de cette structure abondent dans le même sens. Effectivement, tant chez les oiseaux (Morino et al., 1990 ; Voukelatou, Aletras, Tsourinakis et Kouvelas, 1992 ; Zavitsanou et al., 1994), les amphibiens (Barnes et Henley, 1993 ; Hickmott et Constantine-Paton, 1993) que les poissons (Barnes et Henley, 1994), il a été démontré que le Glu et ses récepteurs se concentrent fortement dans les couches superficielles du TO.

Les résultats corroborent aussi ceux obtenus chez les espèces animales mammaliennes. Chez ces dernières, les récepteurs NMDA se retrouvent en plus grande concentration dans le cortex visuel strié (Chalmers et McCulloch, 1991 ; Dori, Dinopoulos, Cavanagh et Parnavelas, 1992 ; Daw et al., 1993 ; Kumar, Schliebs et Bigl, 1994 ; Kiyosawa et al., 1996), équivalent anatomique du Wulst visuel aviaire (Karten, Hodos, Nauta et Revzin, 1973 ; Miceli, Gioanni, Repérant et Peyrichoux, 1979 ; Bagnoli et Burkhalter, 1983 ; Bredenkötter et Bischof, 1990 ; Miceli, Marchand, Repérant et Rio, 1990). Les récepteurs AMPA se retrouvent aussi en grande quantité dans le CS superficiel du rat (Chalmers et McCulloch, 1991 ; Kiyosawa et al., 1996), correspondant aux couches superficielles du TO aviaire (Crossland et Uchwat, 1979). Nos résultats démontrent de hautes concentrations de récepteurs au Glu dans le HA (NMDA, AMPA) et le HD (AMPA), ce qui corrobore les données obtenues dans le cortex visuel du rat où les densités les plus élevées de récepteurs ont été observées dans les couches superficielles II et III (NMDA et AMPA) et profondes IV et V (AMPA) (Chalmers et McCulloch, 1991). Sur des bases topographiques, il y a donc correspondance superficiel/profond entre les oiseaux et les mammifères quant à la distribution télencéphalique des récepteurs NMDA et AMPA au niveau de leurs cibles respectives dans la voie visuelle thalamofuge. Cependant, il est à noter que cette correspondance ne tient plus lorsqu'on considère l'origine des systèmes efférents des différentes subdivisions corticales. En effet, tandis que chez les mammifères les efférences sous-corticales proviennent des couches profondes V et VI, chez les oiseaux, les projections

extra-télencéphaliques ont pour origine la couche la plus superficielle (HA) (Miceli et al., 1979 ; Wilson, 1980a ; Wilson, 1980b).

La tendance asymétrique de la distribution des récepteurs AMPA au sein du Rt pourrait s'expliquer par le fait que chez le pigeon adulte, les projections visuelles tecto-rotionales s'organisent de façon asymétrique avec une dominance de la voie gauche (Güntürkün et Melsbach, 1992 ; Güntürkün et Hahmann, 1994 ; Rogers, 1996). En effet, le Rt gauche recevrait des afférences en provenance des deux TO alors que le Rt droit les recevrait presque exclusivement du TO droit (Güntürkün et Melsbach, 1992 ; Rogers, 1996).

#### *Effets de la lésion rétinienne précoce*

Chez les animaux expérimentaux, la lésion rétinienne précoce a entraîné des effets bilatéraux sur les récepteurs NMDA dans le DLA, le HIS et l'Ipc. Dans le HIS, les pertes de liaisons [<sup>3</sup>H]glutamate pourraient s'expliquer par un phénomène de *down-regulation* (diminution de l'activité globale) des récepteurs NMDA et par la déafférentation de la voie thalamofuge, au sein de laquelle les projections thalamo-Wulst s'organisent de façon bilatérale. Par ailleurs, les augmentations bilatérales observées dans le DLA pourraient traduire un renforcement des afférences provenant des projections hyperstriatales descendantes (Miceli, Peyrichoux et Repérant, 1975) ou encore, un mécanisme *d'up-regulation* (augmentation de l'activité globale) des récepteurs (Chalmers and McCulloch, 1991 ; Wüllner et al., 1994). Dans l'Ipc

déafférenté, il est possible d'expliquer la chute de récepteurs NMDA par la perte d'afférences directes en provenance du TO ipsilatéral (Sakamoto et al., 1981 ; Güntürkün et Remy, 1990, Wu et al., 1994, Wang et al., 1995a ; Wang et al., 1995b). Du côté intact, cette chute est plus difficile à expliquer et elle impliquerait probablement des effets contralatéraux par l'intermédiaire de voies indirectes polysynaptiques.

Les données de la présente étude quant à la réorganisation des récepteurs NMDA dans le système visuel du pigeon ne corroborent pas les résultats obtenus chez les mammifères. Ces divergences peuvent s'expliquer de deux façons. D'une part, il est possible que notre modèle d'analyse permette un plus grand degré de plasticité dans les voies visuelles du fait que la lésion rétinienne a été pratiquée dans la période post-natale précoce (Kiyosawa et al., 1996). D'autre part, tandis que le GLd du rat est une structure relativement homogène recevant des projections rétiniennes directes, le DLA aviaire est constitué d'au moins cinq subdivisions différentes ; certaines de ces parties contiennent des cellules à projections sur le Wulst mais ne sont pas la cible directe des projections de la rétine. Dans la présente étude, l'ensemble du DLA a été analysé ; il se peut donc que les portions qui reçoivent de la rétine ne soient pas modifiées et que les changements se manifestent plutôt dans les zones adjacentes.

En ce qui concerne les récepteurs AMPA, les effets de la lésion rétinienne précoce ont été beaucoup plus diversifiés. Tout d'abord, la perte considérable de liaisons [<sup>3</sup>H]AMPA dans les couches superficielles déafférentées du TO résulterait de la

dégénérescence massive des fibres rétiniennes et elle traduirait d'une part, un rôle spécifique des récepteurs AMPA au sein de cette structure et d'autre part, une perte importante de récepteurs postsynaptiques (Chalmers et McCulloch, 1991). Ce résultat suggère aussi que les terminaisons rétiniennes dans le TO sont glutamatergiques (Morino et al., 1990). Suivant une déafférentation visuelle, il a déjà été démontré que les concentrations du transmetteur Glu et de ses différents récepteurs subissent de très fortes diminutions dans le TO du pigeon (Fonnum et Henke, 1982 ; Morino et al., 1990) et le CS du rat (Sakurai, Miyamoto et Okada, 1990 ; Chalmers and McCulloch, 1991).

La réduction de liaisons [<sup>3</sup>H]AMPA dans le Rt déafférenté pourrait découler d'un affaiblissement ou d'une perte de projections tecto-rotocaudales ou encore, d'une *down-regulation* des récepteurs AMPA (Chalmers and McCulloch, 1991). Les réductions bilatérales dans le DLA et le GLv seraient quant à elles attribuables à des phénomènes différents selon le côté intact ou déafférenté des structures. Ainsi, du côté déafférenté, les diminutions de récepteurs AMPA pourraient être la conséquence d'une dégénérescence massive des afférences rétiniennes directes sur ces deux structures visuelles primaires, ce qui indiquerait une fois de plus que les projections rétiniennes aviaires sont glutamatergiques. Du côté intact, ces réductions seraient probablement dues à des influences indirectes du Wulst visuel, lequel représente une source majeure de projections télencéphaliques descendantes sur le DLA et le GLv (Miceli et al., 1975 ; Crossland and Uchwat, 1979 ; Miceli, Repérant, Villalobos et Weidner, 1987).



Les augmentations de liaisons [<sup>3</sup>H]AMPA dans l'Ipc et l'Imc intacts peuvent d'abord s'expliquer par le développement de projections ipsilatérales anormales entre la rétine intacte et le TO. Ce développement est observé dans les cas de lésions rétinienne précoces chez le pigeon (Bagnoli, Casini, Fontanesi et Sebastiani, 1989). Conséquemment, elles peuvent aussi découler d'un renforcement de projections tecto-isthmiques du côté intact (Repérant et al., 1977 ; Sakamoto et al., 1981 ; Güntürkün, 1987 ; Güntürkün and Remy, 1990 ; Wang, Wang and Frost, 1995). Ces phénomènes représenteraient une réponse postsynaptique compensatoire de la structure intacte contre la diminution de l'apport glutamatergique consécutif à la déafférentation rétinienne (Chalmers and McCulloch, 1991 ; Wüllner et al., 1994).

En conclusion, cette étude a démontré que les récepteurs au Glu jouent un rôle crucial dans le système visuel du pigeon. Elle a aussi montré que le cerveau peut compenser un déficit fonctionnel par la modification de l'activité générale d'une de ses composantes (p.ex., les récepteurs). La distribution normale des récepteurs au Glu dans le SV, de même que leur réorganisation suivant une lésion rétinienne, sont très peu connues chez les oiseaux comparativement aux mammifères. D'éventuelles recherches seront nécessaires afin de déterminer les rôles développementaux et fonctionnels des différents récepteurs au Glu au sein du SV aviaire et pour clarifier dans quelles mesures ces récepteurs se réorganisent après une lésion dans le SV en maturation.

## ANNEXE

- Adret, P., & Rogers, L. J. (1989). Sex difference in the visual projections of young chicks: A quantitative study of the thalamofugal pathway. Brain Research, 478, 59-73.
- Albin, R. L., Sakurai, S. Y., Makowiec, R. L., & Gilman, S. (1991). Excitatory and inhibitory amino acid neurotransmitter binding sites in the cerebellar cortex of the pigeon (*Columba livia*). Journal of Chemical Neuroanatomy, 4, 429-437.
- Bagnoli, P., Casini, G., Fontanesi, G., & Sebastiani, L. (1989). Reorganization of visual pathways following posthatching removal of one retina in pigeons. Journal of Comparative Neurology, 288, 512-527.
- Bagnoli, P. & Burkhalter, A. (1983). Organization of the afferent projections to the wulst in the pigeon. Journal of Comparative Neurology, 214, 103-113.
- Barnes, J. M., & Henley, J. M. (1993). Autoradiographic distribution of glutamatergic ligand binding sites in *Xenopus* brain: Evidence for intracellular [<sup>3</sup>H]AMPA binding sites. Brain Research, 626(1-2), 259-264.
- Barnes, J. M., & Henley, J. M. (1994). Quantitative analysis of the distributions of glutamatergic ligand binding sites in goldfish brain. Brain Research, 637, 323-327.
- Bredenkötter, M., & Bischof, H.-J. (1990). Differences between ipsilaterally and contralaterally evoked potentials in the visual wulst of the zebra finch. Visual Neuroscience, 5, 155-163.
- Chalmers, D. T., & McCulloch, J. (1991). Selective alterations in glutamate receptor subtypes after unilateral orbital enucleation. Brain Research, 540, 255-265.
- Crossland, W. J., & Uchwat, C. J. (1979). Topographic projections of the retina and optic tectum upon the ventral lateral geniculate nucleus in the chick. Journal of Comparative Neurology, 185, 87-106.
- Czepita, D., Reid, S. N. M., & Daw, N. W. (1994). Effect of longer periods of dark rearing on NMDA receptors in cat visual cortex. Journal of Neurophysiology, 72(3), 1220-1226.
- Daw, N. W., Stein, P. S. G., & Fox, K. (1993). The role of NMDA receptors in information processing. Annual Review of Neurosciences, 16, 207-222.

- Dori, I., Dinopoulos, A., Cavanagh, M. E., & Parnavelas, J. G. (1992). Proportions of glutamate- and aspartate-immunoreactive neurons in the efferent pathways of the rat visual cortex varies according to the target. The Journal of Comparative Neurology, 319, 191-204.
- Ehrlich, G., Teuchert, G., & Morgan, I.G. (1987). Specific ganglion cell death induced by intravitreal kainic acid in the chicken retina. Brain Research, 415, 342-346.
- Fonnum, F., & Henke, H. (1982). The topographical distribution of alanine, aspartate,  $\gamma$ -aminobutyric acid, glutamate, glutamine, and glycine in the pigeon optic tectum and the effect of retinal ablation. Journal of Neurochemistry, 38(4), 1130-1134.
- Gagné, J., Milot, M., Gélinas, S., Lahsaini, A., Trudeau, F., Martinoli, M.-G., & Massicotte, G. (1997). Binding properties of glutamate receptors in Streptozotocin-induced diabetes in rats. Diabetes, 46, 841-846.
- Gao, H.-F., Wu, G.-Y., Frost, B.J., & Wang, S.-R., (1995). Excitatory and inhibitory neurotransmitters in the *Nucleus Rotundus* of pigeons. Visual Neuroscience, 12, 819-825.
- Güntürkün, O. (1987). A Golgi study of the isthmic nuclei in the pigeon (*Columba livia*). Cell and Tissue Research, 248, 439-448.
- Güntürkün, O., & Hahmann, U. (1994). Visual acuity and hemispheric asymmetries in pigeons. Behavioural Brain Research, 60, 171-175.
- Güntürkün, O., & Melsbach, G. (1992). Asymmetric tecto-rotundal projections in pigeons: Cues to the origin of lateralized binocular integration. In Elsner, N. and Richter, D.W. (Eds), Rhythmogenesis in neurons and networks: Proceedings of the 20<sup>th</sup> Göttingen Neurobiologentagung. Thieme: Stuttgart, 364.
- Güntürkün, O., & Remy, M. (1990). The topographical projection of the nucleus isthmi pars parvocellularis (Ipc) onto the tectum opticum in the pigeon. Neuroscience Letters, 111, 18-22.
- Hickmott, P. W., & Constantine-Paton, M. (1993). The contributions of NMDA, Non-NMDA, and GABA receptors to postsynaptic responses in neurons of the optic tectum. The Journal of Neuroscience, 13(10), 4339-4353.
- Ingham, C.A., & Morgan, I.G. (1983). Dose-dependent effects of intravitreal kainic acid on specific cell types in chicken retina. Neuroscience, 9, 165-181.

- Karten, H.J., Hodos, W., Nauta, W.J.H., & Revzin, A.A. (1973). Neural connections of the visual wulst of the avian telencephalon. Experimental studies in the pigeon *Columba livia* and owl *Speotyto canicularia*, Journal of Comparative Neurology, 150, 253-276.
- Kiyosawa, M., Dauphin, F., Kawasaki, T., Rioux, P., Tokoro, T., MacKenzie, E. T., & Baron, J.-C. (1996). Unilateral eyeball enucleation differentially alters AMPA-, NMDA- and kainate glutamate receptor binding in the newborn rat brain. Neuroscience Research, 26, 215-224.
- Kozlowski, D. A., Jones, T. A., & Shallert, T. (1994). Pruning of dendrites and restoration of function after brain damage: Role of the NMDA receptor. Restorative Neurology and Neuroscience, 7, 119-126.
- Kumar, A., Schliebs, R., & Bigl, V. (1994). Postnatal development of NMDA, AMPA and kainate receptors in individual layers of rat visual cortex and the effect of monocular deprivation. International Journal in Developmental Neuroscience, 12(1), 31-41.
- Meunier, J.-M., & Shvaloff, A. (1995). Abrégés : Neurotransmetteurs (2<sup>e</sup> éd.). Masson: Paris.
- Miceli, D., Gioanni, H., Repérant, J. & Peyrichoux, J. (1979). The avian visual wulst. I. An anatomical study of afferent and efferent pathways. II. An electrophysiological study of the functional properties of single neurons. In Granda, A.M. and Maxwell, J.H. (Eds), Neural Mechanisms of Behavior in the Pigeon. Plenum: New York, 223-254.
- Miceli, D., Marchand, L., Repérant, J., & Rio, J.-P. (1990). Projections of the dorsolateral anterior complex and adjacent thalamic nuclei upon the visual Wulst in the pigeon, Brain Research, 518, 317-323.
- Miceli, D., Peyrichoux, J., & Repérant, J. (1975). The retino-thalamo-hyperstriatal pathway in the pigeon (*Columba livia*). Brain Research, 100, 125-131.
- Miceli, D., Repérant, J., Villalobos, J., & Weidner, C. (1987). Extratelencephalic projections of the visual Wulst. A quantitative autoradiographic study in the pigeon, J. Hirnforsch., 28, 45-59.
- Mitsacos, A., Dermon, C. R., Stassi, K., & Kouvelas, E. D. (1990). Localization of L-glutamate binding sites in chick brain by quantitative autoradiography. Brain Research, 513, 348-352.

- Moore, R. Y. (1993). Principles of synaptic transmission. Annals New York Academy of Sciences, 695, 1-9.
- Morino, P., Bahro, M., Cuénod, M., & Streit, P. (1990). Glutamate-like immunoreactivity in the pigeon optic tectum and effect of retinal ablation. European Journal of Neuroscience, 3, 366-378.
- Rauschecker, J. P. (1991). Mechanisms of visual plasticity: Hebb synapses, NMDA receptors, and beyond. Physiological Reviews, 71(2), 587-615.
- Repérant, J., Miceli, D., & Raffin, J.P. (1977). Transneuronal transport of tritiated fucose and proline in the avian visual system, Brain Research, 121, 343-347.
- Roche, K. W., Tingley, W. G., & Huganir, R. L. (1994). Glutamate receptor phosphorylation and synaptic plasticity. Current Opinion in Neurobiology, 4, 383-388.
- Rogers, L. (1996). Behavioral, structural and neurochemical asymmetries in the avian brain: A model system for studying visual development and processing. Neuroscience and Biobehavioral Reviews, 20(3), 487-503.
- Romano, C., Sesma, M. A., McDonald, C. T., O'Malley, K., Van Den Pol, A. N., & Olney, J.W. (1995). Distribution of metabotropic glutamate receptor mGluR<sub>5</sub> immunoreactivity in rat brain. The Journal of Comparative Neurology, 355, 455-469.
- Rosenzweig, M. R., & Leiman, A. L. (1989). Psychophysiology (2<sup>e</sup> éd.). Ville Mont-Royal: Décarie.
- Sakamoto, N., Ito, H., & Ueda, S. (1981). Topographical projections between the nucleus isthmi and the optic tectum in a teleost, *Navodon modestus*. Brain Research, 224, 225-234.
- Sakurai, T., Miyamoto, T., & Okada, Y. (1990). Reduction of glutamate content in rat superior colliculus after retino-tectal denervation. Neuroscience Letters, 109, 299-303.
- Voukelatou, G., Aletras, A. J., Tsourinakis, T., & Kouvelas, E. D. (1992). Glutamate-like immunoreactivity in chick cerebellum and optic tectum. Neurochemical Research, 17(12), 1267-1273.
- Wang, S. J., Felix, D., & Frangi, U. (1978). The role of glutamate in pigeon optic tectum. Brain Research, 157, 360-363.

- Wang, S.-R., Wang, Y.-C., & Frost, B. J. (1995a). Magnocellular and parvocellular divisions of pigeons nucleus isthmi differentially modulate visual responses in the tectum. Experimental Brain Research, 104(3), 376-384.
- Wang, S.-R., Wu, G.-Y., & Felix, D. (1995b). Avian Imc-tectal projection is mediated by acetylcholine and glutamate. Neuroreport, 6, 757-760.
- Wilson, P. (1980a). The organization of the visual hyperstriatum in the domestic chick. I. Topology and topography of the visual projection. Brain Research, 188, 319-331.
- Wilson, P. (1980b). The organization of the visual hyperstriatum in the domestic chick. II. Receptive fields properties of single units. Brain Research, 188, 333-345.
- Wu, G.-Y., Wang, S.-R., & Felix, D. (1994). Effect of acetylcholine and NMDA on neurones of avian tectum and nucleus isthmi. Neuroreport, 5, 850-852.
- Wüllner, U., Standaert, D. G., Testa, C. M., Landwehrmeyer, B., Catania, M. V., Penney, J. B., & Young, A. B. (1994). Glutamate receptor expression in rat striatum: Effect of deafferentation. Brain Research, 647, 209-219.
- Zavitsanou, K., Mitsacos, A., & Kouvelas, E. D. (1994). Autoradiographic characterization of [<sup>3</sup>H]6-cyano-7-nitroquinoxaline-2, 3-dione binding sites in adult chick brain. Neuroscience, 63(2), 955-962.

## **Partie II- Version anglaise de l'article**

**NMDA and AMPA glutamate receptor binding in the pigeon visual system  
and effects of early unilateral retinal lesions**

**Carol HUDON<sup>1</sup>, Dom MICELI<sup>1</sup>, Guy MASSICOTTE<sup>2</sup> and Jacques REPÉRANT<sup>1,3</sup>**

<sup>1</sup> Laboratoire de neuropsychologie expérimentale et comparée, <sup>2</sup> Laboratoire de neurobiologie de la mémoire, Université du Québec, Trois-Rivières, Canada and <sup>3</sup> Unité 106 INSERM, Hôpital de la Salpêtrière, Paris, France.

Manuscript: 36 pages; 4 Figures; 3 Tables

Corresponding author: Dr Dom Miceli  
Département de psychologie  
Université du Québec  
C.P. 500  
Trois-Rivières, Québec  
G9A 5H7 Canada  
Tel.: (819) 376-5085  
E-mail: Dom\_Miceli@UQTR.UQuebec.ca



## Abstract

The aim of the present work was to determine the normal distribution of both *N*-methyl-D-aspartate (NMDA) and  $\alpha$ -amino-3-methyl-4-isoxazopropionate (AMPA) receptors in the pigeon (*Columba livia*) visual system, as well as their reorganization following an early unilateral retinal lesion (1 day post-hatch) carried out by intraocular injection of kainic acid. The binding of [<sup>3</sup>H]glutamate and [<sup>3</sup>H]AMPA was quantified in different visual structures of control and unilaterally deafferented pigeons. In control animals, higher levels of [<sup>3</sup>H]glutamate binding were observed in the *nucleus dorsolateralis anterior thalami* (DLA), optic tectum (OT) and in the three hyperstriatal subdivisions: *hyperstriatum accessorium* (HA), *hyperstriatum intercalatus superior* (HIS), *hyperstriatum dorsale* (HD), whereas for the [<sup>3</sup>H]AMPA binding, they were found in the HA, HIS, HD and in the superficial layers 2-6 of the OT. In experimental animals, the early retinal lesion induced bilateral reductions of NMDA receptors in both the *nucleus isthmi pars parvocellularis* (Ipc) and the HIS, as well as bilateral increases in the DLA. In addition, the deafferentation produced reductions of AMPA binding on the deafferented side in the superficial OT and *nucleus rotundus* (Rt), and bilaterally in the *nucleus geniculatus lateralis ventralis* (GLv) and DLA, whereas increases on the intact side were observed in the Ipc and the *nucleus isthmi pars magnocellularis* (Imc) and bilaterally in the deep layers 7-13 of the OT. The results suggest that the avian retinal projections upon the OT, DLA and GLv are glutamatergic and that the non-NMDA receptors are predominant in the pigeon visual system. The changes in the different

receptor sub-types following the early retinal lesion are discussed in terms of reorganization mechanisms associated with either the loss of pre- and/or post-synaptic receptors, or compensatory mechanisms of down- and/or up-regulation.

**Theme:** Development and regeneration

**Topic:** Visual system

**Keywords:** Glutamate receptors ; Retinal lesion; Receptor plasticity; Visual system; Pigeon

## 1. Introduction

Glutamate (Glu) is an excitatory transmitter which is widespread in the central nervous system of vertebrates [6, 8, 36, 41]. In their work devoted to both description and properties of the different known neurotransmitters, Meunier and Shvaloff [30] classified the Glu receptors into distinct sub-types: *N*-methyl-D-aspartate (NMDA) and non-NMDA receptors. The latter are the  $\alpha$ -amino-3-methyl-4-isoxazopropionate (AMPA) and 2-carboxy-3-carboxy methyl-4-isopropenyl-pyrrolidine (kainate) receptors. It has been proposed that during animal development, as well as in adulthood, the colocalization of different sub-types of Glu receptors on the same postsynaptic sites are involved in the synaptic plasticity phenomenon [30], one of the most documented contributions of Glu receptors in the central nervous system [18, 23, 28, 37, 39]. In the visual system, these receptors are critical to the processes of functional adaptation during the maturation the visual pathways [10, 11]. However, despite the potential importance of Glu receptors in both brain maturation and functioning, few studies have examined the regulation of their sites within polysynaptic circuits such as the visual system [8].

Different Glu receptor sub-types play an essential role in vision. Iontophoretic blockade of NMDA receptor activity in the visual cortex with AP5 produces a constant reduction of the visual response, which is independent of the stimulation intensity [12]. In addition, it has been shown that visual deafferentation can induce changes in the

concentrations of both Glu transmitter and receptors in the visual system. In pigeons, a unilateral retinal ablation leads to a strong reduction of the Glu transmitter in the superficial layers of the optic tectum (OT) [15]. In rats, a unilateral orbital enucleation produced a significant reduction in [<sup>3</sup>H]AMPA binding, as well as an increase in [<sup>3</sup>H]kainate binding in the superior colliculus (SC) [8]. Furthermore, following unilateral eyelid suture in young rats, reductions of [<sup>3</sup>H]6-cyano-7-nitroquinoxaline-2, 3-dione (CNQX) and [<sup>3</sup>H]kainate binding have been demonstrated in all layers of the visual cortex [29].

Very few studies have attempted to localized the different Glu receptors in the avian visual system. In pigeons, AMPA receptors have been identified in the molecular cell layers of the cerebellum, whereas NMDA receptors were localized in the granular cell layers [2]. In addition, it was demonstrated that both NMDA and AMPA receptors coexist in the diencephalic *nucleus rotundus* (Rt) [18]. In chicks, a prominent [<sup>3</sup>H]CNQX binding was shown in the superficial layers of the OT, the *nucleus isthmi pars parvocellularis* (Ipc), the *nucleus isthmi pars magnocellularis* (Imc), as well as in the *hyperstriatum accessorium* (HA) of the visual Wulst [52], whereas a high level of L-[<sup>3</sup>H]glutamate binding was noted in both the *nucleus dorsolateralis anterior thalami* (DLA) and *hyperstriatum ventrale* [35].

Because of the virtually complete decussation of its retinal fibers, the pigeon visual system provides an interesting polysynaptic system in which to study the effects of deafferentation on Glu receptors. Indeed, the effects of a unilateral lesion are

essentially restricted to the contralateral primary visual structures. Using a quantitative autoradiographic method, the aim of the present study was to determine the normal distribution of both NMDA and AMPA receptors in the pigeon visual system as well as their reorganization following an early unilateral retinal lesion (1 day post-hatch) carried out with an intraocular injection of kainic acid. In high concentrations, the latter is a toxic agent that selectively affects retinal cells by a hyperpolarization mechanism [14, 24].

## **2. Material and methods**

### *Animals*

Seven homing pigeons (*Columba livia*) were used in the investigation. At post-hatch day 1, four animals under general (Ketamine: 50 mg/kg) and local (Novacaine applied to the cornea) anesthetic, received intraocular injections of 10  $\mu$ l of kainic acid (4,3 mg/ml) using 50  $\mu$ l capacity Hamilton microsyringes. In two experimental animals, injections were performed into the left eye while two others were injected into the right eye. At 3 months of age, both control and experimental animals were deeply anesthetized with Ketamine/Rompun, the brains were rapidly removed, frozen in isopentane (methyl butane) at -20 °C, and kept at -80 °C until they were sectioned. Coronal brain sections (14  $\mu$ m) were cut in a cryostat, thaw-mounted on gelatin-coated slides and then kept at -80 °C.

### *Ligand binding*

Autoradiography was carried out in accordance with current practices [5, 17, 52]. Thus, to remove endogenous glutamate, all sections were preincubated for 50 min in a Tris-acetate buffer (pH 7.4, 100 mmol/l) containing 100  $\mu$ mol/l EGTA at 0 °C, and then processed for [<sup>3</sup>H]glutamate and [<sup>3</sup>H]AMPA binding. For [<sup>3</sup>H]glutamate binding, the sections were incubated for 45 min at 0-4 °C in 50 mmol/l Tris-acetate buffer (pH 7.4, 50  $\mu$ mol/l EGTA) containing 100 nmol/l [<sup>3</sup>H]glutamate (specific activity 51 Ci mmol<sup>-1</sup>, Dupont Canada). For [<sup>3</sup>H]AMPA binding, they were incubated for 45 min at 0-4 °C in 50 mmol/l Tris-acetate buffer (pH 7.4, 100  $\mu$ mol/l EGTA) containing 50 mmol/l potassium thiocyanate in the presence of 75 nmol/l [<sup>3</sup>H]AMPA (53 Ci mmol<sup>-1</sup>, Dupont Canada). The sections processed with [<sup>3</sup>H]glutamate were washed twice for 15 sec in a Tris-acetate KSCN buffer, once in the same buffer in the presence of distilled water (10 sec), and a last time in distilled water only (5 sec). For those treated with [<sup>3</sup>H]AMPA, only the time of the two initial washes were varied (10 sec). After rinsing, the sections were rapidly dried in a warmed air stream. All brain sections, as well as tritium standards (ARC, St.Louis, MO), were then exposed to tritium-sensitive films (Amersham Hyperfilm, U.K.) for 7 days ([<sup>3</sup>H]glutamate) or 14 days ([<sup>3</sup>H]AMPA). The films were finally processed in Sigma developer and fixer. The adjacent slides of autoradiograms were stained with cresyl violet for qualitative analysis of the visual structures studied.

### *Digitalization of autoradiograms*

The digitalization of the autoradiograms and tritium standards was performed at a 16× magnification using a Leitz microscope. The microscopic image was captured with a Panasonic video camera (WV-1850), visualized on a Panasonic monitor (WV-5470) and sent to a Power MacIntosh computer. Optical densities of the different visual structures were converted to radioactive units using tritium standards on the film and an image analysis software (NIH Image 1.59).

### *Statistical analysis*

Bilateral measurements of NMDA and AMPA receptor densities were obtained in each structure studied. All mean densities (pmol/g) were recorded and analyzed by a commercial software package (Statview 4.02). The bilateral concentrations of the different receptors in both control and deafferented animals were compared using paired t-tests. An estimation of deafferentation effects in experimental animals, in comparison with controls, was determined by one way analysis of variance (ANOVA) and *post hoc* Scheffé tests. The criterion for statistical significance was set at  $\alpha = 0.05$ .

In the thalamofugal pathway, the structures studied were the DLA and the three visual Wulst subdivisions: HA, *hyperstriatum intercalatus superior* (HIS), and *hyperstriatum dorsale* (HD), whereas in the tectofugal pathway, only the OT and Rt were analyzed. In addition, three other visual structures were studied: the *nucleus geniculatus lateralis ventralis* (GLv), the Ipc and the Imc. The OT, DLA and GLv

represent primary retino-recipient structures. The demarcation of the different visual regions sampled was derived according to the Karten and Hodos' [25] atlas.

### **3. Results**

The results for each receptor examined are presented separately in Tables I-III. In control animals, it was first ascertained that there was no bilateral asymmetry with regard to the normal distribution of both NMDA and AMPA receptors in the various visual structures. The data reported for these animals, therefore, is the mean of binding values measured in both the left and right structures. In deafferented animals, the results were separated according to their location on either the intact (I; ipsilateral to lesion) or deafferented (D; contralateral to lesion) side and an ANOVA was performed in order to estimate the level of significance of the following comparisons: I vs. control animals (C), D vs. C. The I vs. D comparison was estimated with a paired t-test.

The results on the effects of the early retinal lesion in the various visual structures will be described according to four different classes of effects on the receptor sub-types: 1. no effect of the lesion; 2. effects on the D side; 3. effects on the I side; and 4. bilateral effects. Furthermore, classes 2-4 were divided into two different sub-classes: A. increase; and B. decrease of the receptor sub-types (Table I).



### *[<sup>3</sup>H]glutamate binding*

#### *Control group*

The results obtained in control animals revealed a rather homogenous distribution of NMDA receptors as well as relatively low binding values in the different visual structures (Table II). Thus, except for the OT, DLA and the three visual Wulst subdivisions where slightly higher densities were observed (> 45 pmol/g), most of the visual structures showed a low affinity for the [<sup>3</sup>H]glutamate ligand (Fig. 2).

#### *Experimental group*

The I vs.D comparison did not reveal any significant differences in the concentrations of NMDA receptors. However, when both I and D structures were compared to the averaged binding densities in control animals (Table I), retinal lesion effects were observed in the DLA ( $F(2,19) = 9.4$ ;  $p < 0.01$ ), Ipc ( $F(2,39) = 9.0$ ;  $p < 0.01$ ) and HIS ( $F(2,17) = 6.5$ ;  $p < 0.01$ ) (Fig. 1). The Scheffé test revealed significant increases in the [<sup>3</sup>H]glutamate binding, in the order of 15,0 and 14,4 % respectively, in the I-DLA ( $p < 0.01$ ) and D-DLA ( $p < 0.01$ ), whereas reductions of 9,2 and 8,7 % were observed in the I-HIS ( $p < 0.05$ ) and D-HIS ( $p < 0.05$ ). Although the changes in Ipc were minimal (2,1 and 2,6 %), deafferentation induced a significant reduction of NMDA receptors in the I-Ipc ( $p < 0.05$ ) and D-Ipc ( $p < 0.05$ ). These structures underwent bilateral effects of the lesion, corresponding to the 4A (DLA) and 4B (Ipc, HIS) sub-classes. The other

regions studied did not show any significant change in their concentrations of NMDA receptors (class 1).

### *[<sup>3</sup>H]AMPA binding*

#### *Control group*

A differential distribution of AMPA receptors was observed in the different primary and secondary visual structures (Table III). In the primary visual system, the highest densities of AMPA receptors were observed in the superficial layers 2-6 of the OT (749 pmol/g), while in the secondary visual system, they were found in the hyperstriatal layers HA, HIS and HD (340-554 pmol/g) (Fig. 2-3). The GLv and DLA showed relatively high levels of [<sup>3</sup>H]AMPA binding (312-324 pmol/g) that differed markedly from those in the OT (Fig. 4). The lowest densities of AMPA receptors were found in the Rt, lpc, lmc and deep layers 7-13 of the OT (< 160 pmol/g).

As in the case of NMDA receptors, the quantitative analysis of the [<sup>3</sup>H]AMPA autoradiograms did not demonstrate any significant differences between the structures on the left and right side in control animals. However, in the Rt, there is a strong trend of asymmetry in the distribution of AMPA receptors (Fig. 4) Indeed, in all sections of the diencephalic region, a higher number of AMPA receptors (22,9 %) was measured in the left Rt (mean = 175,1 pmol/g ± 6,8) compared to the right Rt (mean = 142,5 pmol/g ± 6,8) (p = 0.0509).

### *Experimental group*

The early retinal lesion led to bilateral changes in [<sup>3</sup>H]AMPA binding in the GLv ( $F(2,67)= 26,4$ ;  $p < 0.01$ ) and the DLA ( $F(2,69) = 15,3$ ;  $p < 0.01$ ). In both cases, bilateral reductions of AMPA receptors were observed (Fig. 1), corresponding to the 4B class. In the GLv, although the I vs. D comparison was not significant ( $p = 0.14$ ), the loss of receptors was greater on the D (45,0 %,  $p < 0.01$ ) compared with the I side (29,6 %,  $p < 0.01$ ). In the DLA, the reductions were similar on both sides (D: 35,7 %,  $p < 0.01$ ; I: 31,0 %,  $p < 0.01$ ). The Rt ( $F(2,59) = 5,0$ ;  $p < 0.01$ ) and superficial layers of the OT ( $F(2,67) = 37,0$ ;  $p < 0.01$ ) are the two structures in which the retinal lesion induced changes exclusively on the D side. Thus, in accordance with the 2B class, AMPA receptors in D-Rt showed reductions of 17,1 % and 20,5 %, in comparison respectively with control animals ( $p < 0.05$ ) and the I side in experimental animals ( $t(15) = 3.9$  ;  $p < 0.05$ ), whereas in the superficial layers of D-OT, these reductions were extremely marked and respectively 56,8 % ( $p < 0.01$ ) and 57,2 % ( $t(22) = -10.1$  ;  $p < 0.01$ ) (Fig. 4). In the Ipc ( $F(2,63) = 30,9$ ;  $p < 0.01$ ) and Imc ( $F(2,35) = 5,2$ ;  $p < 0.05$ ), significant increases in the [<sup>3</sup>H]AMPA binding were observed on the I side (3A class). In the Ipc, the binding was 27,3 % and 24,4 % higher on the I side compared respectively with the control animals ( $p < 0.01$ ) and the D side of deafferented animals ( $t(22) = 8.1$  ;  $p < 0.05$ ). In the Imc, only the I vs.C comparison was significant ( $p < 0.05$ ) and an increase of 22,0 % of AMPA receptors was observed on the I side (Fig. 3). According to the class 4A, bilateral increases ( $F(2,65)=13,0$  ; $p < 0.01$ ) of 40,1 % and 39,8 % respectively

were noted in the deep layers of the I-OT ( $p < 0.01$ ) and D-OT ( $p < 0.01$ ). The three visual Wulst layers did not show any change following the retinal lesion (class 1).

#### **4. Discussion**

The present study examined the distribution and reorganization of NMDA and AMPA receptors in different primary and secondary visual structures of normal and experimental pigeons, which received an early unilateral retinal lesion. The analysis of the results provided a better understanding of the general distribution as well as the effects of deafferentation on NMDA and AMPA receptors in the avian visual structures studied.

##### *Normal distribution of NMDA and AMPA receptors*

The NMDA binding values were, in general, relatively low with higher levels observed in the DLA, OT and the visual Wulst layers: HA, HIS, HD. Higher levels of AMPA receptors were found in the superficial layers of the OT and in the three hyperstriatal layers. The primary visual areas DLA and GLv displayed a relatively prominent [ $^3\text{H}$ ]AMPA binding, whereas the Rt, Ipc, Imc and the deep layers of the OT contained lower receptor concentrations. Analysis of the adjacent sections stained with cresyl violet indicated that the highest densities of AMPA receptors observed in the OT corresponded to superficial layers 2-6. These results are in agreement with those derived from previous studies. In birds [36, 45], amphibians [5, 23] and fish [6], it has

been shown that the Glu transmitter and its receptors are strongly concentrated in the superficial layers of the OT.

The present results on normal distribution of NMDA and AMPA receptors corroborate those obtained in other studies performed in the pigeon [18] and chick [35, 52]. In the avian tectofugal visual projection relays in the thalamic Rt in pigeons [21], Gao et al. [18] demonstrated electrophysiologically that NMDA and AMPA coexist within this relay nucleus and that Glu acts mainly via non-NMDA receptors (AMPA) in tecto-rotundal neurotransmission. Although weak binding levels of both receptors were observed in the Rt in the present study, AMPA receptors were found in higher concentrations. In chicks, relatively high densities of L-glutamate binding have been reported in the DLA and the superficial layers of the OT [35], while in another study using the radioligand [<sup>3</sup>H]CNQX, strong concentrations of AMPA receptors were observed in regions of the Wulst and superficial layers of the OT [52]. Zavitsanou et al. [52] reported very high levels of AMPA receptors in the Rt and Imc, and a greater number of such receptors in the Imc compared to the Ipc. Our data using the [<sup>3</sup>H]AMPA radioligand does not corroborate these results, however we have been able to reproduce them with the [<sup>3</sup>H]CNQX radioligand (unpublished results). It is possible that because of the known limited selectivity of CNQX between AMPA and kainate receptors, the AMPA binding estimates of Zavitsanou et al. [52] might have been affected [27].

In all visual structures of control animals, no differences were found between the left and right sides concerning NMDA and AMPA receptor densities. However, in the

Rt, [<sup>3</sup>H]AMPA binding indicated a strong tendency for a higher density level in the left compared with right side. This asymmetry tendency of AMPA receptor distribution might be explained by the fact that in adult pigeons, tecto-rotundal projections are asymmetrically organized with left-sided dominance [20, 21, 40]. Whereas the left Rt receives afferents from the OT of both sides, the right Rt receives input almost exclusively from the right OT. In the present study, the densities of AMPA receptors were 22,9% higher in the left structure compared with the right and this may reflect the anatomical asymmetry. The results suggest that the stronger left-sided projections from the OT onto the Rt are of AMPA-type rather than NMDA.

In mammalian species, NMDA receptors are found in greater concentrations in the striate visual cortex [8, 12, 13, 27, 29], the anatomical equivalent of the avian visual Wulst [4, 7, 26, 31, 32]. In rats, AMPA receptors are also densely localized in the visual cortex [8, 27, 29] and a prominent [<sup>3</sup>H]AMPA binding has been demonstrated in the superficial CS [8, 27], which corresponds to avian OT superficial layers [9]. Our results also demonstrated high concentrations of AMPA receptors in the superficial layers 2-6 of the OT, where retinal fibers arborize. In addition, greater concentrations of NMDA receptors were observed in the HA, and the AMPA receptors were highly concentrated in both HA and HD. These results are in agreement with findings in the rat visual cortex in which the highest Glu receptor densities have also been observed in the superficial II/III (NMDA and AMPA) and deep IV/V (AMPA) layers [8]. Therefore, on a topographic basis, there is a superficial/deep correspondence between birds and

mammals with regards to the telencephalic distribution of NMDA and AMPA receptors in their respective thalamofugal target sites. However, it should be noted that this correspondence no longer holds when comparing the efferent systems in the different visual cortical subdivisions. Indeed, the mammal sub-cortical projections originate from the deep cortical layers V/VI, whereas the extra-telencephalic visual projections in birds stem from the most superficial layer HA [31, 48, 49].

#### *Early retinal lesion effects on NMDA and AMPA receptors*

##### *NMDA receptors*

Early retinal lesion induced significant changes in NMDA receptors for the DLA, HIS and Ipc, which belong to the class 4 effects. Changes in [<sup>3</sup>H]glutamate binding were significant and roughly similar (I vs. D, n.s.) in both intact and deafferented sides compared with control animals. Although these changes were minimal (2,1 to 2,6%) in Ipc, statistical analysis revealed significant drops in bilateral binding. In birds, reciprocal projections between the Ipc and the ipsilateral OT have been demonstrated [22, 42, 46, 47, 50] and these tecto-isthmic connections are exclusively ipsilateral [42]. It is possible to explain the drop of NMDA receptors in the deafferented Ipc by a loss of direct afferents from the ipsilateral OT and this involves either a deinnervation-induced loss of pre-synaptic receptors, or a receptor down-regulation [8]. It is however difficult to explain the loss of receptors in the intact Ipc, which might probably correspond to contralateral effects mediated via indirect polysynaptic pathways. Bilateral changes

appeared to be more considerable in the HIS (8,7 to 9,2%) and the DLA (14,4 to 15,0%) where respectively a decrease and an increase of NMDA receptors was observed. The bilateral reduction of NMDA receptors in the HIS may possibly be due to a receptor down-regulation and to the deinnervation of the thalamofugal pathway, which is bilaterally organized [32, 33]. In addition, the bilateral binding increases in the DLA might be the expression of a strengthening of afferents stemming from descending hyperstriatal projections [31, 33] and may represent an up-regulation mechanism of the receptors [8]; the latter would constitute a post-synaptic compensatory response [8, 51].

In order to compare our results with previous studies concerning the effects of deafferentation on NMDA receptors, we have to refer to results obtained in mammals because, to our knowledge, no such studies have been carried out in birds. Thus, following a unilateral orbital enucleation in young rats, NMDA receptor increases were demonstrated in both cortical layer IV and superficial SC at post-natal day 30, while no changes were observed in the dorsal lateral geniculate body (GLd) [27], the mammalian equivalent of the avian DLA [32, 33]. Furthermore, after a unilateral eyelid suture, only long-term monocular deprivation induced a bilateral decrease of the binding of NMDA receptors in all cortical layers [29]. In adult rats, after an eyeball enucleation, these receptors were not shown to change in the visual cortex and the GLd [8]. The differences in some of the results between these studies and ours might be explained in two different ways. First, in our model, it is possible that the early retinal deafferentation induces greater plasticity in the reorganization of the visual pathways.



Indeed, there are several examples demonstrating alterations in the structural organization of the visual pathways when lesions are sustained in young animals, but such modifications are not observed in adulthood under the same manipulation conditions [27, 37]. Therefore, in our model, it is conceivable that systems exhibit a greater adaptation ability due to the fact that lesions were performed in the very early post-natal period. The second possibility can be linked to non exact correspondences between the examined structures in pigeons and rats. The rat GLd is a relatively homogeneous structure receiving direct retinal projections, whereas at least 5 different subdivisions constitute the avian DLA and some of its parts which contain projection cells to the Wulst are not retino-recipient. In the present study, the entire DLA was analyzed and it might be possible that the portions receiving of the retina remain unchanged and that the changes occur in those areas that are not directly retino-recipient.

#### *AMPA receptors*

The early retinal lesion induced reductions of [<sup>3</sup>H]AMPA binding on the deafferented side (class 3B) in the superficial layers 2-6 of the OT and the Rt, and bilaterally (class 4B) in the GLv and DLA, whereas increases on the intact side (class 3A) were observed in the Ipc and Imc, and on both intact and deafferented sides (class 4A) in the deep layers 7-13 of the OT. The extremely high concentrations of AMPA receptors found in the superficial retino-recipient layers 2-6 of the OT and the

corresponding reductions indicate that the latter effect is a consequence of the degeneration of retinal fibers. This implies a specific role of AMPA in this structure and a possible deinnervation induced loss of post-synaptic receptors [8] since the retinal projections to the OT have been presumed to be glutamatergic [36]. Following visual deprivation, strong reductions have been demonstrated in either Glu neurotransmitter concentrations, or of its receptors in the pigeon OT [15, 36] and in the rat SC [8, 43]. In adult rats, a reduction of [<sup>3</sup>H]AMPA binding has been reported in the deafferented superficial SC from post-enucleation day 10 onwards [8], while in young rats, a binding increase has been demonstrated in the same structure at post-enucleation day 20 [27]. The latter results obtained in the SC and showing an increase in receptor binding after enucleation in the newborn rat differ from those in the present study where a reduction was observed in the deafferented OT. The most likely explanation for these differences may be linked to the different animal models used and to the fact that in birds, a reduction in receptor concentration is the predominant overall effect since the retinal projections upon the OT are the heaviest among the different primary visual centers.

The reduction of [<sup>3</sup>H]AMPA binding observed in the Rt on the same side as the deinnervated OT could be the result of a weakening or a loss of tecto-rotundal projections and of post-synaptic receptors [8]. This pathway has been shown to act mainly via AMPA receptors [18]. The bilateral reductions of AMPA receptors in both the DLA and GLv might be attributable to different phenomenon with regard to the intact and deafferented side. On the deafferented side, it might be attributable to the

massive degeneration of the direct retinal afferents upon these primary visual structures. As in the case of the OT, the reduction in AMPA receptors in the GLv and DLA due to the contralateral retinal lesion, most likely involves a loss of post-synaptic receptors or possibly pre-synaptic, and suggests that the retinal input is glutamatergic. On the intact side, the reduction is more difficult to explain and may be due to a receptor down-regulation as a result of non-direct influences stemming from structures such as the visual Wulst, which is a major source of descending telencephalic projections upon these diencephalic nuclei [9, 26, 28, 31].

The increases of [<sup>3</sup>H]AMPA binding in both the intact Ipc and Imc might be a consequence of anomalous developing ipsilateral projections from the intact retina to the OT observed in pigeons following early retinal ablation [3] and associated reinforcement of the known tecto-isthmic projections on the same side [19, 22, 38, 42, 46]. This might represent a post-synaptic compensatory response of the intact structure to the decrease of glutamatergic input following deafferentation [8, 51]. It should be noted that although the Imc circuitry is less clear than that of the Ipc [46], some data are available suggesting that, as in the case of the latter nucleus, the Imc receives afferents from [19, 38] and projects back to the ipsilateral OT [19, 22, 42, 46]. Increased AMPA receptors in the deep layers of the OT may represent a denervation supersensitivity reaction in response to decreased glutamatergic input of retinal and/or of cortical origin [8].

In the young rat visual cortex, both increases and decreases in AMPA receptors have been reported respectively following enucleation [27] or visual deprivation [29], whereas no change were observed following enucleation in the adult rat [8]. The present study in the pigeon did not demonstrate any change in [<sup>3</sup>H]AMPA binding in any of the three hyperstriatal subdivisions. It is at present difficult to explain these discrepancies in the results which may be linked to differences in the AMPA receptor radioligands used [27], the ages of the animals at which the deinnervation or deprivation experiments were conducted, and to species differences.

The present findings revealed overall higher levels of AMPA binding compared with NMDA, indicating that non-NMDA receptors are predominant in the pigeon visual system. Thus, the [<sup>3</sup>H]glutamate binding following the early retinal lesion, in general, showed little change in the different visual structures sampled. Even though NMDA receptors are involved in LTP phenomena, as well as in visual system maturation [12, 16, 23, 27, 29, 37, 44], more reduced effects on [<sup>3</sup>H]glutamate binding following deafferentation would suggest a relatively minor physiological role of NMDA, compared with AMPA receptors, in visual processing in the pigeon. Correspondingly, the NMDA receptor sites, probably post-synaptic, would appear to be less sensitive to the functional changes of the visual system [8]. Furthermore, the highest concentrations of AMPA binding observed in the hyperstriatal targets of the thalamofugal pathway indicate that, in these regions, Glu receptors are more of AMPA-type than NMDA. The normal distribution of Glu receptors as well as their reorganization under lesion

conditions has been less investigated in the avian compared with the mammalian species visual system. The present study demonstrated a differential NMDA and AMPA receptor distribution and is the first to describe the effects of early monocular retinal lesions in an avian model. Further experimental work will be required in order to elucidate the developmental and functional role of the different Glu receptors in the avian visual system and determine to what extent they participate in its reorganization following lesions.

### **Acknowledgements**

This work was supported by the Fonds FCAR (ER0635) and by a NSERC post-graduate M.A. scholarship awarded to Carol Hudon. The authors thank L. Marchand for his technical assistance in autoradiography, M. Bélanger for his photographic aid, L. Laurencelle for his statistical advice and G. Dumas and S. Pézolet for their assistance during the final writing.

## References

1. Adret, P. and Rogers, L.J., Sex difference in the visual projections of young chicks: A quantitative study of the thalamofugal pathway, *Brain Research*, 478 (1989) 59-73.
2. Albin, R.L., Sakurai, S.Y., Makowiec, R.L. and Gilman, S., Excitatory and inhibitory amino acid neurotransmitter binding sites in the cerebellar cortex of the pigeon (*Columba livia*), *J. Chem. Neuroanat.*, 4 (1991) 429-437.
3. Bagnoli, P., Casini, G., Fontanesi, G. and Sebastiani, L., Reorganization of visual pathways following posthatching removal of one retina in pigeons, *J. Comp. Neurol.*, 288 (1989) 512-527.
4. Bagnoli, P. and Burkhalter, A., Organization of the afferent projections to the wulst in the pigeon, *J. Comp. Neurol.*, 214 (1983) 103-113.
5. Barnes, J.M. and Henley, J.M., Autoradiographic distribution of glutamatergic ligand binding sites in *Xenopus* brain: Evidence for intracellular [<sup>3</sup>H]AMPA binding sites, *Brain Research*, 626 (1993) 259-264.
6. Barnes, J.M. and Henley, J.M., Quantitative analysis of the distributions of glutamatergic ligand binding sites in goldfish brain, *Brain Research*, 637 (1994) 323-327.
7. Bredenkötter, M. and Bischof, H.-J., Differences between ipsilaterally and contralaterally evoked potentials in the visual wulst of the zebra finch, *Visual Neurosci.*, 5 (1990) 155-163.

8. Chalmers, D.T. and McCulloch, J., Selective alterations in glutamate receptor subtypes after unilateral orbital enucleation, *Brain Research*, 540 (1991) 255-265.
9. Crossland, W.J. and Uchwat, C.J., Topographic projections of the retina and optic tectum upon the ventral lateral geniculate nucleus in the chick, *J. Comp. Neurol.*, 185 (1979) 87-106.
10. Czepita, D. and Daw, N.W., The contribution of NMDA receptors to the visual response in animals that have been partially monocularly deprived, *Brain Research*, 728 (1996) 7-12.
11. Czepita, D., Reid, S.N.M. and Daw, N.W., Effect of longer periods of dark rearing on NMDA receptors in cat visual cortex, *J. Neurophysiol.*, 72 (1994) 1220-1226.
12. Daw, N.W., Stein, P.S.G. and Fox, K., The role of NMDA receptors in information processing, *Ann. Rev. Neurosci.*, 16 (1993) 207-222.
13. Dori, I., Dinopoulos, A., Cavanagh, M.E. and Parnavelas, J.G., Proportions of glutamate- and aspartate-immunoreactive neurons in the efferent pathways of the rat visual cortex varies according to the target, *J. Comp. Neurol.*, 319 (1992) 191-204.
14. Ehrlich, G., Teuchert, G. and Morgan, I.G., Specific ganglion cell death induced by intravitreal kainic acid in the chicken retina, *Brain Research*, 415 (1987) 342-346.
15. Fonnum, F. and Henke, H., The topographical distribution of alanine, aspartate,  $\gamma$ -aminobutyric acid, glutamate, glutamine, and glycine in the pigeon optic tectum and the effect of retinal ablation, *J. Neurochem.*, 38 (1982) 1130-1134.

16. Fox, K., Daw, N., Sato, H. and Czepita, D., The effect of visual experience on development of NMDA receptor synaptic transmission in kitten visual cortex, *J. Neurosci.*, 12 (1992) 2672-2684.
17. Gagné, J., Milot, M., Gélinas, S., Lahsaini, A., Trudeau, F., Martinoli, M.-G. and Massicotte, G., Binding properties of glutamate receptors in Streptozotocin-induced diabetes in rats, *Diabetes*, 46 (1997) 841-846.
18. Gao, H.-F., Wu, G.-Y., Frost, B.J. and Wang, S.-R., Excitatory and inhibitory neurotransmitters in the nucleus rotundus of pigeons, *Visual Neurosci.*, 12 (1995) 819-825.
19. Güntürkün, O., A Golgi study of the isthmus nuclei in the pigeon (*Columba livia*), *Cell Tissue Res.*, 248 (1987) 439-448.
20. Güntürkün, O. and Hahmann, U., Visual acuity and hemispheric asymmetries in pigeons, *Behav. Brain Res.*, 60 (1994) 171-175.
21. Güntürkün, O. and Melsbach, G., Asymmetric tecto-rotundal projections in pigeons: Cues to the origin of lateralized binocular integration, In Elsner, N. and Richter, D.W. (Eds), *Rhythmogenesis in neurons and networks: Proceedings of the 20<sup>th</sup> Göttingen Neurobiologentagung*, Stuttgart: Thieme (1992) 364.
22. Güntürkün, O. and Remy, M., The topographical projection of the nucleus isthmi pars parvocellularis (Ipc) onto the tectum opticum in the pigeon, *Neurosci. Lett.*, 111 (1990) 18-22.



23. Hickmott, P.W. and Constantine-Paton, M., The contributions of NMDA, non-NMDA, and GABA receptors to postsynaptic responses in neurons of the optic tectum, *J. Neurosci.*, 13 (1993) 4339-4353.
24. Ingham, C.A. and Morgan, I.G., Dose-dependent effects of intravitreal kainic acid on specific cell types in chicken retina, *Neuroscience*, 9 (1983) 165-181.
25. Karten, H.J. and Hodos, W., *A stereotaxic atlas of the brain of the pigeon (Columba livia)*, Johns Hopkins Press: Baltimore, Md (1967) 193 pp.
26. Karten, H.J., Hodos, W., Nauta, W.J.H. and Revzin, A.A., Neural connections of the visual wulst of the avian telencephalon. Experimental studies in the pigeon *Columba livia* and owl *Speotyto canicularia*, *J. Comp. Neurol.*, 150 (1973) 253-276.
27. Kiyosawa, M., Dauphin, F., Kawasaki, T., Rioux, P., Tokoro, T., MacKenzie, E.T. and Baron, J.-C., Unilateral eyeball enucleation differentially alters AMPA-, NMDA- and kainate glutamate receptor binding in the newborn rat brain, *Neurosci. Res.*, 26 (1996) 215-224.
28. Kozlowski, D.A., Jones, T.A. and Shallert, T., Pruning of dendrites and restoration of function after brain damage: Role of the NMDA receptor, *Restorative Neurol. Neurosci.*, 7 (1994) 119-126.
29. Kumar, A., Schliebs, R. and Bigl, V., Postnatal development of NMDA, AMPA and kainate receptors in individual layers of rat visual cortex and the effect of monocular deprivation, *Int. J. Dev. Neurosci.*, 12 (1994) 31-41.

30. Meunier, J.-M. and Shvaloff, A., *Abrégés : Neurotransmetteurs* (2<sup>nd</sup> ed.), Masson: Paris, 1995, 260 pp.
31. Miceli, D., Gioanni, H., Repérant, J. and Peyrichoux, J., The avian visual wulst. I. An anatomical study of afferent and efferent pathways. II. An electrophysiological study of the functional properties of single neurons. In Granda, A.M. and Maxwell, J.H. (Eds), *Neural Mechanisms of Behavior in the Pigeon*, Plenum, New York (1979) pp. 223-254.
32. Miceli, D., Marchand, L., Repérant, J. and Rio, J.-P., Projections of the dorsolateral anterior complex and adjacent thalamic nuclei upon the visual Wulst in the pigeon, *Brain Research*, 518 (1990) 317-323.
33. Miceli, D., Peyrichoux, J. and Repérant, J., The retino-thalamo-hyperstriatal pathway in the pigeon (*Columba livia*), *Brain Research*, 100 (1975) 125-131.
34. Miceli, D., Repérant, J., Villalobos, J. and Weidner, C., Extratelencephalic projections of the visual Wulst. A quantitative autoradiographic study in the pigeon, *J. Hirnforsch.*, 28 (1987) 45-59.
35. Mitsacos, A., Dermon, C.R., Stassi, K. and Kouvelas, E.D., Localization of L-glutamate binding sites in chick brain by quantitative autoradiography, *Brain Research*, 513 (1990) 348-352.
36. Morino, P., Bahro, M., Cuénod, M. and Streit, P., Glutamate-like immunoreactivity in the pigeon optic tectum and effect of retinal ablation, *Eur. J. Neurosci.*, 3 (1990) 366-378.

37. Rauschecker, J. P., Mechanisms of visual plasticity: Hebb synapses, NMDA receptors, and beyond, *Physiol. Rev.*, 71 (1991) 587-615.
38. Repérant, J., Miceli, D. and Raffin, J.P., Transneuronal transport of tritiated fucose and proline in the avian visual system, *Brain Research*, 121 (1977) 343-347.
39. Roche, K.W., Tingley, W.G. and Huganir, R.L., Glutamate receptor phosphorylation and synaptic plasticity, *Current Opinion Neurobiol.*, 4 (1994) 383-388.
40. Rogers, L., Behavioral, structural and neurochemical asymmetries in the avian brain: A model system for studying visual development and processing, *Neurosci. Biobehav. Rev.*, 20 (1996) 487-503.
41. Romano, C., Sesma, M.A., McDonald, C.T., O'Malley, K., Van Den Pol, A.N. and Olney, J.W., Distribution of metabotropic glutamate receptor mGluR<sub>5</sub> immunoreactivity in rat brain, *J. Comp. Neurol.*, 355 (1995) 455-469.
42. Sakamoto, N., Ito, H. and Ueda, S., Topographical projections between the nucleus isthmi and the optic tectum in a teleost, *Navodon modestus*, *Brain Research*, 224 (1981) 225-234.
43. Sakurai, T., Miyamoto, T. and Okada, Y., Reduction of glutamate content in rat superior colliculus after retino-tectal denervation, *Neurosci. Lett.*, 109 (1990) 299-303.
44. Stone, T.W., Subtypes of NMDA receptors, *Gen. Pharmac.*, 24 (1993) 825-832.
45. Vouklatou, G., Aletras, A.J., Tsourinakis, T. and Kouvelas, E.D., Glutamate-like immunoreactivity in chick cerebellum and optic tectum, *Neurochem. Res.*, 17 (1992) 1267-1273.

46. Wang, S.-R., Wang, Y.-C. and Frost, B.J., Magnocellular and parvocellular divisions of pigeons nucleus isthmi differentially modulate visual responses in the tectum, *Exp. Brain Res.*, 104 (1995) 376-384.
47. Wang, S.-R., Wu, G.-Y. and Felix, D., Avian Imc-tectal projection is mediated by acetylcholine and glutamate, *Neuroreport*, 6 (1995) 757-760.
48. Wilson, P., The organization of the visual hyperstriatum in the domestic chick. I. Topology and topography of the visual projection, *Brain Research*, 188 (1980) 319-331.
49. Wilson, P., The organization of the visual hyperstriatum in the domestic chick. II. Receptive fields properties of single units, *Brain Research*, 188 (1980) 333-345.
50. Wu, G.-Y., Wang, S.-R. and Felix, D., Effect of acetylcholine and NMDA on neurones of avian tectum and nucleus isthmi, *Neuroreport*, 5 (1994) 850-852.
51. Wüllner, U., Standaert, D.G., Testa, C.M., Landwehrmeyer, B., Catania, M.V., Penney, J.B. and Young, A.B., Glutamate receptor expression in rat striatum: Effect of deafferentation, *Brain Research*, 647 (1994) 209-219.
52. Zavitsanou, K., Mitsacos, A. and Kouvelas, E.D., Autoradiographic characterization of [<sup>3</sup>H]6-cyano-7-nitroquinoxaline-2, 3-dione binding sites in adult chick brain, *Neuroscience*, 63 (1994) 955-962.

## LEGENDS

**Figure 1.** Alterations (%) in NMDA (A) and AMPA (B) receptor binding in intact (I) and deafferented (D) structures after early unilateral retinal lesion. Abbreviations: C: results for control animals; X: as explained in the text, no measurements were performed in the deafferented OT. \*  $P < 0.05$ , \*\*  $P < 0.01$ , compared to control, Scheffé test;  $\square$   $P < 0.05$ ,  $\square\square$   $P < 0.01$ , I vs. D, paired t-test.

**Figure 2.** Autoradiograms of NMDA (A-D) and AMPA (E) receptor binding. **A:** Binding of NMDA receptors in the mesencephalic region in a control animal. Higher densities are observed in the optic tectum (OT) and *cerebellum* (Cb). **B:** Binding of NMDA receptors within the diencephalon of a control animal. Note the greater binding in the *nucleus dorsolateralis anterior thalami* (DLA) compared with both the *nucleus rotundus* (Rt) and the *nucleus geniculatus lateralis ventralis* (GLv). *Tractus opticus*: TrO **C:** Effects of the early retinal lesion on [<sup>3</sup>H]glutamate binding. The left hand hemisphere is visually deafferented. Note the bilateral binding increase in the DLA compared to the control animal (B). **D:** Binding of NMDA receptors in the three visual Wulst layers of a control animal: *hyperstriatum accessorium* (HA), *hyperstriatum intercalatus superior* (HIS), *hyperstriatum dorsale* (HD). **E:** AMPA receptor binding in the visual Wulst layers in a control animal. AMPA receptors in the Wulst were found in greater number than NMDA receptors (D).

**Figure 3.** Autoradiograms of AMPA receptor binding in coronal brain sections at the level of the optic tectum (OT). **A:** [ $^3\text{H}$ ]AMPA binding in a control animal. A prominent binding is found in the superficial layers 2-6 of the OT (triangles) as well as in the *cerebellum* (Cb). **B:** Effects of the early retinal lesion on [ $^3\text{H}$ ]AMPA binding. The optic lobe on the left is visually deafferented. Note the extensive loss of AMPA receptors in the superficial layers 2-6 of the OT and the increases on the intact side, compared to the control animal (A), in the *nucleus isthmi pars parvocellularis* (Ipc) and *nucleus isthmi pars magnocellularis* (Imc).

**Figure 4.** Autoradiograms of AMPA receptor binding in coronal brain sections of the thalamus. **A:** [ $^3\text{H}$ ]AMPA binding in a control animal. Relatively high binding densities are found in both the *nucleus dorsolateralis anterior thalami* (DLA) and *nucleus geniculatus lateral ventralis* (GLv). The left *nucleus rotundus* (Rt) (corresponding to the right side on the photograph) shows an asymmetry tendency ( $P < 0.0509$ ), compared to the right Rt, with a higher number of AMPA receptors. The arrow indicates a prominent binding in the *nucleus medialis hypothalami posterioris* (PMH: non-studied structure). **B:** Effects of the early retinal lesion on [ $^3\text{H}$ ]AMPA binding. The thalamus shown on the left is visually deafferented. Note the important binding reduction in the deafferented Rt. Reductions in the GLv are greater on the deafferented compared with the intact side. Note the loss of AMPA receptors in the deafferented PMH (triangle).

**Table I.** Classes and sub-classes of effects following unilateral retinal lesion. The slash (/) separates the two receptor sub-types: NMDA/AMPA and the hyphen (-) indicates no lesion effect. Class 1: no effect of the lesion; Class 2: effect on the deafferented side; Class 3: effect on the intact side; Class 4: bilateral effects. Sub-class A: binding increase; Sub-class B: binding decrease.

**Table II.** [<sup>3</sup>H]glutamate binding following unilateral retinal lesion (pmol/g, mean  $\pm$  S.E.M.). Data for control animals represent an average of the densities measured in both the left and right structures. Abbreviations: **I**: intact structure (ipsilateral to lesion); **D**: deafferented structure (contralateral to lesion).

\* P < 0.05, \*\* P < 0.01, compared to control, Scheffé test.

**Table III.** [<sup>3</sup>H]AMPA binding following unilateral retinal lesion (pmol/g, mean  $\pm$  S.E.M.). Data for control animals represent an average of the densities measured in both the left and right structures. Due to the differential AMPA labelling in the OT, the measurements were performed separately in the superficial (2-6) and deep (7-13) layers. Abbreviations: **I**: intact structure (ipsilateral to lesion); **D**: deafferented structure (contralateral to lesion). \* P < 0.05, \*\* P < 0.01, compared to control, Scheffé test.  $\square$  P < 0.05,  $\square\square$  P < 0.01, I vs. D, paired t-test.

Figure 1

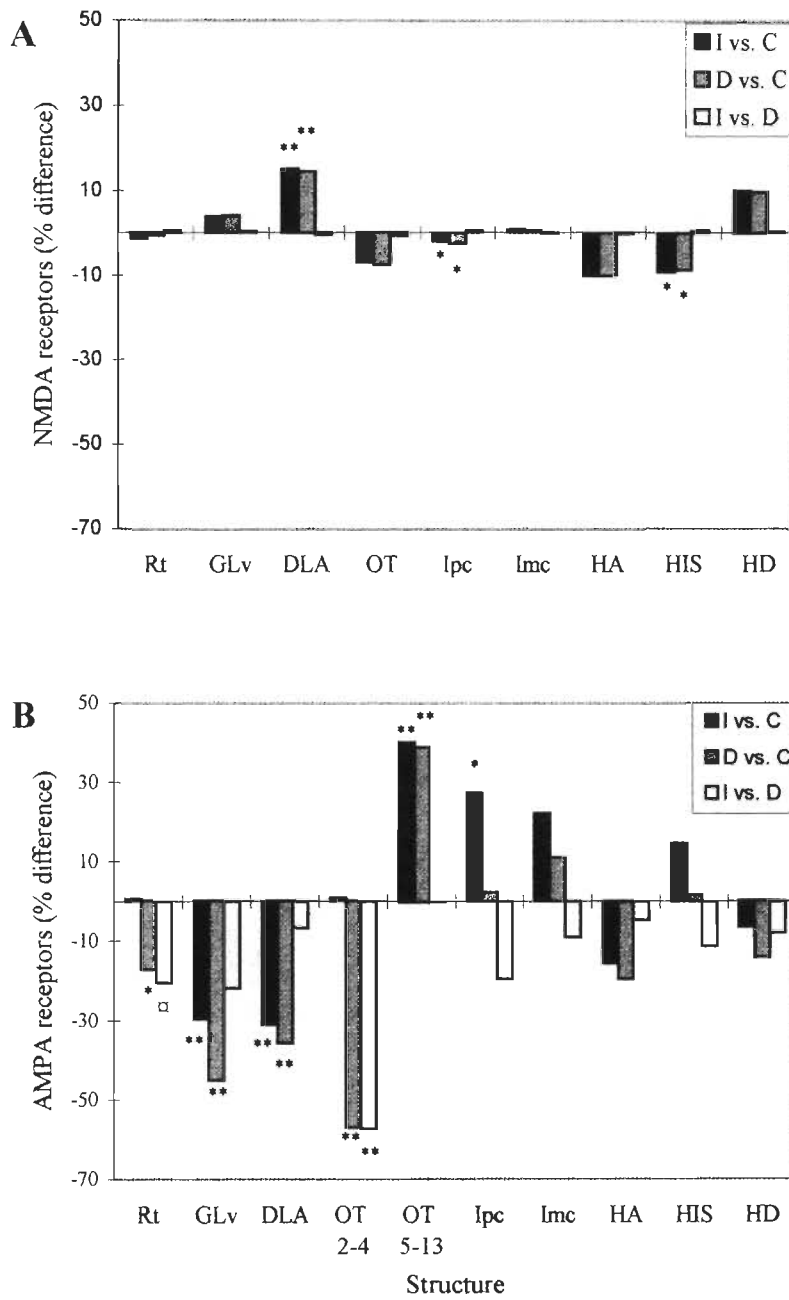




Figure 2

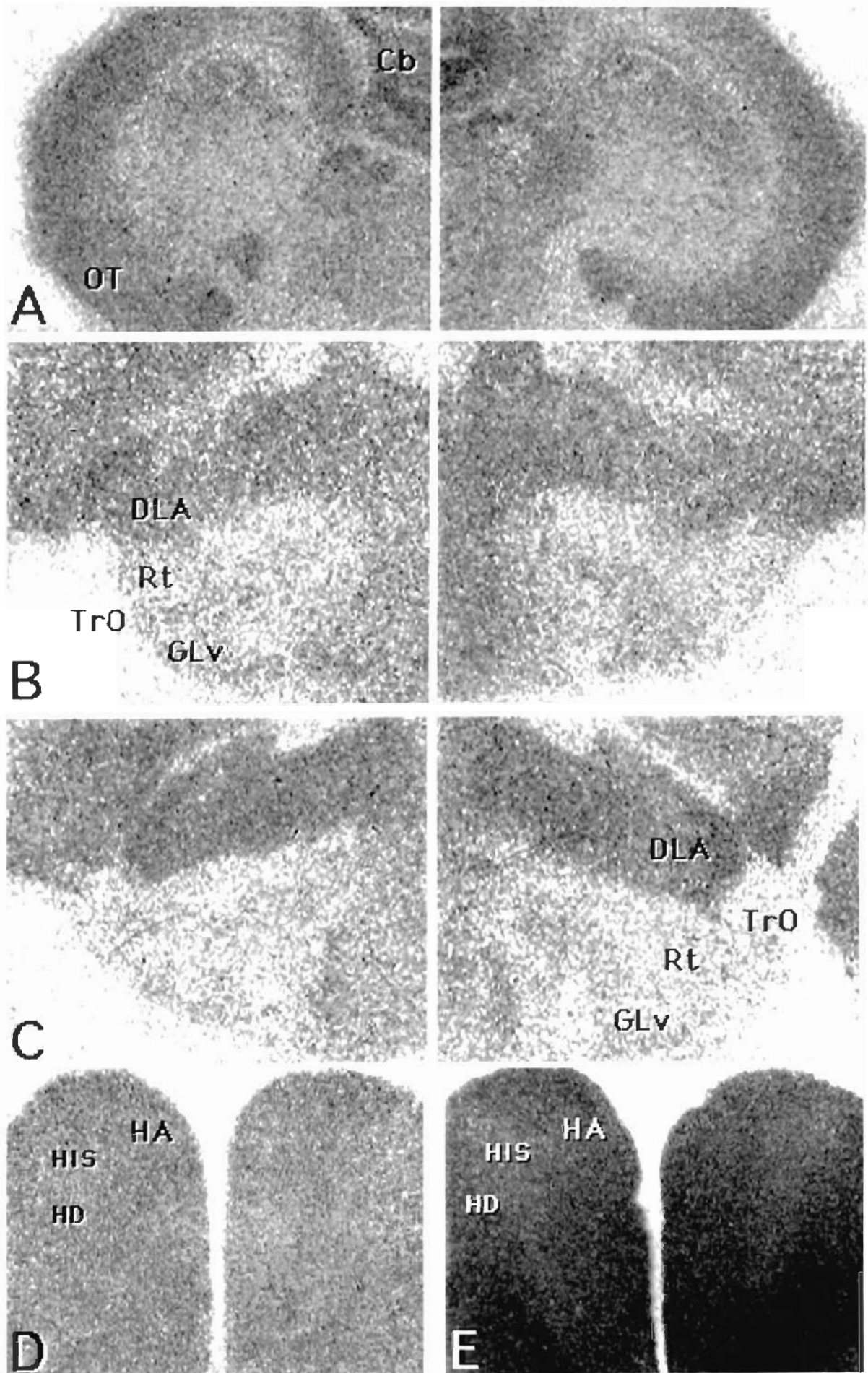


Figure 3

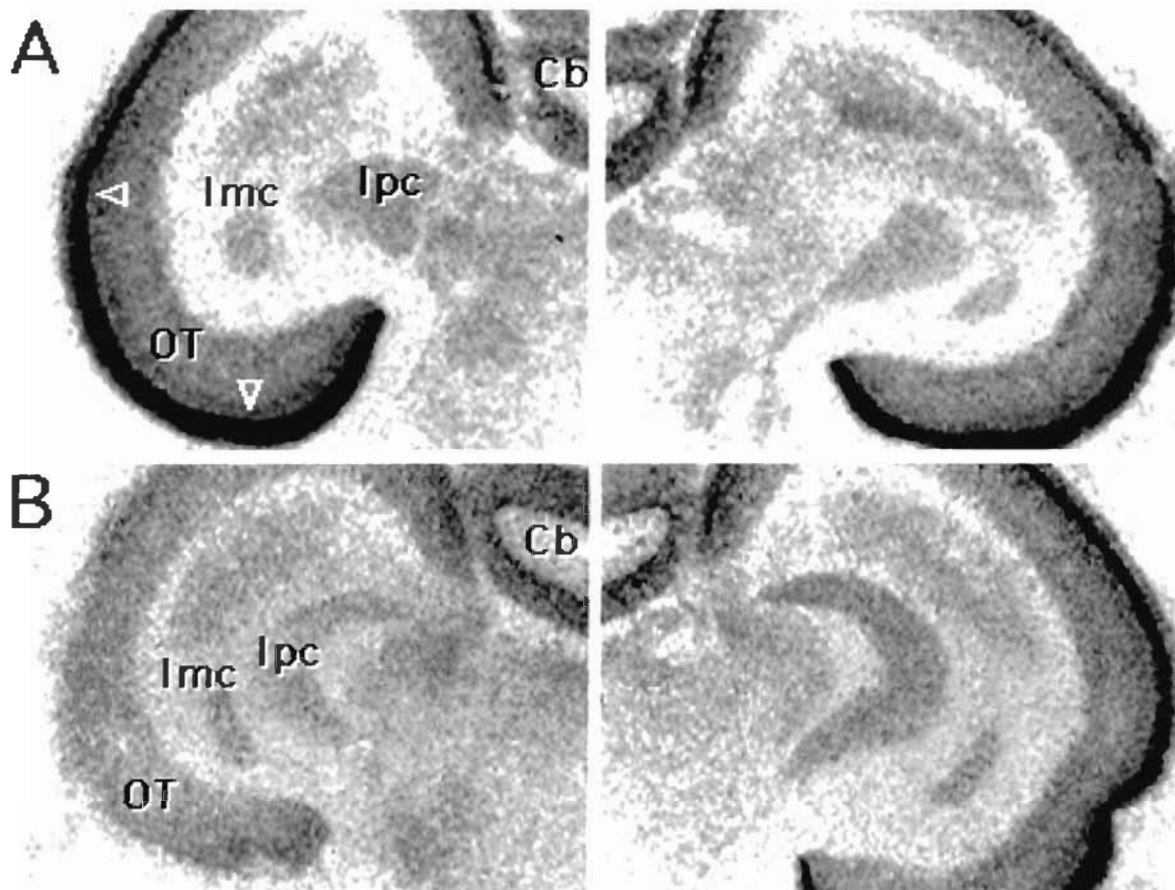


Figure 4

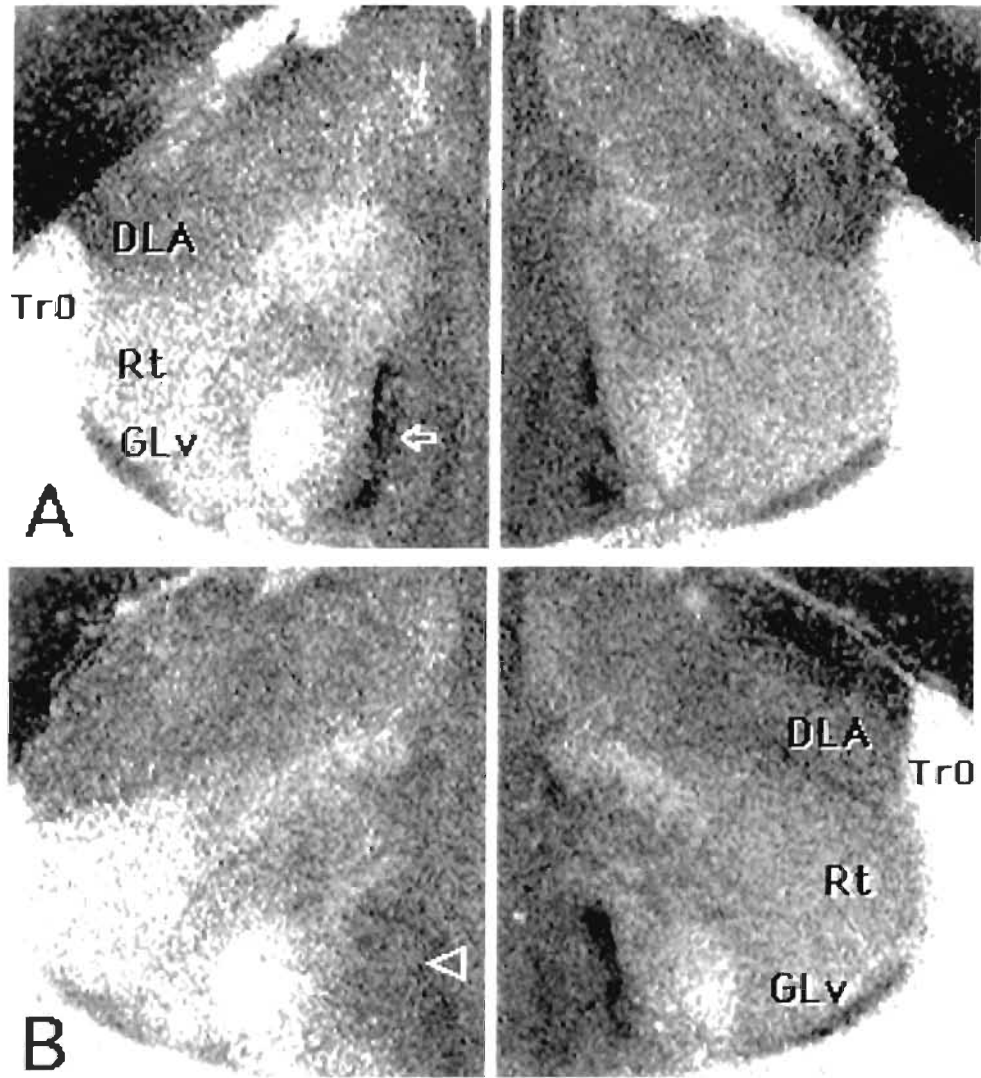


Table I

Class	Structures									
	Rt	GLv	DLA	OT (2-6)	OT (7-13)	Ipc	Imc	HA	HIS	HD
1	1/-	1/-	-/-	1/-	-/-	-/-	1/-	1/1	-/1	1/1
2	-/2B	-/-	-/-	-/2B	-/-	-/-	-/-	-/-	-/-	-/-
3	-/-	-/-	-/-	-/-	-/-	-/3A	-/3A	-/-	-/-	-/-
4	-/-	-/4B	4A/4B	-/-	-/4A	4B/-	-/-	-/-	-/4B	-/-

Table II

Structure	Control group	Experimental group	
		I	D
Rt	35 ± 0,5	35 ± 0,5	35 ± 0,4
GLv	40 ± 0,3	41 ± 1,3	42 ± 1,2
DLA	52 ± 0,9	60 ± 2,3 **	60 ± 2,2 **
OT	61 ± 2,1	57 ± 2,0	56 ± 1,4
Ipc	39 ± 0,2	38 ± 0,1 *	38 ± 0,1 *
Imc	38 ± 0,4	38 ± 0,1	38 ± 0,1
HA	60 ± 1,7	54 ± 2,4	54 ± 2,5
HIS	46 ± 0,5	42 ± 1,2 *	42 ± 1,3 *
HD	49 ± 1,6	54 ± 1,6	54 ± 1,6

Table III

Structure	Control group	Experimental group	
		I	D
Rt	159 ± 63,7	166 ± 9,2	132 ± 5,9 * □
GLv	324 ± 15,0	228 ± 12,0 **	178 ± 10,3 **
DLA	312 ± 17,8	215 ± 8,7 **	201 ± 8,5 **
OT (2-6)	749 ± 77,6	756 ± 34,6	324 ± 25,4 ** □□
OT (7-13)	149 ± 6,4	209 ± 9,8 **	208 ± 9,7 **
Ipc	134 ± 1,7	170 ± 4,2 **	137 ± 4,1 □□
Imc	103 ± 3,8	126 ± 5,4 *	114 ± 5,2
HA	547 ± 30,2	461 ± 31,4	440 ± 32,9
HIS	340 ± 18,7	390 ± 31,0	345 ± 28,2
HD	554 ± 28,4	517 ± 32,3	475 ± 28,2