

Université de Montréal

Évaluation des projections rétino-fuges chez le chat
grâce au fragment B de la toxine du choléra.

par
Isabelle Matteau

Département de psychologie
Faculté des arts et des sciences

Mémoire présenté à la Faculté des études supérieures
en vue de l'obtention du grade de Maître ès sciences (M.Sc.)
en psychologie

Août, 2002

© Isabelle Matteau, 2002



BF

22

254

2002

N.042

Page d'identification du jury

Université de Montréal
Faculté des études supérieures

Ce mémoire intitulé :

Évaluation des projections rétino-fuges chez le chat
grâce au fragment B de la toxine du choléra.

présenté par :

Isabelle Matteau

a été évalué par un jury composé des personnes suivantes :

Christian Casanova, président-rapporteur

Maurice Ptito, directeur de recherche

Elvire Vaucher, membre du jury

SOMMAIRE

Le chat est un animal dont le système visuel a été hautement étudié. Cependant, des études effectuées chez d'autres espèces nous amènent à croire que l'entendue complète des structures sous-corticales recevant un input direct de la rétine n'est pas connue, et que la sensibilité insuffisante des traceurs utilisés dans les études antérieures en est probablement la cause.

Afin d'étudier plus en détail les projections rétino-fuges chez le chat, nous avons utilisé le fragment B de la toxine du choléra comme traceur antérograde. La forte sensibilité de ce traceur nous a également permis d'étudier la morphologie des terminaisons rétiniennes dans les noyaux ciblés.

Nos résultats démontrent une projection rétinienne majeure dans tous les noyaux de la voie visuelle primaire, de la voie optique accessoire ainsi que de la voie rétino-hypothalamique. Cependant, plusieurs régions additionnelles à celles déjà connues reçoivent également un input direct de la rétine dans notre étude. En fait, outre les cibles majeures, un input rétinien considérable a été observé dans dix régions distinctes, alors qu'une plus faible projection rétinienne a été identifiée au niveau de neuf noyaux additionnels. L'étude morphologique des terminaisons rétiniennes nous démontre, quant à elle, qu'une grande hétérogénéité existe non seulement entre les noyaux, mais également à l'intérieur d'une même structure.

Nos résultats suggèrent que la liste des noyaux rétino-récepteurs est plus exhaustive que décrite antérieurement, et que cela est possiblement dû à l'utilisation d'un marqueur plus sensible. Également, les observations portant sur la morphologie des terminaisons rétiniennes nous donnent, pour la première fois, un aperçu complet de la diversité morphologique existant au sein de ces noyaux.

Mots clés : chat, projections rétiniennes, régions sous-corticales, toxine du choléra.

ABSTRACT

The B fragment of cholera toxin (CTB) is a highly sensitive anterograde tracer for the labeling of retinal axons, revealing dense retinofugal projections to well known retinorecipient nuclei, and sparse but distinct inputs to not usually recognized targets. After an unilateral injection of the CTB into the vitreous chamber of the eye, immunohistochemical localization of the toxin was performed to show direct retinal projections in 6 adult cats. The strongest projections were seen in the superficial layers of the superior colliculus, the dorsal and ventral lateral geniculate nuclei, the pretectal nuclei, the accessory optic nuclei, and the suprachiasmatic nucleus of the hypothalamus, as anticipated from previous studies. However, labeled terminals were found in several other regions. In the mesencephalic division, labeled terminals were seen in the intermediate layers of the superior colliculus, the brachium of the inferior colliculus, the cerebral peduncle, the substantia nigra as well as the mesencephalic reticular formation. In the diencephalon, direct projections were found in the medial geniculate nucleus, the pulvinar, the lateral habenular nucleus, the posterior thalamic nucleus, the perigeniculate nucleus, the thalamic reticular nucleus, the zona incerta, the anterior and lateral hypothalamic regions, and the supraoptic nucleus. Except for the well known retinorecipient nuclei, our results are the first to report direct retinal projections to most of the additional targets in the cat.

Key words : cat, cholera toxin, retinal projections, retinorecipient nuclei, tracer.

TABLES DES MATIÈRES

Sommaire	iii
Abstract	iv
Liste des figures	viii
Liste des abréviations	ix
Remerciements	xi
INTRODUCTION	1
1. Le système visuel	2
1.1 La perception visuelle	2
1.2 Les cellules ganglionnaires	3
1.2.1 <i>La classification physiologique des cellules ganglionnaires</i> ...	6
1.2.2 <i>La classification morphologique des cellules ganglionnaires</i> ..	7
2. Les projections centrales	10
2.1 La voie rétino-geniculée	12
2.2 La voie rétino-tectale	14
2.3 La voie rétino-hypothalamique	15
2.4 La voie rétino-prétectale	16
2.5 La voie rétino-AOS	17
2.6 Les autres voies	18
3. Le cortex	19
3.1 La voie ventrale	21
3.2 La voie dorsale	21
3.3 Les voies sous-corticales	22
4. Les méthodes d'identification des projections rétiniennes	24
4.1 La méthode de traçage rétrograde	24
4.2 La méthode de traçage antérograde	25
4.3 Le marquage d'un axone isolé	27
5. Buts de l'étude	29

ARTICLE	30
Introduction	32
Materials and Methods	34
Subjects	34
Intraocular injection of CTb	34
Perfusion	34
Immunohistochemistry	35
Results	37
Labeled terminals in nuclei of the primary visual pathway	37
<i>Thalamus</i>	38
<i>Pretectum</i>	40
<i>Tectum</i>	40
Labeled terminals in nuclei of the accessory optic pathway	41
Labeled terminals in the hypothalamus	42
Discussion	45
Retinal projections to the thalamus	45
Retinal projections to the pretectum	47
Retinal projections to the tectum	48
Retinal projections to the AOS and other nearby nuclei	49
Retinal projections to the hypothalamus	50
Retinal projections to the basal telencephalon	52
Fonctional considerations	52
References	55
Figure Legend	63
Figures	65
DISCUSSION	70
1. Observations générales	71
2. Études antérieures chez le chat	73
2.1 Les méthodes utilisées	73

2.2 L'âge et le temps de survie	75
2.2.1 <i>L'âge</i>	75
2.2.2 <i>Le temps de survie</i>	76
2.3 La délinéation des noyaux	78
3. Études antérieures chez les autres espèces animales	80
3.1 Différences spécifiques à l'espèce	80
3.2 Différences structurelles	82
4. Considérations méthodologiques	84
4.1 Notre technique de traçage	84
4.2 Notre modèle animal	86
5. Considérations fonctionnelles	87
CONCLUSION	89
RÉFÉRENCES	91

LISTE DES FIGURES

Figure 1 :	Organisation histologique de la rétine	4
Figure 2 :	Illustration des cellules ganglionnaires de la rétine du chat	5
Figure 3 :	Schéma des principales cibles de projections rétiniennes	11
Figure 4 :	(A) Schéma des aires visuelles corticales du chat	20
	(B) Illustration du cheminement des voies dorsale et ventrale	20
ARTICLE :		
Figure 1 :	Schéma illustrant la distribution des projections rétiniennes	65
Figure 2 :	Photographies illustrant la distribution et la morphologie des projections rétiniennes dans certaines régions sous-corticales	68
Figure 3 :	Illustrations des morphologies des terminaisons rétiniennes retrouvées au niveau du BIC, du NP et de la région dorsale du noyau paravigéminale	69
Figure 4 :	Photographies illustrant la distribution des projections rétiniennes au niveau du MTNd, du SN et du P.....	69
Figure 5 :	Photographies illustrant la morphologie des terminaisons rétiniennes dans certaines régions de l'hypothalamus.....	69

LISTE DES ABRÉVIATIONS

III	Noyau oculomoteur
AD	Noyau antérodorsal du thalamus
AH	Noyau hypothalamique antérieur
APN	Noyau prétectal antérieur
AV	Noyau antéroventral du thalamus
BIC	Brachium du collicule inférieur
CL	Noyau thalamique central latéral
CM	Noyau thalamique central médian
DTN	Noyau terminal dorsal
EN	Noyau entopédonculaire
GP	<i>Globus pallidus</i>
HAA	Région hypothalamique antérieure
HLA	Région hypothalamique latérale
IC	Capsule interne
IPO	Noyau interpédonculaire postérieur
LA	Noyau thalamique latéral antérieur
LGNd	Corps genouillé latéral dorsal
LGNv	Corps genouillé latéral ventral
LH	Noyau habénulaire latéral
Lpl	Noyau latéral postérieur (latéral)
Lpm	Noyau latéral postérieur (médian)
LTN	Noyau terminal latéral
MGN	Noyau genouillé médian
MD	Noyau médiodorsal du thalamus
MH	Noyau habénulaire médian
MLB	<i>Bundle</i> longitudinal médian
MM	Noyau mamillaire médian
MPN	Noyau prétectal médian
MRF	Formation réticulaire du mésencéphale
MTNd	Noyau terminal médian (dorsal)
MTNv	Noyau terminal médian (ventral)
MV	Noyau médioventral du thalamus
NC	Noyau caudé
NOT	Noyau du tractus optique
OPN	Noyau prétectal de l'olive
P	Pédoncule
PAG	Matière grise périaqueducale
PAH	Noyau paraventriculaire de l'hypothalamus
PBG	Noyau parabigéminale
PEH	Noyau périventriculaire de l'hypothalamus
PGN	Noyau périgéniculé
PN	Noyau du pont
PO	Noyau postérieur du thalamus
PPN	Noyau prétectal postérieur

Pul	Pulvinar
Py	Tractus pyramidal
RF	<i>Bundle retroflex</i>
Rh	Noyau rhomboid
RN	Noyau rouge
RT	Noyau réticulaire thalamique
SCi	Couches intermédiaires du collicule supérieur
SCN	Noyau suprachiasmatique
SCO	Organe subcommissurale
SCs	Couches superficielles du collicule supérieur
SMT	<i>Stria medullaris thalami</i>
SN	Substance noire
SON	Noyau supraoptique
VMH	Noyau hypothalamique ventromédian
ZI	Zona Incerta

REMERCIEMENTS

Je tiens à remercier tout spécialement Dr Maurice Ptito pour m'avoir donné la chance de travailler au sein de son équipe de recherche, ainsi que pour son soutien et sa confiance tout au long de ma maîtrise.

Je remercie également Dr Denis Boire pour ses merveilleux et judicieux conseils, ainsi que ses nombreuses explications. Je tiens aussi à le remercier pour tout le temps dont il a du me consacrer, même lorsque le sien était très précieux, et pour la patience dont il a fait preuve au cours de ces deux années.

Un merci particulier à Geneviève Cyr pour toute l'aide technique qu'elle m'a apporté, pour ses encouragements constants, ainsi que pour tous les services qu'elle m'a rendus.

Un énorme merci à mes collègues de laboratoire ainsi qu'à toute l'équipe du Dr Casanova pour leur aide, leurs conseils et leur amitié.

Merci à mes parents, Ginette et Réjean, et à ma sœur, Caroline, pour leur support lorsque j'en avait le plus besoin, pour avoir crû en moi, pour m'avoir toujours encouragé à continuer, et pour tous les sacrifices qu'ils ont du faire afin que j'en arrive là ou j'en suis.

À Olivier, un énorme merci pour m'avoir si patiemment supporté au travers de ces années, pour m'avoir écouté, pour m'avoir soigneusement épaulé dans les moments plus difficiles, et simplement pour avoir été toujours présent à mes côtés.

Isabelle

INTRODUCTION

1. *Le système visuel*

1.1 *La perception visuelle*

L'œil, pour la plupart des humains, est la principale source d'information sensorielle, nous renseignant continuellement sur notre milieu extérieur. La vision est un élément fondamental de la perception à distance du monde qui nous entoure, et cette perception joue un rôle de premier plan, autant chez l'humain que chez les animaux, au niveau de la capacité que nous avons de nous adapter à notre environnement.

En fait, notre monde visuel est une construction cérébrale plutôt qu'une réalité objective de ce que nous voyons. Les perceptions visuelles dépendent de la façon dont notre cerveau traite l'information qu'il reçoit de l'œil. Notre capacité de percevoir et de discerner visuellement les images dépend de tout un ensemble de structures et de processus. Différents attributs d'une même image tels la forme, la couleur, la position, le mouvement et la profondeur, sont analysés par différents modes de traitement de l'information afin de nous donner une perception globale de l'environnement. Ces analyses complexes de l'image sont effectuées par un système hiérarchique, constitué de sous-systèmes spécialisés qui acheminent l'information de la rétine à différentes régions du cerveau par des voies parallèles. Cette façon de traiter l'information visuelle en parallèle peut provoquer, lors d'anomalies génétiques ou de lésions au cerveau, une perte ou l'altération de

certains aspects de la perception visuelle, alors qu'elles laissent les autres aspects intacts.

1.2 *Les cellules ganglionnaires*

La première phase du traitement de l'information visuelle se déroule au niveau de la rétine, celle-ci étant composée de plusieurs types de cellules formant des couches distinctes. La conversion de la lumière en activité neuronale comporte une série d'étapes qui se déroulent dans les cellules réceptrices, pour ensuite converger sur les cellules ganglionnaires (Fig. 1). La rétine effectue les premiers traitements de l'information visuelle, ces traitements étant spatio-temporels, ce qui se traduit notamment par une sensibilité aux variations rapides de luminosité. Celle-ci a également pour autre fonction de réduire le bruit et de rehausser les contrastes.

Les cellules ganglionnaires sont les neurones qui transportent l'information hors de la rétine, transmettant leurs signaux électriques, via le nerf optique, à plusieurs cibles différentes du tronc cérébral. Les signaux émis le long des axones vers les régions visuelles respectent habituellement la disposition spatiale des points de stimulation. Ces cellules se divisent généralement en plusieurs types, comme c'est le cas chez le chat (Fig. 2), et peuvent être différenciées au niveau de leurs propriétés physiologiques, leur morphologie, ainsi que de leurs projections centrales (Leventhal *et al.*, 1985; Cook, 1997).

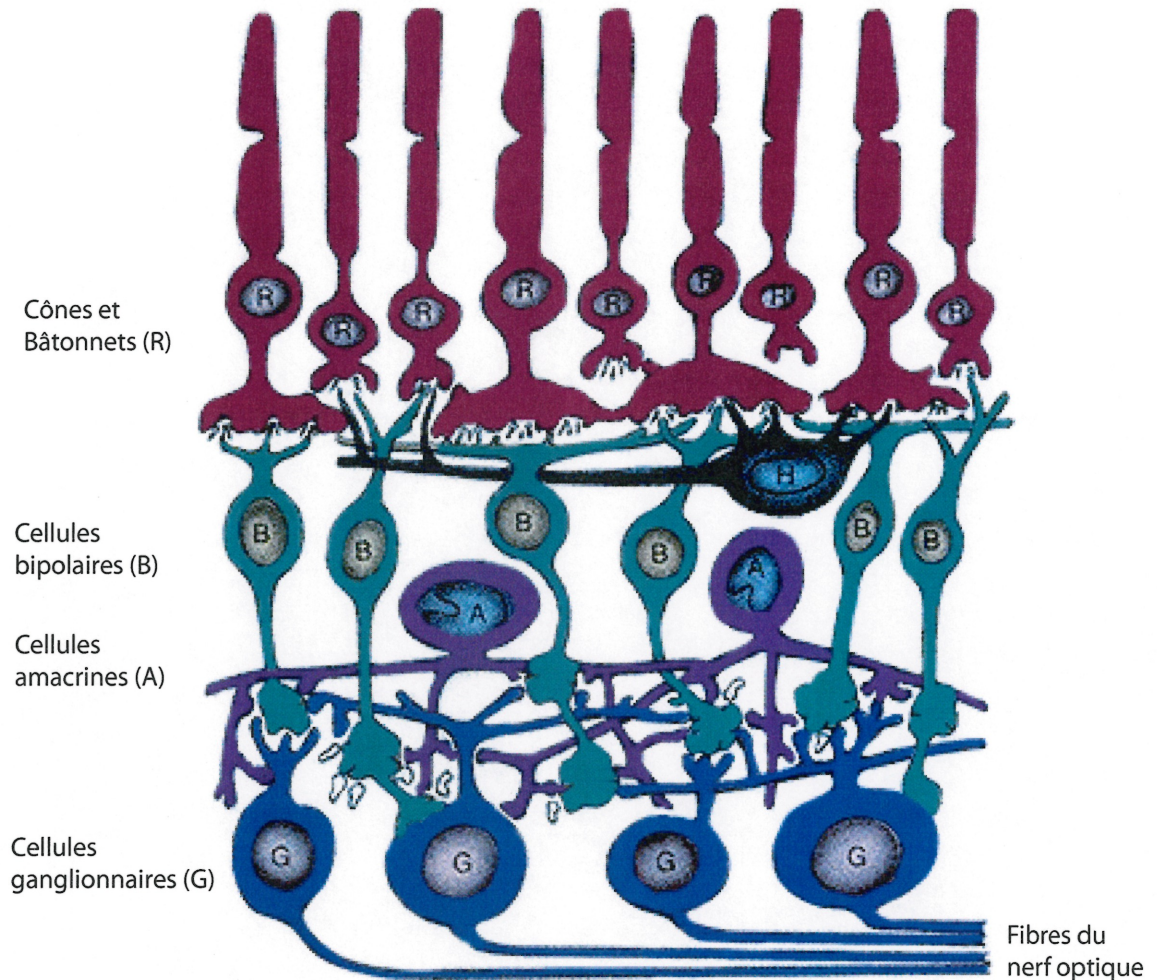


Figure 1: Organisation histologique de la rétine. Seulement les trois principales couches de cellules sont représentées dans ce schéma, c'est-à-dire la couche des photorécepteurs dont les cônes et les bâtonnets, la couche granuleuse interne formée par les cellules bipolaires et amacrines, ainsi que les couches des ganglionnaires. Ces trois couches représentent les cellules nerveuses de la rétine, reliées entre elles et ayant chacune une fonction précise.

Principaux types de cellules ganglionnaires dans la rétine du chat

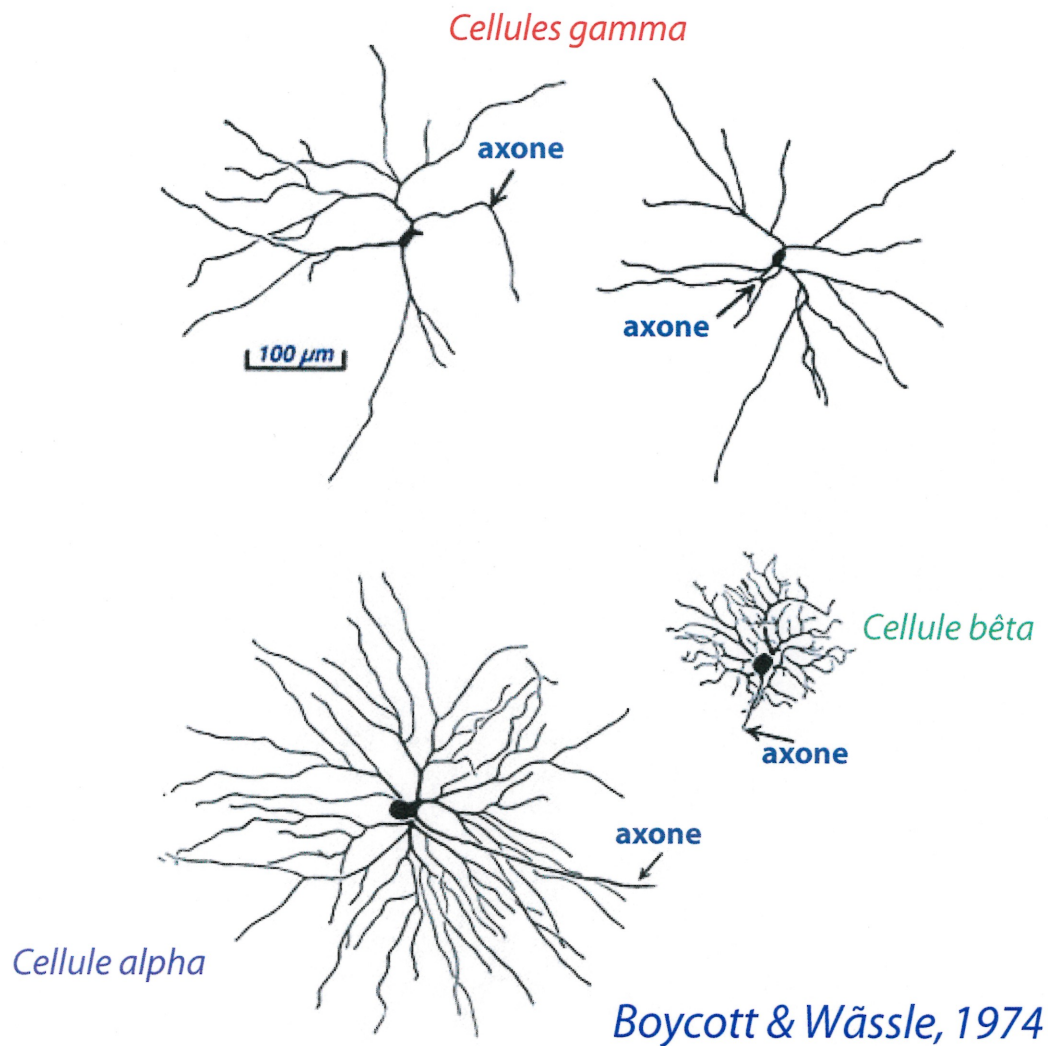


Figure 2: Illustration des trois types majeurs de cellules ganglionnaires de la rétine du chat, selon leur classification morphologique. Les cellules gamma, alpha, et bêta sont représentées, et peuvent être différenciées, entre autres, par la densité et l'étendue de leurs dendrites, ainsi que par le diamètre du soma.

1.2.1 *La classification physiologique des cellules ganglionnaires*

Chez le chat, trois types de cellules ganglionnaires ont été étudiés en détails selon leurs propriétés physiologiques. Il s'agit des cellules communément appelées W, X et Y. Physiologiquement, ces trois types de cellules peuvent se distinguer au niveau de la vitesse de conduction de leur axone, celui-ci augmentant des cellules W aux cellules X et Y, ainsi que par la grandeur de leur champ récepteur, augmentant des cellules X, aux cellules Y et W. Ces deux caractéristiques se mesurent majoritairement grâce à l'enregistrement, à l'aide d'une électrode implantée au niveau d'un axone du nerf optique, des potentiels évoqués en réponse à, soit une stimulation électrique dans le cas de la vitesse de conduction, ou à une stimulation lumineuse en ce qui concerne la grandeur du champ récepteur. Il est généralement accepté que les cellules X et Y du chat forment deux classes neuronales assez homogènes, et que chacune de ces classes peut facilement se distinguer des cellules W (Rodieck, 1979; Stone *et al.*, 1979). Cependant, les cellules W semblent beaucoup plus hétérogènes et représenteraient, en fait, plusieurs classes de cellules distinctes. Mis à part le fait que toutes les cellules W ont une vitesse de conduction plus lente que les cellules de type X et Y, il n'est toujours pas établi, cependant, en combien de classes ces dernières seraient divisées, et, par ailleurs, on ne sait toujours pas si les cellules W de la rétine ne formeraient pas plutôt une seule classe comportant des variations fonctionnelles considérables.

Il a été souvent suggéré que les différentes voies neurales formées par les cellules W, X et Y analysaient indépendamment plusieurs aspects différents d'une même scène visuelle, et que ces différentes analyses étaient combinées pour former une représentation globale de notre environnement. En fait, les cellules Y seraient, selon les études, responsables de l'analyse des formes primaires et procureraient, à elles seules, une bonne vision de la forme. Les cellules X, quant à elles, ajouteraient des détails et procureraient une résolution spatiale de haut niveau à l'analyse de la forme primaire accomplie par les cellules Y. Pour ce qui est des cellules de type W, plusieurs auteurs rapportent que celles-ci, en raison de leur faible réponse aux stimulations visuelles, joueraient plutôt un rôle mineur au niveau de la perception consciente des images visuelles (Stone *et al.*, 1979; Sherman, 1985).

1.2.2 *La classification morphologique des cellules ganglionnaires*

De nombreuses études anatomiques mentionnent que les cellules ganglionnaires de la rétine du chat auraient jusqu'à vingt formes morphologiques différentes, distinguées les unes des autres par, entre autres, la dimension du soma, le calibre de l'axone, la localisation topographique, ainsi que la fréquence des ramifications dendritiques et la stratification (Leventhal *et al.*, 1980; Wässle et Boycott, 1991; Pu *et al.*, 1994; Isayama *et al.*, 1999, 2000). Cependant, mis à part quelques exceptions, la physiologie de ces différentes cellules (environ 50% du nombre total des cellules ganglionnaires de la rétine) n'est pas bien connue, en ce sens que toutes les différentes morphologies ne peuvent, encore aujourd'hui, être

corrélées avec la classification physiologique des cellules W, X et Y. En fait, une correspondance morphologie-physiologie existe, sans équivoque, pour seulement trois morphologies différentes, c'est-à-dire les cellules gamma, bêta et alpha, celles-ci présentant les mêmes caractéristiques fonctionnelles que les cellules ganglionnaires classées physiologiquement de types W, X et Y respectivement (Boycott et Wässle, 1974). Il est bien établi que les cellules de type alpha (Y) sont dotées de gros corps cellulaires à ramifications dendritiques étendues et riches, ainsi que d'un axone de gros diamètre. Les cellules de type bêta (X), quant à elles, ont un corps cellulaire de dimension moyenne, un axone moyen et un champ dendritique restreint, alors que les cellules de type gamma (W) sont des cellules ayant un petit corps cellulaire avec un champ dendritique étendu mais clairsemé, et un axone de petit calibre.

Plusieurs auteurs ont cherché à savoir si différentes morphologies impliquaient nécessairement une différence au niveau fonctionnel, c'est-à-dire que si chacune des morphologies observées avaient une correspondance physiologique qui lui est propre, ou si une même classe physiologique serait plutôt subdivisée en plusieurs types morphologiques différents. En fait, plusieurs évidences montrent que différentes morphologies servent différentes fonctions visuelles, et même que ces différents types morphologiques auraient différentes cibles de projection (Leventhal *et al.*, 1985; Ling *et al.*, 1998; Rockhill, 2002). Même si certaines correspondances morphologie-physiologie ont été découvertes, la question demeure tout de même entière tant que la correspondance entre les types physiologiques et les types morphologiques n'est pas complètement établie.

Comme mentionné antérieurement, il y a encore beaucoup de types morphologiques pour lesquels une contrepartie physiologique ne peut être identifiée, et l'inverse est également vrai (Rockhill, 2002). L'émergence de nouvelles méthodes comme le marquage de neurones vivants provenant de régions très circonscrites aidera probablement la caractérisation de types définis morphologiquement mais dont la physiologie demeure inconnue, étant donné que la cellule pourra désormais être ciblée spécifiquement pour l'enregistrement dans une rétine isolée (Pu *et al.*, 1994; Dacey *et al.*, 2001). La même méthode peut également permettre de révéler la cible centrale des cellules et nous informer sur leur fonction.

2. *Les projections centrales*

Comme mentionnée antérieurement, l'information visuelle produite par les cellules réceptrices de la rétine converge vers les cellules ganglionnaires, et les axones de celles-ci forment le nerf optique qui transmet l'information de la rétine à différentes régions du cerveau. Chez le chat, comme chez la plupart des mammifères, il est bien établi qu'au moins la moitié de tous les axones du nerf optique sont décussés, c'est-à-dire qu'ils envoient l'information vers l'hémisphère cérébral opposé. En fait, lorsque parvenus au niveau du chiasma optique, les axones de la moitié nasale de la rétine se dirigent vers le côté opposé du cerveau, alors que les axones provenant de la moitié temporale projettent du même côté.

Chez pratiquement tous les mammifères, la plupart des axones du nerf optique aboutissent dans le corps genouillé latéral dorsal du thalamus (LGNd). De plus, certains axones quittent le nerf optique et envahissent les couches superficielles du collicule supérieur du mésencéphale. Des faisceaux relativement petits d'axones se rendent jusqu'au noyau suprachiasmatique de l'hypothalamus, alors que d'autres terminent plutôt au niveau des noyaux préteaux ou du système optique accessoire (Fig. 3). Un nombre minime d'axones, comparativement à la projection majeure au LGNd, innervent d'autres cibles, mais il semble toutefois exister une certaine variabilité entre les espèces concernant ces structures additionnelles.

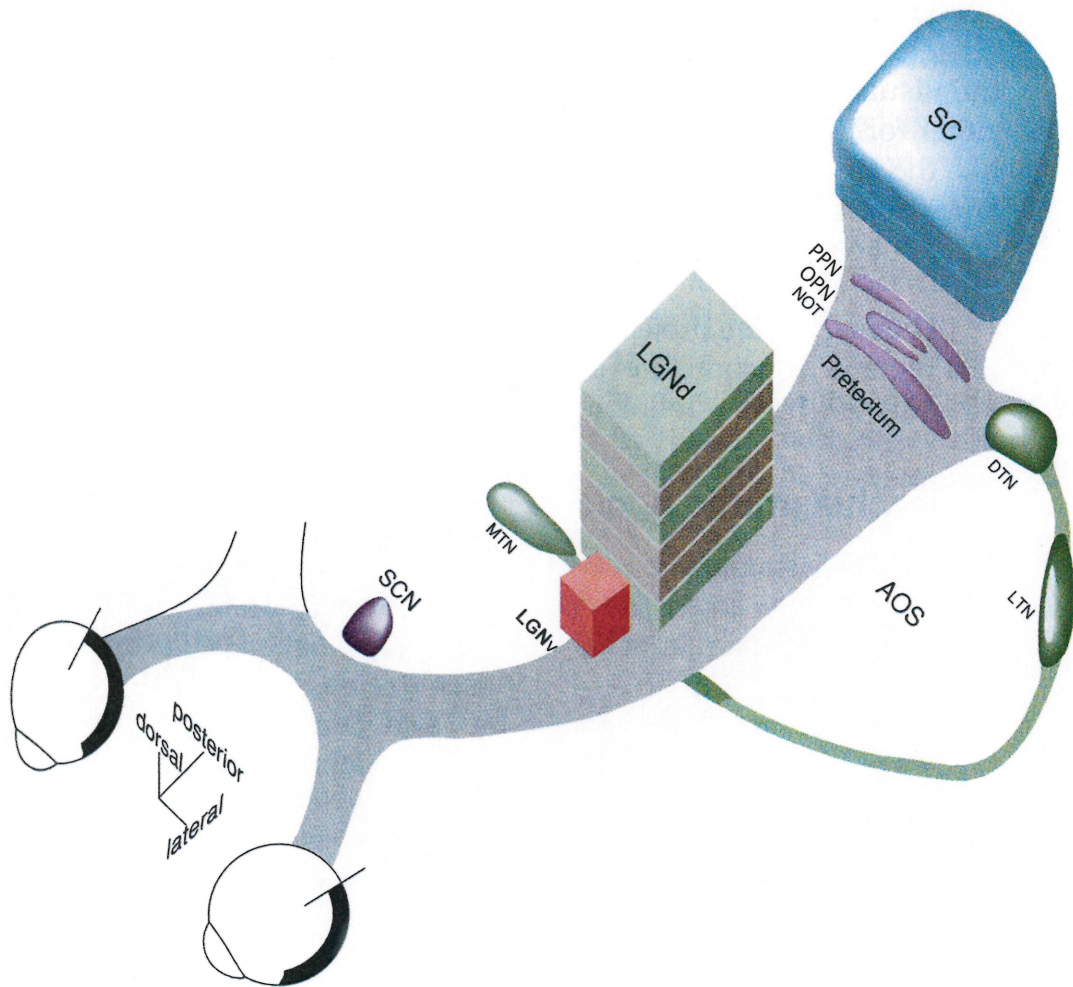


Figure 3: Schéma illustrant les principales cibles de projection des cellules ganglionnaires de la rétine chez le chat. AOS: système optique accessoire, DTN: noyau terminal dorsal, LGNd: corps genouillé latéral dorsal, LGNv: corps genouillé latéral ventral, LTN: noyau terminal latéral, MTN: noyau terminal médian, OPN: noyau de l'olive du prépectum, NOT: noyau du tractus optique, PPN: noyau prétectal postérieur, SC: collicule supérieur, SCN: noyau suprachiasmatique de l'hypothalamus.

Plusieurs auteurs se sont posés la question à savoir si un type de cellules ganglionnaires se projette seulement dans une région sous-corticale, ou dans plusieurs régions différentes à l'aide de collatérales. Il semble que chez certaines espèces, comme le primate par exemple, chaque type de cellules aurait sa propre cible, alors que chez d'autres, comme c'est le cas chez le chat, un type de cellules enverrait ses projections à plusieurs régions différentes au moyen de collatérales (Rodieck, 1998). Cette question provoque toutefois encore quelques débats.

2.1 *La voie rétino-géniculée*

Notre perception consciente du monde visuel vient des cellules ganglionnaires qui se projettent au corps genouillé latéral dorsal car les cellules de ce noyau se projettent, à leur tour, directement dans une portion du cortex visuel appelée V1. En fait, le corps genouillé latéral dorsal est la principale structure de relais à travers laquelle les messages visuels sont retransmis de la rétine vers les régions du cortex cérébral. Anatomiquement, chez le chat, le LGNd est composé de six couches, soit les couches A, A₁, C, C₁, C₂ et C₃. Il est bien connu que les couches A, C et C₂ reçoivent des projections de la rétine nasale contralatérale, alors que les couches A₁ et C₁ reçoivent, quant à elles, des projections de la rétine temporale ipsilatérale. Chez cet animal, il est bien établi que les cellules alpha (Y), bêta (X) et gamma (W) se projettent, de façon majeure dans le cas des cellules alpha (Y) et bêta (X), ou mineure dans le cas des cellules gamma (W), dans le

corps genouillé latéral dorsal du thalamus (Sherman, 1985). Les cellules bêta (X) se projettent exclusivement aux couches A et A₁ du LGNd, alors que les cellules alpha (Y) se projettent dans les couches A, A₁ et C. Les projections des cellules ganglionnaires de type W sont, par ailleurs, confinées aux couches C du LGNd. Selon certains auteurs, plusieurs autres types de cellules ganglionnaires semblent se projeter dans le LGNd (Rodieck, 1998; Berson *et al.*, 1999; Isayama *et al.*, 2000). Cependant, ces cellules paraissent toutes innervent la couche C du LGNd, celles-ci étant toutes de petit calibre. Leur rôle à jouer au niveau visuel reste à être défini, car leur découverte fut basée sur des caractéristiques morphologiques seulement.

Les observations de plusieurs chercheurs ont également suggéré une forte représentation des cellules ganglionnaires de type W dans la partie ventrale du corps genouillé latéral (Hayhow, 1958; Laties et Sprague, 1966; Hollander et Sanides, 1976; Spear *et al.*, 1977). Cependant, il a été reporté dans les études physiologiques que le LGNv contient une variété de cellules de propriétés différentes, et les afférences et efférences du LGNd suggèrent que celui-ci puisse être l'un des centres d'intégration visuo-moteur (Hughes et Ater, 1977; Spear *et al.*, 1977). De plus, plusieurs évidences, plus particulièrement chez les rongeurs, montrent qu'une partie du LGNv intervient avec les rythmes circadiens (Harrington, 1977). Cette notion est supportée par des données anatomiques qui indiquent que, chez les rongeurs, le IGL (*intergeniculate leaflet*) aurait des connections avec le noyau suprachiasmatique de l'hypothalamus. Récemment, certains auteurs ont rapporté que le IGL des rongeurs serait en fait l'homologue de la zone médiane du

LGNv chez le chat, laquelle se projetterait également dans le noyau suprachiasmatique. (Pu et Pickard, 1996).

2.2 *La voie rétino-tectale*

Une partie des axones des cellules ganglionnaires de la rétine se rendent directement au mésencéphale, au niveau des couches intermédiaires du collicule supérieur. La majorité des projections des cellules ganglionnaires identifiées dans cette région se comporteraient, selon les études (Stone, 1983; Leventhal *et al.*, 1985), comme les cellules ganglionnaires de type W et Y. Chacune de ces projections terminerait dans des couches différentes des couches superficielles. Rodieck (1998) stipule cependant qu'une très grande variété de cellules ganglionnaires se projette dans les couches superficielles du collicule supérieur, et qu'il y aurait probablement une variété plus grande dans cette région que dans toutes les autres régions du cerveau qui reçoivent des projections rétiniennes. Toujours selon cet auteur, le nombre exact de types de cellules ganglionnaires qui se projettent dans cette région ne serait pas connu, car il apparaît très difficile de distinguer proprement les différents types en se basant seulement sur des critères morphologiques. Il est toutefois bien établi que les informations reçues au collicule supérieur interviennent dans le déterminisme des réactions de mouvements des yeux, de la tête, et du corps afin de localiser un objet dans l'espace visuel.

2.3 La voie rétino-hypothalamique

Il a été établi par plusieurs auteurs que la projection rétino-hypothalamique était une caractéristique générale de tous les mammifères. Les axones qui contiennent cette voie se terminent majoritairement au niveau du noyau suprachiasmatique, et leur fonction est relativement bien reconnue. En effet, l'input rétinien que ce noyau reçoit est, en fait, responsable de la synchronisation des rythmes circadiens et des cycles du jour et de la nuit. Les cellules ganglionnaires projetant à cette structure sont donc en mesure de répondre au changement d'intensité lumineuse. L'étude de Mason *et al.* (1977), a donné une évidence directe chez le rat que les axones formant la voie rétino-hypothalamique sont en fait des collatérales provenant des axones du nerf optique. Ceux-ci ont également observé que les collatérales semblaient provenir d'axones de calibre fin, et suggèrent donc l'implication de cellules ganglionnaires de type W. La morphologie de ces cellules, basée sur des études rétrogrades, a été premièrement étudiée chez le hamster (Pickard, 1980). Il a été démontré que les cellules se projetant à ce noyau possédaient un petit soma ainsi qu'un champ dendritique large mais éparpillé. Des résultats similaires ont également été obtenus chez le rat (Moore *et al.*, 1995) ainsi que chez d'autres espèces incluant le chat (Murakami *et al.*, 1989 ; Pu, 1999). Il est possible, cependant, que les collatérales qui atteignent le noyau suprachiasmatique soient de petit calibre, et que celles-ci proviennent en fait d'axones plus gros. En effet, une étude antérieure faite chez le rat démontre que les collatérales qui atteignent le noyau suprachiasmatique proviennent en fait

d'axones de petit et de gros calibres (Millhouse, 1977). A ce stade, il n'est donc pas clair de savoir quelle classe particulière de cellules ganglionnaires procure l'information concernant le contrôle des rythmes circadiens via l'hypothalamus.

2.4 *La voie rétino-prétectale*

Le prétectum est une région divisée en plusieurs zones et comprend le noyau du tractus optique, le noyau de l'olive du prétectum, ainsi que les noyaux prétectaux postérieur, médian et antérieur. Il est bien connu que chacune de ces régions reçoit des projections de la rétine et ce, à divers degrés. Des études employant des traceurs rétrogrades ont démontré chez quelques espèces, incluant le chat, que certaines des cellules ganglionnaires qui se projettent au prétectum possèdent un champ dendritique vaste mais clairsemé, caractéristiques typiques des cellules de type gamma (W) (Ballas *et al.*, 1981; Ballas et Hoffmann, 1985; Zhang et Hoffmann, 1993). Une variété d'autres formes morphologiques a cependant été observée chez le chat, et une étude détaillée en arrive à la conclusion que près de la moitié des cellules ganglionnaires qui se projettent dans cette structure ont, en fait, les caractéristiques typiques des cellules alpha, bêta et gamma, alors que la moitié restante auraient de plus petit corps cellulaire ainsi que des dendrites plus fines (Koontz *et al.*, 1985). Quel type de cellules ganglionnaires se projette sur quel noyau spécifique du prétectum reste cependant à être démontré. Plusieurs des cellules observées au niveau du prétectum montrent une morphologie identique à celles observées au niveau du collicule supérieur,

suggérant que certains axones émettent des collatérales afin d'innover en même temps le prétectum et le collicule supérieur. Cette structure est connue pour jouer un rôle au niveau de l'ajustement de la pupille de l'œil en réponse à un changement d'intensité lumineuse, ainsi qu'un rôle au niveau du nystagmus optokinétique.

2.5 *La voie rétinio-AOS*

Le système optique accessoire (AOS) est un système bien défini autant morphologiquement que fonctionnellement. Celui-ci est composé de trois noyaux précis, c'est-à-dire le noyau terminal médian, latéral et dorsal, chacun recevant un input spécifique de la rétine. Chez le chat et le singe, il est démontré que les cellules ganglionnaires qui se projettent à ce système sont sélectives à la direction (Hoffmann et Stone, 1985; Telkes *et al.*, 2000), et il est bien établi que sa principale fonction est la stabilisation de l'image sur la rétine lors de mouvements de la tête. La morphologie des cellules ganglionnaires qui projettent à ce système est cependant peu connue. En fait, outre l'étude de Hoffmann et Stone (1985), peu d'études se sont attardées aux cellules ganglionnaires qui se projettent au système optique accessoire chez le chat. Une étude récente chez le singe mentionne toutefois que les cellules ganglionnaires se projetant à ce système seraient comparables aux cellules de types gamma (W), en ce sens que celles-ci auraient de petit soma, un axone fin ainsi que des champs dendritiques vastes (Telkes *et al.*, 2000).

2.6 *Les autres voies*

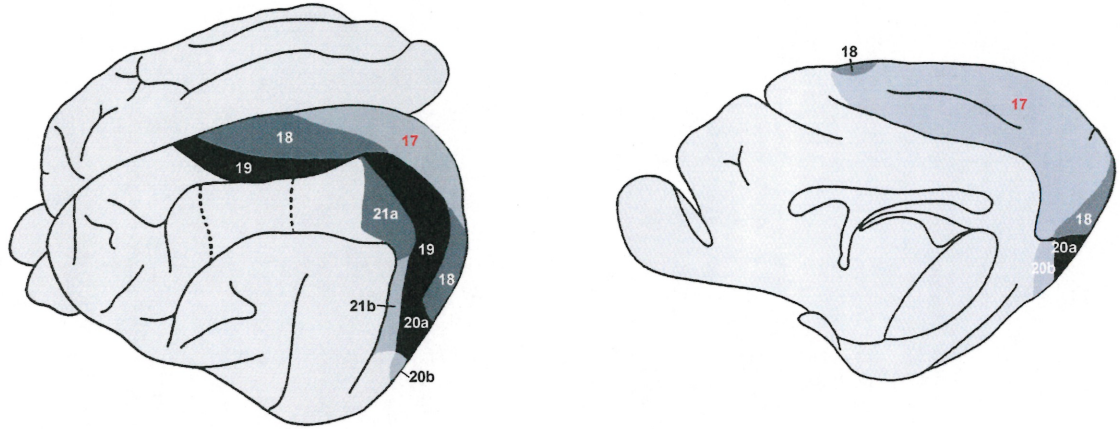
Les projections centrales des cellules ganglionnaires de la rétine ont été très étudiées chez plusieurs espèces (Guillery, 1969; Hendrickson *et al.*, 1970; Rodieck, 1979; Wilson et Hendrickson, 1981; Leventhal *et al.*, 1985). Cependant, ces études ont principalement mis l'accent sur un ou deux groupes de cellules dans une ou deux cibles centrales (ex. LGNd et SC). Toutefois, les études plus récentes montrent que la distribution initiale des cellules ganglionnaires est plus diffuse et extensive qu'originellement cru. En effet, avec l'utilisation de marqueurs neuronaux plus sensibles, des cibles rétino-réceptives additionnelles, tels que d'autres noyaux de l'hypothalamus, de la région préoptique et du télencéphale basal, ont été identifiées chez certaines espèces, principalement des rongeurs (Pickard et Silvermann, 1981; Riley *et al.*, 1981; Johnson *et al.*, 1988; Cooper *et al.*, 1989; Levine *et al.*, 1991, 1994; Youngstrom *et al.*, 1991; Mick *et al.*, 1993; Ling *et al.*, 1998). Certaines hypothèses, émises par ces auteurs, existent également en ce qui concerne les types de cellules ganglionnaires qui projettent à ces nouvelles cibles. En effet, le fait que la majorité des projections retrouvées dans ces différentes cibles semblent provenir d'axones de petits calibres, amène certains auteurs à stipuler que celles-ci proviendraient possiblement de cellules ganglionnaires de type W. Cependant, chez le chat, outre les projections rétiniennes aux cibles majeures décrites précédemment, peu d'informations supplémentaires sont disponibles.

3. *Le cortex*

Le cerveau, autant chez les humains que chez les mammifères évolués, est caractérisé par la présence d'hémisphères cérébraux très développés. C'est au niveau des couches externes de ces hémisphères, le cortex cérébral, que l'information sensorielle de haut niveau est analysée. La route primaire pour le relais de l'information visuelle au cortex cérébral vient majoritairement du corps genouillé latéral dorsal. Les cellules de toutes les couches de ce noyau envoient des axones à une région connue comme étant le cortex visuel primaire. Cette région du cortex est sans contredit la région la plus comprise de toutes les régions corticales et ce, autant morphologiquement que physiologiquement. Celle-ci est située au pôle postérieur du lobe occipital et est également connue sous les appellations V1 ou encore l'aire 17 (Fig. 4A).

Le cortex visuel primaire du chat est divisé en six couches, de I à VI, lesquelles peuvent également être subdivisées. Chacune de ces couches est caractérisée par des afférences ou des efférences distinctes. Excepté pour la couche 4, la séparation entre origine nasale ou temporale est assurée par l'existence d'une organisation en colonne. Il existe ainsi des colonnes de dominance oculaire et, perpendiculairement à la distribution en colonne de dominance, on retrouve également une distribution en colonne d'orientation. Les neurones de chacune de ces colonnes sont sensibles à un angle d'inclinaison particulier.

A



B

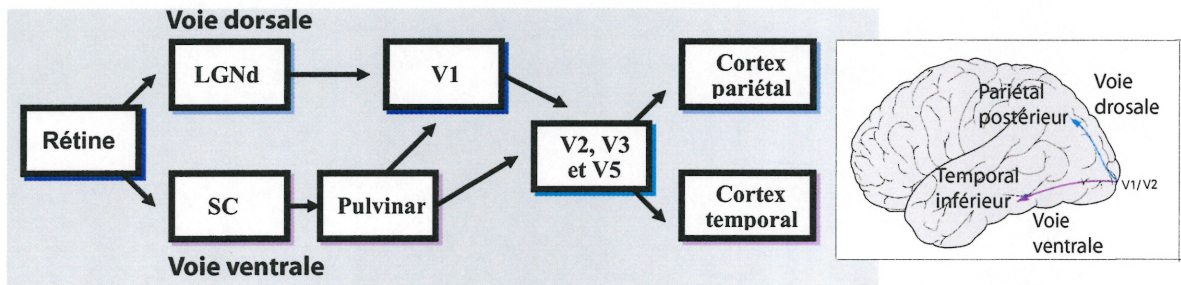


Figure 4: (A) Vue dorsolatérale (gauche) et vue médiane (droit) du cortex visuel du chat, incluant l'aire visuelle 17 (V1). (B) Schéma illustrant le cheminement, à partir de la rétine, des deux voies visuelles primaires, c'est-à-dire la voie dorsale qui termine au niveau du cortex pariétal, ainsi que la voie ventrale qui prend fin dans le cortex temporal. La direction empruntée par les deux voies au niveau du cortex est représentée à droite. LGNd: corps genouillé latéral dorsal, SC: collicule supérieur.

Les études animales et humaines ont montré que, en dehors de l'aire primaire dite V1 ou aire 17, d'autres aires cérébrales, en connexion avec les cellules de V1, répondent activement à des stimulations plus ou moins spécialisées du système visuel. Ces études démontrent plus précisément que le système visuel serait divisé en deux voies principales, dans lesquelles une hiérarchie fonctionnelle et anatomique prédomine. Ces deux voies sont communément appelées la voie ventrale ainsi que la voie dorsale (Fig. 4B).

3.1 *La voie ventrale*

Les axones des cellules du corps genouillé latéral dorsal rejoignent la couche 4C de l'aire visuelle primaire V1 ou aire 17. De la couche 4C, l'information est transmise par la suite aux voies visuelles secondaires, ou associatives, préstriées V2 ou aire 18, V3 et V5 ou aire 19, puis le cortex inféro-temporal. Cette voie constitue la voie de la vision focale (le *quoi?*) et serait impliquée dans la reconnaissance et la discrimination des formes.

3.2 *La voie dorsale*

Les axones des cellules du collicule supérieur envoient leurs projections au pulvinar avant de rejoindre, soit également l'aire visuelle primaire V1 ou aire 17, soit directement les aires visuelles secondaires préstriées V2 ou aire 18, ainsi que V3 et V5 ou aire 19 pour ensuite se diriger vers le cortex pariétal. Cette voie dite

dorsale constitue la voie de la vision ambiante (le où?) car celle-ci permet de rendre compte des rapports entre les objets et le contexte visuel. Plus spécifiquement, cette voie serait responsable de l'analyse du mouvement et de l'organisation spatiale.

3.3 *Les voies sous-corticales*

De manière générale, les projections rétiniennes, lorsque parvenues au niveau des régions sous-corticales, font relais au niveau du thalamus avant que l'information soit transmise au cortex. Le corps genouillé latéral dorsal est le relais thalamique visuel le plus important, suivi par le pulvinar, ce dernier recevant les afférences rétiniennes originellement envoyées aux couches superficielles du collicule supérieur. Les projections rétiniennes qui se projettent au collicule supérieur pour ensuite faire relais au pulvinar avant d'être transmises au cortex, forment le début du cheminement de la voie dorsale décrite précédemment, alors que les projections directes de la rétine au LGNd forment le début de la voie ventrale. Cependant, outre les projections rétiniennes se projetant directement au LGNd et au SC, plusieurs autres noyaux sous-corticaux reçoivent également des projections directes de la rétine, et leur cheminement avant d'atteindre le cortex demeure inexploré. En fait, pour la plupart de ces noyaux, la question reste à savoir si ces structures additionnelles projettent obligatoirement, soit de manière directe ou indirecte, au cortex, ou s'il existe des voies dont le cheminement est

entièrement sous-cortical. Afin de répondre à cette question, la circuiterie détaillée de ces structures demande à être conçue.

4. *Les méthodes d'identification des projections rétiniennes*

4.1 *La méthode de traçage rétrograde*

Le transport rétrograde a souvent été la méthode utilisée par les chercheurs afin de déterminer la morphologie des cellules ganglionnaires de la rétine. La méthode consiste à injecter un traceur dans une région connue du cerveau comme étant rétino-réceptive, afin que la substance soit transportée des terminaisons aux corps cellulaires. Cette méthode permet de voir très clairement le type de cellules ganglionnaires qui se projettent dans une région circonscrite du cerveau, mais les chercheurs utilisant cette méthode doivent toutefois être très vigilants lors de l'analyse de leurs données. En effet, les axones endommagés lors de l'injection par l'électrode peuvent également transporter la substance et marquer les cellules ganglionnaires au niveau de la rétine, ce qui peut compliquer la situation si les axones rétiniens destinés à d'autres régions traversent le site d'injection, comme c'est le cas pour le prétectum, envahi par les fibres destinées au collicule supérieur. La méthode rétrograde comporte également certains risques, en ce sens qu'une chirurgie est nécessaire afin d'aller injecter directement dans la région ciblée, et certaines régions sont moins accessibles que d'autres. De plus, les résultats qui découlent de l'utilisation de cette méthode sont rarement complets, car il est très exceptionnel que la substance injectée couvre l'étendue de la région ciblée, ce qui a pour effet qu'au niveau de la rétine, les cellules ganglionnaires

marquées ne représentent qu'une portion seulement des cellules ganglionnaires qui projettent réellement à la région injectée.

4.2 *La méthode de traçage antérograde*

Le transport antérograde, quant à lui, est une méthode très utilisée servant à identifier les projections centrales des cellules ganglionnaires. Un traceur est injecté dans la chambre vitrée de l'œil, capté par les cellules ganglionnaires, et transporté de façon antérograde vers les terminaisons rétiniennes. Plusieurs chercheurs, afin de connaître en plus des cibles de projections le ou les type(s) de cellules ganglionnaires qui projettent aux régions ciblées, combinent le transport antérograde et rétrograde au cours d'une même expérience. Cependant, avec l'émergence de marqueurs neuronaux de plus en plus sensibles, le transport antérograde est également utilisé afin de comparer, de manière indirecte, les types de cellules qui se projettent aux zones rétino-réceptives. En effet, il est bien documenté que l'examen de la morphométrie des terminaisons rétiniennes est un moyen efficace qui permet de distinguer les axones originant de différents types de cellules ganglionnaires (Stone, 1983; Sherman, 1985; Bhide et Frost, 1999). Par exemple, des études portant sur le LGNd, ont permis d'établir que les terminaisons rétiniennes provenant des cellules de type X ont tendance à être regroupées sous forme de grappes et sont de grosseurs moyennes, alors que les terminaisons formées par les cellules ganglionnaires de type Y sont distribuées de manière plus diffuse et sont de gros calibres (Tamamaki *et al.*, 1995; Ling *et al.*, 1998).

Il est toutefois important de mentionner que les études utilisant le transport antérograde afin d'identifier les caractéristiques morphologiques des terminaisons rétiniennes dans les noyaux cibles ont été, en partie, entravées par un manque de techniques de traçage adaptées. Les méthodes qui utilisent le transport de protéines contenant des acides amino-radioactifs, le HRP ou le HRP-WGA, donnent une bonne sensibilité mais provoquent une réaction granulaire et souvent discontinuée, quelques fois avec beaucoup de bruit de fond. Avec de telles techniques, il est spécialement difficile de distinguer les terminaisons des axones de passage, particulièrement dans les régions qui reçoivent une projection mineure. En fait, la plupart de ces techniques définissent bien la zone rétino-réceptive, mais ne parviennent pas à révéler clairement les détails morphologiques des terminaisons.

La récente introduction du fragment B de la toxine du choléra comme marqueur a allégé les difficultés techniques rencontrées par les méthodes énumérées précédemment et ce, à un degré considérable (Ling *et al.*, 1994, 1997; Angelucci *et al.*, 1996). En effet, peu de traceurs antérogrades connus révèlent en détail la morphologie fine des axones ainsi que leurs terminaisons. Les dextrans biotinylés ainsi que les dextrans conjugués avec la rhodamine sont également des traceurs très sensibles, cependant, une limitation commune à ces traceurs est leur manque de versatilité. En effet, des facteurs tels l'espèce, l'âge de l'animal, de même qu'une voie neuronale particulière peuvent rendre le traceur inapproprié dû à un mauvais captage, transport, ou détectabilité (Angelucci *et al.*, 1996). En fait, seule le fragment B de la toxine du choléra permet un marquage complet des

projections rétiniennes, et ce jusqu'au plus petites, alors que les autres marqueurs ont tendance à marquer, de façon complète, seulement les terminaisons de gros diamètre.

4.3 *Le marquage d'un axone isolé*

L'avancement au niveau des techniques neuroanatomiques a permis la reconstruction et la visualisation d'axones isolés ainsi que de leurs terminaisons. Ceci est effectué par, premièrement, l'enregistrement d'un axone afin de déterminer ses caractéristiques physiologiques, et par la suite le marquage intracellulaire de ce même axone afin de déterminer sa ou ses cible(s) de projections. En plus de nous renseigner sur ses caractéristiques physiologiques, de telles reconstructions offrent l'information concernant la distribution des boutons au niveau des terminaisons d'un axone en particulier. De plus, cette méthode permet de voir les différences potentielles parmi les axones d'une même voie, ainsi que les variations au niveau du patron de projection d'axones similaires. Plus important encore, cette méthode renseigne à savoir si un même axone innerve une ou plusieurs régions à l'aide de collatérales, détail impossible à obtenir lorsque plusieurs axones sont marqués en même temps.

Cette procédure peut donner, comme décrit plus haut, plusieurs informations pertinentes. Cependant, une limite importante que comporte cette procédure est le temps requis afin de parvenir à reconstruire plus d'un axone compris dans une

même région. La portion enregistrement électrophysiologique de l'axone peut également s'avérer une limite, car les chances d'enregistrer les axones dont les propriétés physiologiques correspondent aux cellules de types X et Y sont beaucoup plus grandes que la possibilité d'enregistrer des axones correspondant aux cellules de type W. En effet, il est connu que les cellules de type W répondent très faiblement à un stimulus visuel, alors que les cellules de types X et Y répondent facilement. En fait, cette méthode est appropriée si un chercheur est intéressé à savoir si un type physiologique particulier de cellules projette à plus d'une cible, et si oui, si les terminaux de cette cellule sont identiques ou différents au niveau des différentes cibles. Cependant, cette même méthode s'avérerait être beaucoup trop longue et demanderait un nombre innombrable d'animaux si l'information recherchée est la cartographie complète des cibles de projection chez une espèce donnée.

5. *Buts de l'étude*

Un des facteurs qui a fortement influencé notre compréhension du système visuel fut la découverte et la démonstration d'une variété de cellules à l'intérieur de la rétine, par des méthodes électrophysiologiques et hodologiques. Il est donc important et fondamental, afin de comprendre les premières étapes de la vision, de connaître le type de cellules ganglionnaires qui envoient leur message à chacune des différentes régions du cerveau. Le premier but de cette étude est donc de réévaluer les cibles de projections rétiniennes chez le chat, car il y a lieu de croire que, outre les cibles majeures déjà connues décrites précédemment, plusieurs autres cibles additionnelles seraient susceptibles de recevoir un input direct de la rétine. En deuxième lieu, comme il a déjà été mentionné, la configuration des arborisations terminales au niveau des différentes zones rétino-réceptives s'avère être un bon indice afin de comparer les différents types de cellules qui se projettent à ces structures. L'étude de la morphologie des terminaisons dans les différentes cibles sera donc effectuée afin de déterminer s'il y a une différence marquée au niveau des terminaisons dans les différentes cibles, de même qu'à l'intérieur d'un même noyau. La réévaluation de l'ensemble des projections rétino-fuges chez le chat, ainsi que l'étude morphologique des terminaisons, se fera grâce à l'utilisation d'un traceur antérograde plus sensible que les traceurs utilisés dans les études antérieures, et il s'agit du fragment B de la toxine du choléra, dont les avantages ont déjà été décrits dans la section portant sur les méthodes de traçage.

ARTICLE

Manuscript in preparation to be submitted to The Journal of Comparative Neurology

RETINAL PROJECTIONS IN THE CAT: A CHOLERA TOXIN B SUBUNIT STUDY

I. Matteau^{1,2}, D.Boire², and M. Ptito^{2*}

¹ Department of psychology and ² School of optometry, Montreal, Canada,
H3T 1P1

Running headline: Retinal projections in the cat

* Correspondance to : M.Ptito, École d'optométrie, Université de Montréal, 3744, rue Jean-Brillant
Montréal, Québec, Canada, H3T 1P1
Tel. : (514) 343-6052
Fax : (514) 343-2382
Email : maurice.ptito@umontreal.ca

Supported by the Natural Sciences and Engineering Research Council of Canada (NSERC)

INTRODUCTION

The extent of retinal projections has been extensively studied in many mammalian species. It is well established that the lateral geniculate nucleus of the thalamus (LGN) and the superior colliculus (SC) are the main targets of retinal projections in mammals. Retinal ganglion cells (RGC) projections to the pretectal area, the nuclei of the accessory optic system (AOS), and the suprachiasmatic nucleus (SCN) are also well documented.

Projections from the retina have, during recent years, been visualized using degeneration techniques and various tracers such as radioactive amino acids or horseradish peroxidase (HRP) in either its free form or conjugated with lectins such as WGA or bacterial toxin including CTb. These investigations have led to the identification of a host of additional retinal targets whose precise functions remain largely unknown.

Specific nuclei of the hypothalamus, preoptic area, basal telencephalon, anterior thalamus and midbrain raphe have been identified as retinal targets in several mammalian species such as rodents (Pickard, 1982; Itaya and van Hoesen, 1982; Johnson et al., 1988; Cooper et al., 1989; Youngstrom et al., 1991), primates (Itaya and van Hoesen, 1982; Cooper et al., 1989; Mick et al., 1993), and cats (Foote et al., 1978; Itoh et al., 1983). Even if their functional significance is still undefined, many authors agree that these novel retinorecipient nuclei might contribute to “non-image forming” systems that include the circadian and the retino-AOS pathways (Youngstrom et al., 1991; Mick et al., 1993; Qu et al., 1996; Fite and Janusonis, 2001).

Methods that utilize radioactive aminoacids, HRP, or WGA-HRP provide good sensitivity, but show relatively poor structural details. Although the retinal projections in many areas of the brainstem of the cat were described in previous studies using degenerating methods (Sanides, 1975; Harting and Guillery, 1976) and HRP (Ballas et al., 1981; Hugues and Chi, 1981; Itoh et al., 1983; Murakami, 1989; Hutchins, 1991), we used in this study the B fragment of the cholera toxin to reevaluate the retinal projections and to illustrate, when possible, the morphologies of the retinofugal axon arbors. In several studies, CTb was proven to be a highly sensitive anterograde tracer, revealing, in addition to retinofugal projections in not well described targets, in great details the morphology of afferent terminal arbors (Mikkelsen, 1992; Reiner et al., 1996; Ling et al., 1998; Derobert et al., 1999).

MATERIALS AND METHODS

Subjects

Seven normal cats, male and female, were used in this study. Cats were all adults, and weighted between 3 and 4 kg. They were maintained in a 12L: 12D lighting regimen, with food and water freely available. All procedures were approved by the *Comité de déontologie de l'expérimentation sur les animaux* from the University of Montreal, and followed the recommendations of the Canadian Council on Animal Care.

Intraocular injection of CTb

Cats were first administered Atropine (0.04mg/kg) and Atravet (0.5mg/kg) 30 minutes prior to anaesthesia. They were anesthetized with 2% Halothane in a mixture of oxygen and nitrous oxide (50:50). When the appropriate level of anaesthesia was attained, cats received a unilateral injection of 50 μ l of 1% CTb (List Biological Laboratories, Inc., Campbell, CA) with 2% dimethyl sulfoxide (DMSO) diluted in sterile water into the vitreous chamber of the eye, through a butterfly catheter (25G). Cats received Buprenex (0.001mg/kg *bid*) and Tribissen (0.15mg/kg *qd*) during the post-injection survival time.

Perfusion

Four days post-injection, cats received an overdose of sodium pentobarbital (80mg/kg), and perfused transcardially with 0.1 M phosphate-buffered saline (PBS), pH 7.4, followed by 4% paraformaldehyde in PBS. Brains were blocked stereotaxically, removed, post-fixed overnight at 4°C in the fixative, cryoprotected by infiltration of buffered sucrose, and frozen until processed.

Immunohistochemistry

Tissue was cut in coronal sections, at a thickness of 40 μ m, on a freezing microtome. Sections from a level *circa* +22 to -12 (Reinozo-Suárez, 1961) were collected in PBS, and divided into four sets. Transported B fragment of cholera toxin was visualized by immunohistochemistry on one set of free-floating sections according to Angelucci et al. (1996). They were first incubated in 90% methanol and 0.3% H₂O₂ in 0.1 M phosphate-buffered saline (PBS, pH 7.4) for 20 minutes; rinsed; incubated in 0.1 M glycine in PBS for 30 minutes, and incubated in PBS containing 4% normal donkey serum (NDS), 2.5% bovine serum albumin (BSA), and 1% Triton X-100 overnight at 4°C. Sections were then rinsed and immersed for 48 hours at room temperature in a solution containing goat anti CTb (List Biological Lab., Campbell, CA) diluted 1:4000 in PBS with 2% NDS, 2.5% BSA, and 2% Triton X-100. Sections were rinsed; incubated in PBS with 2% NDS and 2.5% BSA for 10 minutes. This was followed by an incubation of an hour in donkey anti-goat biotinylated secondary antibody (Vector Labs, Burlingame, CA), diluted 1:200 in PBS with 2% NDS, 2.5% BSA and 1% Triton X-100. Sections were rinsed and again incubated in 2% NDS and 2.5% BSA in PBS for 10 minutes, followed by an avidin-biotin-peroxidase complex (Vector, Elite ABC Kit, diluted 1:100 in PBS) for an hour, in the dark, at room temperature. Sections were then rinsed and pre-incubated in 3, 3' -diaminobenzidine tetrahydrochloride (DAB) in PBS for 5 minutes. The peroxidase was visualized by adding 0.004% H₂O₂ to the DAB solution for 2-4 minutes. Sections were washed five times (1 min each) with PBS,

mounted on gelatine-chrome alum-subbed slides, air dried, dehydrated in decreasing dilutions of ethanol and coverslipped with Depex.

Sections immunostained for CTb were analyzed under a Leica DMRB microscope using x40 or x63 objectives. A camera lucida-equipped microscope was used to draw sections containing CTb axons and terminals. The cytoarchitectonic atlases of Berman (1968) and Reinoso-Suárez (1961) for the cat brain were used for the identification of the nuclei. Adjacent series of sections were stained with cresyl violet or reacted for acetylcholinesterase histochemistry to help in drawing cytoarchitectonic boundaries.

As a control for transsynaptic transport, the cortex from the occipital lobes was sectioned and processed for CTb immunostaining in one animal. In addition, some sections were submitted to the immunocytochemistry reaction without the primary antibody as a control for the specificity of staining.

RESULTS

Unilateral injection of CTb in the vitreous resulted in sufficient anterograde transport of the toxin in all seven brains. Labeling throughout the LGNd indicated that the cholera toxin B fragment was available to RGC all over the retinal surface. Dense retinofugal projections were found in all the well-known nuclei of the primary visual pathway, accessory optic pathway, and retinohypothalamic tract. In addition to these targets, sparse but distinct direct retinal projections were observed in many other diencephalic and mesencephalic regions not previously described as receiving direct input from the retina (Fig. 1). CTb labeled terminals were seen bilaterally with a contralateral predominance, except for the mesencephalic reticular formation where only crossed retinal projections were observed. The labeling in all targets appeared similar in the seven cases. In the results presented below, we refer to the size of varicosities as tiny ($\sim 1\mu\text{m}$), small ($\sim 1.5\text{-}2\mu\text{m}$), or medium ($\sim 2\text{-}4\mu\text{m}$) according to their diameter (Ling et al., 1998).

Insert Figure 1 about here

Labeled terminals in nuclei of the primary visual pathway

In mammals, the retina shows a common pattern of projections to three well documented regions of the brain: the LGN, the pretectum, and the SC. Labeled retinal axons that course bilaterally through the optic tract predominantly terminate in these regions to form the primary visual pathway.

Thalamus

The cat LGN, which includes the LGNd and LGNv, received a dense crossed retinal projection, as well as substantial uncrossed input. In the LGNd, the crossed retinal input was segregated into layers A, C and C₂, while input from the uncrossed retina was segregated into layers A₁ and C₁. The overall distribution of retinal inputs on both sides complemented each other. In the LGNv, retinal input on both sides was found in the lateral and medial portions of the nucleus. No retinal projections were observed in the intermediate zone of the LGNv. Because of the density of the axons in both the crossed and uncrossed LGNd, axonal arborizations of labeled fibers could not be properly visualized in detail. A characteristic of CTb labeling is that it can reveal the details of axon arbors only in weakly innervated regions. Conversely, the reaction product appears diffuse in regions that receive a dense projection, making it very difficult to visualize the terminals ramifications (Mikkelsen, 1992; Angelluci et al., 1996; Ling et al., 1997, 1998).

In addition to retinal projections to the LGN, retinal afferents were identified in the pulvinar (Pul) and lateral posterior nucleus of the thalamus (Lp). In the pulvinar, labeled terminals were observed medially to the well-known retinorecipient zone coined the "geniculate wing". The distribution of terminals in the Lp-Pul complex was heterogeneous, forming in some cases small patches composed of terminals of various morphologies along the dorsomedial border of the caudal LP (Fig. 2A). Three types of retinal terminals were identified in the Lp-Pul complex: (1) Varicosities and simple endings on individual collaterals,

frequently found throughout the Lpl, Lpm, and the medial Pulvinar; (2) string-like complexes in which several axons studded with boutons of various sizes follow a parallel course (Fig 2B); and (3) terminals resembling R2 retino-geniculate endings, mostly found in the superficial dorsomedial patches, and consisting of rosette-like clusters of small and medium varicosities (Fig. 2C).

Insert Figure 2 about here

In the thalamus, the perigeniculate nucleus (PGN), just dorsal to the LGNd, also received a sparse retinal projection. This region had axons beaded mostly with round and elongated medium size varicosities (Fig. 2D). The lateral habenular nucleus (LH) was another nucleus receiving a retinal input in our study. Retinal terminals formed a patch of terminals restricted mainly in the caudal part of the LH (Fig. 2E). Two different morphologies of labeled optic terminals were visualized in this nucleus: (1) highly branched axons with small varicosities, sometimes forming clusters (Fig. 2F); and (2) string-like configurations (Fig. 2G).

Interestingly, a few scattered isolated retinal terminations were also present in the medial geniculate nucleus of the thalamus. Labeled axons were mostly found in the lateral part of the ventral division of the nucleus and exhibited poorly branched axons “decorated” with medium-sized varicosities (Fig. 2H).

In addition to the retinorecipient nucleus mentioned above, retinal fibers and terminals were observed in the thalamic reticular formation (RT). Retinal axons were identified throughout its rostrocaudal extent, with the densest projection found in its rostral portion. The rostral and caudal retinal projections showed different morphologies, axons found at the rostral level being mostly decorated with

clustered medium size swellings (Fig. 2J), while caudally the axons displayed rarely intermingled small and tiny varicosities (Fig. 2K).

The zona incerta (ZI) also received direct retinal input. The morphology of retinal axons in this nucleus was different whether the input was located in the contralateral or in the ipsilateral side. In the crossed ZI, string-like configurations with dense clusters composed of medium boutons were often visualized (Fig. 2L), whereas the uncrossed ZI contained axons bearing small and tiny varicosities along the shaft (Fig. 2M). On both sides, however, axons were of small caliber.

Pretectum

In the pretectum, dense labeling filled much of the nucleus of the optic tract (NOT), the olivary pretectal nucleus (OPN) and the posterior pretectal nucleus (PPN). In addition, sparse labeled terminals were identified in the anterior pretectal nucleus (APN) and the medial pretectal nucleus (MPN). Axons seen in the MPN were of small caliber with small and medium irregularly spaced swellings. Individual axons occupied most of the nucleus, however a few groupings of intermingled axons were also found at the medial border of the MPN. In the APN, fine axons with varicosities of generally small sizes and often clustered to form a rosette-like configuration were seen.

Tectum

The superficial layers of the superior colliculus (SCs), as expected, received very dense bilateral retinal projections. Because of the density of the retinal terminals, individual morphologies could not be visualized. A difference in the

distribution of the retinotectal axons was however apparent. The crossed retinal input filled the entire SCs, whereas uncrossed terminals were mostly grouped into small patches. Even if the retinal input was predominant in the superior colliculus superficial gray layers, some labeled terminals were also seen in the intermediate layers of the superior colliculus (SCi) and the brachium of the inferior colliculus (BIC). It was difficult to clearly distinguish labeled axons and terminals in the SCi because of the high amount of axons *en passage*. Axons that can be distinguished in this region were very fine with only a few tiny swellings along the shaft. In the BIC, small caliber axons with boutons of small and medium sizes, always located along the lateral border of the nucleus, were observed (Fig. 3A).

Insert Figure 3 about here

The pontine nucleus and the pyramidal tract also received sparse retinal projections. In the two nuclei, the morphology of the labeled optic terminals was similar. Axons were of small and medium calibers, and their terminal ramifications were dotted with small and medium irregularly spaced varicosities (Fig. 3B).

Retinal projections were also identified in a well circumscribed region dorsal to the parabigeminal nucleus. The axons in this region were very fine and poorly branched, with sparse varicosities of small size (Fig. 3C).

Labeled terminals in nuclei of the accessory optic pathway

Retinofugal terminals were observed in the medial, lateral, and dorsal terminal nuclei of the accessory optic system (AOS) bilaterally. In the medial terminal nucleus (MTN), retinal projections were seen in both its ventral (MTNv)

and dorsal (MTNd) divisions (Fig. 4A), the MTNv being situated medial to the base of the cerebral peduncle, whereas the MTNd is situated dorsomedial to the substantia nigra. In the three nuclei of the AOS, the retinal projection was very dense, and it was not possible to see the terminal arbor morphologies. The cerebral peduncle (CP), as well as the substantia nigra (SN), also received retinofugal terminals bilaterally. The retinal input to SN was quite substantial compared to the cerebral peduncle in which only a few retinal terminals were observed. Most of the retinofugal terminals in SN formed a dense patch of terminals of medium and small sizes (Fig. 4B), while the few terminals found in the cerebral peduncle stem from fine caliber axons bearing small varicosities, often intermingled to form a tubular configuration (Fig. 4C). Very close to the dorsal division of the contralateral MTN, labeled terminals were also identified in the mesencephalic reticular formation (MRF). In this nucleus, labeled retinal axons were of fine caliber, poorly branched, and studded with tiny and small isolated or clustered varicosities. The retinal projection to the MRF was denser than the projection to the cerebral peduncle, but weaker than the retinal input in the three nuclei of the AOS and the SN.

Insert Figure 4 about here

Labeled terminals in the hypothalamus

In the hypothalamus, although the suprachiasmatic nucleus (SCN) was the main target of retinal projections, the distribution of retinal fibers and terminals was not restricted to it. Sparse but widespread retinal projections were seen in other nearby hypothalamic nuclei. Retinal terminals were found, ventrolaterally, in the

anterior hypothalamic area (AHA) and the supraoptic nucleus, caudally in the lateral hypothalamic area (LHA), as well as in the periphery of the SCN and just dorsally in the periventricular nucleus (PEH).

In the SCN, a strong retinal input was observed throughout its rostrocaudal extent, with the distribution of CTb-positive fibers and terminals being more dense at its rostral level than at its caudal level. Retinal terminals were also detected just outside the SCN, dorsal and lateral to the nucleus. Retinal axons in its periphery were of fine caliber and bore small and medium varicosities. Like in the periventricular nucleus of the hypothalamus, axons were mostly unbranched with irregularly spaced varicosities (Fig. 5A).

Insert Figure 5 about here

Ventrolateral to the SCN, optic terminals were observed in the SON, and dorsally to the SON in the AHA. Axons that terminated in the AHA did not display extensive branching, and bore small and tiny varicosities (Fig. 5B). The supraoptic nucleus was the retino-recipient nucleus in the hypothalamus which received the weakest retinal input, where only a few retinofugal terminals, situated in the dorsal part of the nucleus, were observed. Labeled optic axons, in this nucleus, were mostly unbranched fine axons with tiny boutons.

In the LHA, the retinal projection became progressively denser caudally, and the densest input was at the level just caudal to the optic chiasm. Retinal terminals were also identified more rostrally, just lateral to the SON. The morphology of the retinal axons that composed the LHA were mostly formed of fine axons bearing few varicosities and few loosely clustered terminals (Fig. 5C).

No indication of transsynaptic transport of the tracer was observed in this study. For example, no CTb-like immunoreactive neuronal somata were found in any retinorecipient nucleus. In addition, no labeled terminal was observed in the occipital cortex or the parabigeminal nuclei, regions known to receive a dense input from, respectively, the LGNd and the SC. No staining was observed in sections incubated without the primary antibody.

DISCUSSION

Our results demonstrate direct retinal projections in all well documented regions of the primary, accessory, and circadian pathways, as well as in several other targets not yet known as receiving direct retinal input. The present study is the first to provide a complete survey of the retinal projections in the cat. In addition, the use of CTb offers a first view of the morphology of retinal terminations in many retinorecipient zones such as the PGN, MGN, LH, RT and ZI in the thalamus, as well as in the MRF, SN and CP.

Retinal projections to the thalamus

It is well established that the LGN receives a major input from the retina in all mammals. In our study, the pattern of retinal projections to the LGNd and the lateral and medial portions of the LGNv, are in agreement with the results of Higo and Kawamura, (1999) in the cat. Even if the morphological features cannot be distinguished in our study because of the density of the retinal input, considerable information from other studies is available regarding the retinal terminals in this nucleus in the cat (Mason and Robson, 1979; Sur and Sherman, 1982; Bowling and Michael, 1984; Sur et al., 1987; Robson, 1993; Tamamaki et al., 1995; Higo and Kawamura, 1999). Relatively little if any information is available, however, about other retinorecipient nuclei of the thalamus such as the Lp-Pul complex, PGN, LH, MGN, RT and ZI.

It is generally believed that retinal afferents to the Lp-Pul are restricted to the lateral region of the Pul also called the "geniculate wing". However, our observations show that retinal afferents to the Lp-Pul have a more widespread

projection than previously detected, confirming an earlier study that used HRP to label retinal axons in the cat (Itoh et al., 1983). Our results indicate that, in addition to the small retinorecipient patches along the dorsomedial border of the caudal portion of the Lp-Pul (Itoh et al., 1983), retinal terminals were distributed throughout most of the Lp-Pul. Information on the morphology of retinal terminals in the Lp is available in the hamster (Ling et al., 1997), but not in the cat. Ling et al. (1997) report that three groups of morphologically distinct retino-Lp terminals are detected in adult hamsters: (1) varicosities and simple endings on individual collaterals; (2) terminals resembling normal retino-geniculate endings (R1 and R2); and (3) string-like complexes. The same three morphologies were observed in our study, with the exception that only type R2 terminals were found in our material. In cats as well as in hamsters, varicosities of various sizes and simple endings on individual collaterals seem to be the most frequent, while string-like complexes and R2 retino-geniculate endings appear to be less numerous in cats than in hamsters.

It is shown here that both the PGN and MGN receive a direct projection from the retina. These novel features of the retinal input to the thalamus were not described in previous reports. Retinal projections to the LH, however, have been mentioned in two previous studies on the *Spalax ehrenbergi* (Cooper et al., 1993) and the albino rat (Qu et al., 1996). Our findings demonstrate a small retinal input predominantly located in the caudal part of the LH, which are in agreement with the results obtained in the albino rat (Qu et al., 1996).

The RT has been identified as a retinorecipient zone in our study, and an observation similar to the present finding has been reported in another study in the

cat (Higo and Kawamura, 1999) using the same tracer. Our results show that the distribution of retinal projections to this nucleus is, however, more extensive than the briefly mentioned ventral portion of the RT described by Higo and Kawamura (1999).

Evidence for a retinal input to the ZI has been shown in the hamster and the rat (Johnson et al., 1988; Youngstrom et al., 1991; Power et al., 2001), but never in the cat. In these species, labeled retinal fibers and terminals seem to be more widely distributed than what has been reported in rodents. Only retinal terminals to the lateral edge of the ZI has been reported in rodents (Power et al., 2001), whereas our results indicate two discontinuous patches of retinal input in the lateral as well as in the medial portion of the ZI.

Retinal projections to the pretectum

In mammals, the pretectal complex has been subdivided into five nuclei: NOT, OPN, PPN, APN, and MPN (Berman, 1977; Hutchins, 1991). The NOT, OPN, and PPN were the primary pretectal nuclei identified as receiving direct retinal input (Kanaseki and Sprague, 1974; Berman, 1977). Later, retinal projections to the pretectum were extended to include the APN as well as the MPN, but whether or not these two nuclei receive direct retinal input in mammals has been a matter of debate (Hutchins and Weber, 1985; Hutchins, 1991; Zhang and Hoffmann, 1993). In our material, dense retinal projections were observed in the NOT, OPN and PPN, confirming previous reports (Koontz et al., 1985; Zhang and Hoffmann, 1993; Ling et al., 1998). In addition, sparse retino-APN projections, distributed mostly in the lateral portion of the APN, have been identified in our

study, and this observation is in agreement with previous reports on rodents (Ling et al., 1998), cats (Hutchins, 1991) and ferrets (Zhang and Hoffmann, 1993). No projection to this nucleus, however, has been observed in primates (Hutchins and Weber, 1985). In the MPN, sparse retinal input distributed over much of the nucleus can be identified in our material. Evidence for a direct retinal projection to this nucleus has been reported in hamsters (Ling et al., 1998), cats (Weber and Hutchins, 1982) and primates (Weber and Hutchins, 1982). On the other hand, no retinal input to the MPN has been observed in the ferret (Zhang and Hoffmann, 1993), which suggests that the retinal projection to this nucleus is species-dependant. Morphologically, significant differences in the configuration of axons arbors and endings are observed within the APN and MPN, which is commensurate with the data found in hamsters (Ling et al., 1998).

Retinal projections to the tectum

Direct retinal input to the superficial layers of the SC has been identified in all species of mammals studied (Harting and Guillery, 1976; Agarwala et al., 1989; Jhaveri et al., 1991; Zhang and Hoffmann., 1993; Ling et al., 1998). Our results in the cat report dense retinal projections in most of the superficial layers of the crossed SC, but only patches of retinal terminals in the superficial layers of the uncrossed SC. These observations confirm the study of Harting and Guillery. (1976) in cats using an autoradiographic tracing method. The morphological features of the terminals in the SCs have been previously described in cats (Tamamaki et al., 1995) and hamsters (Ling et al., 1998). In our material, the

labeling is too dense to reveal the configuration of terminals, therefore no comparison between previous reports and our findings can be made.

In contrast to the extensive projections to the SCs, sparse retinal input was also found in the SCi. Almost entirely crossed retinal projections to the intermediate layers have been clearly demonstrated in the rat (Beckstead and Frankfurter, 1983) and in the ground squirrel (Agarwala et al., 1989), whereas crossed and uncrossed input have been described in the cat and monkey (Beckstead and Frankfurter, 1983). Our results are in agreement with the previous result found in the cat.

Our findings of retinal projections to the brachium of the inferior colliculus (BIC) were interesting, since no report of retinal projections to this nucleus has been mentioned in previous studies. Even if the IC is thought to be associated primarily with the auditory system, retinal terminals have been previously found in the inferior colliculus of the rat and monkey (Itaya and van Hoesen, 1982). The projections, however, were located in the pericentral nucleus of the inferior colliculus, and no retinal terminals were observed in the pericentral nucleus of the inferior colliculus in our study. A small region dorsal to the parabigeminal nucleus also receive retinal input in this study, however this nucleus has never been cited as receiving retinal projections in any mammals.

Retinal projections to the AOS and other nearby nuclei

The AOS in mammals consists of three nuclei: the DTN, LTN, and MTN, which receive afferents from two sets of optic fibers: the inferior and superior fasciculus (Hayhow, 1959, 1966; Hayhow et al., 1960; Zhang and Hoffmann,

1993). A dense retinal projection is reported here in all three nuclei of the AOS, as well as sparse retinal input to the MRF. Retinal projections to the MRF have been previously described in the Japanese monkey (Nakagawa et al., 1998), but never in the cat. In addition, a group of retinal axons were observed in the SN, and a few terminals were seen in the CP, but no previous study has ever reported retinal inputs to these regions in any mammals. Retinal projections to the interstitial nucleus of the superior fasciculus posterior fibers, have been found in previous studies in the hamster (Ling et al., 1998), and the ferret (Zhang and Hoffmann, 1993), but no retinal projections to this nucleus could be identified in our study. The appearance of the retinal axons and swellings in the DTN, LTN, and MTN could not be described in our study because of the density of the input.

Retinal projections to the hypothalamus

A substantial amount of information is available regarding the direct retinal input that the SCN receives in mammals (Moore and Lenn, 1972; Moore, 1973; Magnin et al., 1989; Murakami et al., 1989). However, projections extending outside the SCN have also been described in rodents (Pickard and Silvermann, 1981; Johnson et al., 1988; Youngstrom et al., 1991; Levine et al., 1994; Ling et al., 1998). In cats, on the other hand, only one study briefly discussed the observation of light projections outside the dorsal and lateral borders of the SCN (Murakami et al., 1989). According to our results, the retinal input to extra-SCN regions is more important than previously described by Murakami et al. (1989).

In addition to the projections found neighbouring the dorsal and lateral borders of the SCN, retinal input is observed in the anterior and lateral

hypothalamic areas, supraoptic nucleus, and periventricular nucleus of the hypothalamus. The presence of a retinal input to the AHA and LHA in cats is in agreement with previous reports in other species such as rodents (Johnson et al., 1988; Levine et al., 1991; Youngstrom et al., 1991) and primates (Costa et al., 1999). A direct retinal projection to the SON has been described in rodents (Johnson et al., 1988; Levine et al., 1991; Youngstrom et al., 1991; Ling et al., 1998) and primates (Costa et al., 1999) but the density of the optic terminals is less extensive in cats than that observed in rodents and primates. A sparse retinal projection has been found, from our material, in the PEH, as described in the hamster (Ling et al., 1998).

In comparison with rodents (Pickard and Silverman, 1981; Johnson et al., 1988; Youngstrom et al., 1991; Levine et al., 1991; Ling et al., 1998) and primates (Costa et al., 1999), the RHT in cats appears, however, more circumscribed. Retinal projections to the preoptic area, retrochiasmatic area, as well as the subparaventricular zone have been described in hamsters (Johnson et al., 1988; Youngstrom et al., 1991), rats (Levine et al., 1991) and primates (Costa et al., 1999), but direct retinal input to these regions has not been observed in our material. Retinofugal projections have also been observed in the ventromedial nucleus, dorsomedial nucleus, and paraventricular nucleus of the hypothalamus in hamsters (Johnson et al., 1988; Youngstrom et al., 1991; Ling et al., 1998), but our results show no retinal projections to these nuclei in the cat.

A complete description of the morphology of retinal axons in the SCN, AHA, SON and PVN is available in the hamster (Ling et al., 1998). The morphologic

characteristics of the labeled axons in the AHA and PEH are similar in the two species. However, differences seem to exist between the cat and the hamster concerning the morphologic features of the labeled terminals in the SON. In the hamster, Ling et al. (1998) report collaterals that form loose terminal clusters in the SON, as well as a few large groups of boutons. In the cat, our results show only small individual axons with tiny boutons. The configuration of the axonal arbors in the SCN cannot be compared because the density of the input in our study is too dense.

Retinal projection to the basal telencephalon

A direct retinal pathway from the retina to several structures of the basal telencephalon has been reported in many mammalian species (Cooper et al., 1989; Youngstrom et al., 1991; Mick et al., 1993; Ling et al., 1998). In their study in primates, Mick et al., (1993) suggest that, despite the fact that most of the observations showing a retino-telencephalic projections have focused on rodents, although minor, the widespread occurrence of a projection to the olfactory tubercle and amygdaloid complex must be a characteristic feature of all mammals. No previous report, however, has described a retinal projection to this region in the cat, and our results fail to replicate the results found in other species.

Functional considerations

The functional significance of the retinal projections in nuclei outside the LGN, SC, pretectum, AOS, and SCN remains to be determined. It is well documented that the main targets are associated with the classically defined "image-forming", "non-image forming" and visuomotor pathways. It is unlikely,

however, that the minor retinal input to other structures serves important roles in image formation. The fact that many regions outside the main targets receive retinal inputs can, however, demonstrate a more extensive contribution to the non-image forming system than previously known.

In this study, most retinorecipient nuclei contain more than one type of morphologically distinct axonal arbor. Differences in the configuration of axons and terminals within these nuclei can signify variations in the type of retinal ganglion cells projecting to these regions, and therefore variations in the type of functions they may play. It is possible, however, that regions displaying similar morphologies, like most of the retinorecipient nuclei of the hypothalamus, can participate in related visual functions such as different aspects of the circadian rhythms.

In our study, more sub-cortical nuclei than previously described, appear to receive a retinal input. This discrepancy between our results and previous reports in cats may be due to the more sensitive tracing method used, since no earlier study used cholera toxin to evaluate the overall retinal projections in the cat.

Additional factors can, however, be responsible for the divergences encountered. It is, in fact, well established that the distribution of retinal projections in adult animals is refined from initially more exuberant projections (Bhide and Frost, 1991; Jhaveri et al., 1991). The minor input from the retina identified in nuclei such as the brachium of the inferior colliculus, the pontis nucleus, the pyramidal tractus, the region dorsal to the parabigeminal nucleus and the medial geniculate nucleus can, therefore, be the result of projections initially destined to disappear and which, for reasons such as developmental errors, remain. The

analysis of one kitten from our laboratory support this assumption, in a sense that all the nuclei just mentioned receive, in this young animal, an extensive retinal input, which demonstrates that the majority of these projections are, in fact, intended to degenerate.

Another factor that may explain certain differences between our results and the results of others is the supposition that the few isolated axons identified in a nucleus such as the peduncle can be the result of an erroneous projection. It is well documented that, before they terminate in the MTNv, retinal projections are found to course rostrally along the lateral and ventral surfaces of the cerebral peduncle (Nakagawa et al., 1998). We can then hypothesize that the isolated terminals observed in the peduncle are, in fact, a few erroneous terminals derived from the quantity of axons that pass through this region to reach the MTNv.

The last two assumptions can explain the fact that retinal projections to some nuclei have never been reported in other studies. However, considering the evidence that retinal input to these regions has been observed in all cats analyzed in this study, the present results suggest that the identification of the novel projections are mostly due to the tracing method used, or to species-specific factors.

LITERATURE CITED

Agarwala S, Petry HM, May JG. 1989. Retinal projections in the ground squirrel (*Citellus tridecemlineatus*). *Vis Neurosci* 3:537-549.

Angelucci A, Clasca F, Sur M. 1996. Anterograde axonal tracing with the subunit B of cholera toxin: a highly sensitive immunohistochemical protocol for revealing fine axonal morphology in adult and neonatal brains. *J Neurosci Methods* 65:101-112.

Ballas I, Hoffmann KP, Wagner HJ. 1981. Retinal projection to the nucleus of the optic tract in the cat as revealed by retrograde transport of horseradish peroxidase. *Neurosci Lett* 26:197-202.

Beckstead RM, 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. *Exp Brain Res* 52:261-268.

Berman AL. 1968. The brain stem of the cat; a cytoarchitectonic atlas with stereotaxic coordinates. Madison, Wisconsin: University of Wisconsin Press.

Berman N. 1977. Connections of the pretectum in the cat. *J Comp Neurol* 174:227-254.

Bhide PG, Frost DO. 1991. Stages of growth of hamster retinofugal axons: implications for developing axonal pathways with multiple targets. *J Neurosci* 11:485-504.

Bowling DB, Michael CR. 1984. Terminal patterns of single physiologically characterized optic tract fibers in cat. *Nature* 286:899-902.

Cooper HM, Herbin M, Nevo E. 1993. Visual system of a naturally microphthalmic mammal: the blind mole rat, *Spalax ehrenbergi*. *J Comp Neurol* 328:313-350.

Cooper HM, Mick G, Magnin M. 1989. Retinal projection to mammalian telencephalon. *Brain Res* 477:350-357.

Costa MS, Santee UR, Cavalcante JS, Moraes PR, Santos NP, Britto, LR. 1999. Retinohypothalamic projections in the common marmoset (*Callithrix jacchus*): a study using cholera toxin subunit B. *J Comp Neurol* 415:393-403.

Derobert Y, Medina M, Rio JP, Ward R, Reperant J, Marchand MJ, Miceli D. 1999. Retinal projections in two crocodylian species, *Caiman crocodilus* and *Crocodylus niloticus*. *Anat Embryol (Berl)* 200:175-191.

Fite KV, Janusonis S. 2001. Retinal projection to the dorsal raphe nucleus in the Chilean degu (*Octodon degus*). *Brain Res* 895:139-145.

Foote W, Taber-Pierce E, Edwards L. 1978. Evidence for the retinal projection to the midbrain raphe of the cat. *Brain Res* 156:135-140.

Harting JK, Guillery RW. 1976. Organization of retinocollicular pathways in the cat. *J Comp Neurol* 166:133-144.

Hayhow WR. 1959. An experimental study of the accessory optic fiber system in the cat. *J Comp Neurol* 113:281-314.

Hayhow WR. 1966. The accessory optic system in the marsupial phalanger, *Trichosurus vulpecula*. An experimental degeneration study. *J Comp Neurol* 126:653-672.

Hayhow WR, Webb C, Jervie A. 1960. The accessory optic fiber system in the rat. *J Comp Neurol* 115:187-215.

Higo S, Kawamura S. 1999. Zonal organization of the ventral lateral geniculate nucleus in the cat: cholera toxin mapping. *J Comp Neurol* 415:17-32.

Hughes CP, Chi DYK. 1981. Afferent projections to the ventral lateral geniculate nucleus in the cat. *Brain Res* 207:445-448.

Hutchins B. 1991. Evidence for a direct retinal projection to the anterior pretectal nucleus in the cat. *Brain Res* 561:169-173.

Hutchins B, Weber JT. 1985. The pretectal complex of the monkey: a reinvestigation of the morphology and retinal terminations. *J Comp Neurol* 232:425-442.

Itaya SK, van Hoesen GW. 1982. Retinal innervation of the inferior colliculus in rat and monkey. *Brain Res* 233:45-52.

Itho K, Mizuno N, Kudo M. 1983. Direct retinal projections to the lateroposterior and pulvinar nuclear complex (LP-Pul) in the cat, as revealed by anterograde HRP method. *Brain Res* 276:325-328.

Jhaveri S, Edwards MA, Schneider GE. 1991. Initial stages of retinofugal axon development in the hamster: Evidence for two distinct modes of growth. *Exp Brain Res* 87:371-382.

Johnson RF, Morin LP, Moore RY. 1988. Retinohypothalamic projections in hamsters and rats demonstrated using cholera toxin. *Brain Res* 462:301-312.

Kanaseki T, Sprague JM. 1974. Anatomical organization of pretectal nuclei and tectal laminae in the cat. *J Comp Neurol* 158:319-334.

Koontz MA, Rodieck RW, Farmer, SG. 1985. The retinal projection to the cat pretectum. *J Comp Neurol* 236:42-59.

Levine JD, Zhao XS, Miselis RR. 1994. Direct and indirect retinohypothalamic projections to the supraoptic nucleus in the female albino rat. *J Comp Neurol* 341:214-224.

Levine JD, Weiss ML, Rosenwasser AM, Miselis RR. 1991. Retinohypothalamic tract in the female albino rat: a study using horseradish peroxidase conjugated to cholera toxin. *J Comp Neurol* 306: 344-360.

Ling C, Schneider GE, Jhaveri S. 1998. Target-specific morphology of retinal axon arbors in the adult hamster. *Vis Neurosci* 15:559-579.

Ling C, Schneider GE, Northmore D, Jhaveri S. 1997. Afferents from the colliculus, cortex, and retina have distinct terminal morphologies in the lateral posterior thalamic nucleus. *J Comp Neurol* 388:467-483.

Magnin M, Cooper HM, Mick G. 1989. Retinohypothalamic pathway: a breach in the law of Newton-Müller-Gudden? *Brain Res* 488:390-397.

Mason CA, Robson JA. 1979. Morphology of retino-geniculate axons in the cat. *Neurosci* 4:79-97.

Mick G, Cooper HM, Magnin M. 1993. Retinal projection to the olfactory tubercle and basal telencephalon in primates. *J Comp Neurol* 327:205-219.

Moore RY. 1973. Retinohypothalamic projection in mammals: A comparative study. *Brain Res* 49:403-409.

Moore RY, Lenn NJ. 1972. A retino-hypthalamic projection in the rat. *J Comp Neurol* 146:1-14.

Murakami DM, Miller JD, Fuller CA. 1989. The retinohypothalamic tract in the cat: retinal ganglion cell morphology pattern of projection. *Brain Res* 482:283-296.

Nakagawa S, Mizuma M, Kuchiiwas S. 1998. The retinal projections to the ventral and dorsal divisions of the medial terminal nucleus and mesencephalic reticular formation in the Japanese monkey (*Macaca fuscata*): a reinvestigation with cholera toxin B subunit as a anterograde tracer. *Brain Res* 809:198-203.

Pickard GE. 1982. The afferent connections of the suprachiasmatic nucleus of the golden hamster with emphasis on the retinohypothalamic projection. *J Comp Neurol* 211:65-83.

Pickard GE, Silverman AJ. 1981. Direct retinal projections to the hypothalamus, piriform cortex, and accessory optic nuclei in the golden hamster as demonstrated by a sensitive anterograde horseradish peroxidase technique. *J Comp Neurol* 196:155-172.

Power BD, Leamey CA, Mitrofanis J. 2001. Evidence for a visual subsector within the zona incerta. *Vis Neurosci* 18:179-186.

Qu T, Dong K, Sugioka K, Yamadori T. 1996. Demonstration of direct input from the retina to the lateral habenular nucleus in the albino rat. *Brain Res* 709:251-258.

Reiner A, Zhang D, Eldred WD. 1996. Use of the sensitive anterograde tracer cholera toxin fragment B reveals new details of the central retinal projections in turtles. *Brain Behav Evol* 48:307-337.

Reinoso-Suárez F. 1961. *Topographischer Hirnatlas der Katze*. Darmstadt: Herausgegeben von E. Merck AG.

Robson, JA. 1993. Qualitative and quantitative analyses of the pattern of retinal input to neurons in the dorsal lateral geniculate nucleus of the cat. *J Comp Neurol* 334:324-336.

Sanides D. 1975. The retinal projection to the ventral lateral geniculate nucleus in the cat. *Brain Res* 85:313-316.

Sur M, Sherman SM. 1982. Retinogeniculate terminations in cats: morphological differences between physiologically identified X- and Y-cell axons. *Science* 218:389-391.

Sur M, Esguerra M, Garraghty PE, Kritzer MF, Sherman SM. 1987. Morphology of physiologically identified retinogeniculate X- and Y-axons in the cat. *J Neurophysiol* 58:1-32.

Tamamaki N, Uhlrich DJ, Sherman SM. 1995. Morphology of physiologically identified retinal X and Y axons in the cat's thalamus and midbrain as revealed by intraaxonal injection of biocytin. *J Comp Neurol* 354:583-607.

Weber JT, Hutchins B. 1982. The demonstration of a retinal projection to the medial pretectal nucleus in the domestic cat and the squirrel monkey: an autoradiographic analysis. *Brain Res* 232:181-186.

Youngstrom TG, Weiss ML, Nunez AA. 1991. Retinofugal projections to the hypothalamus, anterior thalamus and basal forebrain in hamsters. *Brain Res Bull* 26:403-411.

Zhang HY, Hoffmann KP. 1993. Retinal projections to the pretectum, accessory optic system and superior colliculus in pigmented and albino ferrets. *Eur J Neurosci* 5:486-500.

FIGURES LEGEND

Figure 1. Schematic diagram illustrating the distribution of labeled terminals seen on coronal sections through the brain, in a cat that received a unilateral injection of CTb into the right eye. CTb labeled terminals are seen bilaterally with a contralateral predominance, except for the mesencephalic reticular formation where the retinal projections are only contralateral.

Figure 2. A, E, I: Photomicrographs showing the density and distribution of labeled retinal terminals in the Lp-Pul complex (A), the LH (E), and the RT(I), contralateral to the ocular CTb injection. B: A string-like configuration (arrow) and a rosette-like configuration (arrowhead) from the lateral border of the Lpl, C: branched small caliber axons with varicosities of small and medium sizes in the Lpm. D: Axons with medium size round (arrow) and elongated (arrowhead) varicosities in the perigeniculate. F-G: Branched fine axons with small varicosities isolated and clustered (F) and a string-like configuration in which several axons, studded with boutons of various sizes follow a parallel course (G) in the LH. H: Fine axons decorated with close together medium swellings along the shaft in the MGN. J-K: Many axons from the rostral RT with medium size swellings intermingled to form a dense cluster of boutons (J) and fine axons bearing very few tiny and small varicosities (arrow) and many small swellings (arrowhead) in the caudal RT (K). L-M: Small caliber axons in a string-like configuration with medium boutons gathering into dense clusters in the contralateral ZI (L) and axons bearing

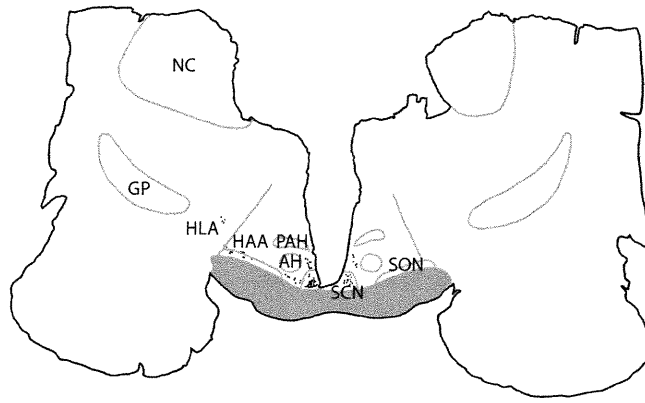
tiny and small varicosities along thin shaft and clustered terminal boutons in the ipsilateral ZI (M). Scale bar = 500 μ m in A, E, I; and 10 μ m in B-D, F-H, J-M.

Figure 3. Photomicrographs showing the detailed morphology of CTb labeled optic terminals in the BIC, PN and in the region dorsal to the PBG. A: Small caliber axons with clustered boutons of small and medium sizes in the BIC. B: Isolated axons dotted with small and medium irregularly spaced varicosities in the PN. C: Poorly branched axons with sparse varicosities of small size. Scale bar = 10 μ m.

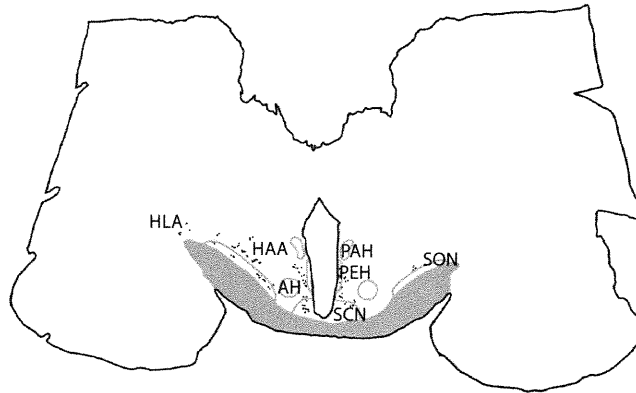
Figure 4. A: Photomicrograph showing the distribution of retinal terminals in the MTNd. B: Dense patch of terminals of various sizes at the medial border of the SN. C: Axons bearing small varicosities and intermingled to form a tubular configuration in the P. Scale bar = 10 μ m.

Figure 5. Photomicrographs showing the detailed morphology of CTb labeled optic terminals in the hypothalamus. A: Fine unbranched axons bearing irregularly spaced small and medium varicosities. B: Fine caliber axons with tiny or small size varicosities along the shaft in the HAA just dorsal to the supraoptic nucleus. C: Axon bearing few irregularly spaced varicosities and few loosely clustered terminals in the HLA. Scale bar = 10 μ m.

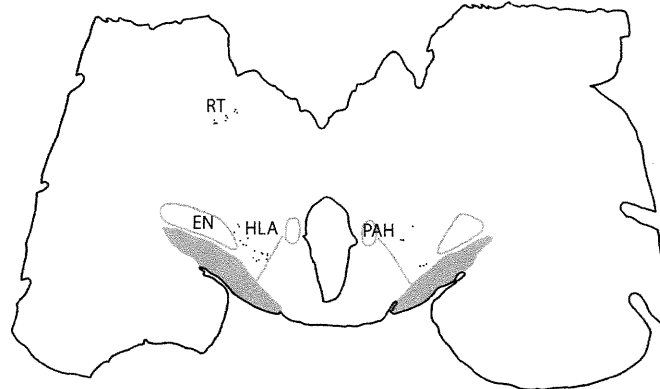
+14



+13



+12



+11

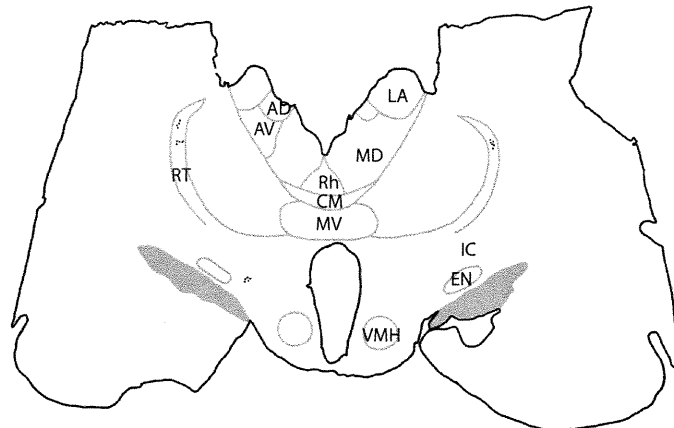
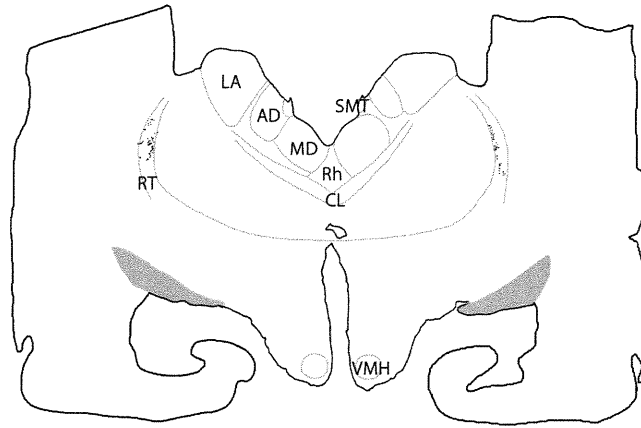
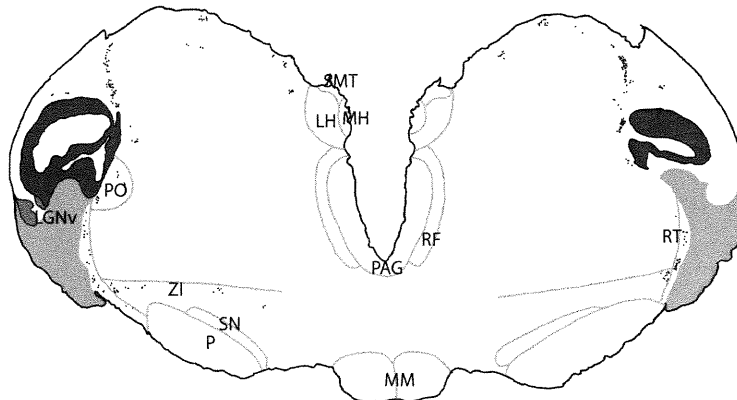


Figure 1

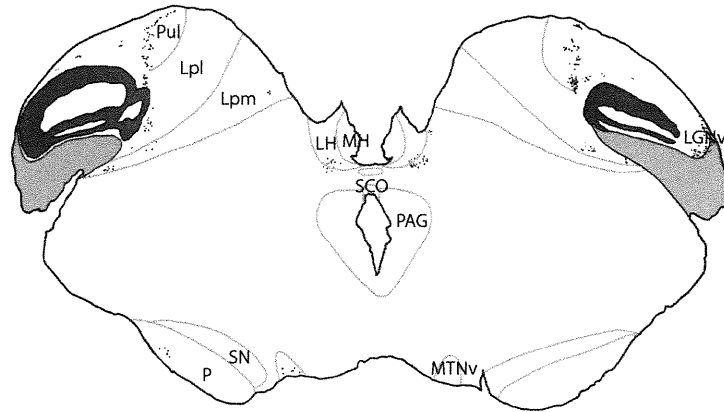
+10



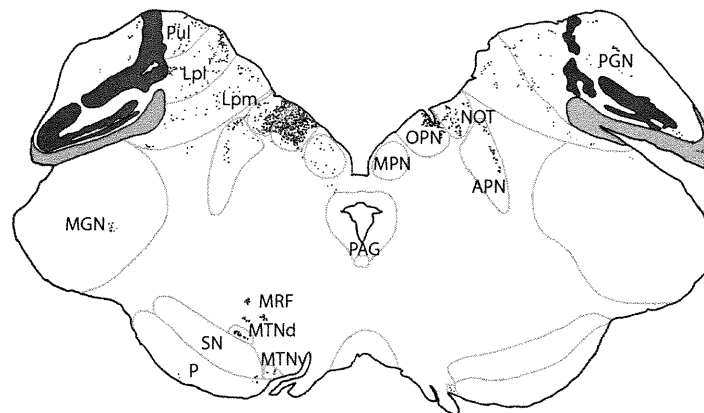
+8



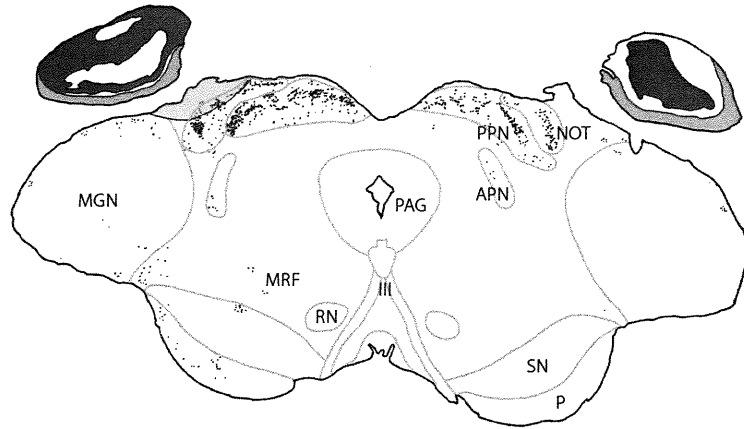
+7



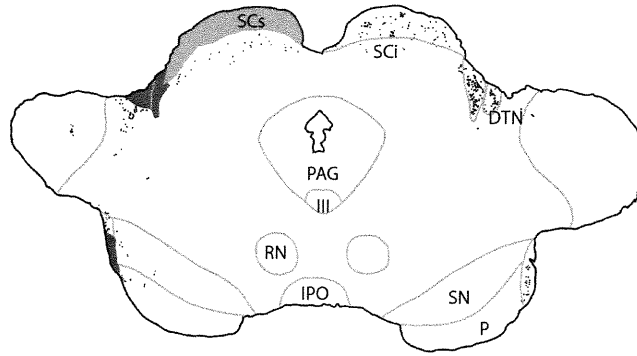
+6



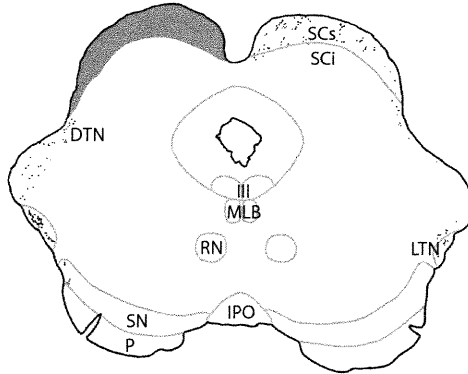
+5



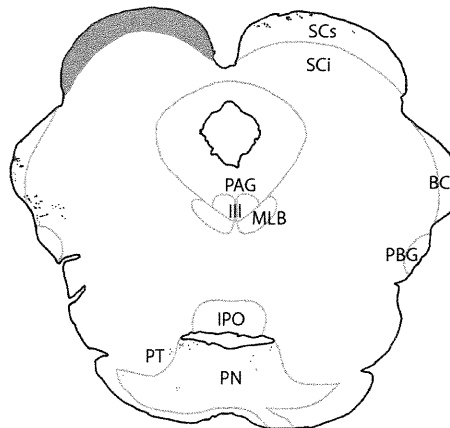
+4



+3



+2



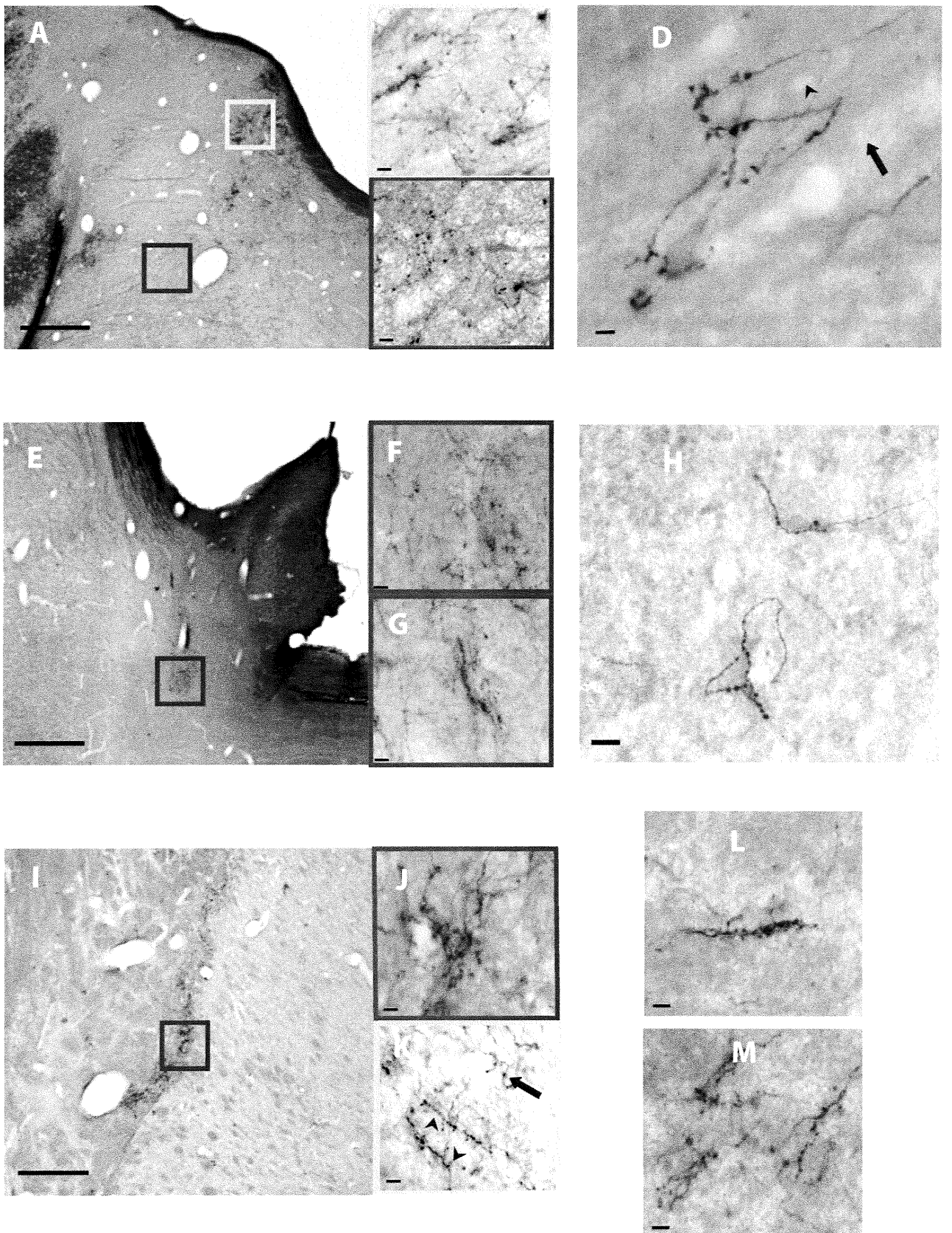


Figure 2

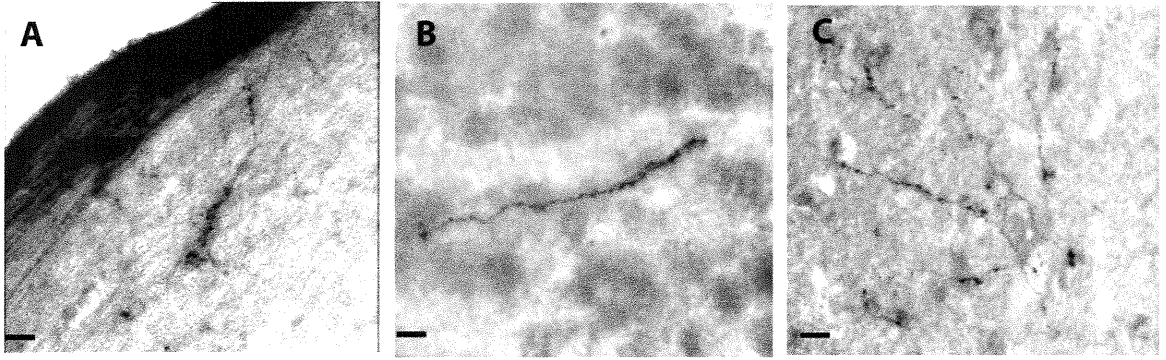


Figure 3

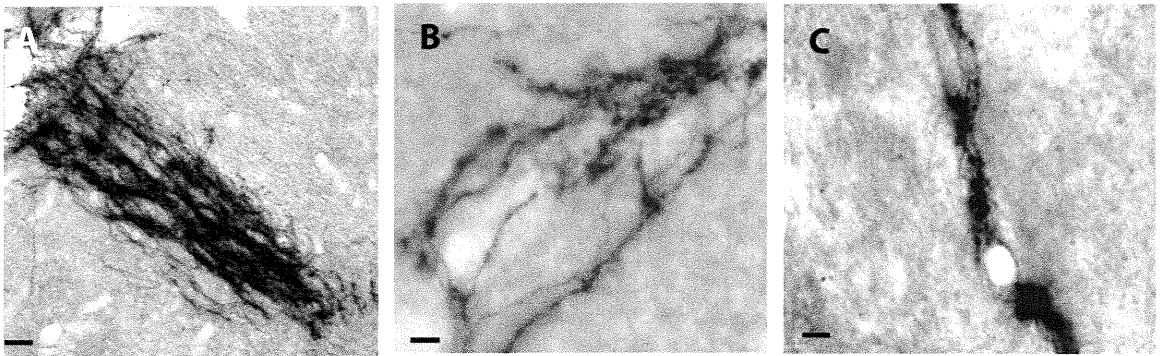


Figure 4

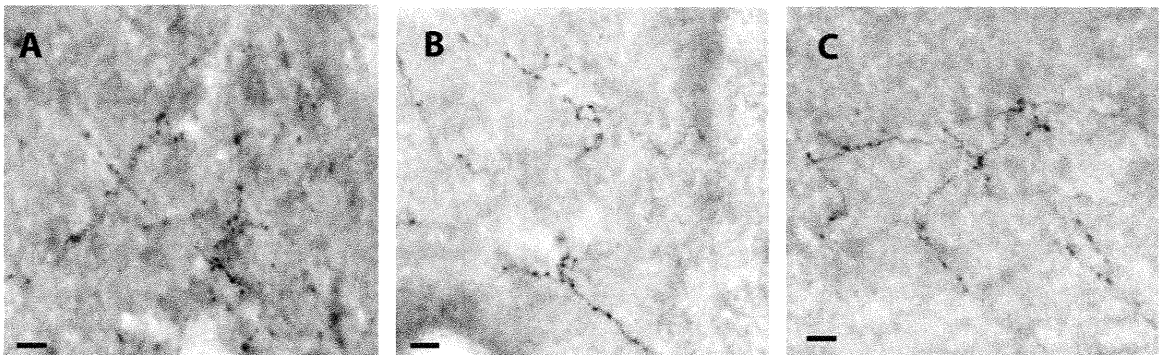


Figure 5

DISCUSSION

1. *Observations générales*

Nos résultats démontrent qu'un nombre beaucoup plus élevé de noyaux sous-corticaux reçoivent une projection directe de la rétine, et ce, comparativement à ce qui était originellement connu. Outre les cibles majeures sous-corticales des différentes voies visuelles, c'est-à-dire les parties dorsale et ventrale du corps genouillé latéral, les couches superficielles du collicule supérieur, les noyaux prétectaux, les noyaux du système optique accessoire, et le noyau suprachiasmatique, de nombreuses structures additionnelles jamais ou partiellement décrites chez le chat comme étant rétino-réceptives sont venues s'ajouter.

Nous avons montré que le complexe latéral-postérieur et pulvinar, le noyau habénulaire latéral, la zona incerta, la formation réticulaire thalamique, le noyau périgéniculé, les noyaux antérieur et latéral de l'hypothalamus, ainsi que la périphérie du noyau suprachiasmatique, tous reçoivent une projection considérable de la rétine chez le chat. Une projection rétinienne à ces noyaux a déjà été rapportée dans des études antérieures, toutefois il semble exister des distinctions spécifiques entre les différentes espèces. De plus, la substance noire ainsi que la région dorsale au noyau parabisgéminal reçoivent également un input rétinien dans cette étude. Cependant, ces noyaux n'ont jamais été cités comme recevant une projection directe de la rétine chez aucun mammifère.

En addition, une projection rétinienne faible a été observée au niveau des couches intermédiaires du collicule supérieur, de la formation réticulaire mécéphalique, du noyau supraoptique, et du noyau périventriculaire. Chez le chat, des résultats antérieurs démontrent une projection rétinienne aux couches intermédiaires du collicule supérieur (Beckstead *et al.*, 1983) seulement. Néanmoins, tous les noyaux mentionnés précédemment ont déjà été cités comme étant rétino-réceptifs chez d'autres espèces. Aucune autre étude ne confirme la petite quantité de terminaisons trouvées dans les noyaux du pons, le tractus pyramidal, le brachium du collicule inférieur, le noyau genouillé médian, et le pédoncule.

2. *Études antérieures chez le chat*

Outre les cibles majeures mentionnées préalablement, peu de cibles additionnelles ont été rapportées chez le chat. Cependant, divers facteurs peuvent venir expliquer les divergences rencontrées entre nos observations et les résultats obtenus dans les études antérieures.

2.1 *Les méthodes utilisées*

Les méthodes utilisées dans les études antérieures peuvent avoir une forte influence sur les résultats obtenus. En effet, une seule recherche portant sur le chat a utilisé une technique de traçage identique à celle employée ici, le fragment B de la toxine du choléra comme marqueur antérograde (Higo et Kawamura, 1999). Cependant, cette étude avait pour but une définition structurelle précise de la partie ventrale du corps genouillé latéral, et seulement les projections rétiniennes à cette région sont expliquées en détail. L'organisation des projections rétiniennes restreintes à ce noyau est comparable à celle observée dans notre étude, ce qui laisse croire que, si un inventaire complet des projections rétiniennes avait été fait, leurs résultats auraient pu être semblables aux nôtres.

La méthode antérograde au HRP est la méthode la plus fréquemment employée dans les études antérieures récentes afin d'inventorier les voies visuelles centrales chez le chat. L'émergence de cette technique a permis un

avancement rapide de l'information concernant la distribution des projections rétiniennes, comparativement aux méthodes anciennement employées comme la méthode de dégénérescence cellulaire ou encore la méthode de Golgi. Cependant, l'utilisation de cette technique ne permet pas une distinction nette entre les axones de passage et les terminaisons authentiques. Elle marque souvent de manière granulaire et, même lorsque les injections de HRP résultent en un marquage dense des voies neuronales, cette forme de marquage ne s'étend généralement que sur quelques centimètres seulement par rapport au site d'injection. De plus, cette substance semble éprouver quelques difficultés à être transportée par des axones de très petit calibre. Ces raisons peuvent donc, en partie, venir expliquer le plus grand nombre de régions rétino-réceptives identifiées dans cette étude. En effet, le fragment B de la toxine du choléra semble être une technique de traçage beaucoup plus sensible que la technique au HRP, en ce sens qu'elle marque les axones sur de longues distances, et de manière homogène. En addition, le marquage aux niveau des terminaisons rétiniennes est très prononcé, comparativement aux axones de passage plus faiblement marqués, ce qui rend la possibilité d'une confusion entre les terminaisons et les axones de passage peu probable.

La très petite dimension des axones marqués dans certaines régions peut être une bonne explication de l'absence de marquage à l'intérieur de ces noyaux dans les études dont la méthode utilisée est le HRP. En effet, comme mentionné préalablement, le HRP, dû à son large format moléculaire, semble incapable d'être transporté par les axones de petit calibre, et étant donné que l'ensemble des

axones marqués contenus dans plusieurs régions sont justement de petit calibre, il n'est donc pas surprenant que ces régions n'aient pu être identifiées dans les études antérieures.

2.2 *L'âge et le temps de survie*

2.2.1 *L'âge*

Un des facteurs pouvant avoir une influence sur les résultats d'une expérience est l'âge des animaux utilisés. En effet, il est bien établi que plusieurs caractéristiques concernant la distribution des projections rétiniennes dans le système visuel adulte sont dues à un remodelage au patron de connections initialement plus exubérant. À l'intérieur d'un même noyau, ce remodelage semble apparaître grâce à l'interaction dynamique entre les axones des cellules ganglionnaires de la rétine et leur cible. Par conséquent, un chaton possède des projections provenant de la rétine qui vont disparaître au fur et à mesure que celui-ci avance en âge. À l'âge adulte, certains noyaux, auparavant innervés par plusieurs projections rétiniennes, vont être complètement dénudés de ces projections. Donc, si une étude portant sur l'évaluation des projections rétiniennes chez le chat a adopté un très jeune modèle animal pour effectuer ses expérimentations, les résultats de cette étude ne peuvent pas servir de base de comparaison pour les études dont le modèle utilisé est un animal adulte. Ainsi, l'absence, dans notre étude, de projections rétiniennes dans certains noyaux bien précis comparativement à d'autres études peut s'expliquer par ce facteur.

Un exemple venant illustrer cette affirmation est les projections rétiniennes identifiées au niveau du noyau raphé chez le chat (Foote *et al.*, 1978). Dans notre étude, aucune projection directe de la rétine n'a été observée dans cette structure. Cependant, si on porte une attention particulière à l'âge des animaux utilisés dans l'étude de Foote *et al.* (1978), nous pouvons remarquer que plus de la moitié des animaux sont des chatons. Il est donc possible que les projections observées dans cette région soient, en fait, des projections exubérantes condamnées à disparaître avec l'âge, ce qui pourrait expliquer pourquoi aucune projection n'est observée dans cette même région chez nos chats adultes.

2.2.2 *Le temps de survie*

Le temps de survie, celui-ci étant le temps écoulé entre l'injection du traceur et le sacrifice de l'animal, peut aussi être d'une grande importance et provoquer des différences considérables au niveau des régions marquées. En effet, si un temps de survie trop court est alloué aux animaux à la suite de l'injection du marqueur, il y a possibilité que seules les régions antérieures, dans le cas d'une injection intraoculaire par exemple, soient marquées. En fait, il est très réaliste de penser que la substance n'aie pas le temps nécessaire requis afin d'être transportée jusqu'aux structures plus éloignées, ce qui a pour effet un marquage partiel des zones rétino-réceptives possibles.

Un temps de survie trop long, quant à lui, n'est pas plus efficace. En effet, si un temps trop long s'écoule entre l'injection et le sacrifice de l'animal, du marquage

transsynaptique peut alors faire son apparition. Un transport transsynaptique peut se définir comme étant le transport d'une substance qui, parvenue dans une structure cible, est captée, dans l'espace intercellulaire, par les corps cellulaires de cette même structure. Par la suite, la substance contenue dans ces corps cellulaires est redirigée vers une région qui, quant à elle, est habituellement la cible des efférences de cette première structure.

Si l'aspect qui intéresse les chercheurs est une évaluation des projections directes de la rétine aux cibles rétino-réceptives, il est alors primordial qu'aucun transport transsynaptique ne puisse s'effectuer. Par exemple, il est bien connu que le collicule supérieur envoie des efférences au noyau parabigéminé. Si certaines terminaisons marquées sont observées dans le noyau parabigéminé et que le temps de survie alloué à l'animal était très long, il y a alors possibilité que les terminaisons marquées soient, en fait, les terminaisons provenant des axones qui découlent du collicule supérieur plutôt que de la rétine. Certains auteurs peuvent argumenter en mentionnant que si le traceur est parvenu à être capté par les cellules du collicule supérieur, celles-ci se doivent nécessairement d'être marquées et, alors, facilement identifiables. Cependant, le collicule supérieur est une région qui reçoit une projection très dense de la rétine. Si des corps cellulaires sont marqués dans cette structure, il est probable que ceux-ci soient dissimulés par la forte concentration de marquage.

Dans les études antérieures portant sur le chat, les temps de survie varient considérablement. Cette différence de temps entre l'injection et le sacrifice de

l'animal peut donc être un facteur permettant d'expliquer certaines des divergences entre nos résultats et les observations d'autres études. Le temps de survie alloué aux chats de cette étude est de quatre jours. Cette durée semble contenir le nombre de jours nécessaires pour un transport optimal de la substance injectée dans toute l'étendue du tronc cérébral, sans toutefois causer de transport transsynaptique. Le temps de survie plus court de certaines études peut donc expliquer, pour certains noyaux, pourquoi aucune projection n'est observée dans leur matériel. Par le fait même, un temps de survie plus long peut expliquer pourquoi certaines projections ont été observées dans certaines régions, alors qu'elles sont absentes chez nos animaux.

2.3 *La délimitation des noyaux*

Une confusion quant à la délimitation de certains noyaux peut également être à la base de quelques unes des différences rencontrées entre cette étude et les études précédentes. En effet, la délimitation des noyaux du prétegmentum, par exemple, est une tâche très ardue, et quelques variations concernant les limites des noyaux formant cette région existent entre les auteurs. Cette région semble toutefois ne poser que des divergences mineures entre les résultats de cette étude et les quelques études faites chez le chat. Une mauvaise délimitation des noyaux de la substance noire et de la partie dorsale du noyau terminal médian, cependant, peut expliquer la divergence majeure entre les observations contenues dans cette étude et les études antérieures. En effet, aucune autre étude ne rapporte de

projections rétiniennes dans cette région du cerveau, celle-ci étant la première. Il est bien connu que la partie dorsale du noyau terminal médian reçoit une projection assez majeure de la rétine, et plusieurs études chez le chat viennent confirmer cette affirmation. Cependant, la limite ventrale de ce noyau forme également la limite dorsale de la substance noire, le noyau terminal médian dorsal étant localisé directement au dessus de celle-ci. Il est donc possible que certaines des projections rétiniennes observées au niveau du noyau terminal médian dorsal dans plusieurs études soient, en réalité, situées directement dans la substance noire. Une attention particulière a été portée sur la délimitation précise de ces deux noyaux afin qu'aucun doute possible ne soit présent dans cette étude.

3. *Études antérieures chez les autres espèces animales*

Outre le chat, une évaluation, parfois complète, parfois partielle, des projections rétiniennes existe chez plusieurs autres espèces animales, dont les rongeurs et les primates. L'organisation du système visuel chez les mammifères en général comporte plusieurs similarités, et il est donc possible, dans la mesure du raisonnable, d'établir certaines correspondances. Des différences, cependant, semblent également exister selon les études, et plusieurs caractéristiques, incluant celles énumérées précédemment, peuvent venir en expliquer les causes. Même à l'intérieur d'une même espèce, des variations sont apparentes d'une étude à l'autre, comme démontré préalablement chez le chat.

3.1 *Différences spécifiques à l'espèce*

Certains facteurs peuvent contribuer aux différences organisationnelles de plusieurs structures au niveau du système visuel chez différentes espèces. Si, par exemple, on s'attarde au corps genouillé latéral dorsal, des études comparatives indiquent que seulement trois types d'organisation ont évolué différemment dans le système visuel des mammifères (Kahn et Krubitzer, 2002). Cette observation suggère qu'il existe donc un nombre restreint de facteurs qui contribuent à son organisation. Un des facteurs pouvant affecter son organisation est la génétique. Si les gènes sont responsables de la présente organisation de cette structure, il est alors possible de prédire que les espèces étroitement reliées sont plus

susceptibles d'avoir une organisation du corps genouillé latéral dorsal similaire. Par exemple, l'organisation du LGNd des primates est plus complexe que l'organisation de ce même noyau chez les rongeurs. Cependant, l'organisation et la complexité du LGNd varient également à l'intérieur même des espèces, ce qui signifie que d'autres facteurs additionnels contribuent à l'organisation neuroanatomique des différentes structures.

Un second facteur pouvant contribuer au niveau organisationnel d'un noyau est la niche écologique des différents mammifères. Il est prouvé que les mammifères dont les demandes environnementales sont similaires adaptent une organisation neuronale également similaire (Sanderson *et al.*, 1984; Barton et Purvis, 1995). En ce qui concerne le système visuel, il est possible de penser que les animaux prédateurs, par exemple, vont avoir des caractéristiques morphologiques (le placement des yeux, la spécialisation des cellules nerveuses etc.) plus semblables que celles des autres mammifères dont la façon de vivre est différente, comme les herbivores. Les animaux nocturnes, comparativement aux animaux diurnes, vont également avoir une organisation du système visuel différente.

De part les études comparatives, il est alors possible de stipuler que les variations observées dans l'organisation du système visuel des différents mammifères peuvent être causées par une combinaison de la génétique et de la manière de vivre de l'animal. Les différences rencontrées entre les résultats observés dans cette étude et les résultats rapportés chez d'autres mammifères

peuvent donc être, en partie, expliquées par ces facteurs. Le fait que des projections rétiniennes ont été identifiées, chez plusieurs espèces de rongeurs et de primates, dans la région du télencéphale basal et qu'aucune étude, incluant celle-ci, n'ait observé de terminaisons rétiniennes dans cette même région chez le chat, peut justement signifier que cette projection directe de la rétine au télencéphale basal n'est pas une caractéristique propre à tous les mammifères, mais plutôt une caractéristique propre à certaines espèces seulement. La variation entre la distribution des terminaisons à l'intérieur d'un même noyau chez différentes espèces peut également être la cause de ces facteurs. De plus, il y a possibilité que la majorité des divergences entre les résultats de cette étude et les observations rapportées chez le hamster (Ling *et al.*, 1998), ceux-ci ayant utilisé la même méthode de traçage, puissent aussi être dues à des différences liées à l'espèce.

3.2 *Différences structurelles*

Certaines correspondances structurelles, parmi les différentes espèces, sont plus compliquées à établir que d'autres. Les noyaux, d'une espèce à l'autre, varient largement au niveau de leur grosseur, de leur forme, ainsi que de leur emplacement. Il est parfois très difficile de bien définir une région chez une espèce donnée, alors que son « homologue » chez une autre espèce peut être très facilement délimitée. Cette difficulté de bien circonscrire la même région d'une espèce à l'autre peut être la cause de certaines différences concernant la

distribution des projections rétiniennes, leur densité, ainsi que la présence ou l'absence de projections dans un même noyau. Un exemple venant illustrer cette possibilité concerne les noyaux de l'hypothalamus. Ces derniers sont très difficiles à délimiter. Par exemple, des études rapportent plusieurs terminaisons rétiniennes dans le noyau supraoptique chez différentes espèces. Toutefois, notre étude démontre seulement quelques terminaisons isolées dans ce noyau, alors que de nombreuses terminaisons rétiniennes sont observées immédiatement au dessus de sa limite dorsale, dans une région identifiée dans cette étude comme étant la région hypothalamique antérieure. Il y a donc une possibilité que, dans d'autres études, les terminaisons que nous avons identifiées comme comprises dans la région hypothalamique antérieure aient été considérées comme faisant partie du noyau supraoptique. Cette possibilité s'applique également à d'autres noyaux de l'hypothalamus, comme le noyau périventriculaire ainsi que la périphérie du noyau suprachiasmatique.

4. *Considérations méthodologiques*

4.1 *Notre technique de traçage*

Comme mentionné dans la section portant sur les méthodes de traçage, le transport antérograde du fragment B de la toxine du choléra s'avère être l'une des méthodes de traçage les plus sensibles présentement disponibles afin d'évaluer les projections rétiniennes. Cependant, celle-ci n'est pas parfaite et comporte quelques désavantages. En effet, dans les noyaux qui reçoivent une très forte projection de la rétine, c'est-à-dire la plupart des cibles majeures sous-corticales du système visuel, le marquage est diffus, et il est donc impossible de distinguer correctement les terminaisons rétiniennes. Le marquage définit très bien la zone rétino-réceptive, mais les détails à l'intérieur de cette zone sont impossibles à percevoir, ce qui explique pourquoi l'arborisation axonale des terminaisons est décrite seulement dans les cibles qui reçoivent un input mineur de la rétine.

Une solution qui aurait permis la visualisation des ramifications terminales tout en utilisant cette technique, aurait été d'effectuer un amincissement unilatéral du tractus optique. En effet, cette manière de faire aurait permis à un nombre moins élevé d'axones de se rendre dans les structures cibles controlatérales. De ce fait, la projection au niveau de ces structures étant moins dense, il aurait alors été possible de clairement discerner l'arborisation des terminaisons. Cette démarche demande cependant une opération chirurgicale pouvant comporter

certains risques comme de l'infection, la destruction de certaines structures ainsi que la perte de l'animal.

Un second désavantage, s'appliquant aux techniques antérogrades en général, est qu'elles ne renseignent pas sur le rôle fonctionnel qu'occupe ces noyaux au sein du système visuel. En effet, les informations fonctionnelles connues concernant les cibles majeures du système visuel dérivent des études électrophysiologiques. Mise à part la connaissance de régions rétino-réceptives additionnelles, aucun indice concernant la fonction de ces nouvelles structures ne nous est fourni. Les différentes arborisations terminales peuvent nous renseigner en ce qui concerne le type de cellules ganglionnaires de la rétine susceptibles de projeter à ces noyaux, mais ne nous renseignent pas sur leur fonction visuelle précise. De plus, l'injection de CTb administrée de façon intraoculaire permet un marquage complet des zones rétino-réceptives. Cependant, un marquage complet de tous les axones qui partent de la rétine ne permet pas d'étudier le phénomène d'émission de collatérales. En effet, il est impossible de voir si un même axone innerve seulement une cible, ou s'il innerve plusieurs cibles à l'aide de collatérales. De ce fait, nous ne pouvons pas savoir si un même axone produit des arborisations terminales différentes selon la région innervée, ou s'il produit seulement un type de terminaisons.

4.2 *Notre modèle animal*

L'utilisation du chat comme modèle animal pour nos expérimentations peut se justifier par plusieurs raisons. Premièrement, un des facteurs déterminant est que l'évaluation complète des projections rétiniennes chez le chat n'avait jamais été faite auparavant avec une méthode de traçage efficace, d'où l'importance de cette étude. De plus, étant donné que plusieurs similarités existent entre l'organisation du système visuel du chat et le singe, l'inférence de nos observations à une espèce plus évoluée est donc possible. Cependant, les correspondances entre le chat et le singe doivent être effectuées avec précaution, car comme mentionné préalablement, des différences existent entre les espèces. En addition, le chat est un animal économique, facteur important à considérer lorsque le nombre d'animaux nécessaires est grand. En plus, le chat est un animal docile et facile à manier, ce qui facilite grandement toutes les étapes qui précèdent son sacrifice.

5. *Considérations fonctionnelles*

L'évaluation complète des zones rétino-réceptives peut nous permettre de comprendre davantage les substrats anatomo-physiologiques de l'ensemble des comportements visuels. En effet, la projection rétinofuge est fréquemment utilisée comme système modèle pour les études fonctionnelles, ainsi que pour les études portant sur le développement et la plasticité. Comme mentionné antérieurement, il est connu que les axones matures des cellules ganglionnaires développent des patrons de distribution stéréotypés provenant de projections initialement plus exubérantes (Bhide et Frost, 1991; Jhaveri *et al.*, 1991; Ling *et al.*, 1998). Les mécanismes médités par l'activité influencent le raffinement de l'arborisation de l'axone des cellules ganglionnaires, et de profonds changements dans les projections rétiniennes sont alors observées suivant des perturbations au niveau de l'activité visuelle. Chez le chat, jusqu'à présent, de telles études se sont majoritairement concentrées sur un ou deux groupes cellulaires. Peu d'information existe concernant comment ces perturbations affectent les projections visuelles à d'autres régions du cerveau, et une difficulté de base fut qu'une caractérisation anatomique détaillée de ces projections n'est pas disponible, et qu'il y a donc peu de données de base qui permettent de faire la distinction entre les animaux normaux et perturbés.

L'utilisation du fragment B de la toxine du choléra comme traceur nous a permis d'illustrer la distribution des projections rétiniennes et de démontrer, pour la

première fois dans la plupart des cas, la morphologie des arborisations rétiniennes dans plus d'une quinzaine de noyaux sous-corticaux. Nos résultats démontrent que non seulement les terminaisons diffèrent au niveau de leur grosseur et de leur forme, mais elles sont également regroupées en différentes agrégations. À partir de ces observations, il est possible de conclure que ce grand nombre de cibles rétino-réceptives est en contraste frappant avec la classification connue en trois types majeurs seulement des cellules ganglionnaires de la rétine chez le chat. Dans le contexte des résultats présents, nous pouvons suggérer que certains types de cellules ganglionnaires projettent à plus d'une cible, et que parmi celles-ci plusieurs affichent plus d'un type de terminaisons nerveuses. Il est possible que certaines des cellules ganglionnaires chez le chat aient des projections dans une ou deux cibles seulement, alors que d'autres émettent un plus grand nombre de collatérales.

CONCLUSION

Dans la présente étude, nous avons utilisé le fragment B de la toxine du choléra afin de réévaluer les projections rétiniennes chez le chat. Nos observations ont permis d'établir une liste plus complète des noyaux rétino-récepteurs que ce qui avait été précédemment décrit avec des techniques de traçage moins sensibles. De plus, une description des terminaisons rétiniennes a été effectuée dans la majorité des noyaux rétino-récepteurs. Cette représentation nous a permis d'évaluer les similarités ainsi que les différences pouvant exister entre les différents noyaux. Nos résultats peuvent suggérer qu'un même type de cellules ganglionnaires, au niveau de la rétine, se projettent à différents noyaux à l'aide de collatérales, et qu'un même type peut également posséder plusieurs configurations terminales différentes.

RÉFÉRENCES

- Agarwala S, Petry HM, May JG. 1989. Retinal projections in the ground squirrel (*Citellus tridecemlineatus*). *Vis Neurosci* 3:537-549.
- Angelucci A, Clasca F, Sur M. 1996. Anterograde axonal tracing with the subunit B of cholera toxin: a highly sensitive immunohistochemical protocol for revealing fine axonal morphology in adult and neonatal brains. *J Neurosci Methods* 65:101-112.
- Ballas I, Hoffmann KP. 1985. A correlation between receptive field properties and morphological structures in the pretectum of the cat. *J Comp Neurol* 238:417-428.
- Ballas I, Hoffmann KP, Wagner HJ. 1981. Retinal projection to the nucleus of the optic tract in the cat as revealed by retrograde transport of horseradish peroxidase. *Neurosci Lett* 26:197-202.
- Barton R, Purvis P. 1995. Evolutionary radiation of visual and olfactory brain systems in primates, bats and insectivores. *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci* 34:381-392.
- Beckstead RM, 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. *Exp Brain Res* 52:261-268.
- Berman AL. 1968. The brain stem of the cat; a cytoarchitectonic atlas with stereotaxic coordinates. Madison, Wisconsin: University of Wisconsin Press.

- Berman N. 1977. Connections of the pretectum in the cat. *J Comp Neurol* 174:227-254.
- Berson DM, Isayama T, Pu M. 1999. The eta ganglion cell type of the cat retina. *J Comp Neurol* 408:204-219.
- Bhide PG, Frost DO. 1991. Stages of growth of hamster retinofugal axons: implications for developing axonal pathways with multiple targets. *J Neurosci* 11:485-504.
- Bhide PG, Frost DO. 1999. Intrinsic determinants of retinal axon collateralization and arborisation patterns. *J Comp Neurol* 411:119-129.
- Bowling DB, Micheal CR. 1984. Terminal pattern of single physiologically characterized optic tract fibers in cat. *Nature* 286:899-902.
- Boycott BB, Wässle H. 1974. The morphological groups of ganglion cells of the domestic cat's retina. *J Physiol Lond* 240:397-419.
- Cook JE. 1997. Getting grips with neuronal diversity: what is a neuronal type? In: Chapula LM and Finlay BL editors. *Development and organization of the retina: from molecules to function*. New York: Plenum Press. P 91-120.
- Cooper HM, Herbin M, Nevo E. 1993. Visual system of a naturally microphthalmic mammal: the blind mole rat, *Spalax ehrenbergi*. *J Comp Neurol* 328:313-350.
- Cooper HM, Mick G, Magnin M. 1989. Retinal projection to mammalian telencephalon. *Brain Res* 477:350-357.

- Costa MS, Santee UR, Cavalcante JS, Moraes PR, Santos NP, Britto, LR. 1999. Retinohypothalamic projections in the common marmoset (*Callithrix jacchus*) : a study using cholera toxin subunit B. *J Comp Neurol* 415:393-403.
- Dacey DM, Peterson BB, Gamlin PD, Robinson FR. 2001. Retrograde photofilling reveals the complete dendritic morphology of diverse new ganglion cell types that project to the lateral geniculate nucleus in macaque monkey. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 42:S114.
- Derobert Y, Medina M, Rio JP, Ward R, Reperant J, Marchand MJ, Miceli D. 1999. Retinal projections in two crocodilian species, *Caiman crocodilus* and *Crocodylus niloticus*. *Anat Embryol (Berl)* 200:175-191.
- Fite KV, Janusonis S. 2001. Retinal projection to the dorsal raphe nucleus in the Chilean degus (*Octodon degus*). *Brain Res* 895:139-145.
- Foote W, Taber-Pierce E, Edwards L. 1978. Evidence for the retinal projection to the midbrain raphe of the cat. *Brain Res* 156:135-140.
- Guillery RW. 1969. The organization of synaptic interconnections in the laminae of the dorsal lateral geniculate nucleus of the cat. *Z Zellforsch* 96:1-38.
- Harrington ME. 1977. The ventral lateral geniculate nucleus and the intergeniculate leaflet: interrelated structures in the ventral and circadian systems. *Neurosci Biobehav Rev* 21:705-727.
- Harting JK, Guillery RW. 1976. Organization of retinocollicular pathways in the cat. *J Comp Neurol* 166:133-144.

- Hayhow WR. 1958. The cytoarchitecture of the lateral geniculate body in the cat in relation to the distribution of crossed and uncrossed fibers. *J Comp Neurol* 110:1-64.
- Hayhow WR. 1959. An experimental study of the accessory optic fiber system in the cat. *J Comp Neurol* 113:281-314.
- Hayhow WR. 1966. The accessory optic system in the marsupial phalanger, *Trichosurus vulpecula*. An experimental degeneration study. *J Comp Neurol* 126:653-672.
- Hayhow WR, Webb C, Jervie A. 1960. The accessory optic fiber system in the rat. *J Comp Neurol* 115:187-215.
- Hendrickson A, Wilson ME, Toyne MJ. 1970. The distribution of optic nerve fibers in *Macaca mulatta*. *Brain Res* 23:425-427.
- Higo S, Kawamura S. 1999. Zonal organization of the ventral lateral geniculate nucleus in the cat: cholera toxin mapping. *J Comp Neurol* 415:17-32.
- Hoffmann KP, Stone J. 1985. Retinal input to the nucleus of the optic tract of the cat assessed by antidromic activation of ganglion cells. *Exp Brain Res* 59:395-403.
- Hollander H, Sanides D. 1976. The retinal projection to the ventral part of the lateral geniculate nucleus. An experimental study with silver-impregnation methods and axoplasmic protein tracing. *Exp Brain Res* 26:329-342.
- Hughes CP, Ater SB. 1977. Receptive field properties in the ventral lateral geniculate nucleus of the cat. *Brain Res* 132:163-166.

- Hughes CP, Chi DYK. 1981. Afferent projections to the ventral lateral geniculate nucleus in the cat. *Brain Res* 207:445-448.
- Hutchins B. 1991. Evidence for a direct retinal projection to the anterior pretectal nucleus in the cat. *Brain Res* 561:169-173.
- Hutchins B, Weber JT. 1985. The pretectal complex of the monkey: a reinvestigation of the morphology and retinal terminations. *J Comp Neurol* 232:425-442.
- Isayama T, Berson DM, O'Brian BJ, Pu M. 1999. The lambda ganglion cell type of cat and ferret retina. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 40:S813.
- Isayama T, Berson DM, Pu M. 2000. Theta ganglion cell type of cat retina. *J Comp Neurol* 417:32-48.
- Itaya SK, van Hoesen GW. 1982. Retinal innervation of the inferior colliculus in rat and monkey. *Brain Res* 233:45-52.
- Itho K, Mizuno N, Kudo M. 1983. Direct retinal projections to the lateroposterior and pulvinar nuclear complex (LP-Pul) in the cat, as revealed by anterograde HRP method. *Brain Res* 276:325-328.
- Jhaveri S, Edwards MA, Schneider GE. 1991. Initial stages of retinofugal axon development in the hamster: Evidence for two distinct modes of growth. *Exp Brain Res* 87:371-382.
- Johnson RF, Morin LP, Moore RY. 1988. Retinohypothalamic projections in hamsters and rats demonstrated using cholera toxin. *Brain Res* 462:301-312.

- Kahn DM, Krubitzer L. 2002. Retinofugal projections in the short-tailed opossum (*Monodelphis domestica*). *J Comp Neurol* 447:114-127.
- Kanaseki T, Sprague JM. 1974. Anatomical organization of pretectal nuclei and tectal laminae in the cat. *J Comp Neurol* 158:319-334.
- Koontz MA, Rodieck RW, Farmer SG. 1985. The retinal projection to the cat pretectum. *J Comp Neurol* 236:42-59.
- Laties AM, Sprague JM. 1966. The projection of optic fibers to the visual centers in the cat. *J Comp Neurol* 127:35-70.
- Leventhal AG, Keens J, Tork I. 1980. The afferent ganglion cells and cortical projections of the retinal recipient zone (RRZ) of the cat's pulvinar complex. *J Comp Neurol* 194:535-554.
- Leventhal AG, Rodieck RW, Dreher B. 1985. Central projections of cat retinal ganglion cells. *J Comp Neurol* 237:216-226.
- Levine JD, Zhao XS, Miselis RR. 1994. Direct and indirect retinohypothalamic projections to the supraoptic nucleus in the female albino rat. *J Comp Neurol* 341:214-224.
- Levine JD, Weiss ML, Rosenwasser AM, Miselis RR. 1991. Retinohypothalamic tract in the female albino rat: a study using horseradish peroxidase conjugated to cholera toxin. *J Comp Neurol* 306: 344-360.
- Ling C, Jhaveri S, Schneider GE. 1994. Anterograde transport of cholera toxin subunit B (CT-B) reveals detailed morphology of optic terminals in certain retinorecipient zones of hamsters. *Neurosci Abstract* 20:771.

- Ling C, Schneider GE, Jhaveri S. 1998. Target-specific morphology of retinal axon arbors in the adult hamster. *Vis Neurosci* 15:559-579.
- Ling C, Schneider GE, Northmore D, Jhaveri S. 1997. Afferents from the colliculus, cortex, and retina have distinct terminal morphologies in the lateral posterior thalamic nucleus. *J Comp Neurol* 388:467-483.
- Magnin M, Cooper HM, Mick G. 1989. Retinohypothalamic pathway: a breach in the law of Newton-Müller-Gudden? *Brain Res* 488:390-397.
- Mason CA, Robson JA. 1979. Morphology of retino-geniculate axons in the cat. *Neurosci* 4:79-97.
- Mason CA, Sparrow N, Lincoln DW. 1977. Structural features of the retinohypothalamic projection in the rat during normal development. *Brain Res* 132:141-148.
- Mick G, Cooper HM, Magnin M. 1993. Retinal projection to the olfactory tubercle and basal telencephalon in primates. *J Comp Neurol* 327:205-219.
- Millhouse OE. 1977. Optic chiasm collaterals afferent to the suprachiasmatic nucleus. *Brain Res* 137:351-355.
- Moore RY. 1973. Retinohypothalamic projection in mammals: A comparative study. *Brain Res* 49:403-409.
- Moore RY, Lenn NJ. 1972. A retino-hypthalamic projection in the rat. *J Comp Neurol* 146:1-14.
- Moore RY, Speh JC, Card JP. 1995. The retinohypothalamic tract originates from a distinct subset of retinal ganglion cells. *J Comp Neurol* 352:351-366.

- Murakami DM, Miller JD, Fuller CA. 1989. The retinohypothalamic tract in the cat: retinal ganglion cell morphology pattern of projection. *Brain Res* 482:283-296.
- Nakagawa S, Mizuma M, Kuchiiwas S. 1998. The retinal projections to the ventral and dorsal divisions of the medial terminal nucleus and mesencephalic reticular formation in the Japanese monkey (*Macaca fuscata*): a reinvestigation with cholera toxin B subunit as a anterograde tracer. *Brain Res* 809:198-203.
- Pickard GE. 1980. Morphological characteristics of retinal ganglion cells projecting to the suprachiasmatic nucleus: a horseradish peroxidase study. *Brain Res* 183:458-465.
- Pickard GE. 1982. The afferent connections of the suprachiasmatic nucleus of the golden hamster with emphasis on the retinohypothalamic projection. *J Comp Neurol* 211:65-83.
- Pickard GE, Silverman AJ. 1981. Direct retinal projections to the hypothalamus, piriform cortex, and accessory optic nuclei in the golden hamster as demonstrated by a sensitive anterograde horseradish peroxidase technique. *J Comp Neurol* 196:155-172.
- Power BD, Leamey CA, Mitrofanis J. 2001. Evidence for a visual subsector within the zona incerta. *Vis Neurosci* 18:179-186.
- Pu M. 1999. Dendritic morphology of cat retinal ganglion cells projecting to the suprachiasmatic nucleus. *J Comp Neurol* 414:267-274.

- Pu M, Berson DM, Pan T. 1994. Structure and function of retinal ganglion cells innervating the cat's geniculate wing: an in vitro study. *J Neurosci* 14:4338-4358.
- Pu M, Pickard GE. 1996. Ventral lateral geniculate nucleus afferents to the suprachiasmatic nucleus in the cat. *Brain Res* 725:247-51.
- Qu T, Dong K, Sugioka K, Yamadori T. 1996. Demonstration of direct input from the retina to the lateral habenular nucleus in the albino rat. *Brain Res* 709:251-258.
- Reiner A, Zhang D, Eldred WD. 1996. Use of the sensitive anterograde tracer cholera toxin fragment B reveals new details of the central retinal projections in turtles. *Brain Behav Evol* 48:307-337.
- Reinoso-Suárez F. 1961. *Topographischer Hirnatlas der Katze*. Darmstadt: Herausgegeben von E. Merck AG.
- Riley JN, Card JP, Moore RY. 1981. A retinal projection to the lateral hypothalamus in the rat. *Cell Tissue Res* 214:257-269.
- Robson, JA. 1993. Qualitative and quantitative analyses of the pattern of retinal input to neurons in the dorsal lateral geniculate nucleus of the cat. *J Comp Neurol* 334:324-336.
- Rockhill RL, Daly FJ, MacNeil MA, Brown SP, Masland RH. 2002. The diversity of ganglion cells in a mammalian retina. *J Neurosci* 22:3831-3843.
- Rodieck RW. 1979. Visual pathways. *Annu Rev Neurosci* 2:193-225.

- Rodieck RW. 1998. *The First Steps in Seeing*. Sinauer Associates, Inc., Sunderland, MA, USA.
- Sanderson K, Haight J, Pettigrew J. 1984. The dorsal lateral geniculate nucleus of macropodid marsupials: cytoarchitecture and retinal projections. *J Comp Neurol* 224:85-106.
- Sanides D. 1975. The retinal projection to the ventral lateral geniculate nucleus in the cat. *Brain Res* 85:313-316.
- Sherman SM. 1985. Functional organization of the W-, X-, and Y-cell pathways in the cat: a review and hypothesis. In: Sprague JM and Epstein AN editors. *Progress in psychobiology and physiological psychology*. New York: Academic Press. p 233-301.
- Spear PD, Smith DC, Williams LL. 1977. Visual receptive-field properties of single neurons in cat's ventral lateral geniculate nucleus. *J Neurophysiol* 40:390-409.
- Stone J. 1983. *Parallel processing in the visual system*. New York: Plenum Press.
- Stone J, Dreher B, Leventhal AG. 1979. Hierarchical and parallel mechanisms in the organization of visual cortex. *Brain Res Rev* 1:345-394.
- Sur M, Sherman SM. 1982. Retinogeniculate terminations in cats: morphological differences between physiologically identified X- and Y- cell axons. *Science* 218:389-391.
- Sur M, Esguerra M, Garraghty PE, Kritzer MF, Sherman SM. 1987. Morphology of physiologically identified retinogeniculate X- and Y- axons in the cat. *J Neurophysiol* 58:1-32.

- Tamamaki N, Uhlrich DJ, Sherman SM. 1995. Morphology of physiologically identified retinal X and Y axons in the cat's thalamus and midbrain as revealed by intraaxonal injection of biocytin. *J Comp Neurol* 354:853-607.
- Telkes I, Distler C, Hoffmann KP. 2000. Retinal ganglion cells projecting to the nucleus of the optic tract and the dorsal terminal nucleus of the accessory optic system in macaque monkeys. *Eur J Neurosci* 12:2367-2375.
- Wässle H, Boycott BB. 1991. Functional architecture of the mammalian retina. *Physiol Rev* 71:447-480.
- Weber JT, Hutchins B. 1982. The demonstration of a retinal projection to the medial pretectal nucleus in the domestic cat and the squirrel monkey: an autoradiographic analysis. *Brain Res* 232:181-186.
- Wilson JR, Hendrickson AE. 1981. Neuronal and synaptic structure of the dorsal lateral geniculate nucleus in normal and monocularly deprived Macaca monkeys. *J Comp Neurol* 197:517-539.
- Youngstrom TG, Weiss ML, Nunez AA. 1991. Retinofugal projections to the hypothalamus, anterior thalamus and basal forebrain in hamsters. *Brain Res Bull* 26:403-411.
- Zhang HY, Hoffmann KP. 1993. Retinal projections to the pretectum, accessory optic system and superior colliculus in pigmented and albino ferrets. *Eur J Neurosci* 5:486-500.