

# **RÉUNION ANNUELLE 2009**

**Vendredi, 6 novembre 2009**  
*Hôtel Le Dauphin*  
**600 boul. St-Joseph, Drummondville, J2C 2C1**

**Réseau FRSQ de recherche en santé de la vision**  
Fonds de recherche en santé du Québec

*Directeur scientifique*  
**Pierre Lachapelle, PhD**

*Directrice adjointe - Comité consultatif*  
**Jacqueline Orquin, MD**

*Directrice adjointe - Recherche clinique*  
**Isabelle Brunette, MD**

*Directeur adjoint - Publicité, communication et promotion*  
**Christian Casanova, PhD**

*Directeur adjoint - Innovations thérapeutiques*  
**Sylvain Chemtob, MD, PhD**

*Axe rétine et segment postérieur*  
*Responsable: Christian Salesse, PhD*  
*Responsable junior: Elvire Vaucher, PhD*

*Axe cerveau et perception*  
*Responsable: Stéphane Molotchnikoff, PhD*

*Axe cornée et segment antérieur*  
*Responsable: Vincent Raymond, MD, PhD*

*Axe déficiences visuelles et réadaptation*  
*Responsable: Olga Overbury, PhD*

*Représentant de l'Université Laval*  
**Marc Hébert, PhD**

*Représentante des réseaux*  
**Michelle McKerral, PhD**

*Administration, Finances, Secrétariat*  
**Malgosia Mikula, B.A.**

# Réunion annuelle du Réseau Vision 2009

**8h00-8h15      Accueil**  
**Mot de bienvenue du Directeur scientifique**

**8h15-9h00      Café + Viennoiseries**  
**Présentations par affiches**

- A1-1 **Hélène Boisjoly**, MD MPH  
*Health Problems, Vision and Wait Time in adults expecting a Corneal Transplant - A Pilot Study*
- A1-2 **Anahid Aminian** (laboratoire : Isabelle Brunette)  
*Evolution of the 3D shape of the human cornea with age: Preliminary results*
- A1-3 **Joseph Bouskila** (laboratoire : Jean-François Bouchard)  
*Localisation du système des endocannabinoïdes dans la rétine du singe Vert de St-Kitts (Chlorocebus sabaeus): vision centrale VS périphérique*
- A1-4 **Marie Lou Audet** (laboratoire : Christian Salesse)  
*Activité et liaison membranaire de la rétinol déhydrogénase-11 et de ses délétants*
- A1-5 **Marie-Krystel Gauthier** (laboratoire : Vincent Raymond)  
*Novel mutations in the ABCA4 gene in French-Canadian patients affected by Stargardt disease*
- A1-6 **Line Cantin** (laboratoire : Christian Salesse)  
*Activité enzymatique et liaison membranaire d'une forme tronquée de la lécithine rétinol acyltransférase*
- A1-7 **Emily R. Lindemer** (laboratoire : Erik P. Cook)  
*Human Perception of Correlated Motion*
- A1-8 **Bruno Cécyre** (laboratoire : Jean-François Bouchard)  
*Effet du récepteur CB2 aux cannabinoïdes sur le guidage axonal*
- A1-9 **Angela Vavassis** (laboratoire : Michael von Grünau)  
*The influence of expected reward on saccadic reaction time*
- A1-10 **Charlotte Fontaine** (laboratoire : Marc Hébert)  
*Évaluation de l'impact de stimulations lumineuses spécifiques sur la vigilance, la performance et l'activité de l'horloge biologique chez l'humain*
- A1-11 **José Carlos Rivera** (laboratoire : Sylvain Chemtob)  
*A novel modulator of the IL-1 receptor prevents development of oxygen-induced retinopathy*
- A1-12 **Matthieu Vanni** (laboratoire : Christian Casanova)  
*Organisation fonctionnelle de l'aire VI et V2 du Tree Shrew. Mise en évidence par l'imagerie optique*
- A1-13 **Pierre-Jean Bernard** (laboratoire : Vasile Diaconu)  
*Mécanismes influençant l'oxygénation du sang dans les structures capillaires de la zone fovéale*
- A1-14 **Judith Hotte-Bernard** (laboratoire : Dave Saint-Amour)  
*Évaluation de l'orientation de l'attention visuelle chez les amblyopes*
- A1-15 **Mikheil Djavari** (laboratoire : Pierre Lachapelle)  
*Les animaux élevés en obscurité sont moins susceptibles à la rétinopathie induite par l'hyperoxie*
- A1-16 **Mathieu Gauvin** (laboratoire : Pierre Lachapelle)  
*Application des ondelettes discrètes pour l'analyse de l'ERG photopique*

## **9h00-10h30 Présentations pour le concours du meilleur doctorant**

- D1 **Mario Méthot** (directeur de recherche : Christian Salesses)  
*Caractérisation structurale et fonctionnelle de la cPLA2-gamma et la rétinol déhydrogénase 11 ; deux protéines impliquées dans le processus visuel*
- D2 **Matthieu Vanni** (directeur de recherche : Christian Casanova)  
*Pourquoi y a-t-il des cartes dans les aires corticales?*
- D3 **Frédéric Lebrun-Julien** (directrice de recherche : Adriana Di Polo)  
*La mort des cellules ganglionnaires par des mécanismes cellulaires non-autonomes : Le rôle des cellules gliales de Müller dans la mort neuronale*
- D4 **Alexandre Sasseville** (directeur de recherche : Marc Hébert)  
*Évaluation de stratégies axées sur les courtes longueurs d'onde pour améliorer l'adaptation de l'horloge biologique des travailleurs de nuit*
- D5 **Nicole Chabot** (directeur de recherche : Gilles Bronchti)  
*Compensation sensorielle chez des rongeurs aveugles*

## **10h30-11h30 Première session de présentations orales**

- O1-1 **Lydia Touzel-Deschênes** (laboratoire : Sylvain Guérin)  
*Influence de la suppression des isoformes du facteur de transcription NFI sur les propriétés du mélanome uvéal*
- O1-2 **Barbara Morquette** (laboratoire : Adriana Di Polo)  
*mTOR activity restores retinal ganglion cell dendritic arbors after axonal injury in vivo*
- O1-3 **Mylène Pouliot** (laboratoire : Elvire Vaucher)  
*L'administration topique de l'antagoniste du récepteur B<sub>1</sub> des kinines FV-60135-02 inhibe l'inflammation de la rétine chez le rat diabétique*
- O1-4 **Pierre-Camille Gillet** (laboratoire : Jean-François Bouchard)  
*Les cannabinoïdes : une nouvelle avenue thérapeutique vers la régénération du système nerveux*
- O1-5 **Joëlle Lavoie** (laboratoire : Marc Hébert)  
*Une déficience en sérotonine dans le cerveau provoque une synchronisation plus longue à un cycle de lumière/noirceur inversé*
- O1-6 **Hadi Chakor** (laboratoire : Bernard Thibault)  
*New biomarkers of heart disease in normal and patient population from early results*
- O1-7 **Stéphanie Proulx** (laboratoire : Lucie Germain)  
*Protection de l'endothélium cornéen par un gel de fibrine pour les procédures chirurgicales*

## **11h30-12h30 Conférencier invité**

### **Dr. Yves Sauvé, PhD**

AHFMR Senior Scholar, Director of Research  
Department of Ophthalmology, University of Alberta  
Edmonton Alberta, Canada

Conférence :

*“Rôle des omega-3 dans les changements rétiniens liés à l'âge”*

## **12h30-13h30 Dîner**

### **13h30-14h30 Conférencier invité**

#### **Dr. Michel Cayouette, PhD**

Directeur, Laboratoire de Neurobiologie Cellulaire  
Institut de recherches cliniques de Montreal (IRCM)

Conférence :

**“Importance des mécanismes de polarité cellulaire dans le développement de la rétine et le fonctionnement des photorécepteurs”**

### **14h30-15h15 Présentations par affiche**

- A2-1 **Claudine Bellerive** (laboratoire : Marc Hébert)  
*Retinal function assessment of the impact of trypan blue versus indocyanine green assisted internal limiting membrane peeling during macular hole surgery*
- A2-2 **Kim Beauregard** (laboratoire : Sylvain Chemtob)  
*Design et développement pharmacologique du 101.10, petit peptide allostérique antagoniste du récepteur de l'interleukine-1*
- A2-3 **Caroline Jacques** (laboratoire : Dave Saint-Amour)  
*Effets à long-terme de l'apport prénatal en oméga-3 sur les fonctions visuelles chez les enfants Inuits du Nunavik*
- A2-4 **Nicolas Belley** (laboratoire : Christian Salessse)  
*Interaction de la protéine retinitis pigmentosa 2 avec des monocouches de langmuir*
- A2-5 **Vanessa Molloy-Simard** (laboratoire : Serge Desnoyers)  
*Caractérisation de l'expression du gène PARG : implication dans la rétinopathie diabétique et dans les mélanomes uvéaux*
- A2-6 **Yujing Bai** (laboratoire : H. Uri Saragovi)  
*Neuroprotection After Complete Optic Nerve Axotomy: in vivo efficacy of receptor-selective neurotrophin analogues and peptidomimetics*
- A2-7 **Jessy Hilal** (laboratoire : Vasile Diaconu)  
*Optic nerve head capillaries blood oxygenation during a menstrual cycle period*
- A2-8 **Anteneh Argaw** (laboratoire : Jean-François Bouchard)  
*The Cannabinoid receptor 1 mediated axon guidance necessitates Deleted in Colorectal Cancer (DCC)*
- A2-9 **Walter Wittich** (laboratoire : Olga Overbury)  
*Age-Independent Asymmetries in Spatial Interval Discrimination Across the Central Visual Field*
- A2-10 **Ariel Wilson** (laboratoire : Adriana Di Polo)  
*Targeted siRNA-Mediated Knockdown of p53 Family Activators ASPP1 and ASPP2 Delays Adult Retinal Ganglion Cell Death in vivo*
- A2-11 **Jun Il Kang** (laboratoire : Elvire Vaucher)  
*Cholinergic system activation paired with visual stimulation enhance visual performance of rats in the visual water maze*
- A2-12 **Rong Zhou** (laboratoire : Michael von Grünau)  
*The effect of different artificial central scotomata on eye-movement patterns*
- A2-13 **Zi-Wei Zhang** (laboratoire : Elvire Vaucher)  
*Confocal analysis of cholinergic and dopaminergic inputs onto pyramidal cells in the prefrontal cortex of rodents*
- A2-14 **Marie-Eve Laramée** (laboratoire : Gilles Bronchti et Denis Boire)  
*Connexions indirectes entre les cortex auditif et visuel primaires chez la souris*

## **Suite... Présentations par affiches**

- A2-15 **Noémie Hébert-Lalonde** (laboratoire : Dave Saint-Amour)  
*Visual neurotoxicity associated with vigabatrin in young epileptic children: An electrophysiological study to assess the integrity of the visual fields*
- A2-16 **Anna Polosa** (laboratoire : Pierre Lachapelle)  
*Évidence suggérant une région maculaire chez les rats*
- A2-17 **Irma Lopez** (laboratoire : Robert Koenekoop)  
*Finding the causal gene for pericentral retinitis pigmentosa*
- A2-18 **Louis Jay** (laboratoire : Tsuneyuki Ozaki)  
*Imaging cornea on a whole eye by multi-harmonic microscopy*

## **15h15-16h15 Deuxième session de présentations orales**

- O2-1 **Simon Hétu** (laboratoire : Elvire Vaucher)  
*Étude du débit sanguin rétinien chez le rat par Débitométrie au laser par effet Doppler (LDF)*
- O2-2 **Julie Bolduc-Teasdale** (laboratoire : Michelle McKerral)  
*What can electrophysiology tell us about recovery after mild TBI? Visuospatial deficits in the acute and chronic post-injury phases*
- O2-3 **Philippe Calvez** (laboratoire : Christian Saesle)  
*Liaison préférentielle et orientation de la recoverine à des monocouches de phospholipides*
- O2-4 **Pascal Belleau** (laboratoire : Vincent Raymond)  
*Modifier genes altering glaucoma severity in huge autosomal dominant kindreds*
- O2-5 **Valentina Vucea** (laboratoire : Vasile Diaconu)  
*Modélisation de la fonction de réflectométrie pour les vaisseaux sanguins de l'œil*
- O2-6 **Audrey-Anne Ethier** (laboratoire : Dave Saint-Amour)  
*Impacts of environmental contaminants exposure on visual brain development: a visual evoked potentials prospective study*
- O2-7 **Alice Yang Zhang** (laboratoire : John Chen)  
*An Integral Study of the Vascular Model of AMD: A Novel Technique to Assess the Scleral Rigidity and its Implication in the Pathway*

## **16h15-17h00 Troisième session de présentations orales**

- O3-1 **Marie-Chantal Wanet-Defalque, PhD**  
*Syndrome de Charles Bonnet et hallucinations liées aux déficiences sensorielles : le vécu des personnes comme base d'un questionnaire*
- O3-2 **H. Uri Saragovi, PhD**  
*An agonistic anti-TrkB mAb, but not BDNF, protects retinal structure and delays RGC death in optic nerve axotomy and in experimental glaucoma: an FD-OCT study*
- O3-3 **Olga Overbury, PhD**  
*Visual Field Loss in Retinitis Pigmentosa as a Function of Genetic Transmission Pattern: Preliminary Results*
- O3-4 **Vincent Raymond, MD, PhD**  
*Nature polygénique du glaucome: des gènes qui causent la maladie, en accroissent le risque ou en modifient la sévérité*

## **17h30 Remise des prix et Clôture**

Veillez noter que les résumés des présentations seront disponibles sous forme électronique sur le site web du Réseau Vision :

[www.reseauvision.ca](http://www.reseauvision.ca)

**RÉSUMÉS**

**CONCOURS DU  
MEILLEUR DOCTORANT**

# CARACTÉRISATION STRUCTURALE ET FONCTIONNELLE DE LA cPLA<sub>2</sub>-GAMMA ET LA RÉTINOL DÉHYDROGÉNASE 11 ; DEUX PROTÉINES IMPLIQUÉES DANS LE PROCESSUS VISUEL

**Mario Méthot**, Centre de recherche du CHUL, Québec, PQ, Canada

La cPLA<sub>2</sub> gamma : L'épithélium pigmentaire rétinien (EPR) est constitué d'une monocouche de cellules tapissant le fond de l'œil et est localisée de façon apicale par rapport à la rétine neurale. Outre ses fonctions au niveau du cycle visuel, l'EPR permet aussi la phagocytose des segments externes des bâtonnets (SEB) et la production de phagosomes. L'EPR digère ces phagosomes à l'aide d'enzymes telles les phospholipases A<sub>2</sub> (PLA<sub>2</sub>) et recycle certaines de ses composantes tels les acides gras polyinsaturés (AGPI). Fait notable, plus de 60% des acides gras des phospholipides des SEB sont polyinsaturés. Ces membranes sont donc très susceptibles à l'oxydation. Il a déjà été démontré dans notre laboratoire que l'EPR exprime une PLA<sub>2</sub> gamma cytosolique (cPLA<sub>2</sub> gamma). La spécificité et l'activité constitutive de cette PLA<sub>2</sub> suggèrent qu'elle pourrait participer au recyclage des AGPI.

La RDH11 : Le rétinol est le chromophore de la rhodopsine qui est responsable de l'absorption de la lumière. Suite à cette absorption, le rétinol subit une isomérisation et une transformation en rétinol. Il doit ensuite être retransformé en rétinol avant de régénérer la rhodopsine qui pourra alors absorber un nouveau photon. Les rétinols déhydrogénases (RDH) sont des enzymes effectuant cette interconversion des formes rétinol et rétinol. À ce jour, on connaît encore peu de choses sur ces enzymes. Il est connu que des mutations de la RDH5 sont associées avec la maladie récessive rare *fundus albipunctatus*, alors que des mutations de la RDH12 causent l'amaurose congénitale de Leber. Cependant le rôle physiologique exact de plusieurs autres isoformes de la RDH et de leur implication possible dans des pathologies de l'œil demeurent toujours inconnus jusqu'à maintenant.

L'objectif de ces travaux consistait à surexprimer et purifier la cPLA<sub>2</sub>-gamma, la RDH-11, et une version tronquée de cette dernière, soit la N-delRDH-11 dans *E.coli* pour ensuite déterminer leur activité enzymatique puis de caractériser leurs interactions membranaires.

**RÉSULTATS ET DISCUSSION:** Les mesures effectuées en vésicules nous ont permis de confirmer que la cPLA<sub>2</sub> gamma recombinante était active, hydrolysant les phospholipides radiomarqués en position sn-2. Les expériences en monocouche ont une fois de plus confirmé l'activité de l'enzyme, en plus de révéler pour la toute première fois la spécificité de son activité enzymatique. En effet, la cPLA<sub>2</sub> gamma était en mesure d'hydrolyser rapidement une monocouche constituée de L-DPPC, alors qu'une monocouche de DMPC s'est avérée résistante à l'hydrolyse.

Les résultats obtenus en HPLC démontrent que la N-del RDH-11 est très active ; 1 µg de protéine suffisent à convertir 100% du tout-trans rétinol en tout-trans rétinol. Les résultats en monocouche montrent qu'en dépit de la délétion du segment hydrophobe en N-terminal, la protéine interagit promptement avec le modèle membranaire, quoiqu'avec une cinétique nettement plus lente que la RDH11.

## **Pourquoi y a-t-il des cartes dans les aires corticales ?**

*Matthieu Vanni*

Il est désormais bien connu que les neurones peuvent s'organiser en fonction de leurs propriétés sous la forme de cartes fonctionnelles. Ainsi, on peut retrouver dans certaines aires corticales de certaines espèces des cartes en fonction de la position dans le champ visuel (i.e. visuotopie), de l'orientation, de la direction ou de la dominance oculaire. Toutefois les facteurs qui déterminent la présence ou l'organisation et de telles ou telles cartes restent encore à établir précisément. Les hypothèses pointent principalement des mécanismes d'optimisation du traitement contraint par la taille de l'aire et/ou son rôle mais d'autres paramètres pourraient être pris en compte comme la taxonomie. De plus la mise en évidence des cartes reste dépendante de la démarche expérimentale utilisée pour les révéler. La plus performante reste encore l'imagerie optique qui possède une résolution spatiale de l'ordre du dixième de millimètre. Toutefois, les procédures classiques d'acquisition ne permettent pas d'obtenir un bon rapport signal/bruit ce qui implique des sessions d'enregistrement de plusieurs heures et qui parfois empêche la quantification de certaines cartes.

Les travaux réalisés lors de ce doctorat se sont donc concentrés d'abord sur le développement de nouvelles techniques d'analyse en imagerie optique permettant d'augmenter le rapport signal/bruit. Ensuite, ces nouvelles techniques ont été appliquées pour mettre en évidence des cartes fonctionnelles dans plusieurs aires corticales du système visuel et de discuter des facteurs qui déterminent leur présence.

- 1) La première étude s'est concentrée sur le développement de nouvelles stratégies d'analyse de la réponse en imagerie optique via l'analyse en fréquence. Cela a permis d'augmenter de 10x le rapport signal/bruit et d'évaluer en quelques minutes la sélectivité à l'orientation et à la direction, la binocularité et la taille et position des champs récepteurs.
- 2) La seconde étude a mesuré la réponse de chaque pixel en fonction de la taille du stimulus dans le cortex visuel primaire du chat. Cela a permis de démontrer la présence de colonne corticale de forte et faible suppression par le pourtour. Ce type d'organisation n'avait jusqu'ici été démontré que dans des structures corticales de haut niveau et uniquement chez les primates.
- 3) La troisième étude a montré la présence d'une organisation pour l'orientation mais pas pour la direction du mouvement dans l'aire 21a du chat. Cette aire semble donc être optimisée pour un processus d'analyse des formes de la même manière que son homologue V4 chez le primate.
- 4) La dernière étude s'est concentrée sur la cartographie des aires corticales chez le Tree Shrew, un animal de la taille d'un rat mais très proche des primates. Cette étude a montré que, tout comme chez les primates, aucune organisation pour la direction n'existait dans le cortex visuel primaire malgré la présence d'une organisation pour l'orientation. Toutefois, contrairement à eux, aucune organisation modulaire n'a été observée dans les aires extra striées

L'ensemble des travaux réalisés lors de ce doctorat supporte donc l'hypothèse que le type de tâche effectuée par une aire corticale en conjonction avec le comportement de l'animal représente le facteur déterminant des cartes corticales.

**Université de Montréal**

**La mort des cellules ganglionnaires par des mécanismes cellulaires non-autonomes : Le rôle des cellules gliales de Müller dans la mort neuronale.**

**Par**

**FRÉDÉRIC LEBRUN-JULIEN**

**Département de pathologie et biologie cellulaire  
Faculté de Médecine**

**Novembre 2009**

**© Frédéric Lebrun-Julien**

## RÉSUMÉ

Les cellules gliales sont essentielles au fonctionnement du système nerveux. Dans la rétine, les cellules gliales de Müller sont à la fois responsables d'assurer l'homéostasie du tissu tout comme la protection des neurones dont les cellules ganglionnaires de la rétine (CGRs).

**L'hypothèse principale de la thèse est que les cellules de Müller joueraient un rôle primordial dans la survie neuronale tant au niveau de la signalisation des neurotrophines/proneurotrophines suite à une blessure que dans les mécanismes d'excitotoxicité.**

Contrairement au BDNF, le NGF n'est pas en mesure d'induire la survie des CGRs suite à une transection du nerf optique. Le premier objectif de la thèse a donc été de localiser les récepteurs  $p75^{\text{NTR}}$  et TrkA du NGF dans la rétine adulte et d'établir leur fonction respective en utilisant des ligands peptidomimétiques agonistes ou antagonistes spécifiques pour chacun des récepteurs. Nos résultats ont démontré que TrkA est surexprimé par les CGRs suite à l'axotomie alors que  $p75^{\text{NTR}}$  est spécifiquement exprimé par les cellules de Müller. Alors que NGF n'est pas en mesure d'induire la survie des CGRs, l'activation spécifique de TrkA par des ligands peptidomimétique est nettement neuroprotectrice. De façon surprenante, le blocage sélectif de  $p75^{\text{NTR}}$  ou l'absence de celui-ci protège les CGRs de la mort induite par l'axotomie. De plus, la combinaison de NGF avec l'antagoniste de  $p75^{\text{NTR}}$  agissent de façon synergique afin d'augmenter la survie des CGRS. Ces résultats révèlent un nouveau mécanisme par lequel le récepteur  $p75^{\text{NTR}}$  exprimé par les cellules gliales de Müller peut grandement influencer la survie neuronale.

Ensuite, nous avons voulu déterminer l'effet des proneurotrophines dans la rétine adulte. Nous avons démontré que l'injection de proNGF induit la mort des CGRs chez le rat et la souris par un mécanisme dépendant de  $p75^{\text{NTR}}$ . L'expression de  $p75^{\text{NTR}}$  étant exclusive aux cellules de Müller, nous avons donc testé l'hypothèse que le proNGF active une signalisation cellulaire non-autonome qui aboutie à la mort des CGRs. En suivant cette idée, nous avons montré que le proNGF induit une forte expression de TNF dans les cellules de Müller et l'inhibition du TNF bloque la mort neuronale induite par le proNGF. L'utilisation de souris knock-out pour la protéine  $p75^{\text{NTR}}$ , son co-récepteur sortilin, ou la protéine adaptatrice NRAGE a démontré que la production de TNF par les cellules gliales était dépendante de ces protéines. Le proNGF semble

activer une signalisation cellulaire non-autonome qui cause la mort des neurones de façon dépendante du TNF *in vivo*.

L'hypothèse centrale de l'excitotoxicité est que la stimulation excessive des récepteurs au glutamate sensible au *N*-Methyl-D-Aspartate (NMDA) est dommageable aux neurones et contribue à plusieurs maladies neurodégénératives. Les cellules gliales sont soupçonnées de contribuer à la mort neuronale par excitotoxicité, mais leur rôle précis est encore méconnu. Le dernier objectif de ma thèse était de d'établir le rôle des cellules de Müller dans cette mort neuronale. Nos résultats ont démontrés que l'injection de NMDA induit une activation du NF- $\kappa$ B dans les cellules de Müller, mais pas dans les CGRs, et que l'utilisation d'inhibiteurs du NF- $\kappa$ B bloque la mort des CGRs. De plus, nous avons montré que les cellules de Müller en réaction à l'activation du NF- $\kappa$ B produisent la protéine TNF $\alpha$  qui semble être directement impliqué dans la mort des CGRs par excitotoxicité. Cette mort cellulaire se produit principalement par l'augmentation à la surface des neurones des récepteurs AMPA perméables au Ca<sup>2+</sup>, un phénomène dépendant du TNF $\alpha$ . Ces données révèle un nouveau mécanisme cellulaire non-autonome par lequel les cellules gliales peuvent exacerber la mort neuronale lors de mécanismes excitotoxiques.

**Mots-Clé** : Cellules ganglionnaires de la rétine, cellules de Müller, interaction neurone-glie, survie neuronale, nerve growth factor, pro-NGF, p75<sup>NTR</sup>, excitotoxicité, facteur nécrosant des tumeurs, Nuclear Factor  $\kappa$  B.

## **Évaluation de stratégies axées sur les courtes longueurs d'onde pour améliorer l'adaptation de l'horloge biologique des travailleurs de nuit.**

*Alexandre Sasseville*

Les problèmes les plus souvent rapportés par les travailleurs de nuit est le manque de sommeil de qualité le jour et la baisse de vigilance aux cours des quarts de travaux de nuit. Il est possible d'améliorer le sort des travailleurs de nuit en déplaçant le rythme de leur horloge biologique par l'augmentation de l'intensité lumineuse la nuit et sa réduction le jour par le port de lunettes noir le matin et une période fixe dans une pièce sans éclairage. Malheureusement, même si cette stratégie peut déplacer l'horloge biologique, elle est difficilement applicable en milieu de travail. Il a par contre été démontré que l'horloge biologique était plus sensible à la portion bleue-verte du spectre lumineux. Il devient donc possible de maintenir un niveau d'éclairage normal en n'ajoutant seulement de la lumière bleue à l'éclairage ambiant. On peut aussi simplement couper cette région bleue-verte du spectre lumineux le jour grâce à l'utilisation de lunettes a verres orangés permettrait de couper les longueurs d'onde du spectre lumineux entre 400 nm et 540 nm. Puisque l'efficacité de lunettes à lentilles orangées n'avait jamais été démontrée dans un tel cadre, nous avons tout d'abord évalué leurs capacités à bloquer l'effet de la lumière vive sur un marqueur reconnue de l'horloge biologique, la mélatonine. Nous avons pu ainsi nous assurer qu'elles rendaient l'horloge biologique aveugle à une lumière de 1300 lux au niveau de la rétine. Fort de ces connaissances, nous avons évalué l'efficacité de ces lunettes pendant l'été (n=8) et l'hiver (n=20) dans un milieu de travail déjà bien éclairé au centre de triage de Postes Canada à Québec. Dans les deux cas, nous avons pu observer que le simple port des lunettes à lentilles orangées le matin, permettait aux travailleurs de dormir en moyenne 30 minutes de plus par jour. De plus, nous avons observé que le déclin de vigilance la nuit ne survenait plus lors du dernier quart de travail, suggérant ainsi une adaptation des travailleurs au quart de nuit. Nous avons ensuite évalué l'efficacité et l'applicabilité d'une exposition additionnel à 200 lux de lumière bleue-verte la nuit combinée au port de lunettes à lentilles orangées le jour pour améliorer l'adaptation au travail de nuit. L'étude s'est déroulée en milieu de travail chez 4 travailleurs en rotation hebdomadaire d'une usine de sciage et de rabotage d'Abitibi Bowater à La Doré. Chez ces travailleurs, nous avons effectué une évaluation de la vigilance, de la performance, du sommeil diurne et de l'entraînement de l'horloge biologique entre le quart de jour (8h-16h) et de nuit (00h-8h). Nous avons alors observé une durée plus longue de sommeil le jour en plus d'une diminution du nombre d'erreurs dans le travail de classification. Après 4 quarts, un déplacement du cycle de production de mélatonine a aussi observé suggérant une adaptation partielle de l'horloge biologique. Finalement, puisque la lumière de courte longueur d'onde est aussi associé plus étroitement a une amélioration de la vigilance, nous avons voulu vérifier si le fait de porter les lunettes à lentilles orangées pouvait avoir un impact sur le niveau de vigilance des personnes qui s'en serviraient le matin après un quart de travaille de nuit. Nous avons observé qu'une lumière blanche enrichie de bleu était tout aussi efficace sur la vigilance avec ou sans lunettes. Par le contrôle de l'exposition aux courtes longueurs d'onde, il semble possible de modifier l'environnement lumineux afin d'améliorer la productivité et la qualité de vie des travailleurs de nuit de façon sécuritaire.

## COMPENSATION SENSORIELLE CHEZ DES RONGEURS AVEUGLES

**Nicole Chabot** étudiante Ph.D. en psycho UQTR, sous la direction du Dr Gilles Bronchti

**INTRODUCTION :** Chez les personnes ayant perdu la vue avant l'adolescence et pas plus tard, le cortex occipital peut être activé par une tâche auditive ou somesthésique ce qui supporte l'hypothèse d'une réorganisation des voies sensorielles chez les aveugles précoces qui est absente chez les aveugles tardifs. Comment explique-t-on cette différence ? Le moment de la déprivation semble jouer un rôle critique dans la réorganisation. Une étude antérieure de notre laboratoire a démontré que le thalamus et le cortex visuel de la souris mutante anophtalme ZRDCT/An, sont clairement activés par un stimulus auditif. Cette souris est donc un bon modèle de cécité précoce. De plus, l'activation auditive du cortex visuel est plus forte quand ces souris sont élevées dans un milieu enrichi. La qualité de l'environnement joue donc aussi un rôle important. J'ai voulu trouver un modèle de souris correspondant à une cécité tardive afin de mettre en évidence les modifications anatomo-fonctionnelles associées au développement de la plasticité transmodale et d'étudier en détail l'influence de la qualité de l'environnement sur cette plasticité compensatoire. L'étude du phénomène dans un modèle animal unique est nécessaire pour répondre à ces questions.

**MÉTHODES :** Deux modèles de souris aveugles ont été utilisés: la souris mutante anophtalme ZRDCT/An qui ne développe ni de rétine ni de nerf optique, et la souris C57BL/6 énucléée à la naissance, comme modèle de cécité plus tardif. Les souris ont été élevées dans un milieu enrichi ou dans un milieu standard d'animalerie. Les résultats fonctionnels ont été obtenus par l'immunohistochimie de la protéine c-Fos. Après stimulation auditive contrôlée j'ai analysé et quantifié par stéréologie les cellules c-Fos positives dans les structures d'intérêts - le collicule inférieur (CI), le corps genouillé latéro-dorsal (CGLd), les cortex auditif primaire (AC), visuel primaire (V1) et visuels secondaires latéral (V2l) et médial (V2m) – dans les 4 groupes expérimentaux. J'ai aussi injecté le traceur antérograde, dextran amine biotinylé, dans CI, AC des souris et le traceur rétrograde fluorogold, dans V1.

**RÉSULTATS :** Alors que chez la souris mutante, l'activité auditive est observée dans le CGLd et dans V1, chez la souris énucléée, l'activité est observée principalement dans V2l. Comme chez la souris contrôle, aucune activité auditive n'est observée dans le CGLd ni dans V1. Le traçage neuronal nous permet de préciser deux points : (i) l'activité auditive dans les structures visuelles primaires de la souris anophtalme est toujours corrélée à une connexion aberrante CI-CGLd qui est absente chez la souris énucléée ; (ii) aucune structure auditive sous-corticale n'est connectée directement avec V1. Ainsi, la souris énucléée néonatale est-elle un modèle correspondant à une cécité tardive puisque la période critique de plasticité subcorticale qui la caractérise semble terminée à la naissance. Chez le rat, la période critique semble durer plus longtemps puisque une activité somesthésique ou auditive a été enregistrée dans V1 chez des rats énucléés dans les 2 jours après la naissance. J'ai vérifié ce point en testant l'activité auditive dans V1 et l'existence de connexion CI-CGLd chez des rats adultes énucléés entre la naissance et P15. J'ai démontré ainsi que l'activité auditive dans V1 est, là aussi, corrélée à la présence d'une connexion CI-CGLd et que la période critique pour la mise en place de cette réorganisation se termine chez le rat autour de P10. Enfin, j'ai démontré que la qualité de l'environnement agit sur l'activité auditive évoquée chez la souris mutante et pas chez l'énucléée ni la contrôle.

**RÉSUMÉS**

**PRÉSENTATIONS ORALES**

## **Influence de la suppression des isoformes du facteur de transcription NFI sur les propriétés du mélanome uvéal**

Touzel Deschênes, Lydia<sup>1</sup>, Manon Gaudreault<sup>1</sup>, Steeve Leclerc<sup>1</sup>, Christian Salesses<sup>1,2</sup>, Sylvain Guérin<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>Axe Neurosciences, Centre de recherche du CHUL (CHUQ); <sup>2</sup>département d'ORL-ophtalmologie, Faculté de médecine, Université Laval, Québec

**Objectif** : La famille des facteurs de transcription NFI comprend les isoformes NFI-A, -B, -C et -X, qui peuvent agir comme activateurs ou répresseurs de la transcription génique. Récemment, nous avons démontré le rôle répresseur de NFI dans la transcription du gène encodant la sous-unité  $\alpha 5$  de l'intégrine  $\alpha 5\beta 1$ . Dans cette étude, nous tentons de démontrer que la suppression de ce facteur de transcription va altérer l'expression du gène  $\alpha 5$  dans une lignée particulièrement agressive de mélanome uvéal humain (T97).

**Méthodes** : La lignée T97 a été infectée par des lentivirus surexprimant des shARNs dirigés contre chacune des isoformes NFI dans le but d'en diminuer les niveaux endogènes. La diminution d'expression des isoformes NFI a été confirmée par immunobuvardage de type western, par retards sur gel (EMSA) et super rétention (super shift). Les transcrits correspondant aux différentes isoformes NFI, de même que celui du gène  $\alpha 5$  ont été quantifiés par puce à ADN. L'influence de ces baisses sur l'expression d' $\alpha 5$  a été analysée par transfection de vecteurs recombinant portant le gène rapporteur CAT sous le contrôle de différents fragments du promoteur du gène  $\alpha 5$  et, par conséquent, des sites NFI intacts.

**Résultats** : À l'aide d'analyses de type EMSA, de buvardage Western et des puces à ADN, nous avons constaté une baisse importante dans les niveaux d'expression des gènes NFI-B et X dans la lignée T97 infectée.

**Conclusions** : La forte répression exercée par NFI-B et NFI-X combinée à une forte augmentation de son niveau d'expression endogène dans la lignée T97 ont entraîné un débalancement important dans le ratio des facteurs de transcription NFI/AP-1/Sp1 favorisant ainsi une baisse importante de la transcription du gène  $\alpha 5$  dans cette lignée de mélanome uvéal. Ces résultats ont permis de mettre en lumière les conséquences que pourraient exercer un changement minime dans l'expression de ce facteur de transcription sur l'expression du gène  $\alpha 5$  et les propriétés du mélanome uvéal.

mTOR ACTIVITY RESTORES RETINAL GANGLION CELL DENDRITIC ARBORS AFTER AXONAL INJURY *IN VIVO*.

**B. J. Morquette**<sup>1</sup>, P.P. Roux<sup>1,2</sup>, A.R. McKinney<sup>3</sup>, A. Di Polo<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Department of Pathology and Cell Biology and <sup>2</sup>Research Institute for Immunology and Cancer, Université de Montréal; and <sup>3</sup>Department of Pharmacology and Therapeutics, McGill University.

Dendrites are major determinants of how neurons integrate and process incoming information and, as such, play a vital role in the functional properties of neuronal circuits. In the mammalian retina, information processing by retinal ganglion cells (RGCs) is critical because these neurons are the sole conveyors of visual information from the retina to the brain. We previously showed that adult RGCs undergo a dramatic reduction of dendritic arbors soon after axonal injury. However, the molecular mechanisms that underlie injury-induced dendritic remodeling are unknown. Here, we investigated the role of the mTOR (mammalian target of rapamycin) pathway in RGC dendritic structure following optic nerve axotomy. Adult transgenic mice carrying the yellow fluorescent protein (YFP) gene under control of the Thy-1 promoter, which allows visualization of RGC dendrites, were subjected to optic nerve axotomy. Retinal mTOR activity was manipulated using two approaches: i) intraocular injection of an siRNA against REDD2, an upstream inhibitor of mTOR, at the time of axotomy, and ii) intraperitoneal administration of rapamycin, an mTOR inhibitor, every 2 days after axotomy. Three days after lesion, retinal whole-mounts were prepared and RGC dendritic trees were reconstructed from images obtained by confocal microscopy using Imaris software (Bitplane). mTOR activity in RGCs was examined by immunohistochemistry using an antibody against phospho-S6, a downstream target of mTOR. Our data demonstrate that optic nerve injury led to marked downregulation of mTOR activity in RGCs that correlated with dendritic shrinkage at 3 days after axotomy. Intraocular injection of si-REDD2 stimulated mTOR activity in axotomized RGCs and promoted a significant increase in total dendritic length and surface compared to retinas treated with control siRNA. Scholl analysis revealed a marked increase in the complexity in dendrites of RGCs with increased mTOR activity. Intriguingly, higher RGC dendritic complexity correlated with a higher number of branches between the 5<sup>th</sup> and 7<sup>th</sup> order. Administration of rapamycin completely blocked the effect of si-REDD2 on dendritic growth and branching confirming that this response occurred via mTOR stimulation. Our study reveals a novel role for the mTOR pathway in the maintenance of dendrites in adult retinal neurons, and suggests that mTOR activity is required for the preservation of synaptic contacts in the injured visual system.

L'ADMINISTRATION TOPIQUE DE L'ANTAGONISTE DU RÉCEPTEUR B<sub>1</sub> DES KININES  
FV-60135-02 INHIBE L'INFLAMMATION DE LA RÉTINE CHEZ LE RAT DIABÉTIQUE

Pouliot M<sup>1,2</sup>, Talbot S<sup>2</sup>, Pruneau D<sup>3</sup>, Couture R<sup>2</sup>, Vaucher E<sup>1</sup>

<sup>1</sup>École d'Optométrie, <sup>2</sup>Département de Physiologie, Université de Montréal, Montréal, Canada

<sup>3</sup>Fovea Pharmaceuticals, Paris, France

**Introduction :** De récentes études suggèrent que le récepteur B<sub>1</sub> des kinines (RB<sub>1</sub>) est impliqué dans les altérations vasculaires de la rétine chez le rat diabétique, c'est-à-dire les changements de vasoréactivité et l'ouverture de la barrière hémato-rétinienne. Le RB<sub>1</sub> est surexprimé dans la rétine de rats diabétiques, suggérant qu'un antagoniste du RB<sub>1</sub> pourrait améliorer l'homéostasie rétinienne. L'objectif de cette étude était de déterminer si une application topique d'un antagoniste du RB<sub>1</sub>, le FV-60135-02, pouvait inhiber l'hyperperméabilité vasculaire, la leucostase et les médiateurs de l'inflammation potentiellement impliqués dans la rétinopathie diabétique.

**Méthodes :** Le diabète a été induit chez des rats Wistar avec une injection de Streptozotocine (65 mg/kg, i.p.). Sept jours plus tard, les rats ont reçu 2 applications oculaires par jour de FV-60135-02 (1% dans la saline) pendant 7 jours. Au dernier jour de traitement, la perméabilité vasculaire rétinienne, la leucostase et les niveaux rétiens d'ARNm de B<sub>1</sub>R, B<sub>2</sub>R, iNOS, eNOS, COX-2, ICAM-1, VEGF $\alpha$ , VEGFR2, IL-1 $\beta$  et HIF-1 $\alpha$  ont été mesurés par RT-PCR quantitatif.

**Résultats :** La perméabilité vasculaire (bleu d'Evans/g de tissu, n = 9-11) était significativement augmentée chez les rats diabétiques ( $25.7 \pm 1.9 \mu\text{g}$ ) en comparaison aux rats témoins ( $19.6 \pm 1.1 \mu\text{g}$ ). Le FV-60135-02 a corrigé l'hyperperméabilité vasculaire ( $19.9 \pm 1.6 \mu\text{g}$ ) chez les rats diabétiques. Le nombre de leucocytes adhérents aux vaisseaux sanguins rétiens était augmenté chez les rats diabétiques et diminués suite à l'administration de FV-60135-02. Les niveaux d'ARNm de B<sub>1</sub>R, iNOS, COX-2, VEGFR2, IL-1 $\beta$  et HIF-1 $\alpha$  étaient significativement augmentés dans les rétines des rats diabétiques en comparaison aux témoins et ont été normalisés par l'antagoniste du RB<sub>1</sub>.

**Conclusion :** L'application topique de FV-60135-02 inhibe efficacement l'hyperperméabilité vasculaire et la leucostase dans la rétine du rat STZ-diabétique. Le rôle délétère du RB<sub>1</sub> au début du diabète résulterait d'une interaction avec d'autres facteurs pro-inflammatoires.

## Les cannabinoïdes : une nouvelle avenue thérapeutique vers la régénération du système nerveux

P.C. Gillet, S. Charron, J.F. Bouchard

### Présentation orale

Le chanvre indien est utilisé depuis des milliers d'années dans le domaine de la médecine pour, entre autres, ses propriétés antalgiques, orexigène ou encore anti-émétique. Au cours des vingt dernières années, les recherches portant sur le système endocannabinoïde ont permis de mettre en évidence deux principaux récepteurs, le récepteur CB1, et le récepteur CB2. L'implication du récepteur CB1 aux cannabinoïdes dans le développement du système nerveux a largement été documentée dans la littérature. Cependant, même si certains rôles joués par le récepteur CB2 au niveau cardio-vasculaire ou immunitaire sont connus, ses fonctions dans le système nerveux restent obscures. Cependant, la présence du récepteur CB2 à des périodes du développement où la synaptogenèse est à son apogée, suggère que celui-ci joue un rôle dans la formation des réseaux synaptiques.

Nous étudions donc ici le rôle du récepteur CB2 dans la mise en place du réseau synaptique au cours du développement. Pour ce faire, nous avons utilisé des cultures primaires de neurones corticaux glutamatergiques de souris. L'ajout d'agonistes inverses du récepteur CB2 induit une augmentation du nombre de précurseurs de la synaptogenèse à 8 jours *in vitro* et une augmentation du nombre de contacts synaptiques à 10 jours. Une stimulation à l'aide d'agonistes produit l'effet contraire. Ces résultats préliminaires suggèrent fortement un rôle important du récepteur CB2 dans la synaptogenèse. Des expériences supplémentaires nous ont permis de montrer que ce récepteur modulait le nombre de synapse via la voie de signalisation de la protéine kinase A (PKA). Également, ces modifications synaptiques ne se produisent pas chez des souris dont le gène codant pour le récepteur Deleted in Colorectal Cancer (DCC) a été tronqué. Ceci démontrant l'implication de DCC dans ce processus.

Notre étude met pour la première fois en évidence le rôle du récepteur CB2 au cours de la synaptogenèse. De plus nous montrons ici un lien encore inédit entre un récepteur aux cannabinoïdes et le récepteur DCC. Le rôle des cannabinoïdes dans le développement des réseaux synaptiques en fait des cibles pharmacologiques de choix dans des perspectives de régénération des circuits synaptiques centraux suite à des pathologies traumatiques ou neurodégénératives.

Cette étude est financée par les IRSC. J-F.B. est un chercheur boursier des IRSC-Rx&D.

## Réunion annuelle Réseau vision, 6 novembre 2009

Joëlle Lavoie

Présentation suggérée : exposé oral

Type de recherche : fondamentale

Niveau d'étude : étudiante au Ph.D

Laboratoire de Marc Hébert

### Une déficience en sérotonine dans le cerveau provoque une synchronisation plus longue à un cycle de lumière/noirceur inversé

Joëlle Lavoie<sup>1</sup>, Martin Beaulieu<sup>1</sup> et Marc Hébert<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Centre de recherche Université Laval Robert-Giffard, Québec

**Problématique :** Les rythmes circadiens sont régulés par différents facteurs endogènes comme les boucles de rétroaction négative ainsi que des facteurs exogènes comme la lumière. Le pacemaker de l'horloge biologique se situe dans les noyaux suprachiasmatiques (NSC) situés dans l'hypothalamus antérieur. Ceux-ci présentent une activité biochimique et électrique spontanée entraînée et synchronisée par la lumière du jour par l'entremise de la voie rétino-hypothalamique. Les NSC reçoivent une importante innervation sérotoninergique provenant du noyau dorsal du raphé et ces afférences participent aussi à l'entraînement et à la régulation des cycles circadiens. **Objectif :** Le but de cette expérience est d'étudier l'impact d'une déficience en sérotonine chez des souris sur la régulation et la synchronisation à un nouveau cycle lumière/noirceur inversé. **Méthode :** La tryptophane hydroxylase 2 (Tph2) est une enzyme de synthèse de la sérotonine et les souris knock-in en Tph2 présentent une baisse de 80% de l'expression de sérotonine dans le cerveau. L'activité circadienne des souris homozygotes (Tph2-HO, n=7) sera comparée à celle des souris wild-types (Tph2-WT, n=5). Chaque animal est placé dans une cage comportant une roue reliée à un mécanisme permettant d'enregistrer l'activité de l'animal à l'aide du logiciel *Clocklab*. Au départ, les animaux sont soumis à 12h de lumière de 7:00 à 19:00 et à 12h de noirceur de 19:00 à 7:00 pendant 14 jours et ensuite, le cycle lumière/noirceur est inversé pendant les 14 jours suivants. **Résultats :** Les souris Tph2-WT ont besoin de 7 jours pour se synchroniser au cycle inversé tandis que les souris Tph2-HO prennent plus de 14 jours pour se synchroniser à ce nouveau cycle. **Conclusion :** Une déficience en sérotonine au niveau cérébral occasionne une diminution des capacités à se synchroniser à un nouveau cycle lumière/noirceur chez des souris génétiquement modifiées. **Perspectives expérimentales :** Des études de neurochimie suivront afin d'étudier si l'expression de certaines protéines impliquées dans la synchronisation des cycles circadiens est influencée par la déficience en sérotonine cérébrale dans certaines structures du cerveau comme les NSC ou dans des organes périphériques comme le foie.

## **New biomarkers of heart disease in normal and patient population from early results.**

*Hadi Chakor<sup>1,2</sup>, Bernard Thibault<sup>1</sup>, Serge Doucet<sup>1</sup>, LY Hung Q<sup>1</sup>, Pierre Lachapelle<sup>2</sup>.*

<sup>1</sup>*Montreal university, Montreal Heart Institute.*

<sup>2</sup>*Ophthalmology Department, McGill Research Institute, McGill University.*

**Purpose:** Primary prevention strategies for adult cardiovascular disease begin early in life and have great potential as the disease process is most reversible at this stage. This observational study aims to assess the relation between retinal vessel abnormalities and cardiovascular risk factors for better prediction of coronary heart disease.

**Method:** A cohort of 30 normal subjects and 19 patients who recently had a coronary angiogram at the Montreal Heart Institute, are expected to undergo a baseline examination. Standardized protocols were used for blood collection; a regular biochemistry including cholesterolemia (HDL, LDL, and TG), urea, glycemia, creatinemia and marker of systemic inflammation (hsCRP) were done. A Fundus examination was done on 06 patients and 30 controls using a non-medriatic digital camera Canon CRG. Ratio arteriole / venule caliber (A/V) was measured and retinal architecture were classified according to Scheie score. Each participant was scored with Framingham risk scale and coronary angiograms were analyzed by one expert blinded of the patient retinal vessels status.

### **Results:**

Medical exams	Controls (N)	Patients (N)
Patients and controls recruited	30	19
Age (mean $\pm$ SD)	35 $\pm$ 9	57 $\pm$ 7
Medical history and clinical examination	30	19
Blood Test (n)	30	19
Coronarography exam (n)	N/A	19
Fundus examination (n)	30	6 (work in progress)

Ratio A/V caliber calculation (n)	30	6 (work in progress)
-----------------------------------	----	----------------------

A retinal arteriolar narrowing and AV nicking seem to be linked with the presence of long term hypertension damage but venular larger caliber appears to be associated with the metabolic syndrome and myocardial infraction.

**Conclusions:** In light of this preliminary data, we assume that microvascularisation could become a powerful biomarker in the detection of the risks of cardiovascular events. The results of this study could lead to direct application in clinical practice during stratification of cardiovascular risks.

Key words: Coronary Heart Disease (CHD), Microvascularisation, Fundus, retinal vessels.

**Titre :** Protection de l'endothélium cornéen par un gel de fibrine pour les procédures chirurgicales.

**Auteurs :** Stéphanie Proulx, PhD,<sup>1</sup> Marie-Anne Forest, MSc,<sup>1</sup> Alexandre Deschambeault, MSc,<sup>1</sup> Patrick Carrier, PhD,<sup>1</sup> Jeanne d'Arc Uwamaliya, MD, MSc,<sup>1</sup> Louis Hoffart, MD,<sup>2</sup> Thouria Bensaoula MD, PhD,<sup>3</sup> Isabelle Brunette, MD, FRCPC,<sup>3</sup> Lucie Germain, PhD.<sup>1</sup>

**Affiliations :**

<sup>1</sup>Laboratoire d'Organogénèse Expérimentale (LOEX), Centre de recherche FRSQ du CHA universitaire de Québec; Département de chirurgie; Département d'Oto-Rhino-Laryngologie et d'Ophtalmologie, Université Laval, Québec

<sup>2</sup>Département d'Ophtalmologie, Université de la Méditerranée, Marseille, France

<sup>3</sup>Centre du Recherche de l'Hôpital Maisonneuve-Rosemont; Département d'Ophtalmologie, Université de Montréal, Montréal

**Résumé :**

Objectif : Les manipulations du greffon lors de greffes cornéennes postérieures endommagent l'endothélium cornéen. Ces cellules fragiles ne se divisent pas in vivo et la perte de cellules génère une décompensation endothéliale responsable d'un échec de greffe. Nous proposons de protéger l'endothélium cornéen par l'ajout d'un mince gel de fibrine.

Méthodologie : Différentes concentrations de thrombine (4, 50, 500 UI/ml) et de fibrinogène (35, 100 mg/ml) ont été utilisées pour former des gels de fibrine. Le temps de polymérisation et l'épaisseur des différents gels ainsi formés ont été évalués et leur structure observée par microscopie électronique à balayage. La combinaison retenue a ensuite été vaporisée sur des cornées humaines et la biocompatibilité du gel fibrine a été évaluée in vitro par le temps de dégradation ainsi que la viabilité et les décomptes endothéliaux.

Résultats : Les gels de fibrines formés avec de faibles concentrations de thrombine polymérisaient trop lentement pour nos besoins. La combinaison de thrombine à 50 UI/ml et de fibrinogène à 100 mg/ml a permis d'obtenir un gel qui polymérisait en quelques secondes et d'une épaisseur uniforme d'environ 100 µm. Lorsque vaporisé sur des cornées humaines, le gel s'est résorbé en 3-4 jours. La viabilité et les décomptes endothéliaux similaires entre les cornées avec et sans gels démontrent la biocompatibilité des gels sur l'endothélium cornéen humain.

Conclusions : Le gel de fibrine s'avère une alternative intéressante pour la protection de l'endothélium du dommage causé par la manipulation du greffon lors de chirurgies consistants à remplacer la cornée postérieure.

## **Étude du débit sanguin rétinien chez le rat par Débitométrie au laser par effet Doppler (LDF)**

**S. Héту, G. Cordahi, R. Couture, E. Vaucher**

La débitométrie au laser par effet Doppler (LDF) constitue une méthode prometteuse et non invasive pour l'évaluation locale du débit sanguin. Son efficacité a d'ailleurs été prouvée afin de fournir une mesure qualitative du débit sanguin oculaire, spécialement pour la rétine et la choroïde. Cette technique, basée sur l'effet Doppler, détermine le débit sanguin par le changement de fréquence subit par le faisceau laser déplacé suite au mouvement des globules rouges dans les vaisseaux. Afin de vérifier l'applicabilité de cette méthode dans l'étude de diverses pathologies oculaires accompagnées d'une dérégulation du débit sanguin (telle que la rétinopathie diabétique ou le glaucome), nous avons testé la capacité de LDF à mesurer l'action vasodilatatrice ou vasoconstrictrice de divers agents pharmacologiques administrés de façon systémique (hypercapnie) ou intravitréenne (adénosine, nitroprusside de sodium et endothéline-1). De plus, afin de d'évaluer la portion du signal LDF attribuable à la circulation choroïdienne, nous avons précédé à l'occlusion des artères rétiniennes par photocoagulation.

Des rats Wistar mâles (300g) ont été utilisés. L'animal est anesthésié à l'uréthane (1.5mg/kg), sa pupille dilatée (atropine 1%) et placé dans un cadre stéréotaxique. Dans ces conditions aucun mouvement de l'œil n'est observé. La sonde LDF (Moor Instruments, 1 fibre émettrice, 8 fibres réceptrices) est placée en contact avec la cornée, parallèle à l'axe optique. Le CO<sub>2</sub> (8% CO<sub>2</sub> dans de l'air) est administré par inhalation et les battements cardiaques ainsi que la pression sanguine sont monitorés en continu. Les autres agents pharmacologiques (adénosine 2μM, nitroprusside de sodium 10 μM et endothéline-1 1μg/mL) sont injectés de façon intravitréenne (5 μL). L'œil est irrigué régulièrement par une solution de sérum physiologique pour éviter son dessèchement.

L'hypercapnie a entraîné une augmentation observable et significative de 19% du débit sanguin rétinien, l'adénosine une augmentation de 14%, le nitroprusside de sodium une augmentation de 16%, l'endothéline-1 une baisse de 11% et enfin l'occlusion des artères rétiniennes a provoqué une baisse de 33 % par rapport au niveau de base (test de Student, p<0,001). Ces résultats démontrent l'applicabilité future de cette technique pour l'étude des pathologies rétiniennes impliquant un changement dans le débit sanguin.

Financé par le réseau pour la recherche en santé de la vision FRSQ.

## What can electrophysiology tell us about recovery after mild TBI? Visuospatial deficits in the acute and chronic post-injury phases

J. BOLDUC-TEASDALE<sup>1,2</sup>, P. JOLICOEUR<sup>1</sup>, M. MCKERRAL<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup> Dept. of Psychology, and Center for Research in Neuropsychology and Cognition, Université de Montréal, QC, Canada

<sup>2</sup> Center for Interdisciplinary Research in Rehabilitation—Lucie-Bruneau Rehabil. Ctr., Montréal, QC, Canada

Up to 15% of individuals who have sustained a mild traumatic brain injury (mTBI) show persistent cognitive symptoms (attention and memory) after the acute post-injury phase. Although studies have shown that those patients perform normally on neuropsychological tests, cognitive symptoms often compromise patients' return to pre-injury activities. The purpose of this study was to develop more precise markers for the diagnosis of post-mTBI deficits in attentional functions. We have designed a new task that allows us to track the processes involved in the deployment of visual spatial attention via different electrophysiological components (P3a, P3b, N2pc, and SPCN).

A group of 15 mTBI patients was tested twice: 1-3 months post-trauma (acute phase), and 6 months post-trauma (expected post-recovery period). Their data was compared to that of 15 normal controls paired for age, gender, education.

Relative to controls, results indicated that patients in the acute phase showed a significant decrease in the amplitudes of the SPCN and P3b despite normal neuropsychological results. Decreased amplitudes for the N2pc and P3a in these patients were also obtained. There was an increase over time in the amplitudes of all components in mTBI patients, suggesting that recovery processes were present 6 months post-injury. However, components related to higher-level attentional processing remained affected, and were related to symptomatology.

These results highlight different levels of functional damage in a group of mTBI patients still in recovery. Hence, while visual attention is compromised mainly in the early post-mTBI stage, the ability to orient attention and process information remains impaired.

## LIAISON PREFERENTIELLE ET ORIENTATION DE LA RECOVERINE A DES MONOCOUCHE DE PHOSPHOLIPIDES

**Philippe Calvez, Julie Boucher, Philippe Desmeules et Christian Salesse**

Unité de recherche en ophtalmologie, Centre de recherche du CHUQ, Pavillon CHUL, Département d'ophtalmologie, Faculté de médecine, Université Laval.

**CONTEXTE ET OBJECTIFS :** La recoverine est une protéine de 201 acides aminés appartenant à la famille des neuroprotéines sensibles au calcium. La liaison membranaire de la recoverine par le mécanisme du « calcium myristoyl switch » est responsable de la régulation de la phosphorylation du pigment visuel des photorécepteurs, la rhodopsine. Nous avons précédemment démontré que la présence de son groupement myristoyl augmente fortement la cinétique d'adsorption de la recoverine à une monocouche de dimyristoyl phosphatidylcholine.

**METHODE :** La recoverine myristoylée a été injectée dans la sous-phase de différentes monocouches de phospholipides représentatifs de la membrane des photorécepteurs. La liaison à l'interface a été mesurée par les variations de pression. Parallèlement, nous avons également déterminé l'orientation de la recoverine myristoylée et non myristoylée en monocouche par spectroscopie infrarouge de réflexion-absorption par modulation de polarisation (PM-IRRAS).

**RESULTATS ET CONCLUSIONS :** Ces travaux ont permis de déterminer des interactions préférentielles entre la recoverine et la phosphatidylsérine. Les résultats ont également mis en évidence que l'insaturation des chaînes grasses des phospholipides favorisait la liaison membranaire de la recoverine myristoylée. En effet, nos résultats montrent que la recoverine myristoylée s'adsorbe préférentiellement à une monocouche de didocosahexaénoyl phosphatidylsérine jusqu'à une pression de surface de l'ordre de la pression latérale présumée des membranes biologiques, ce qui indique une très forte interaction entre ces deux molécules. D'un autre côté, les résultats en PM-IRRAS ont montré, pour les protéines myristoylées et non-myristoylées, une bande amide I centrée à  $1655\text{ cm}^{-1}$ , ce qui indique une forte contribution des hélices  $\alpha$  dans la structure de la protéine. Cependant, dans le cas de la recoverine non-myristoylée, l'intensité de cette bande décroît après un certain temps, suggérant alors sa dénaturation, ce qui n'est pas observé dans le cas de la recoverine myristoylée. La myristoylation semble donc être une modification post-traductionnelle nécessaire au maintien de l'intégrité de la recoverine lors de son adsorption à la membrane.

## **Modifier genes altering glaucoma severity in huge autosomal dominant kindreds**

Pascal Belleau<sup>1</sup>, Stéphane Dubois<sup>1</sup>, Karine Lebel<sup>1</sup>, Rose Arseneault<sup>1</sup>, Jean-Louis Anctil<sup>2</sup>, Éric Shink<sup>1</sup>, Gilles Côte<sup>2</sup>, Marcel Amyot<sup>3</sup>, Michael A. Walter<sup>4</sup>, Ordan Lehmann<sup>5</sup>, Vincent Raymond<sup>1,2</sup>.

<sup>1</sup>Laboratory of Molecular Genetics of Sensory Systems (formerly Ocular Genetics & Genomics), CHUL (Université Laval Hospital) Research Center, Québec City, QC, Canada; <sup>2</sup>Ophthalmology, Université Laval, Québec City, QC, Canada; <sup>3</sup>Ophthalmology, Université de Montréal, Montréal, QC, Canada.; <sup>4</sup>Genetics and; <sup>5</sup>Ophthalmology, University of Alberta, Edmonton, AB, Canada

**Purpose:** Open angle glaucoma (OAG), a major cause of blindness worldwide, is characterized by optic nerve degeneration and visual field impairments. Although the disorder is primarily considered a complex genetic disease, the study of families segregating the trait in mendelian fashions have lead to major findings related to both forms. We investigated two (2) huge autosomal dominant French-Canadian glaucoma pedigrees in which the deleterious genes were associated with very wide variabilities in the expression of the disease trait. To assess if modifier genes were altering phenotypic expressivity of the primary disease-genes in these two families, we designed a novel approach to test for clusters for age-at-onset (AAO) of the disorder.

**Subjects and Design:** A total of 152 heterozygotes carrying the myocilin (MYOC) K423E mutation were studied in the CA family. 104 of them were OAG or suspects (+ OHT) with treatment, 11 untreated suspects and 37 asymptomatics with 4 of them > 50 years old. In the BV kindred, out of 41 *FOXC1* duplication carriers, 30 were OAG or suspects with a treatment, 2 suspects untreated while 2 had Axenfeld-Rieger anomaly. Other BV carriers were asymptomatics. Age-at-onset was defined as age at which ocular hypertension (OHT, a risk factor often appearing before other symptoms), or OAG was first detected. The median for age-at-onset was calculated for the neighborhood of each heterozygotes. This neighborhood was defined as members of the family harboring the mutation who were first degree cousins or closer than this first degree cousin (kinship coefficient  $\geq 0.0625$ ).

**Results:** Disease phenotypes ranged from OHT to juvenile open-angle glaucoma in children and primary open-angle glaucoma in old-aged individuals. Ages at onset ranged from 7 to 63 years old in the CA family and, from 5 to 75 years old in the BV kindred. In the CA family, we detected 7 distinct clusters relative to extreme age-at-onset. Three of these clusters encompassed branches of the pedigree in which the median for age-at-onset calculated for the neighborhood of each one of the heterozygotes was younger than 26 years old (NM: neighborhood's AAO median). These three clusters contained 35 MYOC K423E heterozygotes. In the other 4 clusters (56 heterozygotes), at least half of the heterozygotes showed a median for age-at-onset (NM)  $\geq 34$  years of age. In only 3% of the 10000 simulations, the number of individuals in the 26-33 category was equal to or smaller than the number observed in our family. Five distinct clusters for AAO were detected in the BV pedigree. Three clusters (17 *FOXC1* duplication carriers) had NM  $\geq 39$  years whereas the other 2 clusters (16 carriers) demonstrated a NM  $\leq 25$  years. Within the BV family, ages at onset displayed a tendency to decrease in younger generations. In

only 4.7% of the 10000 simulations, the number of individuals in the 26-38 category was equal to or smaller than the number of those observed in our family.

**Conclusions:** Our clustering approach strongly suggests that variability of age at onset in the CA pedigree was caused by a genetic component, supporting the presence of at least one modifier gene. The wide variation of ages at onset in the BV kindred may be accounted for by a modifier gene and/or by anticipation within the *FOXC1* duplicated region. Our observations strongly support the notion that modifier genes alter the severity of glaucoma when caused by a primary disease-gene.

Funding provided by: Réseau Vision du FRSQ, Fondations des Maladies de L'Oeil, IRSC, The Glaucoma Foundation USA

## **Modélisation de la fonction de réflectométrie pour les vaisseaux sanguins de l'oeil**

Valentina Vucea et Vasile Diaconu  
École d'optométrie / Institut de génie biomédical  
Université de Montréal

**Introduction.** La spectroréflectométrie de l'œil fait partie des techniques non invasives qui permettent de mesurer la concentration d'oxygène du sang contenue dans les structures internes de l'œil. Le plus récent développement (Diaconu 2009) démontre que la fonction de réflectométrie sur les structures des micro-capillaires du nerf optique peut être expliquée par un modèle mathématique, exprimé par une combinaison linéaire de plusieurs termes, représentant les signatures spectrales de l'hémoglobine, de l'oxyhémoglobine et des médias oculaires. Étant donné que les structures de la rétine sont très hétérogènes, des modèles spécifiques sont nécessaires pour résoudre la fonction de réflectométrie de chaque zone rétinienne. L'étude actuelle propose de développer un modèle mathématique pour expliquer la fonction de réflectométrie sur des structures de l'œil comme les veines et les artères.

**Modèle :** Une étude préliminaire a démontré que la fonction de réflectivité spectrale sur les parois des artères et des veines est différente de celui du réflecteur standard utilisé présentement pour caractériser le spectre de la lumière de référence rétinienne. Pour résoudre ce problème nous avons ajouté une fonction multi-gaussienne à l'équation mathématique qui explique l'absorption de la lumière sur les artères et les veines de l'œil.

**Méthode :** L'absorption de la lumière sur des artères et des veines dans la région du nerf optique de 6 sujets sains a été mesurée par la technique multi-canal (800 longueurs d'ondes), ce qui se traduit mathématiquement par la résolution d'un système d'équations surdéterminé. Pour augmenter la fiabilité des résultats, le modèle mathématique a été appliqué seulement à une partie de la fonction spectrale de la réflectométrie, pendant que les résultats du modèle ont été employés pour expliquer l'autre partie de la fonction de réflectométrie.

**Résultats :** La fonction multi-gaussienne a permis de résoudre la différence existante entre l'absorption de la lumière sur les parois des veines et des artères, et celui du réflecteur standard utilisé comme référence. Les valeurs d'oxygénation sanguine, calculées pour les artères (65%, 61% 56%,) ne correspondent pas aux valeurs d'oxygénation du sang du système, estimées par oxymétrie de pouls à 95%.

**Conclusion :** En utilisant une fonction multi-gaussienne, il sera possible de dériver les composantes spectrales du sang contenu dans les couches externes de la paroi des artères et des veines de l'œil.

**Impacts of environmental contaminants exposure on visual brain development: a visual evoked potentials prospective study.**

**A.A. Ethier , J.L. Jacobson, S.W. Jacobson, C. Jacques, E. Dewailly, P. Ayotte, C.H. Bastien, G. Muckle et D. Saint-Amour**

**PURPOSE :** Since fish and marine mammal represent an important part of the diet of Inuit in Northern Quebec, elevated levels of mercury (Hg), lead (Ld) and polychlorinated biphenyls (PCBs) have been reported in adults and newborns. The purpose of the study is to evaluate the impact of environmental contaminants exposure on visual information processing in Inuit children of 11 years old, using visual evoked potentials.

**METHODS:** A group of 148 children was recruited in Nunavik from a longitudinal study, from which we have the prenatal levels of contaminants exposure. Recording of evoked potentials constitutes a powerful tool for assessing disruption of the early brain processing of visual information and is a highly sensitive assessment of neurotoxicity that could reveal subtle brain dysfunctions. Pattern-reversal VEPs were recorded from Oz derivation. Visual stimulation consisted of vertical gratings (2.5 cycles/°) presented at 4 contrast levels (95%, 30%, 12%, 4%). Blood concentrations of Hg, Ld and PCB were measured at birth and at the time of testing. The relationships between contaminants and VEP components were assessed by multivariate regression analyses taking into account fish-consumption nutrients (selenium and n-3 fatty acids) and others covariables.

**RESULTS:** After adjustment for the covariables, no relation was found for the latency. But, results show an important association, with significant betas at  $p < .05$ , between contaminants and the amplitude of the N75 component. Mercury level of exposure measured at birth appears significantly associated ( $B = 0.211$ ,  $p = 0.014$ ) with the N75 amplitude when using the stimulation with 95% of contrast. Lead level measured during the last evaluation appears also associated with the N75 amplitude, but at 4% of contrast ( $B = 0.203$ ,  $p = 0.035$ ).

**CONCLUSION:** Mercury and lead seem to be the most neurotoxic contaminants for children development and are associated with a diminution of N75 amplitude.

# **An Integral Study of the Vascular Model of AMD: A Novel Technique to Assess the Scleral Rigidity and its Implication in the Pathway**

Hady Saheb, Olivier Fontaine, Alice Zhang, Mark Lesk, Elvire Vaucher, John Chen

## **Purpose:**

Age-Related Macular Degeneration (AMD) is the most common cause of blindness in the developed world. Despite the multitude of studies on AMD, the etiology of this irreversible disease remains unclear. Friedman proposes a vascular model postulating that accumulation of lipid in the sclera and Bruch's membrane gradually increases the stiffness of these tissues. This additional stiffness leads to increased resistance to choroidal outflow, given its location between the non-compliant sclera and the non-compressible contents of the globe. This resistance brings about both a decrease in choroidal blood flow and an elevated hydrostatic pressure, yielding leakage and deposition of lipid and extracellular proteins, preferentially in the macular area. These deposits take the form of basal laminar deposits and drusen, thus disturbing the permeability of Bruch's membrane. Combined with a decrease in choroidal blood flow, the integrity of the Retinal Pigment Epithelium (RPE) and the outer retina becomes impaired. This vascular model proposes deposition of lipid related to aging and atherosclerosis as underlying causes of the scleral and Bruch's membrane stiffness, responsible for the appearance of AMD.

The primary objective of this study is to compare three methods of CSR measurement. The secondary objective is to determine if a relationship exists between atherosclerosis, ocular rigidity, choroidal blood flow, AMD and its level of severity. Other research questions are to determine if ocular rigidity is associated with age, short axial length, corneal pachymetry, hypertension, body mass index (BMI) and smoking history.

## **Methods:**

Our study design consists of a prospective comparative case series of patients with AMD and controls undergoing intraocular surgery, recruited at the Royal Victoria Hospital Eye Clinic and the Montreal Retina Institute. Comparative measurement of ocular rigidity will be performed with three different devices.

- The first measurement device is a direct manometric measurement initially used by Pallikaris. Using an anterior chamber incision, a pressure transducer detects the changes in pressure associated with injection of standardized volumes of sterile saline, until a maximal level of 35 mmHg at which point the injection is automatically stopped.
- The second measurement device is the conventional technique used by Friedman. Tonometry is performed with Goldman applanation and Schiottz tonometers in sitting and supine positions, respectively. The CSR is estimated using the Friedenwald monogram by graphically plotting the applanation intraocular pressure and the Schiottz scale reading.

- The third measurement uses a novel technique developed at the Maisonneuve-Rosemont Hospital. This technique is based on the Pascal dynamic contour tonometer (DCT) and the Laser Doppler Flowmeter (LDF). The former is designed to measure IOP and Ocular Pulse Amplitude (OPA) independently of corneal properties, unlike Goldman applanation tonometry.

Comparisons among the three testing techniques of ocular rigidity will be evaluated using Bland-Altman plots. Calculation of the limits of agreement will indicate whether differences between the measures are clinically significant.

**Results:**

In an initial stage of our study, we performed measurements on euthanized rabbit and dog eyes using the direct manometric measurement. Each of the rabbit measurements demonstrated a reproducible biphasic curve of pressure over volume. As volume increased at a constant rate, pressure had a corresponding increase until a plateau followed by a similar increase. The mean pressure of the plateau of the pressure curve is ~30 mmHg. This biphasic curve was not seen in dog eyes, instead, a linear pressure-volume relationship was found.

**Conclusions:**

The direct manometric measurement gives a reproducible biphasic curve in euthanized rabbit eyes and a linear relationship in dog eyes. In the next phase of the study, living animal eyes will be tested before proceeding to measurements in human eyes.

## **Syndrome de Charles Bonnet et hallucinations liées aux déficiences sensorielles : le vécu des personnes comme base d'un questionnaire**

*M-C. Wanet-Defalque<sup>1, 2</sup>, O. Overbury<sup>1</sup>, Franco Lepore<sup>3</sup>, Louis Machabée, Catherine Bergeron*

<sup>1</sup> Université de Montréal, École d'optométrie, <sup>2</sup>Institut Nazareth et Louis Braille,

<sup>3</sup>Université de Montréal – Département de Psychologie

**Problématique et objectifs** Le syndrome de Charles Bonnet se manifeste par des hallucinations visuelles et est associé à la déficience visuelle, en l'absence de problèmes psychiatriques. Des perceptions hallucinatoires peuvent aussi se développer suite à une déficience auditive ou à une surdicécité. Cependant, en raison du stigma associé, les personnes affectées hésitent à en parler et la reconnaissance du syndrome par les professionnels de la santé visuelle et de la réadaptation reste parcellaire. Les patients ne sont donc pas soutenus face à ce vécu difficile. L'objectif du projet est de développer un questionnaire permettant de faciliter ce dépistage.

**Méthode** Durant la première partie de l'étude, des entrevues sont réalisées auprès de personnes vivant le phénomène et présentant une déficience visuelle, auditive ou la combinaison des deux. Une analyse qualitative permet de dégager les thèmes les plus fréquemment abordés et ceux-ci sont à la base de l'élaboration d'une version préliminaire du questionnaire. La deuxième partie du projet consiste à tester ce questionnaire auprès des trois groupes cliniques ciblés, afin de le valider.

**Résultats** Quatorze entrevues ont été menées jusqu'ici et une analyse qualitative du contenu a été réalisée. Des questions relatives à chaque thème ont été générées.

**Perspectives** Une fois la phase de validation complétée, le questionnaire pourra être utilisé afin d'étudier la prévalence des hallucinations dans différentes pathologies menant à une déficience sensorielle. L'instrument devrait aussi permettre aux intervenants des centres de réadaptation de dépister parmi la clientèle les personnes qui ont des hallucinations et de développer des interventions appropriées.

Sera présenté par *M-C. Wanet-Defalque* PhD, chercheure

Recherche clinique

Présentation orale préférée

**An agonistic anti-TrkB mAb, but not BDNF, protects retinal structure and delays RGC death in optic nerve axotomy and in experimental glaucoma: an FD-OCT study.**

Yujing Bai, Jing Xu, Yehong Zhuo, Marinko V. Sarunic, H. Uri Saragovi

Brain derived neurotrophic factor (BDNF) receptors, TrkB and p75<sup>NTR</sup>, are expressed in the retina. However, exogenous BDNF does not provide retinal ganglion cells (RGCs) with robust neuroprotection during optic nerve axotomy or glaucoma rat models of neurodegeneration *in vivo*. In contrast, a selective TrkB agonist affords long-lived TrkB activation, reduced RGC death, and preservation of the structure of the retina in both animal models, determined using quantitative Optical Coherence Tomography (OCT) in both models.

## Visual Field Loss in Retinitis Pigmentosa as a Function of Genetic Transmission Pattern: Preliminary Results

O. Overbury<sup>1,2</sup>, R. Koenekoop<sup>2</sup> & M.C. Wanet-Defalque<sup>1,3</sup>

<sup>1</sup>Ecole d'Optométrie, Université de Montréal, Montreal, QC, Canada;

<sup>2</sup>Department of Ophthalmology, McGill University, Montreal, QC, Canada;

<sup>3</sup>Institut-Nazareth et Louis Braille, Longueuil, QC, Canada

**Purpose:** Retinitis Pigmentosa (RP) is a set of hereditary diseases involving the gradual degeneration of the rod and cone photoreceptors. Inheritance of RP can be autosomal-dominant (30-40%), autosomal-recessive (50-60%), or X-linked trait (5-15%). The progression of the disease is typically measured by visual field loss. Most research in RP focuses on its genetic and biological aspects, and although some interest is now being focused on the natural progression of the disease, there is little information regarding visual field loss in respect to RP genetic subtypes.

**Method:** Preliminary, retrospective data were collected for 15 individuals with RP from the patient files of the Institut Nazareth et Louis-Braille (INLB) and the McGill Ocular Genetics Centre (MOGC) at the Montreal Children's Hospital. Three visual fields (Goldmann perimeter at III<sub>4e</sub>) for both eyes of each individual were scanned into Adobe Professional and measured (mm<sup>2</sup>) using the measure tool. Genetic subtypes were determined by file information from the MOGC.

**Results:** Although visual field area (mm<sup>2</sup>) decreased in size significantly from Time 1 to Time 3, no significant difference was found between genetic subtypes of RP. This is most likely due to a small sample size and may change with more data as a visible difference is seen between the field areas of X-linked RP and autosomal-recessive and autosomal-dominant RP.

**Conclusion:** Further data need to be collected in order to conduct an adequate analysis and produce more conclusive results. The significant decrease in field size is to be expected considering the nature of the disease, regardless of genetic subtype.

## Nature polygénique du glaucome:

### Des gènes qui causent la maladie, en accroissent le risque ou en modifient la sévérité.

Vincent Raymond<sup>1,2,5</sup>, Pascal Belleau<sup>1</sup>, Stéphane Dubois<sup>1</sup>, Karine Lebel<sup>1</sup>, Rose Arseneault<sup>1,5</sup>, Jean-Louis Anctil<sup>3,5</sup>, Annie Duchesne<sup>1</sup>, Éric Shink<sup>1</sup>, Marc-André Rodrigue<sup>2</sup>, Mathieu Faucher<sup>1</sup>, Gilles Côté<sup>3,5</sup>, Marcel Amyot<sup>4,5</sup>, Pierre Blondeau<sup>8</sup>, Michael A. Walter<sup>6</sup>, Mark Lesk<sup>4,5</sup>, Ordan Lehmann<sup>7</sup>, Réseau Glaucome Québec<sup>5</sup> pour la Banque de données cliniques et génétiques des maladies héréditaires de l'œil du Québec supportée par le Réseau Vision du FRSQ.

<sup>1</sup> Laboratoire de génétique moléculaire des systèmes sensoriels (préalablement : Génétique et génomique oculaires), et <sup>2</sup> Plateforme de séquençage et génotypage des génomes, Centre de recherche du CHUL/CHUQ, Université Laval; <sup>3</sup> Départements d'ophtalmologie, CHA Hôpital du St-Sacrement et Université Laval; <sup>4</sup> Département d'ophtalmologie, Université de Montréal; <sup>5</sup> 167 ophtalmologistes et optométristes du Québec et du Nouveau-Brunswick; Departments of <sup>6</sup> Genetics and of <sup>7</sup> Ophthalmology, University of Alberta, Edmonton, Canada; <sup>8</sup> Département d'ophtalmologie, Université de Sherbrooke.

Le glaucome est caractérisé par la mort des cellules ganglionnaires de la rétine, ce qui provoque une dégénérescence du nerf optique et une cécité progressive. Sa forme la plus fréquente est le glaucome primaire à angle ouvert (GPAO) qui touche 2% des plus de 40 ans, soit 80,000 personnes au Québec. Le GPAO est une maladie polygénique, qui ségrégue parfois selon un mode autosomique dominant. Quatorze (14) loci, *GLC1A* à *N*, ont été cartographiés pour le GPAO, et 3 gènes identifiés: *myociline* (*MYOC*), *optineurine* et *WDR36*. Pour déterminer le rôle de ces gènes, nous avons investigué plus de 300 patients GPAO non-apparentés et 54 familles atteintes de glaucome dans la population canadienne-française. Nos recherches indiquent que 8 variations *myociline* sont des mutations causales responsables de glaucome chez 4 % des patients non-apparentés et chez 23 % des cas familiaux. Ces mutations sont aussi responsables de glaucome juvénile. Six (6) de ces 8 mutations *myociline* démontrent un effet fondateur important. Nos travaux indiquent également que les mutations *optineurine* sont très rares au Québec alors que celles du gène *WDR36* auraient un double rôle. En effet, les variations du gène *WDR36* peuvent être considérées soit comme des facteurs de risque pour la maladie ou soit comme des modificateurs de la sévérité du glaucome. Ainsi, après avoir séquencé *WDR36* chez 307 patients non-apparentés, 12 changements d'acides aminés non-synonymes furent détectés chez 17% des GPAO. Ces variations se retrouvaient toutefois chez 7% nos contrôles et, seule la variation *WDR36*<sup>L25P</sup> était significative comme mutation causale dans une méta-analyse des données actuelles. D'autre part, 18 malades GPAO portaient à la fois la mutation *myociline* K423E et une variation *WDR36*. La majorité (16) de ces doubles mutants (dénommés aussi *MYOC*<sup>K423E</sup> + *WDR36*<sup>mutant</sup>) développèrent le glaucome de 1 à 16 ans plus jeunes que les simples mutants porteurs uniquement de la mutation *MYOC*<sup>K423E</sup> (voir Belleau *et al.*, ce congrès). De façon inattendue, 4 doubles mutants *MYOC*<sup>K423E</sup> + *WDR36*<sup>D658G</sup> développèrent le glaucome 10 à 16 ans plus jeunes que la médiane de l'âge d'apparition du GPAO chez les simples mutants *MYOC*<sup>K423E</sup> de leur voisinage. Enfin, les porteurs d'une duplication du gène pour le facteur de transcription *FOXC1* démontrèrent une très grande variabilité de l'âge d'apparition d'un type de glaucome semblable au glaucome développemental ce qui suggère qu'un second gène modificateur altérerait la sévérité du glaucome chez les porteurs *FOXC1* dupliqués. Nos recherches démontrent donc que les mutations *MYOC* et *FOXC1* causent le glaucome. De plus, selon le contexte génétique, le gène *WDR36* muté peut être considéré soit comme un facteur de risque pour le glaucome ou comme un gène modificateur qui augmente la sévérité de la maladie chez les porteurs de mutations du gène *myociline*.

**RÉSUMÉS**

**PRÉSENTATIONS PAR AFFICHES**

## **Health Problems, Vision and Wait Time in adults expecting a Corneal Transplant**

### **– A Pilot Study –**

*Hélène Boisjoly MD MPH, Ellen Freeman PhD, Fawzia Djafari MD MSc, Mihaela Popescu MD, Michèle Mabon MD, Johanna Choremis, Jean Lachaine PhD, Marie-Josée Aubin MD MSc, Jacques Gresset OD PhD, Isabelle Brunette MD*

**Background:** The governments of Canada have made efforts to reduce wait time for cataract surgery. However, wait time is a problem for other eye surgeries including corneal transplantation. Our goal was to conduct a study to compare wait time, vision and health problems in adults expecting a corneal transplant (PK and DSAEK techniques) to patients waiting for cataract surgery and to adults with good vision.

**Methods:** The study design is a cross-sectional (population = patients on surgery waiting list dated January 31 2009), single institution (HMR), case-control study (controls were frequency matched to cases for age and gender) with a sample size estimated at 25 per study group (100 total). Four groups of consecutive consenting adults 50 years and over either waiting for a corneal transplant/DSAEK (Group 1), a corneal transplant/PK (Group 2), a cataract surgery (Group 3), or no ocular surgery scheduled and best eye VA of 20/40 or better (Group 4) were enrolled. Patients were allocated to the DSAEK or PK group according to the intended planned surgery at the time of patient evaluation which was performed between Feb 1 and April 30, 2009. Date of entry onto the hospital waiting list and date of evaluation were recorded. Patients were asked about problems with vision, and about satisfaction with vision and wait time. Presenting and pinhole-corrected visual acuity was measured in each eye. Patients also completed interviewer-administered visual function and quality of life questionnaires: 5-item Symptom Scale, Visual Function-14, general health SF-36, EQ-5D, Geriatric Depression Scale and the 14-item Systemic Co morbidity Scale.

**Results:** The average age of all participants was  $73 \pm 8$  years and 2/3 of participants in each group were female. The most frequent primary diagnosis for DSAEK waiting patients was Fuchs dystrophy (76%) followed by bullous keratopathy (24%) whereas for PK it was bullous keratopathy (48%) followed by failed PK (19%). The average wait time was significantly longer for transplantation surgeries:  $20 \pm 15$  months for DSAEK,  $20 \pm 16$  months for PK, compared to  $4 \pm 3$  months for cataract surgery ( $P < 0.001$ ). Transplantation patients felt their wait time should have been much shorter than it was, i.e. an average of 8 months. Whereas 54% of DSAEK patients and 66 % of PK patients found their wait time not acceptable, only 16% of cataract patients did ( $P < 0.001$ ). Both DSAEK and PK patients had significantly worse pre operative visual acuity in the surgical eye and in their better seeing eye, more problems with vision, less satisfaction with vision, more visual symptoms, and lower VF-14 scores than cataract patients and non surgical controls ( $P < 0.05$ ). There were no statistically significant differences between overall SF-36, comorbidity, and depression scores between the groups.

**Interpretation:** A health management program to reduce corneal transplantation surgery wait time is needed as vision loss can have a debilitating impact on functional autonomy, particularly when lost at an older age.

Supported by the Fonds de Recherche en Ophtalmologie de l'Université de Montréal (FROUM) and Réseau FRSQ en Santé de la Vision

## **Evolution of the 3D shape of the human cornea with age: Preliminary results**

Anahid Aminian, MD<sup>1,2</sup>, Denis Sherknies, PhD<sup>3</sup>, Jean Meunier, PhD<sup>4,2</sup>, Isabelle Brunette, MD, FRCSC<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup> Maisonneuve-Rosemont Hospital Research Center, Montreal, QC, Canada

<sup>2</sup> Department of Ophthalmology, University of Montreal, Montreal, QC, Canada

<sup>3</sup> Micro-Vecteur, L'Assomption, QC, Canada

<sup>4</sup> Department of Computer Science and Operations Research, University of Montreal, Montreal, QC, Canada

Purpose: To characterize the evolution of the 3D shape of the human cornea as a function of age using a population based atlas methodology.

Methods: This study was conducted on 3766 eyes of 3766 normal subjects, including 1746 females and 1989 males, were enrolled from 2000 to 2008 according to the following criteria: older than 20 years, no history of ocular disease or surgery, normal slit lamp exam, corrected visual acuity better than 6/12, intraocular pressure less than 21 mmHg, refractive error of  $\pm 4.00$  diopters and stable for the last 5 years, and no contact lens wear. Orbscan II (Bausch and Lomb, Rochester, New York, USA) corneal topography was performed on all eyes. The participants were divided in 10 year interval-age groups. Differences between groups were computed from average maps based on mean anterior elevation, posterior elevation, and pachymetry. Anterior chamber parameters and keratometric values were also quantified. The 20 to 30 years group was used as the reference.

Preliminary results: The anterior surface maps showed a mild but statistically significant elevation of the central cornea with age, with an increase in the “against the rule” pattern. The center of the posterior surface also showed a statistically significant uniform flattening as a function of age. The central pachymetry increased progressively. A mean decrease in total astigmatism of 0.026 Diopters per decade was documented.

Discussion: This is the first time the atlas methodology is used to study the evolution of the 3D shape of the human cornea as a function of age. Interestingly, these changes are suggestive of the very early changes observed in Fuchs endothelial dystrophy which results from corneal cell progressive decompensation.

Conclusion: These very first results showed mild changes consisting in flattening of both anterior and posterior surfaces accompanied by mild and progressive increase in central corneal thickness.

## **Localisation du système des endocannabinoïdes dans la rétine du singe Vert de St-Kitts (*Chlorocebus sabaesus*): vision centrale VS périphérique**

Joseph M Bouskila, Mark W Burke, Shahin Zangenehpour, Jean-François Bouchard & Maurice Ptito

École d'optométrie, Université de Montréal, Montréal, QC, Canada

Les causes de la déficience rétinienne peuvent être d'origines congénitales, post-traumatiques, dégénératives ou secondaires à d'autres pathologies. Le système des endocannabinoïdes, les récepteurs et leurs ligands, est impliqué dans les processus de neuromodulation, tels que la nociception, la mémoire ainsi que le contrôle du mouvement et la régulation endocrinienne. De récentes études ont démontré que le système des endocannabinoïdes (eCBs) est impliqué dans les processus développementaux. Dans notre laboratoire, nous avons montré que ce système est important pour le développement de la rétine du rongeur. Dans cette étude, nous avons utilisé des méthodes d'immunohistochimie pour localiser le CB1R, le récepteur aux cannabinoïdes de type 2 (CB2R), la "fatty acid amide hydrolase" (FAAH; une enzyme de dégradation des eCBs) ainsi que la N-acyl phosphatidyléthanolamine phospholipase D (NAPE-PLD; une enzyme synthétisant l'anandamide, un ligand du CB1R) à travers la rétine du primate. Ainsi, nous montrons la présence de ce système tant au centre qu'en périphérie de la rétine. De plus, le niveau d'expression du CB1R est plus faible au centre de la rétine qu'en périphérie pour toutes les couches rétinienne sauf pour la couche des cellules ganglionnaires (GCL). L'expression de NAPE-PLD diminue des couches externes vers les couches internes en rétine centrale. La FAAH et le récepteur CB2 ne montrent pas d'expression différentielle à travers les couches en rétine centrale. Ces données suggèrent que le système des eCBs peut jouer un rôle dans la régulation de plusieurs effets physiologiques tels que le délai dans le rétablissement après un éblouissement et la réduction d'acuité de Vernier et Snellen.

## ACTIVITÉ ET LIAISON MEMBRANAIRE DE LA RÉTINOL DÉHYDROGÉNASE-11 ET DE SES DÉLÉTANTS

Marie Lou Audet<sup>1</sup>, Mario Méthot<sup>1</sup>, Olga Beliaeva<sup>2</sup>, Natalia Kedishvili<sup>2</sup> et Christian Salesses<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Unité de recherche en ophtalmologie, Centre de recherche CHUL, Département d'ophtalmologie, Faculté de médecine, Université Laval; <sup>2</sup>Dept. Biochemistry and Molecular Genetics, University of Alabama at Birmingham, USA.

**CONTEXTE ET OBJECTIFS :** Suite à l'absorption de la lumière, le chromophore de la rhodopsine, le 11-*cis* rétinol, subit une isomérisation en tout-*trans* rétinol et une réduction en tout-*trans* rétinol. Ce dernier composé doit ensuite être isomérisé en 11-*cis* rétinol puis oxydé en 11-*cis* rétinol afin de régénérer la rhodopsine. Les rétinols déhydrogénases (RDH) sont des enzymes effectuant cette interconversion entre les formes rétinol et rétinol. À ce jour, on connaît encore peu de choses sur ces enzymes. On sait cependant que des mutations de la RDH5 et de la RDH12 sont associées, respectivement, à la maladie récessive rare *fundus albipunctatus* et à l'amaurose congénitale de Leber. L'objectif de ces travaux consiste à surexprimer, purifier, mesurer l'interaction membranaire et déterminer la structure de la RDH11.

**MÉTHODES :** La RDH11 ainsi qu'un délétant des 26 premiers acides aminés en N-terminal (N-del RDH11) ont été clonés dans le vecteur pET28a et surexprimées chez *E.coli*, purifiées par chromatographie d'affinité, puis concentrées par ultrafiltration. L'activité de la N-del RDH11 a été mesurée en présence de son substrat, le tout-*trans* rétinol; la réaction fut initiée par l'ajout de son cofacteur, le NADPH. Les produits de la réaction ont été analysés par HPLC. Des mesures de liaison membranaire ont été effectuées en injectant la RDH11, la N-del RDH11 ou le peptide en N-terminal dans la sous-phase d'une monocouche de phospholipides à l'interface air-eau. Leur structure secondaire et leur orientation ont été déterminées par spectroscopie infrarouge.

**RÉSULTATS ET CONCLUSIONS :** Les résultats obtenus en HPLC démontrent une activité très élevée de la N-del RDH-11. La cinétique de liaison membranaire en monocouche varie comme suit : peptide en N-terminal > RDH11 > N-del RDH11, ce qui est cohérent avec leur structure. De plus, des mesures de spectroscopie infrarouge ont permis de confirmer la structure en hélice alpha du peptide en N-terminal et de déterminer son orientation, ainsi que de comparer la structure et l'orientation de la RDH11 et de la N-del RDH11.

## Novel mutations in the *ABCA4* gene in French-Canadian patients affected by Stargardt disease

Marie-Krystel Gauthier<sup>1</sup>, Elie Deilhaes<sup>1</sup>, Stéphane Dubois<sup>1</sup>, Pascal Belleau<sup>1</sup>, Rose Arseneault<sup>1</sup>, Marc-André Rodrigue<sup>1</sup>, Mario Malenfant<sup>2</sup>, Yvon Tardif<sup>2</sup> & Vincent Raymond<sup>1,2</sup>.

<sup>1</sup>Laboratory of Molecular Genetics (formerly Ocular Laboratory of Genetics and Genomics), CREMOGH, Laval University Hospital (CHUL) Research Center, Québec City, PQ, Canada.

<sup>2</sup>Department of Ophthalmology, Université Laval, Québec City, PQ, Canada.

**Introduction:** Among the 250 forms of hereditary blindness, 15 are severe monogenic macular dystrophies. The most prevalent is Stargardt disease (STGD), usually beginning between the age of 7 and 12. This autosomal disease can be either recessive (AR) or dominant, and is associated with *ABCA4*, *ELOVL4* or *CNGB3*; *ABCA4* being the gene for AR Stargardt. We initiated a program to determine the prevalence of mutations causing Stargardt disease in the French-Canadian population. Here, we present our first study on 13 Stargardt families.

**Methods :** Ophthalmologic examinations were performed on 22 patients. Six microsatellite markers overlapping *ABCA4* (6,9 Mb) were genotyped to establish disease haplotypes. Mutational screening was performed in the AR kindreds by sequencing all of *ABCA4* 50 exons and splicing junctions. Splicing mutations were predicted using *Automated Splicing Mutations* software and confirmed by RT-PCR.

**Results :** Among the 10 families which showed AR inheritance, 18 subjects were diagnosed with Stargardt. These patients harbored 25 disease haplotypes. Mutational screening of *ABCA4* revealed 12 non-synonymous amino-acid (AA) changes and one splicing mutation. Five of these AA changes, N96H, R537C, L1250P, G1961E and L2027F, have been reported as mutations. Three families, harboring the same disease haplotype, carried G1961E, the most frequent mutation worldwide. The other 5 AA changes, R212H, H423R, R943Q, N1861I and S2255I, have been previously categorized either as disease-causing mutations or as non-disease associated polymorphisms. Interestingly, we found 3 novel mutations. These were the F56S and A1773E AA changes and the intron IVS37-2ΔA deletion. The F56S AA variation causing a major AA change within a mutational hot spot, we considered it as a mutation. The IVS37-2ΔA deletion was also considered a mutation as it caused the complete and/or partial deletion of exon 38, generating a truncated protein. Mutation A1773E is still to be confirmed. Mutations in the 12 remaining disease haplotypes are still to be identified.

**Conclusion :** In conclusion, we report 3 novel *ABCA4* mutations. Our screening also revealed at least 1 *ABCA4* mutation in 10 of our 18 Stargardt patients. In 3 of these patients, both disease-causing alleles were identified, whereas only 1 was observed in 7 patients. Founder mutations have been frequently observed in the French-Canadian population. However, the present study does not support major founder effects in *ABCA4* in our population, probably due to the vast number of exons favoring DNA rearrangements in the gene.

## ACTIVITÉ ENZYMATIQUE ET LIAISON MEMBRANAIRE D'UNE FORME TRONQUÉE DE LA LÉCITHINE RÉTINOL ACYLTRANSFÉRASE

**Sylvain Bussières**, Line Cantin, Jean-Sébastien Laliberté-Gemme, Rock Breton et Christian Salesses

Unité de recherche en ophtalmologie, Centre de recherche du CHUQ, Pavillon CHUL, Département d'ophtalmologie, Faculté de médecine, Université Laval.

**Contexte et objectif :** La lécithine rétinol acyltransférase (LRAT) est une protéine de 230 acides aminés qui est associée aux membranes. Elle possède deux activités catalytiques : elle hydrolyse la chaîne grasse en position *sn*-1 des phospholipides membranaires qu'elle transfère ensuite au rétinol tout-*trans* pour générer des rétinyl esters tout-*trans*. Cette réaction est essentielle dans le cycle visuel des vertébrés. Ces travaux de recherche ont pour objectif de caractériser l'activité enzymatique et d'étudier la liaison membranaire d'une forme tronquée de la LRAT (tLRAT) où les domaines transmembranaires ont été supprimés.

**Méthodes :** La tLRAT s'étend des résidus 31 à 196. Elle a été surexprimée dans *E. coli* et purifiée par chromatographie d'affinité. Son activité enzymatique a été caractérisée en utilisant un phosphatidylcholine à courte chaîne appelé DHPC qui agit à la fois comme substrat et détergent. La liaison membranaire de la tLRAT a été étudiée en injectant la tLRAT dans la sous-phase d'une monocouche lipidique à différentes pressions de surface initiales afin de déterminer sa pression maximale d'insertion (MIP).

**Résultats :** L'activité maximale de la tLRAT est  $\sim 2300$  mol d'ester/min  $\bullet$  mol de protéine. Cette valeur est  $\sim 50\,000$  fois plus élevée que la plus haute valeur d'activité répertoriée jusqu'à maintenant dans la littérature. De plus, une MIP similaire d'environ 38 mN/m a été obtenue pour les lipides dioleoyl phosphatidylcholine, éthanolamine et sérine, ce qui est plus élevé que la pression de surface latérale des membranes.

**Conclusions :** La grande différence entre l'activité enzymatique décrite dans cette étude et les valeurs répertoriées dans la littérature peut s'expliquer par la nature du système choisi. En effet, dans notre étude, l'utilisation d'un détergent à courte chaîne comme le DHPC sert comme premier substrat (l'acide gras) en plus solubiliser le deuxième substrat (le rétinol), ce qui favorise son accès à la tLRAT. Finalement, la forte interaction entre la tLRAT et les monocouches lipidiques suggère que la tLRAT lie les membranes même en absence de ses domaines transmembranaires.

## **Human Perception of Correlated Motion**

Emily R. Lindemer and Erik P. Cook  
Department of Physiology  
McGill University

Vision research has answered many questions regarding our ability to integrate information into a coherent perception of our surroundings. Properties such as color, shape, and motion are specific cues that are integrated when our brain perceives visual images as a whole. It has been shown that synchrony of motion is a powerful cue for binding visual information. We wanted to know how well human subjects could extract synchronous motion of two randomly moving dot patches that exhibited different levels of correlation. We varied the pulse length, speed, and position of the correlated motion over different trials throughout the study. Using statistical methods, we developed an ideal observer model that optimally detected correlated motion in our stimulus for comparison against the human performance. Our results show that human performance approaches the ideal model under conditions of long motion pulse length. These results will help guide the development of future electrophysiological studies.

## Effet du récepteur CB2 aux cannabinoïdes sur le guidage axonal

**Bruno Cecyre**<sup>1</sup>, Gabriel Duff<sup>1,2</sup>, Anteneh Argaw<sup>1,3</sup>, Nicolas Tea<sup>1</sup> et Jean-François Bouchard<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>École d'optométrie, <sup>2</sup>Faculté de pharmacie et <sup>3</sup>Département des sciences biomédicales, Université de Montréal

La développement des projections rétiniennes vers les noyaux visuels du thalamus est régulée par des molécules de guidage qui influencent de manière directe la navigation du cône de croissance. Dans cette étude, nous démontrons que le récepteur aux cannabinoïdes CB2 est exprimé de façon importante au niveau du système rétinothalamique au cours du développement. Le nombre de filopodes et l'aire du cône de croissance sont tous deux régulés par le récepteur CB2 via la voie de signalisation de la protéine kinase A (PKA). De plus, le récepteur DCC (Deleted in Colorectal Cancer), un récepteur pour la nétrine-1, une molécule de guidage impliquée dans le câblage du système nerveux, est requis pour induire les effets morphologiques du récepteur CB2 sur le cône de croissance.

Les agonistes du récepteur CB2 induisent une chimioréulsion du cône de croissance. Inversement les agonistes inverses du récepteur CB2 augmentent la longueur des projections des explants de rétine. Ces effets sont spécifiques au récepteur CB2 puisqu'aucun changement n'a été enregistré chez la souris transgénique dont le gène codant pour le récepteur CB2 a été altéré (CB<sub>2</sub>R<sup>-/-</sup>). Lors d'essais *in vivo*, une simple injection intraoculaire d'AM630, un agoniste inverse du récepteur CB2, a augmenté la longueur des ramifications des projections rétiniennes. Des projections aberrantes ont également été observées chez certains animaux. Par ailleurs, nous avons observé dans le corps genouillé latéral (CGL) des défauts au niveau de la ségrégation des projections rétiniennes. Ces découvertes mettent en évidence le rôle modulateur des endocannabinoïdes et de leur récepteur CB2 au cours de la formation du système rétinothalamique.

## **The influence of expected reward on saccadic reaction time**

**Angela Vavassis, Michael von Grünau & Aaron Johnson**

**Department of Psychology, Concordia University, Montreal, Quebec,  
Canada**

Decision-making has often been studied by asking observers to choose between two movements (e.g., a saccade to a target on the left or right of fixation). Choosing a movement with the highest expected value is adaptive, in that it maximizes reward over time. Saccadic reaction time (SRT) is used as a conventional index of movement preparation in such tasks. In the current study, latencies to initiate a saccade to a red target dot presented to the left or right of fixation were measured. Reward manipulation consisted of varying the magnitude of the reward associated with a correct eye movement to the left or right target as well as the probability of the target appearing to the left or right. Results show that higher expected reward leads to lower saccadic reaction times (SRT) to the target, taken to imply better saccadic preparation, and supporting previous findings by Milstein & Dorris (2007). Results will also be reported from a follow-up experiment in which both magnitude and probability of reward are outcomes of the action (i.e., the saccade).

**Préférence :** Présentation Poster

**Type de recherche :** Clinique

**Niveau d'étude :** Ph.D.

**Laboratoire :** Laboratoire de l'œil de Marc Hébert, Unité de recherche en ophtalmologie, Centre de recherche du CHUL (CHUQ), Québec

---

**Évaluation de l'impact de stimulations lumineuses spécifiques sur la vigilance, la performance et l'activité de l'horloge biologique chez l'humain**

**Charlotte Fontaine<sup>1</sup>**, Marc Hébert<sup>1</sup>, <sup>1</sup>Unité de recherche en ophtalmologie, Centre de recherche du CHUL (CHUQ), Québec

**Contexte et objectifs :** Les travailleurs de nuit sont plus vulnérables aux risques d'accidents car la nuit, l'horloge biologique interne favorise le repos, ce qui résulte en une baisse de vigilance accrue. Or, il est possible de stimuler la vigilance grâce à de la lumière bleue, laquelle est captée au niveau de la rétine via la mélanopsine, un nouveau photorécepteur impliqué dans la transmission du signal lumineux vers l'horloge biologique. Toutefois, en présence permanente de lumière bleue, le photopigment mélanopsine ne peut se régénérer ce qui résulte en une perte d'efficacité pour des expositions de longues durées. En fait, sa régénération n'est possible qu'en présence de lumière rouge. Dans le présent projet, nous voulons évaluer un nouveau mode d'exposition lumineux dans lequel la lumière bleue est pulsée en alternance avec de la lumière rouge à un cycle de 70 fois par seconde (70Hz).

**Méthodes :** Douze hommes (18-35 ans) en bonne santé, non fumeurs seront évalués au cours de trois semaines au cours desquelles ils devront conserver un rythme de veille/repos régulier, et se présenter quatre fois au laboratoire, de 19 heures à minuit. À chaque visite, ils seront soumis à l'une des conditions d'exposition lumineuse suivante pendant 120 min entre 21h00 et 23h00: a) lumière bleue pulsée en alternance avec de la lumière rouge (70 Hz), b) lumière bleue pulsée, c) lumière bleue en continue. Une condition additionnelle sans condition lumineuse permettra d'évaluer le niveau de base du participant. Lors de ces visites, des mesures de vigilance subjective (aux 30 min), température orale (aux 15 min), la mélatonine salivaire (aux 30 min), l'électrocardiogramme (en continu) et temps de réaction (20h30, 23h00 et minuit) permettront d'établir les effets biologiques des différentes conditions lumineuses.

**Résultats attendus:** Nous émettons l'hypothèse que la lumière bleue pulsée en alternance avec la lumière rouge engendrera une plus grande suppression de la mélatonine, une élévation de la température, du rythme cardiaque, de la vigilance de même que de meilleurs temps de réaction synonyme d'une meilleure performance. Des ANOVAS à mesures répétées permettront d'établir si les conditions sont significativement différentes entre-elles pour chacune des mesures.

**Retombés :** La découverte d'une modalité lumineuse qui permettrait d'augmenter la vigilance pourrait avoir un impact important en termes de diminution des difficultés associées au travail de nuit. En bout ligne, une meilleure qualité de vie pourrait en résulter chez les travailleurs de nuit en plus d'un accroissement de la performance au travail.

## **A novel modulator of the IL-1 receptor prevents development of oxygen-induced retinopathy.**

Rivera JC<sup>1</sup>, Sapiaha P<sup>2</sup>, Honore JC<sup>1</sup>, Hamel D<sup>1</sup>, Quiniou C<sup>1,3</sup>, Chemtob S<sup>1,3</sup>.

<sup>1</sup>CHU Sainte-Justine, Research Center, Department of Pediatrics, Ophthalmology and Pharmacology, Montréal, Québec, Canada.

<sup>2</sup>Children's Hospital Boston, Harvard Medical School, Department of Ophthalmology, Boston, MA, USA.

<sup>3</sup>Allostera Pharma Inc. Montréal, Québec

**Background and aims:** Retinopathy of prematurity (ROP), is associated with generation of inflammatory mediators. In this context, interleukin-1 $\beta$  (IL-1 $\beta$ ) is an established prominent cytokine. IL-1 receptor antagonist is the only clinically available inhibitor of IL-1 $\beta$ . Our laboratory developed a novel allosteric modulator of IL-1 receptor, labelled 101.10 (Quiniou et al, J Immunol, 2008). We investigated whether inhibiting the actions of IL-1 $\beta$  using 101.10 prevented the vaso-obliteration and pathological neovascularization associated with oxygen-induced retinopathy (OIR).

**Methods:** Vaso-obliteration was induced in Sprague-Dawley rat pups maintained in 80% O<sub>2</sub> from postnatal days (P)5 to P10. IL-1 $\beta$  was measured in retinas. 101.10's ability to curb vaso-obliteration was tested on animals exposed to O<sub>2</sub> from P5-P10; while its effects on pre-retinal neovascularization was tested on newborn rats subjected to OIR model (cycling O<sub>2</sub> during 14 days [50% and 10%] followed by room air until P18). Animals received 101.10 or vehicle by intraperitoneal injections (3mg/kg/day) or oral administration (5mg/kg/day) from birth to sacrifice. Neovascularization was evaluated in retinal flatmounts stained with lectin.

**Results:** Retinas from pups exposed to 80% O<sub>2</sub> exhibited increased levels of IL-1 $\beta$  at 12, 24 and 48 h post-O<sub>2</sub> exposure. Antagonism of IL-1 receptor by 101.10 significantly attenuated vaso-obliteration, and efficiently decreased (by ~35%) pathological neovascularization, compared to vehicle treatment.

**Conclusions:** Results suggest that the major pro-inflammatory cytokine IL-1 $\beta$  is implicated in the pathogenesis of ROP. 101.10, a potent inhibitor of IL-RI, is a promising therapeutic candidate to help preserve vascular beds and decrease the detrimental angiogenesis associated with ischemic retinopathies.

## **Organisation fonctionnelle de l'aire V1 et V2 du Tree Shrew. Mise en évidence par l'imagerie optique.**

*Matthieu Vanni*

Le « Tree Shrew » (*tupaia belangeri*) est un des cousins les plus proches des primates et est considéré comme un excellent modèle pour étudier la relation structure / fonction dans le système visuel. Récemment l'imagerie optique a permis de révéler la présence d'une organisation en colonne d'orientation dans l'aire 17 homologue à celle des primates mais jusqu'à maintenant aucune étude n'a montré d'organisation fonctionnelle au delà de l'aire 17.

Le but de cette étude a été de caractériser plus en détail l'organisation de l'aire 17 et des structures adjacentes telles que l'aire 18 à l'aide de l'imagerie optique des signaux intrinsèques.

Les animaux ont été anesthésiés à l'halothane ou la kétamine et le cortex visuel primaire a été rendu accessible par une craniotomie. Les cartes fonctionnelles ont été obtenues à partir du mode de stimulation épisodique ou continue. Des réseaux de barres en mouvement (0.1-0.7 c/deg) ont été présentés pour révéler des cartes de sélectivité à l'orientation ou la direction. Des barres blanches (100% contraste) en mouvement périodique le long de l'axe vertical ou horizontal ont été utilisées pour mettre en évidence l'organisation rétinotopique.

Une organisation claire pour l'orientation a été révélée dans l'aire 17 aussi bien avec le mode de stimulation épisodique que continue. Toutefois, aucune évidence d'une organisation claire pour la direction n'a été observée jusqu'à maintenant. Une organisation rétinotopique a également été mise en évidence : Les activations étaient dans ce cas plus étendues que celle obtenues avec les cartes d'orientation (2-3mm plus large, latéralement à l'aire 17). Cette zone corticale étendue montrait une représentation en miroir de la rétinotopie selon l'azimuth par rapport à l'aire 17. Des confirmations histologiques ont révélé que cette zone pourrait correspondre à l'aire 18. Aucune carte d'orientation ou de direction n'a pu être observé dans cette zone. Ces résultats indiquent que l'imagerie optique peut être utilisée pour visualiser l'aire 18 du « Tree Shrew », une structure qui ne semble pas être organisée en module telle que l'aire 17. Supp. NEI grant R01EY016155.

## **Mécanismes influençant l'oxygénation du sang dans les structures capillaires de la zone fovéale**

Pierre-Jean Bernard, Vasile Diaconu

**Buts :** Des études récentes suggèrent qu'une défaillance des mécanismes de régularisation du sang dans les structures choriocapillaires de la zone fovéale pourraient être à l'origine de plusieurs maladies rétinienne, dont la Dégénérescence Maculaire Liée à l'Age (DMLA). Le but de cette étude est de comprendre le mécanisme de régulation de l'oxygénation du sang dans les vaisseaux de la choroïde durant des changements de métabolisme oculaire.

**Méthodes :** La choroïde est un tissu difficile à investiguer, à cause de sa localisation anatomique sous l'épithélium pigmentaire. Présentement, il n'existe pas de méthode fiable pour mesurer de façon non invasive l'oxygénation du sang dans les structures vasculaires choroïdiennes. Le dernier développement dans le domaine de la spectro-rélectométrie multicanaux donne une approche inédite pour explorer les changements métaboliques sur une zone précise de la choroïde, en mesurant la concentration sanguine en oxygène des structures choriocapillaires. Des fonctions de réflectométrie sur l'ensemble du spectre lumineux visible (430 à 660 nm) ont été mesurées grâce à un réflectomètre couplé à une caméra de fond d'œil.

Cinq sujets jeunes non-fumeurs en santé ont participé aux premiers tests.

Quatre sessions d'enregistrement ont été réalisées dans la zone fovéale avasculaire, pour mesurer l'oxygénation de structures choroïdiennes, en faisant varier le métabolisme oculaire lors de diverses situations :

1. en changeant le niveau d'illumination rétinien (200 puis 400 lux);
2. après un effort physique intense qui augmente la pression de perfusion oculaire;
3. en situation d'hyperoxie (60% oxygène pendant trois minutes);
4. en situation d'hypoxie (15% oxygène pendant trois minutes);

Deux dernières sessions de mesures ont été réalisées à la sortie du nerf optique, en situation d'hypoxie (15% oxygène pendant trois minutes), respectivement :

5. sur une artère rétinienne dans le cadran inféro-temporal;
6. sur une veine rétinienne dans le cadran inféro-temporal.

**Résultats :** Les résultats révèlent que l'illumination de la rétine provoque une disparité importante des réponses chez les sujets allant d'une baisse à une hausse importante d'oxygénation, tandis qu'un effort physique important ne change pas significativement l'oxygénation des capillaires, malgré un changement de pression de perfusion et de débit sanguin majeur. Une situation d'hyperoxie cause une élévation de l'oxygénation mineure dans la choroïde, qui est déjà fortement saturée en oxygène. Une situation d'hypoxie provoque, que ce soit dans la choroïde ou dans la rétine, une diminution locale de l'oxygène disponible.

**Conclusion :** La spectro-rélectométrie pourra être une nouvelle méthode permettant de déterminer in vivo des variations d'oxygénation mineures dans la choroïde. Le niveau de stress et la sensibilité à la lumière font varier considérablement l'oxygénation choroïdienne interindividuellement. L'hypoxie est le stimulus qui donne la réponse la plus marquée dans la choroïde, mais permet également d'observer des changements dans les vaisseaux rétiens. La concentration en oxygène peut diminuer dans la choroïde, mais aussi dans une moindre mesure dans les artères et les veines rétiennes. Un tel manque d'oxygène chronique pourrait vraisemblablement contribuer aux maladies dégénératives rétiennes car il touche à la fois les circulations choroïdiennes et rétiennes.

**Titre :** Évaluation de l'orientation de l'attention visuelle chez les amblyopes

**Auteurs :** Hotte-Bernard J., Pageau M., Lepore F., Saint-Amour D.

**Introduction :** L'amblyopie est classiquement définie comme étant une réduction de l'acuité visuelle non attribuable à des anomalies oculaires structurales et serait donc d'origine corticale. Récemment, il a été suggéré que l'attention visuelle pourrait elle aussi être affectée dans l'amblyopie, mais le manque de données empiriques sur la question nous empêche de tirer des conclusions formelles. Ainsi, en utilisant un paradigme de type Posner, nous avons testé l'hypothèse selon laquelle l'orientation de l'attention visuelle serait altérée chez les amblyopes.

**Méthode :** Douze adultes avec une vision normale et 4 adultes amblyopes ont participé à cette étude préliminaire. Sous condition monoculaire, ils devaient détecter le plus rapidement possible une cible qui était pré-indicée quant à son endroit d'apparition dans l'espace. Les indices pouvaient être « valides », c'est-à-dire indiquer correctement le lieu d'apparition de la cible ou « invalides », donc ne pas indiquer le bon lieu d'apparition de la cible. L'effet Posner est alors obtenu en soustrayant le temps de réaction (TR) des essais valides du TR des essais invalides. La réduction d'acuité visuelle dans l'œil amblyope a été prise en considération dans cette étude de telle sorte que des indices auditifs au lieu de visuels, ainsi que des stimuli de hauts contrastes ont été utilisés.

**Résultats :** Les adultes du groupe contrôle montrent un fort effet Posner dans la condition classique avec indices visuels ( $p < 0.01$ , moyenne TR valide = 410 ms, moyenne TR invalide = 472 ms). Cet effet se trouve toutefois être réduit d'environ 3 fois lorsque des indices auditifs sont utilisés, mais reste tout de même significatif ( $p < 0.05$ ). De façon intéressante, les sujets amblyopes montrent un effet Posner plus grand dans l'œil amblyope comparativement à l'œil non-amblyope ou à l'œil normal. Aucune différence significative n'a été observée entre l'œil non-amblyope et l'œil normal.

**Conclusion :** Ces résultats préliminaires suggèrent une altération de l'orientation de l'attention visuelle chez les amblyopes. D'autres études seront nécessaires pour comprendre la nature de cet effet en adressant plus spécifiquement les bénéfices d'un indice valide et les coûts d'un indice invalide.

## **Les animaux élevés en obscurité sont moins susceptibles à la rétinopathie induite par l'hyperoxie**

*M. Djavari<sup>1A</sup>, A. Polosa, V<sup>1A</sup>, S. Chemtob<sup>1B</sup>, P. Lachapelle<sup>1C</sup>.*

<sup>A</sup>Ophthalmology/Neurology-Neurosurgery, <sup>B</sup>Pharmacology, <sup>C</sup>Ophthalmology, <sup>1</sup>McGill Univ/Montreal Children's Hosp, Montreal, QC, Canada.

**Purpose:** Previous studies of ours have shown that the retina of newborn albino rats exposed to hyperoxia in a normal light environment during the first two weeks of life sustains permanent functional and structural impairments. Given that the metabolic demand of the retina is increased in the dark, we examined whether dark rearing could protect the developing retina from OIR.

**Methods:** Dark reared albino Sprague-Dawley (SD) pups exposed to 80% oxygen from P0-P14 (DRO<sub>2</sub>) were compared to normal pups dark reared from P0-P14 (DR14) or P0-P28 (DR28). At the end of the dark rearing period the pups were placed in a normal light environment (80 lux). All groups were compared to age matched pups raised in normal light conditions (NC). Scotopic (-6.3 to 0.9 log cd.m<sup>-2</sup>.sec), photopic (intensity: 0.9 log cd.m<sup>-2</sup>.sec; background: 30 cd.m<sup>-2</sup>) electroretinograms (ERG) and histology were performed at P 30.

**Results:** The DR28 group disclosed significant (p<. 05) increases of all scotopic ERG parameters compared to the DR14 and NC groups [rod a-wave (166% and 146%), mix rod cone b wave (113% and 136%) and rod V<sub>max</sub> (142% and 143%), respectively]. No significant changes were observed between DR14 and NC groups (p>. 05). Compared to the DR28 group, the DRO<sub>2</sub> group showed important loss of function (p<. 05) [mix rod cone a wave (56%), mix rod cone b wave (59%), rod V<sub>max</sub> (66%) and cone b wave (52%). The only significant (p<. 05) structural alteration resulting from oxygen exposure were observed at the outer segment layer (OSL) where the DRO<sub>2</sub> OSL was 168% and 144% larger than DR14 and DR28 respectively and at the inner plexiform layer (IPL) where the DRO<sub>2</sub> IPL was 24% and 22% smaller than DR14 and DR28 respectively.

**Conclusions:** Compared to previous results of ours, the OIR observed in dark-reared rat pups yields structural (OPL not obliterated) and functional (ERG amplitude 20% larger) consequences that are significantly less severe compared to normally reared OIR. Dark rearing also appears to be beneficial to the development of the normal retina. Taken together our results would suggest that the increase in retinal metabolic rate (and possibly increased synaptic activity to explain ERG effect in DR28) triggered by the dark-rearing period, would protect (or mask) some of the deleterious effect of postnatal hyperoxia.

**Commercial Relationships:** M. Djavari, None; A. Polosa, V, None; S. Chemtob, None; P. Lachapelle, None.

**Support:** CIHR and Reseau Vision

## **Retinal function assessment of the impact of trypan blue versus indocyanine green assisted internal limiting membrane peeling during macular hole surgery.**

Claudine Bellerive, Marc Hébert

**PURPOSE:** There have been some concern of retinal toxicity associated with the use of indocyanine green (ICG) dye in macular hole surgery, which is commonly used in North America. Our goal was to compare multifocal ERG retinal functional results after successful surgeries performed with ICG versus trypan blue (TB), the second most common dye mostly used in Europe.

**METHODS:** In a prospective, randomized study, 26 eyes of 25 subjects with stage II to IV idiopathic macular holes, underwent a pars plana vitrectomy with removal of the posterior hyaloids and the inner limiting membrane (ILM). In 14 eyes, ILM visualization during macular hole repair was performed using TB and in 12 eyes, ICG was used. Both groups were identical in terms of age (65.4 vs 64.5 years, range: 42-74 y.o). The examination protocol (performed preoperatively and at 3 weeks, 3, 6 and 12 months after surgery) included optical coherence tomography (OCT), multifocal electroretinography (mfERG-103 hexagons) and, assessment of best corrected visual acuity (BCVA). Due to post-operative cataracts development in many patients which were removed before the 5<sup>th</sup> months, only data at 6 and 12 months are presented.

**RESULTS:** Closure of macular hole was achieved in 100% of the cases as determined with the OCT. BCVA improved significantly in both groups at 6 months and 12 months ( $P < 0.01$ ). Improvement between groups was not different. The mean improvement at 6 and 12 months were 10 letters and 13 letters respectively for the TB group and 13 and 12 letters for the ICG group. The first two rings of the mfERG responses were averaged and P1 amplitude and latency were determined using the Veris software. Pre-operatively, mfERG P1 amplitude was similar between groups (9.4 nV in TB Vs 8.4 nV in ICG). In the TB group, improvement was not significant at 6 months (2.4 nV) but significant at 12 months (3.5 nV,  $P < 0.05$ ) post-surgery whereas in the ICG group, significant improvement occurred at both 6 months (5.1nV,  $P < 0.05$ ) and 12 months (6.3nV;  $P < 0.01$ ). At 12 months, P1 amplitude was 12.9 nV and 14.7nV in the TB and ICG group respectively (non significant group difference). P1 latency also improved significantly at 6 and 12 months in the ICG group, with 2 ms and 2.9 ms respectively going from 37.3 ms to 33.5 ms. In the TB, P1 latency also improved but only at 12 months (1.7ms). However, both groups were not significantly different at 12 months (33.5ms, ICG Vs 33.8, TB).

**CONCLUSIONS:** Overall, the used of trypan blue or indocyanine green appear to yield to similar improvement in terms of best corrected VA and mfERG amplitude and latency changes at 12 months. However, faster improvement (at 6 months) was observed in the ICG group but only for mfERG data. Considering that the ICG dye allows a better visualization of the ILM according to our surgeons, our small sample study seems to favour the maintenance of ICG used for macular hole surgery.

# Design et développement pharmacologique du 101.10, petit peptide allostérique antagoniste du récepteur de l'interleukine-1

**Auteurs:** Kim Beauregard, Christiane Quiniou, Andrew G. Jamieson, Nicolas Boutard, Luisa Ronga, William D. Lubell and Sylvain Chemtob

## **Affiliations principales:**

Centre de recherche du CHU Sainte-Justine, Université de Montréal

Département de chimie, Université de Montréal

Département de Pharmacologie, Université de Montréal

**Mots clés:** inflammation, dégénérescence maculaire, interleukine-1, allostérisme, lactame

L'inflammation est un procédé biologique induisant un large éventail de maladies sévères telles que l'arthrite rhumatoïde, la colite ulcéreuse et la dégénérescence maculaire, dont très peu possèdent un traitement sélectif et efficace. Le complexe de l'interleukine-1, médiateur proinflammatoire majeur, et de son récepteur (IL-1RI/IL-1RacP) constitue une cible privilégiée pour le développement de petites molécules anti-inflammatoires non-orthostériques. Au sein de notre laboratoire, l'heptapeptide 101.10 (D-rytvela) fut créé afin d'interagir avec une portion flexible du domaine extracellulaire de l'IL-1RacP, un site allostérique de du récepteur de l'IL-1. Afin d'optimiser l'activité du 101.10, un résidu lactame (Agl ou Bgl) a été introduit dans le peptide en remplaçant certains acides aminés et en mimant un tour bêta. Des expériences de prolifération *in vitro* telles que l'incorporation de thymidine tritiée et l'intercalation d'un fluomarqueur (CyQUANT NF) dans des thymocytes humains (TF-1) ont été conduites afin d'obtenir l'efficacité relative du peptide parent et de ses analogues. Certains peptidomimétiques démontrèrent une meilleure efficacité que le 101.10 (IC<sub>50</sub>=2nM; E<sub>max</sub>≥90%), notamment lorsque l'arginine terminale est remplacé par un lactame, mais deux d'entre eux manifestèrent aussi une légère cytotoxicité. Puis, l'examen des courbes dose-réponse dérivées d'essais de liaison avec un peptide marqué à l'iode radioactif révéla le caractère modulatoire allostérique du 101.10. De plus, le <sup>125</sup>I-101.10 se liât de façon saturable aux thymocytes de type sauvages, mais très peu à ceux du type IL-1R<sup>-/-</sup>, ne dévoilant donc aucune compétitivité mais plutôt de la sélectivité. Nous décrivons donc ici la précédente découverte et l'optimisation d'un petit peptide allostérique nommé 101.10, un puissant et spécifique antagoniste au complexe du récepteur de l'interleukine-1. La hausse de l'efficacité *in vitro* de 101.10 due à l'introduction d'un résidu lactame nous a permis de tirer de majeures relations structure-activité qui serviront au futur développement des mimétiques en candidat médicament et à leur application aux traitements des maladies immunitaires jusqu'alors intraitables.

## Effets à long-terme de l'apport prénatal en oméga-3 sur les fonctions visuelles chez les enfants Inuits du Nunavik.

Jacques C<sup>1,2</sup>, Éthier A-A<sup>1,3</sup>, Muckle G<sup>4</sup>, Jacobson SW<sup>5</sup>, Bastien CH<sup>4</sup>, Dewailly E<sup>6</sup>, Ayotte P<sup>6</sup>, Levy E<sup>1,2</sup>, Jacobson JL<sup>5</sup> et Saint-Amour D<sup>1,7</sup>.

<sup>1</sup> Centre de recherche, CHU Sainte-Justine. <sup>2</sup> Département de nutrition, Université de Montréal. <sup>3</sup> Département de psychologie, Université de Montréal. <sup>4</sup> École de psychologie, Université Laval. <sup>5</sup> Department of Psychiatry and Behavioral Neurosciences, Wayne State University. <sup>6</sup> Unité de Recherche en Santé Publique, CHUL. <sup>7</sup> Département d'ophtalmologie, Université de Montréal.

**Objectif :** La consommation régulière de poisson et de mammifères marins représente une source importante d'exposition à des contaminants environnementaux susceptibles de compromettre le développement neurologique. Cependant, une telle diète contient également des acides gras oméga-3 (n-3) connus pour leurs effets bénéfiques sur le développement des fonctions cérébrales et notamment sur le développement du système visuel dans les premiers mois de la vie. Afin de tester l'hypothèse selon laquelle l'exposition prénatale aux n-3 a des effets bénéfiques à long-terme, nous avons examiné les fonctions visuelles chez des enfants Inuits d'âge scolaire exposés à de grandes quantités de n-3 durant la période de gestation. **Méthode :** 148 enfants Inuits (moyenne d'âge = 11.3 ans; étendue = 9,8 à 13 ans) du nord du Québec (Nunavik) ont participé à cette étude. Un protocole de potentiels évoqués visuels (PEVs) utilisant des stimuli de couleur et de mouvement a été utilisé afin d'appréhender les réponses parvo- et magnocellulaires respectivement. Les concentrations de DHA ont été mesurées à la naissance à partir du cordon ombilical et au moment du testing, reflétant ainsi les expositions pré- et postnatales. Les relations entre les niveaux sanguins de DHA et les PEVs ont été appréhendées à l'aide d'analyses de régression multiples, en tenant compte des contaminants environnementaux (e.g. BPCs, mercure) et d'autres variables potentiellement confondantes (e.g. acuité visuelle, genre). **Résultats :** Aucune association significative n'a été trouvée en ce qui concerne les stimuli de mouvement. Cependant, après ajustement pour les covariables, les concentrations de DHA à la naissance sont associées à la latence des composantes N1 ( $\beta = -0.28$ ,  $p < 0.006$ ) et P1 ( $\beta = -0.22$ ,  $p < 0.028$ ) des PEVs issus des stimuli en couleur. Un effet postnatal bénéfique du DHA a également été noté en ce qui concerne l'amplitude de N1 à P1 ( $\beta = 0.22$ ,  $p < 0.027$ ). **Conclusion:** Notre étude suggère des effets bénéfiques du DHA sur le système parvocellulaire à un âge scolaire. À notre connaissance, cette étude est la première à montrer des effets bénéfiques à long-terme de l'exposition prénatale au DHA. De plus, les PEVs s'avèrent être une technique prometteuse pour évaluer les bénéfices au niveau cérébral des nutriments chez les populations avec une diète marine, non seulement durant la petite enfance mais également à l'âge scolaire.

## INTERACTION DE LA PROTÉINE RETINITIS PIGMENTOSA 2 AVEC DES MONOCOUCHEs DE LANGMUIR

**Nicolas Belley**, Éric Demers, Sophie Champagne et Christian Salesse  
Unité de recherche en ophtalmologie, Centre de recherche du CHUQ, Pavillon CHUL,  
Faculté de médecine, Université Laval.

**CONTEXTE ET OBJECTIFS** : La rétinite pigmentaire (RP) résulte en une dégénération progressive de la rétine et représente une cause importante de cécité. Diverses mutations de la protéine rétinis pigmentosa 2 (RP2) mènent à une forme sévère de RP liée au chromosome X. Bien que RP2 soit exprimée de façon ubiquitaire, les mutations de cette protéine semblent seulement causer une atteinte oculaire. Cette protéine de 350 acides aminés possède deux sites d'acylation (dont un sur la sérine 6) et est localisée principalement à la membrane plasmique. La délétion de la sérine 6 de RP2 perturbe sa localisation membranaire et résulte en une RP. Les objectifs de ce projet de recherche consistent à surexprimer et purifier RP2 et à caractériser ses propriétés de liaison membranaire en utilisant le modèle des monocouches.

**MÉTHODES** : La séquence complète de RP2 a été clonée, exprimée dans *E. coli* et purifiée par chromatographie d'affinité. La RP2 a été injectée dans la sous-phase de monocouches de Langmuir composées de différents types de phospholipides. La liaison de RP2 à ces monocouches a été observée par des mesures en pression de surface et en spectroscopie infrarouge.

**RÉSULTATS** : L'injection de RP2 sous une monocouche de phospholipides mène à une augmentation de la pression de surface, ce qui démontre clairement sa liaison membranaire. Ces données ont démontré que la cinétique d'adsorption de RP2 demeure inchangée à différents pH mais est fortement influencée par la force ionique de la sous-phase et par le type de phospholipide composant la monocouche. Les données de spectroscopie infrarouge démontrent que RP2 possède une orientation spécifique en présence d'une monocouche de phospholipides par rapport à son orientation en solution aqueuse.

**CONCLUSION** : Ces travaux de recherche démontrent que la RP2 non-acylée lie fortement la membrane et que cette liaison dépend de la force ionique et est favorisée par la présence de phospholipides saturés. Il est maintenant nécessaire de déterminer l'effet de l'acylation de RP2 sur cette interaction membranaire. De plus, l'importance de l'hélice bêta de RP2 dans son interaction membranaire sera déterminée par l'utilisation des constructions 1-230 et 230-350 de cette protéine.

## **Caractérisation de l'expression du gène *PARG* : implication dans la rétinopathie diabétique et dans les mélanomes uvéaux**

Vanessa Molloy-Simard<sup>1</sup>, Guillaume Ferlotte-Picard<sup>1</sup>, Jean-François St-Laurent<sup>1</sup>, Sylvain Guérin<sup>2</sup> et Serge Desnoyers<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Axe reproduction, santé périnatale et santé de l'enfant, <sup>2</sup>Axe neurosciences, Centre de recherche du CHUQ, Pavillon CHUL, Québec, (Qc) G1V 4G2,

**Introduction** : Les conditions physiologiques particulières au diabète sont propices à l'établissement de la rétinopathie diabétique, entre autres par un maintien constant d'un stress oxydatif et nitrosatif au niveau des cellules de la rétine. Ceci favorise une néovascularisation rétinienne plus fragile qui résulte en des hémorragies intra-oculaires et des dommages à l'ADN. Des études antérieures ont montré un rôle de l'enzyme nucléaire poly(ADP-ribose) polymérase-1 (PARP-1) dans l'établissement de la RD. PARP-1 est l'enzyme principale de la famille PARP qui catalyse la formation de poly(ADP-ribose) à partir du NAD<sup>+</sup> après stimulation par des bris à l'ADN. Les protéines modifiées regagnent rapidement leur état d'origine quand l'enzyme PARG (poly(ADP-ribose) glycohydrolase) hydrolyse le poly(ADP-ribose). Ainsi, ce projet consiste à caractériser le promoteur du gène humain PARG et à étudier son expression dans les cellules de Müller ainsi que dans certaines lignées de mélanomes uvéaux (T97, T98, T108 et T115).

**Méthode** : L'analyse fonctionnelle du promoteur du gène PARG humain s'est fait par transfection de constructions plasmidiques contenant diverses portions du promoteur PARG fusionnées au gène rapporteur CAT. Les analyses ont été réalisées dans des cellules 293T ainsi que dans les lignées de mélanomes uvéaux T97, T98, T108 et T115. Une analyse d'expression génique globale sur les lignées cellulaires de mélanome a été réalisée à l'aide de puces à ADN. Le contenu en protéines PARP-1 et PARG a été suivi par buvardage de type Western et la mesure de l'activité enzymatique PARG par la

technique TLC. Un test de clonogénicité a été réalisé afin de mesurer la survie des mélanomes après irradiation aux rayons gamma.

**Résultats** : Les résultats démontrent que la région -371 stimule la transcription de PARG tandis qu'une autre région à -1170 semble réprimer significativement celle-ci. Une analyse TESS montre qu'à ces endroits, les facteurs de transcription Sp1 et NFI pourraient se lier à l'ADN et exercer leur action stimulatrice (Sp1) ou inhibitrice (NFI). L'expression de l'enzyme PARG est presque nulle dans les mélanomes uvéaux T97, T98 et adéquate dans les mélanomes T108 et T115. L'utilisation du Bortezomib, un inhibiteur du protéasome, augmente significativement le contenu immunoréactif en PARG des cellules T97 et T98, les deux lignées de mélanome qui montrent aussi une forte résistance aux rayons gamma.

**Conclusions** : L'expression de PARG est contrôlée par au moins deux types de régions régulatrices importantes. L'expression de PARG semble être en lien avec la résistance des cellules aux radiations ionisantes. Il semble que PARG soit dégradée par le protéasome, ce qui suggère que l'enzyme soit modifiée par l'ubiquitine.

## **Neuroprotection After Complete Optic Nerve Axotomy: in vivo efficacy of receptor-selective neurotrophin analogues and peptidomimetics**

H. Uri Saragovi<sup>1</sup>, P. Dergham<sup>1</sup>, S. ZhiHua<sup>1</sup>, K. Burgess<sup>2</sup>, K.E. Neet<sup>3</sup>, H. Mehta<sup>3</sup>, S. Woo<sup>3</sup>, Y. Zhuo<sup>4</sup>, Y. Bai<sup>4</sup>.

Neurotrophins (NGF, BDNF, NT-3) are growth factors critical to the development, selection, maintenance, and function of the nervous system. Neurotrophins act selectively through binding to the Trk family of receptor tyrosine kinases, which generally lead to neuronal survival (NGF–TrkA, BDNF–TrkB, NT-3–TrkC). Neurotrophins also bind to a promiscuous p75 receptor member of the TNF-superfamily, which can lead to cell death. Most CNS and PNS neurons express both receptor types, Trk and p75, so the action of one receptor can regulate the other; and because all neurotrophins bind to p75, this co-receptor can also cooperate with Trk in ligand binding and in signaling<sup>7</sup>. However, in retina, TrkA and TrkB receptors are expressed preferentially in RGCs; while p75 receptors are expressed almost exclusively in glia/Muller cells. Because these receptors are expressed on distinct cell populations, each receptor can be activated unopposed by the other, resulting in pleiotropic signals in different cells.

We have shown significant alterations in the expression and function of Neurotrophins and their Receptors in ocular injury models of optic nerve axotomy<sup>1</sup> (acute death of retinal ganglion cells) and glaucoma<sup>2</sup> (chronic and progressive death of retinal ganglion cells). A rationale for neuroprotection using neurotrophins hence was developed. However, as expected from the expression pattern of the receptors, application of exogenous Neurotrophins as experimental therapeutics was not protective of RGCs in either of these models<sup>1,3</sup>.

We further hypothesized that wild type Neurotrophins (either endogenous or exogenously applied) fail to protect RGCs from death because in actuality these factors activate “pro-survival” Trk receptors in RGCs but also activate “pro-death” p75 receptors in glia. Thus, the purpose of this study was to investigate neuroprotection. After ON axotomy, RGC survival was quantified following treatment with selective receptor ligands, compared to no treatment, vehicle, or wild type neurotrophins.

We used:

exogenous ligands and small molecules functionally selective for TrkA or p75;  
biological response modifiers of endogenous NGF which is already present in the retina

### SUMMARY:

Pharmacological activation of TrkA receptors (with exogenous agonists) and inactivation of p75 (with exogenous antagonists) can protect RGCs in rat optic nerve axotomy.

The activation of p75 with exogenous agonists does not accelerate the acute neurodegenerative process of ON axotomy, which is already fast.

Altering the properties of endogenous retinal NGF, by preventing its binding and activating p75 in glia, is sufficient to protect RGCs.

## **Optic nerve head capillaries blood oxygenation during a menstrual cycle period**

J. Hilal<sup>2</sup>, V. Vuvea<sup>3</sup>, L. Michaud<sup>1</sup> & V. Diaconu<sup>1,3</sup>  
School of Optometry<sup>1</sup>, Biomedical Science<sup>2</sup> & Engineering<sup>3</sup>  
University of Montreal, Canada

**Purpose:** Previous studies reported a decrease in retinal blood flow in postmenopausal women in comparison with younger women and predict a higher risk for women to develop ocular disease after menopause than men of similar age. Moreover, it is well known that estrogens and other female endogenous hormones clearly have an effect on vascular tonus and on blood viscosity.

We hypothesized that variations of retinal blood flow in the eye should occur in response to the variation of the levels of different female hormones throughout the menstrual cycle.

**Methods:** Five healthy women between 20 and 30 years old have participated to the study. They had no ocular diseases and were not taking any drug or contraceptive medication. Based on a model of optical reflectance and absorption, we derived the oxyhaemoglobin and haemoglobin blood content in optic nerve head capillaries from full spectrum (450-650 nm) reflectometry measurements, using a version of the “On line Spectroreflectometry Oxygenation Measurement in the Eye” instrument (OSOME Faubert & Diaconu US Patent # 5,919,132).

The levels of the oxyhaemoglobin (HbO<sub>2</sub>) and haemoglobin blood content in the optic disc capillaries were measured during 30 seconds, at two days interval until a complete menstrual cycle period was covered.

**Results:** The results show that the HbO<sub>2</sub> level in the optic nerve micro-capillaries varies during the period of the menstrual cycle. For all the subjects was noticed a relative minimum of blood oxygenation 3 to 4 days before the period for predicted ovulation. The oxygenation attains a maximum for the middle of menstrual cycle period. Following the oxygenation regress to reach a new minimal some days before the beginning of the menstruations. **Conclusion:** The results of the present study suggest that a relation exists between the variations in the levels of oxyhaemoglobin and estrogens levels during the menstrual cycle.

## The Cannabinoid receptor 1 mediated axon guidance necessitates Deleted in Colorectal Cancer (DCC)

Argaw, A.<sup>1,3</sup>, Duff, G.<sup>2,3</sup>, Tea, N.<sup>3</sup>, Ptito, M.<sup>3</sup>, and Bouchard, J.-F.<sup>2,3</sup>

<sup>1</sup>Department of biomedical science, Faculty of medicine, U. of Montreal, Montreal, Qc, H3C 3J7.

<sup>2</sup>Faculty of pharmacy, U. of Montreal, Montréal, Qc, H3C 3J7.

<sup>3</sup>School of optometry, U. of Montreal, Montreal, Qc, H3T 1P1.

In the adult brain, endocannabinoids (eCBs) play an important neuromodulatory role by acting as retrograde messengers to regulate synaptic function. They operate mainly via their  $G_{i/o}$  protein coupled receptors CB1 and CB2. Both receptors negatively regulate adenylate cyclase, an enzyme synthesizing cAMP. Increasing evidence implicate eCBs and their receptors in several developmental events, such as cell proliferation and migration, axon guidance and synaptogenesis. Retinal ganglion cells (RGCs) extend their axons toward specific targets in the thalamus and the superior colliculus. RGC growth cone (GC) navigation is largely directed by guidance cues present in their environment. cAMP has been proposed as an important second messenger during axon guidance and brain wiring in the developing central nervous system. Recently, we showed that elevating intraocular cAMP levels accelerates RGC branch growth during early development. In the present study, we tested if eCBs affect RGC axon development and guidance. We observed that during early postnatal development, components of the eCB system are expressed along the visual pathway (the optic chiasm, the lateral geniculate nucleus and the superior colliculus). To assess the implication of the eCB system, *in vitro*, primary neuron cultures were treated with pharmacological agonists and inverse agonists of eCB receptors. These experiments demonstrated that eCBs modulate GC morphology. Furthermore, their actions seem to depend on the cAMP/PKA pathway. To investigate the effects of disrupting intrinsic eCBs signalling on RGC development, hamsters received, at postnatal day 1, a unilateral intraocular injection of pharmacological modulators. Cannabinoid agonists delayed RGC axon growth. In addition, the implication of the eCB system was also assessed using eCB-mutated mice colonies. The absence of eCB receptors induced a decrease in eye-specific segregation of retinal projections. In conclusion, these results show an implication of the eCB1 system during retinothalamic development.

This study was supported by NSERC grant to J.-F. B., A.A. is supported by a CNIB-CIHR studentship, G.D. by FRSQ studentship, J.-F. B. by a CIHR-Rx&D Scholar award and M.P. holds the Harland Sanders Chair for Visual Science.

## Age-Independent Asymmetries in Spatial Interval Discrimination Across the Central Visual Field

W. Wittich<sup>1A,2</sup>, D.H. Watanabe<sup>3</sup>, J. Faubert<sup>4</sup>, M.A. Kapusta<sup>1B</sup>, O. Overbury<sup>1B,4</sup>.

<sup>A</sup> Neurology & Neurosurgery / Neuroscience,

<sup>B</sup> Ophthalmology,

<sup>1</sup> McGill University, Montreal, QC, Canada;

<sup>2</sup> Lady Davis Institute for Medical Research, Montreal, QC, Canada;

<sup>3</sup> Psychology, Concordia University, Montreal, QC, Canada;

<sup>4</sup> School of Optometry, University of Montreal, Montreal, QC, Canada.

**Purpose:** Previous research indicated that positional acuity has a potentially relevant function for vision testing in the clinical context, specifically in the elderly. Tasks such as spatial interval discrimination resist the effects of age and their accompanying optical changes (Latham & Barrett, *Curr Eye Res*, 1998). The present study investigated the use of a bisection test which evaluates the perceived point of equidistance of two peripheral targets in relation to fixation. It was hypothesized that performance on this task would not depend on the age of the participant but both on eccentricity and retinal location of the stimuli.

**Method:** 21 participants with normal or corrected-to-normal vision, ranging in age from 25 to 69 ( $M = 43$ ,  $SD = 13$ ), were tested monocularly on the spatial interval discrimination task, ranging in eccentricity from 1 to 7 dva. The task required participants to judge which of two simultaneously presented flanker dots was closer to the fixation target. The range of presented stimuli was scaled to retinal eccentricity. Psychometric functions were fit to the data, resulting in measures of error (accuracy) and slope of the function (precision). Data were grouped for each retinal location (nasal, temporal, inferior, superior).

**Results:** For the proportional error scores [(accuracy-eccentricity)/eccentricity], a  $7 \times 4$  (eccentricity  $\times$  location) ANOVA revealed an interaction effect of eccentricity by location. The point of perceived equidistance was placed more centrally (closer to fovea) in the superior field at central eccentricities, and was judged to be more peripheral at distal eccentricities,  $p < .03$ ,  $\eta^2 = .10$ . The reverse was the case for data in the inferior visual field. For the slope values (precision), both main effects of eccentricity and location were significant,  $p < .001$  for both,  $\eta^2 = .44$  and  $.23$  respectively. As eccentricity increased, participants became more precise while judgments in the horizontal were generally more precise than in the vertical. For both analyses, age was not significant as a covariate.

**Conclusion:** The study replicates reports that spatial interval discrimination is unaffected by age. However, within the central 7 degrees of visual field, certain asymmetries were exhibited, whereby perception of spatial intervals may be slightly distorted in the inferior and superior field, depending on eccentricity. The findings can be explained in the context of photoreceptor density (accuracy) as well as size effects (precision).

## **Targeted siRNA-Mediated Knockdown of p53 Family Activators ASPP1 and ASPP2 Delays Adult Retinal Ganglion Cell Death *in vivo***

Ariel M. Wilson<sup>1</sup>, Mohammed Almasieh<sup>1</sup>, Mathieu Zummo-Soucy<sup>1</sup>, Evgenia Alpert<sup>2</sup>, Hagit Ashush<sup>2</sup>, Hagar Kalinski<sup>2</sup>, Elena Feinstein<sup>2</sup>, Adriana Di Polo<sup>1</sup>.

<sup>1</sup>Department of Pathology and Cell Biology, Université de Montréal, Quebec, Canada; <sup>2</sup>Quark Pharmaceuticals Inc., Research Division, Ness Ziona, Israel.

**Purpose:** To assess the efficacy of short interfering RNA (siRNA)-mediated knockdown of pro-apoptotic genes in the survival of adult rat retinal ganglion cells (RGCs) after optic nerve axotomy. We focused on targeted silencing ASPP1 and ASPP2, apoptotic-specific activators of the p53 family, whose precise role in RGC death has yet to be characterized. **Methods:** RGCs were labeled by application of the retrograde tracer Fluorogold in the superior colliculus. Optic nerve axotomy was performed one week after retrograde labeling of RGCs. Intraocular injections of siRNAs were performed at the time of axotomy and 1 week later by independent infusion of each siRNA compound into the vitreous of the eye. A siRNA targeting GFP was used as control. The density of surviving RGCs was quantified at 1 and 2 weeks after optic nerve injury by counting Fluorogold-labeled neurons in 12 standard retinal areas. Delivery of siRNA to RGCs was confirmed using Cy3-labeled siRNA and fluorescent microscopy. **Results:** Cy3-siRNA was detected within RGCs as early as 5 hours after intraocular injection. Our data demonstrate that administration of siRNAs against ASPP1 and ASPP2 led to striking neuroprotection of axotomized RGCs: ~ 75% of the total RGC population were alive at 1 week after axotomy, and ~25% survived at 2 weeks post-injury, a time when <10% RGCs remained in retinas treated with control siRNA. **Conclusions:** Our study demonstrates that siRNAs against pro-apoptotic targets can effectively delay RGC death after acute optic nerve injury.

## **Cholinergic system activation paired with visual stimulation enhance visual performance of rats in the visual water maze**

*Jun Il Kang*

Acetylcholine (ACh) is released in the primary visual cortex (V1) during visual stimulation and has a neuromodulatory role in visual processing and cortical plasticity. Particularly, it has been shown that activation of cholinergic system by cholinergic agent injection or electrical stimulation in the Horizontal limb of the diagonal band of Broca (HDB) paired with visual stimulation induces a long-term increase of visual evoked potentials (VEP) in V1. Moreover, specific cholinergic system lesion showed impairment of learning capacity without affecting the visual acuity in a visual water maze. In the present study, HDB stimulation paired with specific pattern visual stimulation was performed to evaluate the capacity of the cholinergic system to improve visual learning.

Baseline visual acuity of Long Evans rats (n=8) was measured in a Visual water maze (Neuroscience, 2008, 154:1607-1618) prior to training experiments. The training was performed on restrained awaken rats during 10min/day for 20 days. Visual system activation (phase converting sinusoidal gratings at 0.12 cycle/degree; 30°orientation) was displayed on 3 computer monitors surrounding the animal head. In control conditions, few cortical cells in V1 respond to this orientation (Girman et al. J Neurophysiol 82:301-311, 1999.), so it was expected that the training would enhance the cortical representation of this stimulus. During visual stimulation, cholinergic system was electrically stimulated (100 Hz, 0.5 ms, 50  $\mu$ A, 1 sec on/1 sec off) through an electrode previously implanted in the HDB. Three different groups were analyzed: Control, visual stimulation (VS), and visual stimulation paired with HDB stimulation (HDBS+VS).

The mean baseline visual acuity of the rats prior to any experiment was  $0.75 \pm 0.04$  cycle/degree. Only the HDBS+VS group showed a significant enhancement of this value ( $0.89 \pm 0.02$  cycle/degree,  $p < 0.05$ , Kurskal-wallis test). The other groups (control and VS) did not show this enhancement ( $0.72 \pm 0.03$  and  $0.72 \pm 0.03$ , respectively).

Our results demonstrated that the pairing of the cholinergic system activation with visual training improved the visual performance of the animals. It confirms that the cholinergic system plays a significant role in visual learning.

## The effect of different artificial central scotomata on eye-movement patterns

Rong Zhou, Michael von Grünau, Aaron Johnson, Rick Gurnsey (Department of Psychology, Concordia University, Montréal, Québec, Canada; Email: ron\_zhou@live.concordia.ca)

Central loss of vision, as found in age-related macular degeneration (AMD), is one of the leading causes of blindness. To experimentally study visual capabilities and eye-movement patterns in relation to particular properties of the defect is often difficult or impossible in the patient population. We have therefore used healthy observers with simulated defects (central scotomata), which allows for a better control of the underlying variables. Here we introduced 4 types of artificial gaze-contingent scotomata (relative, absolute, distorted with a static distortion, and warped with dynamic visual inputs), resembling particular forms of AMD. We compared behavioral and eye-movement measures for different types and sizes (0, 2, 4, 8 deg) of artificial scotomata for a 3-D shape-from-texture identification task. As expected, the number of fixations, dwell time, response time, and identification errors increased as a function of scotoma size for absolute, distorted, and warped scotomata. The distorted and warped scotomata were more disruptive than the other types (relative and absolute), as shown by larger changes of fixation positions. Observers developed a fixation strategy for large scotomata that allowed them to examine the stimulus features from a more central position along the X-axis.

[Support by NSERC, CIHR to MvG & FQRNT to RZ]

## **Confocal analysis of cholinergic and dopaminergic inputs onto pyramidal cells in the prefrontal cortex of rodents.**

Zi-Wei Zhang<sup>1</sup>, Mark Burke<sup>1</sup>, Nicole Calarkos<sup>2</sup>, Jean-Martin Beaulieu<sup>3</sup> and Elvire Vaucher<sup>1</sup>

<sup>1</sup> School of Optometry, University of Montreal, Montreal, Quebec, H3C 3J7, Canada

<sup>2</sup> Division of Neurology, Department of Neurobiology, Center for Translational Neuroscience, Duke University, Durham, NC, 27710, USA

<sup>3</sup> Department of Anatomy and Physiology, University of Laval/CRULRG, Québec, QC, Canada

Both the basal forebrain cholinergic projections and the dopaminergic projections from the ventral tegmental area to the rat medial prefrontal cortex (mPFC) are involved in attention. Dopamine (DA) and acetylcholine modulate the output of this cortical area, and it has been shown that both neurotransmitters interact together. However, little is known on the anatomical relationships between these two systems. In the present study we used confocal microscopy with triple fluorescent immunolabeling in Long Evans rats to determine whether cholinergic and dopaminergic afferents to the mPFC established anatomical interactions together or with the mPFC cells in the context of diffuse transmission. Primary antibodies directed against choline acetyltransferase (ChAT), tyrosine hydroxylase (TH), or glutamate transporter (excitatory amino acid carrier protein 1, EAAC1), were used to detect the cholinergic, dopaminergic fibers or the pyramidal cells, respectively. The staining was observed using a Leica confocal microscope in the infralimbic (IL), prelimbic (PrL), and the cingulate (Cg1) cortex. The number of cholinergic and dopaminergic fibers segments in reciprocal microproximity (3  $\mu$ m limit in three dimensions) or in the microenvironment of pyramidal neurons of layer II/III and V were quantified. Alternatively, *Drd1a*-tdTomato/*Drd2*-EGFP transgenic mice (Shuen et al., 2008) were used to examine the presence of *D1a* and *D2* receptors (*D1aR* and *D2R*) on pyramidal cells and cholinergic fibers within the PFC. More than 70% of pyramidal cells examined in layer V and more than 55% in layer II/III were within the microproximity of both cholinergic and dopaminergic fibers. A small proportion of cholinergic fibers (9 to 20%) were apposed to dopaminergic fibers, whereas the proportion of dopaminergic fibers (20 to 40%) apposed to cholinergic fibers were higher in the rat mPFC. Except in Cg1, there was no positive correlation between the occurrence of microproximity and fiber density in most regions, indicating non-random correlation. 93% of the pyramidal cells examined were stained with *Drd2*-EGFP in both layers in mPFC. In contrast, only 22% of the pyramidal cells in layer 5 and 21% in layer 2/3 expressed *D1aR*, and 21% in layer 5 and 20% in layer 2/3 had both *D1aR* and *D2R* staining. This indicates that *D1aR* and *D2R* were found primarily on different types of neurons in mPFC. Consistent with this was the low colocalization ( $R = 0.16 \pm 0.01$ ) of *D1aR* and *D2R* in neuronal elements in both layers in mPFC. There was a scarce expression of both *D2R* and *D1aR* by cholinergic fibers in mPFC. Altogether, these results suggest DA and ACh fibers may modulate the PFC output by innervating the same pyramidal neurons, in which *D2R* plays an important role. A mutual interaction between cholinergic fibers and dopaminergic fibers could also be observed, with probably a bigger influence of ACh on dopaminergic fibers, then vice versa.

## **Connexions indirectes entre les cortex auditif et visuel primaires chez la souris.**

*Marie-Eve Laramée, Tohru Kurotani, Kathleen S. Rockland, Gilles Bronchti et Denis Boire.*

**INTRODUCTION:** Plusieurs études ont démontré que les aveugles utilisent leurs aires occipitales visuelles lors de l'exécution de tâches auditives (Gougoux *et al.* 2005). Différentes hypothèses ont été proposées afin d'expliquer les réorganisations dans la connectivité hétéromodale chez l'aveugle mais les causes exactes restent, à ce jour, méconnues. Des études récentes ont démontré que, chez un individu voyant, le traitement des informations multisensorielles peut se produire dans les cortex sensoriels de basse hiérarchie (Cappe *et al.* 2009). De plus, des connexions directes entre les cortex visuel (V1) et auditif (A1) primaires ont été montrées chez le singe (Falchier *et al.* 2002; Cappe and Barone, 2005; Wang *et al.* 2008) et les rongeurs (Budinger *et al.* 2000; Campi *et al.* 2009). Ces derniers possèdent aussi des projections auditives vers les aires corticales extrastriées (Budinger *et al.* 2006) mais, il est impossible de déterminer si elles contactent des neurones qui projettent en feedback vers V1. Il est donc essentiel de déterminer si la voie cortico-corticale indirecte entre A1 et V1, passant par le cortex visuel secondaire latéral (V2L), existe et si elle est modifiée suite à la perte d'afférences visuelles.

**MÉTHODES:** Des souris C57BL/6 contrôles et énucléées à la naissance ont été utilisées. Des injections de dextran amine biotinylé 10kDa ont été effectuées afin de marquer des axones auditifs qui projettent vers V2L. Les neurones de V2L qui projettent en feedback vers V1 ont, quant à eux, été marqués par l'injection d'un adénovirus exprimant l'EGFP, le AdSynEGFP (Tomioka and Rockland 2006). Les marquages GFP et BDA ont été amplifiés en utilisant un anticorps anti-GFP-alexa-488 et une streptavidine conjuguée à un alexa-594, respectivement. Les neurones de V2L se trouvant dans une région recevant des afférences auditives ont été photographiés au microscope confocal (40X) et reconstruits en 3D avec le programme NeuroLucida (MicroBrightField). Les sites de contacts synaptiques potentiels, où les axones auditifs se trouvaient à proximité d'épines dendritiques, ont été identifiés et vérifiés à plus fort grossissement (100X), puis classifiés en contacts de haut niveau de confiance, faible niveau de confiance ou pas de contact.

**RÉSULTATS:** Cette étude permet de démontrer l'existence de la voie indirecte A1-V2L-V1, chez les souris voyantes et aveugles, et démontre qu'elle n'est pas modifiée suite à la déprivation visuelle. En effet, la morphologie des neurones de V2L reconstruits en 3D n'étaient pas différente. De plus, les inputs auditifs n'étaient pas plus nombreux chez l'aveugle et étaient retrouvés sur l'ensemble de l'arborisation dendritique avec une distribution similaire à celle des souris voyantes.

## **Visual neurotoxicity associated with vigabatrin in young epileptic children: An electrophysiological study to assess the integrity of the visual fields**

**N. Hébert-L**<sup>1,3</sup>, L. Carmant<sup>3</sup>, A. Lortie<sup>3</sup>, M. Lassonde<sup>1,3</sup>, M. S. Roy<sup>3</sup>, L. Lefebvre<sup>1,3</sup>, D. Saint-Amour<sup>2,3</sup>

<sup>1</sup>Centre de Recherche en Neuropsychologie et Cognition, Université de Montréal <sup>2</sup>Département d'ophtalmologie, Université de Montréal <sup>3</sup>Centre de Recherche CHU Sainte-Justine

**PURPOSE:** Vigabatrin (VGB) is a very efficient anticonvulsant to control infantile spasms. Nevertheless, the actual use of this anticonvulsant is limited because of the potential adverse effects on visual function. Indeed, research, almost exclusively conducted in adults, has shown a visual field constriction in about 30% of the patients. Because perimetric measurement is difficult in children below 8 or 9 years old due to the need of an active cooperation, whether or not VGB alters the visual field in young children remains an unsolved question.

**METHODS:** We have developed a steady-state visual evoked potential (VEP) paradigm that allows discriminating both central and peripheral visual fields as a function of contrast. Similarly to Harding et al. (2002), the stimulus consisted of two radial checkerboards in which the central stimulation (0° to 5° radius) flickered at 15 reversals/s and the peripheral stimulation (30° to 60° radius) flickered at 12 reversals/s. The stimuli were presented on a 30" LCD monitor (DELL, model 3007WFP) at four contrast levels: 96%, 64%, 32% and 16%. P-ERG and P-VEP responses were recorded from surface electrodes to estimate the integrity of the ganglion cells and the visual cortex, respectively. Central and peripheral responses were extracted with Fourier analysis. In this pilot study, a group of 5 epileptic children exposed to VGB early in life was compared to a group of 10 healthy control children. VGB therapy was administrated at 6 months of age during 12 to 42 months with a total daily dosage of 584±30 mg in average.

**RESULTS:** The preliminary results from either P-ERG or P-VEP show that the epileptic patients treated early in life have normal visual field responses at school age. Moreover, no deficit in contrast sensitivity was detected. The absence of long-term visual deficits was not related to the dosage or duration of treatment.

**CONCLUSION:** Our method, which is rapid, objective and covers a large visual field, thus appears promising to study the innocuity of VGB in young children.

## Évidence suggérant une région maculaire chez les rats

A. Polosa<sup>1A</sup>, W. Liu<sup>1A</sup>, S. Chemtob<sup>1B</sup>, P. Lachapelle<sup>1A</sup>. <sup>A</sup>Ophthalmology/Neurology-Neurosurgery, <sup>B</sup>Pharmacology, <sup>1</sup>McGill Univ/Montreal Children's Hospital, Montreal, QC, Canada.

**Purpose:** Adult albino rats exposed to a bright luminous environment will promptly develop an asymmetric LIR, where the superior hemiretina (SR) shows more pathology than the inferior one (IR). Juvenile rats will not readily demonstrate this asymmetry. We investigated the dynamic of the pathophysiological processes triggered within the two hemiretinas of the younger rats that ultimately develops into the typical asymmetric retinopathy as the animal ages.

**Methods:** Multifocal ERGs (mfERG: VERIS 5.1; camera display unit, 37 hexagons; white: 200 cd.m<sup>-2</sup>; black: 0 cd.m<sup>-2</sup>; background: 100 cd.m<sup>-2</sup>; bandwidth: 10-100 Hz; N=16) and histology (to determine the thickness of Outer Nuclear Layer (ONL) were performed from P30 throughout P60 (at 5 day intervals) in control and exposed (P14-P28; 12D: 12L; 10 000 lux) juvenile Sprague Dawley rats (N=42). Western blots (N=7) were also carried out in order to compare the levels of CNTF between the two hemiretinas.

**Results:** Control rats showed no significant hemiretinal disparity, irrespective of age (mean SR/IR ONL thickness ratio: 0.96±0.08). The thickness of the SR ONL was 50%, 26% and 17% of control (p<.05) at P30, P40 and P60 respectively compared to 64%, 53% and 27% (p<.05) for the IR ONL. Significant hemiretinal ONL differences were first seen at P40 (0.53±0.13; p<.05) and remained so until the end of the experiment (P60: 0.54±0.14; p<.05). In control rats, the mfERG SR/IR ratio was 0.95±0.18 compared to 1.91±0.65 (p<.05) for the exposed rats at P30 and 0.65±0.22 (p<.05) and 0.70±0.13 (p<.05) at P40 and P60 respectively. In control rats, western blots revealed a higher basal level of CNTF in the inferior retina (SR/IR ratio: 0.73±0.29). In exposed rats, a transient 15% increase (p<.05) in the SR CNTF level occurred between P35-P40 and returned to basal levels by P45.

**Conclusions:** While at the onset of the LIR pathophysiological process, the structure and function of the SR and IR are equally affected, that of the SR deteriorates more rapidly in spite of a transient (and probably too late) burst in CNTF activity. We believe that our demonstration of significantly higher CNTF levels in the normal IR could partly explain the hemiretinal discrepancy that characterizes LIR. Finally, one wonder if the enhanced SR function measured at P30 might not reflect the increasing CNTF activity triggered by the light exposure.

**Commercial Relationships:** A. Polosa, None; W. Liu, None; S. Chemtob, None; P. Lachapelle, None.

**Support:** CIHR and Reseau Vision

**Poster:**

**Finding the causal gene for pericentral retinitis pigmentosa.**

Irma Lopez, Julie Racine, Amer Omar, Anneke den Hollander, and Robert Koenekoop

*McGill Ocular Genetics, McGill Electrophysiology, McGill University Health Centre, Montreal, Quebec, Canada; Human Genetics, Radboud Medical Center University of Nijmegen, The Netherlands.*

**Purpose:** Pericentral retinitis pigmentosa (PCRP) is a peculiar and important subtype of RP as photoreceptor death is confined to a well-defined retinal region, while inside and outside of this circle of cell-death, photoreceptors are viable, despite carrying the mutation. The causal gene for PCRP is not known, and discovering it will advance our understanding of retinal patterning, photoreceptor biology and retinal genetics. We identified a consanguineous Lebanese pedigree with three affected sibs with PCRP and hypothesize that the causal gene is novel, and our aim is to identify it using whole genome scanning. **Methods:** We phenotyped the affected patients using projected Snellen acuities, rod and cone mediated ERGs (Diagnosys LLC, Lowell, USA), retinal photography (Canon CR-1 Mark II, USA), *in vivo* microscopy and auto-fluorescence using the SD Spectralis OCT (Heidelberg engineering, Germany) and kinetic perimetry (Goldmann visual fields (GVF)). DNA was collected from the entire family, after obtaining informed consents. We excluded common, known ARRP mutations (18 genes, 585 mutations) using APEX technology (Asper Ophthalmics). We then performed whole genome scanning (WGS) of the proband to search for loss of heterozygosity (homozygous) regions using SNP genotyping and the Ultra High-Throughput Bead Lab Technology (Infinium assay). Regions of interest were further analyzed using the Illumino Genome Viewer and P-link software. After positional candidate genes were identified using the USCS human genome browser, we utilized bioinformatics, gene ontology, interpro domain comparisons, and gene expression profiling to identify and rank functional candidates. **Results:** Affected patients had typical pericentral scotomas from 2-20 degrees on GVF. Acuities ranged from 20/60-20/100. Rod mediated ERGs were non-detectable, but the cone mediated ERGs were measurable with 10  $\mu$ V b-wave amplitudes and delayed timing. Whole genome SNP genotyping identified eight large homozygous regions ranging from 6-41 Mb, none containing known RP genes. The largest interval (41 Mb) resides on chrom. 2 and contains 319 retinal genes, with two very obvious candidates, one involved in phototransduction, the other in eye development. The second largest region is on chrom. 20 (21 Mb) and contains 200 genes with one very obvious candidate, known to cause a very different eye disease. We found a small deletion on chrom. 19q13.31. We are currently identifying the LOH regions of the two affected sibs to reduce and narrow the number of significant intervals, and we are screening other PCRP families, to test the locus heterogeneity hypothesis. **Conclusion:** WGS, using SNP arrays identified eight novel intervals, none of which overlap with known loci or genes for RP. Thus, PCRP is a unique form of RP with its own novel genetic cause. Finding this gene will improve our understanding of both photoreceptor death and health. Funding: CIHR, FFB-Canada, FRSQ, Reseau Vision.

## **Imaging cornea on a whole eye by multi-harmonic microscopy**

Louis Jay,<sup>1,2,3</sup> Carolyne Dion, PhD,<sup>1,3</sup> Arnaud Brocas, PhD,<sup>4</sup>  
Kanwarpal Singh,<sup>1,3</sup> Jean-Claude Kieffer, PhD,<sup>3</sup> Isabelle Brunette, MD, FRCSC<sup>1,2</sup>  
Tsuneyuki Ozaki, PhD,<sup>1,3</sup>

- (1) Maisonneuve-Rosemont Hospital Research Center, Montreal, QC, Canada
- (2) Department of Ophthalmology, University of Montreal, Montreal, QC, Canada
- (3) Institut national de la recherche scientifique - Énergie, Matériaux et Télécommunication, Varennes, QC, Canada
- (4) Laboratoire Laser, Plasmas et Procédés Photoniques, Marseille, France

### **Purpose**

We show that simultaneous second harmonic generation (SHG) and third harmonic generation (THG) can be used to perform high-resolution imaging of full thickness *ex vivo* corneas, allowing clear identification of the various corneal layers. Moreover, our recent experiments were aimed to demonstrate this dual technique for detection in the backward direction on whole rabbit eye, whose cornea thickness is close to that of humans. We have also recently directed our studies to the observation of surgically operated corneas.

### **Methods**

The laser source used for harmonic generation imaging was a solid-state mode-locked Yb:KGW oscillator (t-Pulse 20; 1030nm, 1000mW, 200fs, 50MHz; Amplitude-Systemes). The nonlinear optical imaging system consisted of an upright microscope built using opto-mechanical parts (AFOptical). Fresh *ex vivo* eyes (pig or rabbit) were obtained from a farm within 6 hours of death and kept in a humid chamber at 4 degrees C until the experiments.

### **Results**

SHG and THG signals were detected in the backward or forward direction, across the entire corneal thickness of the tested eyes with adequate signal-noise ratio. SHG and THG signals provided complementary information with good contrast, since the second harmonic was generated only in the stroma, while the third harmonic was also generated from the epithelial and endothelial layers. Moreover, we have obtained first results showing the effects of surgical operation on the SHG/THG imaging of cornea.

### **Conclusions**

These experiments demonstrated the strength of SHG and THG imaging on full thickness animal corneas. Moreover, the possibility to detect simultaneously both signals in epidetection, along with the similarity between rabbit and human corneas, yields good hope for future clinical application of our prototype microscope.