

UNIVERSITÉ DU QUÉBEC

MÉMOIRE

PRÉSENTÉ À

L'UNIVERSITÉ DU QUÉBEC À TROIS-RIVIÈRES

COMME EXIGENCE PARTIELLE

DE LA MAÎTRISE EN PSYCHOLOGIE

PAR

ANDRÉE LAVERGNE

ÉTUDE DE LA MYÉLINISATION DU COLICULUS POSTÉRIEUR ET

DE FAISCEAUX AUDITIFS AFFÉRENTS CHEZ LA SOURIS

EN ASSOCIATION AVEC LA CRISE AUDIOGÈNE

MAI 1997

Université du Québec à Trois-Rivières

Service de la bibliothèque

Avertissement

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

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

Sommaire

La maturation postnatale des voies auditives chez la souris a été examinée en utilisant une technique histochimique de coloration de la myéline. L'analyse quantitative de l'intensité de coloration de la myéline a été réalisée à l'aide d'un système électronique d'analyse d'image. Nous avons porté une attention particulière à la possibilité d'une différence dans le processus de maturation entre la souche DBA/2J, susceptible aux crises audiogènes, et la souche C57BL/6J non disposée à de telles crises. Nos résultats démontrent une maturation plus précoce du lemniscus latéral, du colliculus postérieur et de la commissure intercolliculaire chez les souris DBA/2J comparées aux C57BL/6J. Chez ces deux lignées, la myélinisation de ces voies auditives, entre les âges de dix et vingt-deux jours, suit une progression ascendante parallèle avec un décalage dans le temps qui situe une avance d'environ deux jours dans l'amorce de ce processus chez la souche DBA/2J. La précocité de la myélinisation du système nerveux central auditif corrobore les données indiquant que les réponses comportementales à la stimulation sonore se manifestent plus tôt lors du développement postnatal des souris de cette souche comparées aux souris C57BL/6J. Un relevé de la documentation nous amène à la conclusion que cette maturation accélérée pourrait dépendre d'une hyperthyroïdie transitoire observée chez la souche DBA/2J durant le jeune âge.

Liste des abréviations

B6	Souche de souris C57BL/6J
CA	Crise audiogène
CCP	Commissure du colliculus postérieur
CGM	Corps genouillé médian
CP	Colliculus postérieur
D2	Souche de souris DBA/2J
LL	Lemniscus latéral
N	Coloration au nitrate d'argent
NC	Noyau central du colliculus postérieur
NCD	Noyau cochléaire dorsal
NCV	Noyau cochléaire ventral
MBP	Protéine basique de la myéline
SNC	Système nerveux central
SNCA	Système nerveux central auditif
V	Coloration au violet de crésyl

Table des matières

SOMMAIRE.....	ii
LISTE DES ABRÉVIATIONS.....	iii
LISTE DES TABLEAUX.....	vi
LISTE DES FIGURES.....	vii
INTRODUCTION.....	1
CHAPITRE I : CONTEXTE THÉORIQUE.....	4
1.1 L'ÉPILEPSIE AUDIOGÈNE.....	5
1.1.1 Historique.....	5
1.1.2 Voies auditives.....	7
1.2 PROBLÉMATIQUE DE LA CRISE AUDIOGÈNE.....	10
1.2.1 Aspects génétiques.....	10
1.2.2 Implication des voies auditives.....	11
1.2.3 Anomalies de la neurotransmission du CP.....	12
1.2.4 Maturation des voies auditives.....	13
1.3 LA MYÉLINISATION DU SYSTÈME NERVEUX CENTRAL.....	14
1.3.1 Historique.....	14
1.3.2 Séquences de myélinisation.....	16
1.3.3 Méthodes et techniques d'étude de la myélinisation.....	17
1.3.4 Études histochimiques chez la souris et le rat.....	18
1.3.5 Quantification de la myéline chez la souris.....	19
1.3.6 Hypermyélinisation chez la souche DBA/2J.....	20
1.3.7 Objectifs de la recherche.....	21
CHAPITRE II : MÉTHODES.....	22
2.1 Sujets.....	23
2.2 Perfusion et immersion.....	23
2.3 Techniques de coupe.....	24
2.4 Préparation des lames.....	25

2.5	Histochimie.....	26
2.6	Techniques d'analyse qualitative.....	28
2.7	Méthode d'analyse quantitative.....	28
CHAPITRE III : RÉSULTATS.....		31
3.1	OBSERVATIONS HISTOCHIMIQUES.....	32
3.1.1	Développement neuronal.....	32
3.1.2	La myélinisation à deux, six et huit jours.....	33
3.2	OBSERVATIONS DE LA MYÉLINISATION DE 10 À 22 JOURS....	37
3.2.1	La commissure du colliculus postérieur.....	37
3.2.2	Différences morphologiques entre DBA/2J et C57BL/6J.....	38
3.2.3	Le colliculus postérieur	40
3.2.4	Le lemniscus latéral.....	42
3.3	RÉSULTATS DES ANALYSES QUANTITATIVES.....	45
3.3.1	Analyse des données.....	45
3.3.2	Le colliculus postérieur.....	45
3.3.3	Le lemniscus latéral.....	50
3.3.4	La commissure du colliculus postérieur.....	54
3.3.5	Distribution spatiale de la myéline du colliculus postérieur.....	58
CHAPITRE IV : DISCUSSION DES RÉSULTATS.....		61
CONCLUSION.....		69
RÉFÉRENCES.....		72

Liste des tableaux

Tableau

1	Régression linéaire multiple des variables indépendantes sur l'intensité de coloration de la myéline du colliculus postérieur. Premier modèle.....	47
2	Régression linéaire multiple des variables indépendantes sur l'intensité de coloration de la myéline du colliculus postérieur. Modèle retenu.....	47
3	Régression linéaire multiple des variables indépendantes sur l'intensité de coloration de la myéline du lemniscus latéral. Premier modèle.....	51
4	Régression linéaire multiple des variables indépendantes sur l'intensité de coloration de la myéline du lemniscus latéral. Modèle retenu.....	51
5	Régression linéaire multiple des variables indépendantes sur l'intensité de coloration de la myéline de la commissure du colliculus postérieur. Premier modèle.....	55
6	Régression linéaire multiple des variables indépendantes sur l'intensité de coloration de la myéline de la commissure du colliculus postérieur. Modèle retenu.....	55

Liste des figures

Figure

1	Schéma des voies auditives.....	7
2	Zone de coupe frontale du cerveau.....	25
3	Illustration des zones encerclées pour l'analyse d'image.....	30
4	Microphotographies de la CCP à six jours et du LL à huit jours.....	34
5	Microphotographies du CP à deux et six jours et du LL à six jours.....	36
6	Microphotographies comparatives de la myélinisation du CCP à 12, 15, 22 et 80 jours.....	39
7	Microphotographies comparatives de la myélinisation du CP et du LL à 12 et 15 jours	41
8	Microphotographies comparatives de la myélinisation du CP et du LL à 22 et 80 jours.....	43
9	Dispersion linéaire des intensités de myéline du CP chez les souris entre 10 et 22 jours.....	49
10	Dispersion linéaire des intensités de myéline du LL chez les souris entre 10 et 22 jours.....	53
11	Dispersion linéaire des intensités de myéline de la CCP chez les souris entre 12 et 22 jours.....	57
12	Distribution spatiale d'intensité de la myéline du CP chez les souris de 80 jours	60
13	Distribution spatiale d'intensité de la myéline du CP chez les souris de 22 jours.....	60

Remerciements

Je désire exprimer ma reconnaissance à mon directeur de recherche, Monsieur Roger Ward, Ph. D., pour l'assistance éclairée qu'il m'a apporté. Ma profonde gratitude s'adresse également à Monsieur Raymond Leblanc, Ph. D., pour sa précieuse collaboration au niveau du traitement statistique ; à Monsieur Domenico Miceli, Ph. D., de m'avoir donné généreusement accès à son matériel électronique ; à Mademoiselle Nadine Mayotte, pour ses conseils techniques. Je remercie tout spécialement mon époux pour la compréhension et le soutien moral qu'il m'a prodigué durant mes années d'étude à la maîtrise.

Introduction

Le développement du système nerveux central (SNC) est marqué par plusieurs périodes dont chacune est définie par un événement majeur pour sa croissance. Chez la plupart des mammifères, la maturation cérébrale connaît ses plus rapides et importants changements durant la prime enfance, la myélinisation comptant pour une large part dans ce phénomène (Yakolev & Lecours, 1967 ; Kinney, Karthigasan, Borenshteyn, Flax & Kirschner, 1993).

Le modèle animal choisi pour cette étude, la souris consanguine de la souche DBA/2J (D2), est génétiquement prédisposé aux crises épileptiques audiogènes (CA) et ce, durant une période qui coïncide avec la période la plus active de myélinisation du cerveau. Les souris consanguines de la souche C57BL/6J (B6) utilisées comme contrôle pour cette recherche sont reconnues résistantes à ces crises. Diverses anomalies décelées chez la souris D2 qui mènent à un débalancement transitoire des mécanismes inhibiteurs ou excitateurs semblent impliquer certains aspects de la maturation du cerveau (Seyfried, 1982a). Entre autres, des études neurochimiques indiquent que le cerveau des souris D2 contient un taux de myéline significativement plus élevé que celui des souris B6 durant le jeune âge (Seyfried, Glaser & Yu, 1978).

D'autre part, plusieurs travaux amènent à croire que la différence fonctionnelle observée entre les souris prédisposées aux CA et les souris résistantes à ces crises serait localisée dans les voies auditives périphériques et plus particulièrement dans un noyau auditif majeur : le colliculus postérieur (CP), (Ward, 1971 ; Ward & Collins, 1971 ; Ward & Sinnott, 1971). A ce propos, des différences de maturation des voies auditives entre les diverses souches de souris ont été signalées par plusieurs auteurs (Fox, 1965 ; Wahlsten, 1975 ; Ward ; communication personnelle).

Étant donné qu'il existe une corrélation étroite entre la myélinisation et la maturation des habiletés fonctionnelles du système nerveux (Huttenlocher, 1970 ; Van der Knaap, Valk, Bakker & Shooneveld, 1991), le présent travail s'intéresse particulièrement à savoir si la différence de susceptibilité aux crises audiogènes entre les souris D2 et B6 est fonction de leurs différences de vitesse de maturation des voies auditives. Plus spécifiquement, l'apparition de la myéline se fait-elle à des âges différents chez les deux souches de souris et à quelle vitesse la myélinisation progresse-t-elle par la suite ? Pour ce faire, une étude comparative de la myélinisation du colliculus postérieur et de deux faisceaux de fibres du système nerveux auditif afférents à ce noyau neuronal, le lemniscus latéral (LL) et la commissure du colliculus postérieur (CCP), a été réalisée entre les souches de souris D2 et B6 durant le développement postnatal. A la suite du contexte théorique, nous décrivons dans les chapitres ultérieurs les procédures utilisées ainsi que les résultats, suivis de la discussion.

Contexte théorique

1.1 L'ÉPILEPSIE AUDIOGÈNE

1.1.1 Historique

Les crises épileptiques, déclenchées par la stimulation sonore, ont été décrites par Studentzof en 1924 (voir Krushinsky et al., 1970). Des recherches ultérieures ont pu mettre en évidence la disposition aux crises audiogènes chez d'autres espèces de rongeurs, entre autres chez le rat (Donalson, 1924 ; Maier & Glaser, 1940), le mulot *Peromyscus*, (Dice, 1935) ainsi que chez le lapin (Nachtsteim, 1937 ; Nellhaus, 1958).

La crise audiogène se manifeste en trois phases progressives : après l'exposition à un stimulus sonore intense, elle débute par une très forte activité motrice dite « course effrénée », se poursuit par une phase clonique où l'animal tombe sur son côté et déploie de violentes convulsions et se termine par une phase tonique qui s'exprime par une rigidité progressive de la musculature. Cette phase est souvent suivie du décès par arrêt respiratoire si l'animal n'est pas rapidement réanimé. L'élaboration de souches consanguines de souris (Green, 1968) a permis de constater que certaines de ces souches, notamment la souche DBA/2, étaient uniformément prédisposées à ce type de crise.

La susceptibilité aux CA chez la souche D2 débute entre 14 et 16 jours après la naissance et atteint son niveau le plus intense autour de 21 jours. Après cette période critique, la susceptibilité se dissipe graduellement et finit par disparaître (Vicari, 1951 ; Schreiber, 1978 ; Seyfried, 1982a).

La souche de souris C57BL/6J est reconnue résistante à ces crises. Toutefois, même si les souris B6 ne sont pas génétiquement prédisposées aux CA, il est possible de provoquer chez elles des crises par amorçage acoustique. Ce procédé consiste à exposer l'animal à des stimuli sonores intenses durant une période spécifique du développement. Chez les B6, la sensibilité à l'amorçage acoustique se situe entre 14 et 26 jours, les crises survenant alors quelques jours après cet amorçage (Henry, 1967 ; Seyfried, 1982b).

Afin de faciliter la compréhension des structures neuroanatomiques formant les voies auditives, nous présentons une description sommaire du système nerveux central auditif (SNCA) avec une attention particulière prêtée aux connexions neuronales des noyaux auditifs faisant l'intérêt de la présente étude, soit le colliculus postérieur, le lemniscus latéral et la commissure du CP. Un schéma des voies auditives du SNC est présenté à la Figure 1.

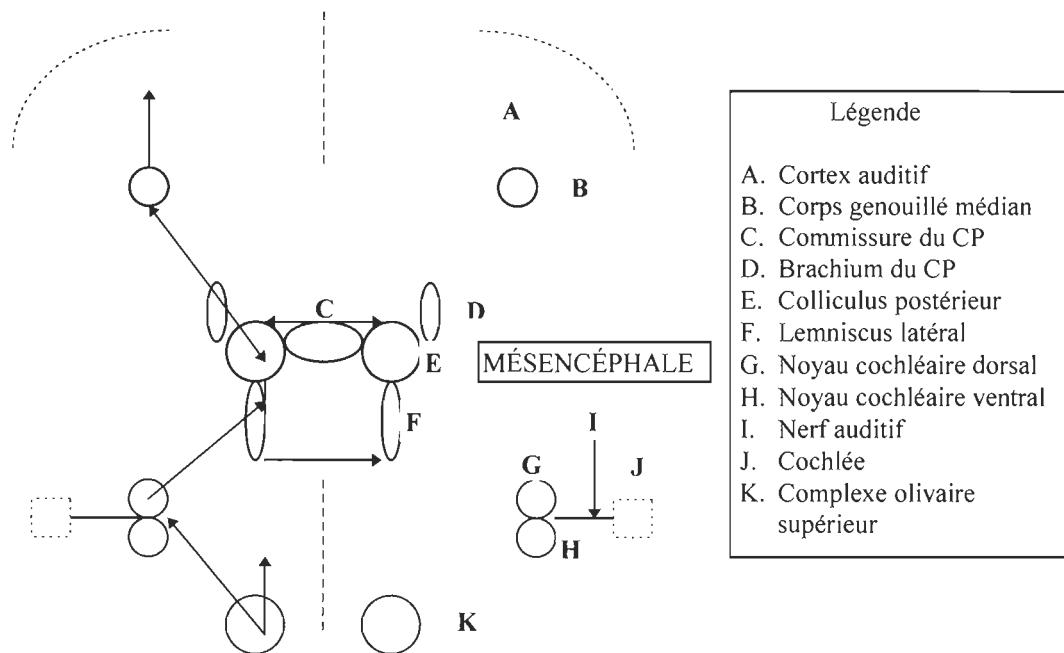


Figure 1 : Schéma des voies sensorielles auditives vu sur un plan horizontal. Les flèches indiquent quelques connexions entre les noyaux auditifs. La distance entre les noyaux est approximative. Dessin d'après les données sur l'anatomie du système nerveux central auditif chez la souris (Willard & Ryugo, 1983).

1.1.2 Voies auditives

Les voies auditives du système nerveux central ont une structure générale similaire chez plusieurs espèces de mammifères, y compris l'homme (Cajal, 1909 ; Geniec & Morest, 1971 ; Rockel & Jones, 1973 ; Casseday, Diamond & Harting, 1976 ; FitzPatrick, 1975 ; Willard & Ryugo, 1983 ; Willard & Martin, 1983 ; Morest & Oliver, 1984).

Ces voies débutent dans la cochlée où les fibres du nerf auditif VIII transmettent les stimuli auditifs aux deux noyaux cochléaires situés sur la surface latérale du cerveau à la jonction du pons et de la médulla. Le noyau cochléaire ventral (NCV) est typiquement sensoriel et possède une tonotopie. Le noyau cochléaire dorsal (NCD) sert à l'accommodation auditive et est impliqué dans la protection périphérique avec le noyau olivaire supérieur, la formation réticulée et le colliculus postérieur (Bossy, 1990).

Le complexe olivaire supérieur situé dans la partie postérieure du pons comprend six groupes nucléaires : les corps trapézoïdes, les noyaux paraolivaires et les noyaux de l'olive supérieure. Ces noyaux sont des relais pour certaines fibres du lemniscus latéral et des noyaux cochléaires (Brown & Benson, 1992). Dans la zone centrale du mésencéphale, on trouve le CP ainsi que trois faisceaux de fibres nerveuses afférentes à ce noyau neuronal : le lemniscus latéral, la commissure du colliculus postérieur ainsi que le brachium du CP.

Le colliculus postérieur est un relais neuronal majeur du système nerveux central auditif. Situé entre les pédoncules cérébraux et derrière le colliculus antérieur, sa partie caudale est légèrement couverte sur ses bords latéraux par le cervelet. Il est divisé en trois sous-noyaux principaux : le noyau central, le cortex dorsal et le cortex externe. On a démontré chez la souris que le CP reçoit des projections afférentes des noyaux cochléaires contralatéraux, du complexe olivaire supérieur, du lemniscus latéral et du cortex auditif. Le noyau central du CP en plus de recevoir des projections de centres

auditifs est aussi le récepteur de fibres afférentes provenant de centres non auditifs comprenant entre autres les noyaux hypothalamiques, la substance noire, les couches profondes du colliculus antérieur, le noyau paragigantocellulaire et la formation réticulée pontine. (Gonzalez-Hernandez, Meyer, Ferres-Torres, Castaneyra-Perdomo & del Mar Perez Delgado , 1987).

Le lemniscus latéral débute au niveau du complexe olivaire par l'entremise du corps trapézoïde, ses fibres voyageant ensuite latéralement à travers le pons jusqu'à la partie caudale du mésencéphale, et de là, se déplacant dorsalement pour terminer la majorité de ses fibres dans le colliculus postérieur. Il est composé de trois noyaux , soit le noyau ventral, situé à la limite rostrale du complexe olivaire, et les noyaux intermédiaire et dorsal qui s'étendent en bordure de la surface ventrale du CP. Le noyau ventral du LL envoie ses fibres au CP ipsilatéral, spécifiquement au noyau central et externe du CP tandis que les fibres du noyau intermédiaire projettent bilatéralement aux colliculi postérieurs. Le noyau dorsal du LL, quant à lui, envoie ses fibres uniquement au CP ipsilatéral (Willard & Ryugo, 1983 ; Gonzalez-Hernandez & al., 1987). La commissure du colliculus postérieur est un faisceau de fibres reliant les deux colliculi. Chez la souris, la majorité des fibres commissurales s'élèvent du noyau central du CP ; quelques fibres éparses proviennent du noyau externe du CP (Gongalez-Hernandez, Meyer & Ferres-Torres, 1986).

Les voies auditives comprennent aussi, au niveau du diencéphale, le corps genouillé médian relié au CP par l'intermédiaire du brachium du CP et, par les voies thalamo-corticales, aux aires corticales auditives.

1.2 PROBLÉMATIQUE DE LA CRISE AUDIOGÈNE

1.2.1 Aspects génétiques

Puisque la différence de susceptibilité aux CA entre les souches suggère à première vue une origine génétique, Collins & Fuller (1968) ont examiné les souris en provenance du croisement C57BL/6 x DBA/2 et sont arrivés à la conclusion qu'elle résulte d'une différence allélique simple au locus *asp* du chromosome 4. Par la suite, Nébert (1980) a mis en évidence une différence allélique sur le locus Ah entre les souches D2 et B6, soit respectivement Ah^d et Ah^b, et a démontré par le croisement D2 X B6 que l'allèle Ah^b est dominant. La production de souris DBA/2Ah^b génétiquement identique aux DBA/2 (à l'exception de cet allèle b et un petit montant de matériel chromosomique entourant le locus Ah), a permis de démontrer que la susceptibilité aux CA est significativement plus basse chez ce groupe portant l'allèle Ah^b. Ce gène a été nommé las (*inhibition of audiogenic seizures*) en raison de son effet inhibiteur sur la crise audiogène (Seyfried & Glaser, 1981). Plus récemment, Neumann et Seyfried (1990) ont pu établir que la différence de susceptibilité aux CA entre les souris D2 et B6 résulte de différences alléliques sur plusieurs loci et plus particulièrement sur deux loci ; le premier

ASP-1 (antérieurement Ias) est un gène majeur localisé sur le chromosome 12, et le second, ASP-2 (antérieurement asp), un gène mineur localisé sur le chromosome 4. Ces données suggèrent que la susceptibilité aux CA serait reliée à quelques anomalies génétiques influençant les mécanismes inhibiteurs. Il reste cependant l'énorme tâche d'identifier la fonction et de décrire le mode d'expression de ces deux gènes.

1.2.2 Implication des voies auditives

Les recherches concernant l'identification des voies nerveuses impliquées dans les CA ont démontré que les centres auditifs diencéphaliques et télencéphaliques n'ont pas d'influence sur ces dernières (Ward, 1971 ; Ward & Sinnett, 1971) et que la différence fonctionnelle observée entre les souris prédisposées aux CA et les souris résistantes à ce type de crise est localisée dans les parties périphériques des voies auditives, en amont du colliculus postérieur (Fuller & Collins, 1968 ; Collins, 1970 ; Ward, 1971 ; Ward & Collins, 1971 ; Ward & Sinnett, 1971). Des résultats similaires ont été obtenus chez le rat (Wada, Terao, White & Jung, 1970).

Selon les résultats de Willott et Lu (1980), le noyau central du CP serait particulièrement impliqué dans l'initiation de la crise tandis que la progression aux autres phases clonique et tonique requerrait l'apport des régions rostrales au CP chez la souris. D'après les résultats de recherches effectuées chez le rat, l'hypothèse proposée par Ribak, Khurana et Lien (1994) des voies impliquées dans les CA est la suivante : la stimulation

auditive active les fibres du LL projetant dans le noyau central du CP où apparaît le début de la crise audiogène qui, de ce noyau se propage au cortex externe du CP puis aux couches profondes du colliculus antérieur et, selon les résultats de Browning (1986), du colliculus antérieur à la formation réticulée pontine dont quelques connexions activeraient les motoneurones de la moelle épinière complétant ainsi les diverses phases de la crise audiogène.

Toutefois, le rôle des différentes subdivisions du CP est contredit par McCown (1991) dont les résultats indiquent une initiation de la crise audiogène dans les couches corticales du CP chez le rat. La question demeure complexe puisque d'autres régions, comme la substance grise péréiaqueductale, semblent aussi participer à l'expression des CA chez le rat (Chakravarty, Faingold, Terry & Naritoku, 1993).

1.2.3 Anomalies de la neurotransmission du CP

Les expériences par potentiels évoqués de Willott (1981) démontrent qu'après l'arrêt de la stimulation, les réponses neuronales du noyau central du CP déploient aux âges de 21 à 23 jours une activité prolongée chez les souris D2 comparativement aux souris B6. De plus, l'activité spontanée neuronale (activité en l'absence de stimulation acoustique) montre moins d'inhibition chez les D2 dans cette région que chez les B6. Cette baisse d'inhibition dans l'activité spontanée des neurones a aussi été démontrée dans le NCV chez les souris D2 (Willott, Demuth & Lu, 1984). Selon ces auteurs, les

propriétés de ces réponses neuronales apparaissent comme une amplification de l'excitabilité (ou atténuation de l'inhibition) des influx nerveux allant du noyau ventral au noyau dorsal cochléaire et de là vers le colliculus postérieur.

D'autre part, les résultats de recherches neurochimiques et électrophysiologiques chez le rat susceptible aux CA suggèrent l'existence d'une altération morphologique et fonctionnelle de la neurotransmission excitatrice de certains sous-noyaux du CP (Faingold et al., 1992 ; Pierson & Snyder-Keller, 1992 ; Terra & Garcia-Cairasco, 1994 ; Ribak & Morin, 1995).

1.2.4 Maturation des voies auditives

Chez les souriceaux, le canal auditif externe est fermé jusqu'à l'âge de 8 jours et n'est pleinement ouvert que vers l'âge de 12 jours. L'audition débute généralement 10 jours après la naissance avec une maturation rapide entre 12 et 16 jours qui se complète vers 18 jours (Mikalian & Ruben, 1965). Les résultats de tests comportementaux ont démontré que la maturation de l'audition diffère entre les lignées de souris (Fox, 1965). En ce qui concerne les souris D2, elles réagissent au réflexe de Preyer, (son abrupt) autour de 13 jours, soit environ deux jours avant les souris B6 (Ward ; communication personnelle). De plus, les résultats de plusieurs tests sur les réflexes moteurs et sensoriels évaluent à environ deux jours l'avance du développement des souris D2 comparée aux souris B6 à l'âge de 13 jours (Wahlsten, 1975).

1.3 LA MYÉLINISATION DU SYSTÈME NERVEUX CENTRAL

1.3.1 Historique

La maturation neurale est un processus long et complexe impliquant de nombreux paramètres morphologiques et physiologiques. Chaque région du cerveau est d'abord peuplée de neurones qui, une fois en place, élaborent axones et dendrites. Ces neurones connaissent une longue période de maturation avant d'avoir l'efficacité et la flexibilité de l'adulte (Gibson, 1991). La myélinisation qui chevauche la période de croissance neuronale est un processus initié par des signaux chimiques émis par l'axone ainsi que par des paramètres physiques tels que son diamètre (Peters & Vaughn, 1970). Les axones acquièrent les feuillets de myéline par l'entremise de cellules myélinisantes du SNC, les oligodendrocytes. Chez la souris, la production d'oligodendrocytes débute à trois jours et atteint autour de six jours un taux maximum qui se maintient jusqu'à 31 jours (Barbarese & al., 1988). Les oligodendrocytes élaborent autour de plusieurs axones à la fois de nombreux prolongements formant une gaine de myéline segmentée par des intervalles ou noeuds de Ranvier (Bunge, 1968). Le processus de myélinisation implique aussi la production de lipides et d'un certain nombre de protéines caractéristiques de la myéline comme par exemple la MBP (*myelin basic protein*). Chez la souris, la synthèse de la plupart des constituants biochimiques de la myéline connaît sa période la plus active entre 10 et 20 jours (Norton, 1975).

La myélinisation de ces fibres confère des avantages majeurs : il est maintenant bien connu que ce processus est essentiel pour accroître la vitesse de la conduction nerveuse par propagation saltatoire des influx nerveux le long de l'axone et permettre ainsi une meilleure efficacité de la neurotransmission (Huttenlocher, 1970 ; Pourquié, 1995).

A la suite des études initiales réalisées par Flechsig (1920), la myélinisation du cerveau a été explorée chez une grande variété de mammifères, y compris l'homme (Langworthy 1928a, 1928b ; Kelton & Rauch, 1962 ; Jacobson, 1963 ; Brody, Kinney, Kloman & Gilles, 1987). L'idée que la myélinisation pourrait servir comme indice de la capacité comportementale a été émise par plusieurs chercheurs (Tilney & Casamajor, 1924 ; Keene & Hewer, 1931 ; Langworthy, 1933 Windle, Fish & Donel, 1934). Par la suite, Huttenlocher (1970) a démontré que plusieurs capacités fonctionnelles du système nerveux précèdent la myélinisation des axones mais fonctionnent alors avec un rendement très limité. Même si la myélinisation n'est plus considérée comme un indice absolu de la capacité fonctionnelle du SN, elle demeure l'un des paramètres les plus importants pour l'observation du développement et de la maturation du SNC. Un exemple typique est celui de la correspondance étroite entre la progression de la capacité visuelle chez l'enfant (Bronson, 1974) et les séquences de myélinisation des voies majeures du système visuel durant la même période (Yakolev & Lecours, 1967 ; Brody, Kinney, Kloman & Gilles, 1987).

1.3.2 Séquences de myélinisation

Chez la majorité des mammifères, les séquences de myélinisation suivent un plan de développement similaire. La myélinisation du SNC débute quelques jours après celle du système nerveux périphérique. Les nerfs crâniens et les voies motrices et sensorielles myélinisent plus tôt ainsi que les régions caudales et sous corticales du cerveau par rapport au télencéphale. Cependant, même si le patron séquentiel est semblable, la chronologie du processus de myélinisation varie remarquablement entre les espèces. En effet, c'est un événement entièrement postnatal chez le chat, le rat, la souris, l'opossum et le lapin ; par contre le cerveau du cobaye est entièrement myélinisé à la naissance, tandis que chez le singe et l'homme, le processus débute durant la gestation. Chez le rat et la souris, la myélinisation du cerveau est complète après quelques mois ; par contre, ce processus est plus lent chez le singe et l'homme et ne s'achève qu'après plusieurs années (Gibson, 1991).

Diverses anomalies hormonales ou biochimiques peuvent affecter le processus de myélinisation. Entre autres, le déficit ou l'excès de thyroxine exerce des effets perturbateurs sur plusieurs aspects du développement du cerveau chez le rat (Lauder, 1977). Chez l'être humain, le crétinisme causé par une hypothyroïdie en bas âge chez l'enfant en est l'un des exemples les plus connus. Cette hormone joue aussi un rôle important dans la myélogenèse (Hamburg et al., 1977).

1.3.3 Méthodes et techniques d'étude de la myélinisation

L'introduction de la technique de coloration de Weigert à la fin du 19^e siècle, par la suite de divers colorants de la myéline comme le Luxol Fast Blue et plus récemment de la méthode modifiée de Mahon à base d'hématoxylene (Jebb & Woolsey, 1977) a facilité la visualisation des voies nerveuses du SN durant leur maturation. Les études histochimiques sur la myélinisation du cerveau sont habituellement réalisées à l'aide d'un microscope photonique en utilisant une méthode d'analyse qualitative de la coloration de la myéline sur une échelle de gradation d'intensité de 3 à 4 niveaux (Kenner, 1991).

Quelques chercheurs ont utilisé en microscopie électronique une méthode quantitative basée sur le calcul du nombre total d'axones myélinisés, ou de cellules de Schwann, mais limitée à un très petit nombre de voies nerveuses (Nagara, Suzuki & Suzuki, 1982 ; Kondo, Sendoh, Akazawa, Sato & Nagara, 1992). Un système électronique d'analyse d'image a permis récemment à Hamano, Isawaki, Takeya et Takita (1996) de réaliser une analyse quantitative de la myélinisation du SNC chez le rat par marquage immunohistochimique de la MBP. D'autre part, la composition et le contenu en myéline du cerveau peuvent être connus à partir de l'analyse chimique des divers constituants lipidiques et protéiques de la myéline.

1.3.4 Études histochimiques chez la souris et le rat

Les publications concernant les études histochimiques de la myélinisation des voies nerveuses du SNC chez la souris sont peu nombreuses et fragmentaires. Selon Kelton et Rauch (1962), la myélinisation des voies motrices débute à 5 jours. Quelques données sur les voies auditives situent une amorce de la myélinisation à l'âge de 6 jours dans le corps trapézoïde et le noyau cochléaire ventral, à 9 jours dans les noyaux olivaires et à 17 jours dans le lemniscus latéral. D'autre part, les résultats d'une analyse qualitative de 80 fibres nerveuses montrent à l'âge de 13 jours une intensité de coloration de la myéline plus prononcée de ces fibres chez la souche D2 comparée à cinq autres lignées de souris incluant la souche B6 (Wahlsten, 1975).

Des études immunohistochimiques de la MBP chez le rat indiquent la présence d'un petit nombre de fibres immunoréactives à 7 jours dans certaines parties des voies auditives postérieures au CP (Rozeik & von Keyserlink 1987). Cependant, les informations fournies par Jacobson (1963) sur les séquences de myélinisation des voies du SNCA chez le rat sont plus substantielles. Les résultats de cet auteur indiquent que la myélinisation est déjà amorcée dans les voies motrices à 7 jours. En ce qui concerne les voies auditives, il note dans le LL à 10 jours, quelques fibres légèrement myélinisées s'étendant jusqu'au colliculus postérieur. Entre 12 et 14 jours, il observe quelques fibres de coloration moyenne dans le colliculus postérieur ainsi qu'un début de myélinisation dans le brachium du CP et le CGM. A 21 jours, il note un plus grand nombre de fibres

d'intensité moyenne dans le CP et le corps genouillé médian, ainsi que quelques axones légèrement colorés dans les aires corticales auditives. La myélinisation du cerveau chez le rat serait complète autour de 60 jours. Tessitore et Brunjes (1988) rapportent des résultats similaires en ce qui concerne le rat tout en précisant que la myélinisation sous corticale du cerveau chez ce rongeur atteint une maturation relativement complète autour de 26 jours. A ce sujet, il est intéressant de noter que Shah, Bhargava & McKean (1978) ont démontré une corrélation étroite entre la maturation des réponses neuronales du SNCA suite à des stimuli auditifs (potentiels évoqués) et la progression de la myélinisation du colliculus postérieur chez le rat normal. On note entre 15 et 26 jours un taux d'accumulation rapide de myéline dans ce noyau auditif qui montre après cette période des valeurs très proches de celles du rat adulte avec une maturation complète autour de 45 jours.

1.3.5 Quantification de la myéline chez la souris

Selon les analyses de divers constituants biochimiques de la myéline, le cerveau de la souris ne contient pratiquement pas de myéline à l'âge de 10 jours. On note cependant, que le taux de myéline est substantiel à partir de 14-15 jours (Uzmann & Rumley, 1958). Les résultats de Morell, Greenfield, Costantino-Ceccarini & Wisniewski (1972) vont dans le même sens et précisent que la myéline s'accumule le plus rapidement dans le cerveau durant la période postnatale se situant entre 15 et 30 jours avec un ralentissement de ce processus par la suite. A partir de 45 jours, quand la souris est relativement mature, on note que l'accumulation de myéline se poursuit avec une

augmentation de 50 % du poids total de la myéline du cerveau entre cet âge et 300 jours. Des résultats similaires ont été rapportés chez le rat, la période la plus rapide de myélinisation du SNC se situant entre 15 et 26 jours. De même, l'accumulation continue de myéline durant la vie a aussi été observée chez le rat (Eng, & Noble, 1968) et récemment, chez l'homme (Benes, Turtle, Khan & Farol, 1994). L'ensemble des recherches citées sur la myélinisation du cerveau de la souris et du rat suggère fortement un plan général de développement similaire chez ces deux espèces de rongeurs.

1.3.6 Hypermyélinisation chez la souche DBA/2J

Des études biochimiques indiquent un taux de myéline significativement plus élevé dans le cerveau des souris D2 que dans celui des souris B6 durant la période d'âge critique pour les crises audiogènes. En effet, on trouve chez les souris D2 à l'âge de 21 jours une plus grande concentration de G_{M1}, un ganglioside reconnu comme hautement lié à la myéline, comparativement aux souris B6 ainsi qu'à d'autres souches de souris résistantes aux CA (Seyfried, Glaser & Yu , 1978 ; 1979). De plus, Sato et Yu (1987) ont démontré que la vitesse de synthèse des galactolipides de la myéline est significativement plus élevée chez la souche D2 comparée à la souche B6 entre les âges de 14 et 17 jours. Ces auteurs notent toutefois que cette différence n'est plus significative à l'âge de 21 jours.

1.3.7 Objectifs de la recherche

On constate à partir des recherches citées que la période la plus active de myélinisation du cerveau chez la souris coïncide avec celle de la période critique pour les crises audiogènes. D'autre part, les résultats aux tests comportementaux (Wahlsten, 1975 ; Ward ; communication personnelle) indiquent une maturation plus rapide des voies auditives chez la souche D2 comparée à la souche B6. Toutefois, les informations qui pourraient permettre de déterminer si cette différence est liée à une progression accélérée ou plus précoce de la myélinisation du SNCA sont inexistantes chez ces deux lignées de souris. Les résultats d'études indiquant une hypermyélinisation du cerveau chez la souche D2 entre 14 et 21 jours sont certes intéressants mais ne donnent pas de précision quant à la séquence et à la chronologie du développement de la myélinisation de voies nerveuses spécifiques du cerveau et, pour ce qui nous intéresse, des voies auditives. D'autre part, l'implication du colliculus postérieur dans la manifestation des CA nous amène à nous intéresser particulièrement à la maturation de ce noyau auditif et aux faisceaux de fibres auditives afférentes. La présente recherche se propose donc d'étudier la myélinisation du colliculus postérieur ainsi que de sa commissure et du lemniscus latéral dans le but de déterminer s'il existe une différence dans la période de démarrage, puis de la progression de ce processus dans ces voies auditives entre les deux souches de souris. Pour ce faire, nous avons utilisé différentes méthodes et techniques d'analyse de la myélinisation qui sont décrites dans le chapitre suivant.

Méthode

2.1 Sujets

En provenance du Laboratoire Jackson, huit couples de souris consanguines de la souche DBA/2J et de la souche C57BL/6J ont procuré la progéniture nécessaire à cette étude. De ces portées, 33 souris de chaque lignée ont été utilisées aux âges suivants, en jours postnataux : 2, 6, 8, 10 , de 12 à 18 inclusivement, 20, 22, 80. Le nombre de sujets par âge pour chaque lignée est : (1) de 22 et 80 jours ; (2) de 2, 6, 8,12, 14, 17, 20 jours ; (3) de 10, 15, 16 jours ; (4) de 13 et 18 jours. Deux souris âgées de 8 mois ont aussi servi pour cette recherche ainsi que quelques souris supplémentaires pour des tests d'essais de colorants de la myéline. Vu l'incertitude sur l'heure exacte de la naissance l'âge des souris peut varier d'une demi-journée par rapport à la valeur citée.

2.2 Perfusion et immersion

Les animaux sont perfusés par voie intracardiaque après avoir été mis sous anesthésie profonde à l'avertin 2.5% (Hogan, Constantini & Lacey, 1986). Après une injection dans l'aorte d'un anticoagulant (héparine), le système vasculaire est nettoyé par injection de saline 0.9%, suivi par du formaldéhyde 4% pour la fixation du tissu cérébral.

L'encéphale est ensuite extrait, mis dans du formaldéhyde 4% et remisé au réfrigérateur à 4°C jusqu'à son utilisation.

En raison de la petitesse de leur taille, les souriceaux pesant moins de 3 grammes sont sacrifiés par l'administration d'une dose létale de chloroforme. La tête est coupée et mise en immersion dans du formaldéhyde 4% durant une période de 7 à 10 jours. L'encéphale durci est ensuite extrait et remisé dans du formaldéhyde 4% jusqu'à son utilisation.

2.3 Techniques de coupe

Après immersion dans du sucre 30% jusqu'à ce que le cerveau coule au fond de la solution, ce dernier est ensuite sectionné à l'aide d'un microtome à congélation, Jung CM3000 Leica en coupes frontales de 20 microns d'épaisseur par série de trois coupes adjacentes. Ces coupes sont récupérées directement sur lames gélatinées, remisées au réfrigérateur à 4°C et colorées le jour même.

Notons que dix cerveaux ont été sectionnés sans division serielle et réservés uniquement pour la coloration de la myéline. Il s'agit, pour chaque lignée, du cerveau d'une souris âgée de 13, 15, 18, 22 et 80 jours. On peut voir à la Figure 2 la zone de coupe frontale du cerveau.

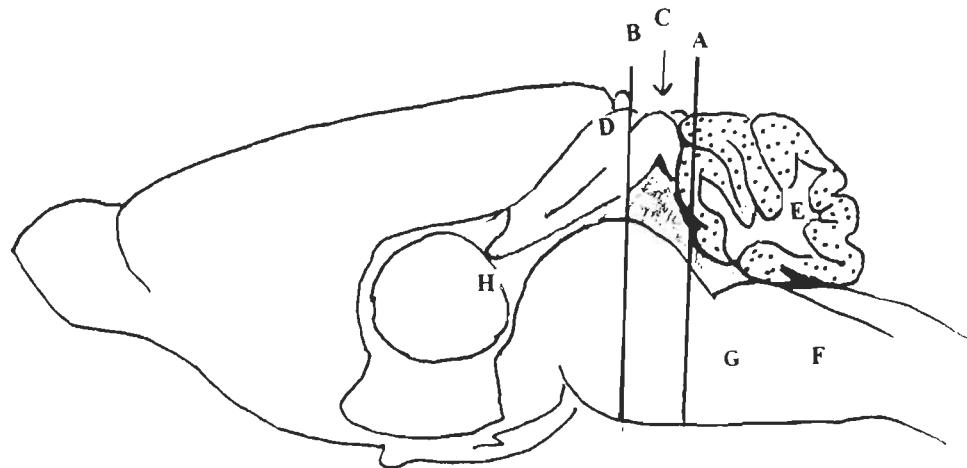


Figure 2 : Vue latérale médiale du cerveau de la souris adulte. Les lignes verticales A et B indiquent la zone des coupes frontales. La flèche en C désigne le colliculus postérieur. Les lettres indiquent : (D) colliculus antérieur ; (E) cervelet ; (F) médulla ; (G) pons ; (H) corps genouillé médian situé dans la zone thalamique (cercle). La zone grise sous le cervelet correspond au 4^e ventricule et à l'aqueduc cérébral. Longueur réelle du cerveau : environ 2.5 cm. D'après l'Atlas de la souris (Sidman et al., 1971).

2.4 Préparation des lames

Les lames sont rincées une première fois dans un bain d'eau distillée, et nettoyées ensuite dans un bain d'acide chlorhydrique à 10 % durant 3 minutes puis rincées à nouveau dans de l'eau distillée. Le panier de lames est ensuite mis à tremper 30 secondes dans une solution de gélatine chaude puis, chaque lame soigneusement épongée sur ses bords pour une répartition uniforme de la gélatine avant d'être mise à sécher au four toute la nuit. La gélatine adhérant encore sur les côtés de la lame est grattée avant son utilisation. Le colorant de Mahon présente une certaine affinité pour

la gélatine et cette procédure se révèle nécessaire pour éviter les artefacts causés par l'effritement des surplus accumulés sur les côtés des lames.

La solution de gélatine se compose de 500 mL d'eau distillée, chauffée à 80⁰ C, à laquelle on ajoute 10 g de gélatine en poudre (300 Bloom) en brassant. Après avoir laissé descendre la température à 50⁰ C, on ajoute 0,25 g de sulfate de potassium chromique. Le tout est ensuite filtré par gravité avec un filtre Whatmann n°1, couvert et remisé au four à température contrôlée jusqu'à son utilisation future.

2.5 Histo chimie

Des essais avec le colorant Sudan noir révèlent une coloration de fond du tissu cérébral très prononcée qui le rend peu recommandable pour l'analyse par traitement numérisé de l'image. Nous avons donc utilisé la méthode de Mahon reconnue par Tessitore & Brunjes (1988) comme plus spécifique de la myéline. Un exemple de ces deux types de coloration est présenté dans le troisième chapitre.

Trois techniques de coloration ont été utilisées : la méthode modifiée de Mahon (Jebb & Woolsey, 1977) pour le marquage de la myéline, une coloration au nitrate d'argent (N) pour le marquage des fibres nerveuses (Nauta & Gypax, 1951) et la coloration au violet de crésyl (V), procédé qui permet le repérage des noyaux neuronaux.

Pour chacune de ces techniques, les coupes d'un D2 et B6 de même âge ont été colorées ensemble.

La méthode de Mahon débute par une hydratation de 2 heures des coupes dans de l'eau distillée suivie par 25 minutes de trempage dans une solution d'alun ferrique à 2.5% (mordant). Les coupes sont ensuite rincées dans l'eau distillée pendant 2 minutes et mises dans une solution colorante d'hématoxiline durant 2 heures. Cette préparation est composée de 20 mL de solution stock d'hématoxiline (10 g d'hématoxiline dans 100 mL d'éthanol absolu ; filtrée) et 165 mL d'eau distillée à laquelle on ajoute 15 mL de solution saturée et filtrée de carbonate de lithium. Après l'ajout de ce dernier, la solution ne peut être utilisée qu'une fois et dans une limite de temps de 3 heures. Après le bain d'hématoxiline, les coupes sont à nouveau rincées dans l'eau distillée pendant 5 à 15 minutes (où jusqu'à ce qu'il ne sorte plus de colorant du tissu) puis déshydratées dans des bains d'éthanol à 50, 70, 95 et 100% durant 2 minutes chacun. Après avoir trempé dans du xylène durant 5 minutes, les lames sont recouvertes d'une lamelle à l'aide du baume d'inclusion Eukitt.

Les lames sérielles portant les coupes adjacentes ont été colorées respectivement au nitrate d'argent et au violet de crésyl. Ces dernières méthodes étant bien connues, elles ne sont pas décrites ici.

2.6 Techniques d'analyse qualitative

Une étude qualitative de la myélinisation du CP, du LL et de la CCP a été réalisée à partir des coupes anatomiques couvrant la période postnatale de 2 à 22 jours ainsi que des adultes de 80 jours et de 8 mois. La description des observations histochimiques de la myéline se base sur cinq phases reconnaissables du processus de maturation de la myéline : (0) aucune myéline visible, (1) la myéline très pâle, visible au microscope optique à fort grossissement, (2) la myéline visible à l'oeil mais pâle comparée au niveau mature, (3) myéline de ton moyen, (4) la myéline mature. La densité cellulaire et axonale révélée par le nitrate d'argent et le violet de crésyl a été observée sur les séries de coupes adjacentes. Quelques microphotographies ont été prises au microscope Dialux 20 couplé à une caméra Panasonic à l'aide de films noir et blanc T-Max ISO 400 afin d'illustrer la croissance neuronale entre deux et huit jours et la progression de la myélinisation des structures auditives étudiées à diverses étapes du développement.

2.7 Méthode d'analyse quantitative

Les analyses quantitatives de l'intensité de coloration de la myéline ont été faites par l'entremise du logiciel NIH Image sur un ordinateur Power Mcintosh 7500, à l'aide d'un microscope Dialux 20, relié à l'ordinateur par une caméra vidéo Panasonic.

La procédure d'analyse des intensités de coloration de la myéline par traitement numérisé de l'image consiste dans un premier temps à choisir une intensité lumineuse et une ouverture du diaphragme similaires ainsi qu'un grossissement de l'image, identique pour toutes les analyses. Après la normalisation, cette lumière diffuse analysée donne des signaux moyens (unités arbitraires) variant entre 58 et 60 d'intensité. La stabilité lumineuse est vérifiée à quelques reprises durant le travail d'analyse des coupes. Afin de soustraire les signaux de fond de coupe, nous avons procédé à une analyse du tissu cérébral non myélinisé sur des coupes provenant de souris âgées de deux jours. Ces signaux varient autour de 60 avec des écart-types de 2 à 5 et sont similaires à ceux retrouvés pour les fonds de coupes non myélinisés de souris plus âgées. A partir de ces données, une soustraction arbitraire de 65 d'intensité a été réalisée avant chaque analyse. Cette soustraction même si elle est imparfaite, puisqu'elle recoupe en partie une certaine fraction des intensités de myéline légère, permet d'autre part de standardiser la procédure et d'éliminer à toutes fins pratiques l'interférence des fonds non myélinisés. Après avoir procédé à la soustraction du fond, chacune des trois zones auditives est encerclée, isolée du champ périphérique puis quantifiée séparément sur une échelle d'intensité de gris de 0 (blanc) à 256 (noir).

Le foyer lumineux a été centré sur un site repère pour chacune des trois zones étudiées pour toutes les analyses ; le centre du CP, le centre de la commissure du CP et à la droite médiale du LL droit ou gauche.

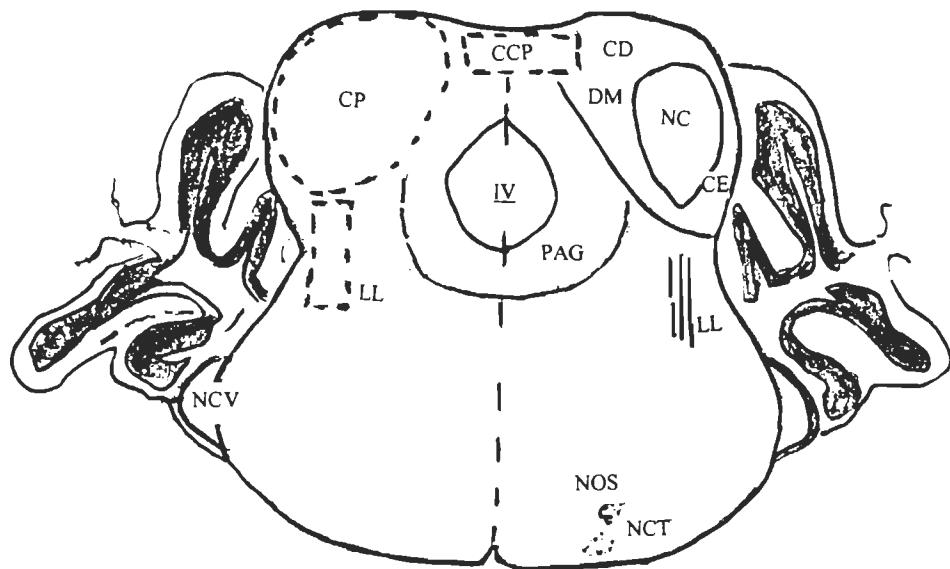


Figure 3 : Coupe frontale du colliculus postérieur. Les lignes pointillées indiquent les zones encerclées pour l'analyse. Abréviations : (CP) colliculus postérieur, (CCP) commissure du CP, (LL) lemniscus latéral, (NCV) noyau cochléaire ventral, (IV) 4^e ventricule, (PAG) substance grise péréiaqueductale, (NOS) noyau olive supérieure, (NCT) noyau du corps trapézoïde. Les subdivisions du CP : (CD) cortex dorsal, (DM) noyau dorso-médian, (NC) noyau central, (CE) cortex externe. Dessin d'après l'Atlas de la souris (Sidman et al., 1971).

On peut voir à la Figure 3 les zones auditives isolées pour l'analyse quantitative qui sont ici délimitées par une ligne pointillée. On y trouve aussi les subdivisions du CP ainsi que l'emplacement de quelques noyaux auditifs.

Les résultats des observations histochimiques ainsi que des analyses quantitatives sont présentés dans le chapitre suivant.

Résultats

Ce chapitre comprend trois sections : (1) les observations sur la densité neuronale (révélée par la coloration au nitrate d'argent et au violet de crésyl) et sur la myélinisation durant la première semaine de vie postnatale , (2) les observations sur la myélinisation entre 10 et 22 jours ainsi que chez la souris mature, (3) le traitement statistique des données quantitatives sur la myéline ainsi que ceux de la distribution spatiale de la myéline du colliculus postérieur.

3.1 OBSERVATIONS HISTOCHIMIQUES

3.1.1 Développement neuronal

A l'âge de deux jours chez les deux souches de souris, l'examen microscopique des coupes N et V révèle à fort grossissement quelques fibres du lemniscus latéral tandis que le CP montre une densité cellulaire peu prononcée comparativement aux souris âgées de six et huit jours. Par contre, les fibres nerveuses de la commissure du CP ne sont pas visibles à cet âge. Dans cette zone mésencéphalique, on remarque que le développement des voies motrices est plus avancé que celui des voies auditives. Les fibres motrices sont plus nombreuses, entre autres, dans le tegmentum ventral, le faisceau longitudinal médial et le tractus tectobulbaire.

A six jours, quelques fibres de la commissure du CP sont présentes chez les deux souches. On peut voir par l'effet de contraste de la coloration V la présence d'un petit contingent de fibres commissurales chez la souris B6 (Figure 4 A). A cet âge, en plus d'une forte densité neuronale dans le noyau central du CP, on constate que la fasciculation des axones du LL a progressé et ces derniers sont plus facilement détectables. On trouve à la Figure 5 D une coloration N qui révèle quelques axones au niveau du lemniscus latéral ainsi que l'intense prolifération cellulaire du noyau central du CP chez une souris B6 de six jours. A huit jours, les fibres encore très fines du lemniscus latéral, que l'on peut observer à la Figure 4 B chez une souris D2, sont cependant beaucoup plus nombreuses qu'à six jours témoignant d'un développement rapide des voies auditives chez la souris. Notons que la coloration au nitrate d'argent en marquant toutes les fibres qu'elles soient myélinisées ou non permet de constater leur développement durant la période précédent la myélinisation. Toutefois, comme cette méthode histochimique se révèle peu utile dès que le processus de myélinisation est amorcé, l'observation du développement entre 10 et 22 jours ne comprend donc que les coupes colorées pour la myéline.

3.1.2 La myélinisation à deux, six et huit jours.

L'observation de coupes adjacentes colorées selon la méthode de Mahon à deux et six jours (Figure 5 A et C) de même qu'à huit jours, ne révèle aucune myéline visible dans les voies auditives du LL, du CP et de la CCP chez les deux souches de souris.

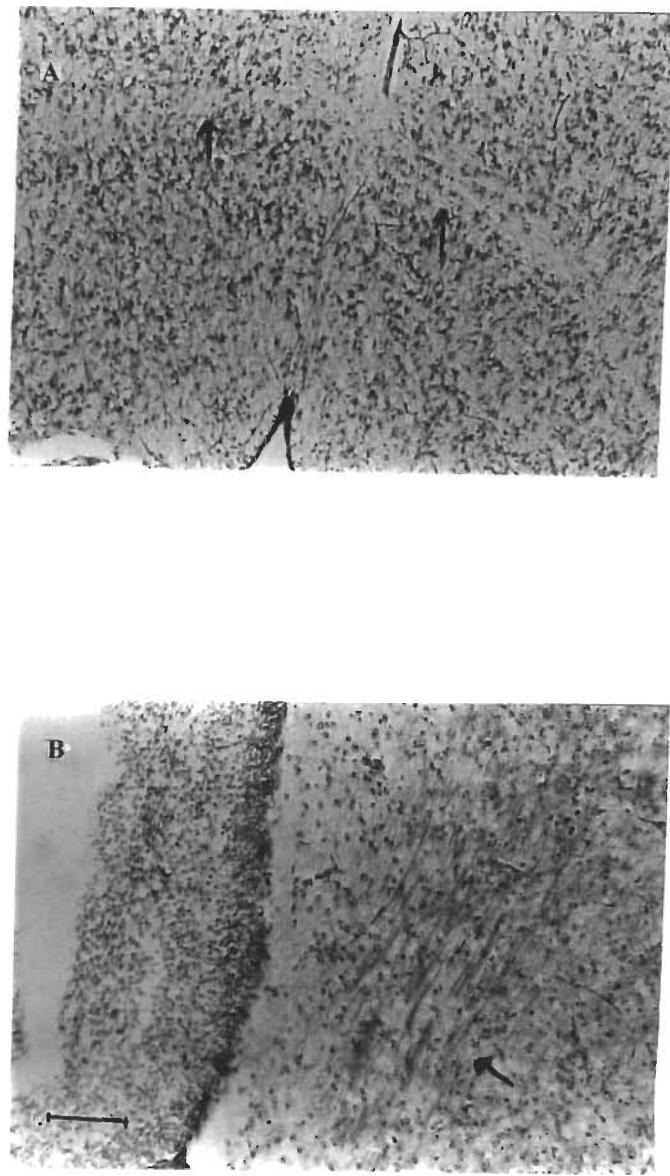


Figure 4 : A : Les flèches indiquent les fibres de la commissure du CP chez un C57BL/6J de six jours révélées par la coloration au violet de crésyl. B : La flèche montre les fibres du lemniscus latéral révélées par la coloration au nitrate d'argent chez un DBA/2J âgé de huit jours. Barre de mesure : 0.1 mm.

A six jours, on décèle cependant dans les voies motrices quelques fibres myélinisées d'intensité légère à moyenne, entre autres dans le faisceau longitudinal médial, le nerf trochléaire et la voie corticospinale ; celles-ci deviennent plus nombreuses à huit jours. On peut voir à la Figure 5 C chez une souris D2 de six jours, qu'à l'exception du nerf trochléaire qui montre une myélinisation avancée et au dessus de ce nerf quelques fibres légèrement colorées du tractus mésencéphalique du nerf trigéminal, qu'il n'y a aucune myéline visible dans la CCP, le CP et le LL. Notons que les granulations foncées formant un demi-cercle autour du colliculus postérieur sont des artefacts causés par des hématies non vidangées par la perfusion. A fort grossissement on détecte quelques axones très fins et courts près des noyaux cochléaires à l'âge de six jours. Toutefois, ce n'est qu'à partir de l'âge de huit jours qu'une légère coloration diffuse marque le démarrage de la myélinisation des noyaux cochléaires.

Au sujet de nos essais sur les colorations histochimiques de la myéline, on peut constater chez la souris de deux jours (Figure 5 B) que le colorant au Sudan noir se révèle moins spécifique de la myéline que la méthode de Mahon (Figure 5 A) puisqu'il colore des zones du cerveau normalement non myélinisées à cet âge chez la souris. En comparant ces microphotographies prises à faible grossissement, on peut aussi constater un fait bien connu des chercheurs, que le cerveau des souris DBA/2J est plus petit que celui des souris C57BL/6J.

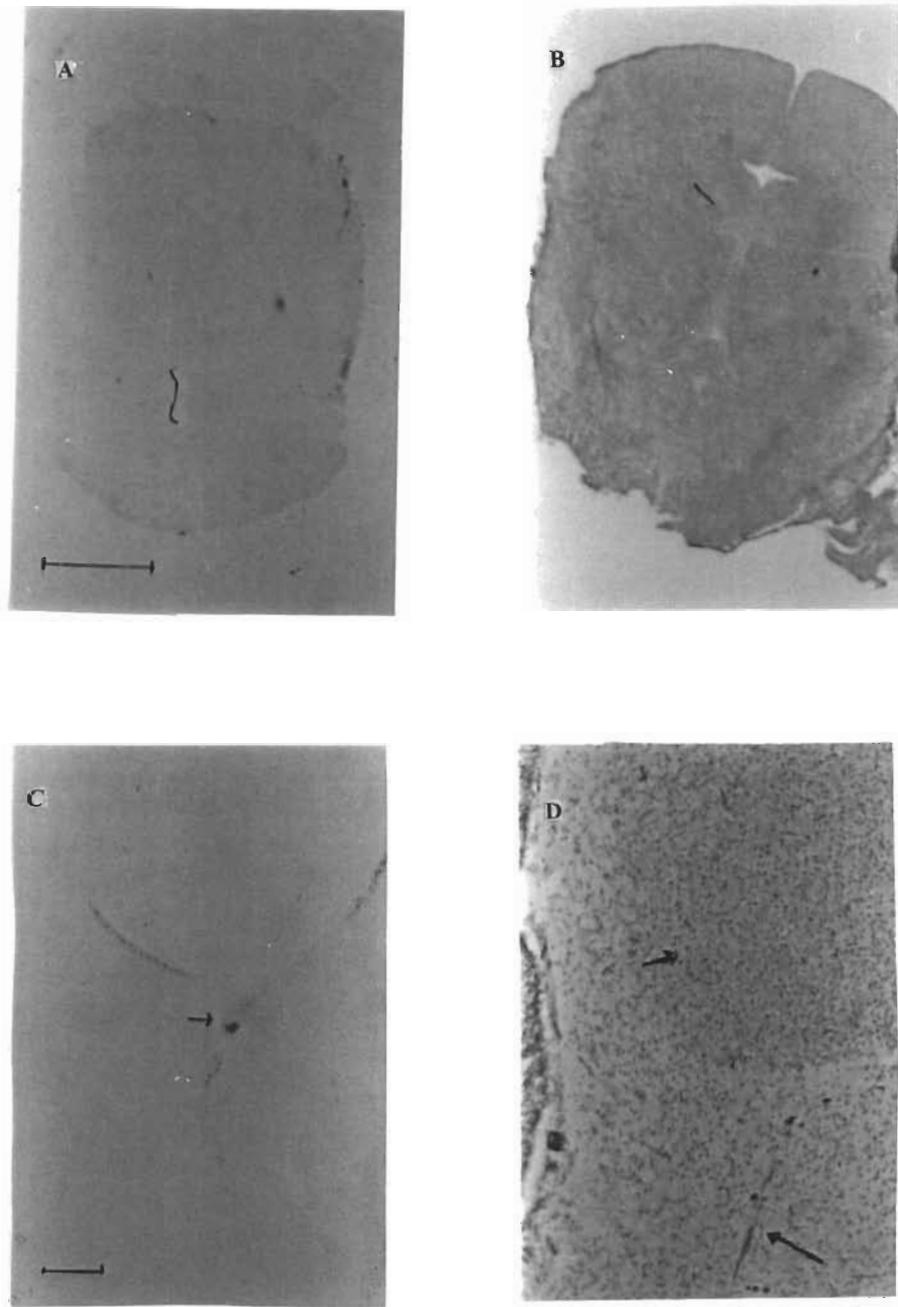


Figure 5 : Coupes frontales du colliculus postérieur et du lemniscus latéral. A : DBA/2J (2 jours), colorant de myéline, Mahon. B : C57BL/6J (2 jours), colorant de myéline, Sudan noir. Barre de mesure : 1 mm. C : DBA/2J (6 jours), colorant Mahon, la flèche indique le nerf trochléaire. D : C57BL/6J (6 jours), fibres du lemniscus latéral (grande flèche) et le noyau central du colliculus postérieur (petite flèche) révélées par coloration au nitrate d'argent. Barre de mesure : 0.1 mm.

3.2 OBSERVATIONS DE LA MYÉLINISATION DE 10 À 22 JOURS.

3.2.1 La commissure du colliculus postérieur

A l'âge de 10 jours, quelques fibres très légèrement myélinisées sont apparentes dans la commissure du CP chez les souris D2 mais aucune n'est visible chez la souche B6 à cet âge ce qui suggère un début de myélinisation plus précoce de la CCP chez la souche D2.

Les observations histochimiques réalisées chez les deux souches entre 12 et 22 jours ainsi que chez les adultes indiquent de façon générale une intensité de coloration de la myéline plus prononcée de la CCP chez les spécimens de la souche DBA/2J comparativement à ceux de la souche C57BL/6J. On peut voir à la Figure 6 une illustration de cette différence à l'aide de quelques microphotographies prises aux âges de 12, 15, 22 et 80 jours. Toutes les photos comparatives entre sujets D2 et B6 de même âge proviennent de coupes colorées dans un même bain et situées dans la même zone neuronanatomique.

Selon la Figure 6 les fibres de la commissure du CP chez la souris B6 de 12 jours montrent une coloration plus légère de la myéline comparées à celles du spécimen D2 au même âge. Ces observations chez la souris B6 de 12 jours se comparent à celles de la souris D2 à 10 jours, ce qui suggère une avance de ce processus d'environ deux jours

chez la souche DBA/2J. Cet écart d'intensité de la myéline se maintient chez la majorité des spécimens analysés à 13, 14, 15, 16, 17, 18, 20 et 22 jours. On observe cependant entre 14 et 16 jours une intensification assez remarquable de la myélinisation des fibres commissurales chez quelques sujets D2 par rapport aux souris B6 de même âge. Un exemple est illustré avec un spécimen DBA/2J de 15 jours qui montre une avance évidente de la maturation de cette zone comparativement à la souris B6 de même âge. Cependant à partir de 17 jours, la différence d'intensité de la myéline s'atténue entre les deux souches. La souris D2 manifeste à 22 jours comparativement au sujet B6 une plus grande densité de fibres commissurales ainsi qu'une plus forte coloration de la myéline (Figure 6). Chez les deux spécimens de cet âge, le niveau de myélinisation de certaines fibres dans cette zone atteint celui de leurs adultes respectifs montrés en D80 et C80.

3.2.2 Différences morphologiques entre DBA/2J et C57BL/6J

Les observations à faible grossissement (non montrées) indiquent une différence évidente de la structuration morphologique des fibres commissurales entre les deux souches dès l'âge de 10 jours. Chez la lignée D2, ces fibres s'allongent sur une distance relativement plus longue entre les CP comparativement à la lignée B6 dont les colliculi postérieurs plus rapprochés demeurent reliés par des fibres nettement plus courtes. Le faisceau de fibres commissurales se caractérise aussi par une disposition plus compacte chez les souris D2 et ces axones paraissent avoir un plus gros calibre que ceux des souris B6 observées aux mêmes âges.

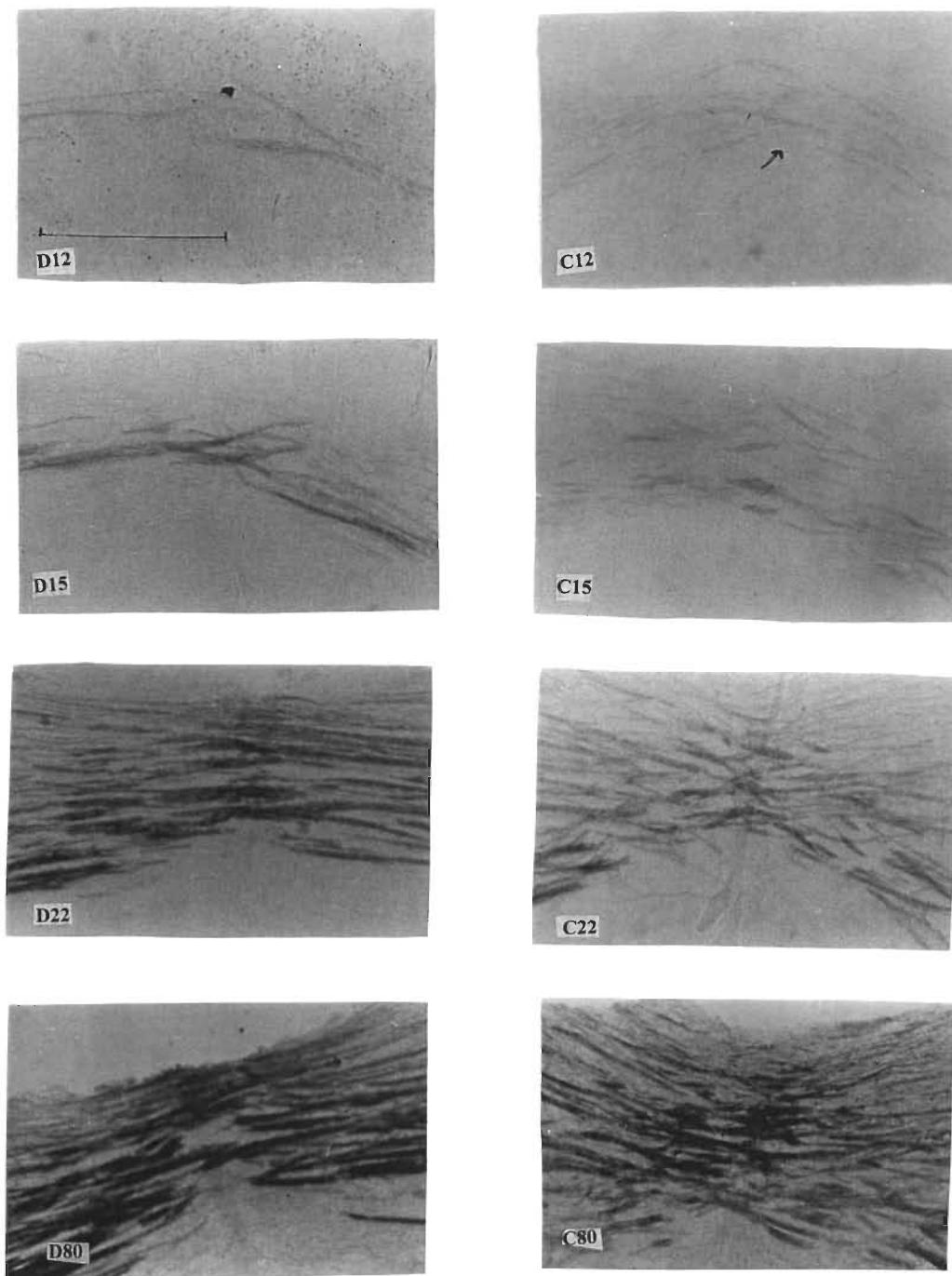


Figure 6 : Myélinisation de la commissure du CP à 12, 15, 22 et 80 jours chez les DBA/2J à gauche, comparativement aux C57BL/6J, à droite. La flèche en C12 indique les fibres de la CCP chez un sujet C57BL/6J de 12 jours. Barre de mesure : 0.5 mm.

3.2.3 Le colliculus postérieur

Le colliculus postérieur ainsi que le lemniscus latéral sous-jacent à ce dernier sont montrés à la Figure 7 pour les âges de 12 et 15 jours et à la Figure 8 pour les âges de 22 et 80 jours. Pour des raisons techniques, les microphotographies du CP et du LL des souris de 22 jours ont été prises du côté droit et dans la zone caudale de ces noyaux qui est moins fournie en fibres nerveuses par rapport à celle plus centrale représentée dans les autres illustrations de ces figures.

A l'âge de 10 jours, le CP montre à fort grossissement quelques fibres très légèrement colorées sans qu'on puisse déterminer par la seule analyse qualitative une différence dans l'intensité de la myéline de ce noyau neuronal entre les deux souches. Cependant, on observe à 12 jours chez la souris D2 une plus grande quantité de fibres myélinisées dans le CP que chez la souris B6 de même âge (Figure 7). Notons que l'on peut repérer à l'extrême gauche et en bas sur les microphotographies D12 et C12, le nerf trochléaire (tache foncée) déjà observé à six et huit jours, et qui montre ici une myélinisation de niveau identique à celui de l'adulte (voir Figure 8 en C80). A 15 jours, la plus grande richesse de fibres dans le colliculus postérieur et leur maturation plus avancée sont évidentes chez la souris D2 comparativement à la souris B6 (Figure 7). Entre 13 et 22 jours, on observe une progression rapide de la myélinisation du CP chez les deux souches. La différence d'intensité de coloration de la myéline qui se maintient entre les deux souches durant cette période tend cependant à s'atténuer avec l'âge. A 22

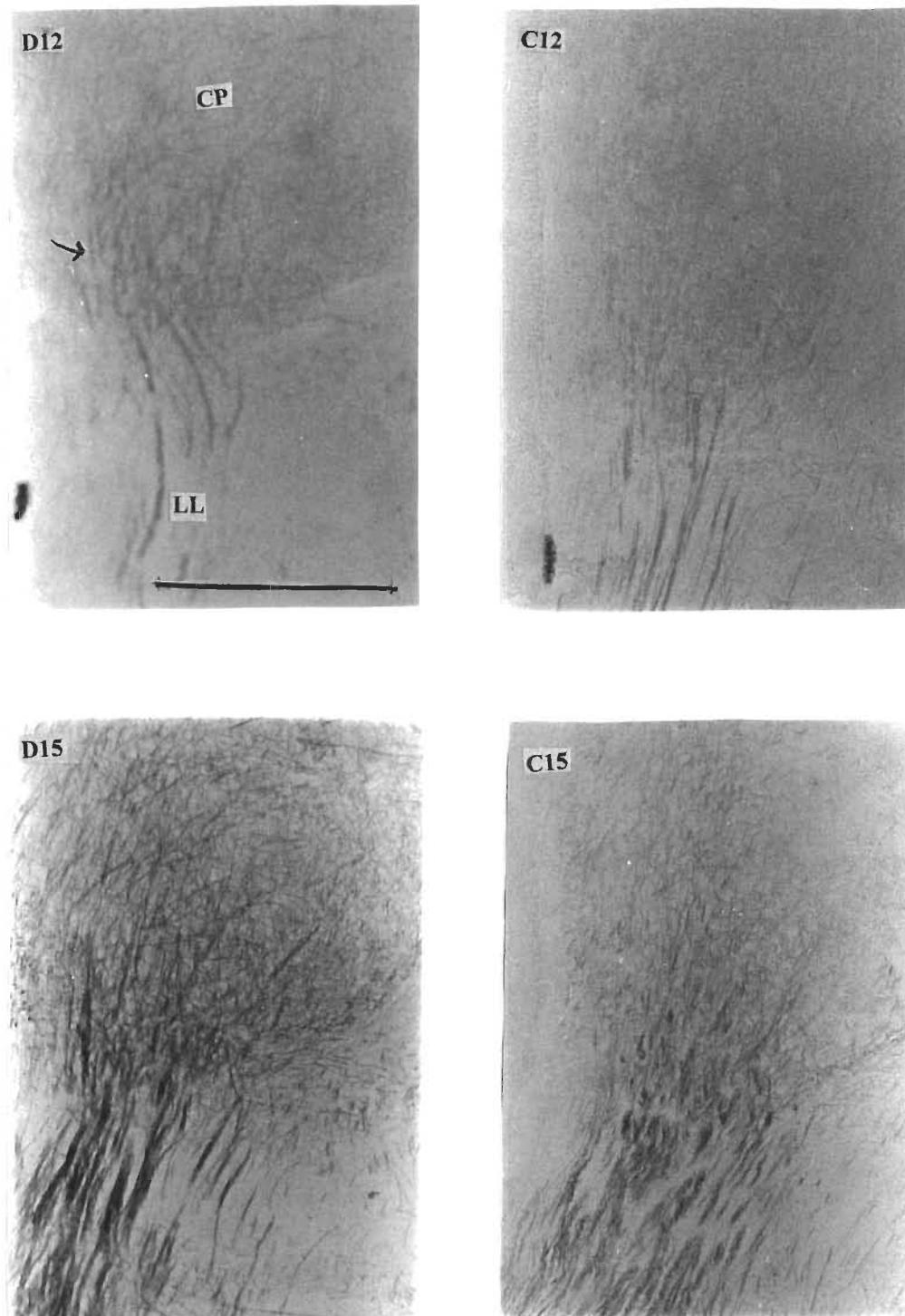


Figure 7 : Myélinisation du colliculus postérieur et du lemniscus latéral à 12 et 15 jours chez les DBA/2J à gauche, comparées aux C57BL/6J à droite. Les lettres CP indiquent le colliculus postérieur et LL, le lemniscus latéral. La flèche en D12 montre la zone du CP pénétrée par les fibres du LL chez la souche DBA/2J. Barre de mesure : 0.5 mm.

jours le noyau central du CP montre une coloration de la myéline légèrement plus prononcée chez la souris D2 que chez le sujet B6 de même âge (Figure 8). Nos observations sur l'ensemble des coupes du colliculus postérieur des sujets D2 et B6 de 22 jours indiquent un niveau de maturation de la myéline qui semble relativement proche de celui de la souris adulte.

3.2.4 Le lemniscus latéral

Le lemniscus latéral se retrouve sous le colliculus postérieur aux microphotographies de la Figure 7 et 8 pour les âges de 12, 15, 22 et 80 jours.

A l'âge de 10 jours on observe peu de fibres myélinisées dans le lemniscus latéral chez les deux souches et la différence d'intensité n'est pas perceptible à l'analyse qualitative. Toutefois à cet âge chez les spécimens D2, ces fibres paraissent un peu plus nombreuses dans cette région suggérant une certaine avance dans le développement et la maturation de cette voie auditive comparativement aux spécimens B6. A partir de 12 jours, on remarque chez les souris D2 que les fibres du lemniscus latéral pénètrent plus profondément dans le colliculus postérieur, plus particulièrement dans la partie latérale du cortex externe de ce noyau auditif par rapport au B6 de même âge (Figure 7). Ces fibres montrent aussi une coloration plus prononcée chez la souris D2. Ces différences entre les lignées D2 et B6 apparaissent clairement sur les microphotographies prises à 15 jours. Les observations entre 13 et 20 jours indiquent en général une intensité plus prononcée de

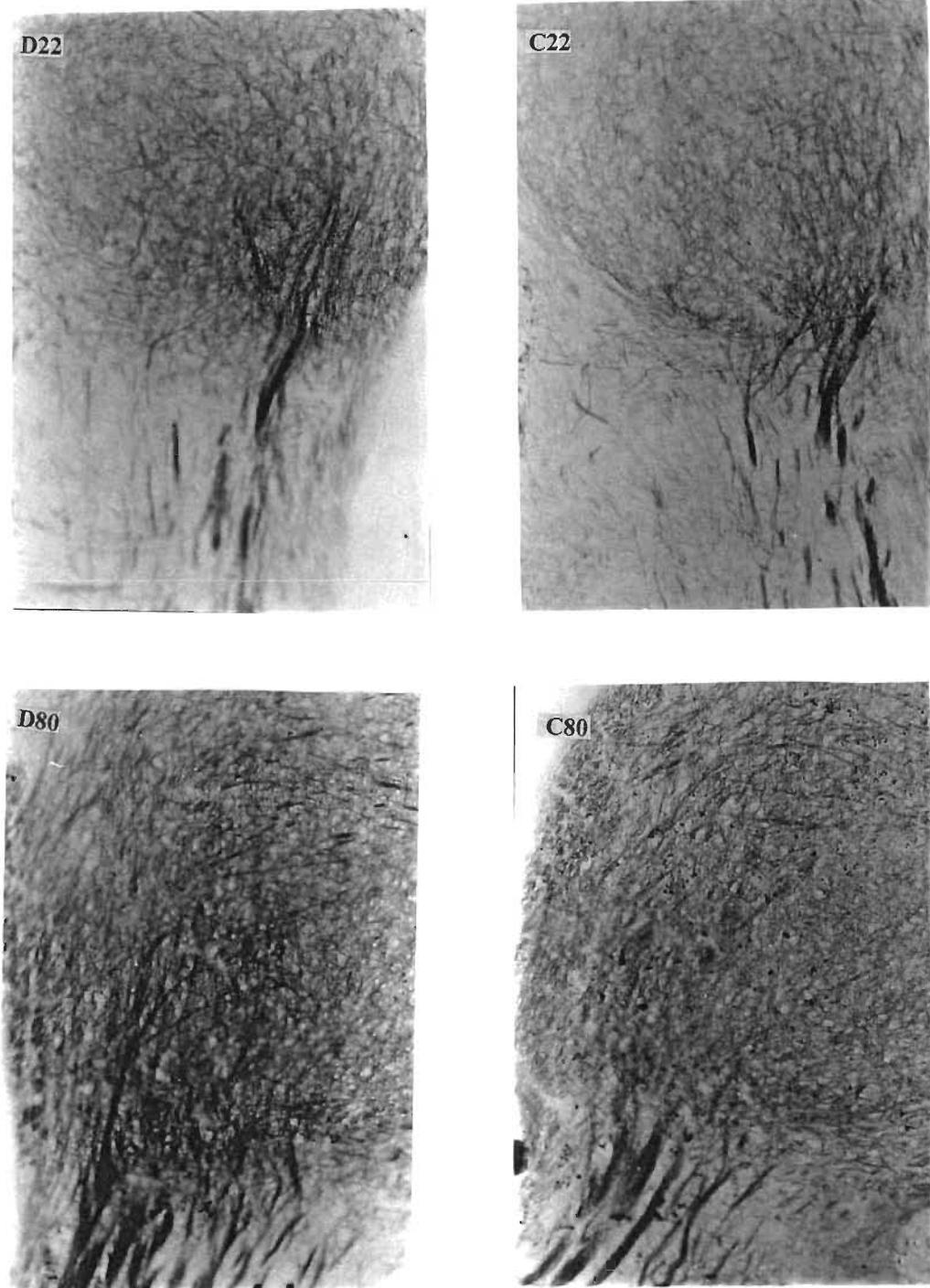


Figure 8 : Myélinisation du colliculus postérieur et du lemniscus latéral à 22 et 80 jours chez les souris DBA/2J, à gauche, comparées aux souris C57BL/6J, à droite. Barre de mesure : 0.5mm.

la myéline du LL chez la souche D2 comparativement à la souche B6. A 22 jours si on note aussi chez la souris D2 des fibres lemniscales se projetant plus avant dans le CP, on ne décèle plus cependant de différence perceptible de l'intensité de coloration de la myéline des axones de ce faisceau de fibres auditives entre ces deux souches (Figure 8). Chez les souris D2 et B6 de 22 jours, les fibres du LL présentent, pour la majorité d'entre elles, une coloration de la myéline très près du niveau mature observé chez les adultes de 80 jours et de 8 mois. Notons que chez les souris adultes, on retrouve aussi la même différence dans la structuration des fibres du LL au CP entre les sujets DBA/2J et C57BL/6J.

A partir de l'ensemble de nos observations sur ces trois structures étudiées, on remarque que le développement de ces voies auditives s'ébauche et progresse entre 10 et 22 jours chez ces deux souches selon une structuration neuroanatomique modelée sur celle observée à maturation complète chez leurs adultes respectifs. La différence évolutive au plan morphologique ainsi que celle observée pour la vitesse de maturation indiquent un patron de développement des voies auditives du SNC caractéristique à chacune des souches de souris étudiées dans cette recherche.

3.3 RÉSULTATS DES ANALYSES QUANTITATIVES

3.3.1 Analyse des données

Les données brutes d'intensité de la myéline des coupes analysées par traitement numérisé de l'image microscopique ont été compilées et transformées pour chaque souris en moyenne globale pour chacune des aires analysées. Ces moyennes ont été soumises à un traitement statistique de régression linéaire multiple qui supporte bien nos données et permet de situer les caractéristiques de la progression de la myélinisation du CP, du LL et de la CCP chez les deux souches de souris. Les variables indépendantes sont la souche (2 niveaux) et l'âge (10 niveaux) et la variable dépendante est la moyenne d'intensité de coloration de la myéline. Pour la CCP, la variable « âge » est à 9 niveaux.

3.3.2 Le colliculus postérieur

Le modèle d'analyse de régression linéaire multiple retenu découle d'un premier traitement statistique de nos données où en plus de considérer les effets séparés de l'âge et de la souche sur la progression de la myélinisation, on inclue une interaction statistique entre ces deux variables. Ce premier modèle prend la forme suivante :

$$Y = B_0 + B_1 \cdot \text{SOUCHE} + B_2 \cdot (\text{SOUCHE} \cdot \text{ÂGE})$$

L'analyse des résultats du Tableau 1 nous amène à conclure que B_3 n'est pas significativement différent de zéro, donc à nous confiner à un modèle de la forme :

$$Y = B_0 + B_1 \cdot \text{ÂGE} + B_2 \cdot \text{SOUCHE}$$

Ce deuxième modèle entraîne les équations particulières suivantes selon que la variable indépendante «souche» prenne une valeur 0 ou 1 pour décrire les lignées de souris D2 et B6 respectivement. A partir des résultats du Tableau 2, on constate que $B_0 = -13.63$, $B_1 = 1.86$ et $B_2 = -4.46$.

Comme nous avons codé pour la lignée D2 la variable «souche» égale à zéro, le calcul de la droite prend la forme suivante :

$$Y = B_0 + B_1 \cdot \text{ÂGE} = -13,63 + 1,86 \cdot \text{ÂGE}$$

et pour la souche de souris B6 dont nous avons codé la variable «souche» égale à un, le calcul de la droite de régression prend la forme suivante :

$$Y = (B_0 + B_2) + B_1 \cdot \text{ÂGE} = -18,09 + 1,86 \cdot \text{ÂGE}$$

De plus, on observe que la valeur du t de Student relativement à la variable «âge» est très significative à $p < .001$ de même pour la variable «souche», la valeur du t de Student est aussi très significative à $p < .005$. Le coefficient de détermination multiple, $R^2 = .61$ signifie que 61 % de la variation totale est expliquée par les variables «souche» et «âge». Le $F(2,44) = 35.82$, nous indique que le modèle retenu est hautement significatif avec $p < .001$.

Tableau 1

Premier Modèle

Régression Multiple des Variables Indépendantes sur
l'Intensité de la Myéline du Colliculus Postérieur (10 à 22 jours)

Variables	B	ET B	Bêta	t	p
Souche*âge	-.33	.47	-.33	-.70	.48
Âge	2.03	.33	.79	6.04	< .001
Souche	.66	7.47	.04	.08	.92
CONSTANTE		-16.20			

$$R^2 = .62, F(3,43) = 23.76, p < .001.$$

Pour faciliter la compréhension du texte , le deuxième modèle de régression linéaire est présenté ci-dessous.

Tableau 2

Modèle Retenu

Régression Multiple des Variables Indépendantes sur
l'Intensité de la Myéline du Colliculus Postérieur

Variables	B	ET B	Bêta	t	p
Âge	1.86	.23	.73	7.89	< .001
Souche	-4.46	1.47	-.28	3.03	.004
CONSTANTE		-13.63			

$$R^2 = .61, F(2, 44), = 35.82, p < .001$$

Comme on peut le voir dans le graphique présenté à la Figure 9, les droites de régression sont parallèles ce qui indique par conséquent chez les deux souches de souris un même rythme de croissance de la myélinisation du CP entre les âges de 10 et 22 jours. L'écart observé de 4.46 entre les ordonnées à l'origine des droites reflète l'avance constante jusqu'à 22 jours au moins, du niveau de myélinisation de la souche D2 par rapport à un sujet B6 de même âge. L'écart-type de la moyenne théorique est de 5.05.

Notons que les données d'une souris D2 de 15 jours qui étaient douteuses en raison de la mauvaise qualité du tissu cérébral dans cette région ont été éliminées. Cette analyse comporte donc 23 sujets de la souche D2 et 24 de la souche B6.

L'indice de maturité de la myéline du colliculus postérieur indique pour les souris adultes de la souche DBA/2J les moyennes d'intensité suivantes : 80 jours, 41.75 et 8 mois, 48.36. De même, pour les adultes de la souche C57BL/6J, les moyennes d'intensité aux mêmes âges sont respectivement de 40.08 et 44.69.

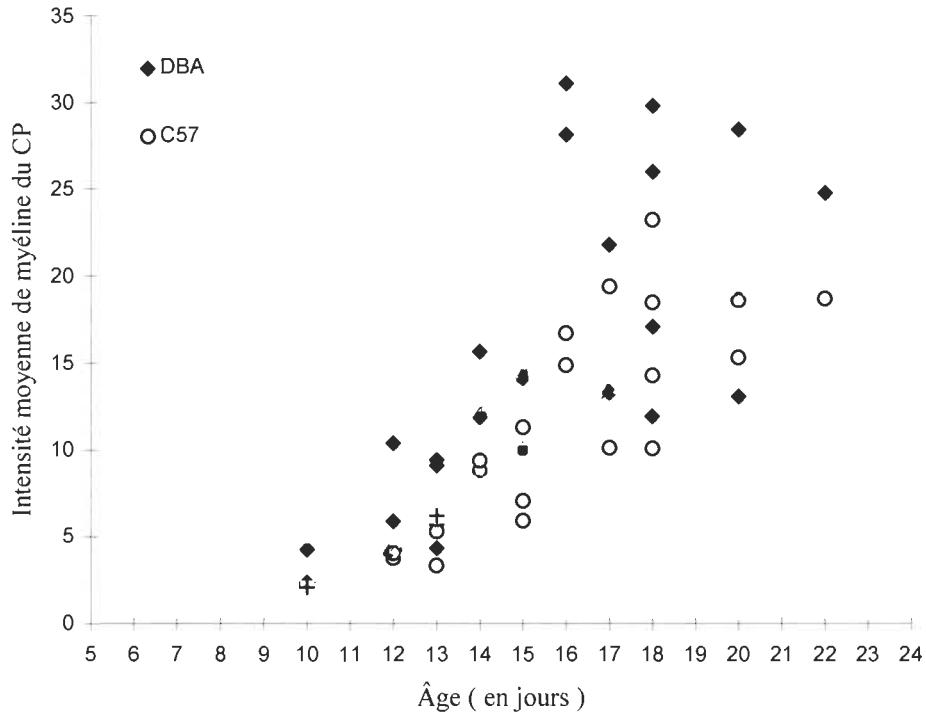


Figure 9 : Dispersion linéaire de l'intensité de la myéline du colliculus postérieur chez les souches D2 et B6. Axe des X : âge en jours des souris. Axe des Y : intensité moyenne de la myéline. Le code + indique la superposition des intensités de deux sujets B6 à 10 jours et celle d'un sujet D2 et B6 à 13 jours.

L'écart observé entre les droites parallèles suggère un décalage dans le temps d'environ deux jours entre les deux souches de souris dans le processus de myélinisation du colliculus postérieur.

3.3.3 Le lemniscus latéral

Les résultats de la variable ajoutée « souche*âge » au traitement statistique d'un premier modèle de régression linéaire multiple sur l'intensité de la myéline du lemniscus latéral sont montrés dans le Tableau 3. Ce modèle inclu une interaction statistique entre les variables « souche » et « âge » mais les résultats obtenus amènent à la conclusion que B_3 n'est pas significativement différent de zéro. Donc, ce qui reste comme modèle pour supporter nos données prend comme précédemment la forme suivante :

$$Y = B_0 + B_1 \cdot \text{ÂGE} + B_2 \cdot \text{SOUCHE}$$

Ce modèle génère les équations particulières suivantes selon que la variable « souche » prenne une valeur 0 ou 1 pour décrire les lignées de souris D2 et B6 respectivement. A partir des résultats du deuxième modèle de régression linéaire montrés dans le Tableau 4, on obtient :

$$B_0 = -17.16, B_1 = 2.81 \text{ et } B_2 = -6.00.$$

Comme nous avons codé pour les DBA/2J la variable « souche » égale à zéro, le calcul de la droite de régression pour cette lignée prend la forme suivante :

$$Y = B_0 + B_1 \cdot \text{ÂGE} = -17.16 + 2.81 \cdot \text{ÂGE}$$

et pour la lignée C57BL/6J, comme la variable « souche » est codée un, le calcul de la droite de régression s'exprime sous la forme :

$$Y = (B_0 + B_2) + B_1 \cdot \text{ÂGE} = -23.16 + 2.81 \cdot \text{ÂGE}$$

Tableau 3

Premier Modèle

Régression Multiple des Variables Indépendantes sur
l'Intensité de la Myéline du Lemniscus Latéral (10 à 22 jours).

Variables	B	ET B	Bêta	t	p
Souche*âge	-.54	.63	-.38	-.86	.39
Âge	3.07	.43	.86	7.12	< .001
Souche	2.29	9.82	.10	0.23	.81
CONSTANTE	-20.98				

$$R^2 = .67, (F, 3, 41) = 29.02, p < .001$$

Tableau 4

Modèle Retenu

Régression Multiple des Variables Indépendantes sur
l'Intensité de la Myéline du Lemniscus Latéral (10 à 22 jours)

Variables	B	ET B	Bêta	t	p
Âge	2.81	.31	.79	8.97	<.001
Souche	-6.00	2.01	-.26	-2.97	.004
CONSTANTE	-17.16				

$$R^2 = .67, F(2, 42) = 43.43, p < .001$$

On note que la valeur du t de Student relativement à la variable « âge » est très significative à $p < .001$; de même, pour la variable « souche » la valeur du t de Student est très significative à $p < .005$. Le coefficient de détermination multiple, $R^2 = .67$ démontre que 67% de la variation totale est expliquée par les variables « âge » et « souche ». Le $F (2,42) = 43.43$ indique que le modèle retenu pour cette analyse est hautement significatif avec $p < .001$.

Dans la représentation graphique montrée à la Figure 10, on constate pour la zone du lemniscus latéral que les droites de régression sont parallèles avec un écart de 6.00 entre les ordonnées à l'origine des droites. Par conséquent, on peut déduire que la myélinisation du LL maintient un même taux dans sa progression chez les deux souches de souris entre les âges de 10 à 22 jours. L'écart observé entre les droites signale une différence significative d'intensité de la myéline entre les deux groupes. L'écart-type de la moyenne théorique est de 6.75. Le nombre de souris pour les souches D2 et B6 est respectivement de 23 et 22. Quelques données n'ont pas été utilisées en raison d'artefacts. Il s'agit d'une souris B6 de 10 et de 13 jours et d'un sujet D2 de 15 jours.

Les moyennes d'intensité de myéline du lemniscus latéral pour les souris adultes D2 sont à 80 jours et à 8 mois de 46.83 et 50.06 respectivement et pour les souris B6 aux mêmes âges de 43.01 et 49.78.

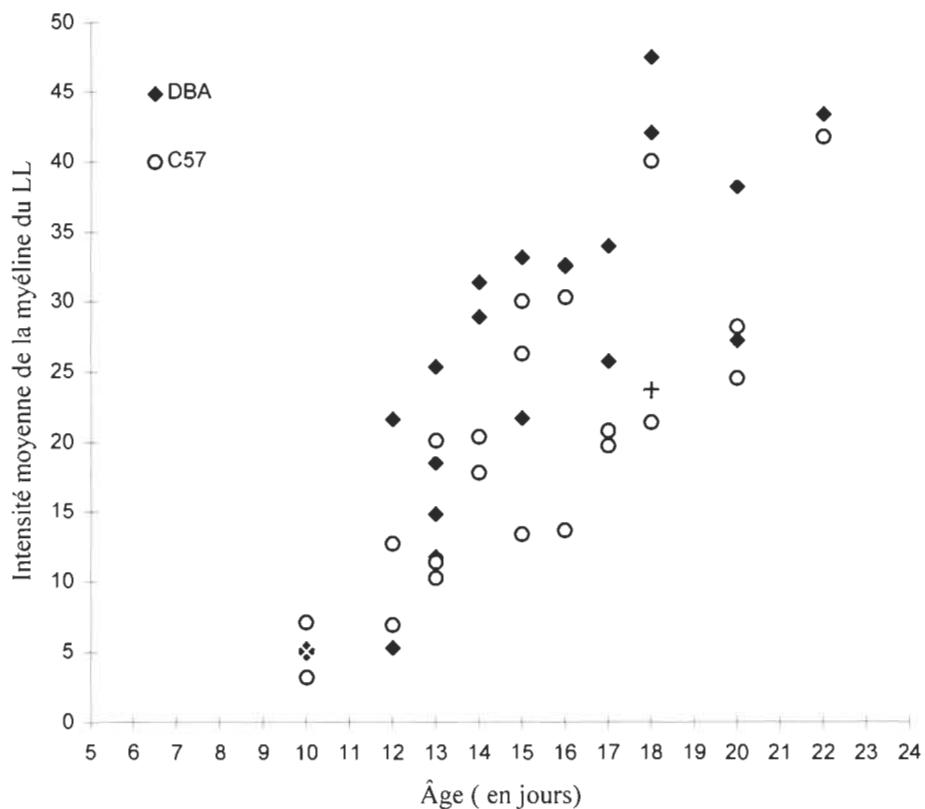


Figure 10 : Dispersion linéaire de l'intensité de la myéline du lemniscus latéral chez les souches D2 et B6. Axe des X : âge des souris. Axe des Y : intensité moyenne de la myéline. Le code + indique la superposition de trois sujets D2 à 10 jours et d'un sujet D2 et B6 à 18 jours.

On constate sur cette figure une tendance ascendante parallèle dans la progression de la myélinisation chez les deux souches ainsi qu'un décalage entre ces droites situant une avance d'environ deux jours dans l'amorce de la myélinisation du LL chez la souche D2 comparée à la souche B6 entre 10 et 22 jours.

3.3.4 La commissure du colliculus postérieur

Le scénario d'analyse de la régression linéaire est le même que celui des aires anatomiques précédentes. Un premier modèle incluant l'hypothèse d'une interaction statistique entre les variables « souche » et « âge » donne à nouveau une valeur de B_3 qui n'est pas significativement différente de zéro (Tableau 5).

A partir des résultats du deuxième modèle de régression linéaire présentés dans le Tableau 6, la variable « souche » codant pour la lignée D2 « souche », égale à zéro et pour la lignée B6 « souche », égale à un, les calculs respectifs des droites de régression des souches de souris D2 et B6 prennent les formes suivantes :

$$Y = B_0 + B_1 \cdot \text{ÂGE} = -16.83 + 2.14 \cdot \text{ÂGE}$$

$$Y = (B_0 + B_2) + B_1 \cdot \text{ÂGE} = -23.47 + 2.14 \cdot \text{ÂGE}$$

A partir des résultats d'analyse de ce faisceau de fibres commissurales, les variables « âge » et « souche » donnent des valeurs respectives du t de Student très significatives à $p < .001$ et $p < .003$. Le coefficient de détermination multiple, $R^2 = .56$ démontre que 56% de la variation totale est expliquée par les variables « âge » et « souche ». Le $F(2,34) = 21.36$ indique que le modèle de régression linéaire retenu pour cette analyse est hautement significatif avec un $p < .001$.

Tableau 5

Premier Modèle

Régression Multiple des Variables Indépendantes sur
l'Intensité de la Myéline de la Commissure du CP (12 à 22 jours)

Variables	B	ET B	Bêta	t	p
Souche*âge	-.07	.77	-.06	-.09	.92
Âge	2.17	.54	.66	4.01	< .001
Souche	-5.51	12.65	-.30	-.44	.66
CONSTANTE	-17.39				

$$R^2 = .55, F(3, 33) = 13.83, p < .001$$

Tableau 6

Modèle Retenu

Régression Multiple des Variables Indépendantes sur
l'Intensité de la Myéline de la Commissure du CP (12 à 22 jours)

Variables	B	ET B	Bêta	t	p
Âge	2.14	.38	.65	5.66	< .001
Souche	-6.64	2.06	-.37	-3.21	.002
CONSTANTE	-16.83				

$$R^2 = .56, F(2, 34) = 21.36, p < .001$$

On constate dans la représentation graphique montrée à la Figure 11, que les droites de régression sont parallèles et, de façon similaire aux régions analysées précédemment, ce parallélisme des droites sous-tend que les deux souches de souris maintiennent un même rythme de progression de la myélinisation de la CCP durant la période postnatale se situant entre 12 et 22 jours. L'écart vertical observé entre ces droites, soit 6.64, nous indique une différence significative d'intensité de la myéline dans cette région entre les deux souches. L'écart-type des moyennes théoriques se situe à 6.27.

Pour la commissure du CP, nous avons 19 sujets de la lignée D2 et 18 sujets de la lignée B6. Notons que les données non utilisées pour l'analyse de la CCP, en raison d'artefacts ou de leur nombre insuffisant pour générer une moyenne globale significative de cette zone, concernent le nombre de sujets suivants pour chaque lignée : 3 de 10 jours ; 1 de 12, 13 , 15 et 16 jours ; et un sujet B6 de 17 jours.

Les intensités moyennes de la myéline pour les souris adultes des souches D2 et B6 à 80 jours sont respectivement de 42.52 et 32.87. L'intensité moyenne de la myéline de la CCP n'a pu être déterminée pour les souris de huit mois en raison d'un nombre insuffisants d'échantillons.

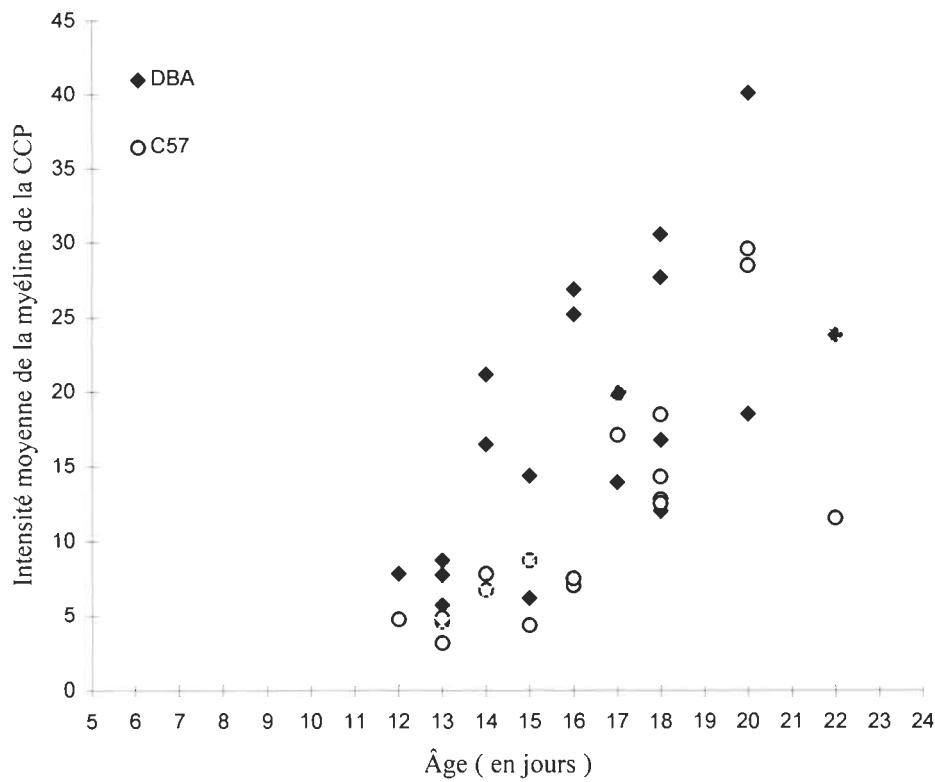


Figure 11 : Dispersion linéaire de l'intensité de la myéline de la commissure du CP chez les souches D2 et B6 entre 12 et 22 jours. Axe des X : âge des souris en jours. Axe des Y : intensité moyenne de la myéline.

D'après cette figure le processus de maturation de la commissure du CP se développe avec une tendance ascendante parallèle chez les deux souches tout en maintenant un écart significatif entre elles. Cette différence suggère un déclenchement plus précoce du processus de myélinisation chez la souche D2 que chez la souche B6.

3.3.5 Distribution spatiale de la myéline du CP

L'analyse qualitative ainsi que l'ensemble des données quantitatives concernant l'intensité moyenne de la myéline de chacune des coupes frontales du colliculus postérieur pour tous les âges étudiés chez les deux lignées de souris suggèrent une intensité de coloration de la myéline s'accroissant selon l'axe caudal-rostral de ce noyau auditif.

Afin de confirmer ces observations , dix souris ont été utilisées, soit un spécimen de chaque souche aux âges de 13, 15, 18, 22 et 80 jours, dont les coupes anatomiques consécutives ont été réservées uniquement pour la coloration de la myéline. La position spatiale de chacune des moyennes d'intensité de myéline a été calculée à partir de 35 coupes consécutives de 20 microns d'épaisseur, récupérées à partir du début caudal du CP. Ces données sont réparties dans le sens caudal à rostral sur une épaisseur totale de 700 microns. En raison de la perte de quelques coupes anatomiques durant le sectionnement du cerveau, la dispersion des intensités de myéline du CP reste approximative. Les données utilisées portent sur un seul colliculus postérieur et varient en nombre selon la quantité de coupes analysées ; les données manquantes étant des sections non analysées en raison de bris ou d'artefacts.

Deux exemples de la distribution spatiale de la myéline du CP sont montrés aux Figures 12 et 13 chez une souris de chaque lignée aux âges de 80 et 22 jours. Selon ces

diagrammes, la dispersion spatiale de la myéline du CP indique clairement une tendance ascendante d'intensité de la myéline à partir de son début caudal vers sa limite rostrale chez les deux souches de souris.

La distribution spatiale des intensités de coloration de la myéline du colliculus postérieur démontre aussi la même tendance ascendante chez chacune des souris D2 et B6 analysées à 13, 15 et 18 jours. Ces résultats sont compatibles avec les observations qualitatives ainsi que celles sur la distribution spatiale des données quantitatives des coupes du CP chez la majorité des souris étudiées.

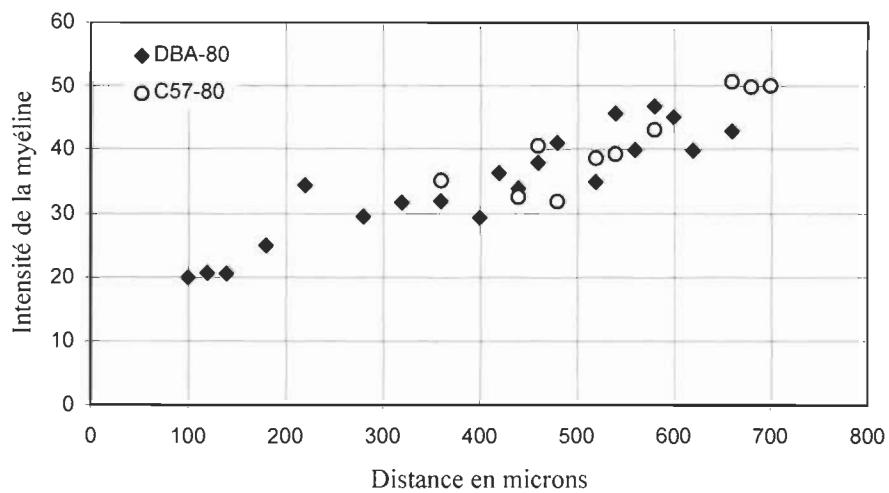


Figure 12 : Distribution spatiale de la myéline du colliculus postérieur chez les souris D2 et B6 de 80 jours. Axe des X : distance en microns dans l'axe caudal-rostral des coupes frontales. Axe des Y : intensité de la coloration de la myéline.

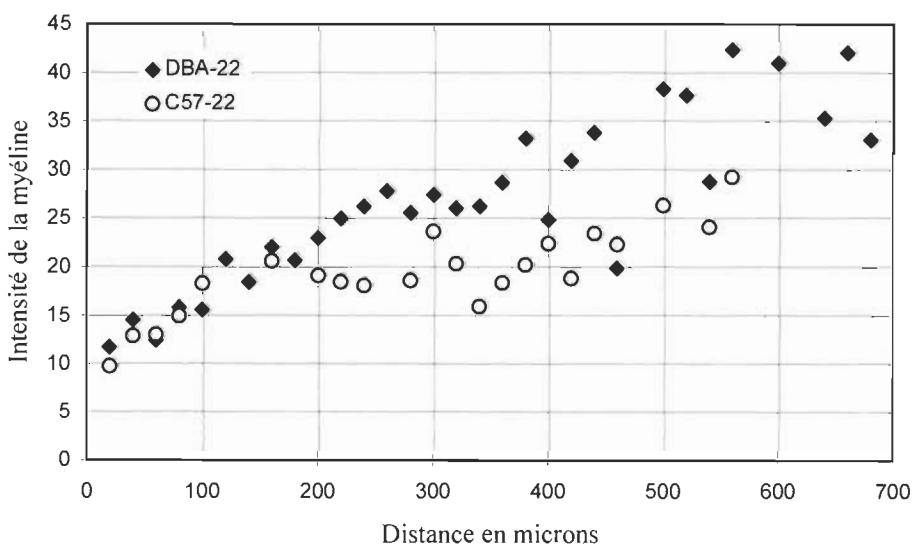


Figure 13 : Distribution spatiale d'intensité la myéline du colliculus postérieur chez les souris D2 et B6 de 22 jours. Axe des X : distance en microns selon l'axe caudal-rostral des coupes frontales Axe des Y : intensité de coloration de la myéline.

Discussion des résultats

Les études histologiques sur le processus de myélinisation se font habituellement par analyse qualitative de la coloration de la myéline sur une gradation d'intensité de trois à cinq niveaux (Konner, 1991). Dans la présente recherche, l'utilisation du traitement numérisé de l'image nous a permis de quantifier sur une échelle plus étendue et plus précise le degré de myélinisation et d'évaluer globalement chacun des noyaux auditifs étudiés. Cette méthode quantitative permet une plus grande objectivité dans l'étude comparative de la progression du développement puisque les données recueillies peuvent être soumises à un traitement statistique. D'autre part, l'analyse qualitative reste indispensable pour l'observation plus détaillée de fibres individuelles et l'évaluation des configurations neuromorphologiques.

L'utilisation du système électronique d'analyse d'image pour la quantification des intensités de la myéline comporte cependant quelques difficultés techniques inhérentes à la technique de coloration histochimique; d'une part, la variation possible entre les divers lots de colorants, et d'autre part, la position de la frontière entre le fond et la myéline très légère. La première difficulté a été contrôlée en passant toujours deux séries de coupes (D2 et B6) dans le même bain et la deuxième, en calibrant soigneusement le seuil optique et la source lumineuse du microscope pour toutes les analyses.

L'ensemble de nos résultats démontre une intensité de coloration de la myéline significativement plus élevée dans le colliculus postérieur, le lemniscus latéral et la commissure du CP chez la souche DBA/2J comparée à la souche C57BL/6J durant la période postnatale se situant entre 10 et 22 jours. Le traitement statistique de nos données indique aussi une progression parallèle du processus de myélinisation avec une tendance linéaire ascendante chez les deux souches de souris et ce pour les trois zones étudiées. L'écart horizontal observé entre les droites nous indique clairement une avance d'environ deux jours dans l'amorce de la myélinisation chez la souche DBA/2J par rapport à la souche contrôle.

Nous pouvons donc confirmer à partir de nos résultats une maturation plus précoce des voies auditives chez la souche D2 comparée à la souche B6, déjà suggérée par les résultats de tests comportementaux auditifs (Wahlsten, 1965 ; Ward, communication personnelle). La généralisation de nos résultats à tout le système nerveux central auditif s'appuie sur ceux de Shah et al., (1978) qui ont démontré une forte corrélation entre la progression de la myélinisation du colliculus postérieur et celle de la maturation des réponses aux stimuli auditifs obtenues par potentiel évoqué chez le rat. Nos résultats concernant les différences d'intensité de la myéline observées entre les deux souches sont aussi compatibles avec ceux de Seyfried et al., (1978) rapportant un contenu de myéline significativement plus élevé dans le cerveau des souris D2 analysées à 21 jours comparativement aux souris B6 ainsi que ceux de Sato et al., (1987) pour les âges se situant entre 14 et 17 jours.

En supposant que la tendance linéaire observée entre 10 et 22 jours se maintienne par la suite, le niveau de maturation observé chez la souris adulte de chaque souche (80 jours) serait atteint pour le LL, le CP et la CCP autour de 23, 29, et 27 jours respectivement, pour la souche D2 et, dans le même ordre autour de 24, 31 et 31 jours pour la souche B6. Toutefois, si les résultats observés chez ces spécimens adultes indiquent que la maturation complète ne peut dépasser de beaucoup le niveau atteint à 22 jours, ils suggèrent aussi que la tendance linéaire observée entre 10 et 22 jours ne se poursuit plus après cette période. Étant donné que le processus de myélinisation de tout le cerveau ralentit entre 25 et 30 jours avec une relative maturité à 45 jours chez la souris (Morell et al., 1972), l'hypothèse d'un ralentissement du processus de myélinisation après 22 jours dans ces voies auditives est vraisemblable.

En tenant compte du fait que les méthodes histochimiques et l'examen par microscopie photonique ne peuvent discerner la myéline en déca d'un certain seuil de visibilité, notre observation d'une coloration légère de la myéline à 10 jours chez la souche D2 dans les trois zones étudiées suggère que l'amorce de ce processus se produit plus tôt, vraisemblablement entre 7 et 9 jours et, pour la souche B6 entre 9 et 11 jours. Cette interprétation est compatible avec les résultats de Barbarese et al. (1988) qui ont démontré que le taux maximum d'oligodendrocytes dans le SNC est atteint à 6 jours chez la souris. Les rares informations disponibles sur la myélinisation des voies auditives chez la souris proviennent de Kelton et Rauch (1962). Leurs résultats concernant un début de myélinisation du lemniscus latéral à 17 jours ne concordent pas avec les nôtres. Plusieurs

études indiquent que la capacité auditive des souris est déjà fonctionnelle autour de 14 jours (Mikalian & Ruben, 1965, Wahlsten, 1975) ce que nos résultats confirment par la présence d'une myélinisation déjà amorcée depuis l'âge de 10 jours dans le lemniscus latéral chez les deux souches de souris.

Le début de myélinisation observé à six jours dans les voies motrices postérieures du cerveau confirme le plan séquentiel de myélinisation du SNC rapporté chez la majorité des mammifères (Gibson 1991). On remarque, en ce sens, que la fasciculation du LL constatée à deux jours et précédant celle de la CCP, montre aussi par la suite une progression de la myélinisation plus rapide de ce faisceau que celui de la CCP chez les deux souches de souris. En effet, si nos résultats indiquent pour ces trois structures étudiées un déclenchement à peu près simultané de la myélinisation, leur maturation complète présumée par l'extrapolation de la tendance linéaire surviendrait plus tôt chez les deux souches de souris pour le lemniscus latéral que chez le colliculus postérieur et la commissure du CP. Ce phénomène suggère qu'en plus d'une légère avance dans le temps, la maturation du lemniscus latéral progresserait plus rapidement par rapport au CP et la CCP.

A ce sujet, il est intéressant de constater à partir de nos résultats sur la distribution spatiale de la myéline du colliculus postérieur que la myélinisation de ce noyau auditif augmente d'intensité selon l'axe caudal-rostral. Ce gradient de distribution est vraisemblablement relié au fait que la majorité des fibres du LL et de la CCP se

projette au noyau central du CP et qu'une grande partie des fibres commissurales voyagent à travers la partie rostrale du CP (Gonzalez-Hernandez et al., 1986 ;1987). Toutefois, il n'est pas possible de déterminer à partir de notre étude sur la distribution des intensités de la myéline du CP la contribution spécifique au gradient d'intensité des divers sous- noyaux du CP ou de connexions axonales de groupes nucléaires non étudiés dans cette recherche. Cependant, l'indice d'une myélinisation plus hâtive dans la partie centrale et rostrale du CP tel que le suggère nos données va dans le sens des résultats de Ehret et Romand (1992) qui ont démontré que les réponses neuronales en provenance du centre du CP (potentiel évoqué) matures plus rapidement chez la souris que celles originant des autres subdivisions du CP. D'autre part, l'hyperactivité neuronale du CP observée par Willott (1981) chez la souris D2 comparée à B6 entre 21 et 23 jours et, plus particulièrement dans la moitié ventrale du noyau central du CP, pourrait possiblement être reliée à la maturation plus précoce des fibres du lemniscus latéral afférentes à cette zone chez la souche D2. Notons qu'une forte corrélation a été démontrée par Urban et Willott (1979) entre la susceptibilité aux CA et l'apparition d'une activité neuronale prolongée dans le colliculus postérieur. L'hypothèse d'une relation entre une maturation plus précoce du LL et une surcharge de ses influx nerveux au noyau central du CP et possiblement à son cortex externe n'est pas à écarter puisque, selon Vernadakis et Woodbury (1969), l'augmentation du taux de myéline élèverait l'excitabilité du SNC en baissant le seuil de conduction électrique. D'autre part, il est intéressant de souligner que ces deux subdivisions du CP font le sujet d'une controverse quant à leur responsabilité dans l'initiation de la crise audiogène (Willott, 1980 ; McCown, 1991 ; Ribak et al.,

1994). Une étude comparative entre les deux souches de souris sur la myélinisation des sous-noyaux du colliculus postérieur serait nécessaire afin de déterminer avec plus de précision la relation entre la maturation des fibres du lemniscus latéral et celle du noyau central et du noyau du cortex externe du CP.

La précocité de la myélinisation telle qu'observée chez D2 suggère que les processus du développement neuronal, intimement reliés à la myélogenèse, pourraient être accélérés par quelques anomalies biochimiques ou hormonales. A ce sujet notre attention a été attirée par les résultats d'une étude démontrant que le taux de thyroxine est significativement plus élevé chez les souris D2 entre 7 et 20 jours, ces valeurs retrouvant un taux normal, similaire à ceux des souris B6, à partir de 21 jours (Seyfried & Glaser, 1979). De plus, ces auteurs ont démontré que l'excès de thyroxine induit chez les souris C57BL/6J à un certain dosage et à une période spécifique du développement (entre 5 et 8 jours) augmente de façon significative la susceptibilité aux crises audiogènes testées autour de 18 jours chez ces souris. D'autre part, les crises sont supprimées chez les souris DBA/2J par l'administration d'une drogue anti-thyroxine ou par radiothyroïdectomie durant le jeune âge. Toutefois, on n'a pas déterminé si cet excès de thyroxine agit seul ou en conjonction avec d'autres facteurs pouvant aussi avoir une influence sur l'expression des crises audiogènes

Les différences morphologiques que nous avons observé au niveau des axones du LL et de la COM et qui sont à l'évidence plus longs chez la souche D2 pourraient aussi

avoir quelques liens avec l'excès de thyroxine rapporté par Seyfried et al. (1979) chez ces souris durant le jeune âge. Une recherche réalisée par Lauder (1967) sur le développement du cortex cérébelleux du rat indique que l'excès de cet hormone durant le jeune âge perturbe la chronologie et la vitesse du développement de divers processus comme la prolifération et la différenciation cellulaire, la croissance des axones et la formation des connexions synaptiques. Une étude sur la morphologie axonale du LL et de la CCP chez les souris B6 faites hyperthyroïdiennes et des souris D2 après correction de leur état hyperthyroïdien serait nécessaire afin de déterminer s'il existe un lien entre cet excès hormonal et les différences que nous avons observées entre les deux souches. A ce sujet, il est intéressant de noter que les données fournies par Marchand, Ward et Moreau (1996) ont démontré une arborisation dendritique plus étendue des neurones corticaux du CP chez les souris D2 comparées aux souris B6 entre 21 et 28 jours. Il est donc possible que les différences morphologiques observées au niveau des prolongements neuritiques entre D2 et B6 soient dans les deux cas reliés à un même phénomène de base, ce qui reste toutefois à confirmer par de futures recherches.

Conclusion

Cette étude sur la myélinisation du colliculus postérieur, du lemniscus latéral et la commissure du CP confirme un développement et une maturation plus précoce des voies auditives chez la souche DBA/2J comparée à la souche C57BL/6J. Elle ajoute aussi une contribution importante à la connaissance du processus de développement des voies auditives chez la souris ainsi qu'à sa structuration neuromorphologique dont la présente recherche souligne les différences entre une lignée de souris caractérisée par une prédisposition génétique à l'épilepsie audiogène et celle présentant une résistance à ce type de crise.

Nous avons , dans la présente recherche, réalisé à l'aide d'un logiciel d'analyse d'image, la première analyse quantitative des intensités de myéline révélée par coloration histochimique dont l'étude est habituellement limitée à la seule analyse qualitative. La possibilité d'études quantitatives de la coloration histochimique de la myéline par traitement numérisé de l'image ouvre des perspectives intéressantes pour les futures recherches sur la myélinisation du cerveau. Cette méthode quantitative nous a permis de confirmer les résultats aux tests comportementaux auditifs. De plus, la possibilité de chiffrer sur une échelle plus étendue et plus précise la distribution spatiale des intensités de la myéline du colliculus postérieur apporte de précieuses informations sur le développement de ce noyau auditif. Ces faits témoignent de la grande importance de la

myélinisation comme paramètre pour l'observation du développement et de la maturation des voies nerveuses du SNC et son étroite corrélation avec l'expression des habiletés comportementales.

Références

Références

- Barbarese, E., Barry, C., D'Occhio, C., Edgar, S., Akowits, A. & Carson, J. H. (1988). Expression of myelin basic protein mRNA and polypeptides in mouse oligodendrocytes in culture : Differential regulation by genetic and epigenetic factors. *Brain Research*, 467, 183-191.
- Benes, F. M., Turtle, M., Khan, Y., & Farol, P. (1994). Myelination of a key relay zone in the hippocampal formations occurs in the human brain during childhood, adolescence and adulthood. *Archives of General Psychiatry*, 51, 477-484.
- Bossy, J. (1990). *Neuro-anatomie*. Collection Anatomie Clinique, J. P. Chevrel (Ed), Paris, France.
- Brody, B. A., Kinney, H. C., Kloman, A. S., & Gilles, F. H. (1987). Sequence of central nervous system myelination in human infancy. I. An autopsy study of myelination. *Journal of Neuropathology and Experimental Neurology*, 46, 283-301.
- Bronson, G.W. (1974). The postnatal growth of visual capacity. *Child Development*, 45, 873-890.
- Brown, M. C., & Benson, T. E. (1992). Transneuronal labelling of cochlear nucleus neurons by HRP-labeled auditory nerves fibers and olivocochlear branches in mice. *Journal of Comparative Neurology*, 321, 645-665.
- Browning, R. A. (1986). Neuroanatomical localization of structures responsible for seizures in the GEPR : lésions studies. *Life Science*, 39, 857-867.
- Bunge, R. P. (1968). Glial cells and the central myelin sheath. *Physiology Review*, 48, 197.
- Cajal, S. (1909). *Histologie du système nerveux de l'homme et des vertébrés*. (pp.153-173). Paris : A. Maloine.
- Casseday, J. H., Diamond, I. T., & Harting, J. K. (1976). Auditory pathways to the cortex in *Tupaia glis*. *Journal of Comparative Neurology*, 166, 303-340.
- Chakravarty, D. N., Faingold, C. L., Terry, W. J., & Naritoku, D. K. (1993). Audiogenic seizures in the genetically epilepsy-prone rat induce c-fos proto-oncogene expression in the inferior colliculus and periaqueductal gray. *Society Neuroscience Abstract*, 19, 605.

- Collins, R. L. (1970). Unilateral inhibition of sound-induced convulsions in mice. *Science*, 167, 1010-1011.
- Collins, R. L., & Fuller, J. L. (1968). Audiogenic seizure prone (asp) : A gene affecting behavior in linkage group VIII of the mouse. *Science*, 162, 1137-1139.
- Dice, L. R. (1935). Inheritance of waltzing and of epilepsy in mice of the genus *Peromyscus*. *Journal of Mammology*, 16, 25-35.
- Donaldson, H. H. (1924). The Rat. *Memoirs of the Wistar Institute of Anatomy and Biology* (Vol. 2), (p 469). Philadelphia.
- Ehret, G., & Romand, R. (1992). Development of tone response thresholds, latencies and tuning in the mouse inferior colliculus. *Developmental Brain Research*, 67, 317-326.
- Eng, L., & Noble, E. (1968). The maturation of rat brain myelin. *Lipids*, 3, 157-162.
- Faingold, C. L., Naritoku, D. K., Copley, C. A., Randall, M. E., Riaz, A., Andersen, C. A., & Arneric, S.P. (1992). Glutamate in the inferior colliculus plays a critical role in audiogenic seizure initiation. *Epilepsy Research*, 13, 95-105.
- FitzPatrick, K. A. (1975). Cellular architecture and topographic organisation of the inferior colliculus of the squirrel monkey. *Journal of Comparative Neurology*, 164, 185-208.
- Flechsig, P. (1920). *Anatomie des Menschlichen Gehirns und Rückenmarks auf myelogenetischer Grundlage*. Leipzig : Georg Thieme.
- Fox, W. M. (1965). Reflex-ontogeny and behavioral development of the mouse. *Animal Behavior*, 13, 234-250.
- Fuller, J. L., & Collins, R. L. (1968). Mice unilaterally sensitized for audiogenic seizures. *Science*, 162, 1295.
- Geniec, P., & Morest, D. K. (1971). The neuronal architecture of the human inferior colliculus. *Acta Otolaryngology Supplement*, 295, 1-33.
- Gibson, K. R. (1991). Myelination and behavioral development : A comparative perspective on questions of neotony, altriciality and intelligence. In K. R. Gibson & A. C. Petersen, (Éds), *Brain Maturation and Cognitive Development* (pp.29-63). New York : Aldine de Gruyter.

- Gonzalez-Hernandez, T. H., Meyer, G., & Ferres-Torres, R. (1986). The commissural interconnections of the inferior colliculus in the albino mouse. *Brain Research*, 368, 268-276.
- Gonzalez-Hernandez, T. H., Meyer, G., Ferres-Torres, R., Castaneyra-Perdomo, A., & del Mar Perez Delgado, M. (1987). Afferent connections of the inferior colliculus in the albino mouse. *Journal fur Hirnforschung*, 28, 315-323.
- Green, E. L. (1968). *Handbook on Genetically Standardized JAX Mice*, (2^e éd.). The Jackson Laboratory. Bar Harbor, Maine.
- Hamano, K., Iwasaki, N., Takeya, T., & Takita, H. (1996). A quantitative analysis of rat central nervous system myelination using the immunohistochemical method for MBP. *Developmental Brain Research*, 93, 18-32.
- Hamburg, M., Mendoza, I. A., Bennett, I., Krupa, P., Kim, Y. S., Kahn, R., Hogreff, K., & Frankfort, H. (1977). Some unresolved questions of brain-thyroid relationships. In G. D. Grave, (Ed), *Thyroid hormones and brain development* (pp. 49-68). New York : Raven Press.
- Henry, K. R. (1967). Audiogenic seizure susceptibility induced in C57BL/6J mice by prior auditory exposure. *Science*, 158, 938-940.
- Hogan, B. F., Constantini, & E. Lacey. (1986). *Manipulating the Mouse Embryo : A Laboratory Manual*. Cold Spring Harbor Laboratory, NY.
- Huttenlocher, P. R. (1970). Myelination and the development of function in immature pyramidal tract. *Experimental Neurology*, 29, 405-415.
- Jacobson, S. (1963). Sequence of myelinization in the brain of the albino rat : Cerebral cortex, thalamus and related structures. *Journal of Comparative Neurology*, 12, 5-29.
- Jebb, A. H., & Woolsey, T. A. (1977). A simple stain for myelin in frozen sections : A modification of Mahon's method. *Stain Technology*, 52, 315-318.
- Keene, M. F. L., & Hewer, E. E. (1931). Some observations on myelination in the human central nervous system. *Journal of Anatomy*, 66, 1-13.
- Kelton, D. E., & Rauch, H. (1962). Myelination and myelin degeneration in the central nervous system of dilute-lethal mice. *Experimental Neurology*, 6, 252-262.

- Kenner, M. (1991). Behavioral development and myelination. In K. R. Gibson & A.C. Petersen (Éds), *Brain Maturation and Cognitive Development* (pp.181-223). New York : Aldine de Gruyter.
- Kinney, H. C., Karthigasan, J., Borenshteyn, N. I., Flax, J. D., & Kirschner, D. A. (1993). Myelination in the developing human brain : Biochemical correlates. *Neurochemical Research*, 19, 983-996.
- Kondo, A., Sendoh, S., Akazawa, K., Sato, Y., & Nagara, H. (1992). Early myelination in zitter rat : morphological, immunocytochemical and morphometric studies. *Developmental Brain Research*, 67, 217-228.
- Krushinsky, L. V., Molodkina, L. N., Fless, D. A., Dobrokhotova, L. P., Steshenko, A. P., Semiokhina, A. F., Zorina, Z. A., & Romanova, L. G. (1970). The functional state of the brain during sonic stimulation. In B. L. Welch & A. S. Welch (Éds), *Physiological Effects of Noise* (pp. 159-183). New-York : Plenum Press
- Langworthy, O. R. (1933). Development of behavior patterns and myelination of the nervous system in the human fetus and infant. *Contributions to Embryology*, 139, 1-57.
- Langworthy, O. R. (1928a). A correlated study of the development of reflex activity in fetal and young kittens and the myelinization of tracts in the nervous system. *Contributions to Embryology*, no 114, 21, 37-52. Carnegie Institute Washington Publication No 394.
- Langworthy, O. R. (1928b). The behavior of pouch-young opossums correlated with the myelinization of tracts in the nervous system. *Journal of Comparative Neurology*, 46, 201-248.
- Lauder, J. M. (1977). Effects of thyroid state on development of rat cerebellar cortex. In G. D. Grave (Éd.) *Thyroid Hormones and Brain Development* (pp. 235-254). New York : Plenum Press.
- Marchand, M. J., Ward, R., & Moreau, B. (1996). Different patterns of dendritic branching of postérieur colliculus neurons in two mouse strains are associated with a difference in audiogenic seizure susceptibility. *Journal of Brain Research*, 37, 135-143.

- Maier, N. R. F., & Glaser, N. M. (1940). Studies of abnormal behavior in the rat. II. A comparison of some convulsion producing situations. *Comparative Psychological Monographs*, 16, 30.
- McCown, T. J., Duncan, G. E., & Breese, G. R. (1991). Neuroanatomical characterization of inferior colliculus seizure genesis : 2-deoxyglucose and stimulation mapping. *Brain Research*, 567, 25-32.
- Mikalian, D., & Ruben, R. J. (1965). Development of hearing in the normal CBA/J mouse. *Acta-Oto-Laryngology*, 59, 451-461.
- Morell, P., Greenfield, S., Costantino-Ceccarini, E., & Wisniewski, H. (1972). Changes in the protein composition of mouse brain during development. *Journal of Neurochemistry*, 19, 2545-2554.
- Morest, D. K., & Oliver, D. L. (1984). The neuronal architecture of the inferior colliculus in the cat : Defining the functional anatomy of the auditory midbrain. *Journal of Comparative Neurology*, 222, 209-236.
- Nachtsheim, H. (1937). Erbpathologie des Kaninchens. *Erbatz*, 4 ;25-30, 50-55.
- Nagara, H., Kobayashi, T., Suzuki, K., & Suzuki, K. (1982). The twicher mouse : Normal pattern of early myelination in the spinal cord. *Brain Research*, 244, 289-294.
- Nauta, W. J. H., & Gygax, P. A. (1951). Silver impregnation of degenerating axons and terminals in the central nervous system. *Stain Technology*, 26, 5-11.
- Nebert, D. W. (1980). Pharmacogenetics : An approach to understanding chemical and biological aspects of Cancer. *Journal National Cancer Institut*, 64, 1279-1290.
- Nellhaus, G. (1958). Experimental epilepsy in rabbits. *American Journal of Physiology*, 193, 567-572.
- Neumann, P. E., & Seyfried, T. N. (1990). Mapping of two genes that influence susceptibility to audiogenic seizures in crosses of C57BL/6J and DBA/2J mice. *Behavioral Genetics*, 20, 307-323.
- Norton, W. T. (1975). Myelin : Structure and biochemistry. In D. B. Tower (Ed), The Nervous System, Vol. 1, *The Basic Neurosciences* (pp. 467-481), New York : Raven Press.

- Peters, A., & Vaugn, J. E. (1970). Morphology and development of the myelin sheath, In A. N. Davidson & A. Peters (Éds), *Myelination* (pp. 3-79). Charles-C. Thomas, Springfield, Illinois.
- Pierson, M., & Snyder-Keller, A. (1992). NMDA receptor-dependent epileptogenesis in developing inferior colliculus. *Epilepsy Research Supplement*, 9, 371-383.
- Pourquié, O. (1995). *Biologie du développement : La construction du système nerveux*. Nathan, Paris.
- Ribak, C. E., & Morin, C. L. (1995). The role of the inferior colliculus in a genetic model of audiogenic seizures. *Anatomical Embryology*, 191, 279-295.
- Ribak, C. E., Khurana, V., & Lien, N. T. (1994). The effect of midbrain collicular knife on audiogenic seizure severity in the genetically epilepsy-prone rat. *Journal of Neurochemistry*, 19, 2545-2554.
- Rockel, A. J., & Jones, E. G. (1973). The neuronal organisation of the inferior colliculus of the adult cat. I. The central nucleus. *Journal of Comparative Neurology*, 147, 11-60.
- Rozeik, C., & von Kerserlingk, D. (1987). The sequence of myelination in the brainstem of the monitored by myelin basic protein immunohistochemistry. *Brain Research*, 432, 183-190.
- Sato, C., & Yu, R. K. (1987). Myelin galactolipid synthesis in different strains of mice. *Journal of Neurochemistry*, 49, 1069-1074.
- Schreiber, R. A. (1978). Stimulus frequency and audiogenic seizures in DBA/2J mice. *Behavioral Genetics*, 8, 341-347.
- Seyfried, T. N. (1982a). Convulsive disorders. In H. L. Foster, J. D. Small, & J. C. Fox (Éds), *The Mouse in Biomedical Research*, Vol. 4, Orlando : Academic Press.
- Seyfried, T. N. (1982b). Developmental genetics of audiogenic seizure susceptibility in mice. In V. E. Anderson, W. A. Hauser, J. K. Penry, & C. F. Sing (Éds), *Genetics Basis of the Epilepsies* (pp. 199-210). New York : Raven Press.
- Seyfried, T. N., & Glaser, G. H. (1979). Thyroid hormone influence on the susceptibility of mice to audiogenic seizures. *Science*, 205, 598-600.
- Seyfried, T. N., & Glaser, G. H. (1981). Genetic linkage between the Ah locus and a major gene that inhibits susceptibility to audiogenic seizures in mice. *Genetics*, 99, 117-126.

- Seyfried, T. N., Glaser, G. H., & Yu, R. K. (1978). Cerebral, cerebellar and brain stem gangliosides in mice susceptible to audiogenic seizures. *Journal of Neurochemistry*, 31, 21-27.
- Seyfried, T. N., Glaser, G. H., & Yu, R. K. (1979). Genetic variability for regional brain gangliosides in five strains of young mice. *Biochemical Genetic*, 17, 45-55.
- Shah, S. N., Bhargava, V. K., & Mc Kean, C. M. (1978). Maturational changes in early auditory evoked potentials and myelination of the inferior colliculus in rats. *Experimental Neurology*, 58, 111-118.
- Sidman, R. L., Angevine, J. B., & Pierce, E. T. (1971). *Atlas of the Mouse Brain and Spinal Cord*. Cambridge, MA : Havard University Press.
- Terra, V. C., & Garcia-Cairasco, N. (1994). NMDA-dependent audiogenic seizures are differentially regulated by inferior colliculus subnuclei. *Behavioral Brain Research*, 62, 29-39.
- Tessitore, C., & Brunjes, P. C. (1988). A comparative study of myelination in precocial and altricial murid rodents. *Developmental Brain Research*, 43, 139-147.
- Tilney, F., & Casamajor, L. (1924). Myelinogeny as applied to the study of behavior. *Archives of Neurology and Psychology*, 12, 1-66.
- Urban, G. P., & Willott, J. F. (1979). Response properties of neurons in the inferior colliculi of mice made susceptible to audiogenic seizures by acoustic priming. *Experimental Neurology*, 63, 229-243.
- Uzman, L. L., & Rumley, K. M. (1958). Changes in the composition of the developing mouse brain during early myelination. *Journal of Neurochemistry*, 3, 170-184.
- Van der Knaap, M. S., Valk, J., Bakker, C. J., & Schooneveld, M. (1991). Myelination as an expression of the functional maturity of the brain. *Developmental Medicine and Child Neurology*, 33, 849-857.
- Verdanakis, A., & Woodbury, D. M. (1969). Maturational factors in development of seizures. In H. H. Jasper, A. A. Ward & A. Pope (Éds), *Basic Mechanisms of the Epilepsies* (pp.535-541). Boston : Little Brown.
- Vicari, E. M. (1951). Fatal convulsive seizures in the DBA mouse strain. *Journal of Psychology*, 32, 79-97.

- Wada, J. A., Terao, A., White, B., & Jung, E. (1970). Inferior colliculus and audiogenic seizure. *Experimental Neurology*, 28, 326-332.
- Wahlsten, D. (1975). Genetic variation in the development of mouse brain and behavior : Evidence for the middle postnatal period. *Developmental Psychobiology*, 8, 371-380.
- Ward, R. (1971). Unilateral susceptibility to audiogenic seizure impaired by contralateral lesions in the inferior colliculus. *Experimental Neurology*, 32, 313-316.
- Ward, R., & Collins, R. L. (1971). Asymmetric audiogenic seizures in mice : A possible analogue to focal epilepsy. *Brain Research*, 31, 207-210.
- Ward, R., & Sinnett, E. E. (1971). Spreading cortical depression and audiogenic seizure in mice. *Experimental Neurology*, 31, 437-443.
- Willard, F. H., & Martin, G. H. (1983). The auditory brainstem nuclei and some of their projections to the inferior colliculus in the North-American opossum. *Neuroscience*, 10, 1203-1232.
- Willard, F. H., & Ryugo, D. K. (1983). Anatomy of the central auditory system. In J. F. Willott, (Ed). *The Auditory Psychobiology of the Mouse*. (pp. 305-338). Springfield, Illinois : C. C. Thomas.
- Willott, J. F. (1981). Comparison of response properties of inferior colliculus neurons of two inbred mouse strains differing in susceptibility to audiogenic seizures. *Journal of Neurophysiology*, 45, 35-46.
- Willott, J. F., & Lu, S. M. (1980). Midbrain pathways of audiogenic seizures in DBA/2 mice. *Experimental Neurology*, 70, 288-299.
- Willott, J. F., Demuth, R. M., & Lu, S. M. (1984). Excitability of auditory neurons in the dorsal and ventral cochlear nuclei in DBA/2 and C57BL/6 mice. *Experimental Neurology*, 83, 495-506.
- Windle, W. F., Fish, M. W., & O'Donell, J. E. (1934). Myelogeny of the cat as related to development of fiber tracts and prenatal behavior patterns. *Journal of Comparative Neurology*, 59, 139-165.
- Yakolev, P. I., & Lecours, A. R. (1967). The myelogenetic cycles of regional maturation of the brain. In A. Minkowski (Ed), *Regional Development of the Brain in early Life* (pp. 3-70). Oxford : Blackwell Scientific.