

**UNIVERSITE DU QUEBEC**

**ARTICLE SCIENTIFIQUE**

**PRESENTE A**

**L'UNIVERSITE DU QUEBEC A TROIS-RIVIERES**

**COMME EXIGENCE PARTIELLE**

**DE LA MAITRISE EN PSYCHOLOGIE**

**PAR LOUIS LAROCHE**

**ASYMETRIE COMPORTEMENTALE PRECOCE CHEZ LA SOURIS BALB/c**

**ATTEINTE D'ANOMALIES DU CORPS CALLEUX**

**NOVEMBRE 1991**

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.

**Ce document est rédigé sous la forme d'un article scientifique, tel qu'il est stipulé dans les règlements des études avancées (art. 16.4) de l'Université du Québec à Trois-Rivières. L'article a été rédigé selon les normes de publication d'une revue reconnue et approuvée par le Comité d'études avancées en psychologie. Le nom du directeur de recherche pourrait donc apparaître comme co-auteur de l'article soumis pour publication.**

## TABLE DES MATIÈRES

Résumé	3
Abstract	4
Abridged English Version	4
Introduction	7
Méthodes	7
Résultats	8
Discussion	8
Références bibliographiques	10
Explication de la planche	11
Adresse des auteurs	12
Planche	13
Remerciements	14

**Asymétrie comportementale précoce chez la souris BALB/c atteinte  
d'anomalies du corps calleux**

Louis LAROCHE et Roger WARD

*Résumé* - La question de l'homologie possible entre les anomalies du corps calleux chez la souris et chez l'humain reste encore irrésolue. Le petit nombre d'études comportementales chez la souris n'a pas pu mettre en évidence d'effets, au niveau du comportement, liés à l'absence ou à la réduction du corps calleux. Nous avons donc examiné le développement, pendant les trois premières semaines de vie post-natale, des réponses réflexes et intégratives, chez les membres d'un échantillon de 101 souriceaux BALB/cCF; à l'autopsie pratiquée à l'âge de 50 jours, 29 de ces animaux démontraient des anomalies du corps calleux (absence totale ou superficie  $<0.75 \text{ mm}^2$ ). L'asymétrie du développement des réponses était mesurée en termes de pourcentage d'animaux accusant un délai entre l'apparition d'une réponse à droite et à gauche, et en termes de durée de ce délai chez les animaux "asymétriques". Les deux mesures décroissaient pendant les 15 premiers jours postnataux selon la même fonction chez les souriceaux normaux et anormaux. Nous sommes donc portés à la conclusion que l'intégrité du corps calleux n'est pas nécessaire à la maturation normale du comportement sensorimoteur. Cette conclusion pourrait vraisemblablement s'expliquer par l'apparition relativement récente des souris dans la radiation mammalienne.

*Early behavioural asymmetry in BALB/c mice showing anomalies of  
the corpus callosum*

**Abstract** - The possible homology of anomalies of the corpus callosum in mice and in humans remains questionable.

The small number of existing behavioural studies in mice have not shown effects, at the behavioural level, of the absence or reduction in size of the corpus callosum. We therefore examined the development, during the first three weeks of postnatal life, of a number of simple reflex and integrative responses in the members of a sample of 101 BALB/cCF mice; at autopsy carried out at 50 days of age, 29 mice showed anomalies of the corpus callosum (total absence or an area  $< 0.75 \text{ mm}^2$ ). Asymmetry of the development of these responses was measured either as the proportion of animals showing asymmetrical appearance of responses on the left and right sides, and as the delay between appearances on the left and right sides in "asymmetrical" mice. Both measures decreased over the first 15 postnatal days, at the same rate in normal and abnormal mice; in each case the decrease is better described by a second-order, quadratic, function than by a simple linear function. We therefore conclude that the integrity of the corpus callosum is not necessary for the normal maturation of sensorimotor behaviour in mice, and suggest that this conclusion may possibly be explained by the relatively recent appearance of mice in the mammalian radiation.

**Abridged English Version** - It has been known for some time [4,5] that certain inbred strains of mice show hereditary malformations of the corpus callosum. More recent work has defined the mode of inheritance [6, 14] and revealed the morphological details, at the cellular level, of the anomaly [8, 12, 13]. However, few studies of the behavioural effect of callosal malformation in mice exist [10, 16] and the existing data do not show any modifications of those elements of behaviour that were examined which depend on malformation of the corpus callosum. It is thus far from clear to what extent anomalies of the murine corpus callosum can be regarded as an "animal model" of certain hereditary malformations of the human central nervous system [9].

We therefore examined the asymmetry of early reflex behaviour [7] in members of a sample of 101 BALB/cCF mouse pups coming from a colony in which previous work [16] has shown that about 30% of its members have either abnormally small or absent corpora callosa. Pregnant female mice were housed individually and inspected daily, the day of appearance of a litter of pups being taken as postnatal day 1. Pups were identified individually by felt pen marks and submitted daily to a battery of reflex and sensorimotor tests, for which the response could be scored as taking place on the left and right sides separately. The tests were (1) extension of the contralateral hindlimb following tactile stimulation of the hind paw (crossed extension), (2) placing the palmar surface of the forepaw on a bar after tactile stimulation of the dorsal surface of the paw (forepaw placing), (3) grasping the bar with one forepaw after an initial placing response (forepaw grasping), (4) and (5) hindpaw placing and hindpaw grasping, (6) twitching the pinna after tactile stimulation, (7) opening of the external auditory meatus, (8) opening of the eyelids, and (9) a placing response of the forepaw after tactile stimulation of the vibrissae (whisker placing). The ages at which each response first appeared on the left and on the right sides was recorded for each individual, and at 21 days of age each mouse was permanently identified by ear punching. At 50 days of age the mice were killed by perfusion, under Avertin anaesthesia [3], with 10% formalin. The two cerebral hemispheres were separated by a medial longitudinal incision. The cross-sectional area of the corpus callosum was measured by tracing its outline, with the aid of a drawing tube attached to a dissecting microscope, onto a graphics tablet attached to a microcomputer [16].

Twenty-nine mice were classified as "abnormal", having corpora callosa either totally absent or less than 0.75 mm<sup>2</sup> in area (Fig. 1a,b), and the remaining 72 as "normal". Behavioural asymmetry was measured in two ways for the members of each group, either as the proportion of mice showing an asymmetrical appearance of each response in the battery, or as the delay between the appearance on one side and on the other in those individuals showing initially asymmetric responses. Both measures decreased during the first 15 postnatal days (Fig. 2a,b). However, this decrease was better described by a quadratic function [11] than by a simple linear function; for the data of Fig. 2a, the coefficient of determination increased from  $r^2 = 0.25$  to  $R^2 = 0.47$  ( $F_{1,16} = 6.69$ ,  $p < 0.02$ ), and for the data of Fig. 2b from  $r^2 = 0.45$  to  $R^2 = 0.56$  ( $F_{1,16} = 9.62$ ,  $p < 0.01$ ) on adding a quadratic term. In each case, the

quadratic functions are upwardly convex, with a maximum in the region of 4-6 days. In order to determine whether the decreases took place at different rates in normal and abnormal mice, we examined the residuals of the least-squares regression function fitted to the entire data set [15]. In neither case did an analysis of variance indicate significant differences ( $F_{1,15} = 0.37$  for Fig. 2a,  $F_{1,15} = 0.30$  for Fig. 2b,  $0.5 < p < 0.75$  in each case) between the residuals of normal and abnormal mice. We therefore conclude that both groups are equally well described by a single function, and hence that the decrease of asymmetry is the same in each. It thus appears that the integrity of the corpus callosum is not necessary for the normal maturation of sensorimotor behaviour in mice. This somewhat surprising finding may be related to the fact that in this species the corpus callosum is very weakly myelinated even in adults [13]. Palaeontological evidence [1] also indicates that while many mammalian groups were well established by the Eocene, rodents appear to have diverged in the Oligocene, emergence of species of *Mus* having possibly occurred during the Pliocene. It may therefore possibly be the case that the function of the corpus callosum of rodents differs from that of more ancient mammalian species.



**INTRODUCTION** - La malformation du corps calleux chez certaines souches de souris consanguines [4, 5] a fait l'objet de nombreux travaux de génétique [6, 14] et de neuromorphologie [8, 12, 13] mais les données sur l'effet au niveau du comportement de cette anomalie du système nerveux de la souris restent encore fragmentaires. En plus, ces recherches [10, 16] ne démontrent aucune influence de la malformation du corps calleux sur les éléments du comportement examinés. L'importance de cette anomalie héréditaire du système nerveux comme "modèle animal" de certains syndromes humains [9] reste donc à démontrer. Nous avons donc étudié l'asymétrie du comportement précoce [7] chez les membres d'un échantillon de 101 souriceaux BALB/cCF, provenant d'un élevage dont des travaux antérieurs [16] ont dépisté une fréquence d'environ 30% des malformations du corps calleux.

**MÉTHODES** - Des souris gestantes étaient logées individuellement et inspectées chaque jour. A partir du jour de la naissance jusqu'au vingt-et-unième, tous les souriceaux de chaque portée étaient identifiés par marquage et soumis à une série quotidienne d'épreuves réflexes et de coordination sensorimotrice; les réponses évaluées étaient (1) l'extension de la jambe postérieure suite à la stimulation tactile de la patte postérieure contralatérale (l'extension croisée), (2) le placement de la face ventrale de la patte antérieure sur une barre suite à la stimulation tactile de la surface dorsale (placement de la patte antérieure), (3) l'agrippement d'une barre suite à une réponse de placement de la patte antérieure, (4) et (5) placement et agrippement des pattes postérieures, (6) le déplacement du pavillon de l'oreille suite à une stimulation tactile, (7) l'ouverture du canal auditif externe, (8) la séparation des paupières, et (9) une réponse de placement des pattes antérieures suite à la stimulation tactile des vibrisses. Les âges d'apparition de chaque réponse à droite et à gauche étaient enregistrés pour chaque sujet; à 21 jours chaque souris fut identifiée de manière permanente par le perçage d'une oreille. A 50 jours les souris étaient perfusées, sous anesthésie par Avertin [3], avec du formol à 10%. Les deux hémisphères cérébraux ont été séparés en pratiquant une incision médiale longitudinale. La superficie du corps calleux était mesurée en décalquant sa bordure, à l'aide d'un microscope à dissection muni d'un dispositif à dessin, sur une tablette graphique contrôlée par un micro-ordinateur [16].

RÉSULTATS - Vingt-neuf souris étaient catégorisées comme étant "anormales", le critère d'anormalité étant l'absence totale de la commissure ou une superficie inférieure à 0,75 mm<sup>2</sup> [16], et 72 comme étant "normales" (Fig. 1a,b). L'asymétrie du comportement précoce était évaluée de deux façons, en terme de proportion d'animaux accusant une apparition asymétrique à une réponse, et en terme de durée du délai entre l'apparition à droite et à gauche. Tout comme Collins [2], nous avons distingué la direction d'une asymétrie de son intensité; pour chaque groupe de souris et pour chaque réponse de la série, l'asymétrie était non-dirigée, les réponses apparaissant initialement à gauche et à droite en proportions égales. La durée du délai était donc exprimée en valeur RMS (Root Mean Square) selon la formule

$$d = (\Sigma[a_g - a_d]^2/n)^{0.5},$$

dans laquelle  $a_g$  et  $a_d$  représentent les âges d'apparition à droite et à gauche d'une réponse, chez chaque souris d'un échantillon de  $n$  animaux. Chacune de ces mesures décroissait pendant les 15 premiers jours de vie postnatale, mais de manière non-linéaire (Fig. 2a,b). Dans les deux cas, les données apparaissent mieux décrites par une fonction de régression du deuxième ordre, de la forme  $Y = a + bX + cX^2$  [11], que par une simple fonction linéaire; le coefficient de détermination augmente de  $r^2 = 0.25$  à  $R^2 = 0.47$  ( $F_{1,16} = 6.69$ ,  $p < 0.02$ ) pour les données de la Fig 2a, et de  $r^2 = 0.44$  à  $R^2 = 0.56$  ( $F_{1,16} = 9.62$ ,  $p < 0.01$ ) pour celles de la Fig 2b. Afin de déterminer l'existence de différences entre les souris "normales" et "anormales", nous avons examiné les écarts entre les données observées et les valeurs prédites par la fonction de régression [15]; des analyses de variance n'ont pas détecté de différence entre les souris normales et anormales ( $F_{1,15} = 0.37$ ,  $0.75 < p < 0.5$  pour Fig. 2a, et  $F_{1,15} = 0.30$ ,  $0.75 < p < 0.5$  pour Fig. 2b). Nous sommes ainsi portés à la conclusion que la même fonction de régression décrit aussi bien les données obtenues chez les souris "anormales" que celles obtenues pour les souris "normales", et donc qu'il n'existe pas de différence entre les deux groupes.

DISCUSSION - Nos résultats indiquent que les deux mesures d'asymétrie augmentent pendant les quatre premiers jours de vie postnatale, et diminuent par la suite en tendant vers zéro vers la 15<sup>e</sup> journée. Ce fait pourrait être expliqué par l'existence de deux processus indépendants, un qui produit une différenciation croissante des deux côtés du névraxe et qui est en marche dès la naissance sinon plus tôt, et un deuxième qui commence à se manifester vers le

cinquième jour et qui a comme effet la réduction de l'asymétrie du névraxe. Il est fort possible que ce second facteur soit lié au processus de mise en place des connections nerveuses interhémisphériques; néanmoins l'absence de différence entre les souris normales et anormales indique que ces interconnections ne dépendent pas de l'intégrité du corps calleux. Cette conclusion, un peu surprenante, pourrait vraisemblablement s'expliquer par le faible taux de myélinisation des axones constituant cette commissure chez la souris adulte [13]. De plus, l'évidence paléontologique, bien que fragmentaire [1], suggère que *Mus* soit une addition récente à la radiation mammalienne. Il est donc concevable d'envisager que les fonctions assumées par le corps calleux présentent d'importantes différences chez les Muridés et chez les Mammifères plus primitifs.

Ce travail a bénéficié de l'aide financière du C.R.S.N.G./N.S.E.R.C. et du Fonds Institutionnel de Recherche de l'Université du Québec. Aide technique: R. Caron et L. Marchand.

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- [1] D. Brothwell, *Symp. Zool. Soc. (London)* 47, 1981, p. 1-13
- [2] R.L. Collins, in S.D. Glick (éd.), *Cerebral Lateralization in Nonhuman Species*, Academic Press, New York, p. 41-70
- [3] B. Hogan, F. Constantini et E. Lacy, *Manipulating the Mouse Embryo*, Cold Spring Harbor Laboratory, New York, 1986
- [4] L.S. King, *J. Comp. Neurol.*, 64, 1936, p. 337-363
- [5] L.S. King et C.E. Keeler, *Proc. Natl. Acad. Sci. (U.S.A.)*, 18, 1932, p. 525-528
- [6] D.J. Livy et D. Wahlsten, *J. Hered.*, sous presse, 1991
- [7] P.A. Mikuni-Durkee, Thèse, Colorado State University, 1982
- [8] J. Olavarria, M.M. Serra-Oller, K.T. Yee et R.C. van Sluyters, *J. Comp. Neurol.*, 270, 1988, p. 575-590
- [9] H. Sauerwein, M. Lassonde, B. Cardu et G. Geoffroy, *Neuropsychologia*, 19, 1981, p. 445-459
- [10] S.L. Schmidt, A.C. Manhaes et V.Z. de Moraes, *Brain Res.*, 545, 1991, p. 123-130
- [11] R.R. Sokal et F.J. Rohlf, *Biometry*, 2e éd., W.H. Freeman, San Francisco, 1981
- [12] D. Wahlsten, *J. Comp. Neurol.*, 262, 1987, p. 227-241
- [13] D. Wahlsten, *Dev. Brain Res.*, 15, 1984, p. 59-67
- [14] D. Wahlsten, *J. Hered.*, 73, 1982, p. 281-285
- [15] R. Ward et R.L. Collins, *Brain Res.*, 328, 1985, p. 243-249
- [16] R. Ward, L. Tremblay et M. Lassonde, *Brain Res.*, 424, 1987, p. 84-88

## EXPLICATION DE LA PLANCHE

Figure 1a: Distribution de la superficie des corps calleux dans l'échantillon de 101 souris. L'étoile indique la transition entre les souris normales et anormales. Figure 1b: Les données de la Fig. 1a cumulées et étalées selon une échelle de probabilité Gaussienne. Notez la discontinuité prononcée aux environs d'une superficie de 0.75 mm<sup>2</sup>.

*Figure 1a: Frequency distribution of areas of the corpus callosum in the sample of 101 mice. The star indicates the transition between normal and abnormal mice. Figure 1b: The data of Fig. 1a plotted as a cumulative distribution on a Gaussian probability scale. Note the pronounced discontinuity in the region of area of 0.75 mm<sup>2</sup>.*

Figure 2a: Pourcentage de souris accusant une apparition asymétrique d'une réponse, en fonction de l'âge d'apparition de la réponse. Les fonctions de régression de premier ( $Y = 59.58 - 2.01X$ ) et deuxième ( $Y = 42.16 + 5.80X - 0.53X^2$ ) degré, estimées par la technique des moindres carrés, sont indiquées. Figure 2b: La durée moyenne de l'asymétrie, en fonction de l'âge d'apparition de la réponse chez les souris démontrant un développement asymétrique. Les fonctions de régression de premier ( $Y = 1.62 - 0.07X$ ) et deuxième degré ( $Y = 1.09 + 0.15X - 0.02X^2$ ) sont indiquées. Dans les deux Figures, les cercles creux indiquent les souris anormales, et les cercles remplis les souris normales.

*Figure 2a: The percentage of mice showing asymmetrical appearance of a response, as a function of the age of appearance of the response. Best-fitting linear ( $Y = 59.58 - 2.01X$ ) and quadratic ( $Y = 42.16 + 5.80X - 0.53X^2$ ) regressions, as estimated by least squares, are indicated. Figure 2b: The mean duration of the asymmetry observed in mice showing asymmetrical appearance of a response, as a function of the age of appearance of the response. Linear ( $Y = 1.62 - 0.07X$ ) and quadratic ( $Y = 1.09 + 0.15X - 0.02X^2$ ) regressions are indicated. In each Figure, hollow circles indicate abnormal mice, filled circles indicate normal mice.*

L.L. et R.W.: *Laboratoire de Neuropsychologie Expérimentale,*

*Département de Psychologie,*

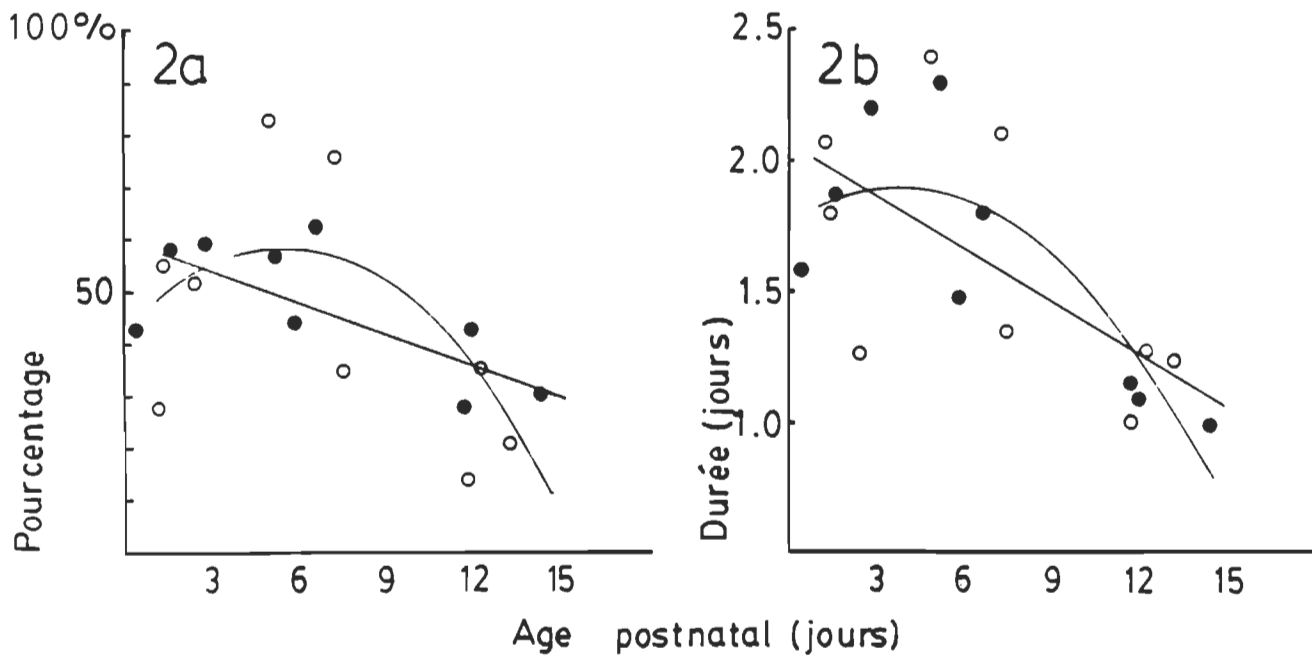
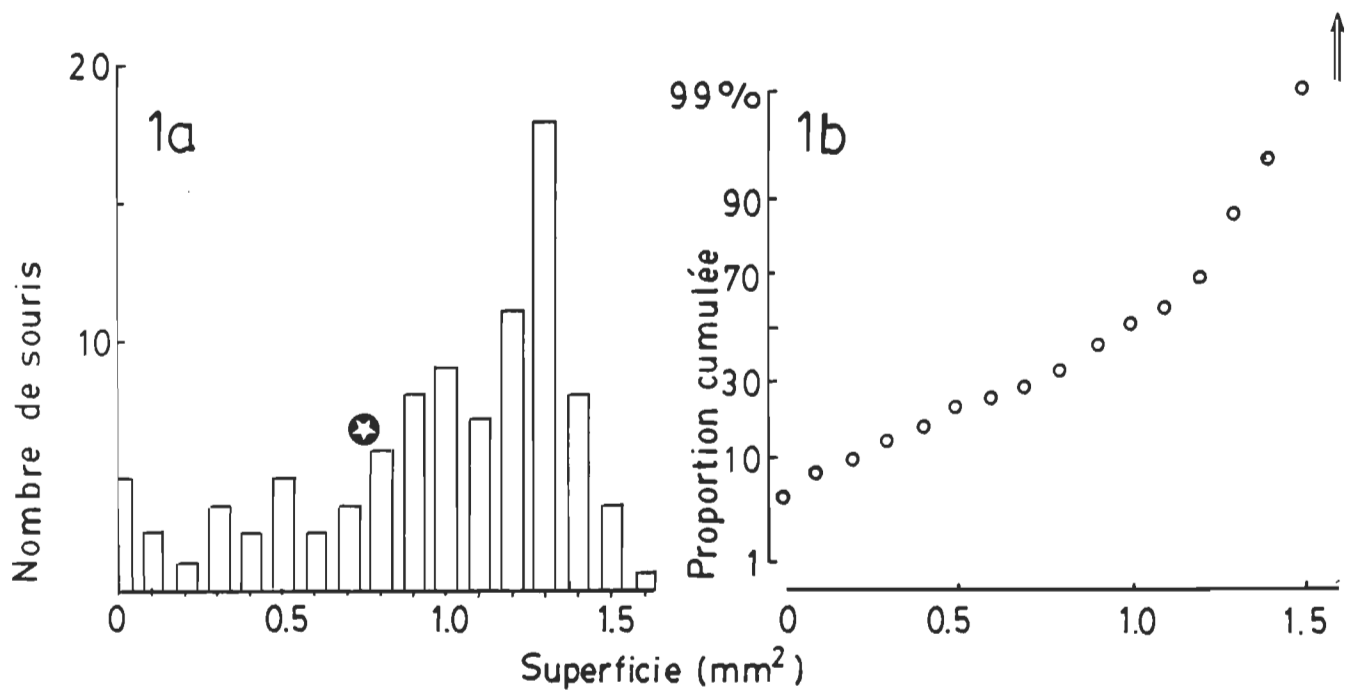
*Université du Québec à Trois-Rivières,*

*C.P. 500, Trois-Rivières QC,*

*Canada G9A 5H7.*

R.W.: *Laboratoire d'Anatomie Comparée, M.N.H.N.,*

*55, rue Buffon, 75005 Paris.*



## REMERCIEMENTS

L'auteur désire exprimer ici toute sa reconnaissance à l'égard de son directeur de mémoire, le Docteur Roger Milligan Ward (PH.D.), envers qui il est redevable d'une assistance ainsi que d'un support constant et éclairé. De même, des remerciements sincères sont adressés à l'ensemble de l'équipe constituant le "Laboratoire de recherche en neuropsychologie expérimentale" de l'UQTR dont à son directeur, le Docteur Dom Miceli.