

RÉUNION ANNUELLE 2006

Vendredi, 20 octobre 2006
Université de Montréal
Local K-500

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

Directeur scientifique
Pierre Lachapelle, PhD

Directrice adjointe
Technologies nouvelles, recherche translationnelle
Isabelle Brunette, MD

Directeur adjoint
Publicité, communication et promotion
Christian Casanova, PhD

Directrice adjointe
Recherche clinique
Jacqueline Orquin, MD

Axe rétine immunologie et oncologie
Dir.: Sylvain Chemtob, MD, PhD
Dir. adj.: Sylvain Guérin, PhD

Axe cerveau et perception
Dir.: Maurice Ptito, MD, PhD
Dir. adj.: Stéphane Molotchnikoff, PhD

Axe cornée et glaucome
Dir.: Lucie Germain, PhD
Dir. adj.: Vincent Raymond, MD, PhD

Axe déficiences visuelles
Dir.: Olga Overbury, PhD

Secrétariat
Ewelina Zimak, B.Sc.

8h15

Mot de bienvenue du Directeur scientifique

8h30

Première session de présentations orales

- O-1 **Mylène Pouliot**
Rôle des kinines dans l'établissement de la rétinopathie diabétique
- O-2 **Sara Hamzeh**
A novel role for endogenous cannabinoids in synaptogenesis
- O-3 **Mathieu Lebeau**
Regulation of the ocular CD36 gene by hypoxia
- O-4 **Sylvain Chemtob**
Mechanisms of vascular degeneration in Retinopathy of prematurity: O₂ and CO₂
- O-5 **Anteneh Argaw**
Implication de la protéine kinase A dans la régulation de la croissance des cellules ganglionnaires de la rétine
- O-6 **Frederic Lebrun-Julien**
Un antagoniste sélectif du récepteur p75^{NTR} des neurotrophines induit la survie des cellules ganglionnaires rétiniennes blessées in vivo : possible rôle des cellules gliales de Müller
- O-7 **Uri Saragovi**
Neurotrophic rationale in glaucoma: a TrkA agonist, but not NGF or a p75 antagonist, protects retinal ganglion cells in vivo
- O-8 **Mohammadali Almasieh**
Galantamine: A Novel Neuroprotective Strategy For Injured Retinal Ganglion Cells In Glaucoma
- O-9 **Sylvain Guérin**
Régulation de l'expression du gène de la phospholipase A2 cytosolique (cPLA2) durant la cicatrisation

10H00

Pause-café et présentations par affiches

- A-1 **Sylvain Bussièrès**
Liaison aux membranes d'une forme tronquée de la lécithine retinol acyltransférase
- A-2 **Marc-André Laurin**
Implication des phospholipases A2 dans la phagocytose des segments externes des photorécepteurs par l'épithélium rétinien pigmentaire (EPR)
- A-3 **Julie Racine**
The effect of bright light exposure on the retinal structure and function of guinea pigs
- A-4 **Ewelina Zimak**
Does melanin protect the retina from oxidative stress at all? Still too early to tell
- A-5 **Anna Polosa**
Light-Induced Photoreceptor Degeneration in Juvenile Rats: Some Die Others Don't! Why?
- A-6 **Allison Dorfman**
The role of apoptosis and neurite retraction on retinal structure and function following postnatal hyperoxia
- A-7 **Jean-François Laliberté**
Comparaison topographique 3D des techniques de Greffes Lamellaires Postérieures (GLP) par petite et large incisions
- A-8 **Jean-François Laliberté**
Mesures pachymétriques avec le topographe Pentacam d'Oculus : Exactitude, répétabilité et reproductibilité des mesures centrale et périphériques chez les sujets normaux
- A-9 **Alvarez Ferré**
Utilisation de la tomographie de cohérence optique (OCT3) pour l'étude de l'anatomie de la plaie dans la greffe lamellaire postérieure
- A-10 **Ossama Nada**
Femtosecond flap dissection in posterior lamellar corneal transplantation
- A-11 **Ingrid Osswald**
L'ouverture des yeux induit l'expression de récepteurs AMPA perméables au Ca²⁺ insensibles à la philanthotoxine dans la rétine en développement

Suite... Présentations par affiches

- A-12 **Sara Dubuc**
Assessing the relationship between objective eye charts and subjective reports of vision in individuals with Age-related Macular Degeneration
- A-13 **Jennifer Gagné**
Effet du glucose et de la répression de la fibronectine sur les cellules de Müller
- A-14 **Robin Tremblay**
Somesthésie chez la souris aveugle
- A-15 **Martin Villeneuve**
Direction maps to complex random dot patterns revealed by optical imaging in area 18 of the cat
- A-16 **Marilyse Piché**
Spatiotemporal receptive fields properties of neurons in the lateral posterior-pulvinar complex of the cat
- A-17 **Brian Ouellette**
Spatial and temporal characteristics of center-surround interactions in PMLS cortex of the cat
- A-18 **Isabelle Pelletier**
Images fonctionnelles du cortex occipital chez l'humain à l'aide de l'imagerie optique (NIRS)
- A-19 **Julie Lachapelle**
Utilité clinique des potentiels évoqués visuels et des temps de réaction chez les individus ayant subi un traumatisme crânien léger à modéré
- A-20 **Alexandre Ben Amor**
Évaluation des effets d'un déficit en acétylcholine sur l'apprentissage visuel du rat
- A-21 **Alexandre Sasseville**
Utilisation de lunettes à lentilles orangées « blue-blockers » en milieu de travail pour faciliter l'adaptation de l'horloge biologique au travail de nuit
- A-22 **Olga Overbury**
Barriers to Vision Rehabilitation Services

11h00 Conférencier invité

Dr. Serge G. Rosolen, DMV, Ph.D

Docteur-vétérinaire ophtalmologiste clinicien, Clinique Vétérinaire Voltaire, Asnières, France
Chercheur senior, INSERM U-592, Institut de la Vision, Paris, France
Consultant en ophtalmologie pour les laboratoires pharmaceutiques

Conférence : *Œil et vieillissement chez l'animal*

12h00 Dîner et présentation du Prix Réseau-Vision (bâtitseur) au professeur Franco Lepore, PhD

13h00 **Deuxième session de présentations orales**

- O-10 **Pascal Belleau**
Évidence qu'un gène modificateur altère la sévérité du glaucome primaire à angle ouvert
- O-11 **Karine Lebel**
Le troisième gène causant le glaucome primaire à angle ouvert, WDR36, est aussi probablement un gène modificateur de la maladie
- O-12 **Vincent Raymond**
WDR36 in glaucoma
- O-13 **Maryse Lessard**
Influence du facteur de transcription Pax-6 sur l'activité du promoteur du gene de l'intégrine $\alpha 4$ dans des lignées de mélanomes uvéaux chez l'humain
- O-14 **Christian Salesses**
La recherche de gènes responsables de maladies de la rétine et du mélanome uvéal: état d'avancement des travaux
- O-15 **Stéphanie Proulx**
Analyses post-mortem de greffes de cornées reconstruites chez le porc
- O-16 **Mathieu Vanni**
Influence de la taille du stimulus sur la sélectivité à l'orientation dans le cortex visuel primaire. Quantification en imagerie optique
- O-17 **Claudine Arcand**
Ségrégation des textures durant la première année de vie : Une étude de potentiels évoqués visuels à haute densité
- O-18 **Narcis Ghisovan**
Plasticité neuronale au cortex visuel chez le chat : Corrélat neuronal de la mémoire?
- O-19 **Jean-Marie Hanssens**
The effect of visual distortions on postural stability assessed in a fully immersive virtual reality environment
- O-20 **Nicole Chabot**
Impact de la cécité et de l'environnement sur le développement et la compensation sensorielle chez la souris
- O-21 **Madeleine Fortin**
Orientation spatiale et cécité : une supériorité des aveugles?

15H00 **Pause-café et dernière visite des affiches**

15H30 **Présentations pour le concours du meilleur doctorant**

- C-1 **Marie-Eve Doucet**
Plasticité des aires visuelles chez le sujet sain et chez l'implanté cochléaire
- C-2 **Karine Zaniolo**
La régulation de l'expression du gène de la poly(ADP-ribose) polymérase-1 (PARP-1) durant la cicatrisation de l'épithélium cornéen

16H00 **Remise des prix et clôture**

RÉSUMÉS

PRÉSENTATIONS ORALES

O-1

Mylène Pouliot

Rôle des kinines dans l'établissement de la rétinopathie diabétique

Mylène Pouliot¹, Nawal Zabouri¹, Réjean Couture², Elvire Vaucher¹

¹Ecole d'optométrie, ²Département de Physiologie, Université de Montréal

But : Le diabète mellitus est associé à une variété de complications dévastatrices irréversibles tant macrovasculaires que microvasculaires, dont la rétinopathie diabétique. Un lien causal est suggéré entre l'hyperglycémie, le stress oxydatif et le développement des complications cliniques associées au diabète. Nous avons montré récemment que le récepteur B₁ des kinines (B₁R), qui est généralement absent ou sous-exprimé dans les tissus sains mais lié au stress oxydatif, est exprimé dans le lit vasculaire de la rétine de rat après induction du diabète par streptozotocine (STZ). De plus, la stimulation des B₁R induit une vasodilatation des vaisseaux rétinien *in vitro*, suggérant une implication du B₁R dans la régulation de la perfusion rétinienne et l'étiologie de la rétinopathie diabétique. Le but de notre étude est de mesurer l'effet de la présence du B₁R sur la microcirculation rétinienne dans un modèle de diabète de type 1 (insulino-dépendant induit par STZ) et de type 2 (induit par un régime riche en glucose).

Méthodes : Pour ce faire, le diabète est induit chez le rat Wistar (n=8 par groupe) après injection de STZ (65 mg/kg, i.p.) ou par addition de glucose dans l'eau des rats (solution de 10% glucose). Le débit sanguin rétinien est mesuré *in vivo* par autoradiographie après injection intraveineuse de [C¹⁴]-isopropyl-iodo-amphétamine, 1 semaine après injection de STZ ou 4 et 24 semaines après induction du diabète de type 2. Le débit sanguin est mesuré en présence d'un

agoniste B₁R (Sar[D-Phe⁸]des-Arg⁹-BK) en présence ou non d'un antagoniste B₁R (LF22-0542). Préalablement aux mesures de débit sanguin, les paramètres physiologiques (poids, allodynie tactile, insulïnémie) sont mesurés pour évaluer la présence du diabète. L'électrorétinogramme (ERG) scotopique est enregistré à diverses intensités lumineuses pour évaluer l'effet du diabète sur la fonction rétinienne. Finalement, la morphologie du lit vasculaire rétinien est analysée par histochimie pour l'Adénosine di Phosphatase, enzyme présente au niveau du lit vasculaire.

Résultats : Dans une première étape nous avons induit le diabète de type 2 et cela constitue les données préliminaires présentées ici. Après 24 semaines de régime hyperglucosé, le diabète de type 2 est établi chez les rats traités, comme montré par une hypersensibilité tactile (seuil de sensibilité de 19±3 g vs 8±3 g, p=0.02, t-test, témoin vs diabétique) due aux neuropathies, une augmentation de poids (516±3 g vs 690±24 g, p<0.001) et une hyperinsulïnémie. Par ailleurs, nos résultats préliminaires suggèrent qu'il y a une atteinte de l'onde a rétinienne, notamment à la plus forte intensité (latence moyenne de 7.8±0.2 ms vs 7.3±0.2 ms, p=0.007 ; amplitude moyenne de 244±46 µV vs 179±38 µV p= 0.02, t-test, témoin vs diabétique).

Conclusion : Les résultats tendent à montrer que le diabète de type 2 affecte la fonction rétinienne sans toutefois modifier la morphologie du lit vasculaire rétinien. Les résultats escomptés devraient démontrer une augmentation du débit sanguin rétinien chez ces animaux lors de l'application d'un agoniste B₁R due à la présence des B₁R sur le lit vasculaire rétinien.

Supporté par le réseau de recherche en santé de la vision du FRSQ (bourse de recrutement pour MP et projet rassembleur pour EV et RC)

O-2

Sara Hamzeh

A novel role for endogenous cannabinoids in synaptogenesis

Hamzeh S. and Bouchard J.-F.

École d'optométrie, Université de Montréal, 3744 rue Jean-Brillant, Montréal, H3T1P1

Previous studies have described a signaling system in which postsynaptic neurons release endocannabinoids that diffuse retrogradely and transiently decrease neurotransmitter release. In this study we propose that endocannabinoids might be involved in regulating synapse formation and maintenance. Endocannabinoids act on G-protein-coupled CB1 receptors that upon stimulation inhibit cAMP production and substantially decrease protein kinase A (PKA) activity. Furthermore the cAMP/PKA pathway and Deleted in Colorectal Cancer (DCC) have been implicated in synaptogenesis and in the development of dendritic and axonal filopodia, an essential step in synapse formation.

Here we demonstrate, using antagonists of CB1 receptor (AM251 and O2050), that endogenous cannabinoids decrease synaptic density. Moreover, we observe that PKA pathway and DCC play an essential role in the regulation of synaptic density mediated by CB1 receptor. In another set of experiments, we show, using the same antagonists of CB1 receptor, that endogenous cannabinoids decrease the formation of dendritic and axonal filopodia. Our experimental evidences indicate that this modulation is dependent on the PKA pathway and on DCC.

In this study, we show clearly for the first time that endogenous cannabinoids have a profound effect on synapse formation and explain a novel mechanism regulating this phenomenon. Understanding the mechanisms involved in synaptogenesis still remains a fundamental question in neuroscience and an essential tool in developing new treatments for several CNS diseases.

Support Contributed By: The CIHR and CFI. J.F.B. holds scholarship from the Health Research Foundation Rx&D-CIHR.

O-3

Mathieu Lebeau

Regulation of the ocular CD36 gene by hypoxia

Mathieu Lebeau,¹ Bupe Mwaikambo,² Swathi Seshradi,² Sylvain Chemtob,^{1,2} Pierre Hardy.¹

¹*Departments of Pediatrics & Pharmacology, Université de Montréal,* ²*Departments of Pharmacology and Therapeutics, McGill University, Montreal, Quebec.*

Hypoxic injury to the ocular surface provokes an inflammatory response which leads to free radical-induced lipid peroxidation of membrane oxidized phospholipids (oxPLs). CD36, a scavenger receptor, binds to a variety of ligands including oxPLs. CD36 is involved both physiologically and pharmacologically in inhibition and regression of inflammatory corneal neovascularization (CNV), however, little is known regarding the regulation of CD36 during hypoxia. We therefore examined the expression of CD36 following hypoxia-induced injury *in vitro* and *in vivo*. Initial experiments using a murine model of inflammatory CNV revealed an upregulation of CD36 mRNA following corneal injury. Subsequent experiments on human microvascular endothelial cells (HMVECs) revealed that CD36 was strongly induced by hypoxia (2% O₂) both at the level of mRNA and protein. With the use of specific inhibitors, we demonstrated that hypoxic induction of CD36 depends on active protein synthesis, but not mRNA stability. Interestingly, pre-treatment of HMVECs with the antioxidants tempol and U74389 abolished the effect of hypoxia, suggesting that it involves production of reactive oxygen species (ROS). To corroborate our *in vitro* findings, we assayed corneal and retinal tissue from mice exposed to 8% oxygen by real-time PCR and observed a 3.5- and 6-fold increase in CD36 mRNA expression respectively. These data

provide unique insight into a previously undescribed induction of CD36 by hypoxia in both endothelial cells and ocular tissue.

O-4

Sylvain Chemtob

Mechanisms of vascular degeneration in Retinopathy of prematurity: O₂ and CO₂

S. Chemtob, E. Kermorvant, F. Sennlaub, D. Checchin, M. Beauchamp, S. Brault, C. Quiniou, M. Sirinyan, P. Hardy, P. Lachapelle, M. Balazy.
Hôpital Ste. Justine, Research Centre, Departments of Pediatrics, Ophthalmology and Pharmacology, Montreal, Quebec, Canada.

Retinopathy of prematurity (ROP) is characterized by a phase of arrest in vascular development associated with vasoobliteration, which is followed by an ischemic phase resulting in neovascularization. Major factors involved in vascular degeneration include a suppression in VEGF expression combined with a rise in reactive oxygen species and corresponding peroxidation products. On one hand, ischemia-induced retinal (rather than preretinal) neovascularization can be considered beneficial in salvaging the tissue. Yet, despite production of angiogenic factors and nitric oxide within ischemic tissues, compensatory ingrowth of new vessels fails to provide adequate vascularization. Thus, we hypothesized that local factors counter efficient revascularization via nitrosative stress related pathways.

Along with hypoxia, ischemia also produces a concomitant elevation of CO₂. In the developing subject, hypercapnia has been associated with the development of ROP in humans and confirmed experimentally. However, the significance of hypercapnia, particularly on neovascularization, has been relatively overlooked compared to the numerous studies on hypoxia. We investigated the mechanisms by which hypercapnia impair vascular development. We found that acute and prolonged CO₂ exposures inhibit developmental neovascularization of the retinal vasculature, as well as revascularization of

the ischemic retina. This was associated with increased eNOS, generation of highly reactive nitrogen species (including peroxynitrite) and downregulation of the pro-survival and angiogenic PGE₂ receptor, EP₃; VEGF and its receptors were not affected. NOS inhibitors as well as peroxynitrite decomposition catalyst FeTPPS prevented hypercapnia-induced vasoattenuation. Furthermore, we illustrate that *in vitro* CO₂ results in a NO-dependent microvascular endothelial cell (EC) protein nitration and cell death.

Mediators of nitrosative stress remain for the most part unknown. *Trans*-arachidonic acids (TAAs) are recently described major products of NO₂[•] radical-mediated isomerization of arachidonic acid, and their formation is enhanced by high CO₂ levels; we explored if and how TAAs reproduce biological effects of nitrosative stress. TAAs are generated in our model of retinal microangiopathy *in vivo* in a NO[•]-dependent manner. TAAs induced a selective time- and concentration-dependent cell death of ECs *in vitro*, and resulted in retinal microvascular degeneration *ex* and *in vivo*. These effects are mediated by an upregulation of the anti-angiogenic factor thrombospondin-1 (TSP-1), independently of classic arachidonic acid metabolism; accordingly, TAA-induced vasoobliteration was prevented by selective neutralizing antibodies to TSP-1 as well as to its receptor CD-36.

In summary, our findings uncover previously undescribed mechanisms of hypercapnia-induced cytotoxicity, specifically as it pertains to nitrosative stress in microvascular injury, and provide insight into therapeutic avenues in the management of disorders involving nitrosative stress such as ischemic retinopathies and possibly encephalopathies commonly encountered in the immature subject. Finally, the dogma regarding safety of hypercapnia may need to be revisited.

O-5

Anteneh Argaw

Implication de la protéine kinase A dans la régulation de la croissance des cellules ganglionnaires de la rétine

Anteneh Argaw^{1, 2}, Denis Boire^{2, 3}, Jean-François Bouchard² et Maurice Ptito²

¹Département des sciences biomédicales, Faculté de médecine, Université de Montréal, ²École d'optométrie, Université de Montréal, ³Département de chimie-biologie, Université du Québec à Trois-Rivières

La navigation des cônes de croissance est guidée par différentes molécules chimiotropiques présentes dans leur environnement. L'AMPC est un messenger intracellulaire impliqué dans plusieurs aspects fonctionnels du neurone, dont sa croissance. De plus, celui-ci module le comportement du cône de croissance en réponse à certaines molécules de guidage. Durant le développement, les cellules ganglionnaires de la rétine (CGRs) des rongeurs émettent de nombreuses collatérales vers le thalamus. Lors de la maturation, ces axones rétractent certains de leurs prolongements.

Le but visé par ce projet est de comprendre le rôle de la voie de signalisation AMPc/PKA dans l'élongation, la stabilisation, ainsi que la rétraction de ces projections. D'après nos résultats préliminaires, l'injection intraoculaire de dibutyryl AMPc, un analogue de l'AMPc, chez le hamster nouveau-né semble promouvoir la croissance des projections des CGRs. L'inhibition de la protéine kinase A (PKA), un effecteur en aval de l'AMPc, par l'injection intraoculaire de KT5720, semble freiner cette croissance. De plus, les résultats obtenus à partir de cultures primaires de CGRs hautement purifiées, suggèrent que l'AMPc agit directement sur les CGRs en activant la PKA. Nous essayons présentement de déterminer le rôle de la voie de signalisation AMPc/PKA sur le guidage des cônes de croissance des CGRs. Ces expériences permettront une compréhension plus approfondie des mécanismes moléculaires

fondamentaux qui caractérisent la plasticité morphologique des axones rétiniens lors du développement. De plus, ces mécanismes permettront éventuellement le traitement de maladies congénitales, neurodégénératives ou post-traumatiques.

Ces travaux ont été financés par les IRSC et le CRSNG. A.A. détient une bourse de formation au doctorat de la Fondation E.A. Baker (INCA) et des IRSC. J.-F.B. est chercheur-boursier de la Fondation de recherche en santé de Rx&D-IRSC. M.P. est titulaire de la Chaire Harland Sanders en sciences de la vision.

O-6

Frederic Lebrun-Julien

Un antagoniste sélectif du récepteur p75^{NTR} des neurotrophines induit la survie des cellules ganglionnaires rétiniennes blessées in vivo : possible rôle des cellules gliales de Müller

F. Lebrun-Julien^{1A}, H.U. Saragovi^{2B}, A. Di Polo^{1AC}.

^ADépartement de Pathologie et Biologie Cellulaire, ^BPharmacology and Therapeutics; Lady Davis Research Institute, ^CDépartement d'Ophtalmologie, ¹Université de Montréal, Montreal, PQ, Canada, ²Université McGill, Montreal, PQ, Canada.

Sujet: Les neurotrophines jouent un rôle important dans la survie des neurones du système nerveux centrale, mais leur utilisation à des fins thérapeutiques a toujours échoué du à leur toxicité, leur temps de demi-vie très court, leur effets pléiotropiques et leur diffusion limitée dans les tissus cibles. Nous avons étudié l'effet de nouvelles molécules plus stables et peptidomimétiques des ligands des récepteurs TrkA et p75 sur la survie des cellules ganglionnaires rétiniennes (CGRs) axotomisées.

Méthode: Chaque petites molécules peptidomimétiques, un agoniste de TrkA (D3) et un antagoniste de p75, ont été injectées dans l'humeur vitrée suite à une transection du nerf optique. Pour analyser la survie neuronale, les CGRs ont été marquées de façon rétrograde avec du Fluorogold et ont été quantifiées sur des les

rétilines étalées à une et deux semaines après l'axotomie.

Résultats : Nos données ont démontrées qu'une simple injection intravitréenne de D3, le ligand du récepteur TrkA, induit la neuroprotection des CGRs axotomisées : 80% de la population totale des CGRs ont survécu 1 semaine après l'axotomie et 25% des CGRs à 2 semaines après la blessure alors que qu'à ce moment, il y avait moins de 10% de survie dans les rétilines contrôles traitées avec le ligand inactif.

Conclusions : Nous avons démontré l'effet neuroprotecteur de nouvelles petites molécules peptidomimétiques des récepteurs des neurotrophines *in vivo*.

O-7

Uri Saragovi

Neurotrophic rationale in glaucoma: a TrkA agonist, but not NGF or a p75 antagonist, protects retinal ganglion cells in vivo

H. Uri Saragovi, ZhiHua Shi, Elena Birman
McGill University. Lady Davis Institute-Jewish General Hospital, Pharmacology and Therapeutics, Oncology and the Cancer Center, Bloomfield Center for Research in Ageing.

Glaucoma is a major cause of vision impairment, which arises from the sustained and progressive apoptosis of retinal ganglion cells (RGC), with ocular hypertension being a major risk or co-morbidity factor. Because RGC death often continues after normalization of ocular hypertension, growth factor-mediated protection of compromised neurons may be useful. However, the therapeutic use of nerve growth factor (NGF) has not proven effective at delaying RGC death in glaucoma. We postulated that one cause for the failure of NGF may be related to its binding to two receptors, TrkA and p75. These receptors have distinct cellular distribution in the retina and in neurons they induce complex and sometimes opposing activities. Here, we show in an *in vivo* therapeutic model of glaucoma that a selective agonist of the pro-survival TrkA receptor was

effective at preventing RGC death. Combining the selective agonist of TrkA with intraocular pressure-lowering drugs fully prevented RGC loss. In contrast, neither NGF nor an antagonist of the pro-apoptotic p75 receptor protected RGCs. These results further a neurotrophic rationale for glaucoma.

O-8

Mohammadali Almasieh

Galantamine: A Novel Neuroprotective Strategy For Injured Retinal Ganglion Cells In Glaucoma

M. Almasieh, Y. Zhou and A. Di Polo,
Pathology/Cell, University, Montreal, PQ, Canada.

Purpose: Treatments for glaucoma, currently limited to drugs or surgery to lower intraocular pressure (IOP), are often inefficient. Galantamine is a drug approved by the U.S. Food and Drug Administration and many other jurisdictions for the treatment of Alzheimer's disease. Galantamine is a modest acetylcholinesterase inhibitor and an allosteric potentiator of nicotinic receptors. Galantamine has few side effects and is taken orally by patients. Here we tested if systemic administration of Galantamine resulted in retinal ganglion cell (RGC) neuroprotection in experimental glaucoma.

Methods: Unilateral and chronic elevation of intraocular pressure was induced by injection of hypertonic saline solution into an episcleral vein (Morrison model). IOP from glaucomatous and normal (contralateral) eyes was measured daily in awake animals using a calibrated tonometer. Rats received daily intraperitoneal injections of Galantamine (3.5 mg/kg) dissolved in sterile saline solution. Treatment began on the first day of IOP increase and continued thereafter for the entire duration of the experiment. For RGC density quantification, DiI-labeled neurons were counted in 12 standard retinal areas. RGC axons were counted in optic nerve semi-thin cross sections. Counts were performed in duplicate and in a masked fashion.

Results: Our results demonstrate that daily systemic treatment with Galantamine resulted in striking protection of RGCs from ocular hypertension damage. Galantamine treatment led to higher neuronal densities and better preservation of cellular integrity in glaucomatous eyes compared to vehicle-treated controls. In animals with pressure increase (Δ IOP) between 5-10 mm Hg, Galantamine preserved 90% of RGCs at 5 weeks after ocular hypertension surgery (n=10) compared with 65% of RGCs that survived in control eyes (n=7). A pronounced neuroprotective effect of Galantamine was also observed in a group of animals with higher IOP (Δ IOP= 10-20 mm Hg, n=14). Quantification of RGC axons demonstrated that Galantamine protected a significant number of axons in the optic nerve at 5 weeks after ocular hypertension surgery. Systemic Galantamine treatment did not lower IOP, thus the neuroprotective effect of this drug cannot be attributed to IOP reduction.

Conclusions: Our data provide the first demonstration of the clinical potential of Galantamine as neuroprotective therapy for glaucoma and other optic neuropathies. Galantamine has several competitive advantages including good safety profile and excellent drug pharmacokinetics.

O-9

Sylvain Guérin

Régulation de l'expression du gène de la phospholipase A2 cytosolique (cPLA2) durant la cicatrisation cornéenne

Sylvain L. Guérin^{1,2}, Steeve Leclerc¹ et Christian Salesse²

¹Laboratoire de Recherche en Endocrinologie Moléculaire et Oncologique, ²Unité de Recherche en Ophthalmologie, Centre de Recherche du CHUL

Les lésions cornéennes comptent pour une proportion importante des troubles visuels et

consultations médicales pour problèmes oculaires en Amérique du Nord. La cicatrisation cornéenne est un processus complexe qui peut être sérieusement affecté par l'inflammation. En effet, les kératites et l'inflammation cornéenne résultent souvent en l'opacification de la cornée. Certaines phospholipases A2 (PLA2) jouent un rôle important dans l'inflammation car elles hydrolysent spécifiquement l'acide arachidonique qui est le précurseur des leucotriènes et des prostaglandines. Ces composés représentent de puissants médiateurs de l'inflammation et sont reconnus pour être en partie responsables de l'inflammation cornéenne. Nous avons démontré récemment que l'épithélium cornéen exprimait *in vivo* et *in vitro* la PLA2 cytosolique alpha (cPLA2 α) qui démontre la plus grande spécificité pour l'acide arachidonique. Afin de donner suite à ces travaux, nous avons cloné différents segments du promoteur du gène cPLA2 α humain en amont du gène rapporteur CAT et évalué son fonctionnement dans des cultures de cellules épithéliales de lapins (CECL) ensemencées à des densités reproduisant les étapes clés de la cicatrisation cornéenne. La cartographie à la DNaseI ainsi que des essais de retard su gel (EMSA) ont été réalisés afin de mettre en évidence la liaison de facteurs de transcription au promoteur du gène cPLA2 α . Puisque nous avons démontré que les étapes initiales de la cicatrisation cornéenne se traduisent par une élévation importante du niveau d'expression des facteurs de transcription Sp1 et Sp3 et que des sites pour ceux-ci ont été identifiés dans le promoteur du gène cPLA2 α , nous avons introduit, par transfection, les plasmides cPLA2 α /CAT dans des cellules de Drosophile SL2 déficientes dans la production de ces protéines (Sp1 et Sp3) afin de vérifier la contribution de ces facteurs dans la transcription du gène cPLA2 α . Cette présentation résume l'ensemble des résultats obtenus et les conclusions qui en résultent.

O-10

Pascale Belleau

Évidence qu'un gène modificateur altère la sévérité du glaucome primaire à angle ouvert

Pascal Belleau¹, Karine Lebel¹, Rose Arseneault¹, Jean-Louis Anctil³, Annie Duchesne¹, Éric Shink¹, Marc-André Rodrigue², Gilles Côté³, Marcel Amyot⁴, Réseau Glaucome Québec, Vincent Raymond^{1,2}.

¹Laboratoire de génétique et génomique oculaires, ² Plateforme de Séquençage et Génotypage des Génomes, Centre de recherche en endocrinologie moléculaire et oncologique, Centre de recherche du CHUL, Université Laval; ³ Département d'ophtalmologie, CHA Hôpital du St-Sacrement, Université Laval; ⁴ Département d'ophtalmologie, Université de Montréal

Objectif: Le glaucome est la 2^{ième} cause de cécité dans le monde. Trente à 50% des cas seraient de causes héréditaires. À ce jour, 12 régions du génome, appelées loci, ont été identifiées comme contenant un gène responsable de glaucome primaire à angle ouvert (GPAO). Seulement, 3 de ces gènes ont été caractérisés: *myociline (MYOC)*, *optineurine(OPTN)* et *WDR36*. Leurs mutations causent le GPAO. Nous avons rapporté antérieurement un très grand pedigree (CA) chez qui le GPAO causé par mutation MYOC K423E ségrégait de façon autosomique dominante. Les porteurs de cette mutation démontraient une variabilité très importante pour l'âge au diagnostic (AAD) de la maladie. Notre étude vise à comprendre les mécanismes moléculaires responsables de cette variabilité. Notre hypothèse est qu'un 2^{ième} gène, appelé modificateur, altère la sévérité du glaucome chez les porteurs de la mutation MYOC K423E.

Méthode: Nous avons analysé si certains sous-phénotypes du GPAO, comme l'âge au diagnostic ou la rapidité de la dégénérescence du nerf optique, se regroupaient dans certains

branchons particuliers du pedigree CA. Pour ce faire, nous avons étudiés 709 individus dont 142 étaient porteurs hétérozygotes de la mutation K423E. Les dossiers ophtalmologiques de 134 de ces porteurs furent analysés selon des critères strictes. Des analyses de clusterisation furent par la suite effectuées.

Résultats: Quatre-vingt six (86) des 134 porteurs furent diagnostiqués GPAO, 17 autres montraient de l'hypertension intraoculaire (HTO), un symptôme précédent toujours le glaucome dans cette famille et 27 étaient encore asymptomatique. L'âge d'apparition de la maladie (GPAO ou HTO) variait de 7 à 63 ans. L'âge moyen au diagnostic était de 27 ans. La pénétrance était de 73% chez les porteurs âgés de 35 et plus. Nous avons défini le voisinage de chaque porteur comme étant l'ensemble des membres du pedigree où le coefficient de parenté entre le porteur de la mutation et les autres membres était au moins équivalent à celui d'un cousin germain. Pour chaque hétérozygote, nous avons ensuite calculé la médiane de AAD pour le voisinage de chaque porteur. Chaque hétérozygote a été classifié en 3 catégories selon cette médiane (≤ 25 ans, de 26 à 33 ans ou ≥ 34 ans). Nous avons observé 5 zones distinctes, dénommées clusters, relativement à AAD. 43 porteurs se répartissaient dans 3 zones où la médiane du voisinage de la majorité des individus était de ≥ 34 ans. Dans les deux autres zones cette médiane était de ≤ 25 ans. Nous avons aussi observé un ancêtre commun distinct pour chacune de ces clusters.

Conclusion: Notre étude confirme la très grande variabilité de l'âge au diagnostic dans la famille CA. Par ailleurs, les hétérozygotes se regroupent dans des grandes classes extrêmes par rapport à l'AAD. Cette observation de sous-groupes distincts pour l'âge diagnostic suggère fortement la présence d'au moins 1 gène modificateur altérant la sévérité du glaucome chez les porteurs de la mutation MYOC K423E.

O-11

Karine Lebel

Le troisième gène causant le glaucome primaire à angle ouvert, *WDR36*, est aussi probablement un gène modificateur de la maladie

Karine Lebel¹, Pascal Belleau¹, Rose Arseneault¹, Jean-Louis Anctil³, Annie Duchesne¹, Marc-André Rodrigue², Gilles Côté³, Marcel Amyot⁴, Réseau Glaucome Québec, Vincent Raymond^{1,2}.

¹Laboratoire de génétique et génomique oculaires, ² Plateforme de Séquençage et Génotypage des Génomes, Centre de recherche en endocrinologie moléculaire et oncologique, Centre de recherche du CHUL, Université Laval; ³ Département d'ophtalmologie, CHA Hôpital du St-Sacrement, Université Laval; ⁴ Département d'ophtalmologie, Université de Montréal

Objectif: Le glaucome primaire à angle ouvert (GPAO) est une maladie génétique hétérogène dans 30 à 50% des cas. Celle-ci se transmet selon un mode mendélien autosomique dominant ou récessif, ou selon un mode non-mendélien dit complexe (multifactoriel et/ou multigénique). Douze loci ont été associés au GPAO et 3 gènes identifiés. *WDR36* a récemment été caractérisé comme 3^{ième} gène du glaucome. Ce gène, localisé sur le chromosome 5q, encode une protéine de 951 acides aminés (AA). Dans certaines familles, des mutations *WDR36* ne co-ségrègent pas avec le GPAO. Nous avons donc émis comme hypothèse que *WDR36* pourrait être un gène modificateur altérant certains des symptômes du GPAO chez des patients où la maladie est causée par un autre gène. Pour tester cette hypothèse, nous avons déterminé la distribution des variations *WDR36* dans des familles canadiennes-françaises chez qui les membres atteints de GPAO étaient porteurs de mutations *myociline*, 1^{er} gène du glaucome.

Méthodes: Dans 7 familles canadiennes-françaises (945 individus dont 569 furent

prélevés), nous avons étudié 180 porteurs de mutations *MYOC*. Chez ces porteurs, 100 individus étaient atteints de GPAO, 23 d'hypertension oculaire (HTO) et 39 individus étaient normaux. Les dossiers ophtalmologiques de 18 porteurs sont encore à l'étude. Une de ces familles comprenait 142 porteurs hétérozygotes de la mutation *MYOC* K423E. Les 23 exons de *WDR36* furent séquencés chez tous ces 180 porteurs à partir de leur ADN génomique.

Résultats: Cinq changements d'acides aminés *WDR36* furent observés chez 27 porteurs. Douze étaient porteurs de la variation *WDR36* L25P, 4 porteurs de la D33E (1 porteur aussi de la xxx), 5 porteurs de la H212P, 2 porteurs de la A449T et 5 porteurs de la D658G. Parmi ces 27 porteurs, 21 étaient atteints de GPAO, 1 de HTO et 3 sont normaux. Dans une même fratrie, il semble que des variations *WDR36* pourraient aggraver la maladie. L'analyse des 142 phénotypes de notre grande famille démontre que 2 clusters du pedigree sont plus sévèrement atteints de GPAO que 3 autres, du à la présence d'au moins 1 gène modificateur (voir le résumé de P. Belleau *et al.*, ce congrès). Pour vérifier si *WDR36* était l'un de ces modificateurs pour la sévérité du phénotype, nous avons comparé l'âge au diagnostic des porteurs de variations *WDR36* à celle des individus non-porteurs avec qui ils partageaient un coefficient de parenté au moins équivalent à celui de cousins germains. Chez les porteurs *WDR36*, l'âge au diagnostic tend à être plus jeune que celui des individus qui leur sont étroitement apparentés.

Conclusion: Quoiqu'encore préliminaire, notre étude semble démontrer que des variations *WDR36* pourraient augmenter la sévérité du GPAO dans des fratries. Nos analyses semblent aussi démontrer que *WDR36* pourrait aussi diminuer l'âge d'apparition de la maladie dans un grand pedigree *MYOC* K423E. Le gène *WDR36* serait ainsi probablement un gène modificateur.

O-12

Vincent Raymond WDR36 in glaucoma

Vincent Raymond, Stéphane Dubois, Rose Arseneault, Jean-Louis Anctil, Annie Duchesne, Marc-André Rodrigue, The Québec Glaucoma Network et Banque de données génétique et cliniques des maladies héréditaires de l'œil du Québec

Laboratory of Ocular Genetics and Genomics, CREMO, Laval University Hospital (CHUL) Research Center, Québec City, Province of Québec, Canada

Purpose: Twelve loci have been mapped for primary open angle glaucoma (POAG), but only three of these *GLC1* genes have been identified. In 2005, the *WD repeat domain 36* gene (*WDR36*) was characterized as the third POAG gene at the *GLC1G* locus on chromosome 5q22.1 (Hum Mol Gen (2005)14:725). *WDR36* is a highly polymorphic gene. This feature hampers in assessing if a sequence variation may be categorized as a disease-associated mutation or as a common polymorphism. The French-Canadian population of the Province of Québec, Canada, exhibits frequent founder effects that facilitate in estimating the contribution of mutated genes to particular disorders. To determine which variations may be considered mutations, we assessed the prevalence and diversity of *WDR36* variations in our population and established genotype/phenotype correlations for carriers of the variations. We further performed a preliminary metaanalysis using data gathered in this study and results obtained in three other investigations.

Methods: All 326 affected participants were investigated for optic nerve degeneration, visual field impairment and intraocular hypertension by members of The Québec Glaucoma Network, a group of 103 ophthalmologists covering all regions of Québec. The 23 coding exons and flanking introns of *WDR36* were screened by direct genomic sequencing in 295 unrelated POAG patients and

31 normal tension glaucoma (NTG) subjects from Province of Québec. 171 asymptomatic controls were screened on all 23 exons.

Results: Overall, 23 sequence alterations were detected. 18 of these encoded non-synonymous amino acid (AA) changes while the remaining 5 variations were highly polymorphic SNPs with no effect on the protein. Prevalence of non-synonymous AA changes was 17% in glaucoma patients versus 7% in our controls. Twelve (12) of the non-synonymous variants were observed only once in our patients; none of them were detected in any of the controls. Eight (8) of these 12 variants were novel. These were the T65K, D126N, K284T, I292T, N351T, H411R, N626T and G851R variants. The 4 remaining non-synonymous variants were the N355S (observed in 1/301 patients), A449T (3/294), R529Q (1/295) and M671V (1/301) variants. The most common non-synonymous variation was the H212P variant detected in 13/291 (4.5%) glaucoma probands and 3/168 (1.8%) controls. The L25P susceptibility mutation, observed in 12/307 POAG probands and 3/171 controls, showed a tendency to lower the age-at-onset of the glaucoma phenotype. The D658G alteration, previously reported as a disease-causing mutation, was found in 3/311 patients and 3/107 controls. The H212P and D658G variations did not segregate with POAG in two glaucoma families assessed in relatives of affected variation carriers. Our metaanalysis showed that three variations may be disease-associated mutations. These were the L25P, H212P and A449T variants.

Conclusion: *WDR36* is a highly polymorphic gene, a characteristic of modifier genes. The L25P variant showed a tendency to lower age-at-onset of the disorder and may be considered a disease-modifying mutation. The H212P and A449T variants may be considered disease-causing and/or disease-modifying mutations. Since several other variations were detected only in a very few number of patients, additional studies are required to define if these variations may be associated with glaucoma. Our study suggests that *WDR36* variants may

contribute to the glaucoma phenotype by interacting with other POAG genes and/or by acting as a modifier gene.

O-13

Maryse Lessard

Influence du facteur de transcription Pax-6 sur l'activité du promoteur du gène de l'intégrine $\alpha 4$ dans des lignées de mélanomes uvéaux chez l'humain

Lessard Maryse¹, Landreville Solange², Leclerc Steeve¹, Salesse Christian^{2,4} et Guérin Sylvain^{1,3}.

¹Centre de Recherche en Endocrinologie Moléculaire et Oncologique, et ²Unité de Recherche en Ophtalmologie, CHUL, ³Département d'Anatomie-Physiologie et ⁴Département d'ORL, Faculté de Médecine, Université Laval

Objectifs: Le mélanome uvéal est la tumeur intraoculaire la plus commune dans la population adulte. Lorsque des métastases surviennent, elles nidifient au foie dans une proportion de près de 90%. Les intégrines, des récepteurs trans-membranaires, exercent une fonction importante lors de l'adhésion et de la migration cellulaire. Nous avons démontré que le niveau d'expression du gène encodant la sous-unité de l'intégrine $\alpha 4$ est anormalement élevé dans une lignée dérivée de métastases hépatiques (H79) provenant d'un patient ayant développé un mélanome uvéal primaire comparativement à des lignées dérivées de mélanomes uvéaux primaires, mais n'ayant aucun potentiel métastatique (SP6.5, SP8.0 et TP31). Nous avons également démontré que le facteur de transcription Pax-6 se lie au promoteur du gène $\alpha 4$ afin d'en modifier la transcription. Dans cette étude, nous avons comparé le niveau d'expression de Pax-6 dans différentes lignées de mélanome uvéal et évalué son activité de liaison au promoteur $\alpha 4$.

Méthode: Pour se faire, nous avons réalisé des analyses en immunobuvardage de type Western, de rétention en gel en plus de transfections cellulaires.

Résultats: Les résultats obtenus indiquent une plus forte expression de Pax-6 dans la lignée métastatique en plus d'une plus grande activité de liaison au promoteur $\alpha 4$.

Conclusion: Ainsi, la nidation préférentielle au foie de ce type de cancer pourrait être liée à l'expression d'un niveau anormalement élevé de la sous-unité $\alpha 4$.

O-14

Christian Salesse

La recherche de gènes responsables de maladies de la rétine et du mélanome uvéal: état d'avancement des travaux

Solange Landreville, Caroline Lupien et Christian Salesse

Unité de recherche en ophtalmologie, Centre de recherche du CHUQ, Pavillon CHUL, Faculté de médecine, Université Laval

Objectifs : Le mélanome uvéal représente la principale forme de tumeur intraoculaire dans la population adulte avec une incidence annuelle de 6-8 nouveaux cas par million d'individus en Amérique du Nord. Ce cancer provient de la transformation maligne de mélanocytes uvéaux normaux et est caractérisé par sa propension à métastaser au foie. Les cellules de Müller sont les cellules gliales prédominantes de la rétine. Des changements dans le comportement des cellules de Müller sont observés chez les patients atteints de différentes pathologies rétinienne, telles que la rétinopathie diabétique. De plus, il a été récemment postulé que les cellules de Müller pourraient agir comme cellules progénitrices de la rétine. L'objectif de ces travaux était d'identifier des gènes exprimés spécifiquement par le mélanome uvéal et les cellules de Müller car ils pourraient être responsables de certaines maladies de l'œil.

Méthodes : Des banques de soustraction ont été préparées afin d'isoler les gènes spécifiques au mélanome uvéal et aux cellules de Müller. Les produits obtenus à la fin de la soustraction ont été clonés pour créer une librairie

de clones candidats. Des amorces ont ensuite été synthétisées pour amplifier spécifiquement certains de ces clones par PCR dans différents tissus.

Résultats et conclusions : Une expression spécifique de la CALNA α (calcineurin A alpha) et de la ch-TOG (colonic and hepatic tumor overexpressed gene) a été démontrée dans le mélanome uvéal par RT-PCR semi-quantitatif. Un nouveau variant épissé de la CALNA α a également été identifié. L'expression de ce nouveau variant a été confirmé par immunobuvardage de type Western. De plus, des analyses par RT-PCR semi-quantitatif ont démontré que les clones UVM1-35, UVM1-109 et UVM3-49, correspondant respectivement à un EST, à un gène inconnu et à une protéine hypothétique, étaient spécifiquement exprimés par le mélanome uvéal. Pour les cellules de Müller, nous avons retenu 4 clones spécifiques (26, 92, D53 et E42). Les résultats de RT-PCR indiquent que le clone 26 est présent dans tous les tissus, alors que les clones 92, D53 et E42 sont présents seulement dans la rétine et des cellules de Müller. Par Northern blot, on a observé que les clones D53 et E42 étaient présents seulement dans cellules de Müller. Les analyses de la librairie de soustraction révèlent la présence de gènes qui sont spécifiquement exprimés dans les cellules de Müller humaines. Certains de ces gènes sont non-identifiés, les nouveaux gènes qui sont spécifiques aux cellules de Müller représentent des gènes candidats pour des pathologies rétinienne.

O-15

Stéphanie Proulx

Analyses post-mortem de greffes de cornées reconstruites chez le porc

Stéphanie Proulx, Patrick Carrier, Alexandre Deschambeault, Isabelle Brunette, Lucie Germain.

Introduction : Environ 38 000 transplantations cornéennes sont exécutées par année aux États-Unis et 42.4% d'entre elles sont dues à des maladies dont l'endothélium cornéen est pathologique. Nous proposons d'améliorer le succès des transplantations cornéennes pour ces dysfonctions endothéliales en greffant des cornées reconstruites par génie tissulaire.

Méthode : À la suite d'une amplification en culture, des cellules endothéliales cornéennes porcines (CECP) ont été ensemencées sur des stromas natifs porcins ou humains préalablement acellularisés et ayant ou non leur membrane de Descemet. Après 2 à 4 semaines en culture, les cornées reconstruites ont été greffées dans l'œil de porc (greffe transfixiante). À ce jour, 7 cornées reconstruites ont été greffées, toutes ensemencées avec des CECP allogéniques, dont 1 reconstruite avec un stroma porcine et 6 avec des stromas humains (4 avec et 2 sans membrane de Descemet). Les animaux ont été sacrifiés entre 0 et 7 jours post-greffe.

Résultats : Les analyses post-mortem en microscopie électronique à balayage démontrent que l'endothélium reconstruit est présent à la suite de la chirurgie et est toujours présent au jour du sacrifice. Les cellules sont entassées et de forme cuboïdales. En histologie, on observe un endothélium en monocouche, bien adhérent et qui recouvre la surface de la membrane de Descemet. Un immunomarquage positif aux kératines 8/18 démontre que ces cellules ne sont pas des kératocytes.

Conclusions : Ces résultats démontrent la faisabilité de greffer des cornées reconstruites par génie tissulaire à l'aide d'un modèle porcine. Le remplacement de la cornée postérieure est une approche novatrice pour guérir les pathologies affectant l'endothélium cornéen.

O-16

Mathieu Vanni

Influence de la taille du stimulus sur la sélectivité à l'orientation dans le cortex visuel primaire. Quantification en imagerie optique

Mathieu Vanni, Christian Casanova
Laboratoire des Neurosciences de la Vision, École d'Optométrie, Université de Montréal

La réponse des neurones du cortex visuel primaire dépend de la taille du stimulus : elle augmente avec la taille pour atteindre une réponse maximum pour une zone appelée champ récepteur. Après, pour une majorité de neurones, la réponse diminue avec la taille pour atteindre une suppression asymptotique. La description cellulaire de ces phénomènes est assez bien documentée mais aucune donnée n'existe quant à leur organisation sur la surface du cortex.

Afin de mettre en évidence cette organisation, nous avons utilisé l'imagerie optique des signaux intrinsèques qui est une technique assez récente permettant de révéler quantitativement l'organisation fonctionnelle du cortex avec une grande résolution spatiale. Les enregistrements ont été réalisés à partir de craniotomie réalisées au niveau de l'aire 17 et 18 sur des chats anesthésiés. Les stimuli étaient des réseaux de barres (de 0.15 à 0.5 cycle par degré – de 2 à 4 Hz) se déplaçant selon quatre orientations. Les stimuli ont été présentés dans des fenêtres concentriques de diamètre variable (3 à 40 degrés et écran total : 120 x 80 deg).

L'organisation rétinotopique du cortex visuel a pu être mise en évidence à l'aide de stimuli circonscrits de 12 deg de large. Cette cartographie a permis de choisir précisément les zones du cortex étudiées. La sélectivité à l'orientation a été mesurée dans le centre de l'activation corticale pour chaque taille de stimulus. La moitié des pixels a montré un maximum d'activation pour un stimulus 'écran total'. L'autre moitié, avait une sélectivité maximum pour une taille de 20 à 35 degrés dans l'aire 18 (n = 7) et de pour une taille de 10 à 20

degrés dans l'aire 17 (n = 3). Dans ces deux aires, la réponse étant en moyenne 30 % plus faible lors des stimulations 'écran total'.

Les modulations observées au niveau des cartes corticales sont vraisemblablement impliquées dans les interactions fonctionnelles entre une cible et son pourtour. Les mécanismes sous-jacents feraient intervenir non seulement les connexions intra-corticales mais aussi les boucles cortico-thalamo-corticales.

Supp : IRSC et CRSNG (CC); CBIE (MV).

O-17

Claudine Arcand

Ségrégation des textures durant la première année de vie : Une étude de potentiels évoqués visuels à haute densité

Claudine ARCAND, Emmanuel Tremblay, Phetsamone Vannasing, Marie-Sylvie Roy, Nicole Fallaha, Franco Lepore, Maryse Lassonde and Michelle McKerral

L'analyse d'une scène visuelle implique de nombreux mécanismes permettant notamment la discrimination figure/fond. Celle-ci peut être réalisée à partir d'indices comme la discrimination des textures des composantes de la scène. En raison de l'amélioration des techniques électrophysiologiques, ce dernier mécanisme peut être étudié objectivement par le biais d'un paradigme particulier (tsPEV) chez de très jeunes enfants, afin d'en décrire le développement. Les potentiels évoqués visuels (PEV) de 51 enfants, obtenus à 1, 3, 6 et/ou 12 mois, ont été enregistrés à l'aide d'un système à haute densité (128 électrodes) en réponse à des stimuli dont la texture était définie par l'orientation. Deux de ces stimuli étaient de bas niveau, présentant une certaine orientation (oriPEV), les deux autres étant des stimuli texturés complexes (texPEV) faits à partir des stimuli de bas niveau. La soustraction de oriPEV à partir de texPEV permet d'obtenir une onde représentant spécifiquement la ségrégation des textures (tsPEV). Les résultats démontrent un patron de développement clair

pour la latence, l'amplitude et la distribution topographique des PEV. Le tsPEV apparaît à 3 mois sans pourtant atteindre la maturité à 12 mois. Une diminution de la latence est particulièrement évidente entre 3 et 6 mois, alors que l'amplitude augmente graduellement avec l'âge de l'enfant. Une augmentation marquée est observée pour oriPEV entre 3 et 6 mois, alors que pour les stimuli texturés, l'augmentation marquée est plus tardive, soit entre 6 et 12 mois. Les résultats suggèrent des patrons de développement différents pour les mécanismes sous-tendant le traitement de stimuli texturés en comparaison à des stimuli simples, et qui pourraient être expliqués par un développement plus tardif des régions cérébrales impliquées dans les mécanismes de ségrégation des textures, notamment en ce qui a trait à la synaptogénèse et la myélinisation.

O-18

Narcis Ghisovan

Plasticité neuronale au cortex visuel chez le chat : Corrélât neuronal de la mémoire?

N. Ghisovan, A. Nemri, S. Shumikhina & S. Molotchnikoff

Il est démontré qu'il est possible de modifier les propriétés optimales à l'orientation des cellules du cortex visuel par l'imposition d'un stimulus orienté de manière non-optimale. Chez le chat anesthésié, nous enregistrons les potentiels d'action dans l'aire 17. Nous stimulons les neurones dans leur champ récepteur par des réseaux de barres sinusoïdaux présentés aléatoirement. Les courbes de syntonisation sont tracées pour chaque neurone. Dans un deuxième temps, nous présentons pendant 13 minutes sans interruption un stimulus d'orientation non-optimale ($\pm 22,5^\circ$). Nous procédons à un nouvel enregistrement pour déterminer l'allure des courbes de syntonisation. Nos résultats démontrent qu'après "entraînement" l'orientation optimale des cellules est modifiée soit vers l'orientation imposée soit dans la direction opposée. Les neurones acquièrent donc transitoirement de

nouvelles orientations préférées. Les déplacements attractifs et répulsifs sont observés respectivement dans 45% et 21% des cas. Le reste des cellules ne subit aucun changement significatif. En moins de 90 minutes, une récupération des propriétés optimales est observée. Dans le but de tester "l'apprentissage" un second test est effectué. S'il existe un phénomène de "mémorisation" nous devrions nous attendre à un gain des réponses neuronales. En effet, les seconds tests d'imposition montrent un taux de décharge plus important à l'orientation imposée. Nos résultats préliminaires indiquent donc que dès le cortex visuel primaire, les neurones performant mieux à la suite d'un "entraînement".

O-19

Jean-Marie Hanssens

The effect of visual distortions on postural stability assessed in a fully immersive virtual reality environment

Jean-Marie Hanssens, Rémy Allard, Jocelyn Faubert.

Laboratoire de psychophysique et perception visuelle, Chaire Industrielle CRSNG-Essilor, École d'optométrie de l'Université de Montréal

Background: In most cases, presbyopic vision is corrected using progressive lens. In spite of the geometric advanced of such products, many progressive lenses wearers have difficulty adapting to them because of the distortions perceived in the bottom of the lenses. The purpose of the present study was to evaluate the influence of the visual distortions induced by progressive lenses on the postural stability of the wearers.

Methods: In order to simulate the visual distortions induced by progressive lens wear, twelve young observers (22 to 35 years of age) were up right in a fully immersive virtual reality environment where the virtual floor, defined by a 10 x 10 m black and white checkerboard pattern, oscillated sinusoidally. The oscillation was performed in medial-lateral (right-left) and

anterior-posterior (front-back) directions. The amplitude (1 to 4°) and temporal frequency (0.03 to 2.0 Hz) of the oscillation were systematically manipulated (for a total of 42 conditions). Postural reactivity, defined by the amplitude of body sway and the instability index, was measured as a function of virtual checkerboard distortion using magnetic sensors placed at the head and close to the centre of mass of the subjects and transformed using Fast Fourier Transformations. Results were analysed using repeated measure ANOVA.

Results: For low frequencies, results showed that body sway increased with the amplitude of stimulation, suggesting a direct relationship between amount of postural movement and visual distortions. Subjects gained stability as the temporal frequency of the distortions increased, thus generating visual-vestibular conflict. Furthermore, phase revealed that postural response delay (lag) significantly increased with visual stimulation velocity indicating a spatio-temporal desynchronization of the environmental perception. Our results suggest that the adaptation difficulties to the progressive lenses could be related to the visual-vestibular conflict induced by visual distortions. Moreover, participants reported feelings of “seasickness” during task execution comparable to what some presbyopes feel during progressive lens wear.

O-20

Nicole Chabot

Impact de la cécité et de l'environnement sur le développement et la compensation sensorielle chez la souris

Nicole Chabot, Jean-François LeHouillier, Stéphane Robert, Robin Tremblay et Gilles Bronchti
GRN, Université du Québec à Trois-Rivières, CP 500, Trois-Rivières

Plusieurs études démontrent qu'une tâche tactile ou auditive active le cortex occipital,

normalement visuel, chez la personne aveugle. Cette compensation sensorielle se met en place surtout lorsque la cécité est précoce. Ce phénomène supporte l'hypothèse d'une réorganisation des voies sensorielles chez l'aveugle précoce qui serait moindre chez l'aveugle tardif. Quelles sont les structures impliquées dans cette réorganisation et est-ce que l'environnement influence cette dernière? Y a-t-il une nouvelle voie sous-corticale qui se met en place et si oui, quand apparaît-elle? Nous tentons d'éclaircir ces questions en étudiant deux modèles animaux : une souris mutante anophtalmique de souche ZRDCT/An, qui possède la particularité de ne jamais développer de yeux ni de nerfs optiques, et une souris de souche C57BL6 énucléée à la naissance. Nos contrôles sont des souris C57 normales, avec yeux. Les deux souches de souris ont été élevées dans un milieu standard ou un milieu enrichi. Nous avons utilisé la technique de l'immunohistochimie de la protéine c-Fos sur coupes coronales pour révéler les structures activées suite à un stimulus auditif. Tous les animaux ont été dépourvus de vibrisses pour limiter le marquage somatosensoriel et ont été placés dans une chambre anéchoïque la veille de l'expérimentation. Le lendemain matin, quelques animaux ont été sacrifiés sans stimulation et les autres ont été soumis à un bruit blanc pendant 60 minutes. En plus des noyaux marqués trouvés dans les structures auditives, nous avons observé des noyaux marqués dans le thalamus visuel - le corps genouillé latéro-dorsal (CGLd) et les aires visuelles primaire (V1), majoritairement, et secondaire (V2) des souris mutantes. Chez les souris énucléées, la majorité des noyaux marqués ont été trouvés dans V2 même s'il y avait quelques noyaux dans V1. L'activité auditive était significativement plus forte chez les souris mutantes du groupe enrichi en comparaison à tous les autres groupes. Notre étude anatomique faite avec du dextran-biotine injecté dans le collicule inférieur (CI) des souris confirme la différence fonctionnelle entre les souris mutantes ZRDCT/An et les souris énucléées à la naissance. En effet, la souris mutante présente de nouvelles

projections axonales à partir du CI qui pénètrent dans le CGLd et le noyau latéro-postérieur (LP). Chez la souris énucléée, des fibres auditives n'ont été trouvées que dans LP seulement. Aucune fibre auditive n'a été trouvée dans le CGLd chez les souris contrôles. Notre étude développementale utilisant le DiI sur cerveaux fixés révèle que les fibres auditives en provenance du CI entrent dans le CGLd au septième jour postnatal (P7) chez les souris mutantes et se stabilisent dès lors. Aussi, des fibres auditives exploratrices ont été observées dans le CGLd des souris contrôles à P7. Elles n'y sont plus à P10. Dans l'ensemble, nos résultats indiquent qu'il existe différents mécanismes développementaux qui sous-tendent la plasticité transmodale chez les souris aveugles. Chez la souris mutante, la plasticité est d'origine sous-corticale tandis qu'elle semble plutôt corticale chez la souris énucléée. De plus, l'enrichissement du milieu semble n'affecter que la compensation sensorielle chez la souris mutante. Subventionné par le CRSNG et le FQRNT.

soumis à une tâche de navigation spatiale dans un labyrinthe grandeur nature. Cette tâche est plus écologique car elle implique un déplacement dans un environnement réel et nécessite l'utilisation de la locomotion. Les participants devaient apprendre des trajets et corriger leurs erreurs d'un essai à l'autre afin d'améliorer leur performance. Les résultats indiquent que les personnes aveugles arrivent à développer des habiletés de rotation mentale de l'espace similaires à celles des personnes voyantes. De plus, il semble que les personnes aveugles possèdent des capacités d'orientation et d'apprentissage de parcours dans l'espace réel adéquates, voire supérieures à celles des voyants.

O-21

Madeleine Fortin

Orientation spatiale et cécité : une supériorité des aveugles?

Fortin, M.¹, Voss, P.¹, Lassonde, M.¹ Rainville, C.², Saint-Amour, D.¹ et Lepore, F.^{1,2}

¹Centre de Recherche en Neuropsychologie et Cognition, Université de Montréal, ²Centre de Recherche Institut Universitaire de Gériatrie de Montréal

La vision joue un rôle très important dans la construction mentale de l'espace. La présente étude tente d'évaluer les habiletés des personnes aveugles, en comparaison à celles de personnes voyantes, à deux tâches de nature spatiale. Les participants aveugles et voyants ont été évalués à l'aide d'une version tactile du « Standardized Road-Map test of Direction Sense » de Money. Cette tâche permet d'évaluer l'orientation topographique virtuelle. Ils ont également été

RÉSUMÉS

PRÉSENTATIONS PAR AFFICHES

A-1

Sylvain Bussières

Liaison aux membranes d'une forme tronquée de la lécithine rétinol acyltransférase

Bussières Sylvain, Bernard Desbat, Rock Breton et Christian Salesse.

U.R. ophtalmologie, Centre de recherche du CHUQ, Faculté de médecine, Université Laval.

Objectif: La lécithine rétinol acyltransférase (LRAT) est une protéine transmembranaire de 230 acides aminés qui catalyse l'estérification du rétinol tout-*trans* en rétinyl ester tout-*trans*. Cette réaction est essentielle dans le cycle visuel des vertébrés. Ce projet de recherche a pour but de déterminer l'interaction avec les membranes d'une forme tronquée de la LRAT (tLRAT) où les domaines transmembranaires ont été supprimés.

Méthodes: La forme tronquée de la LRAT (tLRAT) s'étend des résidus 31 à 196 et a été surexprimée tel que décrit précédemment. Les domaines supprimés ne contiennent aucun résidu requis pour l'activité catalytique. La tLRAT a été purifiée par chromatographie d'affinité. Les interactions avec les membranes ont été caractérisées avec des mesures de pression de surface et par microscopie à angle de Brewster. La Spectroscopie de réflexion-absorption par modulation de polarisation en infrarouge (PM-IRRAS) a été utilisée afin de caractériser la structure secondaire de la tLRAT ainsi que son hydrolyse des phospholipides. La structure secondaire a également été déterminée par dichroïsme circulaire.

Résultats: La tLRAT interagit fortement avec les monocouches de lipides. La microscopie à angle de Brewster a démontré qu'elle forme une structure en forme de dentelle lors de son adsorption aux phospholipides. L'analyse des spectres PM-IRRAS indique que la tLRAT hydrolyse les monocouches de lipides. Cette technique a également permis de démontrer que la tLRAT adopte une structure majoritairement en hélices alpha lorsqu'elle est liée aux monocouches

de lipides. Cette observation est appuyée par des mesures de dichroïsme circulaire électronique et vibrationnel en phase aqueuse qui démontrent que la structure de la tLRAT contient majoritairement des hélices alpha.

Conclusion: La tLRAT lie et hydrolyse les membranes. Sa structure secondaire est composée majoritairement d'hélices alpha et elle forme un film organisé homogène lors de son adsorption aux lipides.

A-2

Marc-André Laurin

Implication des phospholipases A2 dans la phagocytose des segments externes des photorécepteurs par l'épithélium rétinien pigmentaire (EPR)

Laurin Marc-André, Salesse C.

Centre de recherche du CHUQ – Pavillon CHUL-Unité de recherche en ophtalmologie, Université Laval.

Objectifs : Les cellules d'EPR expriment deux isoformes de phospholipases A2 sécrétées (sPLA2) : le type IIA et le type V. Ces enzymes sont impliquées dans le processus d'endocytose des macrophages en interagissant avec un récepteur de sPLA2 de 180 kD. Elles sont aussi impliquées dans le clivage des phospholipides membranaires, ce qui facilite la fusion entre les membranes lors des processus de phagocytose et d'endocytose. Étant donné qu'il existe des similitudes très grandes entre les processus d'endocytose et de phagocytose à l'échelle cellulaire, l'objectif de ces travaux de recherche est de déterminer si ces sPLA2 sont impliquées dans la phagocytose des segments externes de photorécepteurs (SEP) par l'EPR et, le cas échéant, par quel(s) mécanisme(s).

Méthodes : Des expériences de RT-PCR ont été menées pour évaluer l'expression du récepteur de sPLA2 de 180 kD par l'EPR et par la lignée cellulaire ARPE-19. De plus, des lignées d'ARPE-19 surexprimant les sPLA2 de type IIA et V ont été générées par des transfections stables

de plasmides eucaryotes. La quantification de la phagocytose a été réalisée en mesurant l'incorporation des SEP bovins (marqués à la fluorescéine) aux cellules d'EPR en culture. Les expériences de phagocytose ont aussi été conduites en introduisant des sPLA2 exogènes (types IB et IA) connues, respectivement, pour lier ou non le récepteur des sPLA2.

Resultats : Le transcrit du récepteur de sPLA2 est fortement exprimé dans les cellules d'EPR et d'ARPE-19. La surexpression des sPLA2 du type IIA et V, de même que l'addition de sPLA2 du type IB, a résulté en une augmentation dans la capacité phagocytaire des cellules d'ARPE-19 alors que l'ajout de sPLA2 de type IA n'a pas eu d'effet.

Conclusions : Ces résultats suggèrent que la phagocytose des SEP par l'EPR pourrait être influencée par différentes sPLA2. Ces sPLA2 (IB, IIA, V) sont connues pour lier le récepteur de sPLA2 de 180 kD sPLA2 qui est exprimé par les cellules d'EPR. De plus, la sPLA2 de type IA, qui ne lie pas le récepteur ne semble pas avoir d'influence sur la phagocytose. Ces données suggèrent que les sPLA2 participent à la phagocytose des SEP en interagissant avec le récepteur des sPLA2 et non par leur action enzymatique sur les membranes.

A-3

Julie Racine

The effect of bright light exposure on the retinal structure and function of guinea pigs

Julie Racine¹, Sandrine Joly¹, Sylvain Chemtob², Pierre Lachapelle¹.

¹Departments of Ophthalmology and Neurology-Neurosurgery, McGill University-Montreal Children's Hospital Research Institute, Montreal, Quebec, Canada, ²Department of Pediatrics, Ste-Justine Hospital, University of Montreal, Montreal, Quebec, Canada.

Purpose: Previous studies of ours showed that albino rats exposed to a bright luminous environment (10000 lux) for 6 consecutive days

developed a severe LIR with near complete abolition of retinal function. Rods being first (and most) affected led some to suggest that LIR was rhodopsin mediated. The functional anomalies were also accompanied by 1-the destruction [most pronounced in the superior retinal hemisphere (SRH)] of the photoreceptor layer (PL) and 2-a remnant ONL. The purpose of this study was to determine if a LIR of this magnitude could also be evidenced in another albino model namely: the guinea pig (GP).

Methods: Albino GP were maintained under bright cyclic light (10000 lux; 12D:12L) from P15 to P30. Scotopic ERG luminance-response functions (intensities: -6.3 to 0.9 log cd.m⁻².sec) and photopic ERG (0.9 log cd.m⁻².sec; background: 30 cd.m⁻²) were obtained after 5 (L5), 10 (L10) and 15 (L15) days of light exposure. The retinas were harvested for histology following a 15-day period of light exposure.

Results: In GP, most of the functional changes appeared after 15 days of exposure. PHOTOPIC ERG: Irrespective of the duration of the exposure, the amplitude of the a-wave along with the peak time of the b-wave remained unchanged ($p>0.05$). There was however a small but significant reduction in b-wave amplitude (control: $138.34 \pm 4.06\mu\text{V}$; exposed: $125.83 \pm 7.26\mu\text{V}$; $p<0.05$) along with a significant delay in the peak time of the a-wave (control: $12.80 \pm 0.23\text{ms}$; exposed: $13.73 \pm 0.31\text{ms}$; $p<0.05$). Of interest, the number of OP was reduced from 5 to 4. SCOTOPIC ERG: None of the scotopic ERG components were significantly altered following the 15-day exposure. Retinal histology revealed significant increases in the thickness of the ONL (control: $25.00 \pm 1.2\mu\text{m}$; exposed: $30.90 \pm 2.16\mu\text{m}$; $p<0.05$) and GCL (control: $12.50 \pm 0.72\mu\text{m}$; exposed: $17.94 \pm 2.39\mu\text{m}$; $p<0.05$) a feature that was most pronounced in SRH.

Conclusion: Albino GP do not generate a LIR nearly comparable to the devastating one previously demonstrated with the albino rats. Cones are most affected in GP while rods are in rats. Histology reveals massive destruction of the PL in rats and minimal pathology in GP. It is

doubtful that the retinal difference in cone proportion (GP: 8-12%; rats: <2%) or level of retinal illumination can explain these differences. Our results thus suggest that 1-albino animals are not equally susceptible to the effect of a bright environment and 2-the claim that LIR is rhodopsin mediated may not be universal. Supported by CIHR and FRSQ vision network

A-4

Ewelina Zimak

Does melanin protect the retina from oxidative stress at all? Still too early to tell

Ewelina Zimak, Sandrine Joly, Allison L. Dorfman, Anna Polosa, Bich Anh Nguyen, Julie Racine, Pierre Lachapelle.

Departments of Ophthalmology-Neurology-Neurosurgery and Pharmacology, McGill University-Montreal Children's Hospital Research Institute, Montreal, Quebec, Canada

Purpose: In a previous study we showed that compared to neonatal albino Sprague Dawley (SD) rats, neonatal pigmented Long Evans rats were more severely affected following postnatal hyperoxia (the animal model of Retinopathy of Prematurity: ROP). For instance, hyperoxia exposure between P0-P14 (most susceptible exposure interval for hyperoxia: *Dorfman et al., IOVS March 2006*) caused a 20% reduction in a-wave amplitude in SD compared to 50% in LE. Similarly, the rod Vmax value was reduced to 35% of control amplitude SD rats compared to 10% in LE rats. In comparison, the amplitude of the cone b-wave was reduced to 25% of control in SD rats compared to 15% in LE rats. These results suggested to us that melanin might play the role of a pro-oxidant rather than that of a free radical scavenger. The purpose of the present study was to further investigate the role of melanin with the use of another oxidative stress namely, bright light.

Methods: Juvenile SD (n=17) and LE (n=8) rats were exposed to bright cyclic light (12D: 12L; 10,000 lux) from P14 to P28 (most

susceptible exposure interval for light-induced retinopathy in neonatal rats: *Joly et al, IOVS in press*). Scotopic (intensity: $-6.3 \log \text{cd.m}^{-2}.\text{sec.}$; 12 hrs dark adaptation) and photopic (intensity: $0.9 \log \text{cd.m}^{-2}.\text{sec.}$; background: 30cd.m^{-2}) electroretinograms (ERGs) were recorded at 30 days of age.

Results: In juvenile SD rats, the 14 day exposures to the bright luminous environment produced a significant decrease in the amplitudes of all the ERG parameters: rod a-wave (84%; $P<0.001$), rod b-wave (56%; $P<0.001$), Rod Vmax (52%; $P<0.001$) and photopic cone b-wave (46%; $P<0.001$). These results contrast with those obtained with the LE rats: rod a-wave (20% decreased; $P>0.05$), rod b-wave (120% increase; $P<0.001$), rod Vmax (160% increase; $P<0.001$) and cone b-wave (140% increase; $P<0.001$).

Conclusions: The above functional differences could suggest two different modes of action for melanin. In the case of oxygen, melanin would act as a pro-oxidant by potentiating (in LE rats) the deleterious effect of postnatal hyperoxia. However, interpreting the results obtained following bright light exposure pose an interesting challenge. On the one hand, there is a small but significant reduction in the amplitude of the a-wave, a result compatible with a pro-oxidant role such as that observed in hyperoxia. It could be also that melanin alone cannot scavenge the amount of ROS generated by the bright light and consequently the bright light will take its toll. On the other hand, the significant enhancement (an effect difficult to reconcile with the free radical scavenging properties of melanin) of all the postreceptor ERG components might suggest a transient enhancement of retinal electrophysiology such as that often seen in other toxic reactions of the retina in their initial stage (such as metallosis for example). This study is still continuing and ERG and histology taken at P60 will tell us if the observed effects are sustained or transient. Supported by CIHR and Réseau Vision du FRSQ.

A-5

Anna Polosa

Light-Induced Photoreceptor Degeneration in Juvenile Rats: Some Die Others Don't! Why?

S. Joly¹, V. Pernet², S. Chemtob³, A. Di Polo², P. Lachapelle^{1,4}.

Dept. Of ¹Biological Sciences, ² Pathology and Cellular Biology, University of Montreal, Montreal, PQ, Canada; ³Pharmacology and Therapeutics, McGill University, Montreal, PQ, Canada; ⁴Ophthalmology, McGill University/Montreal Children's Hospital Research Institute, Montreal, PQ, Canada.

Purpose: We have previously reported that, compared to adults, the retina of juvenile Sprague Dawley (SD) rats possessed a remarkable endogenous resistance to light-induced retinopathy (LIR). The aim of this study was to further explore the cellular and molecular mechanisms at the origin of this neonatal protection.

Methods: Juvenile SD rats were exposed to a bright luminous environment (10000 lux; 12 hours/day) from P14-P20 or P14-P28. Retinal histology was performed either immediately after the offset of the light exposure or at 2 months of age. Retinal cell death was quantified with the TUNEL method. Protein levels and retinal localization of FGF-2, CNTF and BDNF were determined by western-blot and immunohistochemistry, respectively.

Results: The kinetic of LIR was different after 6 and 14 days of exposure. Immediately following 6 days of exposure, the ONL was reduced to 64% (P<.05) of control and further reduced to 51% (P<.01) in rats aged 2 months. In contrast, immediately following a 14-day exposure to the same environment, the ONL was reduced to 46% (P<.001) of control, a value that remained unchanged at 2 months. These results correlated with the number of TUNEL-positive cells identified in both groups. Western-blot analysis demonstrated that FGF-2 and CNTF were strongly upregulated in juvenile rats after light exposure, while BDNF protein level was

unchanged. FGF-2 and CNTF upregulation occurred in the inner nuclear layer of the retina and co-immunostaining with CRALBP and GFAP revealed that Müller cells expressed both neurotrophic factors. Our data showed that both retinal hemispheres were similarly damaged just after exposure, although the superior retina was the most affected in adult animals. Strikingly, FGF-2 and CNTF protein levels were similar in the superior and the inferior hemisphere.

Conclusions: Our 6 vs 14-day exposure differences strongly suggest that only half of the juvenile retinal photoreceptors will degenerate (immediately or subsequently) as a result of LIR. An accurate identification of the differences between the more and less susceptible photoreceptors will be instrumental in devising therapeutic strategies. In that respect, our data suggest that FGF-2 and CNTF may play a neuroprotective role in the retina after bright light exposure but other mechanisms may to be involved. Supported by CIHR and Réseau Vision du FRSQ.

A-6

Allison Dorfman

The role of apoptosis and neurite retraction on retinal structure and function following postnatal hyperoxia

A.L. Dorfman¹, N.Cuenca², I.Pinilla³, S.Joly⁴, S.Chemtob¹, P.Lachapelle⁵.

¹Pharmacology and Therapeutics, McGill University, Montreal, PQ, Canada; ²Biocnologia, Universidad de Alicante, Alicante, Spain; ³Ophthalmology, Hospital Universitario Miguel Servet, Zaragoza, Spain; ⁴Dép. de biologie, Université de Montréal, Montreal, PQ, Canada; ⁵Ophthalmology/Neurology-Neurosurgery, McGill University/Montreal Children's Hospital, Montreal, PQ, Canada.

Purpose: We have previously shown that postnatal hyperoxia causes destruction of the plexiform layers in rats along with significant electroretinographic anomalies. The purpose of this study was to identify the mechanisms at the origin of this loss.

Methods: Sprague Dawley (SD) and Long Evans (LE) rats were exposed to hyperoxia (n=24 control, 42 exposed) as previously described from birth to P6 or P14 following which the rats were perfused, either at time of removal from 80% O₂ (at P6 or P14), or at P60. 10µm thick cryosections were collected for analysis.

Results: At P60, synaptophysin (presynaptic marker) staining confirms the lack of functional synaptic terminals in the OPL of SD and in the OPL and IPL of LE rats. Uneven staining of ON-bipolar cell terminals with mGluR6 suggests that they contribute to OPL thinning. To further distinguish between rod and cone ON-bipolar cells, PKC (rods) and recoverin (cone) stainings were used and both showed a lack of dendritic terminals in the OPL with disorganized axonal projections in the IPL. Calbindin staining also revealed a reduction in the number of horizontal cells. Although photoreceptor cell bodies appeared intact, a decrease in bassoon staining (in rod and cone synaptic ribbon terminals) suggests limited communication to the inner retina. All of the above findings were significantly more pronounced in LE compared to SD rats. Furthermore, TUNEL positive profiles in LE rats were located in both the INL and ONL [75.1% and 47.9% respectively, compared to control (p<0.05)] while cell death was limited to the INL of SD rats (47.5%, p<0.05).

Conclusions: Our results suggest that cell death and synaptic retraction are at the root of plexiform layer thinning. The increased number of TUNEL positive cells in the nuclear layers confirms that these cells die, at least in part, due to apoptosis and that LE rats are more susceptible than SD rats. Finally, our results point to the inner retina as the primary target of hyperoxic injury, followed by damage to the outer retina (to a lesser extent). Our findings propose a previously undescribed mechanism of cell death and synaptic retraction that are most probably at the origin of the functional consequences of hyperoxia. Funded by CIHR and Réseau Vision.

A-7

Jean-François Laliberté

Comparaison topographique 3D des techniques de Greffes Lamellaires Postérieures (GLP) par petite et large incisions

Laliberté JF, Meunier J, Terry MA, Ousley PJ, Brunette I.

But: Comparer les résultats topographiques des GLP par petite et large incisions à l'aide d'un modèle 3D moyen (atlas topographique).

Méthodes: 73 patients (âge moyen: 70.7 ± 10.1 ans) ont eu une GLP pour une dystrophie de Fuchs ou kératopathie bulleuse du pseudophake par un même chirurgien (MAT). Une large incision supérieure de 9 mm (LI) a été effectuée sur 32 yeux et une petite incision temporale de 5mm (PI) sur 43 yeux. Les modèles 3D moyens pré et post opératoires ont été générés et comparés avec le calcul d'erreur d'ajustement du moindre carré (RMSE). Pour fins de comparaison, un modèle moyen 3D de cornées saines a été créé (139 yeux, 55.1 ± 3.7 ans).

Résultats: L'analyse de la surface antérieure des modèles moyens indique que la GLP induit un astigmatisme contre la règle pour le groupe LI. La surface antérieure du groupe PI est globalement moins affectée par la chirurgie. L'analyse de la surface postérieure des modèles moyens indique un déplacement marqué de la partie centrale vers l'avant pour les deux groupes (LI: 23.6 µm; p = 0.001; PI: 17.4 µm; p = 0.028), ce déplacement s'étend inférieurement pour le groupe LI et du côté temporal vers la plaie pour le groupe PI. L'analyse des mesures pachymétriques montre un amincissement central de la cornée suite à la chirurgie des deux groupes (LI: 238 µm, p < 0.001; PI: 211 µm, p < 0.001), cette diminution s'étend inférieurement pour le groupe LI et du côté temporal vers la plaie pour le groupe PI. À six mois, la pachymétrie centrale a diminué de façon similaire dans les deux groupes (p =

0.43). Aucun changement significatif n'a été détecté entre 6 et 12 mois ($p > 0.05$). La forme cornéenne du groupe PI était plus proche du modèle sain que celle du groupe LI pour toutes les périodes étudiées (pré-op: $p = 0.040$; 6 mois: $p = 0.0002$; 12 mois: $p = 0.042$).

Conclusions: Les deux techniques ont permis une réhabilitation de la pachymétrie. Les cornées opérées par PI ont récupéré une forme plus près de la normale. La méthodologie du modèle 3D moyen (atlas) représente un nouvel outil attrayant pour l'analyse de la forme 3D de la cornée suite à un remodelage chirurgical.

Support: CIHR, FROUM, Réseau FRSQ de recherche en santé de la vision

A-8

Jean-François Laliberté

Mesures pachymétriques avec le topographe Pentacam d'Oculus : Exactitude, répétabilité et reproductibilité des mesures centrale et périphériques chez les sujets normaux

Laliberté JF, Bourges JL, Alfonsi N, Legeais JM, Renard G, Brunette I.

But: Évaluer l'exactitude, la répétabilité et la reproductibilité des mesures centrale et périphériques du système topographique Pentacam d'Oculus (PO) en utilisant les mesures d'un pachymètre ultrasonore (USP) comme référence.

Méthodes: 44 yeux de 22 sujets normaux (âge moyen: 37 ± 11 ans) ont été testés. À la visite A, l'observateur 1 (NA) a acquis trois topographies PO consécutives avant d'effectuer des mesures avec le USP pour neuf positions préétablies: centrale (C), supérieure (S), nasale supérieure (NS), nasale (N), nasale inférieure (NI), inférieure (I), temporale inférieure (TI), temporale (T) et temporale supérieure (TS). Trois mesures USP successives ont été effectuées à chaque position.

À la visite B (entre une et six semaines après la visite A), les observateurs 1 et 2 (NA et JLB) ont acquis trois topographies PO successives. L'ordre des visites, des observateurs, et des yeux était choisi aléatoirement. Des analyses de corrélation intra-classe (ICC) ont été effectuées pour étudier la performance du topographe PO.

Résultats: La répétabilité de trois acquisitions successives lors de la même visite était substantielle à presque parfaite. Les ICC moyens étaient de 0.940 (entre 0.706 et 0.989) pour l'œil droit (OD) et 0.948 (entre 0.835 et 0.992) pour l'œil gauche (OS). Les ICC les plus bas étaient obtenus pour les positions supérieures (S, NS et TS). En comparant les mesures du PO à celle des « vraies » valeurs de l'USP, nous obtenions une exactitude presque parfaite pour toutes les positions. Les ICC variaient entre 0.863 et 0.993 avec une moyenne de 0.933 pour OD et de 0.891 à 0.988 avec une moyenne de 0.936 pour OS.

La mesure de pachymétrie centrale donnait les ICC les plus élevés. La répétabilité inter observateur était presque parfaite avec des ICC supérieurs à 0.985 pour les deux yeux et pour toutes les positions. Pour la répétabilité dans le temps (entre les deux visites pour l'observateur 1), les ICC étaient presque parfaits et variaient entre 0.900 et 0.988 (moyenne de 0.960) pour OD et de 0.930 à 0.980 (moyenne de 0.936) pour OS. Les ICC étaient plus bas pour les positions supérieures. Les mesures supérieures donnaient des mesures plus variables. Ceci est peut-être dû à la pression palpébrale sur le globe de l'œil.

Conclusions: Le topographe Pentacam obtient des mesures pachymétriques exactes répétables et reproductibles sur des yeux de sujets normaux.

Support: FFCR, Réseau FRSQ de recherche en santé de la vision, CIHR

A-9

Alvarez Ferré

Utilisation de la tomographie de cohérence optique (OCT3) pour l'étude de l'anatomie de la plaie dans la greffe lamellaire postérieure

Alvarez Ferré L, Laliberté J-F, Hera A, Kieffer J-C, Brunette I.

But: Étude de l'anatomie de la plaie de greffe lamellaire postérieure en utilisant la tomographie de cohérence optique (OCT3).

Méthodologie : L'acquisition et le traitement des images de tomographie de cohérence optique (OCT3, Carl Zeiss Meditec Inc.) ont été adaptées à l'analyse du segment antérieur de l'oeil. 6 yeux de 6 patients avec un diagnostic de dystrophie de Fuchs ou de PBK ont été examinés avant et après la greffe lamellaire postérieure. Cette technique chirurgicale a été également réalisée sur 4 yeux post mortem pour analyse plus approfondie. Des images cornéennes centrales verticales et horizontales ont été obtenues avec l'OCT, suivies de 4 mesures radiales perpendiculaires à la plaie à 12:00, 3:00, 6:00 et 9:00. Toute anomalie de la plaie a été par ailleurs documentée. Des photos à la lampe à fente ont été prises. Les paramètres analysés des images d'OCT étaient les suivants: (1) La présence d'espaces (gap) entre le donneur et receveur, (2) La présence de dénivelés de surface (marche d'escalier) entre le donneur et le receveur, (3) La compression tissulaire au niveau de la plaie, (4) La pachymétrie au niveau de la greffe et du receveur et (5) La présence d'un décollement du greffon. Une attention particulière a été portée à la fibrose sous épithéliale des cornées oedématisées et à la qualité de l'interface.

Résultats: Les images d'OCT3 ont été acquises entre 3 et 18 mois après la greffe lamellaire postérieure: (1) La profondeur, la largeur et la périphérie moyennes du gap entre les

rebords des donneur et receveur étaient de 252.2µm (19.8 - 584.4µm), 137.0µm (47.2 - 259.8µm), et 661.4µm (401,6 - 755.9µm), respectivement. (2) Les marches d'escalier verticales entre le donneur et le receveur variaient de 100.5 à 300.0µm (moyenne: 236.2µm). (3) La compression tissulaire, représentée par des couleurs chaudes au niveau des rebords de la plaie, a été observée dans un cas. La largeur moyenne de cette région était d'environ 280µm. (4) Un cas de détachement léger du greffon a été observé. (5) L'épaisseur centrale moyenne du receveur était de 298.9µm et du donneur était de 197.5µm.

Conclusion: La tomographie de cohérence optique (OCT3) est un appareil non contact qui permet la caractérisation qualitative et quantitative de l'anatomie de la plaie de greffe lamellaire postérieure.

Support: FROUM, IRSC, Réseau FRSQ de recherche en santé de la vision.

A-10

Ossama Nada

Femtosecond flap dissection in posterior lamellar corneal transplantation

O. Nada^{1,4}, P. Corluka², L. Andrzejewski², G. Girard², J-F. Laliberte¹, M-E. Choronzey¹, D. Giguere², G. Olivie², S. Proulx³, L. Germain³, I. Brunette¹, J-C. Kieffer²,

¹Ophthalmology Research Centre Maisonneuve-Rosemont, Montreal, PQ, Canada; ²Institute National de Recherche Scientifique; ³Laboratoire d'organogénèse expérimentale (LOEX); ⁴Ain Shams University, Cairo, Egypt

Purpose: FSL deep corneal stromal dissection as a preliminary step for posterior lamellar transplantation.

Methods: Nine postmortem enucleated pig eyes obtained from a slaughterhouse were treated

within six hours of death. After a standard slit lamp examination to rule out any corneal pathology, the central corneal pachymetry was measured using a Tomey SP3000 ultrasound pachymeter. The eye was then placed under the laser scanning aperture. Experiments were performed with or without applanation of the corneal anterior surface. During the entire procedure the corneal surface was kept moist by applying BSS eye drops. The Maisonneuve-Rosemont Ti:Sapphire femtosecond laser was used to treat the corneas. The beam was directed towards the centre of the cornea and scanned in a circular pattern to achieve a 2D flat lamellar cut. The pattern consisted of concentric circles spaced by 5 μm . Each circle was made of 5 μm spots spaced by 5 μm . After the lamellar cut, each eye was examined at the slit lamp, photos were taken, and the eyes were fixated in formaldehyde 10% for histopathological study.

Results: The achieved depth of dissection was within 10-30% range of the assigned depth. It was closer to desired depth when applanation was used. We were able to ablate at the depth of 700 μm (eyes# 7 and 9). There was no collateral damage evident in the laser path between the ablation point and the corneal surface. When the cut was superficial (eye#6), the flap was easily separated manually with forceps. Microcavitation bubbles were generated at the level of the stromal ablation. Their size and importance was proportional to the FSL fluence. These bubbles became confluent and progressively disappeared, reabsorbed by the corneal stroma.

Conclusions: Our preliminary results show that FSL can be successfully used for deep lamellar corneal dissection, which gives an opportunity for the potential use of FSL in posterior lamellar transplantation in the near future.

Support: CIHR, Réseau FRSQ en Santé de la vision

A-11

Ingrid Osswald

L'ouverture des yeux induit l'expression de récepteurs AMPA perméables au Ca^{2+} insensibles à la philanthoxine dans la rétine en développement

Ingrid K. Osswald, Alba Galan & Derek Bowie
Department of Pharmacology & Therapeutics, McGill University, Montreal

Les récepteurs AMPA perméables au calcium (Ca^{2+}) sont exprimés à travers le système nerveux central, mais leurs rôles restent toutefois mal compris. Dans la rétine en développement, la majorité des études ont examiné l'influx de Ca^{2+} à travers les récepteurs NMDA comme source de maturation synaptique. Cependant, les récepteurs NMDA sont absents de plusieurs cellules rétinienne, ce qui suggère que d'autres récepteurs au glutamate perméables au Ca^{2+} soient importants à considérer. Ici, nous démontrons que les cellules inhibitrices horizontales et amacrine AII ne possèdent pas de récepteurs NMDA, mais expriment des récepteurs AMPA perméables au Ca^{2+} . Avant l'ouverture des yeux, les récepteurs AMPA sont totalement bloqués par la philanthoxine (PhTX), un antagoniste sélectif des récepteurs AMPA perméables au Ca^{2+} . Après l'ouverture des yeux cependant, une sous-population des récepteurs AMPA perméables au Ca^{2+} est paradoxalement résistante à la PhTX. Curieusement, les récepteurs AMPA insensibles à la PhTX sont absents des rétines des animaux élevés dans l'obscurité, démontrant que la lumière traversant les yeux induit cette expression. L'ouverture des yeux coïncide avec la consolidation des connections cellulaires inhibitrices, suggérant que le changement des propriétés pharmacologiques des récepteurs AMPA perméables au Ca^{2+} au cours du

développement soit crucial à la maturation synaptique de la rétine.

A-12

Sara Dubuc

Assessing the relationship between objective eye charts and subjective reports of vision in individuals with Age-related Macular Degeneration

Sara Dubuc, Walter Wittich, Olga Overbury, Michael A. Kapusta

Purpose: Various charts have been developed to measure different visual functions beyond letter recognition, such as Face recognition, Reading Acuity (RA) and Contrast Sensitivity (CS) in both normal and low vision populations. The present study investigated the correlations among eye charts and a subjective measure of function (VF-14) administered to individuals undergoing Photodynamic therapy (PDT) as a treatment for wet Age-related Macular Degeneration (AMD).

Methods: Objective tests (ETDRS, MARS CS, MN Read, Face Chart) and a subjective report of visual function (VF-14) were administered to a cross-sectional group of 43 patients between 51 and 91 years of age (VA 20/25 - 20/900) who had been diagnosed with wet AMD and were at different stages of PDT.

Results: The VF-14 was related to RA ($r = .49, p < .01$) as well as ETDRS ($r = .39, p < .05$). Furthermore, correlations were present between RA and specific VF-14 questions related to difficulty reading small ($r = .38, p < .05$), medium ($r = .33, p < .05$) and large print ($r = .44, p < .01$). The VF-14 question related to difficulty reading large print was also correlated with the ETDRS ($r = .47, p < .01$). No relationship was present between Face Acuity and the VF-14 or the specific VF-14 question on face perception.

Conclusions: The ability to recognize letters, and even more so, to put them together into words and sentences, plays an important role in our everyday life and it is, therefore, not

surprising that the VF-14 contains four questions which explicitly query how much difficulty individuals have reading either words or continuous text. While correlations between the VF-14 and ETDRS/RA demonstrate a relationship between the patient's subjective experience and these objective tests, the correlations between individual questions and the eye charts provide further information as to the nature of these associations.

A-13

Jennifer Gagné

Effet du glucose et de la répression de la fibronectine sur les cellules de Müller

Jennifer Gagné, Solange Landreville, Marc-André Laurin, Caroline Lupien et Christian Salesse

Unité de recherche en ophtalmologie, Centre de recherche du CHUQ, Pavillon CHUL, Faculté de médecine, Université Laval

Objectifs: La rétinopathie diabétique est une complication importante du diabète et la première cause de cécité acquise dans les pays occidentaux au niveau de la population apte au travail. Des études cliniques ont démontré une prolifération excessive des cellules de Müller au cours de la rétinopathie diabétique. Un rôle actif dans l'apparition de cette pathologie leur a été attribué puisque ces cellules entourent la majorité des parois des vaisseaux sanguins rétiniens et produisent des facteurs capables de moduler le débit sanguin, la perméabilité vasculaire ainsi que la survie cellulaire. Nous avons mis en culture des lignées de cellules de Müller provenant de donneurs diabétiques de types I (HMCL-I) et II (HMCL-II). Ces cellules ont un phénotype épithélial alors que les cellules de Müller normales (NHMC) ont plutôt un phénotype fusiforme. Le premier objectif de ce travail de recherche a donc été de déterminer l'effet du glucose sur la morphologie des lignées diabétiques. Ensuite, le profil d'expression génique des NHMC et des HMCL-I et HMCL-II a récemment été comparé en utilisant la méthode

d'analyse sérielle de l'expression génique (SAGE). Ainsi, la fibronectine a été identifiée comme étant un des gènes sous-exprimés par les HMCL-I (7 fois moins de tags) et les HMCL-II (56 fois moins de tags) en comparaison aux NHMC. Le deuxième objectif de ce travail de recherche a donc été de réduire l'expression de la fibronectine dans les NHMC afin d'étudier son rôle dans le développement de la rétinopathie diabétique.

Méthodes : Les 2 lignées diabétiques ont été cultivées dans des milieux de culture contenant une faible, moyenne ou forte concentration en glucose. Les cellules ont été photographiées à confluence et leur morphologie a été comparée. Ensuite, 2 séquences différentes d'ADN de 21 nucléotides complémentaires au gène de la fibronectine ont été synthétisées. Ces séquences ont été complétées par 43 nucléotides essentiels au processus physiologique de la maturation des micro-ARNs avant d'être incorporées dans un vecteur plasmidique qui a été par la suite transfecté dans les NHMC. Suite aux transfections transitoires, les oligonucléotides sont physiologiquement transcrits par l'ARN polymérase II, ce qui mène à la dégradation des ARNm complémentaires à la fibronectine et devrait ainsi permettre de réduire son expression.

Résultats et conclusions : La concentration de glucose n'affecte pas significativement la morphologie des lignées de cellules de Müller diabétiques, sauf le milieu à moyenne concentration de glucose qui semble augmenter la proportion de cellules fusiformes. En revanche, la concentration en glucose influence la capacité des cellules à se diviser. En effet, une diminution significative de la croissance dans le milieu de culture à moyenne concentration de glucose a été notée pour les 2 lignées diabétiques. Les mesures en RT-PCR semi-quantitatif suite aux transfections transitoires avec les micro-ARNs de fibronectine ont démontré aucune diminution de l'expression du transcrit dans les NHMC. Un test de sensibilité à la blastidine a donc été effectué afin de déterminer la concentration d'antibiotique sélectif qui sera utilisée lors des transfections

stables. Nous pourrions par la suite préparer des transfectants stables et sélectionner spécifiquement les cellules dont la répression du transcrit de fibronectine est stable. L'effet de la répression de la fibronectine sur ces cellules pourra ensuite être mesuré.

A-14

Robin Tremblay

Somesthésie chez la souris aveugle

Robin Tremblay et Gilles Bronchti
Département de Chimie-Biologie, Université du Québec à Trois-Rivières

La cécité précoce cause une expansion du cortex somatosensoriel primaire (S1) des rongeurs (Bronchti *et al*, 1992). De plus, une étude montre que des souris souffrant d'une dégénérescence rétinienne démontraient dans leur cortex somatosensoriel primaire un contraste accru dans le patron d'activité du tonneau représentant une vibrisse stimulée par rapport aux tonneaux adjacents non stimulés (Bronchti *et al*, 1999). D'autre part, il a été démontré que l'environnement peut également induire des changements morphologiques et fonctionnels dans S1 de rats adultes (Polley *et al*, 2004). Les effets qu'ont ces deux paramètres, soient la perte de la vision et les conditions du milieu, sur le système somatosensoriel ont toujours été étudiés séparément. L'objectif de cette étude est de comparer les effets de la cécité et du milieu en tant que facteurs d'enrichissement du cortex somatosensoriel primaire, ainsi que d'évaluer les potentielles interactions entre les deux. Nous avons utilisé les techniques du ¹⁴C-2-deoxyglucose (2-DG) et de l'immunohistochimie de la protéine c-Fos, comme marqueurs d'activité fonctionnelle, de même que la cytochrome oxydase pour mesurer les caractéristiques morphologiques du cortex somatosensoriel de souris anophtalmiques et voyantes élevées en milieux standard et enrichi. Nos résultats préliminaires montrent : (i) en 2-DG les souris aveugles ont un meilleur contraste d'activité que

les souris voyantes ; (ii) l'environnement n'a d'effet que s'il interagit avec la cécité ; (iii) il semble que les souris aveugles de milieu enrichi ont un moindre besoin métabolique (2-DG) pour une même activation corticale (c-Fos) que les autres groupes de souris ; (iv) il n'y a aucune différence morphologique entre les cortex somatosensoriels primaires des différents groupes, bien que les souris anophtalmiques ont des cerveaux de plus petite taille.

A-15

Martin Villeneuve

Direction maps to complex random dot patterns revealed by optical imaging in area 18 of the cat

MY Villeneuve, M Vanni, J Roy, M Ptito, C Casanova

The cat visual system can be divided in two principal pathways: the temporal (learning and recognition of visual form) and the parietal (motion, spatial processing and attention) processing streams. The main sources of both pathways are areas 17 and 18, respectively. Area 21b and the suprasylvian cortex are generally considered to be the highest stages of visual processing within each pathway. The parietal pathway has been greatly investigated with regards to its implication in motion processing, especially the postero-median part of the suprasylvian cortex. The origin of the signals emerging from area 18 has also received attention but to a lesser extent. In the present study, the effectiveness of area 18 to code the direction of simple and complex motion has been investigated using optical imaging in anesthetized cats. A large craniotomy (2 x 3cm) was performed to evaluate direction selectivity over the largest possible surface of area 18. The stimuli used consisted of random dot kinematograms (RDKs, white dots of 1 deg of diameter) which do not contain specific orientation components such as the commonly used drifting gratings. Direction selectivity was

evaluated with simple RDKs (unlimited dot lifetime) which require minimal simultaneous motion integration over an area of the visual field and complex RDKs (limited dot lifetime of 2 frames) which necessitates spatial and temporal integration of the dots displacement over an extended area of the visual field. Our results indicate that direction maps could be easily identified not only with simple RDK, but also with the more complex form of RDK. The modular organization revealed by simple and complex RDKs was similar. These data indicate that the primary visual cortex is involved in the computation of complex motion stimuli. Area 18 of the cat must thus be considered as a key contributor in the parietal pathway. It should not be seen as a simple array of neural filters with elongated receptive fields that feeds the suprasylvian cortices, but rather as a first step involved in higher-order cortical processing. Supp: NSERC and CIHR to CC.

A-16

Marilyse Piché

Spatiotemporal receptive fields properties of neurons in the lateral posterior-pulvinar complex of the cat

M. Piché¹, B. G. Ouellette^{1,2}, N. Zabouri¹, C. Casanova¹;

¹*École d'Optométrie*, ²*Département de psychologie, Université de Montréal*

The lateral posterior-pulvinar complex (LP-pulvinar) of the cat is generally divided into three subregions: the lateral (LPI) and medial (LPm) nuclei and the pulvinar. There are some indications that response properties vary between these three regions (for example, pattern-motion neurons are preferentially located in the LPm), reflecting to some extent their different connectivity patterns with cortical and subcortical structures. However, no conclusive answer can be given as very little is known on the precise organization of LP-pulvinar receptive fields (RFs). To further understand the role of LP-

pulvinar in cortico-cortical communication, the spatiotemporal sub-structure of RFs in the LPl and LPm (i.e., the striato- and tecto-recipient zones, respectively) have been assessed quantitatively using 2D reverse correlation (DeAngelis et al. 1993). Experiments were carried out on anaesthetised cats. A total of 40 cells were recorded in the LPl (24) and LPm (16). The stimuli consisted of a series of bright and dark stationary flashing squares randomly presented on a grey background. Cross-correlation was performed with binwidths of 1ms. To date, our data show no clear distinction between RF spatiotemporal characteristics of LPl and LPm neurons. Overall, we found that (1) 40% of the cells were exclusively dark-excitatory (DE) (2) 60% of the cells were bright-excitatory (BE) and DE, and (3) none were strictly BE. Of the 22 BE-DE cells, 86% were complex-like as both subregions were superimposed spatially. Clear inhibitory subregions were observable in only nine cells. The latencies of the peak responses were distributed between 45 and 155 ms. Only 13% of neurons had a synchronous latency to both stimuli, while 11% of the cells showed a “bi-lobe” temporal response. Thus, the majority of LP cells responding to both bright and dark squares exhibits spatially overlapping subregions which are asynchronous in the temporal domain. These findings suggest that LP-pulvinar neurons receive multiple visual inputs at different time delays, allowing for diversity in RF spatio-temporal dynamics.

Financement: Christian Casanova : CIHR et FRSQ

A-17

Brian Ouellette

Spatial and temporal characteristics of center-surround interactions in PMLS cortex of the cat

Ouellette, B.G., Faubert, J., Casanova, C.

Modulatory effects of stimulation outside the classical receptive field (CRF) on neuronal

responses have been extensively studied in primary visual cortex (VC) in both primates and cats. One of the proposed mechanisms that could explain these effects is feedback from higher order areas. The neurons in these areas have larger receptive fields which could encompass both the CRF and the surround of primary VC neurons. Few studies have investigated surround effects in motion sensitive higher order areas, notably in the cat. The goal of the present study was to determine whether surround effects (as in area 17) are present in cat extrastriate cortex, and if so what are the spatio-temporal characteristics of these effects. Extracellular single unit recordings (n = 40) were carried out in adult anaesthetised cats in the postero-medial lateral suprasylvian cortex (PMLS). Two independent random dot kinematograms (RDKs) of optimal velocity and density were presented both within and outside the CRF. The RDKs within the CRF were fixed at the preferred direction, while the direction outside the CRF varied. Surround stimulation was found to modulate neuronal responses to the CRF, and this modulation varied according to the direction of the extra-CRF stimulus as demonstrated by a ‘surround direction index’ of $0.53 \pm .33$ (mean \pm S.D.). When both stimuli were presented at the preferred direction 79 and 21% of neurons exhibited inhibition and excitation respectively, while these values were 75 and 25% when the anti-preferred direction was presented outside the CRF. Compared to CRF only stimulation, the mean variation in response amplitude was 62.6 and 51.6% (regardless of sign) when the surround moved in the preferred or anti-preferred direction respectively. These modulations changed the response latency by a mean absolute value of 22ms (preferred) and 32ms (anti-preferred) between surround and CRF only spike trains. Overall, the changes in temporal response dynamics suggests that slow intracortical or extra-area multi-synaptic connections are involved in PMLS surround effects. Most PMLS neurons are inhibited by extra-CRF stimulation, suggesting a role in figure-ground segregation of moving objects. The presence and similarity of effects in

PMLS (and primate extrastriate cortex) with those in primary VC suggests that this type of surround modulation may be a ubiquitous feature of the mammalian visual system.

Support : CIHR and FRSQ to C.C.; and NSERC & FRSQ to B.G.O.

A-18

Isabelle Pelletier

Images fonctionnelles du cortex occipital chez l'humain à l'aide de l'imagerie optique (NIRS)

Pelletier, I., Bastien, D., Thériault, M., Lassonde, M., St-Amour, D. & Lepore, F

Centre de Recherche en Neuropsychologie et Cognition, Université de Montréal, Montréal, Centre de Recherche de l'Hôpital Sainte-Justine, Hôpital Sainte-Justine, Montréal;

Le cortex visuel a été grandement étudié chez l'humain, particulièrement à l'aide de l'imagerie par résonance magnétique fonctionnelle (IRMf). Quoiqu'il en soit, l'IRMf représente certains désavantages tels que son coût élevé ainsi que les restrictions physiques qu'elles imposent qui rendent difficiles l'utilisation faite avec certains types de patients. L'imagerie optique (NIRS) est une technique prometteuse qui ne présente pas ces inconvénients. Cette technique est portable, sans bruit, relativement peu coûteuse, permet une utilisation répétée chez un même sujet et, de plus, elle ne requiert pas une absence de mouvement total. Puisque le cortex visuel est organisé de manière rétinotopique, des stimuli visuels simples peuvent être utilisés afin de localiser des zones dans le cortex visuel. À cette fin, nous avons utilisé un damier noir et blanc de type Tootell (Tootell et al., 1998) afin de localiser les quatre différents quadrants (haut gauche, haut droit, bas gauche et bas droit). Le damier blanc et noir inversait son contraste de luminance à une fréquence de 1 Hz. Chaque bloc consistait en un niveau de base de 15 secondes, suivi d'une stimulation de 30 secondes par le damier dans un des quadrants et finalement suivi de 30 secondes de repos. Lors de l'enregistrement en imagerie

optique, 40 blocs ont été présentés (10 blocs pour chacune des conditions, i.e haut gauche, haut droit, bas gauche, bas droit) à 5 sujets, incluant un enfant de 6 ans. Les sujets étaient assis confortablement à une distance de 85cm de l'écran et devaient fixer un point au centre de l'écran pendant toute la durée d'un bloc (75s). Tel qu'attendu, une activation du cortex visuel dans l'hémisphère contralatéral et dans le quadrant inverse (haut/bas) à la stimulation a été obtenue. Par exemple, avec un stimulus au bas et à gauche de l'écran, une activation dans le cortex visuel haut droit a été obtenue (Figure 1a), de même, pour une stimulation au bas et à droite de l'écran, une activation dans le cortex visuel haut gauche a été obtenue. Ces résultats confirment que l'imagerie optique a une bonne précision spatiale et qu'elle peut être utilisée comme méthode alternative à l'IRMf.

Cette expérimentation fut le premier pas d'une expérience en cours qui a pour objectif d'investiguer la possibilité d'une activation de type topographique (rétinotopique) du cortex visuel chez les sujets aveugles précoces lors d'une tâche de localisation auditive à l'aide de l'imagerie optique. L'environnement auditif comprend 4 haut-parleurs (haut gauche, haut droit, bas gauche, bas droit) similaires aux stimuli décrits dans l'expérience ci-haut. 40 blocs de stimulations auditives (10 blocs par quadrants) sont présentés. Les stimuli sonores consistent en des bruits blancs d'une durée de 30ms ayant un intervalle inter-stimulus de 50ms. Chaque bloc consiste en un niveau de base de 15 secondes, suivi d'une stimulation sonore de 30 secondes et finalement suivi de 30 secondes de repos. Si l'espace auditif dans le cortex visuel recruté chez les sujets aveugles précoces est représenté de manière topographique, alors les stimuli qui proviennent de différentes coordonnées topographiques vont recruter différentes aires du cortex visuel correspondant à son organisation « rétinotopique inhérente ». Tootell, R.B.H., Hadjikhani, N.K., Vanduffell, W., Liu, A.K., Mendola, J.D., Sereno, M.I., Dale, A.M. Functional analysis of primary visual cortex (V1) in humans. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* Vol. 95, pp. 811–817, February 1998

A-19

Julie Lachapelle

Utilité clinique des potentiels évoqués visuels et des temps de réaction chez les individus ayant subi un traumatisme crânien léger à modéré

Julie Lachapelle, Pht.^{1,3} & Michelle McKerral, Ph.D.^{1,2}

¹Centre de recherche interdisciplinaire en réadaptation-Centre de réadaptation Lucie-Bruneau,

²Département de psychologie, Université de Montréal,

³Département de neurologie-neurochirurgie, Université McGill

Purpose: To evaluate, using electrophysiological methods, the effects of a mild or moderate traumatic brain injury (TBI) on different complexity levels of visual information processing in adults receiving outpatient rehabilitation interventions.

Methods: Visual evoked potential (VEP) paradigms were separately administered to 23 participants (mean age 37.5 yrs) having sustained a TBI (15 mild, 8 moderate) and to 15 normal controls (mean age 29.6 yrs): low-level condition 1) pattern-reversal VEPs (prVEP, P1): obtained from Oz, checks 0.5 deg., 90% contrast, reversal rate 0.5 Hz; 2) motion VEPs (mVEP, N2), recorded from O₁ and O₂, 0.7 degree expanding and contracting target, 20% contrast. Intermediate condition: 3) orientation texture-segregation VEPs (tsVEP) recorded from Oz, line gradients 0.1 degree, 90% contrast, reversal rate 1 Hz and 4) motion texture segregation VEP recorded from Oz, bright squares of 0.1° on a dark background, 30% contrast. Higher-level condition: 5) cognitive VEPs (ERP, P3), obtained from Pz, oddball paradigm, frequent stimulus 0.5 deg. check, rare stimulus 1.5 deg. check, 30% contrast, 0.3 sec. onset, 1.7 sec. offset. 6) Motor reaction time following the apparition of rare stimuli were recorded.

Results: Amplitude and latency of prVEPs and motion VEPs obtained from TBI participants

were not significantly ($p > 0.05$) different from normal controls. TsVEPs were significantly ($p < 0.01$) delayed in latency in TBI, but there were no amplitude differences. ERPs obtained from TBI subjects were significantly ($p < 0.05$) reduced in amplitude, as well as significantly ($p < 0.001$) delayed in latency compared to controls. Reaction times were longer with TBI ($p < 0.05$) than controls.

Conclusion: Low level visual processing appears to be spared in our TBI group. However, TBI individuals show increasing visual processing deficits with increasing stimulus/task complexity. Such functional alterations are in line with known pathophysiology of milder forms of TBI and the methodologies used thus show promise in their ability to identify functional abnormalities which go undiagnosed with conventional neuroimaging techniques.

A-20

Alexandre Ben Amor

Évaluation des effets d'un déficit en acétylcholine sur l'apprentissage visuel du rat

Alexandre Ben Amor et Elvire Vaucher
Ecole d'optométrie, Université de Montréal

But : La capacité d'améliorer la discrimination et la perception visuelle, l'apprentissage visuel, est permise grâce à la grande plasticité du cortex visuel primaire. Chez le rat adulte, cette réorganisation constante des cartes sensorielles corticales est en partie sous le contrôle de systèmes neuromodulateurs extrinsèques au cortex visuel, comme le système cholinergique. Nous avons récemment démontré que l'acétylcholine est libérée dans le cortex visuel primaire lors de la stimulation visuelle et que son déficit affecte fortement l'activation neuronale de ce cortex. Le but de la présente étude est de déterminer si un déficit en acétylcholine chez le rat adulte affecte les capacités d'apprentissage perceptuel dans une tâche comportementale de discrimination visuelle.

Méthode : Les rats Long Evans (275-300g, n= 8 par groupe) avec ou sans déficit cholinergique sont testés dans le labyrinthe d'eau de Prusky. Brièvement, la tâche consiste à déposer les rats dans une piscine à deux bras à l'extrémité desquels sont placés des écrans d'ordinateur dispensant des patrons de stimulation visuelle (VPixx, 8.1) différents. Une plateforme est dissimulée sous la surface de l'eau sous le patron de stimulation à discriminer. En faisant varier la fréquence spatiale ou l'orientation des réseaux sinusoïdaux, il est possible de déterminer le seuil d'acuité visuelle des rats ou leur capacité d'améliorer leur discrimination, respectivement. Après apprentissage de la tâche, et une première mesure de l'acuité visuelle, les rats sont lésés et testés 21 jours plus tard. La lésion spécifique des fibres cholinergiques est obtenue par injection intra-ventriculaire (Bregma (mm) AP-0,3; L+/- 1,5; V-3,6) d'une toxine spécifique à ces neurones, la 192IgG-saporine (4µg / ventricule). Le marquage immunocytochimique des fibres cholinergiques par détection de choline acétyltransférase au niveau du cortex visuel primaire et du télencéphale basal permet de vérifier l'efficacité de la lésion.

Résultats et conclusion : La lésion des fibres cholinergiques provoque une dénervation totale du cortex visuel primaire qui n'est accompagnée d'aucun effet comportemental. De plus, l'acuité visuelle moyenne des rats lésés et des rats témoins est similaire ($0,68 \pm 0,01$ cpd vs $0,675 \pm 0,01$ cpd respectivement, ns). Cependant, la performance des rats lésés dans la piscine est diminuée en ce qui concerne le rappel de la tâche, le test d'orientation de 45° vs 90° et celui de 75° vs 90° (diminution du taux de réussite de 35 %, 39 % et 53 %, respectivement). Le déficit en acétylcholine engendre donc un retard d'apprentissage visuel qui est plus important lorsque la difficulté de la tâche est plus élevée. Financé par les Institut de recherche en santé du Canada, réseau FRSQ pour la recherche en santé de la vision, CRSNG.

A-21

Alexandre Sasseville

Utilisation de lunettes à lentilles orangées « blue-blockers » en milieu de travail pour faciliter l'adaptation de l'horloge biologique au travail de nuit

A.Sasseville, MC. Charron, M. Hebert

Centre de Recherche Université Laval Robert-Giffard, Département d'ophtalmologie, Université Laval, Québec, Canada

Objectif: Les travailleurs de nuit éprouvent des troubles de sommeil le jour parce que la lumière naturelle du matin resynchronise leur horloge biologique à un horaire diurne. Or, l'horloge biologique est très sensible à la portion bleue du spectre lumineux. Nous avons donc évalué si le port de « blue-blockers » lors du retour à la maison permettrait au travail de mieux s'adapter au travail de nuit tel qu'observé par sa capacité à mieux dormir le jour.

Méthode: La durée et la qualité du sommeil de 8 employés permanent de nuit du centre de triage de Poste Canada à Québec, ont été évaluées sur une période de quatre semaines grâce à un petit moniteur d'activité (Actiwatch) se portant au poignet. Les deux premières semaines représentaient le niveau de base et les deux semaines subséquentes représentaient les semaines expérimentales où les participants ont porté les lunettes à lentilles orangées lors du retour à la maison le matin (7h00), et aussi lorsqu'ils avaient à sortir au cours de la journée (jusqu'à 16h00).

Résultats: Suivant le port des lunettes, les participants ont dormis en moyenne 31 ± 32 minutes ($p=0.04$) de plus par jours et leur efficacité de sommeil s'est améliorée de $1.95 \pm 2.2\%$ ($p=0.04$).

Conclusion: Les blue-blockers semblent favoriser le sommeil de jour chez les travailleurs. Ceci résulte peut-être d'une meilleure synchronisation au quart de nuit due au blocage efficace de la lumière du jour. Un sommeil plus long et de meilleure qualité, permettrait une

diminution de la fatigue chronique chez ces travailleurs.

A-22

Olga Overbury

Barriers to Vision Rehabilitation Services

Overbury, O.^{1,2,3}, Wanet-Defalque, M.-C.⁴, Wittich, W.^{3,5} & Renaud, J.⁶

¹*School of Optometry, University of Montreal,*

²*Department of Ophthalmology, McGill University,*

³*Lady Davis Institute for Medical Research, ⁴Institute*

Nazareth et Louis Braille, ⁵Department of

Neuroscience, McGill University, ⁶Faculté de

médecine et des sciences de la santé, Université de Sherbrooke.

The goal of vision rehabilitation is to enable persons who are living with permanent vision loss to lead independent, productive lives. Research has demonstrated that older visually impaired individuals value the assistive devices and training that they receive. Disturbingly, fewer than 10% of elders with a self-reported vision problem report using any form of vision rehabilitation service. The research indicates that, to a large extent, elderly visually impaired people are left to their own devices by eye-care specialists when it comes to finding and accessing vision rehabilitation services.

Access to vision rehabilitation may be impaired by a variety of barriers. The following questions will be addressed in the context of this research project: (1) What is the referral pattern of ophthalmologists in large, urban, teaching hospitals? (2) Is there an identifiable list of patient characteristics which might lead an ophthalmologist to refer or not refer a patient to low-vision clinics or rehabilitation agencies? (3) If these characteristics exist, do they constitute reasonable impediments to successful rehabilitation or are they components of a stereotype which should be eliminated to increase access to services?

It is hypothesized that elderly patients with low vision who obtained vision rehabilitation services and assistive devices are most likely to be those

who received relevant and useful information about services and devices at the time of diagnosis and were less likely to report signs or symptoms of depression. Additionally, it is expected that the three groups identified in the study (*Lack of Information Group, Personal Negative-Choice Group, Personal Positive-Choice Group*) will differ significantly in their perception of their visual function, satisfaction with life, coping skills, and depressive symptoms.

RÉSUMÉS

CONCOURS DU MEILLEUR DOCTORANT

C-1

Marie-Eve Doucet

Plasticité des aires visuelles chez le sujet sain et chez l'implanté cochléaire

Le cerveau se modifie tout au long de la vie en fonction des expériences vécues. Cette plasticité cérébrale a un impact crucial chez l'individu qui subit une privation sensorielle : le sens privé se voit décroître progressivement tandis que les autres modalités sensorielles, en compétition, prennent de l'envergure. Il semblerait que des patrons de compensation se mettent en place, menant à des performances exceptionnelles dans certains domaines. Les structures impliquées dans ces changements restent tout de même controversées et de plus en plus de recherches tendent à montrer que les structures cérébrales les plus susceptibles d'une implication dans de tels changements sont les systèmes qui se développent tardivement. Le but de la présente thèse est de présenter des données nouvelles sur le développement électrophysiologique des aires corticales d'intégration visuelle, leur plasticité en présence d'une privation auditive et leur potentiel à se réorganiser lorsque la modalité auditive est réintroduite. Dans une première étude, la réponse électrophysiologique du cerveau en réponse à des stimuli visuels a été examinée. Les stimuli présentés étaient formés de cercles concentriques se transformant radialement (CCR). De tels stimuli sont connus pour activer les régions de la voie ventrale (Wilkinson et al., 2000) et dorsale (Tse, 2006). Les potentiels évoqués visuels (PEV) ont été enregistrés chez 53 participants, âgés de 3 à 22 ans, pendant qu'ils regardaient passivement la présentation des stimuli. Les résultats montrent trois composantes en réaction aux transformations visuelles. La latence de la première composante positive (P1) est déjà mature à 3 ans mais la première composante négative (N1) et la seconde positive (P2), montrent une diminution de la latence jusqu'à l'âge de 13 ans. De plus, la distribution de la composante P2 est d'abord concentrée sur le cortex visuel primaire avant l'adolescence et se distribue antérieurement à partir de l'adolescence, permettant la participation de différentes aires corticales associatives au traitement visuel. Les stimuli radiaux induisent donc une activation cérébrale qui n'est pas mature avant l'adolescence, suggérant un bon potentiel de réorganisation suite à une altération sensorielle. Dans une seconde étude, les réactions électrophysiologiques aux stimuli CCR ont été enregistrées chez deux groupes de sourds après la pose d'un implant cochléaire et chez un groupe de sujets contrôles. Le premier groupe comprenait 6 implantés cochléaires qui n'ont pas réussi à apprendre à décoder le langage oral, et le deuxième groupe comprenait 7 implantés cochléaires qui comprennent bien le langage oral même sans indice visuel. La composante P2 moyenne des sujets n'ayant pas acquis la compréhension de la parole a une distribution corticale élargie par rapport à celle des deux autres groupes, tandis que la composante P2 moyenne des sujets ayant acquis la compréhension de la parole montre une amplitude supérieure au niveau du cortex visuel. Ces résultats suggèrent une réorganisation intermodale profonde chez les sujets qui ont de pauvres résultats avec l'implant cochléaire et une réorganisation intramodale chez les sujets qui ont de bons résultats avec l'implant cochléaire. Ces résultats sont discutés dans le contexte du développement visuel et de la plasticité intermodale, et amènent de nouvelles explications sur l'intégration visuelle chez les implantés cochléaires en fonction de leurs habiletés en communication orale.

C-2

Karine Zaniolo

La régulation de l'expression du gène de la poly(ADP-ribose) polymérase-1 (PARP-1) durant la cicatrisation de l'épithélium cornéen

Karine Zaniolo¹, Serge Desnoyers² et Sylvain L. Guérin¹

¹*Laboratoire de Recherche en Endocrinologie Moléculaire et Oncologique, Unité de Recherche en Ophtalmologie,*

²*Département de Pédiatrie, Centre de Recherche du Centre Hospitalier de l'Université Laval.*

La PARP-1 est une enzyme nucléaire qui modifie de façon post-traductionnelle plusieurs protéines nucléaires via son activité de poly(ADP-ribosyl)ation souvent en réponse aux bris de l'ADN. Elle est ainsi impliquée dans plusieurs fonctions cellulaires vitales incluant la réparation de l'ADN, la prolifération, la différenciation ainsi que la transcription de l'ADN pour n'en nommer que quelques unes. Les promoteurs humains, de rat et de souris du gène de la PARP-1 ont été clonés et démontrent une structure commune aux gènes constitutifs (housekeeping). La transcription du gène de la PARP-1 est principalement régulée positivement par les facteurs de transcription Sp1 et Sp3 et négativement par le facteur de transcription NFI. Nous avons récemment démontré que les niveaux d'expression de la PARP-1, Sp1 et Sp3 étaient fortement modulés par l'état de la densité et de la différenciation cellulaire chez des cultures primaires de cellules épithéliales de cornée de lapin (CECL). Ainsi, la PARP-1 pourrait jouer un rôle durant la cicatrisation cornéenne puisqu'elle est fortement influencée durant les événements de migration, prolifération et différenciation qui caractérisent la cicatrisation. En effet, la PARP-1 joue un rôle plus spécifique durant la cicatrisation cornéenne car, en plus d'être influencée par la densité et la différenciation cellulaire, l'expression de la PARP-1 est également affectée par la sécrétion de fibronectine (FN). La FN est une protéine de la matrice extracellulaire sécrétée de façon massive durant la cicatrisation de l'épithélium cornéen. De plus, en considérant la relation étroite entre l'expression de la PARP-1 et de Sp1, nous avons aussi envisagé la possibilité que Sp1 puisse être une cible potentielle de la poly(ADP-ribosyl)ation réalisée par la PARP-1. Ainsi, en modifiant les propriétés trans-activatrices de Sp1, la PARP-1 participe également à la transcription de son propre gène. En conclusion, notre étude a permis d'explorer les mécanismes moléculaires par lesquels la PARP pourrait exercer un rôle durant la cicatrisation de l'épithélium cornéen. Nos travaux ont ainsi permis de démontrer que la PARP-1 agit en tant que modérateur de l'expression génique durant la phase hautement proliférique qui caractérise la cicatrisation cornéenne.