

Université de Montréal

Développement physiologique du collicule supérieur
chez le rat au cours de la maturation

Par

Stéphane Fortin

Département de Sciences Biologiques

Faculté des Arts et des Sciences

Thèse présentée à la Faculté des études supérieures
En vue de l'obtention du grade de
Philosophiae Doctor (Ph.D.)
en Sciences Biologiques

Avril, 1999

© Stéphane Fortin, 1999



44
302
U54
1999
V.003

Université de Montréal

Développement physiologique du colliculus supérieur
chez le rat au cours de la maturation

Par

Stéphane Fortin

Département de Sciences Biologiques

Faculté des Arts et des Sciences

Thèse présentée à la Faculté des études supérieures
En vue de l'obtention du grade de
Philosophiae Doctor (Ph.D.)
en Sciences Biologiques

Avril 1999



© Stéphane Fortin, 1999

Université de Montréal
Faculté des études supérieures

Cette thèse intitulée:

Développement physiologique du collicule supérieur
chez le rat au cours de la maturation

Présentée par:

Stéphane Fortin

a été évaluée par un jury composé des personnes suivantes:

Michel Anctil

Président-rapporteur

Stéphane Molotchnikoff

Directeur de recherche

T.P. Hicks

Examineur externe

Thérèse Cabana

Membre du jury

Franco Lepore

Représentant du doyen de la FES

Stephen Itaya

Co-directeur de recherche

Thèse acceptée le: 3 mai 1999

Sommaire

Le système visuel de la plupart des mammifères est fonctionnellement immature à la naissance. Les rongeurs, les lagomorphes et les carnivores, par exemple, naissent aveugles et sont incapables à réagir à des stimuli visuels. Les paupières de ces animaux sont généralement closes à la naissance et les premières traces d'activité électrique dans le système nerveux central sont décelées peu après la parturition.

Au niveau des centres nerveux visuels, cette activité initiale se présente sous deux formes au cours du développement de l'animal. On retrouve, chez le très jeune animal encore aveugle, une activité électrique neuronale dite visuo-indépendante (ou spontanée). Celle-ci est indépendante de la présence de stimuli visuels et débute quelques jours suivant la naissance. Un peu plus tard au cours du développement, l'activité visuo-dépendante (ou évoquée) apparaît. Cette dernière, contrairement à la première, est liée à la présence de stimuli visuels.

Le présent travail a pour objectif principal l'étude des événements physiologiques observés dans le collicule supérieur (CS), une structure qui reçoit des projections rétiniennes, lors de la maturation. Dans cette optique, nous avons enregistré et caractérisé l'activité électrique visuo-indépendante et visuo-dépendante des neurones colliculaires chez le rat au cours des trois premières semaines après la naissance.

La stratégie expérimentale utilisée pour recueillir l'activité électrique neuronale a consisté en l'implantation temporaire de microélectrodes d'enregistrement dans le CS de l'animal anesthésié. Une fois les microélectrodes en place, deux procédures expérimentales ont été utilisées

pour enregistrer les réponses électrophysiologiques. Dans la première série d'expériences, nous avons étudié l'activité électrique unitaire et/ou multiunitaire des neurones colliculaires en enregistrant leurs potentiels d'action spontanés et évoqués. Dans la deuxième série d'expériences, nous avons caractérisé l'activité électrique évoquée de populations de neurones en enregistrant les réponses de masse qui sont principalement composées de potentiels post-synaptiques excitateurs et inhibiteurs.

Les premiers résultats découlant de ces recherches mettent en évidence de nombreux patrons, allant des décharges soutenues aux décharges intermittentes, que l'activité visuo-indépendante des neurones colliculaires peut prendre. Les données suggèrent de plus que cette activité électrique est indépendante de l'activité spontanée enregistrée dans la rétine au cours de la même période. Ceci repose principalement sur le fait que l'inactivation du nerf optique n'a aucune incidence sur l'activité spontanée du collicule supérieur.

La caractérisation de l'activité visuo-dépendante a d'autre part permis de révéler la présence de plusieurs similitudes et dissimilitudes entre l'activité évoquée du jeune animal et celle de l'animal adulte. D'un côté, les latences accrues des réponses et la plus grande proportion de cellules de type ON chez les animaux âgés de 13 et 14 jours sont, par exemple, des éléments suggérant un certain niveau d'immaturation chez le jeune animal. À l'opposé, la taille des champs récepteurs et la sélectivité à la direction, qui sont très similaires chez le jeune et l'adulte, indiquent la présence de propriétés nerveuses relativement complexes et ce, avant même l'ouverture des paupières. Ces résultats suggèrent que certaines propriétés, comme la sélectivité à la direction, s'érigent complètement en l'absence d'inputs visuels.

Table des matières

| | |
|--|------|
| Sommaire | iii |
| Liste des tableaux | ix |
| Liste des figures | x |
| Liste des sigles et abréviations | xii |
| Contribution de l'auteur aux articles scientifiques | xiii |
| Remerciements | xv |
| Avant-propos | xvii |

Introduction

| | |
|---|----|
| L'énergie rayonnante et la photoréception | 2 |
| La rétine | 6 |
| Constitution de la rétine du rat..... | 6 |
| Nerf et tractus optique | 10 |
| Structures cibles des projections rétino-fuges | 11 |
| Noyau géniculé latéral..... | 11 |
| Noyau géniculé latéral ventral..... | 11 |
| Feuillet cellulaire intergéniculé..... | 13 |
| Noyau géniculé latéral dorsal..... | 13 |
| Prétectum..... | 14 |
| Système optique accessoire..... | 15 |
| Collicule supérieur..... | 16 |
| Organisation laminaire du collicule supérieur..... | 17 |
| Divisions fonctionnelles du collicule supérieur..... | 19 |

| | |
|--|-----------|
| Les couches superficielles..... | 20 |
| Les couches profondes..... | 23 |
| Rôle du collicule supérieur dans le système visuel..... | 25 |
| Ontogenèse des voies rétino-fuges..... | 26 |
| Développement des voies rétino-fuges: de la rétine au noyau cible..... | 26 |
| Molécules d'adhérence..... | 27 |
| Molécules diffusibles..... | 28 |
| Développement des voies rétino-fuges: raffinement des connexions..... | 30 |
| Formation de la voie rétino-colliculaire chez le rat..... | 32 |
| Objectif de cette étude..... | 36 |
| Bibliographie..... | 38 |

Articles scientifiques

| | |
|--|-----------|
| Evolution of spontaneous activity in the developing rat superior colliculus.... | 53 |
| Abstract & Keywords..... | 54 |
| Introduction..... | 55 |
| Materials & methods..... | 56 |
| Spike train analysis..... | 57 |
| Results..... | 58 |
| Discussion..... | 63 |
| Influence of the optic nerve..... | 63 |
| Temporal patterns..... | 64 |
| References..... | 65 |
| ON-OFF field potentials in the rat superior colliculus during development..... | 67 |
| Abstract & Keywords..... | 68 |
| Introduction..... | 69 |
| Materials & methods..... | 70 |

| | |
|---|-----------|
| Animal preparation..... | 70 |
| Recordings and stimulations..... | 71 |
| Results..... | 72 |
| Depth profile analysis..... | 72 |
| Fast Fourier transform analysis..... | 76 |
| Discussion..... | 80 |
| Early ON and OFF field potentials..... | 80 |
| Origin of oscillatory field potentials..... | 80 |
| Frequency changes in oscillatory potentials during development..... | 82 |
| Role of oscillatory potentials in the OFF responses..... | 83 |
| Acknowledgements..... | 83 |
| References..... | 84 |
| Maturation of visual receptive field properties in the rat superior colliculus.... | 88 |
| Abstract & Keywords..... | 89 |
| Introduction..... | 90 |
| Materials & methods..... | 91 |
| Animal preparation..... | 91 |
| Recordings and stimulations..... | 92 |
| Histology..... | 93 |
| Results..... | 94 |
| Flash latencies..... | 94 |
| Receptive field sizes..... | 96 |
| Receptive field types..... | 96 |
| Direction selectivity..... | 100 |
| Correlations between studied parameters..... | 102 |
| Discussion..... | 103 |
| Response latencies..... | 103 |
| Receptive field sizes..... | 103 |
| Receptive field types..... | 104 |
| Direction selectivity..... | 105 |
| References..... | 107 |

Discussion générale et conclusion

| | |
|--|-----|
| Activité visuo-indépendante | 113 |
| L'acide gamma amino-butyrique..... | 116 |
| L'oxyde nitrique et les récepteurs NMDA..... | 117 |
| Activité visuo-dépendante | 121 |
| En conclusion | 124 |
| Bibliographie | 127 |

Annexe

| | |
|---|------|
| Procédure expérimentale générale | xxiv |
| Préparation de l'animal..... | xxiv |
| Électrophysiologie..... | xxv |
| Histologie..... | xxx |
| Bibliographie..... | xxx |

Liste des tableaux

Articles scientifiques

Evolution of spontaneous activity in the developing rat superior colliculus

| | |
|---|----|
| Tableau 1. Nombre de cellules enregistrées par groupe d'âge..... | 59 |
|---|----|

Maturation of visual receptive field properties in the rat superior colliculus

| | |
|---|----|
| Tableau 1. Nombre de cellules enregistrées par groupe d'âge..... | 94 |
|---|----|

| | |
|---|-----|
| Tableau 2. Distribution des cellules sélectives, partiellement sélectives et non-sélectives à la direction selon leur type de champ récepteur..... | 102 |
|---|-----|

Annexe

| | |
|---|-------|
| Tableau 1. Nombre d'animaux utilisés et de cellules enregistrées au cours des expériences ayant servi pour l'article "Evolution of spontaneous activity in the developing rat superior"..... | xxvii |
|---|-------|

| | |
|--|--------|
| Tableau 2. Nombre d'animaux utilisés et de profils dorso-ventraux enregistrées au cours des expériences ayant servi pour l'article "ON and OFF field potentials in the rat superior colliculus during development"..... | xxviii |
|--|--------|

| | |
|--|------|
| Tableau 3. Nombre d'animaux utilisés et de cellules enregistrées au cours des expériences ayant servi pour l'article "Maturation of visual receptive field properties in the rat superior"..... | xxix |
|--|------|

Liste des figures

Introduction

| | |
|---|----|
| Figure 1. Spectre du rayonnement électromagnétique..... | 3 |
| Figure 2. Détails des quatre principaux types d'œil..... | 4 |
| Figure 3. Coupe verticale de la rétine de rat..... | 7 |
| Figure 4. Schéma des principales voies rétino-fuges chez le rat..... | 12 |
| Figure 5. Schéma des couches du collicule supérieur..... | 17 |
| Figure 6. Schéma de l'organisation visuotopique de la voie rétino-colliculaire.... | 21 |
| Figure 7. Diagramme des principaux événements qui marquent le développement de la rétine chez le rat..... | 33 |
| Figure 8. Diagramme des principaux événements qui marquent le développement de la voie rétino-colliculaire chez le rat..... | 35 |

Articles scientifiques

Evolution of spontaneous activity in the developing rat superior colliculus

| | |
|--|----|
| Figure 1. Exemples des patrons d'activité spontanée dans le collicule supérieur à différents âges..... | 59 |
| Figure 2. Enregistrements de l'activité spontanée dans le collicule supérieur avant et après l'injection de lidocaïne sur le nerf optique..... | 60 |
| Figure 3. Effet de la stimulation du nerf optique sur l'activité spontanée dans le collicule supérieur à P11..... | 61 |
| Figure 4. Histogrammes du nombre relatif d'intervalles par bin pour chaque groupe d'âge..... | 62 |

ON-OFF field potentials in the rat superior colliculus during development

| | |
|--|----|
| Figure 1. Profils dorso-ventraux des potentiels de champs ON et OFF entre les jours postnataux 13 et 17 (P13-P17)..... | 74 |
| Figure 2. Profil dorso-ventral typique des potentiels de champs ON et OFF chez l'adulte..... | 75 |
| Figure 3. Abolition des réponses post-synaptiques suite à l'injection de cobalt dans le collicule supérieur..... | 77 |
| Figure 4. Exemple de l'analyse de Fourier rapide..... | 78 |

| | |
|---|----|
| Figure 5. Sommaire des analyses de Fourier entre P13 et P17..... | 79 |
|---|----|

Maturation of visual receptive field properties in the rat superior colliculus

| | |
|--|-----|
| Figure 1. Latences des réponses visuelles observées dans le collicule supérieur au cours de la maturation..... | 95 |
| Figure 2. Tailles des champs récepteurs des neurones colliculaires au cours de la maturation..... | 97 |
| Figure 3. Différents types de champs récepteurs observés dans le collicule supérieur..... | 98 |
| Figures 4. Diagramme illustrant la distribution spatiale des cellules enregistrées en fonction de leur type de champ récepteur..... | 99 |
| Figure 5. Sélectivité à la direction des cellules colliculaires au cours du développement..... | 101 |

Annexe

Procédure expérimentale générale

| | |
|---|-------|
| Figure 1. Expérience contrôle. Effet de l'application de lidocaïne (sur le nerf optique) sur les réponses évoquées par des stimuli visuels dans le CS..... | xxvii |
|---|-------|

Liste des sigles et abréviations

| | |
|-------|---|
| AS | Activité spontanée |
| BIn | Couche blanche intermédiaire du collicule supérieur |
| BPr | Couche blanche profonde du collicule supérieur |
| CAM | Cell adhesion molecule |
| CS | Collicule supérieur |
| FIG | Feuillet intergéniculé |
| GABA | Acide gamma-aminobutyrique |
| GIn | Couche grise intermédiaire du collicule supérieur |
| GLD | Noyau géniculé latéral dorsal |
| GLV | Noyau géniculé latéral ventral |
| GLVmc | Noyau géniculé latéral ventral magnocellulaire |
| GLVpc | Géniculé latéral ventral parvocellulaire |
| GPr | Couche grise profonde du collicule supérieur |
| GSu | Couche grise superficielle du collicule supérieur |
| NAAG | N-acétyl-aspartyl-glutamate |
| NCAM | Nerve cell adhesion molecule |
| Op | Couche optique du collicule supérieur |
| PTA | Noyau prétectal antérieur |
| PTM | Noyau prétectal médian |
| PTO | Noyau prétectal olivaire |
| PTP | Noyau prétectal postérieur |
| SOA | Système optique accessoire |
| TD | Noyau terminal dorsal |
| TL | Noyau terminal latéral |
| TM | Noyau terminal médian |
| TO | Noyau du tractus optique |
| TTX | Tétradotoxine |
| Zo | Couche zonale du collicule supérieur |

Contribution de l'auteur aux articles scientifiques

Article #1

Evolution of spontaneous activity in the developing rat superior colliculus

Canadian Journal of Physiology and Pharmacology, 73 (1995): 1372-1377

Stephen K. Itaya, Stéphane Fortin and Stéphane Molotchnikoff

La majorité des résultats expérimentaux présentés dans cet article a été obtenue suite à des expériences réalisées par l'étudiant Stéphane Fortin. Les expériences de stimulations électriques ont toutefois été accomplies avant l'arrivée de l'étudiant Stéphane Fortin par les docteurs Itaya et Molotchnikoff. Les trois coauteurs ont participé activement à l'analyse et à l'interprétation des résultats, de même qu'à la rédaction de l'article.

Article #2

ON-OFF field potentials in the rat superior colliculus during development

Vision Research, 37 (1997): 3079-3087

Stéphane Fortin, Stephen K. Itaya, Sylvain Chemtob and Stéphane Molotchnikoff

L'étudiant Stéphane Fortin a mené à bien toutes les expériences dont les résultats sont présentés dans cet article. L'analyse et l'interprétation des résultats de même que la rédaction de cet article ont été effectués en majeure partie par Stéphane Fortin, sous la supervision du Dr Molotchnikoff. Les autres coauteurs, particulièrement le Dr Molotchnikoff, ont particulièrement contribué à l'interprétation des résultats et à la correction de l'article. L'orthographe et la syntaxe ont été révisées par le Dr Itaya.

Article #3

Maturation of visual receptive field properties in the rat superior colliculus

Developmental Brain Research, 112 (1999): 55-64

Stéphane Fortin, Allal Chabli, Isabelle Dumont, Svetlana Shumikhina, Stephen K. Itaya and Stéphane Molotchnikoff

L'étudiant Stéphane Fortin a mené à bien toutes les expériences dont les résultats sont présentés dans cet article. L'analyse et l'interprétation de ces résultats de même que la rédaction de cet article ont été effectués par Stéphane Fortin. Les autres coauteurs ont principalement contribué à la sélection des résultats à inclure dans l'article et ont fait de nombreuses suggestions quant à leurs formes définitives. Le Dr Itaya a corrigé l'orthographe et la syntaxe.

Remerciements

Au terme de ce projet, je réalise l'importance du soutien de mon entourage. Je tiens à exprimer ma gratitude envers toutes les personnes qui ont, de près ou de loin, en tant qu'ami ou collègue, contribué à la réalisation de cette recherche. Plus particulièrement je tiens à remercier les personnes suivantes:

Le Dr. Stéphane Molotchnikoff pour m'avoir accepté dans son laboratoire. Un grand merci pour son dévouement et son inconditionnel soutien tout au long de cette aventure.

Merci à Nathalie pour son support quotidien. Son sourire a suffi à lui seul à me faire oublier les moments difficiles qui ont parsemé ce long parcours.

Merci à mes parents pour m'avoir inculqué l'amour du savoir, l'intégrité, la curiosité et la persévérance. Sans ces valeurs, ces travaux n'auraient jamais été achevés.

Merci également au FCAR pour le support monétaire qui me fut accordé pour mes études de troisième cycle universitaire.

À la mémoire de ma mère...

Avant-Propos

Peu de gens se souviennent avec précision des petits événements qui, malgré leur banalité, modifient parfois profondément le cours de leur vie. Je me rappelle pourtant de cette journée très ordinaire au cours de laquelle est née en moi une nouvelle flamme... J'étais à ce moment affairé à la lecture d'un extrait du *Traité des passions* de René Descartes (1596-1650) au cours duquel il énonce pourquoi la glande pinéale (petite glande unitaire située au centre du cerveau) est le point de contact entre l'âme et le reste du corps:

"(...) les autres parties de notre cerveau sont toutes doubles, comme aussi nous avons deux yeux, deux mains, deux oreilles, et enfin tous les organes de nos sens extérieurs sont doubles; [or] d'autant que nous n'avons qu'une seule et simple pensée d'une même chose en même temps, il faut nécessairement qu'il y ait quelque lieu où les deux images qui viennent par les deux yeux se puissent assembler en une avant qu'elles parviennent à l'âme".¹

Armé des connaissances scientifiques rudimentaires de l'époque, Descartes fait preuve dans cet extrait d'une rigueur incontestable. Pour lui, la glande pinéale est vraisemblablement la porte d'entrée du corps vers l'âme. Cette dernière représente ici une entité impalpable complètement dissociée du cerveau et du corps physique. Pour ma part, ma condition de néophyte ne me permit pas à l'époque de concevoir la nature erronée de cette affirmation mais elle me fit tout de même beaucoup réfléchir. Descartes ne fut certes pas le premier à se questionner sur le siège de l'âme (et par extension, de la conscience). Plusieurs philosophes, médecins et autres scientifiques s'y sont intéressés au cours des siècles. Leurs réflexions ont donné lieu à des courants de pensée très variés au sujet du cerveau, de l'âme et de la conscience

Les premières hypothèses au sujet de la conscience: cerveau vs coeur

"Les Hommes devraient savoir que du cerveau et de rien d'autre proviennent la joie, l'enchantement, le rire, la peine, le chagrin, le découragement et la lamentation. Et par cela, d'une façon particulière, nous acquérons sagesse

et connaissance. (...) Et par le même organe, nous devenons fous et délirants, la peur et la terreur nous assaillent. (...) Toutes ces choses que nous endurons du cerveau, quand il n'est pas en santé. (...) À cause de cela, je suis d'opinion que le cerveau est la plus grande puissance chez l'Homme."²

En lisant ce passage, plusieurs d'entre vous penseront peut-être qu'il est récent. Vous serez alors étonnés d'apprendre qu'il est extrait d'un livre intitulé *Sur la Maladie Sacrée* rédigé il y a plus de deux mille ans par un célèbre médecin grec nommé Hippocrate (460-377 av. J.-C.). Sa vision du rôle du cerveau est étonnamment juste et correspond grosso modo à ce que la majorité des gens savent aujourd'hui: que la pensée est issue du cerveau. Mais tous ne furent évidemment pas d'accord avec les nouvelles idées d'Hippocrate au sujet de la céphalo-centralisation. En particulier, Aristote (384-322 av. J.-C.), disciple de Platon, voyait le cœur plutôt que le cerveau comme étant le siège des fonctions reliées à l'intellect. Les historiens croient maintenant qu'Aristote a probablement associé la conscience au cœur car ses dissections lui ont fait constater que le cœur est le premier organe à devenir fonctionnel chez l'embryon de poulet. Au cours des siècles qui suivirent, de longs débats au sujet de la fonction du cœur versus celle du cerveau eurent lieu. Mais ce fut Galien (131-201), le plus influent médecin de l'Empire Romain, qui aida à rejeter presque définitivement l'hypothèse cardio-centrique d'Aristote cinq siècles plus tard. De nos jours, on utilise encore des expressions qui témoignent de l'époque cardio-centrique. Par exemple lorsqu'on dit "prendre une chose à cœur", "avoir le cœur brisé " ou encore "apprendre par cœur".

La naissance d'une passion... et d'une carrière

J'étais à cette époque récemment diplômé de physique et comme tout nouveau diplômé je m'interrogeais quelque peu sur mon avenir. La lecture du *Traité des passions* de Descartes avait suscité en moi beaucoup de curiosité qu'il me fallait à tout prix assouvir. Je voulais notamment savoir comment émerge la conscience dans le cerveau, quels en sont les mécanismes, etc. J'ai

donc décidé d'orienter mes études supérieures vers un domaine à la fois nouveau et inattendu : les Neurosciences.

Cet abrupt passage de la physique aux Neurosciences ne fut pas sans encombre et j'ai rapidement réalisé qu'on ne passe pas du quark au neurone en un tournemain. Comme pour la plupart des sciences, on doit d'abord commencer par savoir ce qui est su pour ensuite tenter de découvrir ce qui ne l'est pas encore. Et Dieu sait que les connaissances sont particulièrement vastes et variées en Neurosciences. Elles rejoignent en pratique des champs d'activité aussi éloignés que la biologie, la chimie, la biochimie, la physique et les mathématiques. Seule l'intégration de toutes ces disciplines permet une compréhension globale de ce qui se produit réellement dans le cerveau. Mes premières années d'étude en Neurosciences m'ont également permis de réaliser qu'on ne s'improvise pas "spécialiste de la conscience". Seules les années voire les décennies d'expérience permettent aux scientifiques et philosophes les plus matures d'élaborer d'humbles théories à ce sujet.

À la recherche des mécanismes de la conscience

La plupart des scientifiques qui s'intéressent aujourd'hui à ce problème sont d'accord pour affirmer que la conscience est générée quelque part dans le cerveau. Pourtant, si on demande à ces même scientifiques de définir ce qu'est la conscience, tous ne s'entendent pas. Le fait est que les termes âme, esprit et conscience sont vagues, d'où l'importance de les définir. Le terme "âme" fait souvent référence à une entité ésotérique qu'on associe à la religion. Je regroupe malgré tout l'âme, l'esprit et la conscience sous une même bannière que j'appellerai la Conscience. Selon le philosophe J.R. Searle³, la "Conscience" se réfère aux états mentaux qui commencent en général lorsque nous nous éveillons d'un sommeil sans rêve et se poursuivent jusqu'à ce que nous nous endormions de nouveau ou tombions dans le coma ou mourrions, ou devenions, d'une manière ou d'une autre, "inConscient". Il existe donc toute une gamme d'états Conscients allant de la somnolence à la pleine lucidité. Cette

définition s'applique aux humains et aux autres animaux qui sont eux aussi Conscients à des degrés divers.

La prochaine question est simple mais embarrassante : comment procéder à l'étude de la Conscience? Certains s'imaginent que les mécanismes sous-jacents à la Conscience sont aussi simples que ceux impliqués dans de graves maladies dont on ne connaît pas encore la cure, mais il n'en n'est rien. Nous sommes aussi loin de résoudre les mécanismes de la conscience que de faire le tour de l'univers en quatre-vingts jours à bord d'un vaisseau spatial. Jusqu'à maintenant on sait que les neurones sont importants pour la conscience. Mais le sont-ils tous? On dénombre au moins 100 milliards de neurones dans le cerveau d'un humain adulte. Est-ce vraiment raisonnable d'envisager l'étude de tous ces neurones individuellement? Plusieurs chercheurs tentent de mieux comprendre les neurones en étudiant par exemple les neurotransmetteurs qu'ils libèrent, l'activité électrique qu'ils produisent ou encore ce qui les pousse à s'organiser de façon si précise au cours du développement. Ces recherches sont très importantes afin de mettre à jour les propriétés détaillées des cellules nerveuses. Certains chercheurs croient cependant que les propriétés particulières des neurones ne peuvent expliquer l'apparition de la Conscience. Une hypothèse récemment proposée par Francis Crick (le codécouvreur de la structure en double hélice de l'ADN) stipule que la Conscience est une propriété émergente des réseaux de neurones⁴ (on dit qu'une propriété d'un réseau émerge lorsqu'elle est distincte de la simple sommation des propriétés des éléments qui le composent. Les atomes ont par exemple des propriétés différentes des nucléons qui les composent tout comme les nucléons ont eux aussi des propriétés différentes des quarks qui les composent). Ceci signifie que les propriétés individuelles des neurones ne peuvent rendre compte de l'interaction qui se produit entre ceux-ci lorsqu'ils forment un réseau. Hypothèse intéressante qui soulève toutefois plus de questions que de réponses.

Comme plusieurs chercheurs en Neurosciences, je me questionne constamment sur l'origine de la Conscience. Mon travail quotidien est moins grandiose et ne représente qu'une infime partie du tableau final. Je réalise aussi que je ne verrai probablement jamais le jour où seront élucidés les processus cérébraux qui font du cerveau qu'il est plus qu'un simple amas de neurones. Mais j'anticipe que ce jour viendra pour celui qui sait être patient...

- 1 Guenancia P. (1996). Descartes: Bien conduire sa raison. Découvertes Gallimard. 128 pp.
- 2 Finger, Stanley (1994). Origins of Neuroscience. New York: Oxford University Press. 462 pp.
- 3 Searle J.R. (1996). Deux biologistes et un physicien en quête de l'âme. La Recherche 287:62-77.
- 4 Crick F. (1994). The Astonishing Hypothesis: The Scientific Search for the Soul. New York: Charles Scribner's Sons. xiv+317pp.

Non, la science n'est pas une illusion, mais ce serait une illusion de croire que nous puissions trouver ailleurs ce qu'elle ne peut pas nous donner.

Sigmund Freud,
L'Avenir d'une illusion

O Soleil! Toi sans qui les choses ne seraient que ce qu'elles sont.

Edmond Rostand,
Chantecler

*Les esprits médiocres condamnent d'ordinaire
tout ce qui passe leur portée.*

François de La Rochefoucauld

*Rare est le nombre de ceux qui regardent avec leurs propres yeux
et qui éprouvent avec leur propre sensibilité.*

Albert Einstein,
Comment je vois le monde

L'intelligence, faculté de reconnaître sa sottise.

Paul Valery, Cahiers I
(Bibliothèque de la Pléiade)

Introduction

L'énergie rayonnante et la photoréception

L'Énergie est une grandeur physique qui caractérise un système et exprime sa capacité à modifier l'état d'autres systèmes. Elle existe sous de multiples formes, la plus rudimentaire étant l'énergie thermique qui consiste simplement en un mouvement désordonné de molécules et d'atomes. Les énergies mécanique, chimique, électrique, nucléaire et rayonnante sont d'autres formes plus complexes de l'Énergie. Bien que toutes ces formes d'énergie soient importantes, l'énergie rayonnante est probablement celle qui influence le plus notre comportement et ceux des autres animaux puisqu'elle nous permet de visualiser notre environnement.

L'énergie rayonnante se propage dans le vide ou dans un milieu via un processus de rayonnement. On distingue actuellement deux types de rayonnement: le rayonnement corpusculaire, qui désigne des flux de particules de masse non nulle (rayons cosmiques) et le rayonnement ondulatoire, qui ne s'accompagne d'aucun transport de matière (ondes élastiques et électromagnétiques). La figure 1 illustre le spectre du rayonnement électromagnétique ainsi que les différents noms qui lui sont attribués selon la longueur d'onde. Le rayonnement électromagnétique de haute fréquence (rayons X et gamma), qui est très énergétique, est généralement néfaste pour les organismes vivants puisqu'il tend à détruire les liens intramoléculaires. Heureusement, il est absorbé en grande partie par la couche d'ozone dans l'atmosphère et seule une faible proportion parvient jusqu'à la surface de la terre. À l'opposé, le rayonnement de basse fréquence (micro-ondes et ondes radio) a une énergie si faible qu'aucun organisme vivant n'est capable de le détecter de façon efficace. Entre ces deux extrêmes, il existe une étroite bande de fréquences où le rayonnement électromagnétique est juste assez énergétique pour être détectable par un organisme sans pour autant lui être délétère. Cette bande porte le nom de spectre visible et représente tout simplement la bande de fréquence de la lumière visible ($\approx 400\text{-}800\text{ nm}$).

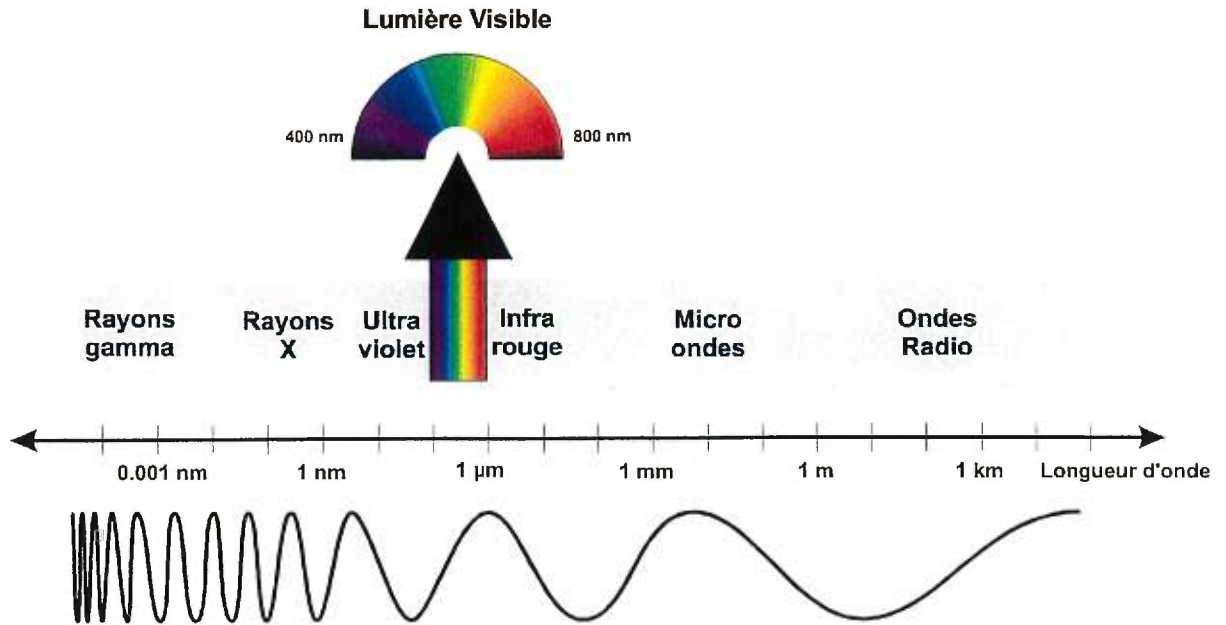


Figure 1. Spectre du rayonnement électromagnétique.

Les animaux et les plantes ont développé différents mécanismes pour détecter la lumière. Le plus simple d'entre eux est la photosensibilité ou l'habileté à distinguer les niveaux d'intensité d'une lumière diffuse. Ce mode élémentaire de détection est présent chez plusieurs espèces et est entre autre impliqué dans le contrôle des rythmes biologiques (circadiens). Outre la photosensibilité, plusieurs mécanismes de détections sont également rencontrés chez les animaux. Ceux-ci se spécialisent et se complexifient à mesure que l'on progresse dans l'échelle évolutive. Ainsi on trouve, du plus simple au plus complexe: l'habileté à détecter les mouvements, l'habileté à détecter les formes, la perception des profondeurs (3^{ième} dimension) et la capacité à reconnaître les couleurs. Tous ces modes de détection de la lumière forment ensemble ce que l'on nomme la vision.

Au niveau cellulaire, la détection de la lumière est rendue possible grâce à la présence de molécules photosensibles qui changent de conformation lorsqu'elles interagissent avec la lumière. Ces molécules photosensibles, qui

sont regroupées au sein de cellules spécialisées que l'on nomme les photorécepteurs, réagissent à la lumière de différentes façons. Ainsi, certaines sont sensibles à toutes les longueurs d'onde de la lumière visible alors que d'autres réagissent surtout à une longueur d'onde particulière. C'est cette dernière particularité des molécules photosensibles qui rend possible la vision des couleurs chez certaines espèces.

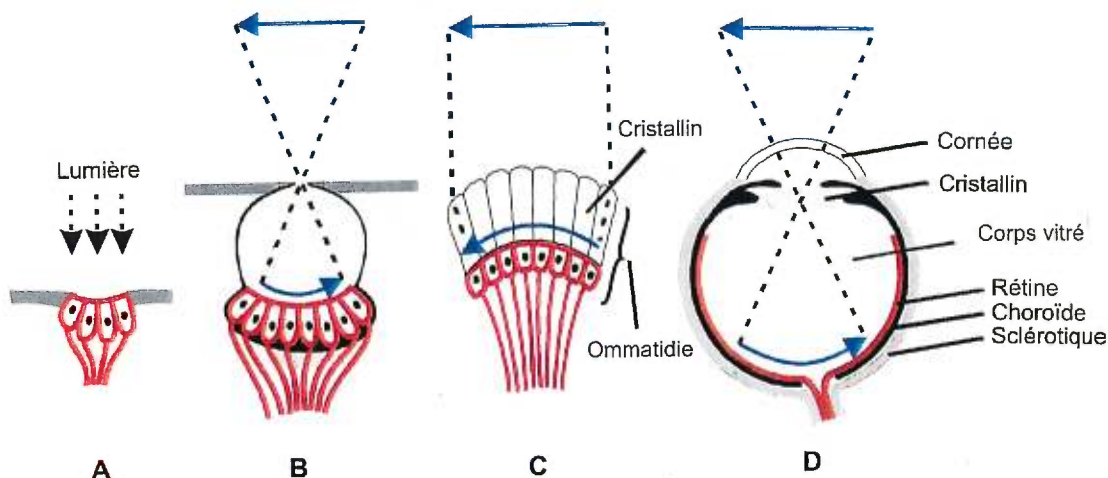


Figure 2. Schémas des quatre principaux types d'œil. A. Ocelle. B. Oeil "pinhole". C. Oeil composé. D. Oeil réfracteur. Les photorécepteurs sont représentés en rouge. Les flèches bleues représentent la cible visuelle et sa projection sur la rétine (les lignes pointillées montrent les trajets des rayons lumineux). Adapté de Shepherd, 1994.

La disposition spatiale des photorécepteurs et la morphologie de l'œil (figure 2) déterminent en grande partie le type de vision d'une espèce. L'ocelle représente l'œil le plus primitif observé chez certains coelentérés et arthropodes. Ils permettent la distinction entre les niveaux d'intensité d'une lumière diffuse, sans plus. Afin de pouvoir détecter le mouvement ou la forme, l'œil doit être en mesure de générer une image par un principe similaire à celui d'une caméra. L'œil "pinhole" représente la façon la plus élémentaire de produire une telle image grâce à la présence d'un minuscule orifice par lequel les rayons lumineux atteignent les photorécepteurs. À cause de l'étroitesse de l'ouverture, cependant, l'intensité lumineuse doit être très grande pour que les

photorécepteurs puissent capter une quantité suffisante de lumière. L'image peut être générée plus efficacement si on utilise des lentilles (cristallins) afin de faire converger les rayons lumineux vers la couche de photorécepteurs, comme dans le cas de l'œil composé. Ce type d'œil est répandu chez les arthropodes mais, de par sa morphologie, il ne permet pas une grande acuité visuelle. Cette dernière caractéristique, essentielle pour la détection précise des formes, est possible seulement avec l'œil réfracteur. L'image formée sur la couche de photorécepteurs (rétine) par la réfraction des rayons lumineux à travers la lentille convergente (cristallin) rend possible dans ce cas la vision des formes. Ce type d'œil est trouvé chez quelques mollusques (par exemple: la pieuvre) et est caractéristique de tous les vertébrés.

La rétine

La rétine retrouvée dans l'œil réfracteur des vertébrés est un mince feuillet de tissu neural qui tapisse l'intérieur du globe oculaire. Sa principale fonction est de convertir le rayonnement électromagnétique qui lui parvient en signaux électriques. Ceux-ci sont par la suite transférés via le nerf optique aux centres visuels du cerveau afin d'y être analysés.

La distribution des photorécepteurs à l'intérieur de la rétine n'est pas uniforme et varie considérablement. Cette hétérogénéité reflète en quelque sorte l'importance relative des différents aspects de l'environnement visuel pour un organisme particulier. Chez les primates, par exemple, la région centrale de la rétine comporte une zone spécialisée, la fovéa, où la densité des photorécepteurs est nettement supérieure au reste de la rétine. De plus, la majorité des cellules ganglionnaires rétinienne se projettent au cortex visuel via un relais thalamique et seulement une minorité se projettent au collicule supérieur (CS). Chez les rongeurs, au contraire, la rétine ne comporte pas de fovéa et la majorité des cellules ganglionnaires de la rétine se projettent au CS plutôt qu'au cortex. Ces deux cas particuliers permettent de mettre en relief les caractéristiques visuelles importantes pour ces deux ordres de mammifères. Chez le primate, le système visuel, dont la majeure partie est dédiée à la vision précise (vision fovéale), le renseigne surtout sur la nature (forme, couleur, texture, etc.) des objets visuels qui l'entourent alors que le système visuel du rongeur, dont la rétine ne contient pas de fovéa, le renseigne surtout sur les changements qui se produisent dans son environnement visuel.

Constitution de la rétine du rat

La rétine du rat possède une organisation laminaire similaire à celle retrouvée chez les autres vertébrés (figure 3). Elle est constituée de sept couches qui sont, de l'extérieur vers l'intérieur du globe oculaire: la couche de photorécepteurs, la couche nucléaire externe, la couche plexiforme externe, la

couche nucléaire interne, la couche plexiforme interne, la couche de cellules ganglionnaires et la couche de fibres nerveuses.

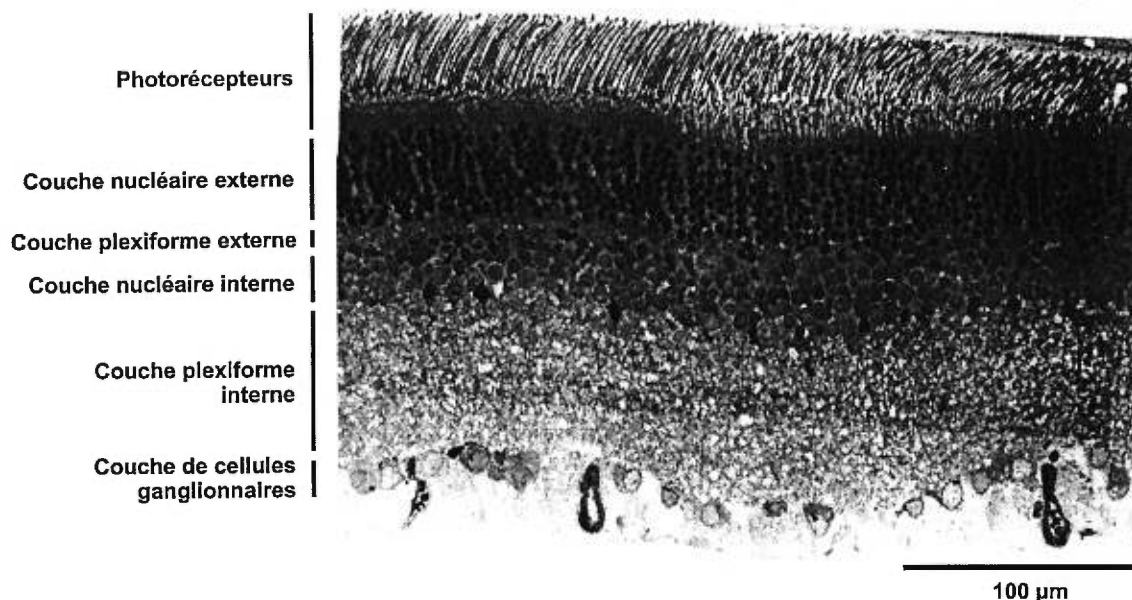


Figure 3. Coupe verticale de la rétine de rat (animal âgé de 30 jours).
Photo gracieuseté de Luz Marina Rojas.

Les principaux photorécepteurs de la rétine du rat sont les bâtonnets. Les cônes représentent moins de 1% des photorécepteurs. De ces cônes, 93% contiennent un photopigment dont la sensibilité aux rayonnements électromagnétiques est maximale pour les longueurs d'onde autour de 500-520 nm (bleu), alors que pour les 7% restant, ce maximum de sensibilité est atteint à 370 nm (violet) (Deegan & Jacobs, 1993; Szél & Röhlich, 1992).

Les terminaisons synaptiques des cônes et des bâtonnets entrent en contact avec les dendrites des cellules horizontales et bipolaires dans la couche plexiforme externe. À leur tour, les cellules bipolaires contactent les cellules amacrines et ganglionnaires dans la couche plexiforme interne. Cette organisation intra-rétinienne n'est pas spécifique au rat et on trouve le même

patron de base chez plusieurs autres espèces comme le lapin et le chat (Chun et al., 1993).

Le nombre de cellules ganglionnaires varie beaucoup d'une espèce à l'autre. On estime qu'il y en a environ 110 000 chez le rat adulte (Perry et al., 1983; Potts et al., 1982). Plusieurs études histologiques réalisées à l'aide de colorants (Golgi) ou de marqueurs (horseradish peroxidase) ont permis de mettre en évidence chez le rat trois classes de cellules ganglionnaires: I, II et III (Dreher et al., 1985; Ni & Dreher, 1981; Perry, 1979). Les cellules du type I possèdent un gros corps cellulaire (16-32 μm), un axone de grand diamètre (0.9 μm), ainsi qu'un arbre dendritique étendu (220 à 790 μm ; 3 à 7 dendrites primaires). Ces cellules se distribuent dans toute la rétine mais ont une densité maximale dans la région temporale (Dreher et al., 1985; Schall et al., 1987). Elles représentent 2 à 4% de toutes les cellules ganglionnaires rétinienne et il semble qu'elles soient analogues et peut-être même homologues aux cellules α et δ retrouvées chez le chat (Peichl, 1989).

Les études initiales réalisées par Perry (1979) chez le rat n'ont pas permis de mettre en évidence les deux sous-classes des cellules du type II (IIa et IIb). Ce n'est que quelques années plus tard que cette distinction a été rapportée (Dreher et al., 1985; Ni & Dreher, 1981). Les cellules du type IIa possèdent un corps cellulaire de taille moyenne (11-22 μm), ainsi qu'un axone de diamètre moyen (0.6 μm) qui se projette au noyau géniculé latéral dorsal (GLD), au CS ou aux deux sites par le biais de collatérales. Le champ dendritique de ces cellules est relativement restreint (250 μm). Les cellules du type IIb ont un petit corps cellulaire (7-15 μm) et un petit axone (0.4 μm) qui se projette au CS mais pas au GLD. Le champ dendritique est très petit (140 μm).

Parmi les cellules ganglionnaires du type III, on distingue deux sous-groupes: IIIa et IIIb. Les cellules du type IIIa possèdent un petit corps cellulaire (6-15 μm) et un petit axone (0.35 μm) qui se projette principalement au CS. Les

dendrites de ces neurones sont très longs et le champ dendritique est par conséquent étendu (540 μm). Les cellules du type IIIb ont des corps cellulaires moyens (15-24 μm), des axones de diamètre moyen (0.6 μm) qui se projettent au CS et au GLD, ainsi qu'un arbre dendritique étendu (400 μm). Les cellules du type IIb, IIIa, et IIIb ressemblent beaucoup aux cellules de type W observées chez le chat quant à la morphologie du corps cellulaire, des dendrites et des projections axonales (Stone, 1983).

À cause de la difficulté à enregistrer directement du corps cellulaire ou des dendrites des cellules ganglionnaires de la rétine du rat, presque toute l'information sur leurs propriétés vient des enregistrements réalisés à partir des axones dans le nerf ou le tractus optique. Les études ont montré que les champs récepteurs possèdent une organisation concentrique antagoniste similaire à celle décrite classiquement chez le chat par Kuffler (1953). La région centrale du champ récepteur répond à une modalité ON ou OFF (le ON signifie l'augmentation de l'éclairement et le OFF la diminution) alors que la région périphérique du champ récepteur répond à la modalité inverse, respectivement OFF ou ON (Brown & Rojas, 1965).

Nerf et tractus optique

Il a été estimé que le nerf optique du rat adulte renferme un nombre d'axones équivalent au nombre de cellules ganglionnaires dans la rétine, soit environ 100 000 axones dont la majorité sont myélinisés (Fukuda et al., 1982). Selon leur vitesse de conduction, on regroupe ces axones en trois catégories (Sefton & Swinburn, 1964), reflétant probablement trois groupes de diamètre axonal: 0.9 μm (cellules ganglionnaires de type I), 0.6 μm (types IIa et IIIb) et 0.4 μm (types IIb et IIIa) (Ni & Dreher, 1981).

Au niveau du tractus optique, le nombre de fibres est supérieur à celui du nerf optique. Ceci est partiellement dû à la collatéralisation des axones. De plus, certaines fibres issues du noyau parabiséminale passent par le chiasma optique pour atteindre des noyaux visuels contralatéraux. (Stevenson & Lund, 1982a & b).

Chez le rat, le principal neurotransmetteur des fibres à transmission rapide est probablement le glutamate (Li et al., 1996). Plusieurs expériences ont cependant démontré que le N-acétyl-aspartyl-glutamate (NAAG), un dipeptide qui active les récepteurs glutamiques, est aussi impliqué dans la transmission synaptique entre les terminaisons rétiniennes et les neurones cibles. Suite à la dépolarisation des cellules ganglionnaires de la rétine, le NAAG est libéré dans la fente synaptique par un processus calcium-dépendant (Tsai et al., 1988 et 1990). Chez le rat, le NAAG a été identifié dans les corps cellulaires des cellules ganglionnaires de la rétine et dans leurs terminaisons axonales au niveau des noyaux cibles (Anderson et al., 1987; Guarda et al., 1988). Cependant, sa faible action excitatrice sur les neurones du GLD du chat suscite des questions quant à son rôle dans la neurotransmission rapide (Jones & Sillito, 1992) et on soupçonne qu'il agit plutôt comme neuromodulateur.

Structures cibles des projections rétino-fuges

Le nombre de noyaux recevant des projections directes de la rétine est relativement peu élevé quand on le compare au nombre de structures à fonction visuelle présentes dans le cerveau. Certains de ces noyaux récipiendaires agissent plutôt comme centres de relais (GLD) alors que d'autres intègrent directement l'information visuelle qu'ils reçoivent (CS). Un bref aperçu de ces différentes structures sera présenté à titre informatif. Le CS sera décrit plus en détail puisqu'il fait l'objet de la présente étude. La figure 4 est un schéma résumant les différentes voies rétino-fuges chez le rat.

Noyau géniculé latéral

Le noyau géniculé latéral se subdivise en trois régions bien distinctes: le noyau géniculé latéral dorsal (GLD), la couche cellulaire intergéniculée et le noyau géniculé latéral ventral (GLV).

Noyau géniculé latéral ventral

Chez la plupart des mammifères, on peut distinguer deux zones dans le noyau GLV. La portion latérale magnocellulaire (GLVmc) reçoit des afférences rétiniennes ipsi- et controlatérales (environ 8% des axones rétino-fuges; Toga & Collins, 1981), ainsi que plusieurs afférences corticales et sous-corticales (Pasquier & Villar, 1982; Sefton et al., 1981). Le GLVmc projette ses axones principalement au CS (Brauer & Schober, 1982) et est surtout impliqué dans la discrimination de l'intensité lumineuse (Legg & Cowey, 1977). Il existe également une projection GLVmc-pré-tectum impliquée dans le réflexe pupillaire (Legg, 1975). Le noyau géniculé ventral latéral parvocellulaire (GLVpc) reçoit, quant à lui, des projections très diffuses de la rétine (Hickey & Spear, 1976) et du cortex visuel (Swanson et al., 1974). Chez le chat, il projette ses axones surtout vers la zona incerta qui lui est adjacente (Kawamura et al., 1978). Des

lésions de cette région provoquent un déficit dans la discrimination de l'intensité lumineuse (Legg, 1979).

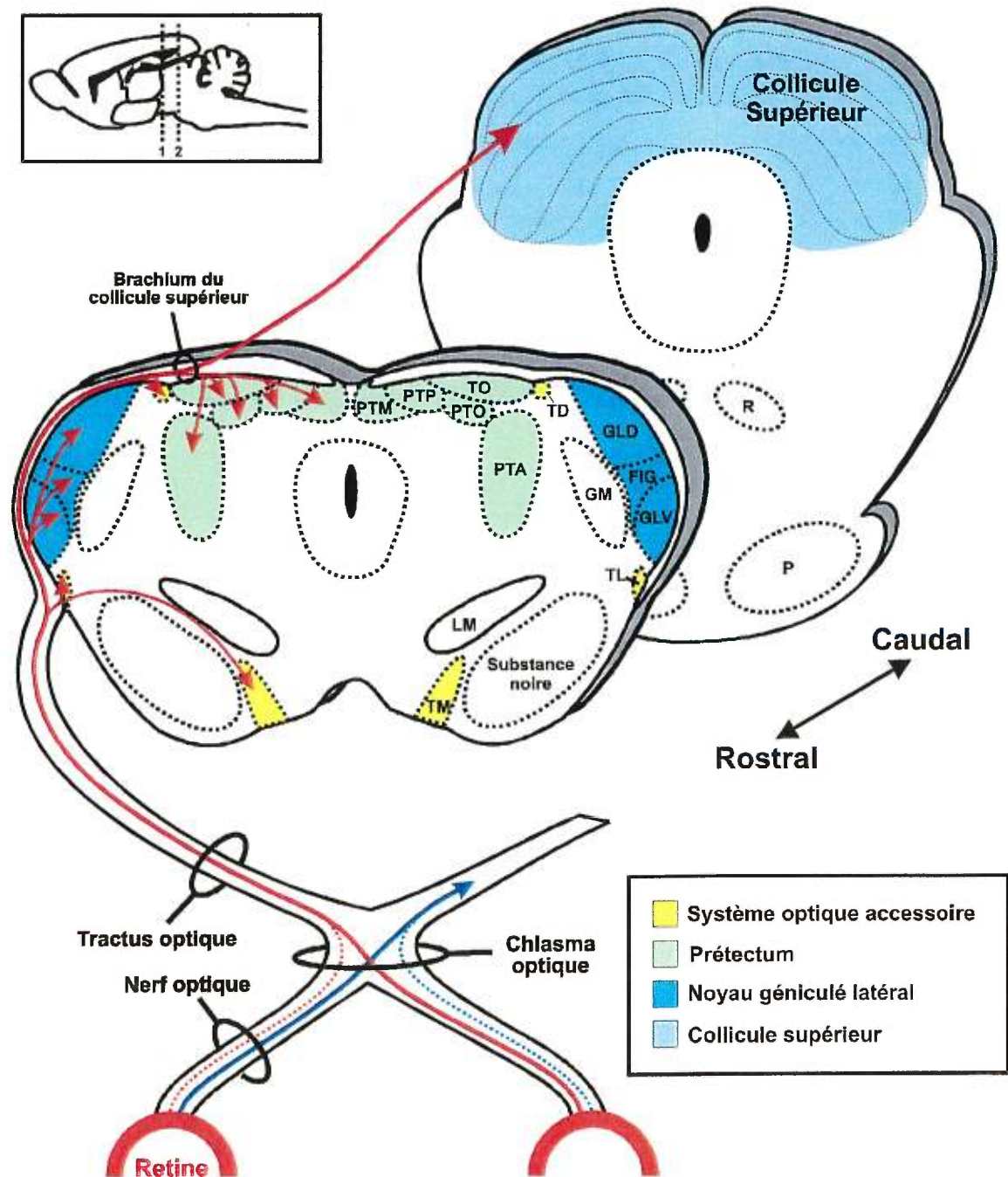


Figure 4. Schéma des principales voies rétino-fuges chez le rat. LM, lemnisque médian; GM, noyau géniculé médian; P, pédoncules cérébraux; R, noyau rouge. Pour les abréviations des noyaux du système optique accessoire, du prétectum et du noyau géniculé latéral, voir la liste des sigles et abréviations en page xii.

Feuillet cellulaire intergénéculé

Entre le GLV et le GLD se trouve une couche cellulaire, le feuillet intergénéculé (FIG, intergeniculate leaflet), qui reçoit des afférences directes de la rétine (Moore & Card, 1994). Le faisceau géniculo-hypothalamique, qui prend naissance de cette région et du GLV adjacent et qui se termine dans la portion ventrale du noyau hypothalamique suprachiasmatique, est impliqué dans l'établissement du rythme circadien (Harrington & Rusak, 1988; Rusak et al., 1989). Ce faisceau prend origine d'un groupe de petits neurones immunoréactifs au neuropeptide Y (Moore et al., 1984) et au GABA (Moore & Card, 1994) et il semble qu'il exerce une modulation sur les cellules pacemakers du noyau suprachiasmatique (Zhang & Rusak, 1989). Une autre connexion, entre la couche intergénéculée et la glande pinéale profonde, a également été démontrée chez le rat (Mikkelsen & Moller, 1990) et la gerbille (Mikkelsen et al., 1991). Cette voie est probablement le moyen par lequel la sécrétion de mélatonine est influencée par l'activité rétinienne.

Noyau géniculé latéral dorsal

Le GLD occupe la portion dorso-latérale du thalamus. Il constitue la principale structure thalamique qui transfère l'information de la rétine au cortex visuel. Bien qu'aucune étude spécifique n'ait été réalisée pour connaître le nombre de cellules ganglionnaires projetant leurs axones au GLD chez le rat, on l'estime à 20 000-25 000 (Sefton & Dreher, 1995). Approximativement 78% des cellules du GLD (16 000-18 000 au total) agissent comme relais entre la rétine et le cortex (cellule de Golgi type I; Gabbott et al., 1986). Il semble que la totalité des cellules ganglionnaires de type I projettent leurs axones aux cellules relais du GLD (Dreher et al., 1985; Peichl, 1989). Les cellules de Golgi type II représentent environ 20% de la totalité des neurones du GLD. Il s'agit d'interneurones contenant l'enzyme de synthèse de l'acide gamma-aminobutyrique (GABA) en plus du GABA lui-même.

La littérature sur l'anatomie et la physiologie du GLD est très abondante mais son rôle exact dans le système visuel demeure énigmatique. La difficulté à établir sa fonction provient principalement de la difficulté à identifier de quelle façon l'information visuelle y est transformée. Contrairement aux neurones du CS ou du cortex visuel, les neurones du GLD reproduisent fidèlement les informations reçues de la rétine (Hubel & Wiesel, 1961). En conséquence, il est suggéré que le GLD, plutôt que d'altérer l'information visuelle, régularise et renforce le signal visuel qui arrive au cortex (Sherman & Koch, 1986; Steriade & Llinas, 1988).

Prétectum

La rétine projette également ses axones au prétectum, situé au pôle rostral du mésencéphale. Cette structure, bien que souvent considérée comme une entité unique, contient plusieurs groupes nucléaires distincts: le noyau prétectal olivaire (PTO), les noyaux prétectaux antérieur et postérieur (PTA et PTP), le noyau prétectal médian (PTM) et le noyau du tractus optique (TO). Chez le rat, le prétectum est la cible d'environ 13% des axones rétino-fuges (Toga & Collins, 1981). La majorité de ces projections sont controlatérales mais certaines cellules ganglionnaires projettent aux PTO et PTP bilatéraux. Le TO reçoit uniquement des projections controlatérales alors que le PTA ne reçoit aucune afférence rétinienne directe.

Les PTO et PTP sont impliqués dans la génèse du réflexe pupillo-constricteur suite à l'éclairement de la rétine (Clarke & Ikeda, 1985; Trejo & Cicerone, 1984). Les cellules de ces noyaux prétectaux envoient leurs axones aux neurones pré-ganglionnaires parasympathiques des noyaux Edinger-Westphal ipsi- et controlatéraux. Ceux-ci projettent à leur tour leurs axones aux neurones des ganglions ciliaires qui stimulent directement les muscles lisses des sphincters pupillaires. À cause de la bilatéralité des connexions de ce

circuit, l'illumination d'un œil cause la constriction pupillaire des deux yeux (réponse consensuelle).

Le TO est quant à lui impliqué dans la genèse du nystagmus optocinétique horizontal chez le rat (Hess et al., 1985; Reber et al., 1991). Ce réflexe provoque des réponses plus fortes pour les mouvements dans la direction temporo-nasale que dans la direction naso-temporale. Ceci semble être une caractéristique des mammifères dont la fovéa est réduite ou absente (Hess et al., 1985).

Système optique accessoire

La rétine des mammifères se projette directement sur plusieurs petits noyaux positionnés bilatéralement le long de la surface ventrale et latérale du mésencéphale. Ces noyaux, qui sont au nombre de trois, forment ensemble le système optique accessoire (SOA). Le SOA et le prétegmentum sont tous deux importants dans le contrôle des mouvements oculaires et dans la stabilisation du regard sur une cible.

Le noyau terminal médian (TM) est le plus volumineux des trois noyaux du SOA. Chez le rat, il reçoit des projections d'environ 1750 cellules ganglionnaires (1.6%) distribuées uniformément dans la rétine (Dann & Buhl, 1987). En accord avec son rôle présumé dans le système visuel, le TM est lié réciproquement aux autres structures impliquées dans le nystagmus optocinétique (noyau du tractus optique, noyaux terminaux dorsal et latéral) et se projette au pont, à l'olive inférieure, au complexe vestibulaire et au noyau de Darkschewitsch (Giolli et al., 1988). La majorité des neurones de ce noyau sont sensibles aux stimuli visuels se déplaçant lentement dans la direction dorso-temporale (Biral et al., 1987). Le noyau terminal dorsal (TD) est le plus petit des noyaux du SOA. Il est localisé entre le corps géniculé médian et le CS. Chez les animaux aux yeux en position

frontale, les neurones de ce noyau répondent, tout comme les cellules du noyau du tractus optique, aux mouvements horizontaux d'une cible visuelle (Grasse & Cynader, 1991). Le troisième noyau, le noyau terminal latéral (TL), est ventral au corps géniculé latéral et rostral à la substance noire. Les neurones du TL sont surtout sensibles à des stimuli visuels se déplaçant dans la direction dorso-ventrale (Grasse & Cynader, 1991).

La similitude dans les directions préférées des neurones du tractus optique, du TD du TM et du TL suggère que les deux premiers sont impliqués dans le nystagmus optocinétique horizontal alors que les deux derniers sont impliqués dans le nystagmus optocinétique vertical.

Collicule supérieur

Le CS est une structure mésencéphalique bilatéralisée dont les limites rostrale et caudale sont imposées respectivement par la commissure postérieure et le collicule inférieur. Les deux collicules supérieurs (aussi nommés corps quadrijumeaux antérieurs) forment ensemble le toit (tectum) du mésencéphale qui recouvre une portion de la partie phylogénétiquement la plus ancienne du tronc cérébral, le tegmentum. Les neurones du CS, comme les autres neurones du système nerveux, sont générés dans la zone ventriculaire (Cavalcante & Rocha-Miranda, 1984). Chez le rat, cette neurogénèse se produit entre les jours embryonnaires 12 et 18 (Altman & Bayer, 1981). Le CS est une structure particulièrement importante chez le rat puisque plus de 90% des cellules ganglionnaires de la rétine s'y projettent (Linden & Perry, 1983). Compte tenu de l'importance de cette voie, il est clair que les autres voies visuelles se composent majoritairement de collatérales des axones rétino-colliculaires. La proportion de cellules ganglionnaires se projetant exclusivement au CS n'est pas connue avec exactitude mais les données actuelles permettent de l'estimer à environ 60-70%.

Organisation laminaire du collicule supérieur

L'organisation laminaire du CS varie peu d'une espèce à l'autre et il est généralement admis qu'on y distingue sept couches alternativement fibreuses et cellulaires (figure 5). Chez le rat, ces couches ne sont cependant pas nettement distinctes les unes des autres et les strates fibreuses ne permettent pas de repérer aisément les limites interlamaires car elles contiennent elles-mêmes plusieurs corps cellulaires.

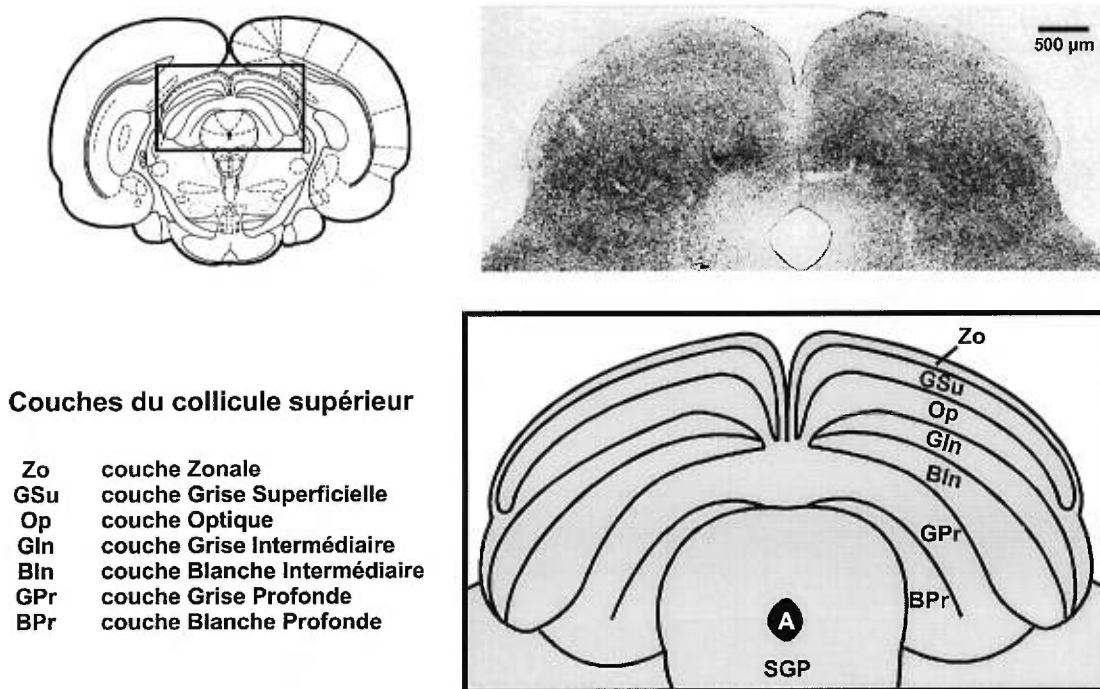


Figure 5. Représentation schématique des couches du CS. A, aqueduc du mésencéphale ou de Sylvius; SGP, substance grise péri-épendymaire.

La couche zonale (Zo) se trouve directement sous la pie-mère. Cette couche, qui ne s'étend pas jusqu'au pôle rostral du CS, se divise en deux portions (couches Ia et Ib). La portion dorsale (Ia) contient des petites cellules horizontales et marginales dont les axones myélinisés s'orientent parallèlement à la surface (Ramón y Cajal, réédition 1995). Ces cellules sont fortement

marquées pour le NADPH-diaphorase (nicotinamide-adénine-dinucléotide-phosphate-H), un enzyme de synthèse de l'oxyde nitrique (González-Hernandez et al., 1992). La portion ventrale de la stratum zonale (Ib) se compose essentiellement de petits corps cellulaires de neurones et d'astrocytes.

La couche grise superficielle (Gsu, couches IIa et IIb) est composée de nombreux types cellulaires qui sont tous orientés perpendiculairement à la surface du CS. Les cellules piriformes, à la jonction entre les couches Zo et Gsu, ainsi que les cellules fusiformes et pyramidales à champ dendritique restreint, semblent être des relais projetant leurs axones aux couches profondes du CS (Labriola & Laemle, 1977; Langer & Lund, 1974).

La couche optique (Op, couche III) est essentiellement constituée de fibres dont la majorité sont d'origine rétinienne. À la jonction avec la couche grise superficielle, on retrouve des cellules à champ dendritique étendu qui possèdent jusqu'à sept branches primaires. Ces cellules ainsi que certaines cellules à champ dendritique étroit projettent leurs axones à d'autres noyaux visuels: GLD, GLV et latéral postérieur du thalamus (Mackay-Sim et al., 1983; Mason & Groos, 1981). Les projections qui aboutissent au GLD contiennent de la substance P (Miguel-Hidalgo et al., 1991).

La couche grise intermédiaire (GIn, couche IV) se compose essentiellement de corps cellulaires de gros diamètre dont les axones se dirigent vers le myélocéphale et la moelle épinière.

La couche blanche intermédiaire (Bin, couche V) contient des axones efférents (tectofuges) ainsi que des axones afférents non-visuels issus pour la plupart de la moelle épinière et du tronc cérébral.

Finalement, les couches grise profonde (GPr, couche VI) et blanche profonde (BPr, couche VII) renferment respectivement les corps cellulaires et les axones de neurones efférents (tectofuges).

Divisions fonctionnelles du collicule supérieur

Sur le plan fonctionnel, on distingue le plus souvent deux divisions majeures dans l'axe dorso-ventral du CS, l'une regroupant les couches superficielles (couches I, II et III) et l'autre les couches profondes (couches IV, V, VI et VII). Cette double division est le résultat de différences entre les couches superficielles et profondes au niveau de la morphologie cellulaire, de la physiologie et de la connectivité. Malgré le fait que les couches superficielles reçoivent la majorité des afférences visuelles directes et indirectes, ce sont les couches profondes du CS qui jouent un rôle majeur dans l'attention visuelle et dans les comportements d'orientation vers un stimulus visuel. Pour cette raison, les couches superficielles et profondes sont respectivement nommées sensorielles et motrices.

Comme les couches superficielles reçoivent la majorité des afférences visuelles qui arrivent au CS et que les couches profondes ne reçoivent que des afférences dispersées provenant du cortex visuel (Berson, 1988; Harting & Guillery, 1976; Mize, 1983), il a longtemps été présumé que l'information visuelle arrivant aux couches superficielles du CS devait se transmettre par le biais de connexions verticales aux couches profondes. L'hypothèse stipulait que l'information visuelle se propageait des couches superficielles aux couches profondes afin de permettre l'initiation d'un mouvement d'orientation, comme la saccade, suite à une stimulation visuelle. Plusieurs études ont tenté en vain de démontrer l'existence de ce type de connexion verticale. Il semble en effet que ces connexions soient peu abondantes et difficiles à mettre en évidence, ce qui a convaincu certains chercheurs à considérer les couches superficielles et profondes comme des structures indépendantes (Edwards, 1980). Cette hypothèse n'a jamais été acceptée formellement (Stein, 1984), mais elle a

profondément influencé l'opinion des chercheurs à propos du CS. Aujourd'hui encore, malgré de nouvelles évidences qui démontrent de façon convainquante la présence de connexions verticales (Mooney et al., 1992; Moschovakis & Karabelas, 1985) ainsi que celle d'afférences rétiniennes directes aux couches profondes (Berson & Mcllwain, 1982; Segal & Beckstead, 1984), plusieurs chercheurs conservent une vision réductrice du CS.

Les couches superficielles

Le monde visuel est représenté dans les couches superficielles du CS selon une carte topographique simple et élégante. De façon générale, les cellules colliculaires ayant des champs récepteurs dans l'espace visuel nasal sont localisées dans la portion rostrale alors que celles ayant des champs récepteurs dans l'espace visuel temporal sont localisées dans la portion caudale du CS (figure 6). Le méridien horizontal du champs visuel est donc représenté selon l'axe rostro-caudal et le méridien vertical est représenté selon l'axe médian-latéral du CS. Ce schéma de base est le même chez plusieurs espèces (Cynader & Berman, 1972; Dräger & Hubel, 1975; Finlay et al., 1978; Siminoff et al., 1966; Stein & Dixon, 1979). On constate cependant des variations importantes dans la proportion de connexions controlatérales et ipsilatérales impliquées dans cette représentation de l'espace visuel.

De façon générale, on note que plus l'animal est encéphalisé, plus la proportion de connexions ipsilatérales devient importante. Il en résulte un plus grand chevauchement des connexions ipsilatérales et controlatérales, produisant ainsi une zone binoculaire plus étalée. Chez les sous-mammaliens, les afférences rétiniennes qui arrivent au tectum optique sont presque toutes controlatérales. Par exemple, chez les téléostéens étudiés, le champ visuel complet de l'oeil controlatéral (180°) est représenté dans le tectum. Seulement une petite proportion du champ visuel ipsilatéral (20°) y est représentée (Schwassman & Kruger, 1965). Chez les rongeurs étudiés, environ 90% des connexions rétino-colliculaires sont controlatérales (Toga & Collins, 1981). Le

champ visuel controlatéral est entièrement représenté dans le CS de ces animaux et il existe une zone binoculaire près du pôle rostral (Martin et al., 1983). Chez les carnivores et les primates, les afférences rétiniennes des hémirétines nasales sont entièrement croisées alors que celles des hémirétines temporales sont en majorité non-croisées (Graybiel, 1975; Harting & Guillery, 1976; Hubel et al., 1975).

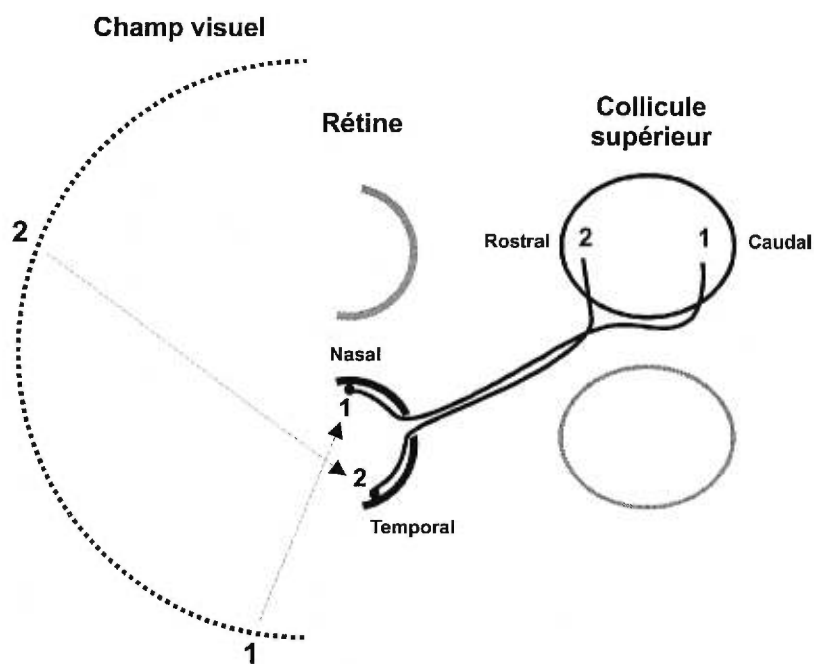


Figure 6. Organisation visuotopique de la voie rétino-colliculaire. Dans cet exemple, les stimuli de l'espace visuel temporal (1) et nasal (2) sont captés respectivement par les hémirétines nasale et temporale de l'œil gauche. La stimulation de l'hémirétine nasale se propage jusqu'à la région caudale du CS et celle de l'hémirétine temporale se propage plutôt jusqu'à la portion rostrale du CS.

Chez la plupart des animaux, l'espace visuel est cartographié dans le CS de façon non proportionnelle. Ceci se manifeste par une représentation disproportionnée d'une portion du champ visuel qui est généralement la zone centrale. Cette organisation est en grande partie due à l'innervation massive du CS par les cellules ganglionnaires de la zone centrale de la rétine (fovéa) dont la densité est généralement supérieure au reste de la rétine. Chez le rat, cette disproportion est très atténuée compte tenu de l'absence de fovéa. En

conséquence, toutes les régions du champ visuel sont représentées dans des zones colliculaires de taille similaire (Siminoff et al., 1966; Stein, 1981).

Afférences rétiniennes et non-rétiniennes, afférences

Comme mentionné précédemment, la majorité des afférences qui parviennent aux couches superficielles proviennent de la rétine. Chez le rat, les cellules ganglionnaires de la rétine peuvent être classées en trois groupes selon leurs propriétés anatomiques et/ou physiologiques. Les cellules ganglionnaires de type L (large \equiv type I) sont celles qui possèdent les plus gros corps cellulaires et les plus grands diamètres axonaux. Elles sont présentes de façon uniforme sur toute la surface de la rétine. Les cellules de types M (medium \equiv types IIa et IIIb) et S (small \equiv IIb et IIIa) ont des diamètres axonaux moyens et petits, respectivement. La densité absolue de ces deux types cellulaires augmente significativement dans la région centrale de la rétine. Les études électrophysiologiques démontrent que les proportions relatives moyennes des cellules L, M, et S sont de 5, 28, et 67% respectivement (Fukuda, 1977).

Les études menées chez le chat ont permis de mettre en évidence trois types de cellules ganglionnaires rétiniennes: Y, X et W (Stone & Fukuda, 1974) rappelant les caractéristiques anatomiques et physiologiques du rat (Fukuda, 1977). Parmi ces types cellulaires, ce sont les cellules W (équivalentes aux cellules S chez le rat) et les cellules Y (équivalentes aux cellules L chez le rat) qui innervent principalement le CS. Les axones des cellules W se terminent dans la zone dorsale ou ventrale de la couche grise superficielle (couche IIa ou IIb) selon qu'il s'agit de cellules à décharge phasique ou tonique. Les axones des cellules Y, quant à eux, se terminent dans la zone ventrale de la couche grise superficielle (couche IIb) et dans la couche optique (couche III).

Les afférences non-rétiniennes les mieux documentées sont celles qui proviennent du cortex cérébral (aire 17 ou striée). Les projections cortico-colliculaires ont en effet été démontrées chez plusieurs espèces comme le chat

(Gilbert & Kelly, 1975; Kawamura & Konno, 1979), le rat (Sefton et al., 1981), le tupaïa (Casseday et al., 1979) et le macaque (Lund & Lund, 1975). Elles prennent naissance au niveau des cellules pyramidales de la couche V du cortex visuel primaire et aboutissent à plusieurs niveaux des couches superficielles du CS. Chez le rat, environ 15% des neurones cortico-tectaux reçoivent des afférences cholinergiques (Bravo & Karten, 1992). Certaines terminaisons synaptiques observées dans le CS sont catécholaminergiques (Langer & Lund, 1974), ce qui suggère des afférences issues du locus coeruleus (Fosse & Opstad, 1986).

Les couches superficielles projettent leurs axones à plusieurs structures thalamiques comme le GLD, le GLV, et le noyau pulvinar (Mackay-Sim et al., 1983; Mason & Groos, 1981) ainsi qu'aux différents noyaux prétectaux (Taylor et al., 1986). Des connexions intracolliculaires entre les couches superficielles et les couches profondes sont également présentes chez le rat (Bickford & Hall, 1989; Ramón y Cajal, réédition 1995).

Les couches profondes

La surface du corps est représentée topographiquement dans plusieurs structures du système nerveux central. Cette organisation dépend évidemment de la morphologie et de la densité des récepteurs; les segments corporels importants pour l'animal, telles les mains chez les primates et les vibrisses chez les rongeurs, sont représentées de façon proportionnellement plus étendue dans la structure. On retrouve cette topographie de la surface du corps dans les couches profondes du CS. Celle-ci n'est cependant pas unique puisqu'il existe également des schémas topographiques visuels et auditifs (Dräger & Hubel, 1974). Ces trois cartes sensorielles sont disposées de telle sorte que les champs récepteurs neuronaux (visuel, auditif et somatosensoriel) sont "superposés" les uns aux autres dans l'espace (Benedetti & Ferro, 1995; Stein

& Meredith, 1990). De cette façon, un stimulus sensoriel, quelle que soit sa modalité, active des neurones qui sont localisés dans la même zone colliculaire.

La majorité des neurones (> 75%) des couches profondes sont sensibles à deux ou trois modalités sensorielles plutôt qu'à une seule (Meredith et al., 1991 et 1992). Si un neurone répond à deux modalités (par exemple visuelle et auditive), la réponse obtenue suite à la présentation simultanée de ces deux stimuli sera généralement plus grande que la somme des réponses évoquées par chaque stimulus individuel (Stein et al., 1993).

Afférences et efférences

Les principales afférences des couches profondes prennent origine de la substance noire (Bickford & Hall, 1992; Vincent et al., 1978), de l'aire corticale 18 (Harvey & Worthington, 1990), de la rétine (Beckstead & Frankfurter, 1983), des couches colliculaires superficielles (Bickford & Hall, 1989; Ramón y Cajal, 1995), et des différents noyaux prétectaux (Beitz, 1989).

Il existe deux voies de sortie majeures à partir des couches profondes du CS. La première va jusqu'à la moelle épinière ipsilatérale alors que la seconde (faisceau prédorsal) innerve principalement les centres mésencéphaliques et métencéphaliques controlatéraux impliqués dans les réactions d'orientation (Redgrave et al., 1986). Les cellules du faisceau prédorsal reçoivent des afférences GABAergiques de neurones situés dans la substance noire (Bickford & Hall, 1992).

Rôle du collicule supérieur dans le système visuel

On a longtemps attribué au CS un rôle relativement simple. Plusieurs chercheurs percevaient en effet cette structure comme un centre réflexe impliqué dans le déclenchement de certains mouvements oculaires (comme la saccade). Au cours de cette période, les fonctions "supérieures" (attention visuelle, réaction d'évitement, etc.) étaient plutôt associées à la voie rétino-géniculo-corticale.

Les premières expériences démontrant une négligence visuelle controlatérale suite à l'ablation unilatérale du CS ont permis une meilleure compréhension du rôle du CS dans le système visuel. L'animal se comporte comme s'il était "inconscient" de la présence du stimulus visuel dans le champ controlatéral (Sprague & Meikle, 1965) et ce, malgré l'intégrité du système géniculostrié. Ce type de recherche a grandement contribué à changer les conceptions à propos du système visuel (Albano et al., 1982; Casagrande et al., 1972; Dean & Redgrave, 1984; Goodale & Murison, 1975; Midgley et al., 1988; Schneider, 1969).

Chez le rat, on sait maintenant que le CS est impliqué dans les réactions d'évitement (Redgrave & Dean, 1981), les mouvements d'orientation vers une nouvelle cible visuelle (Goodale et al., 1978) et dans l'attention visuelle (Sprague, 1991; Wurtz et al., 1982). Tous ces résultats ont provoqué l'émergence de nouvelles hypothèses décrivant la présence de deux systèmes visuels parallèles. Le premier de ces systèmes, le système rétino-géniculo-cortical, est principalement impliqué dans l'analyse des attributs du stimulus visuel telles sa forme, sa couleur, sa texture, etc. alors que le second, le système rétino-colliculaire, est plutôt impliqué dans l'attention visuelle et l'orientation du regard vers le stimulus. Ces deux systèmes interagissent lorsqu'un stimulus visuel apparaît dans le champ visuel pour générer les réactions de détection, d'orientation et d'identification du stimulus visuel.

Ontogenèse des voies rétinofoyues

Un problème central de la neurobiologie concerne l'élaboration de connexions neuronales spécifiques au cours du développement du système nerveux. L'obtention de cette spécificité peut être divisée en trois grandes étapes: la sélection de la voie à suivre, la sélection de la cible appropriée et la sélection de la position des terminaisons dans cette cible. Il est probable que les deux premières étapes sont indépendantes de la présence d'activité électrique neuronale puisque les neurones ne sont pas fonctionnels à cette période. Plusieurs évidences démontrent toutefois que le positionnement final des terminaisons axonales dans le noyau cible dépend de l'activité neuronale (Goodman & Shatz, 1993; Shatz, 1990).

Développement des voies rétinofoyues: De la rétine au noyau cible

À partir du moment où les cellules nerveuses ont migré à leurs positions finales ou un peu avant, le prolongement axonal commence sa croissance. L'axone s'allonge à partir de son extrémité distale au moyen d'une structure spécialisée qu'on nomme le cône de croissance. Ses nombreuses extensions, les lamellipodes et les filipodes, lui permettent de sonder son environnement. Le cône de croissance sert principalement à orienter l'axone dans la direction appropriée. Ce processus est influencé par deux types d'interaction avec l'environnement: (1) les interactions avec la surface des autres cellules et avec les glycoprotéines de la matrice extracellulaire et (2) les interactions avec les molécules diffusibles qui se lient avec des récepteurs à la surface du cône de croissance et qui provoquent un changement intracellulaire.

Molécules d'adhérence

Les interactions avec les autres cellules ou la matrice extracellulaire sont contrôlées par trois grandes familles de protéines: les immunoglobulines (molécules d'adhésion cellulaire), les cadhérines et les intégrines. Les molécules d'adhérence cellulaire (cell adhesion molecule ou CAM), dont les principaux membres sont les NCAM (nerve cell adhesion molecule) et les MAG (myelin-associated glycoprotein), ont une action indépendante de la présence de calcium extracellulaire. Les NCAM gèrent la liaison entre une cellule nerveuse et l'épithélium neural par un mécanisme homophile (Hoffman & Edelman, 1983). Pour qu'un lien s'établisse, la NCAM doit donc être présente à la fois sur la surface de la cellule nerveuse et sur l'épithélium neural. Un nombre considérable de molécules d'adhérence ont été clonées et caractérisées et plusieurs d'entre elles sont exprimées au cours du développement (Edelman & Crossin, 1991; Jessel, 1988). La deuxième famille de protéines qui contrôle l'interaction entre les surfaces des neurones est celle des cadhérines. Tout comme les immunoglobulines, ces protéines utilisent un mécanisme de liaison homophile. La liaison nécessite cependant la présence de calcium extracellulaire (Grunwald, 1993). La troisième famille de protéines d'adhérence, les intégrines, contrôle l'interaction entre les neurones et les glycoprotéines de la matrice extracellulaire (Reichardt & Tomaselli, 1991). La fibronectine et la laminine sont les deux principales glycoprotéines de la matrice extracellulaire qui interagissent avec les intégrines.

Le rôle exact et la nature des molécules d'adhérence dans le développement plus spécifique de la voie rétino-tectale ne sont pas encore élucidés. Seules quelques bribes d'information sont disponibles. On sait par exemple que l'expression des récepteurs de laminine, les intégrines, est diminuée lorsque les axones des cellules ganglionnaires atteignent le tectum optique chez l'embryon de poulet (Cohen et al., 1989; Hall et al., 1987). Ceci suggère que les cônes de croissance utilisent la laminine comme substrat préféré pendant la navigation dans le nerf optique. Lors de leur arrivée au

tectum, les cônes de croissance sont confrontés à de nouveaux signaux de repère. Ceci provoque l'apparition d'autres récepteurs afin de permettre la transition entre la reconnaissance de la voie et la reconnaissance de la cible appropriée (Goodman & Shatz, 1993).

Molécules diffusibles

L'idée que le cône de croissance puisse se diriger à l'aide de molécules diffusibles attractives n'est pas nouvelle et a été proposée par Ramón y Cajal à la fin du 19^{ième} siècle (1892). Soixante-dix ans plus tard, Sperry émit la théorie de la chimioaffinité, selon laquelle l'organisation des projections rétino-tectales est générée par un arrangement topographique des molécules dans le tectum (Sperry, 1963). L'hypothèse de Sperry propose un modèle mais aucune molécule, et il faudra attendre une vingtaine d'années avant de mettre en évidence certains des mécanismes moléculaires impliqués dans la chimioaffinité. Les nombreuses expériences réalisées in vitro jusqu'à présent ont permis de démontrer que la chimioaffinité est principalement impliquée dans le guidage des axones commissuraux dans la moelle épinière (Tessier-Lavigne et al., 1988), des projections cortico-pontiques (Sato et al., 1994), des projections trigéminales (Lumsden & Davies, 1983 et 1986) et dans l'innervation de certains muscles chez l'embryon de poulet (Tosney, 1987).

Un mécanisme opposé à la chimioaffinité, la chimiorépulsion, a été découvert très récemment suite à des observations in vitro (Kepfhammer et al., 1986; Kepfhammer & Raper, 1987). La découverte de la sensibilité des cônes de croissance à certaines molécules répulsives a suscité beaucoup d'intérêt et plusieurs molécules répulsives sont maintenant identifiées (Keynes & Cook, 1992).

Les molécules diffusibles semblent jouer un rôle de premier plan dans l'établissement grossier des projections rétino-tectales. Chez le poulet, les expériences in vitro ont démontré que les axones provenant de la rétine nasale

peuvent croître sur les membranes cellulaires du tectum antérieur et postérieur, alors que les axones de la rétine temporale peuvent seulement progresser sur les membranes du tectum antérieur. Il semble que la réponse des axones de la rétine temporale soit basée sur la répulsion des cellules du tectum postérieur plutôt que sur une attraction des cellules du tectum antérieur (Walter et al., 1987).

Les signaux distribués dans le tectum dirigent probablement les cônes de croissance des cellules ganglionnaires de la rétine vers la région cible du tectum. Ceci est réalisé soit en attirant les axones dans la direction appropriée ou encore en les repoussant des directions inappropriées. Les signaux guides du tectum ralentissent initialement la croissance des axones de la rétine temporale (Harris et al., 1987), pour ensuite limiter l'aire d'exploration par la présence de signaux répulsifs dans le tectum postérieur (Stahl et al., 1990; Walter et al., 1990). Ces molécules répulsives, qui empêchent les axones de la rétine temporale d'outrepasser le tectum antérieur, ont été trouvées dans le tectum postérieur de plusieurs espèces (Bastmeyer & Stuermer, 1993; Drescher et al., 1995; Godement & Bonhoeffer, 1989; Johnson & Gooday, 1991; Simon & O'Leary, 1992; Vielmetter et al., 1991; Walter et al., 1987).

Il semble finalement que des molécules d'adhérence et diffusibles soient également présentes dans le tectum afin de diriger les axones dans l'axe dorso-ventral vers les couches appropriées (Yamagata et al., 1995; Yamagata & Sanes, 1995). Il a de plus été démontré tout récemment que certaines protéines (possiblement des récepteurs aux molécules diffusibles) sont exprimées dans la rétine selon un gradient naso-temporal (Yuasa et al., 1996).

Développement des voies rétino-fuges: Raffinement des connexions

Nous venons de décrire brièvement l'établissement initial des projections rétino-tectales. Ceci se réalise de façon grossière à l'aide des différents signaux chimiques présents le long de la voie rétino-tectale et dans le tectum. La carte topographique ainsi obtenue est grossière car les arborisations des terminaisons axonales provenant de cellules ganglionnaires voisines dans la rétine sont très étendues. Les cellules ganglionnaires de la rétine contactent ainsi un pourcentage du tectum optique supérieur à celui retrouvé chez l'animal adulte. Le raffinement de la carte rétinotopique apparaît graduellement lorsque les terminaisons axonales sont remodelées de façon à restreindre leurs ramifications pour contacter un plus petit nombre de cellules tectales. Plusieurs données expérimentales indiquent que ce processus dépend de l'activité électrique des neurones (Constantine-Platon et al., 1990; Shatz, 1990; Udin & Fawcett, 1990). Au cours du développement du système visuel, deux formes d'activité neuronale peuvent potentiellement contribuer au raffinement de ces connexions: l'activité visuo-dépendante et l'activité visuo-indépendante.

De nombreuses expériences ont démontré que la coïncidence temporelle et spatiale des potentiels d'action évoqués visuellement contribue au raffinement des connexions. Les premières indications sur l'importance de l'activité visuo-dépendante proviennent des études pionnières de Hubel et Wiesel. Dans ces travaux, ils ont montré que la fermeture définitive d'une paupière, chez le chat ou le singe nouveau-né, provoque une augmentation du territoire occupé dans le cortex visuel primaire par les terminaisons axonales des noyaux GLD transportant l'information de l'œil normal (Hubel et al., 1977; Shatz & Stryker, 1978). Ces résultats sont obtenus seulement si la paupière de l'œil est maintenue fermée durant la phase de formation des colonnes de dominance oculaires dans la couche IV du cortex visuel, ce qui suggère fortement que cet événement du développement dépend de l'activité visuelle (LeVay et al., 1980).

L'activité visuo-indépendante, aussi nommée activité spontanée (AS), apparaît dans certains neurones avant que le système visuel ne soit complètement fonctionnel. Chez le chat ou le primate, les projections issues de la rétine arrivent aux GLD dorsaux bien avant la formation des cônes et des bâtonnets de la rétine. Les projections des deux rétines sont d'abord diffuses dans le GLD mais au cours du développement, une ségrégation entre les afférences des deux rétines se produit et les couches de dominance oculaire émergent (Shatz, 1990). Contrairement aux colonnes de dominance oculaire du cortex, les couches de dominance oculaire du GLD se forment alors que l'animal est « aveugle » (la rétine ne répond pas aux stimuli visuels). Au cours de cette période, les cellules ganglionnaires de la rétine sont toutefois actives spontanément. Le blocage de cette activité visuo-indépendante à l'aide de tétradotoxine (TTX) empêche la formation des couches oculaires dans le noyau GLD (Dubin et al., 1986; Shatz & Stryker, 1988; Sretavan et al., 1988).

Ces deux expériences illustrent bien l'importance de l'activité visuelle dépendante et/ou spontanée dans le raffinement des connexions. Plusieurs études ont été réalisées afin de mettre à jour les mécanismes responsables de ce raffinement. Les résultats de ces études indiquent que ce n'est pas l'activité électrique neuronale en elle-même qui est importante mais plutôt sa distribution temporelle et spatiale. Le raffinement est en fait généré selon un mécanisme par lequel les cellules du noyau cible sont capables de détecter la simultanéité des potentiels d'action (spontanés ou évoqués) émis par les cellules ganglionnaires de la rétine. Selon cette hypothèse, les neurones qui sont actifs ensemble se connectent ensemble (Goodman & Shatz, 1993).

L'existence de synapses capables de se renforcer lorsque les activités pré-synaptiques sont simultanées a été proposée par Hebb au milieu du siècle (Hebb, 1949). Ces synapses « de Hebb » ont la propriété de se renforcer lorsque les émissions de potentiels d'action de leurs afférences coïncident dans

le temps. Il est maintenant bien connu que ces synapses existent dans l'hippocampe où elles sont impliquées dans la potentialisation à long terme (pour une revue voir Madison et al., 1991). Ces synapses ont été récemment observées entre les axones des cellules ganglionnaires de la rétine et les neurones du tectum chez le poisson adulte (Schmidt, 1990). Il est donc probable que ces synapses soient aussi impliquées dans le développement de la voie rétino-tectale pour renforcer les « bonnes » connexions et éliminer les « inappropriées » afin de générer une carte rétinotopique précise. Cette hypothèse s'appuie sur de récentes expériences démontrant que l'émission des potentiels d'action spontanés des cellules ganglionnaires voisines dans la rétine du rat est corrélée, alors qu'elle ne l'est pas dans le cas des cellules ganglionnaires éloignées (Maffei & Galli-Resta, 1990; Meister et al., 1991; Wong et al., 1993).

Formation de la voie rétino-colliculaire chez le rat

Plusieurs chercheurs ont étudié l'ontogenèse des cellules rétinienne chez les mammifères euthériens. Les données obtenues chez la souris, le rat, le lapin, le chat et le singe indiquent qu'il existe de grandes similitudes interspécifiques dans la séquence de cytogénèse (Carter-Dawson & LeVail, 1979; LaVail et al., 1991; Reichenbach et al., 1994; Reichenbach & Robinson, 1995; Zimmerman et al., 1988). Une première vague de cytogénèse entraîne d'abord la formation des cônes et des cellules horizontales, ganglionnaires et amacrines. Une seconde vague amène ensuite la formation des bâtonnets, des cellules bipolaires et des cellules de Müller. La figure 7 illustre la séquence de formation de ces différents types cellulaires au cours de la maturation chez le rat.

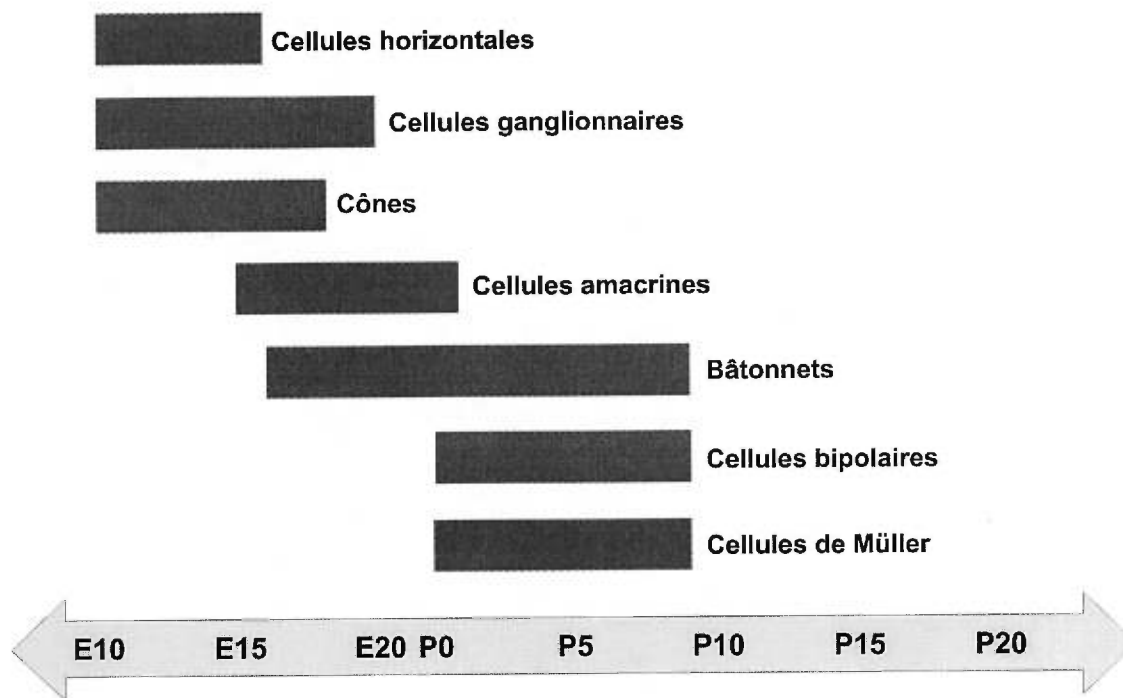


Figure 7. Diagramme représentant les périodes de genèse des différentes cellules de la rétine au cours du développement chez le rat (adapté de Reichenbach & Robinson, 1995).

La genèse des cellules colliculaires se déroule au cours de la même période que la première vague de cytogénèse dans la rétine, soit entre les jours embryonnaire 12 et 18 (E12-E18; Altman & Bayer, 1981). Les premières cellules à être générées entre E12 et E13 sont celles qui forment la couche blanche intermédiaire (couche V). Ce sont ces gros neurones qui seront plus tard à l'origine du tractus tecto-spinal (Rhoades & DellaCroce, 1981). La majorité des cellules des couches III, VI et VII sont produites entre E14 et E15 et celles des couches I, II et IV sont essentiellement formées entre E15 et E17.

Comme nous l'avons mentionné précédemment, les cellules ganglionnaires sont générées très tôt dans la rétine, entre E10 et E15. À partir de E14, ces cellules émettent des projections axonales qui se dirigent aussitôt vers les différents centres visuels, dont le CS (Horsburgh & Sefton, 1986). Ainsi, les premiers axones des cellules ganglionnaires de la rétine arrivent au CS à

E16 et leur nombre augmente constamment jusqu'à E21 (Lund & Bunt, 1976). Au cours des deux premières semaines après la naissance, une grande proportion de ces cellules ganglionnaires se rétractent puis dégénèrent (Dreher et al., 1983; O'Leary et al., 1986; Perry et al., 1983). Chez le rat albinos, le nombre de cellules ganglionnaires passe de 170 000 à 113 000 entre les jours postnataux 1 et 9 (P1-P9; Potts et al., 1982), alors que chez le rat pigmenté, il passe de 200 000 à 117 000 entre P0 et P10 (Perry et al., 1983). Cette dégénérescence massive retarde l'apparition des premières synapses dans la couche plexiforme interne de la rétine. Ces synapses n'apparaissent que lorsque le nombre de cellules ganglionnaires devient stable, aux environs P11-P12 (Horsburgh & Sefton, 1987). Au niveau du CS, la synaptogenèse amène la formation de contacts synaptiques entre les axones afférents et les cellules colliculaires cibles de même que la formation de synapses entre les cellules colliculaires elles-mêmes. Quelques synapses sont déjà présentes à la naissance et leur nombre augmente rapidement pour atteindre un maximum aux environs de P30 (Warton & McCart, 1989). Un peu plus de la moitié de ces synapses dégénèrent ensuite entre P30 et P85 (adulte).

Les premières afférences issues du cortex ipsilatéral arrivent au CS quelques jours après la naissance, aux environs de P4-P5 (Thong & Dreher, 1986). Ces projections cortico-tectales sont toutefois exubérantes et s'étendent, en plus du cortex visuel, au cortex auditif et somatosensoriel. Ce n'est qu'après P21 que les neurones projetant au CS sont limités au cortex visuel.

Plusieurs autres événements marquent de façon importante le développement de la voie rétino-colliculaire et sont résumés dans le schéma de la figure 8. On note, par exemple, qu'il est possible d'enregistrer les premiers électrorétinogrammes à partir de P12 (Weidman & Kuwabara, 1968), soit peu après la formation des segments externes de photorécepteurs qui a lieu entre P5 et P10 (Weidman & Kuwabara, 1969). Les expériences antérieures réalisées par les Dr Itaya et Molotchnikoff ont permis de déterminer à quel moment

début l'activité électrique spontanée et évoquée dans le CS. Ces résultats, confirmés à maintes reprises dans le cadre de cette thèse, stipulent que les premières traces d'activité spontanée apparaissent à P5 alors que l'activité évoquée (sous forme de potentiels d'action) dans le CS suite à une stimulation du nerf optique débute aux environs de P10 (Itaya et al., 1995; Molotchnikoff & Itaya, 1993). L'activité colliculaire évoquée par un stimulus visuel apparaît quant à elle à P13 (Itaya & Molotchnikoff, 1990).

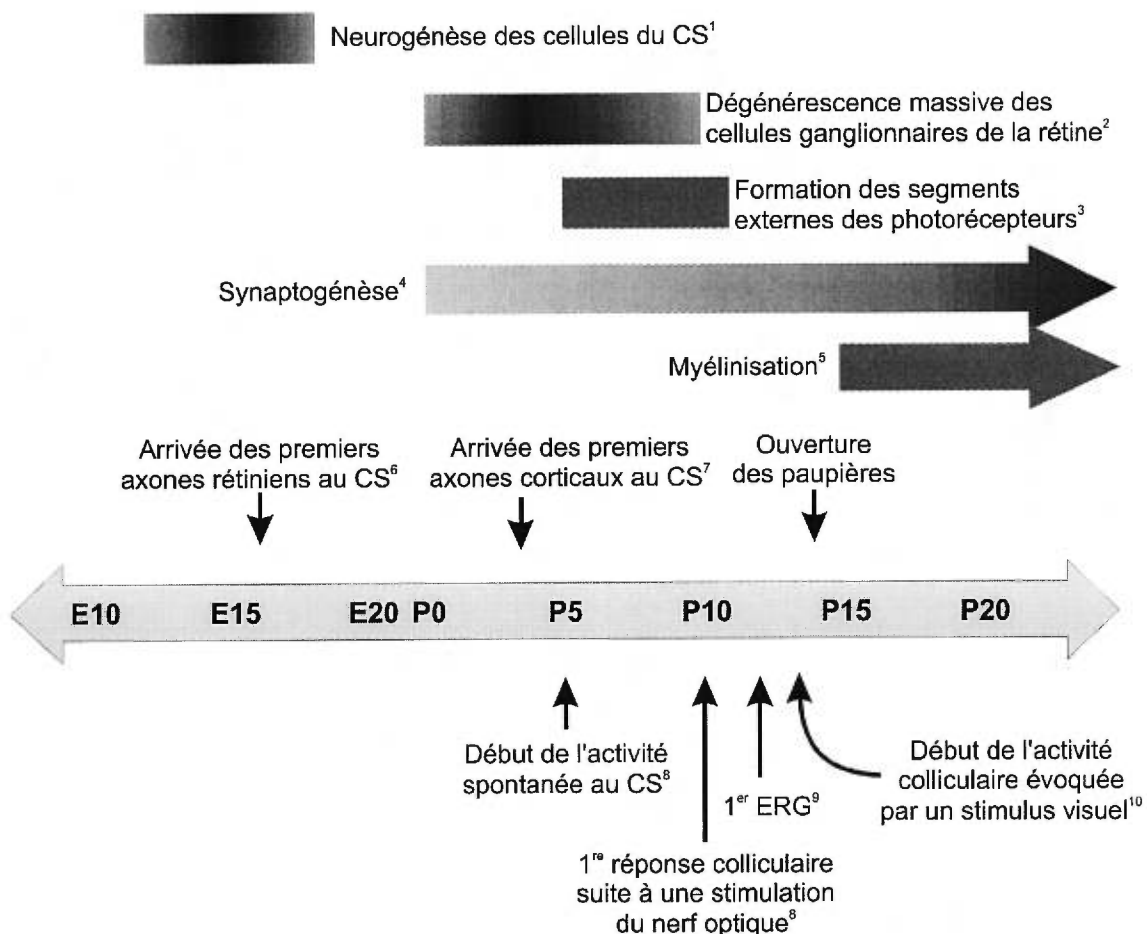


Figure 8. Diagramme représentant les principaux événements qui marquent le développement de la voie rétinocolliculaire chez le rat entre les jours embryonnaire 10 (E10) et postnatal 20 (P20). L'intensité de l'activité est indiquée par l'intensité de la couleur. 1. Altman & Bayer, 1981; 2. Perry et al., 1983; 3. Weidman & Kuwabara, 1969; 4. Warton and McCart, 1989; Horsburgh and Sefton, 1987; 5. Warton & Jones, 1985; 6. Lund and Bunt, 1976; 7. Thong & Dreher, 1986; 8. Molotchnikoff & Itaya, 1993; Itaya et al., 1995; 9. Weidman & Kuwabara, 1968; 10. Itaya & Molotchnikoff, 1990.

Objectif de cette étude

Jusqu'à présent, de nombreuses études portant sur le développement de la voie rétino-colliculaire ont été réalisées chez différentes espèces. Ces recherches se sont avérées fructueuses en ce qui concerne la description du développement anatomique de la rétine et du CS. Chez le rat par exemple, plusieurs événements importants tels que la séquence de neurogénèse des cellules colliculaires (Altman & Bayer, 1981), les moments où les cellules ganglionnaires (Lund & Bunt, 1976) et les projections issues du cortex (Thong & Dreher, 1986 et 1987) arrivent au CS sont maintenant bien connus. Cependant, peu d'études ont été réalisées sur le développement électrophysiologique du CS. Or, ce type de recherche sur les changements qui se produisent au niveau de l'activité neuronale lors du développement est essentiel si on veut comprendre comment fonctionne cette partie du système visuel lors du développement et comment on en arrive à la mise en place du système visuel tel qu'on le connaît chez l'adulte. Notre travail permettra plus spécifiquement de connaître à quel moment et de quelle façon la voie rétino-colliculaire et le CS deviennent fonctionnels et contribuera à fournir des indices sur le rôle des activités électriques spontanées et évoquées au cours du développement. Le présent projet a donc pour objectif principal l'étude des événements électrophysiologiques qui se produisent au niveau du CS chez le jeune rat lors de la maturation. Nous avons donc recherché et caractérisé l'activité visuo-indépendante et visuo-dépendante des neurones du CS au cours de l'ontogenèse.

Afin de réaliser ce projet, nous avons choisi le rat comme modèle animal. Ce choix repose sur plusieurs facteurs. Tout d'abord, la voie rétino-colliculaire du rat est très immature à la naissance. En effet, l'activité spontanée et l'activité évoquée apparaissent respectivement 5 jours et 13 jours après la naissance; on peut donc étudier ces activités directement chez les animaux postnataux plutôt que prénataux. De plus, la proportion de cellules ganglionnaires se projetant au

CS est plus importante chez le rat que chez les autres espèces habituellement utilisées en laboratoire (hamster, chat, etc.). Finalement, mentionnons que la littérature au sujet de la rétine et du CS du rat est abondante et diversifiée, ce qui représente un avantage indéniable pour l'interprétation de nos résultats.

Pour l'étude de l'activité visuo-indépendante nous avons concentré nos efforts entre les jours P4 et P15, ce qui correspond à la période de pré-ouverture des paupières. Entre P4 et P12, il n'y a aucune trace d'activité visuo-dépendante, il s'agit donc d'une période au cours de laquelle l'AS est susceptible de jouer un rôle important. Pour l'étude de l'activité visuo-dépendante, nous nous sommes surtout consacré à la période P12-P25, soit les quelques jours avant et après l'ouverture des paupières. Comme cette forme d'activité émerge au début de cet intervalle (~P13), ce choix est judicieux pour quiconque veut tenter d'élucider le rôle de l'activité visuo-dépendante dans le développement des propriétés physiologiques des cellules colliculaires.

Une version détaillée de la procédure expérimentale générale est présentée en annexe.

Bibliographie

- Albano J.E., Mishkin M., Westbrook L.E. & Wurtz R.H. (1982). Visuomotor deficits following ablation of monkey superior colliculus. *Journal of Neurophysiology* 48:338-351.
- Altman J. & Bayer S.A. (1981). Time of origin of neurons of the rat superior colliculus in relation to other components of the visual and visuomotor pathways. *Experimental Brain Research* 42:424-434.
- Anderson K.J., Borja M.A., Cotman C.W., Moffett J.R., Namboodiri M.A.A. & Neale J.H. (1987). N-Acetylaspartylglutamate identified in the rat retinal ganglion cells and their projections in the brain. *Brain Research* 411:172-177.
- Bastmeyer M. & Stuermer C.A. (1993). Behavior of fish retinal growth cones encountering chick caudal tectal membranes: a time-lapse study on growth cone collapse. *Journal of Neurobiology* 24:37-50.
- Beckstead R.M. & Frankfurter A. (1983). A direct projection from the retina to the intermediate gray layer of the superior colliculus demonstrated by anterograde transport of horseradish peroxidase in monkey, cat and rat. *Experimental Brain Research* 52:261-268.
- Beitz A.J. (1989). Possible origin of glutamatergic projections to the midbrain periaqueductal gray and deep layer of the superior colliculus of the rat. *Brain Research Bulletin* 23:25-35.
- Benedetti F. & Ferro I. (1995). The effects of early postnatal modification of body shape on the somatosensory-visual organization in mouse superior colliculus. *European Journal of Neuroscience* 7:412-418.
- Berson, D.M. (1988). Convergence of retinal W-cell and corticotectal input to cells of the cat superior colliculus. *Journal of Neurophysiology* 60:1861-1873.
- Berson D.M. & McIlwain J.T. (1982). Retinal Y-cell activation of deep-layer cells in superior colliculus of the cat. *Journal of Neurophysiology* 47:700-714.
- Bickford M.E. & Hall W.C. (1989). Collateral projections of predorsal bundle cells of the superior colliculus in the rat. *Journal of Comparative Neurology* 283:86-106.
- Bickford M.E. & Hall W.C. (1992). The nigral projection to predorsal bundle cells in the superior colliculus of the rat. *Journal of Comparative Neurology* 319:11-33.
- Biral G.P., Porro C.A., Cavazzuti M., Benassi C. & Corazza R. (1987). Vertical and horizontal visual whole-field motion differently affect the metabolic activity of the rat medial terminal nucleus. *Brain Research* 412:43-53.

- Brauer K. & Schober W. (1982). Identification of geniculo-tectal relay neurons in the rat lateral geniculate nucleus. *Experimental Brain Research* 45:84-88.
- Bravo H. & Karten H.J. (1992). Pyramidal neurons of the rat cerebral cortex, immunoreactive to nicotinic acetylcholinergic receptors, project mainly to subcortical targets. *Journal of Comparative Neurology* 320:62-68.
- Brown J.E. & Rojas J.A. (1965). Rat retinal ganglion cells: receptive field organization and maintained activity. *Journal of Neurophysiology* 28:1091-1100.
- Carter-Dawson L.D. and LeVail M.W. (1979). Rods and cones in the mouse retina. II. Autoradiographic analysis of cell generation using tritiated thymidine. *Journal of Comparative Neurology* 188:263-272.
- Casagrande V.A., Harting J.K., Hall W.C., Diamond I.T. & Martin G.F. (1972). Superior colliculus of the tree shrew. A structural and functional subdivision into superficiale and deep layer. *Science* 177:444-447.
- Casseday J.H., Jones D.R. & Diamond I.T. (1979). Projections from cortex to tectum in the tree shrew, *Tupaia glis*. *Journal of Comparative Neurology* 185:253-91.
- Cavalcante L.A. & Rocha-Miranda C.E. (1984). Observations on postnatal neurogenesis in the superior colliculus and the pretectum in the opossum. *Brain Research* 315:241-249.
- Chun M.H., Han S.H., Chung J.W. & Wassle H. (1993). Electron microscopic analysis of the rod pathway of the rat retina. *Journal of Comparative Neurology* 332:421-432.
- Clarke R.J. & Ikeda H. (1985). Luminance and darkness detectors in the olivary and posterior pretectal nuclei and their relationship to the pupillary light reflex in the rat. *Experimental Brain Research* 57:224-232.
- Cohen J., Nurcombe V., Jeffrey P. & Edgar D. (1989). Developmental loss of functional laminin receptors on retinal ganglion cells is regulated by their target tissue, the optic tectum. *Development* 107:381-387.
- Constantine-Platon M., Cline H.T. & Debski E. (1990). Patterned activity, synaptic convergence, and the NMDA receptor in developing visual pathways. *Annual Review of Neuroscience* 13:129-154.
- Cynader M. & Berman N. (1972). Receptive-field organization of monkey superior colliculus. *Journal of Neurophysiology* 35:187-201.
- Dann J.F. & Buhl E.H. (1987). Retinal ganglion cells projecting to the accessory optic system in the rat. *Journal of Comparative Neurology* 262:141-158.
- Dean P. & Redgrave P. (1984) The superior colliculus and visual neglect in rat and hamster: I. Behavioural evidence. *Brain Research Review* 8:129-141.

- Deegan J.F. & Jacobs G.H. (1993). On the identity of the cone types of the rat retina. *Experimental Eye Research* 56:375-377.
- Dräger U.C. & Hubel D.H. (1974). Responses to visual stimulation and relationship between visual, auditory, and somatosensory inputs in mouse superior colliculus. *Journal of Neurophysiology* 38:690-713.
- Dräger U.C. & Hubel D.H. (1975). Responses to visual stimulation and relationship between visual, auditory, and somatosensory inputs in mouse superior colliculus. *Journal of Neurophysiology* 38:690-713.
- Dreher B., Potts R.A. & Bennett M.R. (1983). Evidence that the early postnatal reduction in the number of rat retinal ganglion cells is due to a wave of ganglion cell death. *Neuroscience Letter* 26:255-260.
- Dreher B., Sefton A.J., Ni S.Y.K. & Nisbett G. (1985). The morphology, number, distribution and central projections of Class I retinal ganglion cells in albino and hooded rats. *Brain Behavior and Evolution* 26:10-48.
- Drescher U., Kremoser C., Handwerker C., Löschinger J., Noda M. & Bonhoeffer F. (1995). In vitro guidance of retinal ganglion cell axons by RAGs, a 25 kDa tectal protein related to ligands for Eph receptor tyrosine kinases. *Cell* 82:359-370.
- Dubin M.W., Stark L.A. & Archer S.M. (1986). A role for action potential activity in the development of neuronal connections in the kitten retinogeniculate pathway. *The Journal of Neuroscience* 6:1021-1036.
- Edelman G.M. & Crossin K.L. (1991). Cell adhesion molecules: implications for a molecular histology. *Annual Review of Biochemistry* 60:155-190.
- Edwards S.B. (1980). The reticular formation revisited. Ed.: Hobson J.A., and Brazier M.A.B., pp 193-209, Raven Press, New York.
- Finlay B.L., Schneps S.E., and Wilson K.G. (1978). Topography of visual and somatosensory projections to the superior colliculus of the golden hamster. *Brain Research* 142:223-235.
- Fosse V.M. & Opstad P.K. (1986). Biochemical plasticity in the superior colliculus of adult rats after chronic visual cortex ablation. *Brain Research* 372:189-192.
- Fukuda Y. (1977). A three-group classification of rat retinal ganglion cells: histological and physiological studies. *Brain Research* 119:327-344.
- Fukuda Y., Sugimoto T. & Shirokawa T. (1982). Strain differences in quantitative analysis of the rat optic nerve. *Experimental Neurology* 75:525-532.
- Gabbott P.L.A., Somogyi J., Stewart M.G. & Hamori J. (1986). A quantitative investigation of the neuronal composition of the rat dorsal lateral geniculate nucleus using GABA-immunocytochemistry. *Neurochemistry* 19:101-111.

- Gilbert C.D. & Kelly J.P. (1975). The projections of cells in different layers of the cat's visual cortex. *Journal of Comparative Neurology* 163:81-105.
- Giolli R.A., Torigoe Y. & Blanks R.H.I. (1988). Nonretinal projections to the medial terminal accessory optic nucleus in rabbit and rat: a retrograde and anterograde transport study. *Journal of Comparative Neurology*. 269:73-86.
- Godement P. & Bonhoeffer F. (1989). Cross-species recognition of tectal cues by retinal fibers in vitro. *Development* 106:313-320.
- González-Hernandez T., Conde-Sendin M. & Meyer G. (1992). Laminar distribution and morphology of NADPH-diaphorase containing neurons in the superior colliculus and underlying periaqueductal gray of the rat. *Anatomy and Embryology* 186:245-250.
- Goodale M.A., Foreman N.P. & Milner A.D. (1978). Visual orientation in the rat: a dissociation of deficits following cortical and collicular lesions. *Experimental Brain Research* 31:445-57.
- Goodale M.A. & Murison R.C.C. (1975). The effects of lesions of the superior colliculus on locomotor orientation and the orienting reflex in the rat. *Brain Research* 88:243-261.
- Goodman C.S. & Shatz C.J. (1993). Developmental mechanisms that generate precise patterns of neuronal connectivity. *Cell* 72 and *Neuron* 10 (suppl.) 77-98.
- Grasse K.L. & Cynader M. (1991). The accessory optic system in frontal-eyed field animals. In: *The neural basis of visual function*. Ed.: Leventhal A.G., pp. 111-139. Macmillan Press, London.
- Graybiel A.M. (1975). Anatomical organization of retinotectal afferents in the cat: an autoradiographic study. *Brain Research* 96:1-23.
- Grunwald G.B. (1993). The structural and functional analysis of cadherin calcium-dependent cell adhesion molecules. *Current Opinion in Cell Biology*. 5:797-805.
- Guarda A.S., Robinson M.B., Ory-Lavoilié L., Forloni G.L., Blakely R.D. & Coyle J.T. (1988). Quantification of N-acetyl-aspartyl-glutamate in microdissected rat brain nuclei and peripheral tissues: findings with a novel liquid phase radioimmunoassay. *Brain Research* 427:223-232.
- Hall D.E., Neugebauer K.M. & Reichardt L.F. (1987). Embryonic neural retinal cell response to extracellular matrix proteins: developmental changes and effects of the cell substratum attachment antibody (CSAT). *Journal of Cell Biology* 104:623-634.
- Harrington M.E. & Rusak B. (1988). Ablation of the geniculo-hypothalamic tract alters circadian activity rhythms hamsters housed under constant light. *Physiology and Behavior* 42:183-189.

- Harris W.A., Holt C.E. & Bonhoeffer F. (1987). Retinal axons with and without their somata, growing to and arborizing in the tectum of *Xenopus* embryos: a time-lapse video study of single fibres in vivo. *Development* 101:123-33.
- Harting J.K. & Guillery R.W. (1976). Organization of retinocollicular pathways in the cat. *Journal of Comparative Neurology* 166:133-144.
- Harvey A.R. & Worthington D.R. (1990). The projection from different visual cortical areas to the rat superior colliculus. *Journal of Comparative Neurology* 298:281-292.
- Hebb D.O. (1949). *The organization of behavior*. John Wiley & Sons, New York.
- Hess J.M., Precht W., Reber A. & Cazin L. (1985). Horizontal optokinetic ocular nystagmus in the pigmented rat. *Neuroscience* 15:97-107.
- Hickey T.L. & Spear P.D. (1976). Retinogeniculate projections in hooded and albino rats: an autoradiographic study. *Experimental Brain Research* 24:523-529.
- Hoffman S. & Edelman G.M. (1983). Kinetics of homophilic binding by embryonic and adult forms of the neural cell adhesion molecule. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 80:5762-5766.
- Horsburgh G.M. & Sefton A.J. (1986). The early development of the optic nerve and chiasm in embryonic rat. *Journal of Comparative Neurology* 243:547-560.
- Horsburgh G.M. & Sefton A.J. (1987). Cellular degeneration and synaptogenesis in the developing retina of the rat. *Journal of Comparative Neurology* 263:553-566.
- Hubel D.H., LeVay S. & Wiesel T.N. (1975). Mode of termination of retinotectal fibers in macaque monkey: an autoradiographic study. *Brain Research* 96:25-40.
- Hubel D.H. & Wiesel T.N. (1961). Integrative action in the cat's lateral geniculate body. *Journal of Physiology (London)* 155:385-398.
- Hubel D.H., Wiesel T.N. & LeVay S. (1977). Plasticity of ocular dominance columns in the monkey striate cortex. *Philosophical Transactions of the Royal Society of London - Series B: Biological Sciences* 278:377-409.
- Itaya S.K., Fortin S. & Molotchnikoff S. (1995). Evolution of spontaneous activity in the developing rat superior colliculus. *Canadian Journal of Physiology and Pharmacology* 73:1372-1377.
- Itaya S.K. & Molotchnikoff S. (1990). First appearance of flash-evoked potentials in the neonatal rat superior colliculus. *Neuroscience Research Communication* 7:75-82.
- Jessell T.M. (1988). Adhesion molecules and the hierarchy of neural development. *Neuron* 1:3-13.
- Johnston A.R. & Gooday D.J. (1991). *Xenopus* temporal retinal neurites collapse on contact with glial cells from caudal tectum in vitro. *Development* 113:409-417.

- Jones H.E. & Sillito A.M. (1992). The action of the putative neurotransmitters N-acétylaspartylglutamate and L-homocysteate in cat dorsal lateral geniculate neurons. *Journal of Neurophysiology* 68:663-672.
- Kawamura S., Fukushima N, Hattori S. & Tashiro T. (1978). A ventral lateral geniculate nucleus projection to the dorsal thalamus and the midbrain in the cat. *Experimental Brain Research* 31:95-106.
- Kawamura K. & Konno T. (1979). Various types of corticotectal neurons of cats as demonstrated by means of retrograde axonal transport of horseradish peroxidase. *Experimental Brain Research* 35:161-75.
- Kepfhammer J.P., Grunewald B.E. & Raper J.A. (1986). The selective inhibition of growth cone extension by specific neurites in culture. *Journal of Neuroscience* 6:2527-2534.
- Kepfhammer J.P. & Raper J.A. (1987). Interactions between growth cone and neurites growing from different neural tissues in culture. *Journal of Neuroscience* 7:1595-1600.
- Keynes R.J. & Cook G.M.W. (1992). Repellent cues in axon guidance. *Current Opinion in Neurobiology* 2:55-59.
- Kuffler S.W. (1953). Discharge patterns and functional organization of mammalian retina. *Journal of Neurophysiology* 16:37-68.
- Labriola A. & Laemle L. (1977). Cellular morphology in the visual layer of the developing rat superior colliculus. *Experimental Neurology* 55:247-268.
- Langer T. & Lund R.D. (1974). The upper layers of the superior colliculus of the rat; a Golgi study. *Journal of Comparative Neurology* 185:405-436.
- Legg C.R. (1975). Effects of subcortical lesions on the pupillary light reflex in the rat. *Neuropsychology* 13:373-376.
- Legg C.R. (1979). Visual discrimination impairments after lesions in zona incerta of lateral terminal nucleus of accessory optic tract. *Brain Research* 177:461-478.
- Legg C.R. & Cowey A. (1977). The role of the ventral lateral geniculate nucleus and posterior thalamus in intensity discrimination in rats. *Brain Research* 123:261-273.
- LeVail M.M., Rapaport D.H. & Rakic P. (1991). Cytogenesis in the monkey retina. *Journal of Comparative Neurology* 309:86-114.
- LeVay S., Wiesel T.N. & Hubel D.H. (1980). The development of ocular dominance columns in normal and visually deprived monkeys. *Journal of Comparative Neurology* 191:1-51.

- Li X., Hallqvist A., Jacobson I., Orwar O. & Sandberg M. (1996). Studies on the identity of the rat optic nerve transmitter. *Brain Research* 706:89-96.
- Linden R. & Perry V.H. (1983). Massive retinotectal projection in rats. *Brain Research* 272:145-149.
- Lumsden A.G.S. & Davies A.M. (1983). Earliest sensory nerve fibres are guided to peripheral targets by attractants other than nerve growth factor. *Nature* 306:786-788.
- Lumsden A.G.S. & Davies A.M. (1986). Chemotropic effect of specific target epithelium in the developing mammalian nervous system. *Nature* 323:538-539.
- Lund R.D. & Bunt A.H. (1976). Prenatal development of central optic pathways in albino rats. *Journal of Comparative Neurology* 165:247-264.
- Lund J.S. & Lund R.D. (1975). The origin of efferent pathways from the primary visual cortex, area 17, of the macaque monkey as shown by retrograde transport of horseradish peroxidase. *Journal of Comparative Neurology* 164:287-303.
- Mackay-Sim A., Sefton A.J. & Martin P.R. (1983). Subcortical projections to lateral geniculate and thalamic reticular nuclei in hooded rat. *Journal of Comparative Neurology* 213:24-35.
- Madison D.V., Malenka R. & Nicoll R.A. (1991). Mechanisms underlying long-term potentiation of synaptic transmission. *Annual Review of Neuroscience* 14:379-397.
- Maffei L. & Galli-Resta L. (1990). Correlation in the discharges of neighboring rat retinal ganglion cells during prenatal life. *Proceedings of the National Academy of Science of the USA* 87:2861-2864.
- Martin P.R., Sefton A.J. & Dreher B. (1983). The retinal location and fate of ganglion cells which project to the ipsilateral superior colliculus in neonatal albino and hooded rats. *Neuroscience Letter* 41:219-226.
- Mason R. & Groos G.A. (1981). Cortico-recipient and tecto-recipient visual zones in the rat's lateral posterior (pulvinar) nucleus: an anatomical study. *Neuroscience Letter* 25:107-112.
- Meister M., Wong R.O.L., Baylor D.A. & Shatz C.J. (1991). Synchronous bursts of action potentials in ganglion cells of the developing mammalian retina. *Science* 252:939-943.
- Meredith M.A., Clemo H.R. & Stein B.E. (1991). Somatotopic component of the multisensory map in the deep laminae of the cat superior colliculus. *Journal of Comparative Neurology* 312:353-70.
- Meredith M.A., Wallace M.T. & Stein B.E. (1992). Visual, auditory and somatosensory convergence in output neurons of the cat superior colliculus: multisensory

- properties of the tecto-reticulo-spinal projection. *Experimental Brain Research* 88:181-186.
- Midgley G.C., Wilkie D.M. & Tees R.C. (1988). Effects of superior colliculus lesions on rats' orienting and detection of neglected visual cues. *Behavioral Neuroscience* 102:93-100.
- Miguel-Hidalgo J.J., Senba E., Takatsuji K. & Tohyama M. (1991). Fine structure of synapses and retinal innervation of substance-P and adenosine deaminase containing neurons in the superior colliculus of the rat. *Journal of Comparative Neurology* 303:63-74.
- Mikkelsen J.D., Cozzi B. & Moller M. (1991). Efferent projections from the lateral geniculate nucleus to the pineal complex of the Mongolian gerbil (*Meriones unguiculatus*). *Cell and Tissue Research* 264:95-102.
- Mikkelsen J.D. & Moller M. (1990). A direct neural projection from the intergeniculate leaflet of the lateral geniculate nucleus to the deep pineal gland of the rat, demonstrated with *Phaseolus vulgaris*-leucoagglutinin. *Brain Research* 520:342-346.
- Mize R.R. (1983). Patterns of convergence and divergence of retinal and cortical synaptic terminals in the cat superior colliculus. *Experimental Brain Research* 51:88-96.
- Molotchnikoff S. & Itaya S. (1993). Functional development of the neonatal rat retinotectal pathway. *Developmental Brain Research* 72:300-304.
- Mooney R.D., Huang X. and Rhoades R.W. (1992). Functional influence of interlaminar connections in the hamster's superior colliculus. *The Journal of Neuroscience* 12:2417-2432.
- Moore R.Y. & Card J.P. (1994). Intergeniculate leaflet: an anatomically and functionally distinct subdivision of the lateral geniculate complex. *Journal of Comparative Neurology* 344:403-430.
- Moore R.Y., Gustafson E.L. & Card J.P. (1984). Identified immunoreactivity of afferents to the rat suprachiasmatic nucleus with antisera against avian pancreatic polypeptide, molluscan cardioexcitatory peptide and neuropeptide-Y. *Cell and Tissue Research* 236:41-46.
- Moschovakis A.K. & Karabelas A.B. (1985). Observations on the somatodendritic morphology and axonal trajectory of intracellularly HRP-labeled efferent neurons located in the deeper layers of the superior colliculus of the cat. *Journal of Comparative Neurology* 239:276-308.
- Ni S.Y.K. & Dreher B. (1981). Morphology of the rat retinal ganglion cells projecting to the thalamus and midbrain. *Proceedings of the Australian Physiology and Pharmacology Society* 12:97P.

- O'Leary D.D.M., Fawcett J.W. & Cowan W.M. (1986). Topographic targeting errors in the retinocollicular projection and their elimination by selective ganglion cell death. *Journal of Neuroscience* 6:3692-3705.
- Pasquier D.A. & Villar M.J. (1982). Subcortical projections to the lateral geniculate body in the rat. *Experimental Brain Research* 48:409-419.
- Peichl L. (1989). Alpha and Delta ganglion cells in the rat retina. *Journal of Comparative Neurology* 286:120-139.
- Perry V.H. (1979). The ganglion layer of the retina of the rat: a Golgi study. *Proceedings of the Royal Society of London B* 204:363-375.
- Perry V.H., Henderson Z. & Linden R. (1983). Postnatal changes in retinal ganglion cell and optic axon populations in the pigmented rat. *Journal of Comparative Neurology* 219:356-368.
- Potts R.A., Dreher B. & Bennett M.R. (1982). The loss of ganglion cells in the developing retina of the rat. *Developmental Brain Research* 3:481-486.
- Ramón y Cajal S. (réédition, 1995). *Histology of the nervous system of man and vertebrate*. Vol. II, Oxford University Press, Oxford.
- Ramón y Cajal S. (1892). La rétine des vertébrés. *Cellule* 9:119-258.
- Reber A., Sarrau J.M., Carnet J., Magnin M. & Stelz T. (1991). Horizontal optokinetic nystagmus in unilaterally enucleated pigmented rats-Role of the pretectal commissural fibers. *Journal of Comparative Neurology* 313:604-612.
- Redgrave P. & Dean P. (1981). Gnawing and changes in reactivity produced by microinjections of picrotoxin into the superior colliculus of rats. *Psychopharmacology* 75:198-203.
- Redgrave P., Odekunle A. & Dean P. (1986). Tectal cells of origin of predorsal bundle in rat: location and segregation from ipsilateral descending pathway. *Experimental Brain Research* 63:279-293.
- Reichardt L.F. & Tomaselli K.J. (1991). Extracellular matrix molecules and their receptors: function in neural development. *Annual Review in Neuroscience* 14:531-570.
- Reichenbach A., Kasper M., Schnitzer J., Osborne N.N. & Pritz-Hohmeier (1994). A set of early born neurons is distinctly labelled by several antibodies in the adult rabbit retina. *Journal of Brain Research* 35:391-395.
- Reichenbach A. & Robinson S.R. (1995). Phylogenetic constraints on retinal organization and development. *Progress in Retinal and Eye Research* 15:139-171.

- Rhoades R.W. & DellaCroce D.R. (1981). Cells of origin of the tectospinal tract in the golden hamster: an anatomical and electrophysiological investigation. *Experimental Neurology* 67:163-180.
- Rusak B., Meijer J.H. & Harrington M.E. (1989). Hamster circadian rhythms are phase-shifted by electrical stimulation of the geniculo-hypothalamic tract. *Brain Research* 493:283-291.
- Sato M., Lopez-Mascaraque L., Heffner CD. & O'Leary D.D. (1994). Action of a diffusible target-derived chemoattractant on cortical axon branch induction and directed growth. *Neuron* 13:791-803.
- Schall J.D., Perry V.H. & Leventhal A.G. (1987). Ganglion cell dendritic structure and retinal topography in the rat. *Journal of Comparative Neurology* 257:160-165.
- Schmidt J.T. (1990). Long-term potentiation and activity-dependant retinotopic sharpening in the regenerating retinotectal projections of goldfish: common sensitive period and sensitivity to NMDA blockers. *Journal of Neuroscience* 10:233-246.
- Schneider G.E. (1969). Two visual systems. *Science* 163:895-902.
- Schwassmann H.O. & Kruger L. (1965). Organization of the visual projection upon the optic tectum of some fresh water fish. *Journal of Comparative Neurology* 124:112-126.
- Sefton J. & Dreher B. (1995). Visual system. In: *The rat nervous system*. Edited by George Paxinos. Academic Press Inc., San Diego, pp. 833-898.
- Sefton A.J., Makay-Sim A., Baur L.A. & Cottee L.J. (1981). Cortical projections to visual centers in the rat: an HRP study. *Brain Research* 215:1-13.
- Sefton A.J. & Swinburn M. (1964). Electrical activity of lateral geniculate nucleus and optic tract of the rat. *Vision Research* 4:315-328.
- Segal R.L. & Beckstead R.M. (1984). The lateral suprasylvian corticotectal projection in cats *Journal of Comparative Neurology* 225:259-275.
- Shatz C.J. (1990). Impulse activity and the patterning of connections during CNS development. *Neuron* 5:745-756.
- Shatz C.J. & Stryker M.P. (1978). Ocular dominance in layer IV of the cat's visual cortex and the effects of monocular deprivation. *Journal of physiology* 281:267-283.
- Shatz C.J. & Stryker M.P. (1988). Prenatal tetrodotoxine infusion blocks segregation of retinogeniculate afferents. *Science* 242:87-89.
- Shepherd G.M. (1994). *Neurobiology*, 3rd edition. Oxford University Press, Oxford.

- Sherman S.M. & Koch C. (1986). The control of retinogeniculate transmission in the mammalian geniculate lateral nucleus. *Experimental Brain Research* 63:1-20.
- Siminoff R., Schwassmann H.O. & Kruger L. (1966). An electrophysiological study of the visual projection to the superior colliculus of the rat. *Journal of Comparative Neurology*. 127:435-444.
- Simon D.K. & O'Leary D.D. (1992). Responses of retinal axons in vivo and in vitro to position-encoding molecules in the embryonic superior colliculus. *Neuron* 9:977-989.
- Sperry R.W. (1963). Chemoaffinity in the orderly growth of nerve fiber patterns and connections. *Proceedings of the National Academy of Science USA* 50:703-710.
- Sprague J.M. (1991). The role of the superior colliculus in facilitating visual attention and form perception. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 88:1286-1290.
- Sprague J.M. & Meikle T.H. Jr. (1965), The role of superior colliculus in visually guide behavior. *Experimental Neurology* 11:115-146.
- Sretavan D.W., Shatz C.J. & Stryker M.P. (1988). Modification of retinal ganglion cell axon morphology by prenatal infusion of tetrodotoxine. *Nature* 336:468-471.
- Stahl B., von Boxberg Y., Müller B., Walter J., Schwarz U. & Bonhoeffer F. (1990). Directional cues for retinal axons. *Cold Spring Harbor Symposium of Quantitative Biology* 55:351-357.
- Stein B.E. (1981). Organization of the rodent superior colliculus: some comparisons with other mammals. *Behavioural Brain Research* 3:175-188.
- Stein B.E. (1984). Multimodal representation in the superior colliculus and optic tectum. In: *Comparative neurology of the optic tectum*. Ed.: Vanegas H., Plenum Press, New York.
- Stein B.E. & Dixon J.P. (1979). Properties of superior colliculus neurons in the golden hamster. *Journal of Comparative Neurology* 183:269-284.
- Stein B.E. & Meredith M.A. (1990). Multisensory integration. Neural and behavioral solutions for dealing with stimuli from different sensory modalities. *Annals of the New York Academy of Sciences* 608:51-65.
- Stein B.E., Meredith M.A. & Wallace M.T. (1993). The visually responsive neuron and beyond: multisensory integration in cat and monkey. In: *Progress in Brain Research Vol. 95: The visually responsive neuron:from basic neurophysiology to behavior*. Ed.: T.P. Hicks, S. Molotchnikoff, and T. Ono, Elsevier Publishers.
- Steriade M. & Llinas R.R. (1988). The functional states of the thalamus and the associated neuronal interplay. *Physiological Review* 68:649-742.

- Stevenson J.A. & Lund R.D. (1982a). Alterations of the crossed parabigeminothalamic projection induced by neonatal eye removal in rats. *Journal of Comparative Neurology*. 207:191-202.
- Stevenson J.A. & Lund R.D. (1982b). A crossed parabigemino-lateral geniculate projection in rats blinded at birth. *Experimental Brain Research*. 45:95-100.
- Stone J. (1983). *Parallel processing in the visual system: the classification of retinal ganglion cells and its impact on the neurobiology of vision*. C. Blakemore, Éditeurs. Plenum, New York.
- Stone J. & Fukuda Y. (1974). Properties of cat retinal ganglion cells: a comparison of W-cells with X- and Y-cells. *Journal of Neurophysiology* 37:722-748.
- Swanson L.W., Cowan W.M. & Jones E.G. (1974). An autoradiographic study of the efferent connections of the ventral lateral geniculate nucleus in the albino rat and the cat. *Journal of Comparative Neurology* 156:143-164.
- Szél A. & Röhlich P. (1992). Two cone types of rat retina detected by anti-visual pigment antibodies. *Experimental Eyes Research* 55:47-52.
- Taylor A.M., Jeffery G. & Lieberman A.R. (1986). Subcortical afferent and efferent connections of the superior colliculus in the rat and comparisons between albino and pigmented strains. *Experimental Brain Research* 62:131-142.
- Tessier-Lavigne M., Placzek M., Lumsden A.G.S., Dodd J. & Jessel T.M. (1988). Chemotropic guidance of developing axons in the mammalian central nervous system. *Nature* 336:775-778.
- Thong I.G. & Dreher B. (1986). The development of the corticotectal pathway in the albino rat. *Developmental Brain Research* 25:227-238.
- Thong I.G. & Dreher B. (1987). The development of the corticotectal pathway in the albino rat: transient projections from the visual and motor cortices. *Neuroscience Letter* 80:275-282.
- Toga A.W. & Collins R.C. (1981). Metabolic response of optic centers to visual stimuli in the albino rat: anatomical and physiological considerations. *Journal of Comparative Neurology* 199:443-464.
- Tosney K.W. (1987). Proximal tissues and patterned neurite outgrowth at the lumbosacral level of the chick embryo: deletion of the dermamyotome. *Developmental Biology* 122:540-558.
- Trejo L.J. & Cicerone C.M. (1984). Cells in the pretectal olivary nucleus are in the pathway for direct light reflex of the pupil in the rat. *Brain Research* 300:49-62.
- Tsai G., Forloni G., Robinson M.B., Stauch B.L. & Coyle J.T. (1988). Calcium-dependent evoked release of $N[{}^3H]$ acetylaspartylglutamate from the optic pathway. *Journal of Neurochemistry* 51:1956-1959.

- Tsai G., Stauch B.L., Varnov J.J., Deshpande J.K. & Coyle J.T. (1990). Selective release of N-acetylaspartylglutamate from the rat optic nerve terminals *in vivo*. *Brain Research* 518:313-316.
- Udin S.B. & Fawcett J.W. (1990). Formation of topographic maps. *Annual Review of Neuroscience* 11:289-297.
- Vielmetter J., Walter J. & Stuermer C.A. (1991). Regenerating retinal axons of goldfish respond to a repellent guiding component on caudal tectal membranes of adult fish and embryonic chick. *Journal of Comparative Neurology* 311:321-329.
- Vincent S.R., Hattori T. & McGeer E.G. (1978). The nigrotectal projections: a biochemical and ultrastructural characterization. *Brain Research* 151:159-164.
- Walter J., Allsopp T. & Bonhoeffer F. (1990). A common denominator of growth cone guidance and collapse? *Trends in Neuroscience* 13:447-456.
- Walter J., Henke-Fahle S. & Bonhoeffer F. (1987). Avoidance of posterior tectal membranes by temporal retinal axons. *Development* 101:909-913.
- Warton S.S. & Jones D.G. (1985). Postnatal development of the superficial layers in the rat superior colliculus: a study with Golgi-Cox and Kluver-Barrera techniques. *Experimental Brain Research* 58:490-502.
- Warton S.S. & McCart R. (1989). Synaptogenesis in the stratum griseum superficiale of the rat superior colliculus. *Synapse* 3:136-148.
- Weidman, T.A. & Kuwabara, T. (1968). Postnatal development of the rat retina. *Archive of Ophthalmology* 79:470-484.
- Weidman, T.A. & Kuwabara, T. (1969). Development of the rat retina. *Investigative Ophthalmology* 8:60-69.
- Wong R.O.L, Meister M. & Shatz C.J. (1993). Transient period of correlated bursting activity during development of the mammalian retina. *Neuron* 11:923-938.
- Wurtz R.H., Goldberg M.E. & Robinson D.L. (1982). Brain mechanisms of visual attention. *Scientific American* 246:124-135.
- Yamagata M., Herman J.P. & Sanes J.R. (1995). Lamina-specific expression of adhesion molecules in developing chick optic tectum. *Journal of Neuroscience* 15:4556-4571.
- Yamagata M. & Sanes J.R. (1995). Lamina-specific cues guide outgrowth and arborization of retinal axons in the optic tectum. *Development* 121:189-200.
- Yuasa J., Hirano S., Yamagata M. & Noda M. (1996). Visual projection map specified by topographic expression of transcription factors in the retina. *Nature* 382:632-635.

Zhang D.X. & Rusak B. (1989). Photic sensitivity of geniculate neurons that project to the suprachiasmatic nuclei or the contralateral geniculate. *Brain Research* 504:161-164.

Zimmerman R.P., Polley E.H. & Fortney R.L. (1988). Cell birthdays and rate of differentiation of ganglion and horizontal cells of the developing cat's retina. *Journal of Comparative Neurology* 274:77-90.

*Articles
Scientifiques*

Article #1

Evolution of spontaneous activity in the developing rat superior colliculus

Canadian Journal of Physiology and Pharmacology, 73 (1995): 1372-1377.

Stephen K. Itaya¹, Stéphane Fortin² and Stéphane Molotchnikoff^{2*}

1. Department of Biomedical Sciences, University of South Alabama, Mobile, AL 36688, USA
2. Département de Sciences Biologiques, Université de Montréal, Montréal, Québec, Canada

* Author for correspondence at: Université de Montréal, Département de Sciences Biologiques, C.P. 6128, Succursale A, Montréal, Canada, H3C 3J7. Tel.: (514) 343-6616, Fax: (514) 343-2293.

Abstract

During the first 10 days after birth in the rat there is a succession of major developmental stages in the retino-tectal pathway. During most of this time, the only recordable event in the superior colliculus is spontaneous activity. We studied and characterized this spontaneous activity, hypothesizing that it could play an important role in pathway development. The spontaneous discharges are detectable on postnatal day 5 (P5). After P5, the number of spontaneous active cells per penetration increase up to P10, after which they decrease to adult-like levels by P14-P15. Between P5 and P10, the spontaneous discharges exhibit several patterns of activity, from constant firing to intermittent bursts with periods of quiescence, without any bearing to age. We isolated the retina and superior colliculus by injecting xylocaine onto the optic nerve and found no change in collicular activity. While this suggests that the spontaneous activity in the colliculus is independent of the retina at the ages studied, the opposite experiment, i.e., electrically stimulating the optic nerve, resulted in increased firing by collicular neurons, perhaps via nonclassical synaptic transmission. Finally, we compared interval histograms for spontaneously active cells between P5 and P15. The histograms suggest that at certain ages, spontaneous firing is more regular; moreover, these ages precede major functional advances, e.g., onset of numerous spontaneously firing cells at P6, the first response to optic nerve stimulation at P10, and the first light evoked response at P12/13. Our results support the hypothesis that spontaneous activity in the neonatal superior colliculus may have a role in the development of the retino-tectal pathway, and the data also indicate that classical synaptic transmission may not be involved.

Keywords

superior colliculus, spontaneous activity, development, rat.

Introduction

Several basic processes of developmental neurobiology have been documented in the neonatal rat retinotectal pathway. Axons in the optic nerve reach the superior colliculus on embryonic day 16 (Lund & Bunt, 1976). During the first two weeks after birth, naturally occurring neuronal death results in the elimination of approximately 50% of retinal ganglion cells (Dreher et al., 1983; Perry et al., 1983; Potts et al., 1982). At the same time, retinotectal connections become retinotopically organized through cell death and axonal retraction (Land & Lund, 1979). Morphologically, synaptic connections are first seen at P0 (postnatal day 0 = day of birth) and continually increase in number to reach adult patterns by the third month of life (Lund & Lund, 1972; Warton & McCart, 1989). While it is often assumed that activity dependent mechanisms play important roles in pathway development, there is little direct evidence to support this hypothesis. Spontaneous activity has been recorded in the embryonic and neonatal retina (Galli & Maffei, 1988; Meister et al., 1991), but few studies have looked at the developing superior colliculus. In previous work, we looked for the beginning of recordable activity and found that in the neonatal rat pup, spontaneous activity in the superficial superior colliculus begins on P5/6. This is the earliest electrical activity that we recorded in the superior colliculus (Molotchnikoff & Itaya, 1993). When we stimulated the optic nerve at its origin, the earliest age that a response could be recorded in the superior colliculus was P10 (Molotchnikoff & Itaya, 1993). When the eyelids were surgically opened and the retina was stimulated by a strobe flash, the earliest recordable response in the superior colliculus was on P12/13 (Itaya & Molotchnikoff, 1990). An ERG is first detectable at P12 (Weidman & Kuwabara, 1968). Presumably, the retinotectal pathway is functional at eye-opening, on P14/15. Thus, our results suggest that, if there is any activity dependent developmental process, particularly concerning naturally occurring neuronal death, synaptogenesis, and axonal retraction, then spontaneous activity in the superior colliculus is the most likely candidate.

One of the main goals of our earlier study was to determine the onset of recordable activity in the superior colliculus. It is now important to further characterize spontaneous activity in the superior colliculus, namely, to establish the source of the spontaneous discharges, and to follow their development and to establish any correlation with known developmental events.

In this study, we physiologically isolated the retina from the superior colliculus by injecting xylocaine onto the optic nerve. Spontaneous activity in the superior colliculus was not altered, suggesting that superior colliculus neurons themselves are maybe the source of the spontaneous discharges, although other inputs to colliculus cannot be ruled out. Furthermore, interval histograms indicate a general trend; regularity of the spontaneous firing rate increases 24-36 hrs before each major functional development.

Materials and Methods

Experiments were divided into three studies. In the first, the spontaneous activity in the superior colliculus was recorded and characterized. In the two others studies, the collicular spontaneous activity was recorded while electrically stimulating the optic nerve or silencing it with lidocaine hydrochloride 2% (xylocaine). Animal preparation was described in a previous report (Molotchnikoff & Itaya 1993). Briefly, the ages of Long Evans rat pups were counted from the day of birth as postnatal day 0 (P0). Rat pups were anesthetized with urethane (2.5g/kg) injected intraperitoneally. The cartilaginous skull was secured on a custom made head holder in order to eliminate head movements without applying pressure with ear bars. The pup's body temperature was maintained by a heating pad. Throughout each experiment, the animal's heartbeat was continuously recorded to monitor the effects of the anesthetic. All experiments were conducted on pups with heartbeats of at least

300 beats per minute (Fitzgerald, 1985). Eyelids remained closed in all experiments.

In some experiments, the retrobulbar portion of optic nerve was exposed and, under microscopic visualization, stimulating electrodes were positioned in such a way that the nerve was held suspended between their tips. The nerve was kept humid with a piece of cotton soaked in a Ringer's solution. The stimulating electrode was made of three varnished stainless steel wires (100 μm diameter) insulated up to their tips; they were connected to a bridge (Bishop & Clare, 1953) to balance out stimulus artefact. The strength of the current averaged 50 μA , with a maximum of 100 μA . The duration of the pulse was between 20-80 μs (average = 50 μs). In other experiments, xylocaine was applied through a Teflon tube connected to a microliter syringe. This 2% xylocaine was released directly onto the optic nerve.

Glass microelectrodes filled with 2 M NaCl (1-5 $\text{M}\Omega$) were used to record single unit activity and multiunit potentials. During the course of the study, tungsten in glass electrodes and fine glass microelectrodes (10-15 $\text{M}\Omega$) were compared; we settled on broad glass microelectrodes to increase the probability of picking up signals. The electrodes were positioned by visual cues and lowered in a stepwise manner through the superior colliculus. Responses were amplified (Grass 5P11, band pass 0.3-10 kHz) and fed into an oscilloscope and a computer. At the end of the experiment, the animals were overdosed with anesthetic and processed for histological examination, or dissected in place to verify electrode placement. All studies were conducted in accordance with the guidelines of the Canadian Council on Animal Care (1984).

Spike train analysis

Since cells are unresponsive to light and/or electrical stimulation of the optic nerve before P10 (Molotchnikoff & Itaya, 1993), we measured their spontaneous firing. The electrode was slowly lowered in a stepwise manner with

frequent pauses. Once a cell was isolated, we recorded its spike train in epochs of 5 to 20 minutes. These spike trains were fed to a computer for off line analysis. Simultaneously, interval histograms were built on-line with 20 msec bin widths. This latter mode of recording was chosen in order to reveal temporal patterns of spike activity. Thus, each interval between two successive spikes was measured and counted for each firing collicular neuron at each age. To be able to compare distributions at different ages, the interval histograms were normalized and averaged for each age group. All intervals greater than 1020 msec were placed in the last bin. Thus, the histograms of figure 4 do not show the number of spikes, but rather the relative number of intervals of a particular length compared to the total number of intervals.

Results

This analysis is based on 77 cells from P5 to P15 from which spontaneous activity could be recorded. Table 1 provides a survey of the number of cells recorded at each age. These age limits were chosen because numerous penetrations and different types of electrode showed a silent colliculus before P5 and an adult like pattern of sparse spontaneous activity at P14 and older ages. From P5 to P10, the spontaneous activity of collicular cells exhibited a variety of temporal patterns with no apparent developmental trend. Figure 1 shows examples of patterns, however, any single pattern could be seen on any day. For instance, on P6 the cell illustrated fired more or less regularly, while the example from P10 shows bursts of activity interrupted by several minutes of quiescence. A new pattern appeared to emerge with older animals; for instance, at P12 some neurons showed robust firing in an oscillatory modulation.

Table1. Number of recorded cells per age group

| Ages | P5 | P6 | P7 | P8 | P9 | P10 | P11 | P12 | P13 | P14 & P15 | Total |
|-----------------|----|----|----|----|----|-----|-----|-----|-----|-----------|-------|
| Number of cells | 2 | 14 | 8 | 5 | 8 | 8 | 8 | 10 | 5 | 9 | 77 |

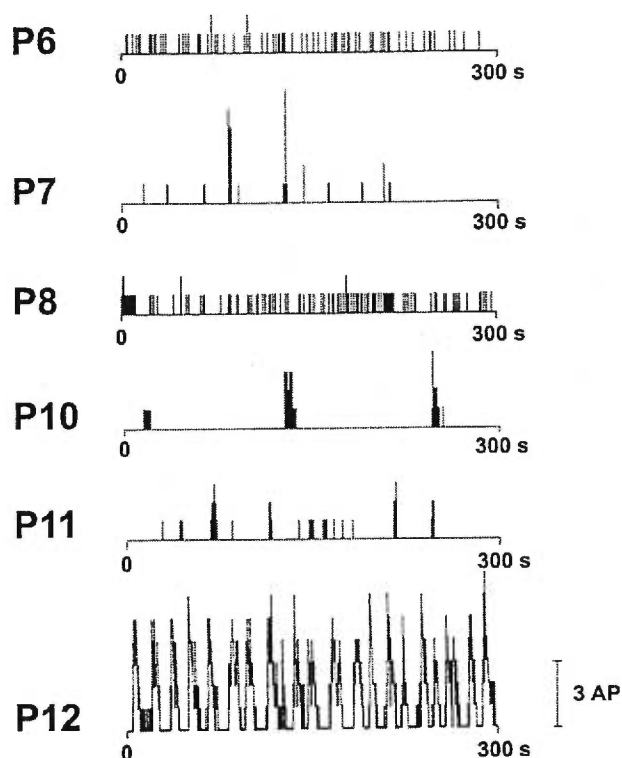


Figure 1. Examples of spontaneous activity patterns in the superior colliculus at different ages. Patterns are not necessarily typical for one age. For instance, bursts shown at P10 could also be found at P7, P11 and P12. A.P. = action potential. P: stands for post-natal day.

This collicular spontaneous activity exhibited by neonatal rats appears to occur independently of retinal ganglion cell activity. Figure 2 demonstrates that, following the application of xylocaine on the retrobulbar segment of the optic nerve, the spontaneous activity is undisturbed. We observed spontaneous firing

for up to one hour after the application of xylocaine, and there was never any indication of increased or decreased excitation or even a change of temporal pattern of activity. These results were observed at all ages studied (P6 to P12).

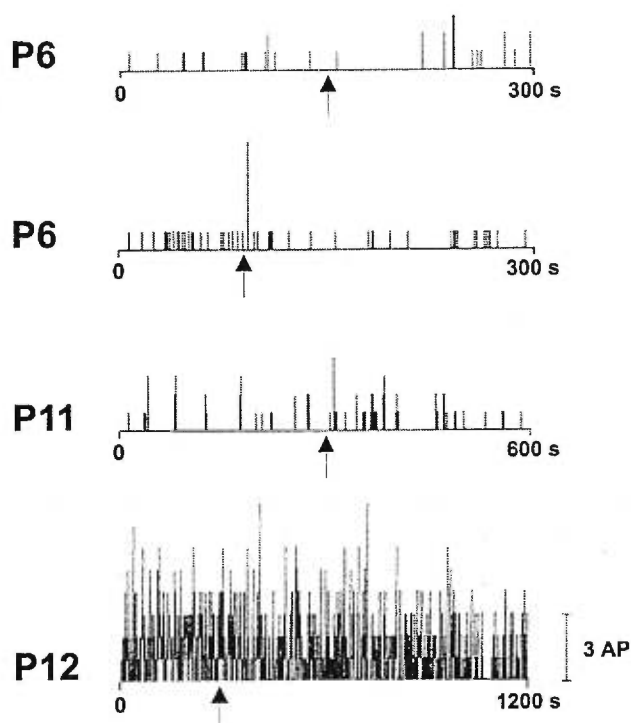


Figure 2. Recordings of the collicular spontaneous activity before and after an injection (0,01ml) of lidocaine hydrochloride 2% onto the retrobulbar optic nerve. The spontaneous activity is unaffected by the blockade of the retinal input. Arrows represent the moment of injection. A.P. = action potential. P: stands for post-natal day.

While silencing the optic nerve had no observable effects on spontaneous activity, in another experiment we applied electrical stimulation to the optic nerve. Although there are no short latency post-synaptic responses until P10 (Molotchnikoff & Itaya, 1993), in a few collicular cells at P7-8, there was a noticeable increase in spontaneous discharges within the superficial colliculus with optic nerve stimulation (fig. 3A). This increase was not seen in another neuron recorded in the same penetration (fig. 3B), suggesting that the effect is not generalized to all cells at this developmental age. It is possible that

stimulating the optic axons makes them fire simultaneously which results in a release of an amount of neurotransmitter insufficient to evoke short latency post-synaptic potentials but sufficient to displace membrane potential and facilitate spontaneous firing.

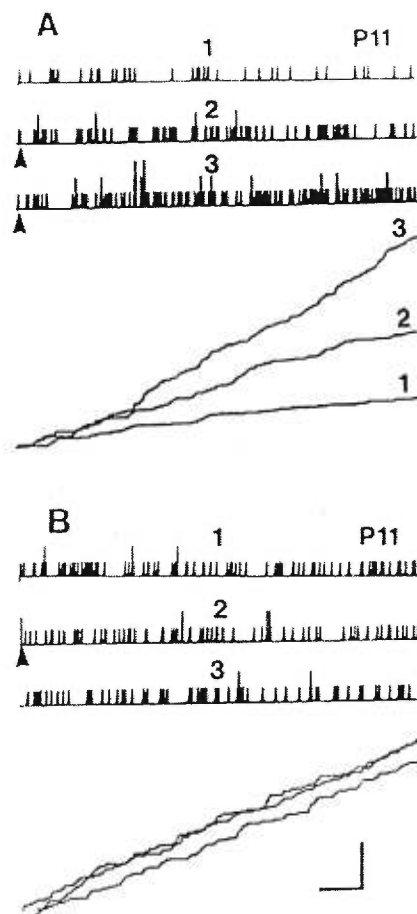


Figure 3. PSTHs. Effects of optic nerve stimulation on spontaneous activity in the superior colliculus at P11. A. While no short latency action potentials were seen in response to optic nerve stimulation (indicated by arrow), spontaneous discharges in the superior colliculus (depth = 3 mm) changed. Each histogram summates 60 consecutive sweeps. Integral curves of the traces 1, 2, and 3 show that there were 2.5 to 5 times more action potentials following optic nerve stimulation than occurred without stimulation. This suggests that optic stimulation can facilitate spontaneous activity. B. In the same penetration as A, but at a lower depth (4.3 mm, probably below the colliculus), there was no difference in numbers of action potentials occurring spontaneously (trace 1 and 3), or after optic nerve stimulation (arrow, trace 2). The integral curves of the three traces are very similar also. This suggests that the effects of optic nerve stimulation on spontaneous activity may be specific to collicular neurons. Vert. bar = 25 spikes, horiz. bar = 100 msec.

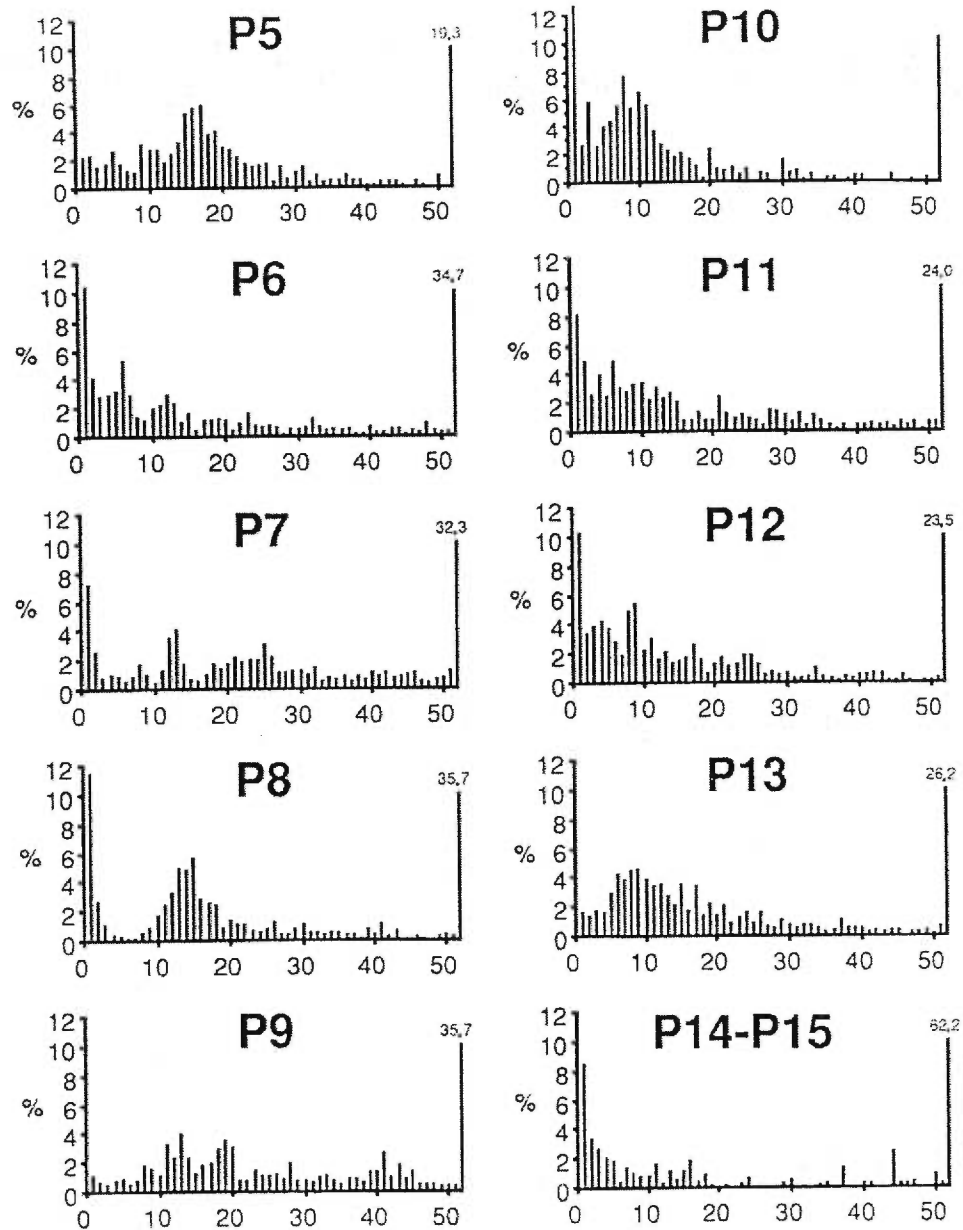


Figure 4. Histograms of relative number of intervals per bin for each age group. X axis: bin number; Y axis: relative (%) number of intervals. Data are normalized in order to compare each age group. Bin width: 20 msec. The last bin contains all the intervals superior to 1020 msec. Note: X axis indicates interval time.

In order to further characterize the temporal pattern of spontaneous firing during development, interval histograms were constructed for each age between

P5 and P15 (77 cells). The comparison (fig. 4) between different ages suggests that at days P5, P8, P10 and P13 the cells fire with a more regular rhythm (3 to 5 action potentials per second) than on the other days. This regularity is shown by a unimodal distribution of the intervals. When non-normalized distributions are compared, the differences between the intervals at ages with regular firing reach statistical significance from P6, P7, P9, P11, P12, P14 and P15 ($\chi^2 > 100$; $p < 0.001$). This analysis focuses on intervals greater than 20 msec and less than 1000 msec because there is a higher frequency of intervals within this range (>50%).

Discussion

Influences of the optic nerve

Our results indicate that blocking the sodium channels in optic nerve axons by applying xylocaine fails to modify the spontaneous firing rate of the collicular neurons in neonatal rats. This does not mean that the spontaneous activity in retinal ganglion cells is without influence on collicular development. Rather, two modes of communication should be hypothesized. The first mode involves a trophic effect on superior colliculus cells. It has been shown that blocking retinal action potentials by applying TTX increases the death rate of collicular cells (Galli-Resta et al., 1993). But also, our results demonstrate that electrical stimulation of the optic nerve may raise the firing rate of collicular cells. This increased firing rate, which occurs within a few seconds after stimulus application, might be due to a release from axonal terminals of a neuroeffector which is capable of modulating membrane potential, and increasing discharge rate. Such an effect was predicted by Galli-Resta (1993) to explain how input firing could have a trophic effect on collicular neurons, at a time prior to the formation of mature synapses. It must be emphasized that this modulation differs from classical post-synaptic response because its latency is long and the effect lasts several seconds. Indeed, previous investigations have shown that

injection of WGA-HRP into the eye results in uptake by retinal ganglion cells, anterograde transport in optic axons, release of material from the axon terminal and uptake by collicular cells as early as P1 (Itaya, 1988). This indicates that at P1, the cellular mechanism for a transfer of substance is possible in the retino-tectal pathway. Electron microscopy of the superior colliculus at this age shows very few structurally mature synapses (Lund & Lund, 1972). This further suggests that there is retino-collicular communication of nonsynaptic nature. We believe that the above linkage does not generate post-synaptic potentials before P10. Previously, we have shown (Molotchnikoff & Itaya, 1993) that short latency responses of a post-synaptic nature appears rather late, around P10. This would represent a second mode of communication which involves the establishment, the distribution and the maturation of collicular synapses.

Temporal patterns

There appears to be a significant shift in the pattern of interval distributions. Our data indicate shifts between unimodal and polymodal histograms at different ages. A unimodal distribution reflects the fact that cells are firing regularly at 3 to 5 Hz. To our knowledge, this pattern of spontaneous activity is reported for the first time in the developing superior colliculus. Previous works carried out on embryonic rats (Maffei & Galli-Resta, 1990) and postnatal cats (Wong et al., 1993) suggest that spontaneous activity of retinal ganglion cells occurs in waves. It is thus not surprising that we observed a cyclical temporal pattern of spontaneous activity.

It is possible that cyclicity is involved in developmental processes which are occurring in the superior colliculus between P5 and P15. Since no evoked responses could be recorded prior to P10, our shifts of patterns in spontaneous activity of collicular neurons appear to be the only manifestation of electrophysiological activity during this very important developmental period. For example, before P10 retinal ganglion cell death has occurred which contributes to the topographic organization of the retino-tectal pathway (O'Leary et al.,

1986). Much of the retino-tectal synaptogenesis occurs during this period; and axonal pruning and withdrawal also take place. Although the correlation may be premature, it is tempting to note that several unimodal patterns coincide within 24 hours of major functional advances. For instance, the unimodal distribution at P5 precedes by approximately 24 hours the observation of numerous spontaneously firing cells. Likewise the pattern at P10 coincides with the beginning of the collicular responses to optic nerve electrical stimulation. Finally, the pattern of P13 falls within 24 hours of the first light evoked response and of eye opening.

References

- Bishop G.H. & Clare, M.H. (1953). Responses of cortex to direct electrical stimuli applied at different depths. *Journal of Neurophysiology* 16:1-19.
- Canadian Council on Animal Care (1984). Guide to the care and use of experimental animals. Vol. 2. Canadian Council on Animal Care, Ottawa, Ont.
- Dreher B., Potts R.A. & Bennett M.R. (1983). Evidence that the early postnatal reduction in the number of rat retinal ganglion cells is due to a wave of ganglion cell death. *Neuroscience Letter* 36:255-260.
- Fitzgerald M. (1985). The post-natal development of cutaneous afferent fibre input and receptive field organisation in the rat dorsal horn. *Journal of Physiology (London)* 364:1-18.
- Galli-Resta L., Ensini M., Fusco E., Gravina A. & Margheritti B. (1993). Afferent spontaneous electrical activity promotes the survival of target cells in the developing retinotectal system of the rat. *Journal of Neuroscience* 13:243-250.
- Galli L. & Maffei L. (1988). Spontaneous impulse activity of rat retinal ganglion cells in prenatal life. *Science* 242:90-91.
- Itaya S.K. (1988). Transneuronal transport of WGA-HRP in immature rat visual pathways. *Developmental Brain Research* 38:83-88.

- Itaya S.K. & Molotchnikoff S. (1990). First appearance of flash-evoked potentials in the neonatal rat superior colliculus. *Neuroscience Research Communication* 7:75-82.
- Land P.W. & Lund R.D. (1979). Development of the rat's uncrossed retinotectal pathway and its relation to plasticity studies. *Science* 205:698-700.
- Lund R.D. & Bunt A.H. (1976). Prenatal development of central optic pathways in albino rats. *Journal of Comparative Neurology* 165:247-264.
- Lund R.D. & Lund J.S. (1972). Development of synaptic patterns in the superior colliculus of the rat. *Brain Research* 42:1-20.
- Maffei L. & Galli-Resta L. (1990). Correlation in the discharges of neighboring rat retinal ganglion cells during prenatal life. *Proceedings of the National Academy of Science of the U.S.A.* 87:2861-2864.
- Meister M., Wong R.O.L., Baylor D.A. & Shatz C.J. (1991). Synchronous bursts of action potentials in ganglion cells of the developing mammalian retina. *Science* 252:939-943.
- Molotchnikoff S. & Itaya S.K. (1993). Functional development of the neonatal rat retinotectal pathway. *Developmental Brain Research* 72:300-304.
- O'Leary D.D.M., Fawcett J.W. & Cowan W.M. (1986). Topographic targeting errors in the retinocollicular projection and their elimination by selective ganglion cell death. *Journal of Neuroscience* 6:3692-3705.
- Perry V.H., Henderson Z. & Linden R. (1983). Postnatal changes in retinal ganglion cell and optic axon populations in the pigmented rat. *Journal of Comparative Neurology* 219:356-368.
- Potts R.A., Dreher B. & Bennett M.R. (1982). The loss of ganglion cells in the developing retina of the rat. *Developmental Brain Research* 3:481-486.
- Warton S.S. & McCart R. (1989). Synaptogenesis in the stratum griseum superficiale of the rat superior colliculus. *Synapse* 3:136-148.
- Weidman T.A. & Kuwabara T. (1968). Postnatal development of the rat retina. *Archive of Ophthalmology* 79:470-484.
- Wong R.O.L., Meister M. & Shatz C.J. (1993). Transient period of correlated bursting activity during development of the mammalian retina. *Neuron* 11:923-938.

Article #2

ON and OFF field potentials in the rat superior colliculus during development

Vision Research, 37 (1997): 3079-3087.

Stephane Fortin¹, Stephen K. Itaya², Sylvain Chemtob³,
and Stephane Molotchnikoff^{1*}

1. Département de Sciences Biologiques, Université de Montréal, Montréal, Québec, Canada
2. Department of Biomedical Sciences, University of South Alabama, Mobile, AL 36688, USA
3. Département de Pédiatrie, Centre de recherche de l'hôpital Sainte-Justine, Montréal, Québec, Canada

* To whom all correspondence should be addressed: Université de Montréal, Département de Sciences Biologiques, C.P. 6128, Succursale centre-ville, Montréal, Canada, H3C 3J7. Tel.: (514) 343-6616, Fax: (514) 343-2293. E-Mail: molotchn@ere.umontreal.ca.

Abstract

The present investigation is aimed at characterizing the development of ON and OFF visually evoked responses in the rat superior colliculus from postnatal day 13 (P13) to postnatal day 25. Depth profiles of field potentials reveal that ON and OFF long-latency biphasic field potentials are already present when collicular cells are first responsive to light (P13). There is an inversion in the polarity of these responses as the electrode penetrates the collicular layers, suggesting a synaptic organization similar to the one found in adult animals. At P15, OFF field potentials begin to exhibit oscillatory activity. Local cobalt injections within the superior colliculus abolish these OFF oscillations, suggesting a post-synaptic origin. Fast Fourier transform (FFT) analysis of the OFF field potentials demonstrates that oscillatory activity increases in frequency during development. This increase is thought to reflect the myelination and stabilization of synaptic connections that occur during this period. To our knowledge, this is the first report of OFF oscillatory responses in the superior colliculus.

Keywords

ON and OFF responses, field potentials, development, oscillations, superior colliculus.

Introduction

Several developmental processes contributing to the early formation of the retino-collicular pathway have been documented in the neonatal rat. Collicular neurogenesis takes place between E12 and E18 (Altman & Bayer, 1981). Axons in the optic nerve begin to reach the superior colliculus on E16 (Lund & Bunt, 1976). Natural cell death occurs during the first two postnatal weeks, resulting in the elimination of approximately 50% of retinal ganglion cells (Dreher et al., 1983; O'Leary et al., 1983). During the same period, synaptogenesis in the collicular superficial layers begins (Warton & McCart, 1989). While all of these processes contribute to the structural maturation of the retino-collicular system, there is a concomitant functional development occurring; our earliest studies described the first appearance of spontaneous discharges in the colliculus at P5 with their subsequent increase and decrease (Itaya et al., 1995), the first responses to optic nerve stimulation at P10 (Molotchnikoff & Itaya, 1993), and the earliest responses to light at P13 (Itaya & Molotchnikoff, 1990). These initial responses and level of activity have many characteristics of immaturity: long and variable latencies, simple waveforms, and initial inconsistencies (Molotchnikoff & Itaya, 1993)

In contrast, in the adult animal the electrophysiology of the retino-collicular pathway is more complex. For example, when light is turned ON or OFF, two distinct neural systems are activated. These two channels are segregated in the retina at the bipolar cell level. In the vertebrate retina, all photoreceptors hyperpolarize when stimulated by light. Whereas the ON-bipolar cells depolarize to light increase, the OFF-bipolar cells hyperpolarize in response to this type of stimulation. The ON and OFF systems remain segregated at the ganglion cell level except for a small population of ganglion cells which receive convergent input directly from the ON and OFF bipolar cells. In the primate and in the cat, these ON-OFF ganglion cells project extensively to the superior colliculus (Berson, 1988; Schiller & Malpeli, 1977). Single unit studies have shown that

superior colliculus cells respond either to ON, OFF, or ON/OFF stimulation (Fukuda & Iwama, 1978). In addition, a recent study demonstrates that disruption of the metabotropic glutamate receptor subtype 6 (mGluR6) gene abolishes ON responses while OFF responses remain unaffected (Masu et al., 1995).

Our current study sought to determine the development of adult characteristics of the collicular responses as a logical continuation of our earlier experiments. Furthermore, most of the previous investigations into ON and OFF collicular systems have been conducted on adult animals; only a few developmental analyses are available on the maturation of these two types of responses. It is the aim of the present study to investigate ON and OFF field potentials in the developing rat superior colliculus from postnatal day 12 to 23 (P12-P23), and in adult animals. Changes are expected in this period because the first light evoked responses appear at P13 (Itaya & Molotchnikoff, 1990) and eyelids open around P14.

Materials and Methods

Animal preparation

35 Long Evans rat pups aged from P12 to P25 and 11 adults were used in this study. We refer to the first 24 hr after birth as postnatal day 0 (P0). Rat pups were anesthetized with urethane 25% w/v (0.01 ml/g) injected intraperitoneally. Lidocaine hydrochloride 2% (xylocaine) was applied topically at surgical sites. Craniotomy and durotomy were performed with a small scalpel blade except for animals over P17 for whom a small drill was necessary during the craniotomy. Atropine sulfate 1% (Isopto[®]) and phenylephrine hydrochloride (Mydrin[®]) were applied in the left eye at least half an hour before the first recording. Corneal dessiccation was prevented by application of a methylcellulose solution (2%). The cartilaginous skull was secured in a custom made head holder in order to

eliminate head movement. Body temperature was maintained by a heating pad. Throughout each experiment, the animal's heartbeat was continuously monitored to check on the effects of the anesthetic. All experiments were conducted on pups with a heartbeat over 300 beats per minute (Fitzgerald, 1985).

Recordings and stimulations

Experiments were divided into two studies. In the first study, glass microelectrodes (1-5 M Ω) filled with 0.9% NaCl and 4% Chicago sky blue were used to record local field potentials. In the second study, 10 mM CoCl₂ was added into the microelectrode and injected at selected sites with a pressure pump in order to determine the origin of the recorded responses. In all experiments, ON and OFF evoked field potentials were recorded in the contralateral superior colliculus every 50 or 100 μ m. Responses were amplified and filtered (Grass 5P11, band pass 3-100 Hz for field potential and 0.3-3 kHz for multiunit potentials) and fed into an oscilloscope and a computer. At selected sites in each penetration, iontophoretic injections of Chicago sky blue (30 mA current for 10 sec) were made in order to determine the position of the recording tip in the superior colliculus.

Diffuse light flashes were applied to stimulate collicular cells. The stimulation was provided by a slide projector (bulb HE CBA 500w) whose light beam was collimated through electronic shutters and projected onto a translucent screen facing the eye at a distance of 28 cm. In most cases the total dimension of the light square was 10x10 cm (\cong 20° x 20°). The luminous intensity of the background was 0.6 cd/m² and the brightness of the light square was 4.82 cd/m². Prior to P14, the contralateral eyelids were surgically opened.

At the end of experiments, animals received an overdose of anesthetic and were perfused with two successive solutions of phosphate buffer 0.01 M (monobasic and dibasic sodium phosphate) and fixative (paraformaldehyde 4%,

glutaraldehyde 0.2% and picric acid 0.03% in 0.1M phosphate buffer solution). Brains were preserved in the fixative solution a few days and then cut with a vibratome into 50 or 100 μm serial sections.

Results

Depth profile analysis

The following analysis is based on 70 depth profiles from P13 to P25 pups and on 23 depth profiles from adult animals. These age limits were selected because numerous penetrations with different electrode types made previously showed no response to light in the superior colliculus before P13 (Molotchnikoff & Itaya, 1993).

From P13 to P17, the depth profiles of field potentials exhibited typical patterns. Figure 1 shows a representative example of responses. At P13, a 450 msec flash evokes a long latency biphasic wave; this long latency (> 200 msec) is a sign of immaturity. The wave shape of the ON and OFF responses are smooth with no superimposed fast wavelets. At this early age, a clear inversion of polarity for the ON field potentials is observed as the recording electrode is displaced along the dorso-ventral axis. This inversion indicates that the distribution of retino-collicular synaptic connections is already organized in a defined order which leads to the formation of current sources and sinks. This organization is similar to the one found in the adult animal (Fukuda et al., 1978). At P15 and older, the OFF responses become more complex and exhibit oscillatory potentials. As the animal grows further, these oscillatory potentials can be easily observed (fig. 1, P17). The magnitudes of ON and OFF responses are unequal but this difference is not distinctive for one particular age. Rather, it seems to depend on the position of the electrode tip in the colliculus. However, the presence of oscillatory potentials is characteristic of OFF responses. These oscillations are not ON afterdischarges because they are only seen when light is

turned OFF, no matter the duration of the light ON period. Indeed ON stimulation length has been extended up to 4 seconds in some experiments and oscillations appear only following the OFF step of the flash.

The laminar origin of the oscillatory potentials was determined with double iontophoretic injections of Chicago sky blue in many collicular penetrations. Since it is difficult to distinguish collicular laminae in young animals (Warton & Jones, 1985), these experiments were conducted on adult rats. Figure 2A shows a typical example of an ON and OFF field potential depth profile in an adult animal. Oscillatory potentials are restricted to a zone which is in the ventral stratum griseum superficiale and dorsal to the stratum opticum superficiale (traces 2 and 3). Figure 2B is a dark field photomicrograph showing the recording positions of the traces in A. It is in the stratum griseum superficiale that the evoked field potentials exhibit the highest magnitude (trace 3). The same result was observed in two other adult rats. Likewise, similar ventral bias was also noticed in young animals.

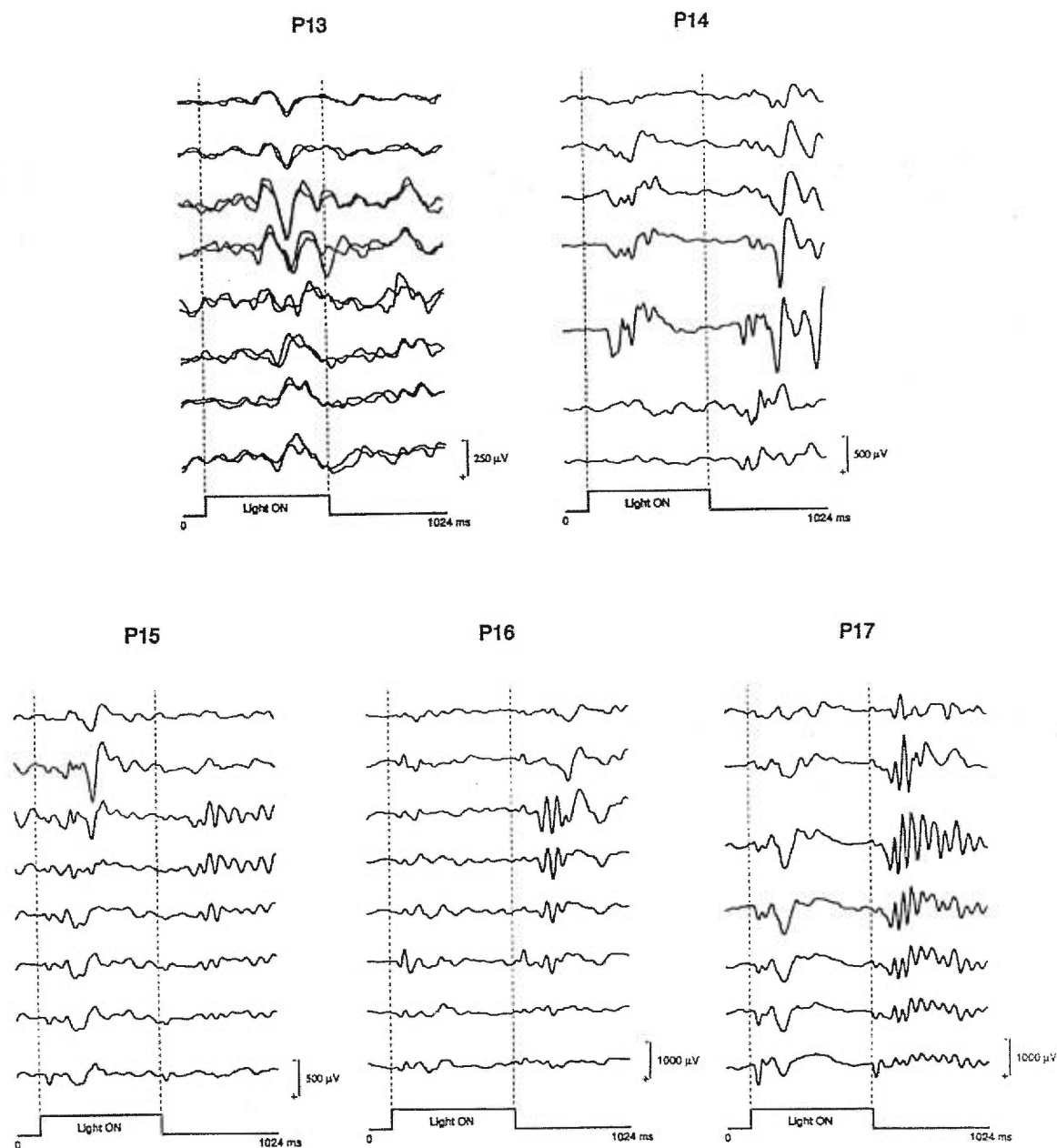


Figure 1. Depth profile of ON and OFF visually evoked field potentials from P13 to P17. Examples of evoked field potentials in the superior colliculus at different ages. At P13, long latency ON and OFF responses occur. At this age, an inversion of polarity in the ON field potentials with depth can be observed, while at P14 there is an inversion of the OFF field potentials. This indicates a dipole with a sink and a source suggestive of a precise synaptic distribution. Note that OFF responses exhibit oscillatory potentials for P15 and older animals. Recordings are 100 μm apart; for each depth, 2 independent recordings were made (shown at P13 only); each trace is a summation of over 60 stimulations; P stands for postnatal. Calibrations: vertical bar: 250 μV for P13, 500 μV for P14-P16, 1000 μV for P17; horizontal: 1024 msec.

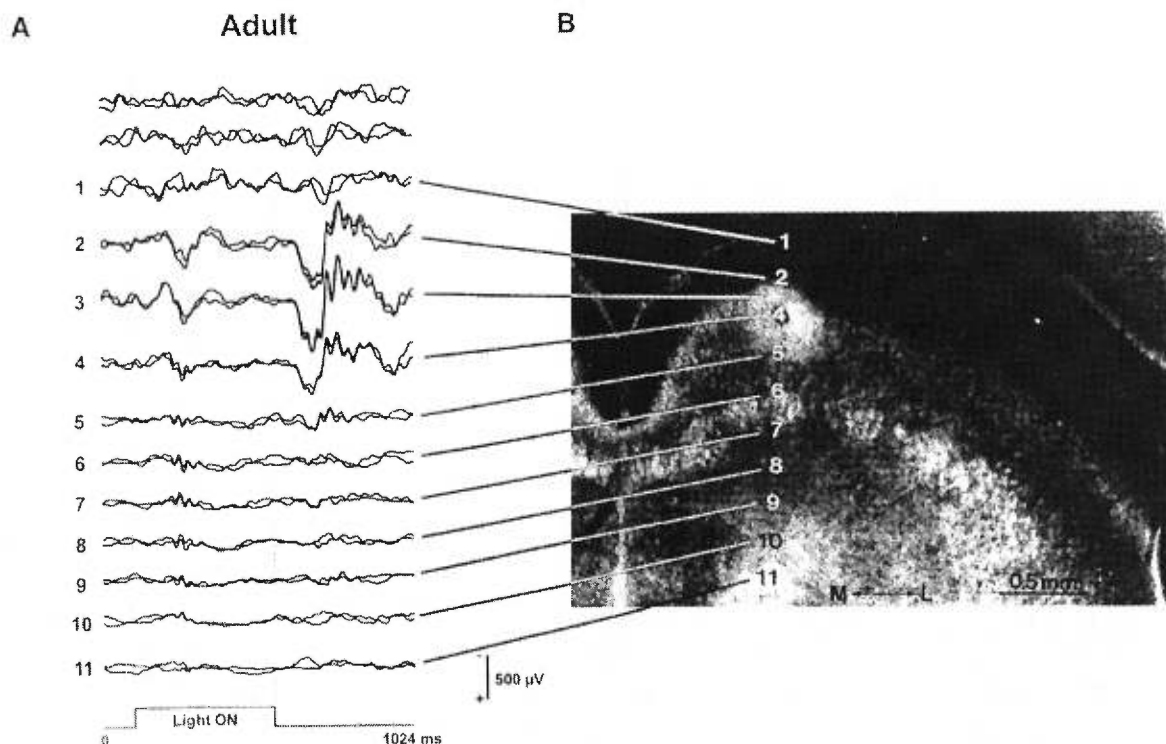


Figure 2. Typical depth profile of ON and OFF visually evoked field potentials in adults. A. Example of evoked field potentials in an adult animal. Numbers at left correspond to the positions in B. B. Dark field photomicrograph showing positions of the electrode tip in the contralateral superior colliculus. Note that maximum amplitude oscillatory responses (traces 2 and 3) appear in the ventral part of stratum griseum superficiale, just above the stratum opticum. In this particular example, two Chicago sky blue microiontophoretic injections are seen (traces 4 and 11). Recordings are 200 μm apart except trace 3 which is 100 μm apart from traces 2 and 4 (site 3 not shown on photograph); for each depth, 2 independent recording were made (summation of over 50 stimulations). Shrinkage \cong 15%. Calibrations in A: vertical bar: 500 μV ; horizontal: 1024 msec. Calibration in B: horizontal bar: 0.5 mm.

Although the oscillatory potentials were recorded in the stratum griseum superficiale of the superior colliculus, it does not necessarily mean that their origin is local. These potentials could be generated in an extra-collicular structure and conveyed to the superior colliculus by afferent axons. To determine the origin of these oscillatory potentials, a synaptic transmission blocker was applied at the site of maximum amplitude oscillatory potentials. The blocker used was cobalt (Co^{2+}). Cobalt ions block calcium channels and therefore prevent synaptic transmission (Hagiwara & Byerly, 1981; Kretz, 1984).

In these experiments, ON and OFF field potentials were recorded as described above (figure 3, trace 1). In addition and with the same microelectrode, multiunit activity was also recorded (figure 3, trace 2). The alignment of field potentials with spike histograms reveals that action potential discharges coincide with the negative edge of the oscillatory potentials (fig. 3). This observation suggests an excitatory oscillatory input or a recurrent feedback loop. Local pressure injection of 5 nl of cobalt chloride (CoCl_2 10 mM) abolishes post-synaptic field potentials (figure 3, trace 3) and multiunit activity (figure 3, trace 4). Hence, the remaining activity is mostly of pre-synaptic origin. Some of this activity may also be attributed to discharges generated remotely from the tip of the pipette and outside the spread range of the cobalt

Fast Fourier transform analysis

Field potentials were investigated with fast Fourier transform (FFT) analysis to reveal the frequency spectrum of ON and OFF evoked components. At all depth levels, ON and OFF response components were computed separately. Examples of the FFT analysis for ON and OFF components at two different depths are shown in figure 4. The elicited field potentials are displayed at right as the electrode explored the superior colliculus in the dorso-ventral axis in a 23 day old animal. Again, the OFF stimulus evoked fast oscillations which appeared to be lacking when the light was turned ON. The FFT analysis indicates that these responses are made up of two major distributions of frequencies. Both ON and OFF responses contain slow components, up to 10Hz. Quite interestingly only the OFF responses exhibit additional fast components which display highest power at 30-40 Hz. Furthermore, as one would expect, these fast components emerge at a particular level within the colliculus.

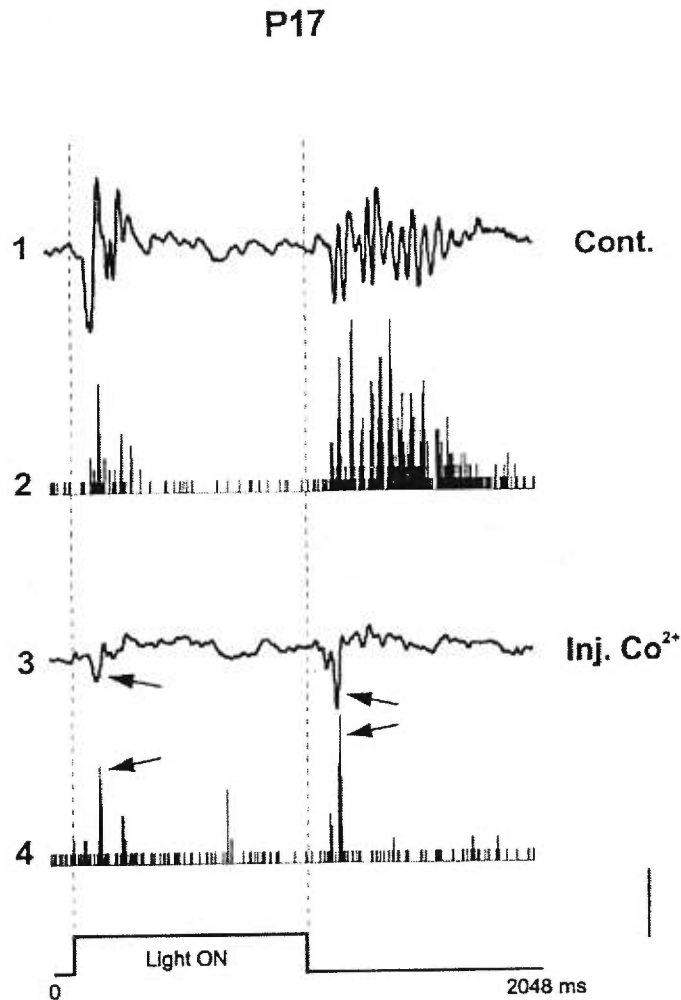


Figure 3. Cobalt injection abolishes post-synaptic responses. Field potentials have been recorded before (trace 1) and after (trace 3) 5 nl injection of 10 mM CoCl_2 in a P17 animal. Simultaneous multiunit activity before (trace 2) and after (trace 4) injection has also been recorded. Cobalt injection causes a transient abolition of post-synaptic responses and fails to modify the pre-synaptic activity (traces 3 and 4, arrows). Cont. and inj. stand for control and injection. Calibrations: vertical scale: 500 μV (traces 1, and 3) and 7 action potentials (traces 2, and 4).

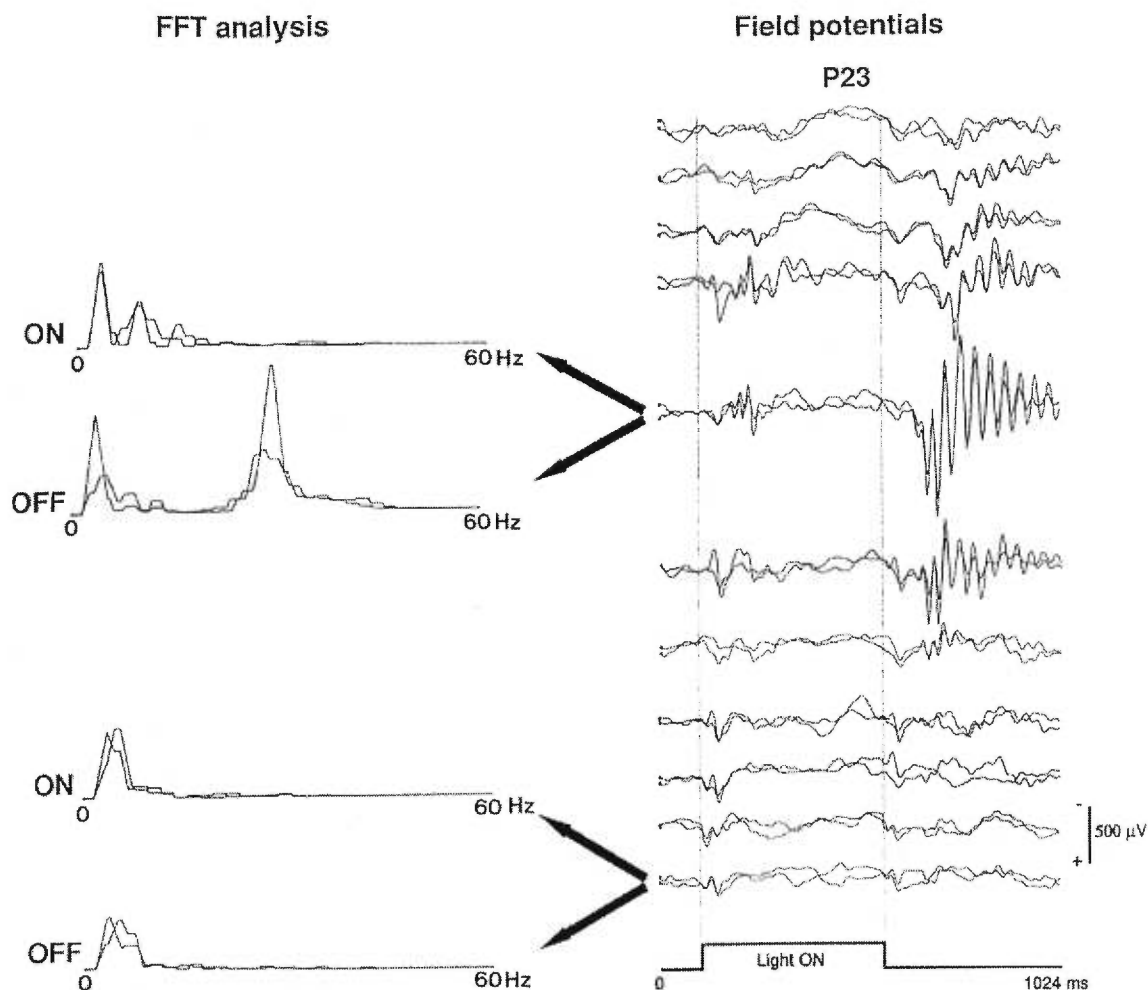


Figure 4. Example of Fast Fourier Transform (FFT) analysis. Field potentials were analyzed with the FFT method. An example of this analysis at two different depths in a P23 animal is shown. The ON and OFF components were analyzed separately. A peak around 30 Hz emerged in the frequency spectrum for the OFF responses (upward arrowhead) in the dorsal position only. The magnitude of this peak (in watts) represents the contribution of the corresponding frequency to original field potentials. The higher the peak, the higher is the contribution of this frequency. Calibrations FFT analysis: vertical axis: watts; horizontal: 60 Hz. Calibrations field potentials: vertical bar: 500 μ V; horizontal: 1024 msec.

The evolution of the emerging frequencies in evoked field potentials between postnatal days 13 and 17, that is, around eyelid opening, is shown in fig. 5. For each depth profile, ON and OFF field potentials with maximum amplitude were selected and analyzed separately with the FFT method.

Resulting frequency spectra were then normalized (under curve area = 1) and averaged for each age. This figure thus shows the normalized distribution of average power spectra for ON and OFF responses at each tested age. These histograms reveal that two components of field potentials are present. The slow component is present at every age in the ON and OFF waves (low frequencies: 0-10 Hz). The fast component corresponds to high frequency potentials (> 20 Hz) and is only present in the OFF part of the response, in P15 and older animals. As the animal develops, the high frequency peak of the OFF response becomes more predominant (figure 5: P16-P17 OFF). It is also present in the adult at higher frequency around 35-40 Hz.

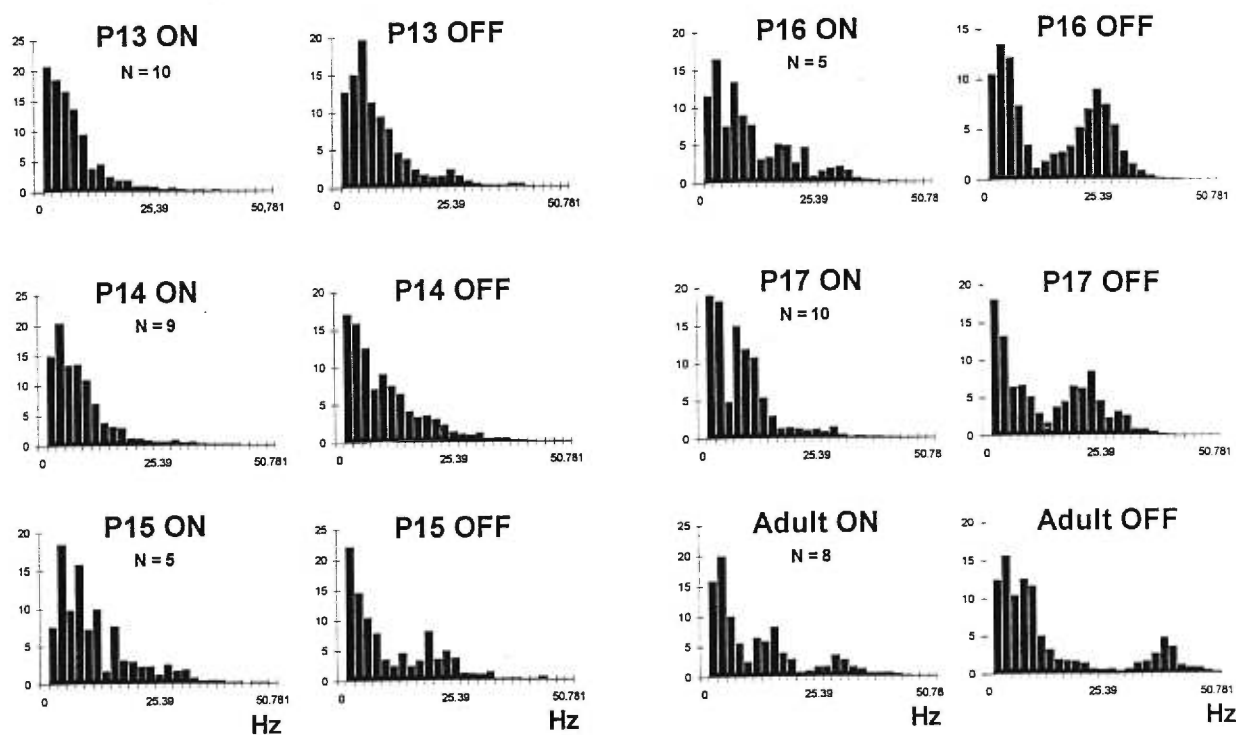


Figure 5. Summary of FFT analysis from P13 to P17. These histograms represent ON and OFF frequency spectra after normalization and averaging for each age group. Two components of field potentials can be detected. The slow component (low frequencies 0-10 Hz) is present at all ages for ON and OFF responses while the fast component (high frequencies >20 Hz) is specific to OFF responses of P15 and older animals. As the animal develops, the high frequency peak become more predominant. It is also present in the adult animal at a frequency around 35-40 Hz. X axis bin width: 1.953 Hz; Y axis represents percentages. Numbers (N=) are the number of depth profiles analyzed in each histogram.

Discussion

Early ON and OFF field potentials

As the young rat grows older, several important developmental events contribute to the early formation of the retino-collicular pathway. The time at which the retino-collicular pathway becomes fully functional is yet unknown, but critical observations of physiological events have been made in the rat. The earliest immature electroretinogram (ERG) is recorded at P12 (Weidman & Kuwabara, 1968). At this age, some ERG components are not present yet, and it is not until P14 that they become visible (Weidman & Kuwabara, 1969). In the present study, ON and OFF field potentials were recorded in the superior colliculus of young rats from P13 and older. First responses are observed only at P13. These responses are immature because of their simple biphasic form and their long and variable latencies. These types of responses have also been demonstrated in kittens (Norman & Wilson, 1973; Rose & Lindsley, 1968). Despite the immaturity of the responses, an inversion of polarity in field potentials with depth is observed (figure 1). This inversion reflects the fact that synaptic connections between afferent fibers and collicular cells are no longer diffuse at this age. Rather, they are distributed in a way to produce sinks and sources similar to those seen in adult animals.

Origin of oscillatory field potentials

From P15, OFF field potentials exhibited oscillatory patterns. In the last three decades, the so called «ON» oscillatory discharges have been extensively studied. These oscillations have received many appellations: afterdischarge potentials, secondary complex, etc. and have been described in visual structures like the superior colliculus (Sumitomo & Klingberg, 1972b; Uramoto, 1975), thalamus (Standage et al., 1981; Sumitomo & Klingberg, 1972a) and visual cortex (Bignall & Rutledge, 1964; Steriade, 1968). In all of these studies, the stimulating flashes were of short duration, that is, the ON step and the OFF

step follow each other at very short interval. Due to the shortness of the flash ($\cong 10 \mu\text{sec}$), ON and OFF responses were superimposed. Hence in the strict sense, the «ON» response is misleading since the ON and OFF waves cannot be segregated because of the brevity of the flash. This may explain why clear OFF responses like the ones shown in the present study were never reported. With a longer ON stimulation period, ON and OFF responses can be easily dissociated. In most cases, OFF field potentials exhibit oscillatory responses. Similar OFF oscillatory potentials have also been recently demonstrated in the optic tectum of toad (Schwippert et al., 1996) and in the superior colliculus of mouse (Masu et al., 1995).

For many years, attempts were made to determine the origin of the oscillatory field potentials. Some suggested a retinal (Bignall & Rutledge, 1964; Doty & Kimura, 1963; Uramoto, 1975) or a thalamic origin (Sumitomo & Klingberg, 1972a), while others proposed that they might originate from the structure itself (Steriade, 1968). However, no agreement seems to exist. In the present study, the dorso-ventral penetrations revealed that oscillations are recorded in the ventral part of the stratum griseum superficiale. Nevertheless, this does not mean that they are initially generated in this sub-layer of the superior colliculus, nor does it mean that they are generated in the colliculus at all.

Earlier studies have determined that the major contribution of field potential responses comes from slow post-synaptic events, especially from excitatory post-synaptic potentials (EPSP) and inhibitory post-synaptic potentials (IPSP). EPSPs cause a decrease while IPSPs cause an increase of extracellular positive charges (for review see Leung, 1990). Most of the observed field potentials are therefore local events generated within the superior colliculus. On the other hand, action potentials recorded in the superior colliculus may have a dual origin. First, they can be recorded from post-synaptic neurons. In this case, they are locally generated and their origin is intra-collicular. Second, they can be

recorded from pre-synaptic fibers. In that case, the axons can originate from an extra-collicular structure. The most likely site is the retina since oscillatory activity has been described in the optic nerve and in the retina of many species (Doty & Kimura, 1963; Neuenschwander & Singer, 1996; Robson & Troy, 1987).

The present results demonstrate that microinjections of cobalt chloride cause a decrease of both post-synaptic field potentials and multiunit activity (figure 3). The remaining short latency activity has a pre-synaptic origin and probably represents retinal input. Since blockade of synaptic transmission abolishes oscillatory activity, it can be concluded that it has a post-synaptic origin and is not generated in the retina or any other extra-collicular structure. Furthermore we have shown that the negative peaks of OFF oscillatory potentials coincide with the occurrence of multiunit action potentials (figure 3). Oscillations are therefore generated by successive bursts of action potentials. It seems then that the source of OFF oscillations is within the network of the superior colliculus.

Frequency changes in oscillatory potentials during development

FFT analysis of ON and OFF field potentials indicates that oscillatory potentials appear around eyelid opening (P14) and increase in frequency during development, up to 40 Hz in the adult animal. This increase suggests faster neuronal activity throughout collicular circuitry. Interestingly myelination of collicular axons begins around P15 (Warton & Jones, 1985). Many synaptic connections are also formed and stabilized during this period (Lund & Lund, 1972; Warton & McCart, 1989). Although oscillations seem to play an important role in the developing motor system (Llinas, 1988; Westerga & Gramsbergen, 1994), such relationships remain to be demonstrated in the developing visual system. In the kitten's visual cortex, oscillations are present but their frequencies are lower than those found in the adult cat (Ghose & Freeman, 1992). This result is similar to the one presented in our investigation.

Role of oscillatory potentials in the OFF responses

In the present study, ON and OFF evoked field potentials were recorded in the developing superior colliculus. Fast rhythmic activity of large numbers of neurons were observed predominantly in the OFF responses. Previous studies concerning this synchronized activity in the visual system (Eckhorn et al., 1993; Engel et al., 1990; Gray et al., 1989; Molotchnikoff et al., 1996; Neuenschwander & Singer, 1996; Shumikhina & Molotchnikoff, 1995) and olfactory system (Gelperin & Tank, 1990; Laurent & Davidowitz, 1994; Wehr & Laurent, 1996) have associated oscillations to sensory information encoding. It seems to be true in the olfactory system, but the hypothesis remains controversial for the visual system (Ghose & Freeman, 1992; Young et al., 1992). Although feature dependence of oscillations was not tested in the present study, it appears that they are independent of particular features of the visual target since we applied diffuse stimulation. In fact, changing the dimension of the visual target from 10° to 30° did not modify the frequency of the oscillatory potentials.

A simpler but different role for the oscillatory field potentials has to be considered. Since oscillations are mainly present in the OFF field potentials and cause excitatory post-synaptic responses; this periodic activity could maintain the membrane potential at relatively depolarized levels. These levels would be sufficient to facilitate subsequent responses to new arriving signals in dark. The response latency to additional stimulation would be then reduced and this could facilitate the detection of other targets in the visual field, which has just been dimming.

Acknowledgements

This work is supported by grants to S.M. (G.R.E.N.E., F.C.A.R. and N.S.E.R.C.C.)

References

- Altman J. & Bayer S.A. (1981). Time of origin of neurons of the rat superior colliculus in relation to other components of the visual and visuomotor pathways. *Experimental Brain Research* 42:424-434.
- Berson D.M. (1988). Convergence of retinal W-cell and corticotectal input to cells of the cat superior colliculus. *Journal of Neurophysiology* 60:1861-1873.
- Bignall K.E. & Rutledge L.T. (1964). Origin of a photically evoked afterdischarge in cat visual cortex. *Journal of Neurophysiology* 27:1048-1062.
- Doty R.W. & Kimura D.S. (1963). Oscillatory potentials in the visual system of cats and monkeys. *Journal of Physiology* 168:205-218.
- Dreher B., Potts R.A. & Bennett M.R. (1983). Evidence that the early postnatal reduction in the number of rat retinal ganglion cells is due to a wave of ganglion cell death. *Neuroscience Letters* 26:255-260.
- Eckhorn R., Frien A., Bauer R., Woelbern T. & Kehr H. (1993). High frequency (60-90 Hz) oscillations in primary visual cortex of awake monkey. *Neuroreport* 4:243-246.
- Engel A.K., König P., Gray C.M. & Singer W. (1990). Stimulus-dependent neuronal oscillations in cat visual cortex: inter-columnar interactions as determined by cross-correlation analysis. *European Journal of Neuroscience* 2:588-606.
- Fitzgerald M. (1985). The post-natal development of cutaneous afferent fibre input and receptive field organisation in the rat dorsal horn. *Journal of Physiology (London)* 364:1-18.
- Fukuda Y. & Iwama K. (1978). Visual receptive-field properties of single cells in the rat superior colliculus. *Japanese Journal of Physiology* 28:385-400.
- Fukuda Y., Suzuki D.A. & Iwama K. (1978). Characteristics of optic nerve innervation in the rat superior colliculus as revealed by field potential analysis. *Japanese Journal of Physiology* 28:347-365.
- Gelperin A. & Tank D.W. (1990). Odour-modulated collective network oscillations of olfactory interneurons in a terrestrial mollusc. *Nature* 345:437-440.
- Ghose G.M. & Freeman R.D. (1992). Oscillatory discharge in the visual system: does it have a functional role? *Journal of Neurophysiology* 68:1558-1574.

- Gray C.M., König P., Engel A.K. & Singer W. (1989). Oscillatory responses in cat visual cortex exhibit inter-columnar synchronization which reflects global stimulus properties. *Nature* 338:334-337.
- Hagiwara S. & Byerly L. (1981). Calcium channel. *Annual Review of Neuroscience* 4:69-125.
- Itaya S.K., Fortin S. & Molotchnikoff S. (1995). Evolution of spontaneous activity in the developing rat superior colliculus. *Canadian Journal of Physiology and Pharmacology* 73:1372-1377.
- Itaya S.K. & Molotchnikoff S. (1990). First appearance of flash-evoked potentials in the neonatal rat superior colliculus. *Neuroscience Research Communication* 7:75-82.
- Kretz R. (1984). Local cobalt injection: a method to discriminate presynaptic axonal from postsynaptic neuronal activity. *Journal of Neuroscience Methods* 11:129-135.
- Laurent G. & Davidowitz H. (1994). Encoding of olfactory information with oscillating neural assemblies. *Science* 265:1872-1875.
- Leung L.W.S. (1990). Field potentials in the central nervous system- recording analysis and modeling. In: A.A. Boulton G.B. Baker & C.H. Vanderwolf (Eds) *Neuromethods 15 Neurophysiological techniques: applications to neural system* (pp. 277-312). Humana Press Clifton New York.
- Llinas R.R. (1988). The intrinsic electrophysiological properties of mammalian neurons: insights into central nervous system function. *Science* 242:1654-1664.
- Lund R.D. & Bunt A.H. (1976). Prenatal development of central optic pathways in albino rats. *Journal of Comparative Neurology* 165:247-264.
- Lund R.D. & Lund J.S. (1972). Development of synaptic patterns in the superior colliculus of the rat. *Brain Research* 42:1-20.
- Masu M., Iwakabe H., Tagawa Y., Miyoshi T., Yamashita M., Fukuda Y., Sasaki H., Hiroi K., Nakamura Y., Shigemoto R., Takada M., Nakamura K., Nakao K., Katsuki M. & Nakanishi S. (1995). Specific Deficit of the ON Response In Visual Transmission by Targeted Disruption of the mGluR6 Gene. *Cell* 80:757-765.
- Molotchnikoff S. & Itaya S. (1993). Functional development of the neonatal rat retinotectal pathway. *Developmental Brain Research* 72:300-304.

- Molotchnikoff S. Shumikhina S. & Moisan L.E. (1996). Stimulus-dependent oscillations in the cat visual cortex: differences between bar and grating stimuli. *Brain Research* 731:91-100.
- Neuenschwander S. & Singer W. (1996). Long-range synchronization oscillatory light responses in the cat retina and lateral geniculate nucleus. *Nature* 379:728-733.
- Norman J.L. & Wilson P.D. (1973). Development of subcortical visually evoked potentials in kittens. *Brain Research* 55:446-450.
- O'Leary D.D.M., Fawcett J.W. & Cowan W.M. (1986). Topographic targeting errors in the retinocollicular projection and their elimination by selective ganglion cell death. *Journal of Neuroscience* 6:3692-3705.
- Perry V.H., Henderson Z. & Linden R. (1983). Postnatal changes in retinal ganglion cell and optic axon populations in the pigmented rat. *Journal of Comparative Neurology* 219:356-368.
- Robson J.G. & Troy J.B. (1987). Nature of the maintained discharge of Q X and Y retinal ganglion cells of the cat. *Journal of the Optical Society of America A-Optics & Image Science* 4:2301-2307.
- Rose G.H. & Lindsley D.B. (1968). Development of visually evoked potentials in kittens: specific and nonspecific systems. *Journal of Neurophysiology* 31:607-623.
- Schiller P.H. & Malpeli J.G. (1977). Properties and tectal projections of monkey retinal ganglion cells. *Journal of Neurophysiology* 40:428-445.
- Schwippert W.W., Beneke T.W. & Ewert J.-P. (1996). Disproportionate distribution of field potentials across the toad's tectal visual map in response to diffuse light ON and OFF stimulations. *Vision Research* 36:19-26.
- Shumikhina S. & Molotchnikoff S. (1995). Visually-triggered oscillations in the cat lateral posterior-pulvinar complex. *Neuroreport* 6:2341-2347.
- Standage G.P., Fleming D.E. & Bigler E.D. (1981). Thalamocortical coupling and component properties of visually evoked afterdischarge. *Brain Research Bulletin* 7:89-92.
- Steriade M. (1968). The flash-evoked afterdischarge. *Brain Research* 9:169-212.
- Sumitomo I. & Klingberg F. (1972a). The role of lateral geniculate body in the generation of photically and electrically evoked afterdischarges in freely moving rats. *Acta Biologica & Medica Germanica* 29:43-54.

- Sumitomo I. & Klingberg F. (1972b). Influence of visual cortex lesion upon photically evoked afterdischarges of the superior colliculus in freely moving rats. *Acta Biologica & Medica Germanica* 29:239-246.
- Uramoto I. (1975). A late component of flash-evoked potentials in the cat's optic chiasma and superior colliculus: its appearance due to background illumination. *Brain Research* 98:303-310.
- Warton S.S. & Jones D.G. (1985). Postnatal development of the superficial layers in the rat superior colliculus: a study with Golgi-Cox and Klüver-Barrera techniques. *Experimental Brain Research* 58:490-502.
- Warton S.S. & McCart R. (1989). Synaptogenesis in the stratum griseum superficiale of the rat superior colliculus. *Synapse* 3:136-148.
- Wehr M. & Laurent G. (1996). Odour encoding by temporal sequences of firing in oscillating neural assemblies. *Nature* 384:162-166.
- Weidman T.A. & Kuwabara T. (1968). Postnatal development of the rat retina. *Archive of Ophthalmology* 79:470-484.
- Weidman T.A. & Kuwabara T. (1969). Development of the rat retina. *Investigative Ophthalmology* 8:60-69.
- Westerga J. & Gramsbergen A. (1994). Development of the EMG of the soleus muscle in the rat. *Developmental Brain Research* 80:233-243.
- Young M.P., Tanaka K. & Yamane S. (1992). On oscillating neuronal responses in the visual cortex of the monkey. *Journal of Neurophysiology* 67:1464-1474.

Article #3

Maturation of visual receptive field properties in the rat superior colliculus

Developmental Brain Research, 112 (1999): 55-64.

Stéphane Fortin¹, Allal Chabli¹, Isabelle Dumont¹,
Svetlana Shumikhina¹, Stephen K. Itaya²
and Stéphane Molotchnikoff^{1*}

1. Département de Sciences Biologiques, Université de Montréal, Montréal, Québec, Canada
2. Department of Biomedical Sciences, University of South Alabama, Mobile, AL 36688, USA

* To whom all correspondence should be addressed: Université de Montréal, Département de Sciences Biologiques, C.P. 6128, Succursale centre-ville, Montréal, Canada, H3C 3J7. Tel.: (514) 343-6616, Fax: (514) 343-2293. E-Mail: molotchn@ere.umontreal.ca.

Abstract

Visually responsive neurons were recorded in the superficial layers of the rat superior colliculus from postnatal day 12 to 28. Receptive field properties such as size, type (ON, OFF, ON-OFF and motion sensitive) and direction selectivity were analyzed to disclose changes during maturation. Although some aspects of sensory properties are modified during development (latency, receptive field sizes, and proportions of receptive field types), a high level of sophistication is also present in young animals even before eyelid opening. For instance, direction selective and direction biased cells, which require complex synaptic relations, are already observed when the first light evoked responses emerge in the superior colliculus (P13), strongly suggesting that this property develops without visual experience. Furthermore, direction selectivity is present in the colliculus prior to the appearance of visually evoked activity in the cortex. This indicates that direction selectivity can not be attributable to incoming cortical afferents. This study provides the first direct evidence that, unlike the cat, the rat's cortico-tectal pathway is only weakly involved in the establishment of direction selectivity in collicular neurons.

Keywords

Vision, superior colliculus, tectum, development, direction selectivity

Introduction

It is well established that the superior colliculus of adult animals is essential for visuo-motor integration such as orienting behavior and avoidance reaction (Redgrave et al., 1981; Sahibzada et al., 1986). In newborn animals however, this function may be limited since full development is not yet completed. This varies considerably among mammals, according to the phylogenetic order. The newborn primate, for example, has substantial visual capabilities and its cortical and collicular neurons already demonstrate adult-like responses (Horton & Hocking, 1996; Wallace et al., 1997). In contrast, lagomorph, carnivore and rodent newborn are unable to react in the presence of visual targets since they are totally blind. The visual system of these animals is very immature at birth and undergoes substantial maturation as the animal interacts with its environment during the postnatal period. Part of this maturation process requires visual experience and is slowed or arrested if the animal is deprived of visual stimuli (Binns & Salt, 1997; Crair et al., 1998; Swindale, 1981).

In the past few decades, many studies described visual receptive field properties of superior colliculus neurons during maturation. Although a great deal is now known about the development of these properties in cat, in which 50% (nasal retina) and 26% (temporal retina) of ganglion cells project to the contralateral superior colliculus (Wassle & Illing, 1980), little information is available about rodents. Binn and Salt (1997) have recently studied the maturation of receptive field diameters in the rat, but no investigation has studied the maturation of other receptive field properties in collicular cells of rat, an animal which devotes 90% of its retinofugal projections to the contralateral superior colliculus (Linden & Perry, 1983). This lack of knowledge in the rat is particularly unfortunate since many biochemical and molecular studies on central nervous system development are performed on the rat. A better

understanding of basic functional properties could greatly enhance the possibility of correlating biochemical, molecular and physiological data.

The aim of the present study is to determine how classical visual receptive field properties such as responses to light ON and light OFF, selectivity to direction and receptive field spatial organization emerge during the postnatal period in the superior colliculus neurons of the rat. Special attention has been given to postnatal days 13 to 22 (P13-P22), which comprise an important time window in the development of the retino-tectal pathway. Indeed, the first light evoked responses arise around P12-P13 in both retina (Ratto et al., 1991) and superior colliculus (Itaya & Molotchnikoff, 1990). The overall sensitivity of the newborn retina, however, is relatively low compared with the adult, and only high intensity flashes are able to elicit weak responses in these young animals (Fulton & Baker, 1984). The eyelids open (around P14-P15) and the animals begin to experience pattern vision few days after the appearance of these first visual responses.

Materials and Methods

Animal preparation

34 Long Evans rat pups aged from P13 to P28 and 2 adults were used in this study. We refer to the first 24 hr after birth as postnatal day 0 (P0). Rat pups were anesthetized with urethane 25% w/v (0.008 ml/g) injected intraperitoneally. Lidocaine hydrochloride 2% (xylocaine) was applied topically at surgical sites. Atropine sulfate (4×10^{-5} mg/g) was injected subcutaneous to prevent accumulation of secretion in the trachea. Craniotomy and durotomy were performed with a small scalpel blade except for animals over P17 for whom a small drill was necessary to perform craniotomy. For young pups, the left eyelid was sectioned under local anesthesia to preclude any possible obstruction of the visual field. The pupil was dilated with 1% Atropine sulfate (Isopto[®]) and corneal

desiccation was prevented by the application of a thin film of mineral oil. The cartilaginous skull was secured in a custom made head holder to eliminate head movement. Body temperature was maintained by a heating pad. Throughout each experiment, the animal's heartbeat was monitored to check on the effects of the anesthetic. Experiments were conducted only on pups having a heartbeat over 300 beats per minute.

Recordings and stimulations

Extracellular single unit activity in the right superior colliculus was recorded with tungsten (10 M Ω) or glass (1-5 M Ω) microelectrodes filled with 0.9% NaCl and 4% Chicago sky blue. After the microelectrode was inserted into the brain, the exposed cortex was covered with warm agar (3-4% in saline) to prevent drying. To avoid the possibility of missing neurons with little or no spontaneous activity, the microelectrode was slowly advanced in small increments of 5-10 μ m while visual search stimuli were presented. Visual search stimuli consisted of moving and flashed spots and bars (luminance 1-100 cd/m² against a background of 1 cd/m²) projected onto a translucent screen facing the left eye at a distance of 30 cm. This distance has been found to maintain the greatest acuity in the adult rat in behavioral studies (Wiesenfeld & Branchek, 1976), and has been used by other researchers for electrophysiological studies (Fukuda & Iwama, 1978; Wiesenfeld & Kornel, 1975).

Once the activity of a neuron was isolated, its receptive field borders were mapped manually with an ophthalmoscope. Immediately after, a qualitative overview of receptive field properties such as receptive field type (ON, OFF, ON-OFF, motion-sensitive), velocity preference, orientation and direction selectivity were performed. A quantitative evaluation of neuronal responses was then carried out electronically. Responses were amplified and filtered (Grass 5P11, band pass 100-3000 Hz) and fed into an oscilloscope and a computer. Visual stimuli were generated from a slide projector fitted with a series of diaphragms to change the size and shape of the spot or the bar. For stationary stimuli, the

light beam was collimated through an electronic shutter and projected onto the screen at specific positions in the receptive field. For moving stimuli, the light beam was projected onto a mirror mounted on a galvanometer and reflected on the screen in various directions and velocities.

To evaluate the direction selectivity of each cell, a direction index (DI) (Albus, 1980) was calculated according to the formula:

$$DI = 1 - R_N/R_P$$

where:

R_N = (response to the null direction) - (mean level of maintained activity)

R_P = (response to the preferred direction) - (mean level of maintained activity)

This index varies normally from 0 to 1. Values above 1 arise when the response to the null direction is inhibitory with respect to the maintained activity. Others (Gonzalez et al., 1992; Pearson & Murphy, 1983; Stein & Dixon, 1979) have considered only two classes of cells; non-selective ($DI < 0.5$) and direction selective ($DI > 0.5$), but in order to enhance the precision of classification, we adopted three classes. Cells with $DI < 0.5$ were considered to be non-selective for direction, those with $0.5 < DI < 0.75$ to be direction biased, and those with $DI > 0.75$ to be direction selective.

Histology

At selected sites in some penetrations, Chicago Sky Blue was iontophoretically injected (30 mA current for 10 sec) in order to determine the position of the recording tip in the superior colliculus. At the end of the experiments, animals received an overdose of anesthetic and were perfused with two successive solutions of 0.01 M phosphate buffer followed by fixative (paraformaldehyde 4%, glutaraldehyde 0.2%, and picric acid 0.03% in 0.1M phosphate buffer solution). Brains were preserved in fixative solution a few days and then cut with a vibratome into 50 or 100 μ m serial coronal sections.

Results

Data in this study were collected from 103 neurons in the superficial layers of the rat superior colliculus. From these, 90 were recorded in pups at various ages ranging from P12 to P28. The remaining 13 neurons were obtained in adults for comparison (Table 1). No responses were ever recorded from P12 animals. The recordings were all interpreted to be from cell somata according to classical criteria such as action potential shape and response stability (Bishop et al., 1962).

Table 1. Number of recorded cells for each age group.

| | P13-P14 | P15 | P16-P19 | P20-P22 | P27-P28 | Adults | Total |
|-----------------|---------|-----|---------|---------|---------|--------|-------|
| Number of cells | 22 | 22 | 15 | 18 | 13 | 13 | 103 |

Flash latencies

The shortest latencies of visual responses (first evoked action potential) to bright flashed stimuli (Grass PS-2 photostimulator) were measured in the stratum griseum superficiale (SGS) using multiunit recordings. This type of recording was chosen in order to optimize the possibility of getting the shortest latencies. Cellular activity from one or more sites was recorded for each animal and averaged to calculate the mean latency for a specific age group. Figure 1A shows typical multiunit PSTHs recorded at various ages while the mean shortest latencies for each age group are presented in Figure 1B. A significant difference exists between latencies in young (P13-P22) and adult animals (t-test, $P < 0.005$). In particular, in response to the same flash, the mean latency is about 3 times longer in P13-P14 (60.0 ± 5.7 ms) than in adults (21.4 ± 0.8 ms). It was also noticed in animals younger than P20 that the latencies increase

substantially if flash intensity is diminished (results not shown). Similar results were reported in the superior colliculus of cats (Stein et al., 1973b).

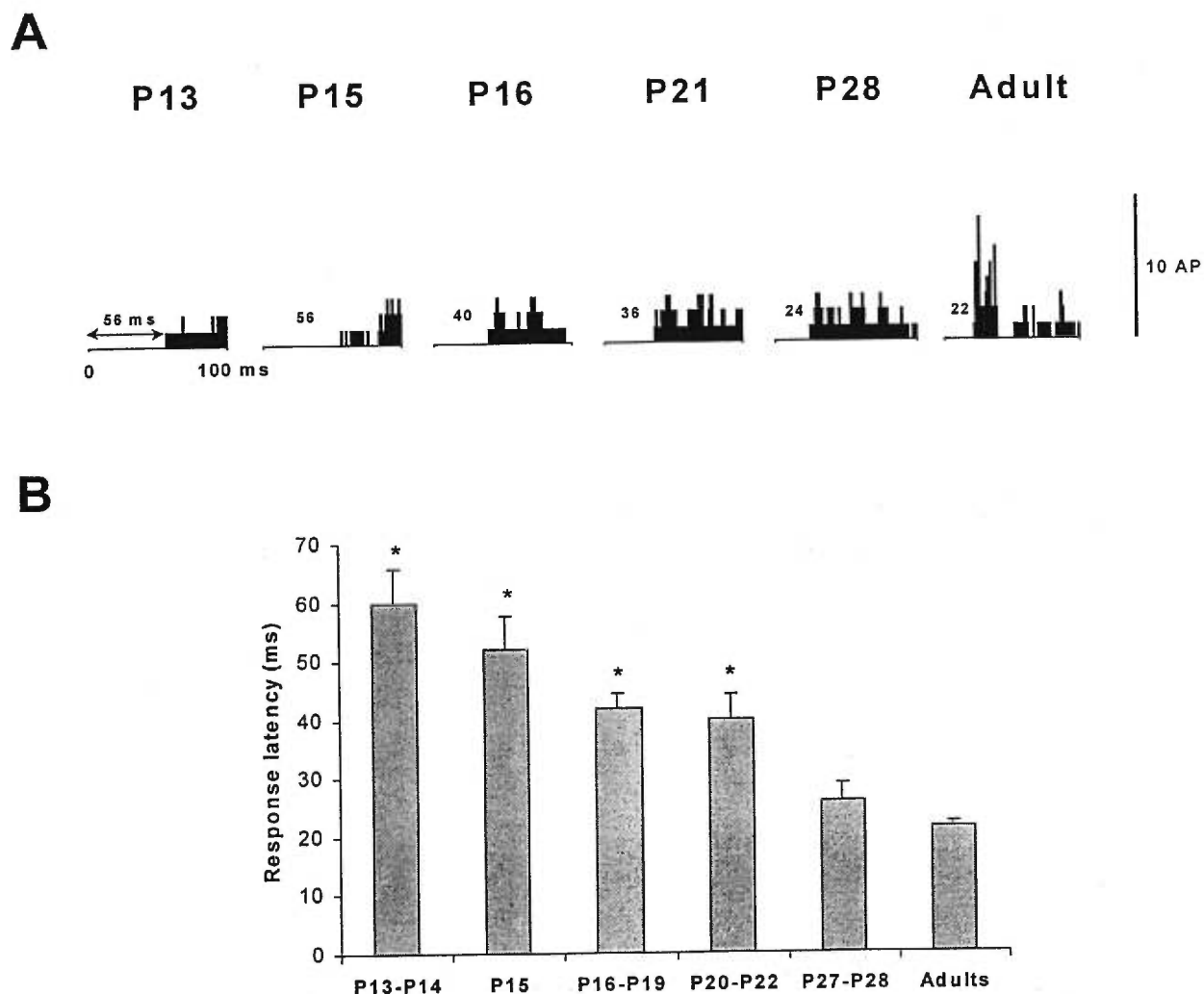


Figure 1. Latencies of visual responses observed in the colliculus during maturation. A. Representative examples of multiunit responses to flashed stimulus recorded in the stratum griseum superficiale. Small numbers indicate the shortest latency recorded in milliseconds. Each peristimulus-time histogram (PSTH) is a summation over 10 stimulations. Flash duration: 10 μ s. **B.** Means of the shortest latencies observed in each age group. Number of sites recorded in each group: 2 (P13-P14), 4 (P15), 4 (P16-P19), 3 (P20-P22), 2 (P27-P28), 2 (adults). * indicates a significant difference between the values from this age group and those from the adult group (Student t-test, $P < 0.005$). Error bars represent standard deviations.

Receptive field sizes

The two axial diameters (X and Y axes) and the total area of the visual receptive field were calculated. Figure 2 shows that the mean diameters of both axes share very similar values, demonstrating the predominance of isometric (circular) receptive fields. When individual's receptive fields are compared, most of them demonstrate circular or weakly horizontal or vertical elliptic shapes. The mean X and Y diameters and area are slightly increased around P20-P22. After these maximum values are reached, a subsequent decrease occurs until adulthood. In adult animals, mean diameters and area are similar to those found at earlier stages (P13-P15). Values during the P20-P22 stage are significantly greater than those obtained at P15 for both diameter (X and Y) and area (t-test, $P < 0.05$).

Receptive field types

Neuronal responses to stationary ON and OFF stimuli allow classification of cells into functional types: ON, OFF, ON-OFF and motion-sensitive. Representative examples of these four types are given in Figure 3A. While cell 25 (P16) responded strictly to ON and cell 50 (P14) only to OFF, cell 59 (P16) discharged for both ON and OFF stimuli. Cells falling within those three categories were also responsive to moving stimuli (Fig. 3A, inserts). On the other hand, strictly motion sensitive neurons (such as cell 65; P14) failed to discharge when stimulated with stationary or flashing stimuli and responded only to moving spots or bars (Fig. 3A, insert). Figure 3B exhibits the proportion of each receptive field type at different postnatal periods. Results in the pre-eyelid opening group (P13-P14) are surprisingly different when compared to other groups. While the proportion of purely ON-cells is low (0/22) in these young pups, the proportion of OFF-cells appears to be higher (12/22) than at following ages. Pearson's coefficient indicates that the proportion of cell types varies significantly according to age (age and cell type are significantly correlated; $\chi^2 = 17.1 > 7.26$; $P < 0.05$).

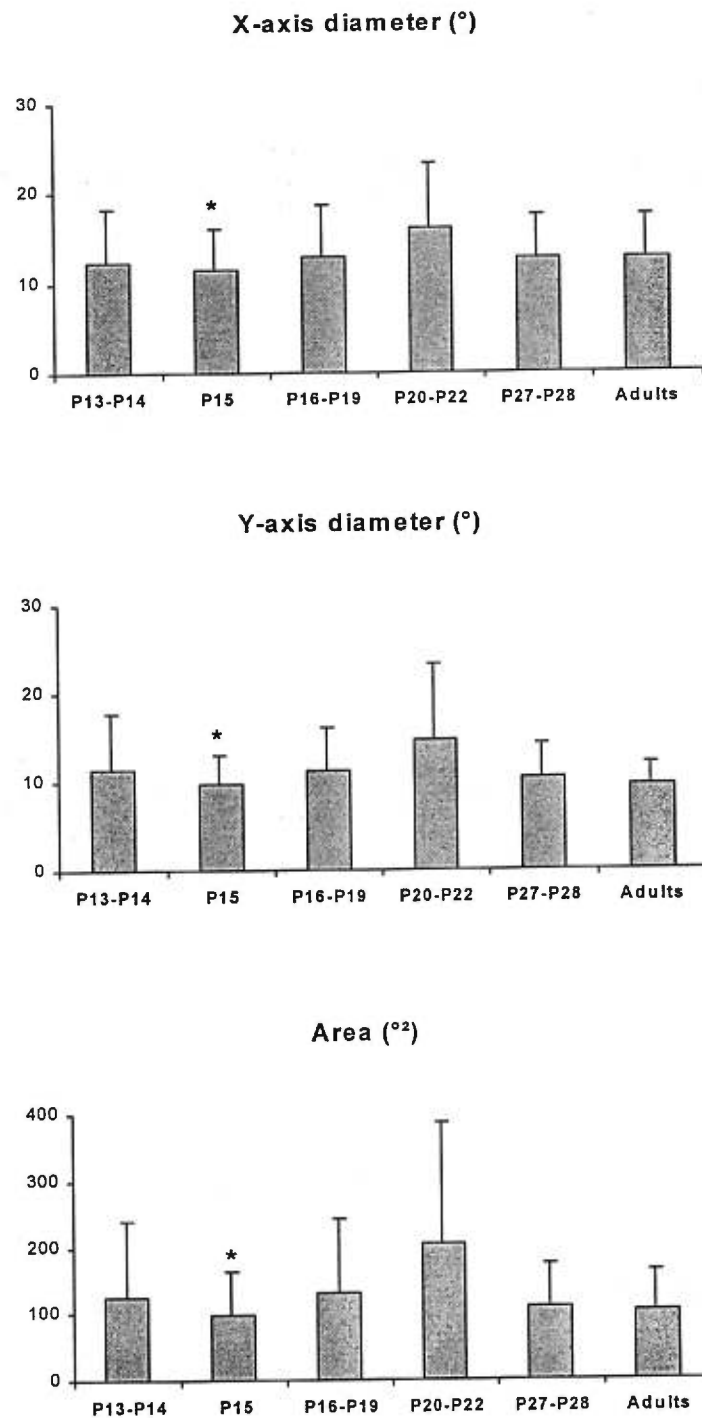


Figure 2. Visual receptive field sizes of collicular neurons during maturation. The mean visual receptive field diameters (X and Y axes) and area are presented for different postnatal age groups. Note the slight receptive field size augmentation which occurs around P20-P22. * indicates a significant difference between the values from this age group and those from the P20-22 group (Student t-test, $1.6939 < t_{(32)} < 2.0369$, $0.025 < P < 0.05$). Error bars represent standard deviations.

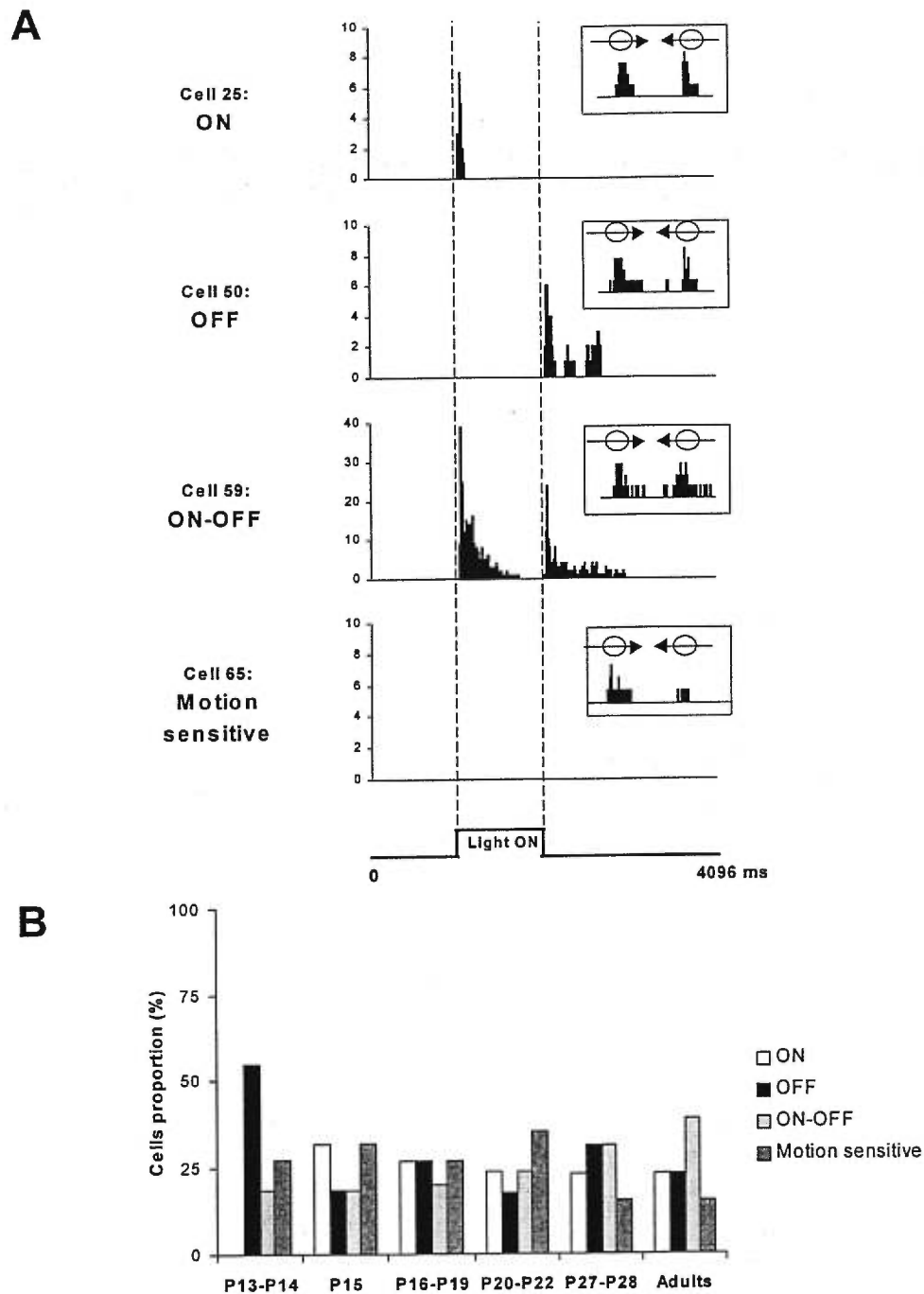


Figure 3. Different types of visual receptive fields observed in superior colliculus. A. PSTHs showing visual responses recorded when stationary light ON and light OFF stimuli are present in the receptive field. While cell 25 responded strictly to ON and cell 50 only to OFF, cell 59 discharged for both ON and OFF stimuli. Cell 65 demonstrated no activity for ON or OFF stimulus. Only moving light spots or bars were able to elicit activity from this type of neuron (insert). Cells with ON, OFF and ON-OFF receptive field types were also responsive to moving stimuli (inserts). **B.** Proportion of the four types of visual receptive fields for each age group. Notice the higher proportion of OFF-cells and the lack of ON-cells in the pre-eyelid opening group (P13-P14). PSTHs X-axis: time (milliseconds), Y-axis: number of spikes/bin, bin width = 16 ms. Each histogram is a summation over 10 stimulations.

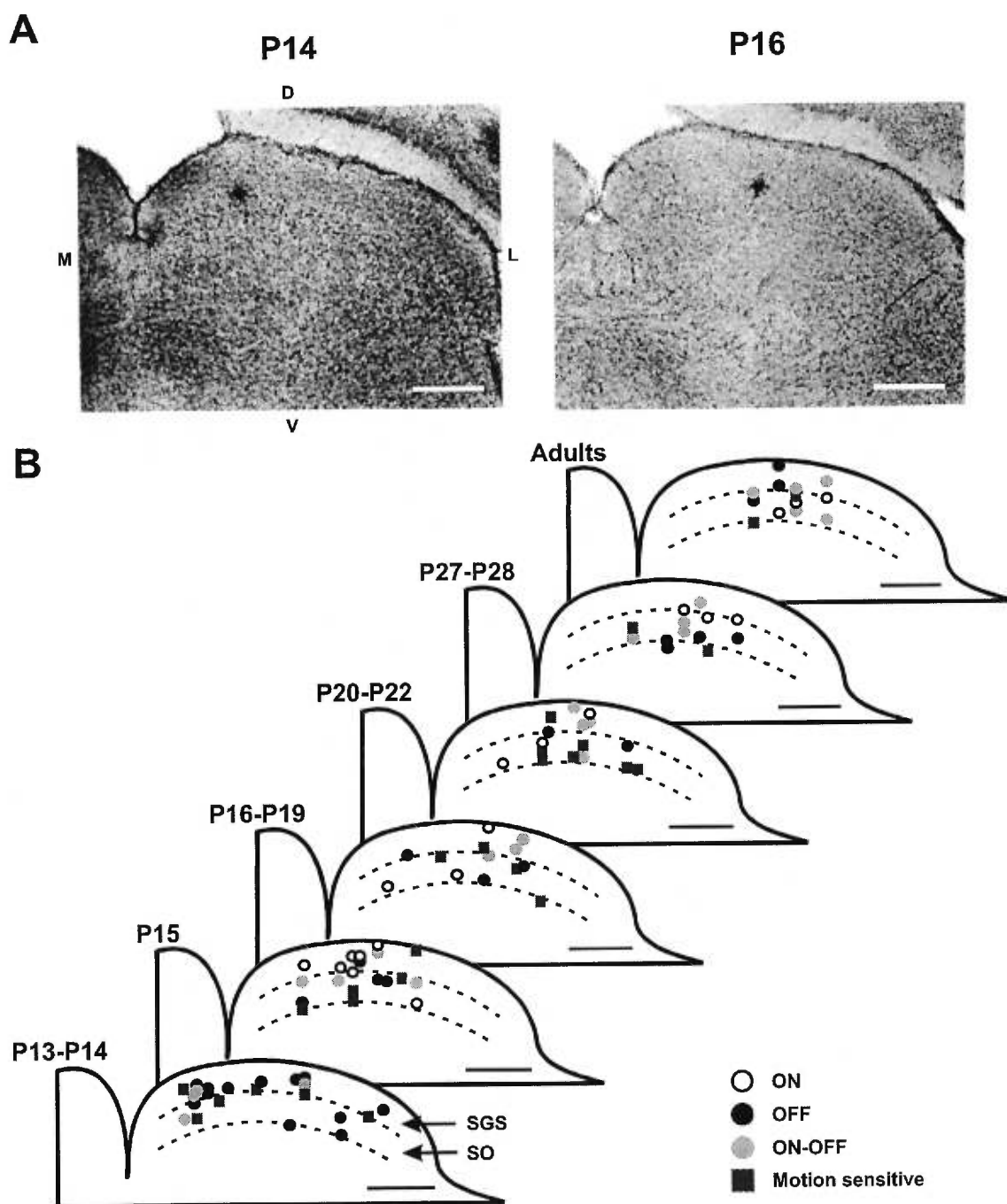


Figure 4. **A.** Representative photomicrographs demonstrating iontophoretic injections of Chicago Sky Blue made to determine the position of the recording tip in the superior colliculus. D, V, M and L stand respectively for dorsal, ventral, medial and lateral. **B.** Summary diagrams from all experiments illustrating the spatial distribution of the recorded cells according to their visual receptive field type (ON, OFF, ON-OFF or motion-sensitive) at different postnatal ages. Notice that no particular correlation emerges between the receptive type and the positions of the cells. SGS: stratum griseum superficiale, SO: stratum opticum. For A and B, horizontal scale: 500 μ m.

Figure 4 summarizes the collicular distribution of the recorded cells according to their visual receptive field type (ON, OFF, ON-OFF or motion-sensitive) for each age group. No particular trend emerges between the receptive type and the positions of the cells in the colliculus. For instance, OFF cells (●) were recorded in both SGS and stratum opticum (SO) and appear to be distributed throughout all portions of the superior colliculus. Similarly, no specific trend was observed for the rostro-caudal positions of the cells (not shown).

Direction selectivity

Directional tuning curves were successfully established for a total of 72 cells. From this sample, 64% were classified as non-selective (Direction Index < 0.5), 26% as direction biased ($0.5 < DI < 0.75$) and 10% as direction selective ($DI > 0.75$) cells. Typical examples of responses from cells falling in those categories are given in Figure 5A. Some cells (cell 91) responded almost equally for every direction of the moving spot, while others (cell 90) showed a moderate and non-specific (broad) direction selectivity. A third class of neurons (cell 77) exhibited a strong preference for one particular direction. The preferred direction of direction biased and direction selective cells varied considerably from cell to cell and no clear tendency was detected (Fig. 5C). This contrasts with the direction selectivity observed in the adult rat where 3 of the 4 recorded cells preferred dorsal direction (result not shown). Fukuda and Iwama (1978) also reported a similar preference in the adult rat.

The distribution of collicular cells according to their direction index during postnatal development is presented in Figure 5B. Proportions of the three categories are very similar from one age group to another except for P13-P14. This group demonstrates a higher proportion of direction biased cells. But the most striking result is the presence of direction selective and biased cells in very young animals (P13-P14), even though those animals normally have closed eyelids.

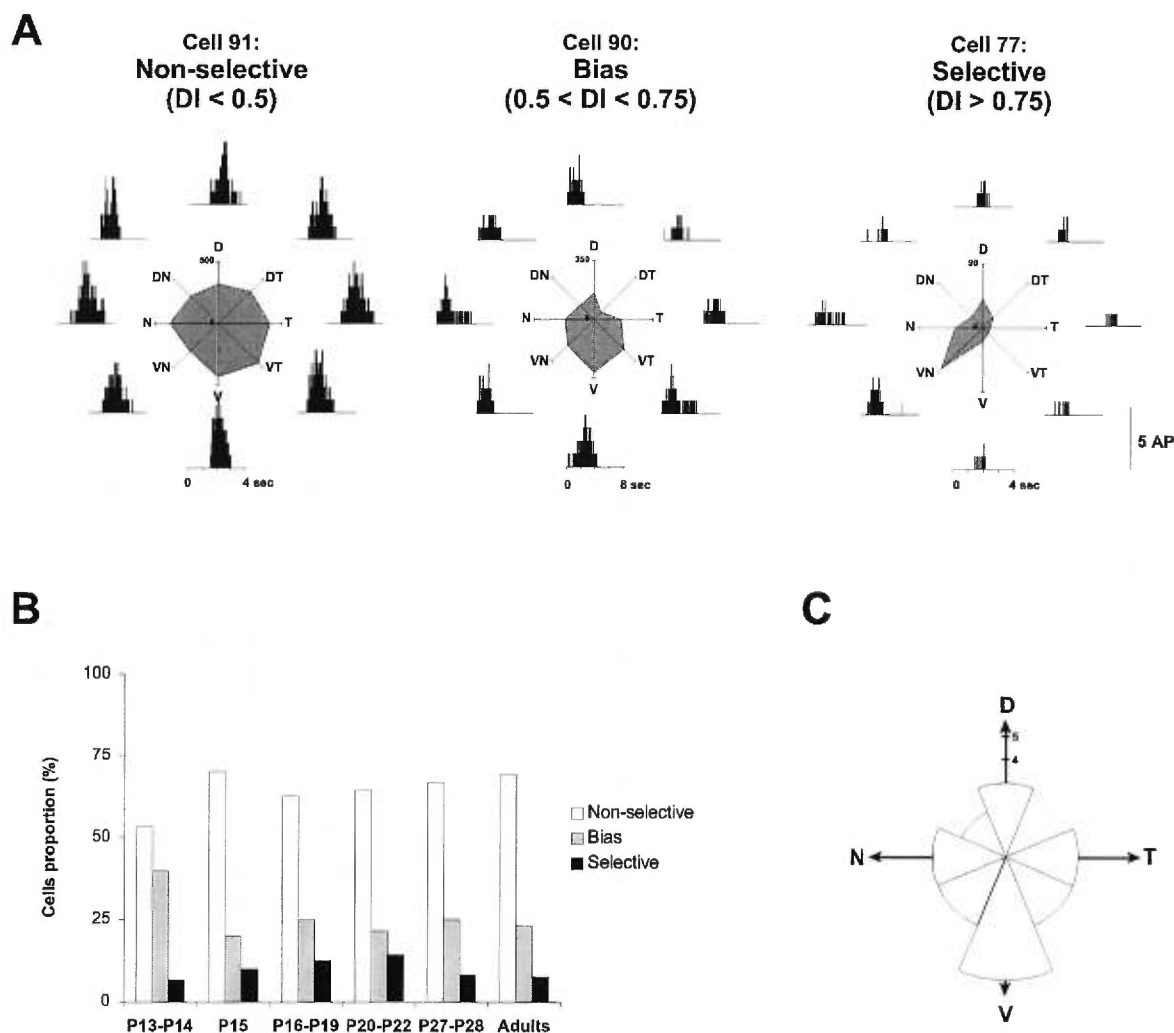


Figure 5. Selectivity for direction in collicular cells during development. **A.** Typical examples of visual responses to moving stimuli in superior colliculus. Polar plots indicate the response amplitudes to moving stimuli for eight equidistant directions (45° apart). Recorded responses are presented in adjacent PSTHs. Cell 91 exhibited strong responses in any direction (non-selective cell). Cell 90 demonstrated a moderate preference for the ventral and ventral-nasal directions (direction biased). Cell 77 clearly showed a preference for the ventral-nasal direction (direction selective). Cells 91, 90 and 77 were recorded respectively from P28, P27 and P13 animals. **B.** Distribution of collicular cells according to their direction index (DI) during maturation. The proportions for each group are very similar except for the pre-eyelid opening group (P13-P14) which demonstrate a stronger proportion of direction biased cells. Note that direction selective cells are present at every age, including the very young and immature P13-P14 animals. **C.** Polar diagram displaying the preferred direction of the 22 direction biased and direction selective cells recorded between P13 and P28. Numbers refer to the number of cells. Notice that no clear tendency emerges. PSTHs X-axis: time (seconds), Y-axis: number of spikes/bin, bin width = 16 ms. Each histogram is a summation over 10 stimulations. The stimulation was a light spot (5°) moving at the preferred velocity of the cell. Moving stimulus directions: dorsal (D), ventral (V), nasal (N), temporal (T). DI: direction index, AP: action potentials.

Correlations between the studied parameters

Different receptive field parameters (sizes, types, and direction selectivity) were closely examined in order to detect any possible correlation between them. Results indicate that the sizes and types of receptive field are not correlated. The mean receptive field areas of ON ($113 \pm 97^{\circ 2}$), OFF ($155 \pm 112^{\circ 2}$), ON-OFF ($119 \pm 130^{\circ 2}$) and motion-sensitive ($119 \pm 91^{\circ 2}$) cells are not significantly different, indicating that receptive field sizes and types vary independently.

No particular correlation was detected between receptive field type and directionality class (Table 2). Among the 7 direction selective cells that were recorded in this study, 2 were motion-sensitive while the rest had receptive fields definable with a stationary light spot: 1 ON, 2 OFF and 2 ON-OFF cells. Biased or direction selective cells are not distinguishable from the other cells by their receptive field size.

Table 2. Distribution of non-selective, direction biased and direction selective cells according to their receptive field type. Numbers in brackets indicate the relative proportions in percentages.

| | ON | OFF | ON-OFF | Motion sensitive | Total |
|---------------------|---------|---------|---------|------------------|-------|
| Non-selective | 8 (17) | 12 (26) | 17 (37) | 9 (20) | 46 |
| Direction bias | 2 (10) | 6 (32) | 4 (21) | 7 (37) | 19 |
| Direction selective | 1 (14) | 2 (29) | 2 (29) | 2 (29) | 7 |
| Total | 11 (15) | 20 (28) | 23 (32) | 18 (25) | 72 |

Discussion

This is the first study of the maturation of visual receptive field properties in the superior colliculus of rat. Our results suggest that although some aspects of sensory properties are modified during development (latency, receptive field sizes and proportions of receptive field types), a high level of sophistication (i.e., direction selectivity) is already present in young animals even before eyelid opening.

Response latencies

The latencies of visual responses are substantially longer in collicular cells of developing rats compared with adult animals. In the adult, our multiunit recordings indicate that the mean shortest latency is about 21 ms (Fig. 1). Similar results have been found in the colliculus of adult rats using field potentials (Dyer & Annau, 1977). In young animals, the shortest latencies are up to three times longer. This difference is likely due to myelination of the retino-collicular pathway which begins around P15 (Warton & Jones, 1985) and increases axonal conduction velocities. Collicular (Warton & McCart, 1989) and retinal (Horsburgh & Sefton, 1987) synaptogenesis occurring during this period may also help reduce response latencies. It appears, however, that these changes in latencies have little influence on the response properties of collicular neurons because most of the characteristic receptive field properties of adult collicular cells (size, type, directional selectivity) are already present at P13-P14.

Receptive field sizes

Our results show that receptive field sizes are relatively similar from one age group to another (Fig. 2). However, animals aged P20 to P22 exhibit a slight augmentation in receptive field area and diameter (both X and Y). A similar increase has been recently reported by another research team (Binns & Salt,

1997). They attributed this enlargement to the establishment of cortico-collicular afferents arising from visual cortex layer V. These cortical neurons fail to demonstrate adult-like electrical activity before P21 (Kasper et al., 1994). This proposal is further reinforced by the fact that the proportion of cortical cells in lamina V of the striate cortex which project to the superior colliculus reaches a stable adult level by P21 (Dreher et al., 1985). Furthermore, Fagiolini et al. (1994) have recently demonstrated that mean visual receptive field size reaches a maximum value of $34^\circ \pm 6^\circ$ around P19-P21, which is the time window when we observed larger receptive fields in collicular cells.

Receptive field types

The analysis of the distribution of receptive field types during maturation produces an interesting result (Fig. 3B). Colliculi of young rat pups (P13-P14), which have naturally closed eyelids, exhibit a lack of ON-cells and a higher proportion of OFF-cells when compared with other age groups. It has been noticed in a previous investigation that low pass filtered responses (local field potentials) are generally much stronger in immature animals when light is turned off than when it is turned on (Fortin et al., 1997). Such asymmetrical responses suggested a greater number of OFF-cells, and the ON components observed at P13-P14 in local field potentials were probably generated by ON-OFF cells rather than by ON-cells. But the main question about the results remains: why are OFF-cells so predominant in animals before eyelid opening? The answer may lie in a time lag between the maturation of ON and OFF channels in the retina. In the adult cat, it has been shown that ON and OFF channels at the retinal ganglion cell level are neurochemically distinct (gamma-aminobutyric acid mediates inhibition of ON cells, whereas glycine mediates inhibition of OFF cells) (Ikeda & Sheardown, 1983). However, no time lag in the appearance of these channels was observed in the retina of cat during development (Ikeda & Robbins, 1988); no such data are yet available about the rat retina.

Direction selectivity

Among all receptive field properties studied, selectivity for direction is probably the most closely associated with superior colliculus cells. A high proportion of direction selective neurons are found in the colliculus of adult animals of many species such as rat (Fukuda & Iwama, 1978; Gonzalez et al., 1992), mouse (Drager & Hubel, 1975), hamster (Finlay et al., 1978), rabbit (Graham et al., 1981), cat (Stein & Arigbede, 1972), and squirrel monkey (Kadoya et al., 1971).

Results from our study show that the proportion of direction biased and direction selective cells remains stable during development (Fig. 5B). The presence of such cells in the pre-eyelid opening group (P13-P14) was unexpected because this temporal window coincides with the emergence of visually evoked activity in the colliculus (Itaya & Molotchnikoff, 1990). In the kitten, the first light evoked responses appear at P7 (one day after eyelid opening) and the first collicular direction selective cells are found one week later (Stein et al., 1973a). Other studies have shown that rearing kittens and rabbits in stroboscopic light conditions precludes the development of direction selectivity in both cortex and superior colliculus (Cynader & Cmerneko, 1976; Cynader et al., 1973; Pearson & Murphy, 1983; Pearson et al., 1981). Dark rearing also produces similar effects (Zhou et al., 1995). All these results suggest that normal visual experience is required for the establishment of direction selectivity in cortical and collicular neurons. This seems true in lagomorphs and in carnivores, but remains to be demonstrated in rodent. The presence of direction selective and direction biased cells prior to eyelid opening (Fig. 5) strongly suggests that visual experience is not essential for the establishment of direction selectivity in rat collicular cells. These results are supported by Miyashita et al. (1997), who have recently proposed that, in contrast to common beliefs, direction selectivity can be achieved in the primary visual cortex even if the retinas were never exposed to moving objects during development. Such light independent processes have already been demonstrated in many structures. In the lateral

geniculate nucleus, for example, eye-specific lamination patterns require spontaneous activity instead of light induced activity (for review see Shatz, 1996). Similarly, spontaneous activity, which is present well before P13 in both retina and colliculus (Galli & Maffei, 1988; Itaya et al., 1995), could be responsible for the establishment of direction selectivity in collicular neurons.

Although the exact origin of selectivity for direction of collicular cells is unknown, it has been postulated that it may originate in the cortex. This is probably the case in adult cats for which cortical disruption clearly diminishes directional selectivity of superior colliculus cells (Berman & Cynader, 1976; Mize & Murphy, 1976), but many findings point toward a different explanation in the rat. First, the proportion of neurons dedicated to the retino-collicular pathway is higher in the rat than in the cat, and the influence of the cortex over the colliculus may be minor when compared to the cat. Second, visual activity in the cortex precedes that of superior colliculus in postnatal cat (P4 for cortex and P7 for SC; Stein et al., 1973a; Huttenlocher, 1967) while the opposite situation occurs in the rat (P15 for cortex and P12-P13 for SC; Kasper et al., 1994; Itaya & Molotchnikoff, 1990). The present results suggest that the direction selectivity observed in young animals (P13-P19) can hardly be attributable to afferent cortical inputs since cortical cells of layer 5 (projecting to SGS) are far from exhibiting adult-like activity at this age (Kasper et al., 1994); this receptive field property only appears during the fourth postnatal week in the striate cortical cells (Fagiolini et al., 1994). Finally, it must be emphasized that cryoblockade of the rat's visual cortical areas 17 and 18, although producing a sharp decline in collicular cells responsivity, fails to modify the proportion of direction selective cells as well as the values of their direction index (DI) (Molotchnikoff et al., 1986). All these facts indicate that cortico-tectal inputs are only weakly involved in the establishment of direction selectivity in collicular neurons of the rat. We cannot rule out, however, that direction selectivity may be present at the retinal level. Such directionally sensitive ganglion cells have been extensively

described in the retina of the rabbit (Vaney, 1994; Wyatt & Daw, 1975), but their presence remains to be demonstrated in the rat.

Finally, it has been mentioned that the preferred direction of direction biased and direction selective cells varied from cell to cell and no clear tendency was detected during maturation (Fig. 5C). Earlier studies have demonstrated that 63% of the direction selective cells prefer the dorsal direction in the adult rat (Fukuda & Iwama, 1978). A similar bias was also reported in the adult hamster (Stein & Dixon, 1979). Cortico-tectal afferents and/or visual experience are likely to influence in some way the preference of direction selective cells during maturation in order to achieve such a bias in the adult animals.

References

- Albus K. (1980). The detection of movement direction and effects of contrast reversal in the cat's striate cortex. *Vision Research* 20:289-293.
- Berman N. & Cynader M. (1976). Early versus late visual cortex lesions: effects on receptive fields in cat superior colliculus. *Experimental Brain Research* 25:131-137.
- Binns K.E. & Salt T.E. (1997). Post eye-opening maturation of visual receptive field diameters in the superior colliculus of normal- and dark-reared rats. *Developmental Brain Research* 99:263-266.
- Bishop P.O., Burke W. & Davis R. (1962). The identification of single units in central visual pathways. *Journal of Physiology* 162:409-431.
- Crair M.C., Gillespie D.C. & Stryker M.P. (1998). The role of visual experience in the development of columns in cat visual cortex. *Science* 279:566-570.
- Cynader M., Berman N. & Hein A. (1973). Cats reared in stroboscopic illumination: effects on receptive fields in visual cortex. *Proceedings of the National Academy of Science of the U.S.A.* 70:1353-4.
- Cynader M. & Cmerneko G. (1976). Abolition of direction selectivity in the visual cortex of the cat. *Science* 193:504-5.

- Drager U.C. & Hubel D.H. (1975). Responses to visual stimulation and relationship between visual auditory and somatosensory inputs in mouse superior colliculus. *Journal of Neurophysiology*. 38:690-713.
- Dreher B., Shameem N., Thong I.G. & McCall M.J. (1985). Development of cortical afferents and cortico-tectal efferents of the mammalian (rat) primary visual cortex. *Australian and New Zealand Journal of Ophthalmology* 13:251-261.
- Dyer R.S. & Annau Z. (1977). Flash evoked potentials from rat superior colliculus. *Pharmacology, Biochemistry and Behavior* 6:453-459.
- Fagiolini M., Pizzorusso T., Berardi N., Domenici L. & Maffei L. (1994). Functional postnatal development of the rat primary visual cortex and the role of visual experience: dark rearing and monocular deprivation. *Vision Research* 34:709-20.
- Finlay B.L., Schneps S.E., Wilson K.G. & Schneider G.E. (1978). Topography of visual and somatosensory projections to the superior colliculus in the golden hamster. *Brain Research* 142:223-235.
- Fortin S., Itaya S., Chemtob S. & Molotchnikoff S. (1997). ON and OFF field potentials in the rat superior colliculus during development. *Vision Research* 37:3079-3087.
- Fukuda Y. & Iwama K. (1978). Visual receptive-field properties of single cells in the rat superior colliculus. *Japanese Journal of Physiology*. 28:385-400.
- Fulton A.B. & Baker B.N. (1984). The relation of retinal sensitivity and rhodopsin in developing rat retina. *Invest. Ophthalmological and Visual Sciences* 25:647-651.
- Galli L. & Maffei L. (1988). Spontaneous impulse activity of rat retinal ganglion cells in prenatal life. *Science* 242:90-91.
- Gonzalez F., Perez R., Alonso J.M., Labandeira-Garcia J.L. & Acuna C. (1992). Responses of visual single cells in the superior colliculus of the albino rat to bright bars. *Archives Italiennes de Biologie* 130:249-261.
- Graham J., Pearson H.D., Berman N. & Murphy E.H. (1981). Laminar organization of superior colliculus in the rabbit: a study of receptive field properties of single units. *Journal of Neurophysiology* 45:915-932.
- Horseburgh G.M. & Sefton A.J. (1987). Cellular degeneration and synaptogenesis in the developing retina of the rat. *Journal of Comparative Neurology* 263:553-566.

- Horton J.C. & Hocking D.R. (1996). An adult-like pattern of ocular dominance columns in striate cortex of newborn monkeys prior to visual experience. *Journal of Neuroscience* 16:1791-1807.
- Huttenlocher P.R. (1967). Development of cortical neuronal activity in the neonatal cat. *Experimental Neurology* 17:247-262.
- Ikeda H. & Robbins J. (1988). Development of neurochemical separation of ON and OFF channels at retinal ganglion cells. *Documenta Ophthalmologica* 69:175-186.
- Ikeda H. & Sheardown M.J. (1983). Functional transmitters at retinal ganglion cells in cats. *Vision Research* 23:1161-1175.
- Itaya S.K., Fortin S. & Molotchnikoff S. (1995). Evolution of spontaneous activity in the developing rat superior colliculus. *Canadian Journal of Physiology and Pharmacology* 73:1372-1377.
- Itaya S.K. & Molotchnikoff S. (1990). First appearance of flash-evoked potentials in the neonatal rat superior colliculus. *Neuroscience Research Communication* 7:75-82.
- Kadoya S., Wolin L.R. & Massopust L.C. (1971). Photically evoked unit activity in the tectum of the squirrel monkey. *Journal of Comparative Neurology* 142:495-508.
- Kasper E.M., Larkman A.U., Lübke J. & Blakemore C. (1994). Pyramidal neurons in layer 5 of the rat visual cortex. II. Development of electrophysiological properties. *Journal of Comparative Neurology* 339:475-494.
- Linden R. & Perry V.H. (1983). Massive retinotectal projection in rats. *Brain Research* 272:145-149.
- Miyashita M., Kim D.S. & Tanaka S. (1997). Cortical direction selectivity without directional experience. *Neuroreport* 8:1187-1191.
- Mize R.R. & Murphy E.H. (1976). Alterations in receptive field properties of superior colliculus cells produced by visual cortex ablation in infant and adult cats. *Journal of Comparative Neurology* 168:393-424.
- Molotchnikoff S., Lamothe L., Cérat A. & Lachapelle P. (1986). Modification of light responses in the superior colliculus following cortical cryoblockade. *Journal of Neuroscience Research* 16:567-575.
- Pearson H.E., Berman N. & Murphy E.H. (1981). Stroboscopic rearing reduces direction selectivity in rabbit visual cortex. *Brain Research* 227:127-131.

- Pearson H.E. & Murphy E.H. (1983). Effects of stroboscopic rearing on the response properties and laminar distribution of single units in the rabbit superior colliculus. *Developmental Brain Research* 9:241-250.
- Ratto G.M., Robinson D.W., Yan B. & McNaughton P.A. (1991). Development of the light response in neonatal mammalian rods. *Nature* 351:654-657.
- Redgrave P., Dean P., Souki W. & Lewis G. (1981). Gnawing and changes in reactivity produced by microinjections of picrotoxin into the superior colliculus of rats. *Psychopharmacology (Berlin)* 75:198-203.
- Sahibzada N., Dean P. & Redgrave P. (1986). Movements resembling avoidance or orientation elicited by electrical stimulation of the superior colliculus in rats. *Journal of Neuroscience* 6:723-733.
- Shatz C.J. (1996). Emergence of order in visual system development. *Proceedings of the National Academy of Science of the U.S.A.* 93:602-608.
- Stein B.E. & Arigbede M.O. (1972). Unimodal and multimodal response properties of neurons in the cat's superior colliculus. *Experimental Neurology* 36:179-196.
- Stein B.E. & Dixon J.P. (1979). Properties of superior colliculus neurons in the golden hamster. *Journal of Comparative Neurology* 183:269-284.
- Stein B.E., Labos E. & Kruger L. (1973a). Sequence of changes in properties of neurons of superior colliculus of the kitten during maturation. *Journal of Neurophysiology* 36:667-679.
- Stein B.E., Labos E. & Kruger L. (1973b). Determinants of response latency in neurons of superior colliculus in kittens. *Journal of Neurophysiology* 36:680-689.
- Swindale N.V. (1981). Absence of ocular dominance patches in dark-reared cats. *Nature* 290:332-333.
- Vaney D.I. (1994). Territorial organization of direction-selective ganglion cells in rabbit retina. *Journal of Neuroscience* 14:6301-6316.
- Wallace M.T., McHaffie J.G. & Stein B.E. (1997). Visual response properties and visuotopic representation in the newborn monkey superior colliculus. *Journal of Neurophysiology* 78:2732-2741.
- Warton S.S. & Jones D.G. (1985). Postnatal development of the superficial layers in the rat superior colliculus: a study with Golgi-Cox and Klüver-Barrera techniques. *Experimental Brain Research* 58:490-502.

- Warton S.S. & McCart R. (1989). Synaptogenesis in the stratum griseum superficiale of the rat superior colliculus. *Synapse* 3:136-148.
- Wassle H. & Illing R.-B. (1980). The retinal projection to the superior colliculus in the cat: a quantitative study with HRP. *Journal of Comparative Neurology* 190:333-356.
- Wiesenfeld Z. & Branchek T. (1976). Refractive state and visual acuity in the hooded rat. *Vision Research* 16:823-827.
- Wiesenfeld Z. & Kornel E.E. (1975). Receptive-field of single cells in the visual cortex of the hooded rat. *Brain Research* 94:401-412.
- Wyatt H.J. & Daw N.W. (1975). Directionally sensitive ganglion cells in the rabbit retina: specificity for stimulus direction size and speed. *Journal of Neurophysiology* 38:613-626.
- Zhou Y., Leventhal A.G. & Thompson K.G. (1995). Visual deprivation does not affect the orientation and direction sensitivity of relay cells in the lateral geniculate nucleus of the cat. *Journal of Neuroscience* 15:689-698.

*Discussion générale
et conclusion*

La formation de connexions précises dans le système nerveux fait appel à deux ensembles de mécanismes distincts: ceux qui requièrent de l'activité neuronale et ceux qui en sont indépendants (Goodman & Shatz, 1993). La croissance de l'axone, la sélection de la voie à suivre et la sélection de la cible appropriée sont autant d'événements de l'ontogenèse qui sont indépendants de la présence d'activité électrique neuronale. Dans le système visuel, plus particulièrement au niveau de la voie rétino-colliculaire, la carte topographique obtenue suite à l'établissement de ces projections initiales est relativement grossière. Dans le CS, les terminaisons axonales provenant de cellules ganglionnaires voisines sont très étendues. Le raffinement de la carte rétinotopique apparaît graduellement lorsque les terminaisons axonales sont remodelées de façon à restreindre leurs ramifications pour contacter un plus petit nombre de cellules tectales. Plusieurs données expérimentales indiquent que ce processus dépend de l'activité électrique des neurones (Constantine-Platon et al., 1990; Shatz, 1990; Udin & Fawcett, 1990). Au cours du développement du système visuel, deux formes d'activité neuronale peuvent potentiellement contribuer au raffinement de ces connexions: l'activité visuo-dépendante et l'activité visuo-indépendante.

Activité visuo-indépendante

Le système visuel de la plupart des mammifères est fonctionnellement immature à la naissance. Les rongeurs, les lagomorphes et les carnivores, par exemple, naissent aveugles et sont incapables de réagir à des stimuli visuels. Les paupières de ces animaux sont généralement closes à la naissance et il faut attendre quelques jours avant de détecter la présence d'activité électrique au niveau des structures cibles de la rétine. Cette activité électrique initiale, que l'on croit indispensable à la maturation structurelle et fonctionnelle des connexions dans l'ensemble du système visuel, est indépendante des stimuli

visuels et on l'appelle pour cette raison activité visuo-indépendante ou encore activité spontanée (AS).

Chez le rat, l'AS des neurones du CS apparaît quelques jours suivant la naissance (~P5-P6, Itaya et al., 1995). D'autres travaux ont toutefois permis la détection d'AS au niveau de la rétine bien avant la naissance de l'animal (Galli & Maffei, 1988; Maffei & Galli-Resta, 1990). Cette AS rétinienne, qui est encore présente après P5, ne semble cependant pas être à l'origine de l'AS colliculaire puisque cette dernière n'est pas affectée lorsque la transmission dans le nerf optique est bloquée par l'ajout de lidocaïne (article 1, figure 2).

Bien qu'elle ne semble pas directement transmise au CS via une synapse classique (ou mature), l'AS rétinienne n'en demeure pas moins essentielle pour les neurones colliculaires. On observe en effet une nette augmentation de la dégénérescence des cellules colliculaires lorsqu'elle est bloquée temporairement par la TTX par exemple pour une période suffisamment longue (Galli-Resta et al., 1993). Ceci suggère que l'AS rétinienne, sans nécessairement contribuer de façon marquée à l'émission de potentiels d'action par les neurones du CS au cours de cette période, est indispensable à leur survie. Il est donc fort probable que cette AS provoque la libération de facteurs trophiques au niveau du CS. Ces facteurs assureraient la survie des neurones colliculaires sans pour autant provoquer l'émission de potentiels d'action. Mentionnons que cette relation n'est pas unilatérale mais plutôt bilatérale car certains facteurs trophiques libérés par les neurones du CS assurent également la survie des cellules ganglionnaires de la rétine. Un groupe de chercheurs a récemment démontré qu'un facteur trophique, le BDNF (brain-derived neurotrophic factor), prévient la mort prématurée des cellules ganglionnaires de la rétine lorsqu'il est injecté dans le CS dans les jours suivant la naissance (Ma et al., 1998). L'AS colliculaire pourrait être impliquée dans la libération de ce facteur trophique (et peut-être d'autres) à l'intérieur du CS afin d'assurer la

survie des neurones afférents, qu'ils soient d'origine rétinienne, corticale ou autre.

Au cours de la dernière décennie, plusieurs chercheurs se sont intéressés à l'AS d'origine rétinienne. Les résultats de ces recherches indiquent notamment qu'elle est essentielle pour:

- ◆ la survie des neurones cibles dans le CS du rat (Galli-Resta et al., 1993),
- ◆ l'établissement des colonnes cellulaires de dominance oculaire dans le tectum de la grenouille (Cline et al., 1987; Reh & Constantine-Paton, 1985) et du poisson rouge (Boss & Schmidt, 1984; Meyer, 1982),
- ◆ la formation des couches cellulaires de dominance oculaire dans le GLD chez le chat (Shatz & Stryker, 1988).

Très peu de recherches se sont cependant intéressées à l'AS des structures recevant des afférences rétiniennes directes comme le GLD, le prétectum, le système optique accessoire et le CS.

Les expériences réalisées chez la souris (*in vitro*) ont démontré que les cellules du GLD sont spontanément actives peu après la naissance (Mooney et al., 1996). C'est au cours de cette période (P0-P8) que la ségrégation des couches de dominance oculaire apparaît dans le GLD de la souris (Godement et al., 1984). Il semble que l'activité post-synaptique enregistrée dans le GLD pendant la première semaine postnatale soit parfaitement corrélée avec l'AS rétinienne. De plus, ces potentiels post-synaptiques donnent naissance à des PA dont le patron d'émission reflète celui des cellules ganglionnaires de la rétine: décharges brusques de PA (bursts) entrecoupées par des périodes de silence d'une ou deux minutes. Des patrons d'activité similaire ont également été trouvés dans la rétine du furet (Meister et al., 1991) et du rat (Galli & Maffei,

1988). Ces résultats indiquent que l'AS présente dans le GLD est une copie conforme de l'AS rétinienne. Cette copie de l'AS rétinienne, qu'on croit relayée au cortex visuel, est probablement impliquée dans le raffinement de la carte visuotopique corticale et dans le développement de certaines propriétés corticales (qui restent encore à définir).

Notre étude est la première à démontrer l'existence de plusieurs patrons d'émission de potentiels d'action spontanés dans le CS (article 1, figure 1). Ces différents patrons, que l'on soupçonne être associés à des types cellulaires distincts, ne sont cependant pas reliés à une (ou des) période temporelle particulière de la maturation. Il est intéressant de noter que les différents patrons d'AS observés dans le CS du rat sont complètement absents du GLD de la souris (Mooney et al., 1996). Ceci suggère fortement que les activités spontanées de ces deux structures proviennent de sources différentes.

Pour mieux comprendre l'origine et le rôle des potentiels d'action spontanés enregistrés dans le CS, il s'avère utile de vérifier s'il existe des corrélations temporelles entre l'émergence de cette activité et l'apparition de nouvelles molécules (neurotransmetteurs, neuromodulateurs, messagers rétrogrades, etc.) et/ou de nouveaux récepteurs. Bon nombre de facteurs neurochimiques sont présents dans le CS. L'expression de ces molécules (ou de leur enzyme de synthèse) au cours de l'ontogenèse a d'ailleurs fait l'objet de quelques études au cours des dernières années et il est pertinent de comparer ces résultats avec les nôtres afin de faciliter leur interprétation. Nous allons nous attarder à trois éléments qui comportent un intérêt particulier pour le développement du système nerveux central: le GABA, le NO et les récepteurs au glutamate de type NMDA.

L'acide gamma-aminobutyrique (GABA)

Le GABA est un neurotransmetteur inhibiteur majeur dans le système nerveux central des mammifères. Chez plusieurs espèces, il est exprimé très tôt

au cours de l'ontogenèse (Mize et al., 1996). Il semble toutefois que son rôle pendant le développement ne soit pas uniquement lié à la neurotransmission. Plusieurs recherches ont en effet démontré que le GABA provoque l'augmentation de la longueur et du nombre de neurites dans les cultures de cellules corticales (Spoerri, 1987), cérébelleuses (Hansen et al., 1987) et tectales (Michler-Stuke & Wolff, 1987). Ces résultats montrent qu'une des fonctions du GABA lors de l'ontogenèse est de faciliter l'extension des neurites.

Parmi les neurotransmetteurs inhibiteurs, le GABA est celui qui se démarque le plus par son abondance dans le CS des mammifères (Okada, 1992). Les études immunocytochimiques ont en effet démontré que le GABA est présent dans 40 à 50% des neurones colliculaires qui sont distribués dans les quatre couches supérieures du CS (Mize, 1988). Chez le rat, les neurones GABAergiques sont déjà présents dans le CS à P0, suggérant son apparition avant même la naissance de l'animal (Virgili et al., 1990; Warton et al., 1990). De plus, les expériences réalisées *in vitro* ont montré que des potentiels post-synaptiques inhibiteurs spontanés, attribuables au GABA, sont détectables après deux jours d'incubation à partir de P0 (Warton et al., 1990). Ces résultats indiquent qu'il y a déjà une libération de GABA par exocytose peu de temps après la naissance. Il est intéressant de noter que cette activité synaptique spontanée précède de quelques jours l'apparition des premiers potentiels d'action spontanés tels que nous les avons enregistrés dans le CS à partir de P5-P6. Il semble également que cette activité synaptique spontanée soit d'origine colliculaire puisque ces expériences ont été réalisées *in vitro* avec des tranches de CS. Ce dernier point consolide notre hypothèse selon laquelle l'AS dans le CS est indépendante de l'AS rétinienne.

L'oxyde nitrique (NO) et les récepteurs NMDA

Le NO est un radical libre gazeux qu'on croit impliqué en tant que messenger rétrograde dans la stabilisation des synapses lors du développement (Garthwaite, 1991). Le NO est produit dans les cellules post-synaptiques suite à

l'activation des récepteurs au glutamate de type NMDA. Cette activation provoque une augmentation intracellulaire en calcium qui active l'enzyme de synthèse du NO, l'oxyde nitrique synthase (NOS) et mène à la production et à la libération de NO. On pense que la libération post-synaptique de NO active la guanylate cyclase, créant une augmentation de guanosine monophosphate cyclique (GMPc) dans les terminaisons pré-synaptiques. Ceci provoque une libération accrue de neurotransmetteur et la consolidation des synapses qui contactent les neurones contenant du NO (Gally et al., 1990). Plusieurs études ont été réalisées récemment afin de révéler le rôle du NO lors du développement. Au cours de ces expériences, on utilise une stratégie qui consiste à inactiver de façon prolongée l'activité du NOS. Grâce à ces recherches, on sait à présent que le NO est impliqué dans l'élimination des projections rétino-tectales ipsilatérales chez le poulet (Williams et al., 1994), dans la ségrégation des afférences rétiniennes ipsi- et controlatérales dans le CS chez le rat (Wu et al., 1996) et dans la ségrégation des couches de dominance oculaire du GLD en 2 sous-couches ON et OFF chez le furet (Cramer & Sur, 1996). De plus, la présence du NO dans le tectum du poulet, dans le CS du rat et dans le GLD du furet est étroitement associée à celle des récepteurs NMDA. L'inactivation prolongée de ces récepteurs provoque un effet similaire à celui de l'inactivation du NOS (Ernst et al., 1999; Simon et al., 1992).

Des études réalisées chez le poulet ont tenté de démontrer une implication du NO tectal sur la dégénérescence massive des cellules ganglionnaires de la rétine. La présence de NO dans le tectum et la dégénérescence de plus de 60% des afférences rétiniennes sont deux événements corrélés dans le temps chez le poulet, il est donc légitime de supposer qu'ils aient une relation de cause à effet. Il semble cependant que l'inactivation prolongée du NOS n'ait aucune incidence sur la proportion de cellules ganglionnaires qui dégénèrent (Wu et al., 1996). Dans le CS du rat, les premiers neurones contenant du NOS sont détectés à partir de P7 et leur nombre atteint un maximum à P14-P15, soit à peu près en même temps que

l'ouverture des paupières (Tenorio et al., 1995). Les neurones exprimant le NOS forment une population qui inclut des cellules de plusieurs types: marginales, horizontales, à champ dendritique restreint et à champ dendritique étendu (Tenorio et al., 1996). La dégénérescence des cellules ganglionnaires se produit quant à elle entre P0 et P10, avec un maximum d'activité à P5 (Perry et al., 1983). À la lumière de cette comparaison, on constate qu'il s'avère peu probable que le NO ait une influence marquée sur cette dégénérescence massive des cellules ganglionnaires de la rétine du rat. En contrepartie, le NO est probablement impliqué dans le raffinement de la carte topographique grossièrement établie au cours de la première semaine postnatale (Simon & O'Leary, 1992).

Il a été précédemment mentionné que la présence de NO dans certaines régions du système nerveux est étroitement associée à celle des récepteurs NMDA (Ernst et al., 1999; Simon et al., 1992). La présence des récepteurs au glutamate de type NMDA n'est toutefois pas un indicateur de la présence de NO. Les terminaisons post-synaptiques utilisent en effet plusieurs messagers rétrogrades différents et ne sont pas, par conséquent, limitées au seul NO (Fitzsimonds & Poo, 1998). Plusieurs études moléculaires ont décrit l'apparition des différents types de récepteur au glutamate NMDA (formés de différentes combinaisons de sous-unités) dans le système nerveux du rat au cours du développement (Monyer et al., 1994; Wenzel et al., 1996; Zhong et al., 1995). La sous-unité NR1 (commune à tous les récepteurs NMDA) est présente dès la naissance dans le CS et ce, à des niveaux similaires à ceux observés chez l'animal adulte. La proportion de la sous-unité NR2A augmente et celle de NR2B diminue abruptement à l'ouverture des paupières (Shi et al., 1997). Le lien entre ces changements et l'apparition de l'activité visuo-dépendante n'est cependant pas encore établi et d'autres expériences seront nécessaires pour élucider ce point.

Des études récentes ont permis de mettre en évidence des potentiels post-synaptiques excitateurs spontanés dans le CS du rat lors du développement. Cette activité post-synaptique excitatrice est attribuable à l'activation des récepteurs NMDA suite à une libération spontanée de glutamate dans le CS (Shi et al., 1997). Malheureusement, ces expériences ont été menées avec des rats de plus de 8 jours postnataux; on ne sait donc pas pour l'instant si ces potentiels post-synaptiques spontanés existent dans le CS lors de la première semaine postnatale.

Les résultats obtenus dans le cadre de cette thèse représentent un premier pas dans l'étude de l'AS colliculaire. Bien sûr, ils sont essentiels puisqu'ils représentent des données de base dans ce domaine, mais ils ne permettent pas encore d'expliquer le rôle exact joué par cette AS au cours du développement. L'hypothèse la plus plausible pour l'instant est que l'AS colliculaire soit à l'origine de la libération de facteurs trophiques dans le CS ou au niveau des cibles des neurones colliculaire (via les terminaisons axonales). L'AS colliculaire est probablement également impliquée dans la maturation des circuits neuronaux intra-colliculaires (afin que ceux-ci soient déjà fonctionnels à l'ouverture des paupières) et dans l'établissement de relations topographiques précises entre le CS et ses principales cibles (thalamus, formation réticulée, etc.). On constate à cette étape que plusieurs hypothèses peuvent être émises et que d'autres expériences seront nécessaires afin de connaître avec plus de précision le rôle joué par l'AS colliculaire. L'origine de l'AS enregistrée dans le CS se définit quant à elle de plus en plus. Nos résultats concernant l'inactivation du nerf optique combinés avec ceux obtenus sur l'AS du GLD suggèrent que l'AS colliculaire ne provient pas directement de la rétine. La présence de potentiels post-synaptiques inhibiteurs et excitateurs dans les préparations *in vitro* de CS au cours du développement laisse plutôt présager que les potentiels d'action spontanés sont générés dans les neurones du CS.

Activité visuo-dépendante

Chez le rat, l'activité visuo-dépendante des neurones du CS débute à partir de P13, soit environ une semaine après l'apparition des premiers potentiels d'action spontanés. Dans le cadre de ce travail, nous avons caractérisé cette activité évoquée initiale chez les jeunes rats afin de la comparer à l'activité visuo-dépendante retrouvée chez l'adulte.

Plusieurs résultats semblent indiquer que l'activité visuo-dépendante est initialement immature:

- ◆ Les latences des réponses suite à des stimuli ON et OFF (article 2, figure 1) ou à un flash de courte durée (article 3, figure 1) sont plus longues que chez l'adulte.
- ◆ Les potentiels oscillatoires évoqués dans les réponses de masse sont initialement absents et apparaissent seulement autour de P15 et leur fréquence augmente graduellement au cours de la maturation (article 2, figures 1 et 5).
- ◆ La proportion de cellules ayant un champ récepteur de type ON ou OFF est nettement différente chez le jeune animal (P13-P14) quand on la compare aux autres groupes d'âge (article 3, figure3).

Tous ces résultats suggèrent que le substrat anatomique nécessaire pour générer l'activité visuo-dépendante est initialement incomplet. Mentionnons toutefois que l'activité évoquée apparaît avant même l'ouverture des paupières. Il est en conséquence peu probable que cette activité précoce soit utilisée par le CS pour générer les réactions d'attention ou d'évitement, comme c'est le cas après l'ouverture des paupières. L'activité observée au cours de cette période de pré-ouverture des paupières pourrait, en contrepartie, être impliquée dans le raffinement des connexions rétino-colliculaires (ou autres), comme c'est le cas

chez le chat et le singe lors de la formation des colonnes de dominance oculaire dans le cortex visuel (LeVay et al., 1980). Il a d'ailleurs récemment été démontré que cette activité initiale est essentielle pour le développement normal de la sélectivité à l'orientation et à la direction ainsi que pour l'établissement des colonnes de dominance oculaire dans le cortex visuel du rat (Fagiolini et al., 1994). Au niveau du CS, il semble que l'activité visuelle soit importante pour la maturation des réponses liées aux récepteurs NMDA (Binns & Salt, 1998), la privation de cette activité entraînant une modification significative du degré de réponse de ces récepteurs.

Malgré l'immaturation de certaines propriétés sensorielles du CS avant l'ouverture des paupières, on constate en parallèle que les neurones colliculaires démontrent un niveau de sophistication élevé. Deux caractéristiques des champs récepteurs indiquent en effet dès P13-P14, soit 24-48 heures avant l'ouverture des paupières, un niveau de maturité similaire à celui retrouvé chez l'animal adulte:

- ◆ La taille moyenne des champs récepteurs est pratiquement identique à celle observée chez l'adulte (article 3, figure 2).
- ◆ La distribution des cellules selon leur sélectivité à la direction demeure stable au cours du développement (article 3, figure 5).

Ces résultats, en particulier en ce qui concerne la sélectivité à la direction, indiquent la présence de propriétés relativement complexes et ce, avant même l'ouverture des paupières. La présence de sélectivité à la direction chez le jeune animal nécessite, par exemple, une organisation spécifique du réseau de connexions excitatrices et inhibitrices. Tel niveau de maturité élevé peut sembler paradoxal si on prend en considération les résultats mentionnés précédemment à propos des latences, des potentiels oscillatoires et des types de champs

récepteurs. Mais cette dualité, maturité vs immaturité, est véritablement présente dans le CS et on se doit de l'interpréter.

Certaines propriétés (taille des champs récepteurs, sélectivité à la direction) sont en effet déjà matures au moment où les premières réponses visuelles apparaissent dans le CS. Ceci suggère fortement que l'établissement de ces propriétés s'est réalisé en l'absence d'inputs visuels. Le substrat anatomique nécessaire à la manifestation de ces propriétés s'érigerait donc, partiellement ou complètement, en l'absence d'activité visuelle. Pourtant, ces propriétés relativement complexes nécessitent une organisation synaptique précise. Or, il a été démontré que la synaptogenèse de la voie rétino-colliculaire est peu affectée par l'activité visuelle. On ne note pas de différence significative dans la distribution spatiale des synapses lorsque les animaux (rats ou lapins) se développent en conditions d'obscurité totale (Bakkum et al., 1991; Fukui & Bedi, 1991; Vrensen & De Groot, 1977). Cela ne signifie toutefois pas que les synapses elles-mêmes ne sont pas affectées par l'activité visuelle. En contrepartie, il serait légitime de supposer que l'activité spontanée rétinienne et/ou colliculaire puisse être impliquée dans le développement des propriétés des champs récepteurs déjà établies à l'ouverture des paupières, puisqu'il s'agit de la seule manifestation d'activité électrique dans la voie rétino-colliculaire durant cette période.

D'autres propriétés associées à la vision, comme les latences, les potentiels oscillatoires, la proportion de cellules avec des champs récepteurs ON ou OFF, sont passablement modifiées au cours du développement. Cela ne signifie pas pour autant qu'il faille absolument attribuer ces modifications à l'activité d'origine visuelle. La diminution des latences (article 3, figure1), par exemple, s'explique aisément par la formation de myéline à partir de P15 (Warton & Jones, 1985). La diminution du délai synaptique, résultant de l'augmentation globale de l'efficacité des synapses lors de la synaptogenèse,

pourrait également contribuer significativement à diminuer les latences des réponses (Warton & McCart, 1989).

Parmi tous les résultats présentés sur l'activité visuo-dépendante, les plus intrigants sont probablement ceux qui concernent les potentiels oscillatoires OFF (article 2). La présence d'une activité oscillatoire similaire a été détectée dans plusieurs structures nerveuses et ce, aussi bien dans le système olfactif (Gelperin & Tank, 1990; Laurent & Davidowitz, 1994; Wehr & Laurent, 1996) que visuel (Eckhorn et al., 1993; Engel et al., 1990; Molotchnikoff et al., 1996; Neuenschwander & Singer, 1996;). Suite à l'hypothèse proposée par Eckhorn et al. (1988), Gray et al. (1989), et Gray et Singer (1989), plusieurs ont tenté de démontrer un lien entre cette activité rythmique et l'encodage de l'information sensorielle. Il semble que l'activité oscillatoire soit effectivement associée à l'encodage dans le système olfactif, mais cette hypothèse demeure controversée pour l'instant en ce qui concerne le système visuel (Ghose & Freeman, 1992; Young et al., 1992). Les expériences que nous avons menées indiquent que les oscillations ne sont pas directement liées à la configuration du stimulus visuel. Des stimuli de formes et tailles diverses évoquent des oscillations pratiquement identiques. Dans cette optique, il semble raisonnable de penser pour l'instant que ces oscillations ne sont pas associées à l'encodage de l'information visuelle. Nous avons proposé qu'elles puissent être impliquées dans le maintien des potentiels membranaires à des niveaux de dépolarisation élevés. Ceci permettrait d'optimiser les réponses (saccades, orientation, évitement, etc..) dans le cas où une nouvelle cible apparaîtrait dans le champ visuel. Cette hypothèse est relativement précaire à l'heure actuelle, mais elle s'avère facile à vérifier par des enregistrements intracellulaires.

En conclusion

Cette étude avait pour objectif général la caractérisation de l'activité visuo-indépendante et visuo-dépendante dans le CS du rat au cours du

développement post-natal. Plusieurs des résultats obtenus au terme de ce projet s'avèrent intéressants, voire même inattendus. Parmi ceux-ci, notons l'indépendance de l'AS colliculaire vis-à-vis l'AS rétinienne et la coexistence de propriétés visuelles "matures" (taille des champs récepteurs, sélectivité à la direction) et "immatures" (latences des réponses, etc.) chez le jeune rat tout juste avant l'ouverture des paupières.

La plupart des résultats issus de cette recherche ne représentent toutefois pas un aboutissement. Ces éléments constituent plutôt des données de base qui serviront à l'élaboration de futurs projets de recherche dans ce domaine. Dans un premier temps, afin de mieux cerner la nature des cellules colliculaires spontanément actives, on peut envisager une étude de leur sensibilité aux neurotransmetteurs (glutamate, GABA, etc.). À la lumière de ces expériences, il sera peut-être également intéressant de faire des enregistrements intracellulaires (probablement *in vitro*) pour entre autre 1) vérifier l'existence de courant(s) de fuite permettant la genèse de potentiels d'action spontanés et 2) marquer les cellules spontanément actives afin d'en connaître la morphologie. Dans un deuxième temps, afin de définir le rôle de cette AS colliculaire au cours du développement, il serait essentiel d'étudier ce qui se produit lorsqu'on la bloque pour une période suffisamment longue. Si notre hypothèse s'avère exacte, ce blocage réduira la libération de certains facteurs trophiques (BDNF et autres?), ce qui aura un effet sur la survie des afférences rétiniennes. De plus, si l'AS colliculaire est impliquée, comme on le croit, dans l'établissement des propriétés visuelles déjà présentes à l'ouverture des paupières (taille des champs récepteurs, sélectivité à la direction), son blocage aura certainement un effet marqué sur ces propriétés. Il serait alors intéressant de vérifier si ces propriétés sont altérées chez les animaux de P13-P14.

Il est à l'heure actuelle prématuré de tenter de définir avec précision l'action de l'activité visuelle sur le développement des propriétés abordées dans le cadre de cette thèse. Notre étude visait principalement à déterminer le niveau

de maturité des différentes propriétés des champs récepteurs visuels lorsque l'activité visuo-dépendante émerge. Pour connaître l'influence de l'activité visuo-dépendante sur le développement des propriétés que nous avons étudiées, des expériences sur des animaux élevés en conditions d'obscurité sont nécessaires. Ces expériences permettraient d'élucider le rôle de l'activité visuo-dépendante sur le développement des potentiels oscillatoires, des types cellulaires physiologiques (ON, OFF, ON-OFF, sensible au mouvement) et des différentes propriétés des champs récepteurs.

Les résultats de ces recherches futures, combinés aux nôtres, permettront éventuellement une meilleure compréhension du rôle de l'activité électrique dans le développement du système visuel.

Bibliographie

- Bakkum B.W., Benevento L.A. & Cohen R.S. (1991). Effects of light/dark- and dark-rearing on synaptic morphology in the superior colliculus and visual cortex of the postnatal and adult rat. *Journal of Neuroscience Research* 28:65-80.
- Binns K.E. & Salt T.E. (1998). Developmental changes in NMDA receptor-mediated visual activity in the rat superior colliculus, and the effect of dark rearing. *Experimental Brain Research* 120:335-344.
- Boss V.C. & Schmidt J.T. (1984). Activity and the formation of ocular dominance patches in dually innervated tectum of goldfish. *Journal of Neuroscience* 4:2891-2905.
- Cline H.T., Debski E.A. & Constantine-Paton M. (1987). N-methyl-D-aspartate receptor antagonist desegregates eye-specific stripes. *Proceedings of the National Academy of Science of the U.S.A.* 84:4342-4345.
- Constantine-Platon M., Cline H.T. & Debski E. (1990). Patterned activity, synaptic convergence, and the NMDA receptor in developing visual pathways. *Annual Review of Neuroscience* 13:129-154.
- Cramer K.S. & Sur M. (1996). The role of NMDA receptors and nitric oxide in retinogeniculate development. In: *Neural development and plasticity, Progress in Brain Research* 108:235-244. Ed: Mize R.R. & Erzurumlu R.S., Elsevier Publishers.
- Eckhorn R., Bauer R., Jordan W., Brosch M., Kruse W., Munk M. & Reitboeck H.J. (1988). Coherent oscillations: a mechanism of feature linking in the visual cortex? Multiple electrode and correlation analyses in the cat. *Biological Cybernetics* 60:121-130.
- Eckhorn R., Frien A., Bauer R., Woelbern T. & Kehr H. (1993). High frequency (60-90 Hz) oscillations in primary visual cortex of awake monkey. *Neuroreport* 4:243-246.
- Engel A.K., König P., Gray C.M. & Singer W. (1990). Stimulus-dependent neuronal oscillations in cat visual cortex: inter-columnar interactions as determined by cross-correlation analysis. *European Journal of Neuroscience* 2:588-606.
- Ernst A.F., Wu H.H., El-Fakahany E.E. & McLoon S.C. (1999). NMDA receptor-mediated refinement of a transient retinotectal projection during development requires nitric oxide. *The Journal of Neuroscience* 19:229-235.
- Fagiolini M., Pizzorusso T., Berardi N., Domenici L. & Maffei L. (1994). Functional postnatal development of the rat primary visual cortex and the role of visual experience: dark rearing and monocular deprivation. *Vision Research* 34:709-720.
- Fitzsimonds R.M. & Poo M.M. (1998). Retrograde signaling in the development and modification of synapses. *Physiological Reviews* 78:143-70.

- Fukui Y. & Bedi K.S. (1991). Quantitative study of the development of neurons and synapses in rats reared in the dark during early postnatal life. 1. Superior colliculus. *Journal of Anatomy* 174:49-60.
- Galli L. & Maffei L. (1988). Spontaneous impulse activity of rat retinal ganglion cells in prenatal life. *Science* 242:90-91.
- Galli-Resta L., Ensini M., Fusco E., Gravina A. & Margheritti B. (1993). Afferent spontaneous electrical activity promotes the survival of target cells in the developing retinotectal system of the rat. *Journal of Neuroscience* 13:243-250.
- Gally J.A., Montague P.R., Reeke G.N. & Edelman G.M. (1990). The NO hypothesis: possible effects of a short-lived, rapidly diffusible signal in the development and function of the nervous system. *Proceedings of the National Academy of Science of the U.S.A.* 87:3547-3551.
- Gartwaite J. (1991). Glutamate, nitric oxide and cell-cell signalling in the nervous system. *Trends in Neuroscience* 14:60-67.
- Gelperin A. & Tank D.W. (1990). Odour-modulated collective network oscillations of olfactory interneurons in a terrestrial mollusc. *Nature* 345:437-440.
- Ghose G.M. & Freeman R.D. (1992). Oscillatory discharge in the visual system: does it have a functional role? *Journal of Neurophysiology* 68:1558-1574.
- Godement P., Salaun J. & Imbert M. (1984). Prenatal and postnatal development of retinogeniculate and retinocollicular projections in the mouse. *Journal of Comparative Neurology* 230:552-575.
- Goodman C.S. & Shatz C.J. (1993). Developmental mechanisms that generate precise patterns of neuronal connectivity. *Cell* 72 and *Neuron* 10 (suppl.) 77-98.
- Gray C.M., Konig P., Engel A.K. & Singer W. (1989). Oscillatory responses in cat visual cortex exhibit inter-columnar synchronization which reflects global stimulus properties. *Nature* 338:334-337.
- Gray C.M. & Singer W. (1989). Stimulus-specific neuronal oscillations in orientation columns of cat visual cortex. *Proceedings of the National Academy of Science of the USA* 86:1698-1702.
- Hansen G.H., Meier E., Abraham J. & Schousboe A. (1987). Trophic effects of GABA on cerebellar granule cells in culture. In: *Neurotrophic activity of GABA during development*. Ed: Redburn D.A & Schousboe A., Alan R. Liss Publisher, New York, pp. 109-138.
- Itaya S.K., Fortin S. & Molotchnikoff S. (1995). Evolution of spontaneous activity in the developing rat superior colliculus. *Canadian Journal of Physiology and Pharmacology* 73:1372-1377.

- Laurent G. & Davidowitz H. (1994). Encoding of olfactory information with oscillating neural assemblies. *Science* 265:1872-1875.
- LeVay S., Wiesel T.N. & Hubel D.H. (1980). The development of ocular dominance columns in normal and visually deprived monkeys. *Journal of Comparative Neurology* 191:1-51.
- Ma Y.T., Hsieh T., Forbes M.E., Johnson J.E. & Frost D.O. (1998). BDNF injected into the superior colliculus reduces developmental retinal ganglion cell death. *Journal of Neuroscience* 18:2097-2107.
- Maffei L. & Galli-Resta L. (1990). Correlation in the discharges of neighboring rat retinal ganglion cells during prenatal life. *Proceedings of the National Academy of Science of the USA* 87:2861-2864.
- Meister M., Wong R.O.L., Baylor D.A. & Shatz C.J. (1991). Synchronous bursts of action potentials in ganglion cells of the developing mammalian retina. *Science* 252:939-943.
- Meyer R.L. (1982). Tetrodotoxin blocks the formation of ocular dominance columns in goldfish. *Science* 218:589-591.
- Michler-Stuke A. & Wolff J.R. (1987). Facilitation and inhibition of neurite elongation by GABA in chick tectal neurons. In: *Neurotrophic activity of GABA during development*. Ed: Redburn D.A & Schousboe A., Alan R. Liss Publisher, New York, pp. 253-266.
- Mize R.R. (1988). Immunocytochemical localization of gamma-aminobutyric acid (GABA) in the cat superior colliculus. *Journal of Comparative Neurology* 276:169-187.
- Mize R.R., Banfro F.T. & Scheiner C.A. (1996). Pre- and postnatal expression of amino acid transmitters, calcium binding proteins, and nitric oxide synthase in the developing superior colliculus. In: *Neural development and plasticity, Progress in Brain Research* 108:313-332. Ed: Mize R.R. & Erzurumlu R.S., Elsevier Publishers.
- Molotchnikoff S. Shumikhina S. & Moisan L.E. (1996). Stimulus-dependent oscillations in the cat visual cortex: differences between bar and grating stimuli. *Brain Research* 731:91-100.
- Monyer H., Burnashev N., Laurie D.J., Sakmann B. & Seeburg P.H. (1994). Developmental and regional expression in the rat brain and functional properties of four NMDA receptors. *Neuron* 12:529-540.
- Mooney R., Penn A.A., Gallego R. & Shatz C.J. (1996). Thalamic relay of spontaneous retinal activity prior to vision. *Neuron* 17:863-874.
- Neuenschwander S. & Singer W. (1996). Long-range synchronization oscillatory light responses in the cat retina and lateral geniculate nucleus. *Nature* 379:728-733.

- Okada Y. (1992). The distribution and function of gamma-aminobutyric acid (GABA) in the superior colliculus. In: GABA in the Retina and Central Visual System, Progress in Brain Research 90:249-262. Ed: Mize R.R., Marc R.E. and Sillito A.M., Elsevier Publishers.
- Perry V.H., Henderson Z. & Linden R. (1983). Postnatal changes in retinal ganglion cell and optic axon populations in the pigmented rat. *Journal of Comparative Neurology* 219:356-368.
- Reh T.A. & Constantine-Paton M. (1985). Eye-specific segregation requires neural activity in three-eyed *Rana pipiens*. *Journal of Neuroscience* 5:1132-1143.
- Shatz C.J. & Stryker M.P. (1988). Prenatal tetrodotoxine infusion blocks segregation of retinogeniculate afferents. *Science* 242:87-89.
- Shatz C.J. (1990). Impulse activity and the patterning of connections during CNS development. *Neuron* 5:745-756.
- Shi J., Aamodt S.M. & Constantine-Paton M. (1997). Temporal correlations between functional and molecular changes in NMDA receptors and GABA neurotransmission in the superior colliculus. *Journal of Neuroscience* 17:6264-6276.
- Simon D.K. & O'Leary D.D.M. (1992). Development of topographic order in the mammalian retinocollicular projections. *Journal of Neuroscience* 12:1212-1232.
- Simon D.K., Prusky G.T., O'Leary D.D.M. & Constantine-Paton M. (1992). N-Methyl-D-aspartate receptor antagonists disrupt the formation of a mammalian neural map. *Proceedings of the National Academy of Science of the U.S.A.* 89:10593-10597.
- Spoerri P.E. (1987). GABA-mediated developmental alternation in a neuronal cell line in cultures of cerebral and retinal neurones. In: *Neurotrophic activity of GABA during development*. Ed: Redburn D.A & Schousboe A., Alan R. Liss Publisher, New York, pp. 189-220.
- Tenorio F., Giraldo-Guimaraes A. & Mendez-Otero R. (1995). Developmental changes of nitric oxide synthase in the rat superior colliculus. *Journal of Neuroscience Research* 42:633-637.
- Tenorio F., Giraldo-Guimaraes A. & Mendez-Otero R. (1996). Morphology of NADPH-diaphorase positive cells in the retinoreceptive layers of the developing superior colliculus. *International Journal of Developmental Neuroscience* 14:1-10.
- Udin S.B. & Fawcett J.W. (1990). Formation of topographic maps. *Annual Review of Neuroscience* 11:289-297.
- Virgili M., Barnabei O. & Contestabile A. (1990). Regional maturation of neurotransmitter-related and glial markers during postnatal development in the rat. *International Journal of Developmental Neuroscience* 8:159-166

- Vrensen G. & De Groot D. (1977). Quantitative aspects of the synaptic organization of the superior colliculus in control and dark-reared rabbits. *Brain Research* 134:417-428.
- Warton S.S. & Jones D.G. (1985). Postnatal development of the superficial layers in the rat superior colliculus: a study with Golgi-Cox and Kluver-Barrera techniques. *Experimental Brain Research* 58:490-502.
- Warton S.S. & McCart R. (1989). Synaptogenesis in the stratum griseum superficiale of the rat superior colliculus. *Synapse* 3:136-148.
- Warton S.S., Perouansky M. & Grantyn R. (1990). Development of GABAergic synaptic connections in vivo and in cultures from the rat superior colliculus. *Developmental Brain Research* 52:95-111.
- Wehr M. & Laurent G. (1996). Odour encoding by temporal sequences of firing in oscillating neural assemblies. *Nature* 384:162-166.
- Wenzel A., Villa M., Mohler H. & Benke D. (1996). Developmental and regional expression of NMDA receptors subtypes containing the NR2D subunit in rat brain. *Journal of Neurochemistry* 66:1240-1248.
- Williams C.V., Nordquist D. & McLoon S.C. (1994). Correlation of nitric oxide synthase expression with changing patterns of axonal projections in the developing visual system. *Journal of Neuroscience* 14:1746-1755.
- Wu H.H., Waid D.K. & McLoon S.C. (1996). Nitric oxide and the developmental remodeling of retinal connections in the brain. In: *Neural development and plasticity*, *Progress in Brain Research* 108:273-286. Ed: Mize R.R. & Erzurumlu R.S., Elsevier Publishers.
- Young M.P., Tanaka K. & Yamane S. (1992). On oscillating neuronal responses in the visual cortex of the monkey. *Journal of Neurophysiology* 67:1464-1474
- Zhong J., Carrozza D.P., Williams K., Pritchett D.B. & Molinoff P.B. (1995). Expression of mRNAs encoding subunits of the NMDA receptor in developing rat brain. *Journal of Neurochemistry* 64:531-539.

Annexe

Procédure expérimentale générale

Tous les résultats présentés dans le cadre de cette thèse ont été obtenus suite à des expériences réalisées chez des rats Long Evans entre leur naissance et l'âge adulte. Le nombre d'animaux par portée n'a pas été normalisé et le sexe des animaux n'a pas été retenu comme critère de discrimination lors de l'analyse des résultats. Le jour postnatal 0 (P0) constitue les 24 premières heures suivant la naissance du rat et l'animal est considéré adulte à partir de P90. Les paupières des jeunes rats s'ouvrent naturellement aux environs de P14.

Préparation de l'animal

De façon générale, les rats ont été anesthésiés à l'aide d'une injection intrapéritonéale d'uréthane 25% m/v (dans une solution de NaCl 0.9% m/v) à raison de 0.008 à 0.010 ml par gramme de masse corporelle. Afin de prévenir l'accumulation de sécrétions dans la trachée, du sulfate d'atropine a également été injecté par voie sous-cutanée (4×10^{-5} mg/gramme de masse corporelle). Les sites chirurgicaux, quels qu'ils soient, ont toujours été insensibilisés par l'application locale sous-cutanée de chlorhydrate de lidocaïne 2% (Xylocaïne® 2%). Pour les animaux de 17 jours et moins, la crâniotomie et la durotomie ont été réalisées à l'aide d'une fine lame de scalpel sous une loupe binoculaire. Pour les animaux de plus de 17 jours, la crâniotomie a nécessité généralement l'utilisation d'une mini-perceuse. Dans tous les cas, la crâniotomie et la durotomie ont résulté en une incision du crâne et de la dure-mère de 1 à 4 mm² environ, afin de permettre l'accès de la (des) microélectrode(s) au collicule supérieur.

Pour les animaux âgés de moins de 14 jours, les paupières ont été artificiellement ouvertes ou sectionnées à l'aide d'une lame de scalpel. Pour les animaux de tous âges, des solutions de sulfate d'atropine 1% (Isopto[®]) et de chlorohydrate de phényléphrine (Mydrin[®]) ont été appliquées environ 1 heure avant les premiers enregistrements à la surface de l'œil pour permettre une dilatation pupillaire. Afin de prévenir la dessiccation de la cornée, un mince film d'huile minérale ou d'une solution de méthylcellulose a également été appliqué à la surface de la cornée.

Les animaux ont été placés sur un appareil stéréotaxique spécialement adapté pour les jeunes rats. Une plaque chauffante a permis d'assurer le maintien de la température corporelle et le rythme cardiaque a été vérifié à l'aide d'un électrocardiographe. Seuls les résultats obtenus chez des animaux ayant un rythme cardiaque constant supérieur à 300 battements par minute ont été retenus lors de l'analyse.

Électrophysiologie

Les enregistrements extracellulaires réalisés au cours de ces expériences ont été obtenus à l'aide de microélectrodes de tungstène (10 M Ω) ou de verre (1-5 M Ω) remplies de NaCl 0.9% m/v et de Chicago Sky Blue 1-4% m/v (colorant). Ces dernières ont été construites à partir de micropipettes étirées à l'aide d'une étireuse à micropipette. Le diamètre d'ouverture de la microélectrode de verre et la distance entre la pointe et l'épaule de l'électrode ont été déterminés en ajustant les paramètres de l'étireuse de micropipette. Pour les enregistrements extracellulaires unitaires, le diamètre d'ouverture de la microélectrode variait entre 2 et 5 μm alors que pour les enregistrements multiunitaires, il variait entre 10 et 13 μm .

La microélectrode d'enregistrement a été positionnée perpendiculairement à la surface corticale (selon l'axe dorso-ventral) à l'aide d'une loupe binoculaire.

Elle a ensuite été délicatement descendue à travers le cortex cérébral jusqu'à la limite dorsale du collicule supérieur avec un micromanipulateur de type Cailloux. Cette limite était repérée aisément grâce à la modification de la résistance électrique qui se produit lors de la pénétration dans le CS. Suite à l'insertion de la microélectrode, le cortex exposé a été couvert d'agar-agar (3% m/v en solution saline) afin de prévenir le dessèchement.

Le signal électrique capté par la microélectrode a été amplifié et filtré à l'aide d'un amplificateur à bande passante variable (Grass 5P11). La bande passante choisie déterminait le type d'enregistrement. Pour enregistrer l'activité neuronale à haute fréquence (potentiels d'action), la bande passante était de 100-3000 Hz alors que pour enregistrer l'activité neuronale à basse fréquence (potentiels synaptiques), elle était de 1-100 Hz. Une fois le signal amplifié et filtré, il a été visualisé grâce à un oscilloscope et enregistré à l'aide d'un logiciel spécialisé (Nicolet, EGAA ou Brain Wave, selon le cas).

Étude de l'activité spontanée

Les potentiels d'action spontanés de neurones isolés ont été enregistrés dans les couches superficielles du CS chez de jeunes rats en cours de développement. Le tableau 1 présente le nombre d'animaux utilisés et de cellules enregistrées par groupe d'âge. Dans certaines de ces expériences, l'activité spontanée a été enregistrée avant et après une stimulation électrique du nerf optique ou une application d'hydrochlorure de lidocaïne 2% (Xylocaïne®) sur le nerf optique. La figure 1 est un contrôle réalisé chez un animal de P14 pour vérifier l'effet de la lidocaïne sur le nerf optique. On note que l'activité visuelle évoquée suite à de brefs éclairs lumineux (présentés toutes les 20 secondes) disparaît suite à l'application de lidocaïne sur le nerf optique.

Tableau 1. Nombre d'animaux utilisés et de cellules enregistrées au cours des expériences ayant servi pour l'article "Evolution of spontaneous activity in the developing rat superior".

| Âges | P5 | P6 | P7 | P8 | P9 | P10 | P11 | P12 | P13 | P14-P15 | Total |
|--------------------|----------------|--------------------|------|------|------|------|------|------|------|---------|-------|
| Nombre de rats | 5 ¹ | 6 ² (3) | 4(2) | 3(1) | 5(3) | 3(1) | 3(2) | 3(1) | 2(1) | 4(1) | 38 |
| Nombre de cellules | 2 | 14 | 8 | 5 | 8 | 8 | 8 | 10 | 5 | 9 | 77 |

1. Aucune cellule spontanément active n'a été trouvée pour 4 des 5 animaux testés.
 2. Aucune cellule spontanément active n'a été trouvée pour 1 des 6 animaux testés.
- Les nombres entre parenthèses indiquent le nombre d'animaux ayant été utilisés lors des expériences d'inactivation et de stimulation du nerf optique.

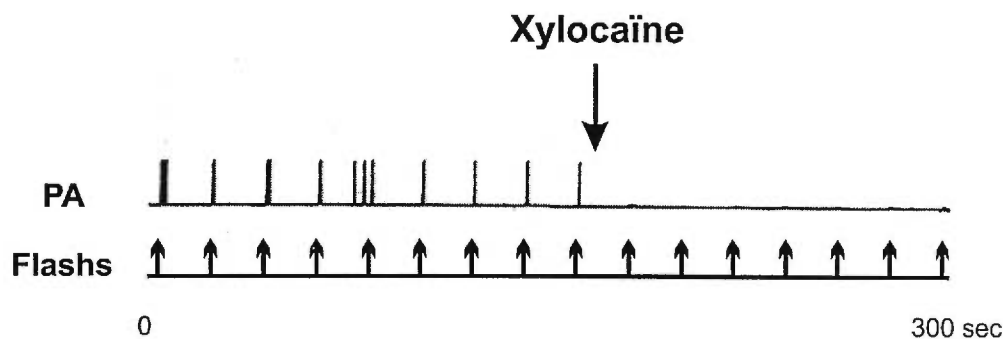


Figure 1. Enregistrement unicellulaire des potentiels d'action (PA) colliculaires évoqués suite à de brefs éclairs (flashes) avant et après l'application de d'hydrochlorure de lidocaïne 2% (xylocaïne) sur le nerf optique. Notez l'abolition des réponses dans le collicule supérieur suite à l'inactivation du nerf optique. Animal de 14 jours postnataux.

Pour les expériences de stimulation électrique, le nerf optique a été exposé et une électrode de stimulation positionnée de façon à le suspendre entre ses embouts. L'électrode utilisée se composait de trois filaments isolés en acier inoxydable (100 μm de diamètre) connectés à un pont pour contrebalancer l'artefact de stimulation. Le courant appliqué était en moyenne 50 μA (au maximum 100 μA) et la durée de la stimulation variait entre 20 et 80 μsec . Pour les expériences d'inactivation du nerf optique, la lidocaïne a été appliquée directement sur le nerf optique isolé via un tube en Téflon branché à une microseringue.

Pour chaque cellule isolée, les potentiels d'action ont été enregistrés sur une période variant généralement entre 5 et 20 minutes. Simultanément, des histogrammes d'intervalle ont également été enregistrés afin de révéler les patrons temporels de l'activité unitaire. Ainsi, chaque intervalle entre deux potentiels d'action successifs a été mesuré et comptabilisé pour chaque neurone colliculaire spontanément actif. Tous les intervalles supérieurs à 1020 ms ont été placés dans le dernier bloc (bin) d'intervalle.

Étude des potentiels de champ ON et OFF

Les potentiels de champ générés suite à l'apparition de la lumière (potentiels de champ ON) et de l'obscurité (potentiels de champ OFF) ont été enregistrés dans les couches superficielles du CS en fonction de la profondeur dorso-ventrale au cours du développement. Le tableau 2 présente le nombre de rats utilisés et le nombre de profils dorso-ventraux enregistrés pour chaque groupe d'âge. Dans certaines de ces expériences, du chlorure de cobalt (CoCl_2 10 mM) a été ajouté dans la microélectrode d'enregistrement et injecté à des sites bien précis de la descente à l'aide d'une pompe à pression ou par microiontophorèse. À des concentrations idéales (i.e.: <100 mM pour le système nerveux des mammifères), le cobalt bloque les canaux calciques et empêche par conséquent la transmission synaptique.

Tableau 2. Nombre d'animaux utilisés et nombre de profils dorso-ventraux enregistrées au cours des expériences ayant servi pour l'article "ON and OFF field potentials in the rat superior colliculus during development".

| Âges | P12 | P13 | P14 | P15 | P16 | P17 | P18 | P19-P25 | Adultes | Total |
|-------------------|----------------|-----|-----|-----|-----|-----|-----|---------|---------|-------|
| Nombre de rats | 2 ¹ | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 | 3 | 5 | 11 | 46 |
| Nombre de profils | 7 | 11 | 10 | 10 | 10 | 13 | 7 | 9 | 23 | 100 |

1. Aucune activité évoquée (ON ou OFF) n'a été détectée chez les 2 animaux étudiés à cet âge.

Les stimuli lumineux ont été générés par un projecteur à diapositive (ampoule HE CBA 500 W) dont le faisceau lumineux passait par un collimateur et un obturateur contrôlé électroniquement. Les stimuli ont été projetés sur un écran cylindrique translucide placé à une distance de 28 cm de l'oeil gauche de l'animal. Les études comportementales réalisées chez le rat adulte ont montré que sa profondeur de champ est élevée et que son acuité visuelle est excellente à cette distance (Wiesenfeld & Branchek, 1976). Plusieurs études électrophysiologiques ont également utilisé une distance de 28 à 30 cm (Fukuda & Iwama, 1978; Wiesenfeld & Kornel, 1975). Dans la plupart des cas, la stimulation consistait en un carré lumineux de 10 cm^2 ($\cong 20^\circ \times 20^\circ$).

Étude de la maturation des propriétés des champs récepteurs visuels

L'activité extracellulaire évoquée de neurones isolés a été enregistrée dans les couches superficielles du CS de jeunes rats en développement suite à la présentation de stimuli visuels. Le tableau 3 indique le nombre d'animaux utilisés et de cellules enregistrées par groupe d'âge. Pour cette série d'expériences, un projecteur permettant la production de stimuli de toutes formes et de toutes tailles a été utilisé. Pour les stimuli stationnaires, le faisceau lumineux passait par un collimateur et un obturateur contrôlé électroniquement avant d'être projeté sur un écran cylindrique translucide placé à 30 cm de l'œil gauche. Pour les stimuli en mouvement, le faisceau était projeté sur un miroir monté sur un galvanomètre et réfléchi sur l'écran à la vitesse voulue et dans la direction désirée.

Tableau 3. Nombre d'animaux utilisés et de cellules enregistrées au cours des expériences ayant servi pour l'article "Maturation of visual receptive field properties in the rat superior"

| Âges | P13-P14 | P15 | P16-P19 | P20-P22 | P27-P28 | Adultes | Total |
|--------------------|---------|-----|---------|---------|---------|---------|------------|
| Nombre de rats | 10 | 8 | 6 | 6 | 4 | 2 | 36 |
| Nombre de cellules | 22 | 22 | 15 | 18 | 13 | 13 | 103 |

Histologie

Afin de déterminer la position de l'électrode dans le CS, des injections microiontophorétiques (30 mA pendant 10 secondes) de Chicago Sky Blue ont été réalisées à certains sites. À la fin des expériences, les animaux ont reçu une surdose d'anesthésiant (uréthane 25% m/v) et ont été perfusés successivement avec une solution tampon de phosphate (PBS 0.01 M) et une solution de fixation (paraformaldéhyde 4%, glutaraldéhyde 0.2% et acide picrique 0.03% dans une solution tampon phosphatée 0.1M). Les cerveaux ont ensuite été délicatement retirés et conservés quelques jours dans le fixateur. Ils ont été coupés au vibratome en sections de 50-100 μm dans le plan sagittal ou frontal et colorés au crésyl-violet.

Bibliographie

- Fukuda Y. & Iwama K. (1978). Visual receptive-field properties of single cells in the rat superior colliculus. *Japanese Journal of Physiology*. 28:385-400.
- Wiesenfeld Z. & Branchek T. (1976). Refractive state and visual acuity in the hooded rat. *Vision Research* 16:823-827.
- Wiesenfeld Z. & Kornel E.E. (1975). Receptive-field of single cells in the visual cortex of the hooded rat. *Brain Research* 94:401-412.