



## AVERTISSEMENT

Ce document est le fruit d'un long travail approuvé par le jury de soutenance et mis à disposition de l'ensemble de la communauté universitaire élargie.

Il est soumis à la propriété intellectuelle de l'auteur. Ceci implique une obligation de citation et de référencement lors de l'utilisation de ce document.

D'autre part, toute contrefaçon, plagiat, reproduction illicite encourt une poursuite pénale.

Contact : [ddoc-theses-contact@univ-lorraine.fr](mailto:ddoc-theses-contact@univ-lorraine.fr)

## LIENS

Code de la Propriété Intellectuelle. articles L 122. 4

Code de la Propriété Intellectuelle. articles L 335.2- L 335.10

[http://www.cfcopies.com/V2/leg/leg\\_droi.php](http://www.cfcopies.com/V2/leg/leg_droi.php)

<http://www.culture.gouv.fr/culture/infos-pratiques/droits/protection.htm>

**ACADÉMIE DE NANCY – METZ**

**UNIVERSITÉ HENRI POINCARÉ – NANCY 1  
FACULTÉ DE CHIRURGIE DENTAIRE**

Année 2011

N°

**THÈSE**  
Pour le  
**DIPLÔME D'ÉTAT DE DOCTEUR  
EN CHIRURGIE DENTAIRE**

**INCIDENCE DE LA VOIE DE SIGNALISATION DE LA RÉELINE  
SUR L'ORGANISATION DU SYSTÈME NERVEUX ET DES  
MUSCLES IMPLIQUÉS DANS LES FONCTIONS  
MANDUCATRICES: ÉTUDE MORPHOLOGIQUE CHEZ LA SOURIS  
*SCRAMBLER (DAB 1)***

**Florent CHAPUIS**  
Né le 2 Septembre 1985 à Besançon (25)

**INCIDENCE DE LA VOIE DE SIGNALISATION DE LA RÉELINE SUR  
L'ORGANISATION DU SYSTÈME NERVEUX ET DES MUSCLES  
IMPLIQUÉS DANS LES FONCTIONS MANDUCATRICES: ÉTUDE  
HISTOCHIMIQUE FONCTIONNELLE CHEZ LA SOURIS  
*SCRAMBLER (DAB 1)***

**Jean-François BASTIEN**  
Né le 28 Novembre 1982 à Metz (57)

Présentée et soutenue publiquement  
Le 5 Juillet 2011

Examineurs de la thèse :

<u>Pr C. STRAZIELLE</u>	Professeur des Universités	Président
Dr J.M. MARTRETTE	Maître de Conférences	Juge
Dr C. JACQUELIN-JAVELOT	Assistant Universitaire	Juge
Dr A. RIFFAULT	Assistant Hospitalo-Universitaire	Juge

Président : Professeur J.P. FINANCE

Doyen : Docteur Pierre BRAVETTI

Vice-Doyens : Pr. Pascal AMBROSINI - Dr. Jean-Marc MARTRETTE

Membres Honoraires : Dr. L. BABEL - Pr. S. DURIVAUX - Pr. G. JACQUART - Pr. D. ROZENCWEIG - Pr. M. VIVIER

Doyen Honoraire : Pr. J. VADOT

<b>Sous-section 56-01</b> Odontologie pédiatrique	Mme DROZ Dominique (Desprez) M. PREVOST Jacques M. BOCQUEL Julien Mlle PHULPIN Bérengère M. SABATIER Antoine	Maître de Conférences Maître de Conférences Assistant Assistant Assistant
<b>Sous-section 56-02</b> Orthopédie Dento-Faciale	Mme FILLEUL Marie Pierryle M. BOLENDER Yves Mlle PY Catherine M. REDON Nicolas	Professeur des Universités* Maître de Conférences Assistant Assistant
<b>Sous-section 56-03</b> Prévention, Epidémiologie, Economie de la Santé, Odontologie légale	M. <u>Par intérim ARTIS Jean Paul</u> Mme JANTZEN-OSSOLA Caroline	Professeur 1 <sup>er</sup> grade Assistant
<b>Sous-section 57-01</b> Parodontologie	M. AMBROSINI Pascal Mme BOUTELLIEZ Catherine (Bisson) M. MILLER Neal M. PENAUD Jacques M. GALLINA Sébastien M. JOSEPH David	Professeur des Universités* Maître de Conférences Maître de Conférences Maître de Conférences Assistant Assistant
<b>Sous-section 57-02</b> Chirurgie Buccale, Pathologie et Thérapeutique Anesthésiologie et Réanimation	M. BRAVETTI Pierre M. ARTIS Jean-Paul M. VIENNET Daniel M. WANG Christian M. BALLY Julien M. CURIEN Rémi Mlle SOURDOT Alexandra	Maître de Conférences Professeur 1 <sup>er</sup> grade Maître de Conférences Maître de Conférences* Assistant Assistant Assistante
<b>Sous-section 57-03</b> Sciences Biologiques (Biochimie, Immunologie, Histologie, Embryologie, Génétique, Anatomie pathologique, Bactériologie, Pharmacologie)	M. WESTPHAL Alain M. MARTRETTE Jean-Marc Mlle ERBRECH Aude	Maître de Conférences* Maître de Conférences* Assistante Associée au 01/10/2007
<b>Sous-section 58-01</b> Odontologie Conservatrice, Endodontie	M. ENGELS-DEUTSCH Marc M. AMORY Christophe M. MORTIER Eric M. CUNY Pierre M. HESS Stephan Mlle PECHOUX Sophie	Maître de Conférences Maître de Conférences Maître de Conférences Assistant Assistant Assistante
<b>Sous-section 58-02</b> Prothèses (Prothèse conjointe, Prothèse adjointe partielle, Prothèse complète, Prothèse maxillo-faciale)	M. SCHOUVER Jacques M. LOUIS Jean-Paul M. ARCHIEN Claude M. DE MARCH Pascal M. BARONE Serge Mlle BEMER Julie Mlle RIFFAULT Amélie Mlle MONDON Hélène M. SIMON Franck	Maître de Conférences Professeur des Universités* Maître de Conférences* Maître de Conférences Assistant Assistante Assistante Assistant Assistant
<b>Sous-section 58-03</b> Sciences Anatomiques et Physiologiques Occlusodontiques, Biomatériaux, Biophysique, Radiologie	Mlle STRAZIELLE Catherine M. RAPIN Christophe (Section 33) Mme MOBY Vanessa (Stutzmann) M. SALOMON Jean-Pierre Mme JAVELOT Cécile (Jacquelin)	Professeur des Universités* Professeur des Universités Maître de Conférences* Maître de Conférences Assistante Associée au 01/01/2009

souligné : responsable de la sous-section

\*temps plein

Mis à jour le 01.02.2010

*Par délibération en date du 11 décembre 1972,  
la Faculté de Chirurgie Dentaire a arrêté que  
les opinions émises dans les dissertations  
qui lui seront présentées  
doivent être considérées comme propres à  
leurs auteurs et qu'elle n'entend leur donner  
aucune approbation ni improbation.*

## REMERCIEMENTS

---

**À notre président et directeur de thèse:**

**Mademoiselle le Professeur Catherine STRAZIELLE**

Docteur en Chirurgie Dentaire

Docteur en Neurosciences

Professeur des Universités

Habilitée à diriger des Recherches par l'Université Henri Poincaré, Nancy-I

Responsable de la sous-section : Sciences Anatomiques et Physiologiques,

Occlusodontiques, Biomatériaux, Radiologie.

Vous nous avez fait l'honneur d'accepter de diriger notre thèse et la présidence de ce jury. Nous vous nous remercions de tout l'intérêt que vous nous avez témoigné tout au long de la rédaction de ce manuscrit, ainsi que pour la qualité des enseignements que vous nous avez procuré tout au long de notre cursus universitaire, et de votre gentillesse.

## REMERCIEMENTS

---

**À notre juge :**

**Monsieur le Docteur Jean-Marc MARTRETTE**

Docteur en chirurgie dentaire

Vice doyen à la pédagogie

Maître de Conférences des Universités

Sous-section : Sciences biologiques (Biochimie, Immunologie,

Histologie, Embryologie, Génétique, Anatomie pathologique,

Bactériologie, Pharmacologie)

Vous nous faites le très grand honneur de faire partie de ce jury. Nous garderons en mémoire votre pédagogie et votre sympathie lors des stages hospitaliers. A travers ce travail veuillez trouver ici l'expression de notre respectueuse reconnaissance.

## REMERCIEMENTS

---

**À notre juge :**

**Madame Cécile JACQUELIN-JAVELOT**

DEA de Neurosciences Université Louis Pasteur, Strasbourg.  
Assistante associée dans la sous-section Sciences biologiques de la faculté de médecine Henry Poincaré, Nancy I.

Merci de nous avoir fait l'honneur de participer à ce jury de thèse. Votre appui fût essentiel pour la réalisation de nos travaux. Pour la bienveillance et la bonne humeur avec laquelle vous nous avez encadré, veuillez trouver ici l'expression de notre reconnaissance et de notre sincère estime.

## REMERCIEMENTS

---

**À notre juge :**

**Mademoiselle Amélie RIFFAULT**

Docteur en chirurgie dentaire  
Assistant Hospitalo-universitaire du CHU de Nancy  
Service d'odontologie, sous-section : Prothèse dentaire

Merci pour l'honneur que vous nous avez fait en vous intéressant à nos travaux et pour votre présence au sein du jury. Soyez assurée de notre profonde gratitude.

## REMERCIEMENTS

---

Jean-François BASTIEN

Je tiens à remercier ma sœur, mes parents, mes grand-parents maternels, ma grand-mère paternelle ainsi que tout le reste de ma famille.

Je remercie également tous mes amis et camarades de promotion.

Je remercie Caroline pour son soutien inconditionnel.

À mon ami Florent.

Florent CHAPUIS

Je remercie mes parents et ma sœur pour leur soutien tout au long de mes études, ma grand-mère Denise, qui n'aura pas pu me voir arriver jusqu'au terme de mes études.

Je remercie également mes amis, principalement Jean-Christophe, Jérôme, Pierre-Emmanuel, Matthieu, Marine, et plus particulièrement Jean co-auteur de ce document.

**ACADÉMIE DE NANCY – METZ**

**UNIVERSITÉ HENRI POINCARÉ – NANCY 1  
FACULTÉ DE CHIRURGIE DENTAIRE**

Année 2011

N°

**THÈSE**  
Pour le  
**DIPLÔME D'ÉTAT DE DOCTEUR  
EN CHIRURGIE DENTAIRE**

**INCIDENCE DE LA VOIE DE SIGNALISATION DE LA RÉELINE  
SUR L'ORGANISATION DU SYSTÈME NERVEUX ET DES  
MUSCLES IMPLIQUÉS DANS LES FONCTIONS  
MANDUCATRICES: ÉTUDE MORPHOLOGIQUE CHEZ LA SOURIS  
*SCRAMBLER (DAB 1)***

**Florent CHAPUIS**  
Né le 2 Septembre 1985 à Besançon (25)

**INCIDENCE DE LA VOIE DE SIGNALISATION DE LA RÉELINE SUR  
L'ORGANISATION DU SYSTÈME NERVEUX ET DES MUSCLES  
IMPLIQUÉS DANS LES FONCTIONS MANDUCATRICES: ÉTUDE  
HISTOCHIMIQUE FONCTIONNELLE CHEZ LA SOURIS  
*SCRAMBLER (DAB 1)***

**Jean-François BASTIEN**  
Né le 28 Novembre 1982 à Metz (57)

Présentée et soutenue publiquement  
Le 5 Juillet 2011

Examineurs de la thèse :

<u>Pr C. STRAZIELLE</u>	Professeur des Universités	Président
Dr J.M. MARTRETTE	Maître de Conférences	Juge
Dr C. JACQUELIN-JAVELOT	Assistant Universitaire	Juge
Dr A. RIFFAULT	Assistant Hospitalo-Universitaire	Juge

1.Synthèse bibliographique	9
1.1.La réeline	9
1.2.Rôles de la réeline dans le développement et chez l'adulte	11
1.2.1.Histochimie des éléments impliqués dans la voie de signalisation	11
1.3.Caractéristiques comportementales de la souris scambler	15
1.4.Histopathologie du système nerveux central	17
1.4.1.Atteinte tissulaire: exemple du cortex cérébral	17
1.4.2.Régions affectées du système nerveux central des souris reeler	28
1.4.2.1.La moelle épinière	28
1.4.2.2.Le rhombencéphale	30
1.4.2.3.Le mésencéphale	38
1.4.2.4.Le prosencéphale	40
1.5.Organisation centrale de l'innervation de l'appareil manducateur	44
1.5.1.Embryologie du tronc cérébral	44
1.5.1.1.La formation du rhombencéphale	45
1.5.1.2.Formation des noyaux des nerfs crâniens	46
1.5.1.3.Migration des noyaux du tronc cérébral	51
1.5.1.4.Développement des ganglions parasymphatiques et sensitifs	51
1.5.2.Formation des vésicules cérébrales primitives	55
1.5.2.1.Formation embryologique du cervelet	56
1.5.2.2.Formation du mésencéphale	58
1.5.2.3.Formation du prosencéphale	59
1.5.2.4.Formation du télencéphale	59
1.6.Configuration des centres segmentaires anatomique et histologique	60
1.6.1.Les centres segmentaires du nerf trijumeau	60
1.6.2.Le contingent afférent somatique général	62
1.6.2.1.Le noyau trigéminal mésencéphalique (Me5)	65
1.6.2.2.Le noyau sensitif principal (Pr5)	67
1.6.2.3.Le noyau spinal du nerf trijumeau (Sp5)	68

1.6.3.Les contingents moteurs efférents somatiques et branchiomériques	70
1.6.3.1.Le noyau moteur trigéminal	71
1.6.3.2.Le noyau facial	74
1.6.3.3.Le noyau moteur dorsal du nerf vague	76
1.6.3.4.Le noyau moteur du nerf hypoglosse	77
1.6.3.5.Le noyau ambigu	82
2.Étude morphologique des structures encéphaliques impliquées dans le système manducateur chez la souris scambler	86
2.1.Le noyau moteur du nerf facial (VII)	86
2.2.Le noyau moteur du nerf trigéminal (V)	91
2.3.Observation du noyau mésencéphalique du nerf trigéminal (V)	96
2.4.Observation du noyau ambigu (Amb)	100
2.5.Les noyaux moteur du nerf vague (X) et de l'hypoglosse (XII)	103
3.Étude histochimique fonctionnelle du système nerveux central impliqué dans la manducation chez la souris scambler	108
3.1.Activité métabolique du système nerveux central chez la souris scambler	108
3.2.Résultats obtenus par coloration acétylcholinésterase	119
4.Etude comparative des structures musculaires impliquées dans la mastication chez la souris scambler	132
4.1.Introduction	132
4.2.Rappel histologique et physiologique du tissu musculaire squelettique	132
4.2.1.La fibre musculaire squelettique	133
4.2.2.Les myofibrilles	134
4.2.3.Réticulum sarcoplasmique et tubules transverses	135
4.2.4.Les différents types de fibres musculaires squelettiques	137
4.2.5.La contraction musculaire	138
4.2.6.Métabolisme musculaire	138
4.3.Les muscles prélevés sur les souris	139
4.3.1.Le muscle masséter	139
4.3.2.Le muscle flexor digitorum superficialis	140
4.4.Observations	141

5.Conclusion	146
6. Annexe	149
6.1. Les animaux	149
6.2. Le prélèvement des tissus	152
6.3. Réalisation des coupes	152
6.4. Colorations histologiques et histochimiques	153
6.4.1. Coloration histologique au crésyl violet	153
6.4.2. Marquage histochimique de la cytochrome oxydase (COX)	155
6.4.3. Marquage histochimique de l'acétylcholinesthérase	158
6.5. Matériels et méthodes ayant été utilisés lors de la préparation des tissus musculaires	162
6.5.1. Animaux	162
6.5.2. Préparation des tissus : perfusion intracardiaque	163

# INTRODUCTION

## Introduction

Depuis plus de 50 ans, la souris *reeler* (*Rln*) caractérisée par la mutation spontanée de la réeline, protéine dont le code génétique est situé sur le chromosome 5, a été étudiée comme modèle expérimental dans le domaine de la recherche sur le développement du système nerveux central des mammifères. La souris *scrambler* (*Dab1*), découverte plus récemment, et décrite pour la première fois en 1996, présente les mêmes anomalies structurales et fonctionnelles que la souris *reeler*, bien qu'elle soit caractérisée par la mutation spontanée d'une protéine différente, la *Dab1* située sur le chromosome 4 (Sweet H.O. et al., 1996). Ces deux mutations se transmettent selon un mode autosomique récessif.

Une mutation de type *reeler* ou de type *Dab1* entraîne une ataxie, une incoordination motrice, des tremblements cinétiques, et par conséquent une altération importante de la fonction motrice (Lalonde et al., 1999).

Les deux mutations présentent les mêmes défauts neuro-anatomiques. Le volume total du cerveau des souris *reeler* homozygotes présente une réduction d'environ 19% (Badea et al., 2007), l'atrophie étant maximale au niveau du cervelet (Hamburgh, 1960). L'analyse du système nerveux central des souris mutantes révèle de graves anomalies architecturales dans les structures corticales du cerveau, de l'hippocampe, et du cervelet (Caviness et al., 1973; Goffinet, 1983). En plus de ces anomalies dans les structures laminaires, des anomalies plus subtiles sont observées au niveau de certains regroupements particuliers de cellules comme l'amygdale, le tubercule olfactif, le bulbe olfactif, le complexe olivaire inférieur, le noyau cochléaire dorsal ou le noyau moteur du nerf facial (Caviness et al., 1983; Martin, 1981). La migration des neurones sympathiques préganglionnaires est également affectée dans la moelle épinière (Yip et al., 2000).

En effet, au cours du développement normal du système nerveux central des vertébrés, les neurones ayant des propriétés similaires en termes de morphologie, connectivité et caractéristiques biochimiques forment des structures distinctes formant des cortex ou des noyaux. Ainsi, au cours du développement cérébral, les précurseurs neuronaux migrent de leur lieu de naissance à leur destination finale où ils se rassemblent pour former ces structures qui, par l'intermédiaire de connexions multiples, forment des circuits neuronaux définis. Dans le cerveau des souris *reeler* et *scrambler*, les neurones ne parviennent pas à former la

morphologie normale en couches ou noyaux dans les régions cérébrales majeures. Toutefois, ces mutations réalisent leurs effets sans compromettre la survie ou la vitalité des neurones (Caviness et al., 1988; Rakic et al., 1995). En effet, en dépit d'une localisation ectopique des neurones chez la souris *reeler*, ceux-ci peuvent trouver leurs cellules cibles correctement (Simmons et al., 1982; Terashima et al., 1996), et l'organisation des circuits neuronaux majeurs chez la *reeler* sont comparables à ceux des cerveaux normaux (Silva et al., 1991).

Des études cliniques sur des patients atteints de maladies psychiatriques ont suggéré que des troubles relativement bénins du développement, tels que des neurones en position ectopique, seraient responsables de pathologies comme l'épilepsie, l'hyperactivité, l'autisme ou la schizophrénie ou encore de retard mental ou de déficits de mémoire et d'apprentissage (Beckmann 1999; Levitt 2005; McManus et Golden, 2005). En fait, les analyses du génome de patients souffrant de ces troubles psychiatriques détectent des modifications dans la séquence d'acides nucléiques et dans le niveau d'expression des gènes impliqués dans le développement cérébral (Cook et Scherer, 2008; Kim et Webster, 2010; Walsh et al., 2008). De plus, de récentes études ont suggéré l'implication de la réeline dans ces troubles (Impagnatiello et al., 1998; Hong et al., 2000; Fatemi, 2005; Zaki et al., 2007; Ozcelik et al., 2008). Chez l'homme, la malformation due à une migration neuronale anormale apparaît souvent comme une lissencéphalie (Walsh 1999). Les études concernant la lissencéphalie avec hypoplasie cérébrale (LCH) sont très récentes (Ross et al., 2001a, 2001b) : parmi les six classes de lissencéphalie répertoriées, une forme récessive autosomique (LCHb) a été associée à deux mutations indépendantes localisées sur le gène humain codant pour réeline (Hong et al., 2000). Ce modèle est caractérisé par un cortex modérément épaissi, une pachygyrie, une formation hippocampale anormale, et une sévère hypoplasie cérébelleuse avec une absence de folias (Hong et al., 2000).

Les auteurs qui ont travaillé sur la souris *reeler* ont montré que les centres segmentaires des nerfs crâniens impliqués dans l'innervation des structures de l'appareil manducateur n'étaient pas épargnés. Des altérations cytoarchitectoniques étaient observées dans les noyaux moteurs des nerfs trigéminal, facial et ambigu ainsi que dans le noyau mésencéphalique du nerf trijumeau (Terashima et al., 1994; Terashima, 1996; Hirasugi et al., 2007). Dans le laboratoire dans lequel nous avons travaillé, nous disposons de souris *scrambler*. Il était intéressant d'étudier: 1) si les altérations tissulaires décrites chez la souris

*reeler* sont présentes dans la mutation *Dab1* et 2) si ces modifications histologiques étaient susceptibles d'induire des déficits fonctionnels de l'appareil manducateur.

L'ouvrage que nous présentons rapporte les résultats de l'étude que nous avons effectuée. Il s'organise en 3 parties principales, bibliographique pour la première et expérimentales pour les suivantes, suivies d'une discussion:

-Une synthèse bibliographique sera réalisée dans un premier temps. Elle s'intéressera à la composante histochimique de la réeline et à sa voie de signalisation impliquée dans la migration neuronale, ainsi qu'aux perturbations conduisant au phénotype *scrambler*, en nous appuyant sur les résultats observés chez la souris *reeler*. Des rappels sur la formation embryologique de l'encéphale et plus particulièrement du cortex cérébral nous permettront de mieux comprendre l'incidence de la réeline sur la migration neuronale au cours du développement. Une description des désordres tissulaires dans la mutation *reeler* nous aidera à appréhender les études histologiques que nous avons menées chez la souris *scrambler*.

-Une étude histopathologique des structures nerveuses centrales impliquées dans la manducation chez la souris mutante *scrambler* fera l'objet d'un second chapitre; nous envisagerons les centres segmentaires des nerfs crâniens ainsi que des centres suprasegmentaires impliqués dans le contrôle de l'appareil manducateur.

-Au cours d'un troisième chapitre, nous présenterons l'étude fonctionnelle de ces structures centrales que nous appréhenderons en histochimie.

-Enfin, nous étudierons, dans une dernière partie, les possibles conséquences fonctionnelles sur les principaux moteurs de l'appareil manducateur que sont les muscles et les dents.

# SYNTHÈSE BIBLIOGRAPHIQUE

# 1.Synthèse bibliographique

## 1.1. La rééline

Le gène rééline, responsable du phénotype *reeler* lorsqu'il est muté, code pour une glycoprotéine de grande taille, la rééline, sécrétée par des populations spécifiques de neurones dans le cerveau en développement et à l'âge adulte (Hirosune et al., 1995; Ogawa et al., 1995; Alcantara et al., 1998). Des études subséquentes en biologie moléculaire ont identifié des récepteurs lipoprotéiniques membranaires pour la rééline: ApoER2 et VLDLR (Trommsdorff et al.,1999; D'Arcangelo et al.,1999; Hiesberger et al. 1999), ainsi qu'un composant intracellulaire du signal: la protéine Dab1 (Howell et al.,1997; Sheldon et al.,1997; Rice et al.,1998) (Fig. 1).

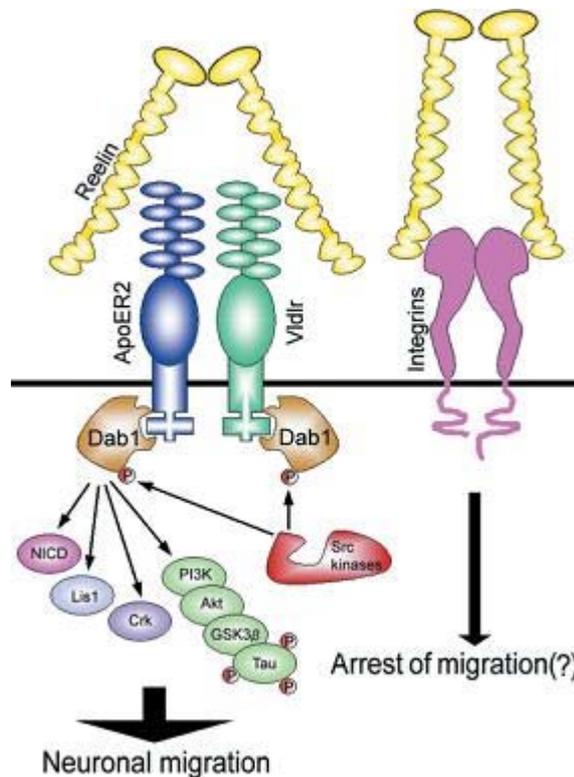


Fig.1: Voie de signalisation (Katsuyama et Terashima, 2009)

La rééline, protéine extracellulaire, se lie à ses récepteurs ApoER2 et Vldlr, formant ainsi un homodimère à la surface cellulaire.

Dab1 est, quant à elle, une protéine adaptatrice, qui se lie aux domaines intracellulaires des récepteurs, en reconnaissant une séquence NpXY. La liaison de rééline à ses récepteurs entraîne la phosphorylation de Dab1, par une fonction Src kinase. Le signal rééline/Dab1

régule négativement la phosphorylation de la protéine Tau, via un chemin de signalisation passant par les protéines PI3K, Akt et GSK3 $\beta$ . La protéine Tau est associée aux microtubules, et se situe principalement au niveau des axones (Jossin 2008; Olson et Walsh, 2008).

La protéine Dab1 phosphorylée crée également des liaisons aux protéines:

- Crk qui module l'activité du cytosquelette d'actine,

- Lis1 qui est associée aux microtubules,

- Notch intracellular domain (NICD). Dab1 prévient la dégradation du NICD, et favorise la transduction de la voie de signalisation du NICD (Hashimoto-Torii et al., 2008).

Ainsi cette voie de signalisation passant par le signal réeline/Dab1, agit au niveau du cytosquelette, or, celui-ci est à l'origine de la plupart des forces exercées par la cellule pour se déplacer et se nourrir, expliquant que dans le cerveau de la souris *reeler* et *scrambler*, les neurones ne parviennent pas à former la morphologie normale des couches et des noyaux, dans les régions cérébrales majeures. Des études biochimiques ont démontré que la protéine réeline pouvait également créer des liaisons avec des intégrines, et il est supposé que ces liaisons pourraient stopper la migration neuronale (Dulabon et al., 2000).

## 1.2. Rôles de la réeline dans le développement et chez l'adulte

### 1.2.1. Histochimie des éléments impliqués dans la voie de signalisation

#### -Les protéines réeline et Dab 1

Le cadre de lecture ouvert du gène Réeline est long de 10383 bases, et code pour une protéine composée de 3461 acides aminés (aa) ayant une masse moléculaire relative de 388 KDa (Kubo et al., 2003).

La partie N-terminale de cette protéine est à 25% identique à la F-spondine (Klar et al., 1992). Les 500 premiers acides aminés de la réeline, sont suivis par 8 répétitions d'une séquence contenant 350 à 390 aa et possédant 2 répétitions liées A et B, séparées par un motif EGF-like (epidermal growth factor) de 30 aa (D'Arcangelo et al., 1995) (Figure 2). Dans ces séquences, la réeline ressemble aux protéines de la matrice extracellulaire, et une courte région d'acides aminés située près de l'extrémité C-terminale est requise pour la sécrétion de la réeline (D'Arcangelo et al., 1997). Chez le mutant *reeler Orléans* ( $Reln^{rl-Orl}$ ), la réeline est produite mais non sécrétée en raison de l'insertion d'un élément L1 modifiant ainsi la séquence d'acides aminés en position C-terminal (Takahara et al., 1997).

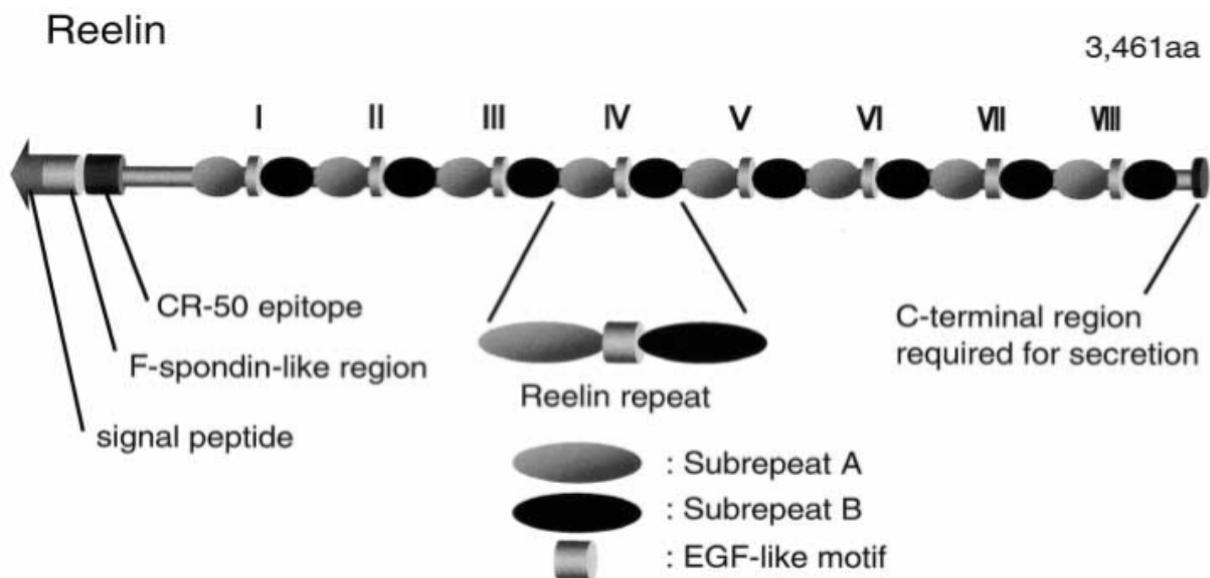


Figure 2: Représentation schématique de la structure de la réeline (Kubo et Nakajima, 2003)

Dans le développement du cerveau de la souris normale, la réeline est sécrétée par différentes populations de neurones, comme par exemple:

- les cellules de Cajal-Retzius dans le cortex cérébral (Ogawa et al., 1995) et l'hippocampe (Nakajima et al., 1997),

- les cellules granulaires dans le cervelet (Miyata et al., 1997).

Fait important, la production de réeline par ces neurones est associée aux régions pour lesquelles les atteintes tissulaires sont détectées chez les souris *reeler*.

Malgré les phénotypes semblables chez les souris *reeler* et *scrambler*, la réeline s'exprime normalement chez la souris *scrambler*. Des investigations approfondies sur cette dernière ont révélé une mutation sur le gène *Dab1* codant pour un adaptateur intracellulaire identifié à l'origine comme une protéine Src-obligatoire (Sweet et al., 1996; Howell et al., 1997a). *Dab1* est principalement exprimée dans les neurones du système nerveux central (SNC) en développement et son ARN messenger subit de nombreux épissages alternatifs\*.

Près de l'extrémité N-terminale, *Dab1* contient une région d'environ 150 acides aminés connue comme étant un domaine possédant une interaction PI/PTB (phosphotyrosine interaction/phosphotyrosine-binding). Le domaine PI/PTB de *Dab1* se lie à la bicouche phospholipidique (contenant phosphatidylinositol 4 Phosphate (PtdIns4P) et du Phosphatidylinositol 4,5-bisphosphate (PtdIns(4,5)P<sub>2</sub>)), et à la séquence non phosphorylée F/YXNPXY (où X peut être n'importe quel acide aminé), trouvées dans la queue cytoplasmique de cinq membres de la famille des récepteurs lipoprotéiniques de faible densité (LDLR) ainsi que dans trois membres de la famille des protéines précurseurs de l'amyloïde (APP), et au niveau de la protéine cytoplasmique de signalisation Ship (Howell et al., 1999b).

\*L'épissage alternatif consiste, chez les eucaryotes uniquement, en une étape nécessaire pour rendre un ARN messenger viable à la traduction. Cette étape consiste à la délétion des introns ou des exons qui ne seront pas nécessaires au codage de la protéine, à l'addition d'une coiffe méthylée en 5' et d'une queue poly A en 3'. Ces derniers éléments seront nécessaires au déplacement de l'ARN messenger du noyau vers le cytoplasme, où il sera traduit par les ribosomes, ainsi qu'à sa stabilité, puisqu'il ne sera plus attaqué par les ARNs nucléosidases.

Un groupe de résidus tyrosine en aval du domaine PI/PTB de Dab1 sert de sites d'ancrage pour un domaine SH2 contenant des protéines telles que la protéine de type non-récepteur tyrosine kinases (PTKs), Src, Fyn, Abl. Src peut phosphoryler Dab1 *in vitro*, et la phosphorylation de la tyrosine de Dab1 favorise l'interaction avec ces PTKs (Howell et al., 1997a). Ces structures de Dab1 impliquent que Dab1 établisse des fonctions d'amarrage de type protéine-protéine ou protéine-membrane dans la cascade de signalisation de kinases, au cours du développement du cerveau.

Le phénotype identique chez les souris *reeler* et *scrambler*, suggère qu'elles possèdent une voie de signalisation commune qui régule la formation en couches du cortex cérébral. Chez la souris *reeler*, les principales populations de neurones ectopiques contiennent un niveau élevé de la protéine Dab1, bien qu'ils expriment un niveau normal d'ARNm de Dab1 (Rice et al., 1998). Ceci suggère que Dab1 s'accumule en l'absence d'un signal réeline, et fonctionne en aval de la protéine réeline. De plus, Dab1 est tyrosine phosphorylé de façon réeline-dépendent dans des neurones en culture primaire (Howell et al., 1999a), indiquant que la réeline régule la position des neurones, en stimulant la phosphorylation des tyrosines de Dab1.

Génétiquement, la souris doublement nulle pour réeline et Dab1 ne montre aucun défaut supplémentaire, confirmant que réeline et Dab1 agissent sur la même cascade de signalisation (Howell et al., 1999a).

*In vivo*, certaines tyrosines de Dab1 sont responsables de la poursuite de la voie de signalisation de la réeline; ainsi, une mutation de l'ensemble de ces tyrosines chez la souris, entraîne un phénotype histologique identique à celui de la souris *reeler* (Howell et al., 2000).

### **-Les récepteurs de la réeline**

Après la découverte de Dab1 comme une molécule située en aval de réeline, l'identification des récepteurs qui transmettent le signal de réeline à Dab1 en intracellulaire est devenue l'intérêt majeur du domaine de recherche.

Les souris double nulles, possèdent des défauts au niveau des gènes des récepteurs lipoprotéiniques de très faible densité (VLDLR) (Takahashi et al., 1992; Sakai et al., 1994) et des gènes du récepteur 2 de l'apolipoprotéine E (ApoER2) (Kim et al., 1996; Stockinger et al.,

1998) et comme les précédentes souris présentent des altérations neuroanatomiques et des déficits comportementaux identiques à ceux de la souris *reeler* (Trommsdorff et al., 1999). En outre, la protéine Dab1 est en quantité plus importante chez la souris double knock-out, indiquant une défaillance dans la transmission du signal de réeline.

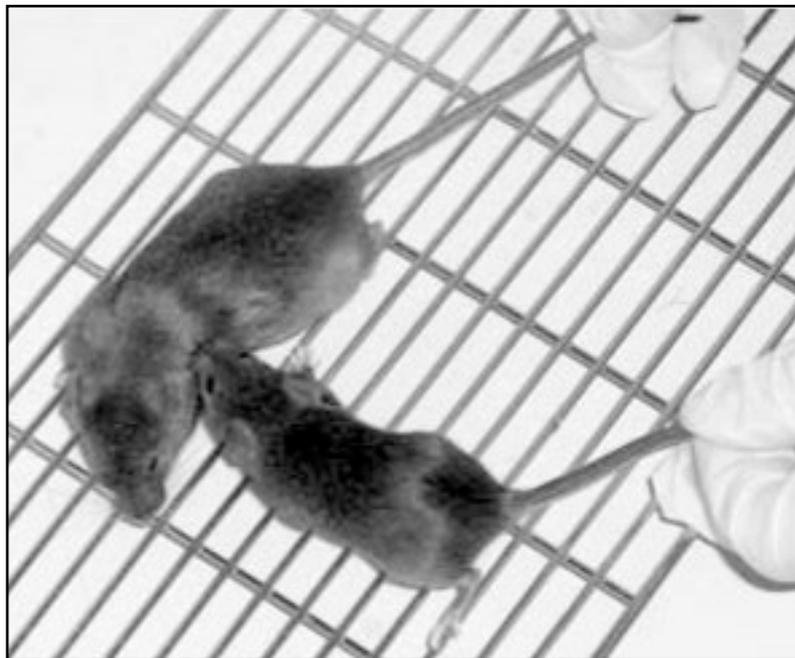
Biochimiquement, il a été démontré que la réeline se lie aux domaines de liaison de VLDLR et ApoER2. (Hiesberger et al., 1999; D'Arcangelo et al., 1999). Les constantes de dissociation (Kd) estimées pour l'interaction sont de 0,5 nM, (Hiesberger et al., 1999) ou 0,7nM, (D'Arcangelo et al., 1999) suggérant une interaction de haute affinité. Les domaines intracellulaires de VLDLR et ApoER2 se lient à Dab1.

VLDLR et ApoER2 sont susceptibles de fonctionner de concert, mais la présence de fonctions distinctes est aussi plausible. Les souris knock-out pour seulement un des récepteurs, VLDLR ou ApoER2, présentent des différences: le déficit de VLDLR affecte principalement le cervelet tandis qu'un défaut de ApoER2 affecte le cortex cérébral et l'hippocampe (Trommsdorff et al., 1999).

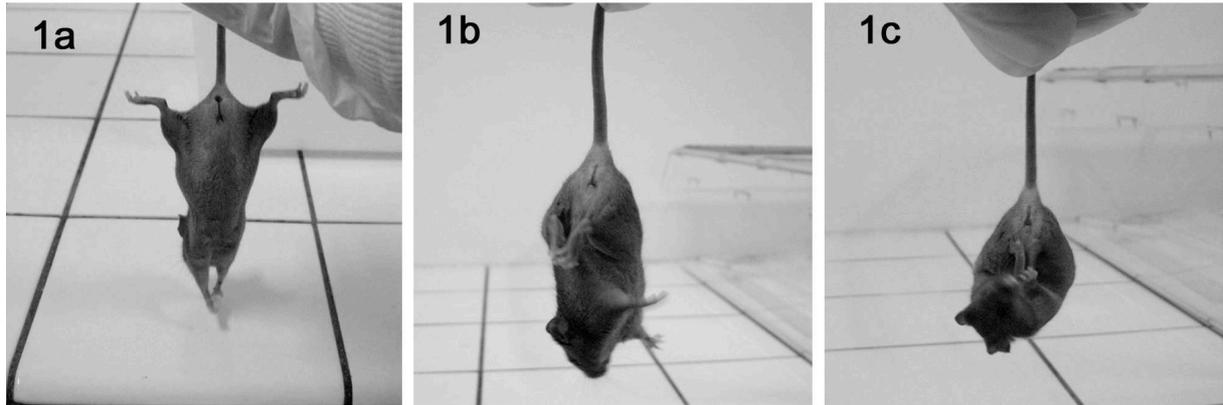
Biochimiquement, le domaine cytoplasmique des membres de la famille des LDLR interagit avec diverses protéines impliquées dans la régulation des protéines kinases ayant un rôle dans l'activité mitotique et l'adhésion cellulaire, dans la circulation de vésicules et dans la neurotransmission (Gotthardt, 2000).

### 1.3.Caractéristiques comportementales de la souris scrambler

Les souris *scrambler* atteintes de la mutation spontanée sont repérées dans les portées dès la deuxième semaine post-natale par des tremblements plus importants que la normale, une posture incertaine et un poids inférieur à celui des souris normales de même souche. Des études comportementales évaluant les performances motrices et l'anxiété au moyen d'une batterie de tests ont été effectuées au sein du laboratoire dans lequel nous avons fait notre travail (données du laboratoire) et ont montré des résultats similaires à la souris *reeler* (Lalonde et Strazielle, 2011). La souris *scrambler* diffère de la souris contrôle par un retard de développement (fig.3) et des atteintes motrices sévères regroupant des tremblements, une hypotonie, une perte d'équilibre, des réflexes posturaux anormaux (fig.4) ainsi qu'une atteinte sévère de la coordination motrice. Ces altérations forment l'ataxie, qui correspond à un tableau clinique regroupant des défauts moteurs traduisant un déficit du cervelet. Malgré ces troubles moteurs, la souris *scrambler* montre une hyperactivité et manifeste des comportements stéréotypés répétitifs de déambulation circulaire. Elle présente également une certaine impulsivité et une désinhibition. Elle est capable d'apprentissage moteur.



*Figure 3: Taille comparative entre la souris normale à gauche et la souris scrambler à droite. Nous pouvons noter une posture différente chez la souris scrambler: ses pattes ne sont pas placées sous l'animal mais écartées, à distance du corps, signant ainsi des troubles d'équilibre nécessitant un polygone de sustentation plus important (Jantzen-Ossola, 2009).*



*Figure 4: Réflexes posturaux de la souris normale (1a-1c) et de la souris scrambler (1b), (Lalonde et Strazielle, 2011).*

La souris normale présente une lordose dorsale (fig.4-1a) lors de l'approche et de l'agrippement d'une barre avec les pattes antérieures. La lordose est moins prononcée chez la souris *scrambler*. Les souris ont tendance à vouloir se redresser, s'aidant avec les pattes lorsqu'elles sont tenues par la queue et qu'elles n'ont aucun support à saisir. Si la souris normale peut saisir ses pattes et les regrouper (fig.4-1c), le "claspings" (regroupement des pattes postérieures jointes sur le ventre) ne s'observe, à l'âge adulte que chez la souris *scrambler* (fig.4-1b) (Jantzen-Ossola, 2009).

## 1.4.Histopathologie du système nerveux central

### 1.4.1.Atteinte tissulaire: exemple du cortex cérébral

Afin d'analyser la fonction de réeline et Dab1 au cours du développement du système nerveux central, nous allons nous intéresser au développement du cortex cérébral, en décrivant tout d'abord sa morphologie normale, puis sa formation chez les souris *reeler*.

Comme Dab 1 est en aval de la réeline, les mécanismes de migration pathologiques sont semblables chez la souris *scrambler*.

#### -Organisation du cortex cérébral

Le cortex cérébral des mammifères est une structure très ordonnée qui recouvre les deux hémisphères cérébraux, et dont l'épaisseur varie entre 0,10 et 0,15mm chez la souris (Laroche et al., 2002). Selon l'organisation histologique corticale, on distingue le néocortex, représentant 90% de la surface totale du cortex, et l'allocortex (structure en 3 couches) qui n'en représente que 10%. Seul, le néocortex nous intéressera dans la mesure où il représente la plus grande partie du cortex. Ainsi, les différentes classes de neurones du néocortex résident dans une structure organisée en six couches cellulaires, qui s'organisent de la pie-mère externe à la substance blanche interne.

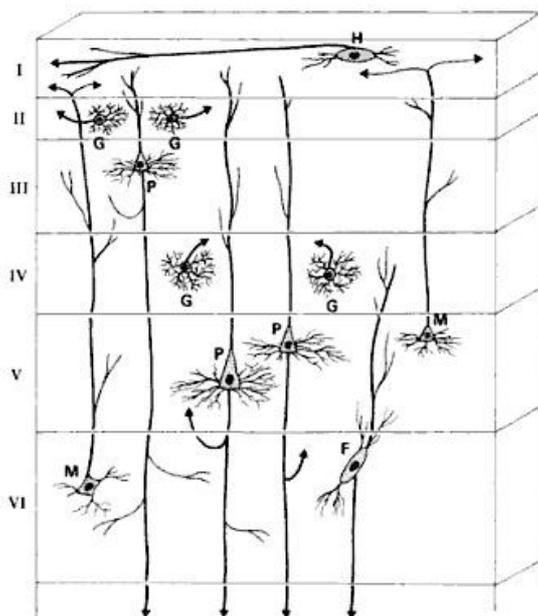


Figure 5: Principaux types de neurones corticaux: G: cellule granulaire; F: cellule fusiforme; H: cellule de Cajal-Retzius; M: cellule de Martinotti; P: cellule pyramidale. Les prolongements axonaux sont indiqués par une flèche (Bossy et al., 1990).

Depuis la pie-mère, on distingue dans l'ordre (Bossy et al.,1990; fig.5):

-La couche moléculaire (couche I). Elle est pauvre en cellules, et est constituée essentiellement de fibres nerveuses à trajet parallèle à la surface corticale et de cellules gliales. Ces fibres nerveuses sont des axones et des dendrites provenant des neurones des couches internes. En effet ces cellules y envoient des dendrites courtes et orientées perpendiculairement à la surface du cortex, et de longs axones orientés parallèlement à cette surface. On y trouve aussi des neurones étoilés et quelques cellules de Cajal-Retzius (Jones et al., 1970).

-La couche granulaire externe (couche II). Elle contient des neurones granulaires qui reçoivent les afférences d'autres aires corticales. Les dendrites proviennent de la couche moléculaire, et les axones se dirigent vers les couches profondes du cortex. Il s'agit de connexions cortico-corticales afférentes.

-La couche pyramidale externe (couche III). Elle est constituée de neurones pyramidaux. Les axones de ces neurones forment des fibres intra-hémisphériques et inter-hémisphériques ou commissurales dans la substance blanche, tandis que les dendrites apicales atteignent la couche moléculaire. Il s'agit ici de connexions cortico-corticales efférentes.

-La couche granulaire interne (couche IV). Elle contient des neurones étoilés et pyramidaux. C'est par cette couche que les informations en provenance de l'extérieur du cortex (par exemple du thalamus) entrent dans le cortex. Elle reçoit aussi les afférences en provenance de l'hémisphère cérébral controlatéral.

-La couche pyramidale interne (couche V), renferme des cellules pyramidales de grande taille, ainsi que des cellules de Martinotti et de petites cellules étoilées. C'est également une couche envoyant des connexion efférentes mais qui sortent du cortex.

-La couche polymorphe (couche VI), au sein de laquelle on distingue un mélange de cellules de petite taille, telles que les cellules étoilées, pyramidales, et de Martinotti. Elle constitue la couche la plus interne à l'état adulte. Elle envoie des prolongements axonaux en direction du thalamus permettant une rétroaction sur les entrées du cortex cérébral.

Au cours du développement des structures stratifiées, les neurones doivent migrer selon un trajet prédéterminé, de leur site d'origine à leur position définitive, car ils sont généralement générés dans des sites éloignés de leur destination finale.

L'échec de la migration conduit à des défauts de formation de la couche corticale dans plusieurs maladies humaines ou souris mutantes. Toutefois, les mutations des gènes qui sont la cause principale des dysplasies\* corticales sévères chez les humains et les souris, ont fourni aux chercheurs des pistes servant à la compréhension de la voie moléculaire qui contrôle la migration neuronale et la formation de la couche corticale.

\*Une dysplasie est une malformation ou déformation résultant d'une anomalie du développement d'un tissu ou d'un organe, survenant au cours de la période embryonnaire ou après la naissance.

## **-Formation du néocortex**

Le cortex cérébral des mammifères se forme en deux étapes distinctes au stade embryonnaire (fig. 4) (Bayer et al., 1991; Hatten, 1999; Marín-Padilla, 1998).

-La première étape du développement néocortical est la formation de la préplaque (ou couche primordiale plexiforme). La préplaque est située près de la pie-mère, à la surface de la zone ventriculaire (Marin-Padilla, 1978; Wood et al., 1992; Sheppard et Pearlman, 1997). Elle est composée par les premiers neurones post-mitotiques engendrés au sein des zones. Ces cellules vont ensuite migrer le long des fibres gliales radiaires, jusqu'à la surface méningée entre le 10<sup>ème</sup> et 12<sup>ème</sup> jours embryonnaires (E10, E12).

-Dans la seconde étape, les neurones de la plaque corticale sont générés dans la zone ventriculaire et envahissent la préplaque transformant ainsi cette structure en une zone marginale superficielle, dans laquelle les cellules de Cajal-Retzius se disposent à la surface de la pie-mère, et une zone plus profonde, la sous plaque (Fig. 4).

Par la suite, les neurones générés dans la zone ventriculaire, migrent radialement, passent la zone intermédiaire qui est constituée d'axones en formation, puis se dirigent au delà de la sous plaque et des neurones de la plaque corticale générés antérieurement.

La migration systématique des derniers neurones formés au delà de la position de leur prédécesseurs, selon un gradient intéro-externe de migration (mode "inside-out") est responsable de la stratification corticale dans laquelle les neurones de la plaque corticale produits dernièrement, sont situés à des positions plus superficielles que les neurones formés plus précocement.

C'est par ces processus que la structure en six couches est obtenue chez les mammifères (Allendoerfer et Shatz, 1994; Marín-Padilla, 1998).

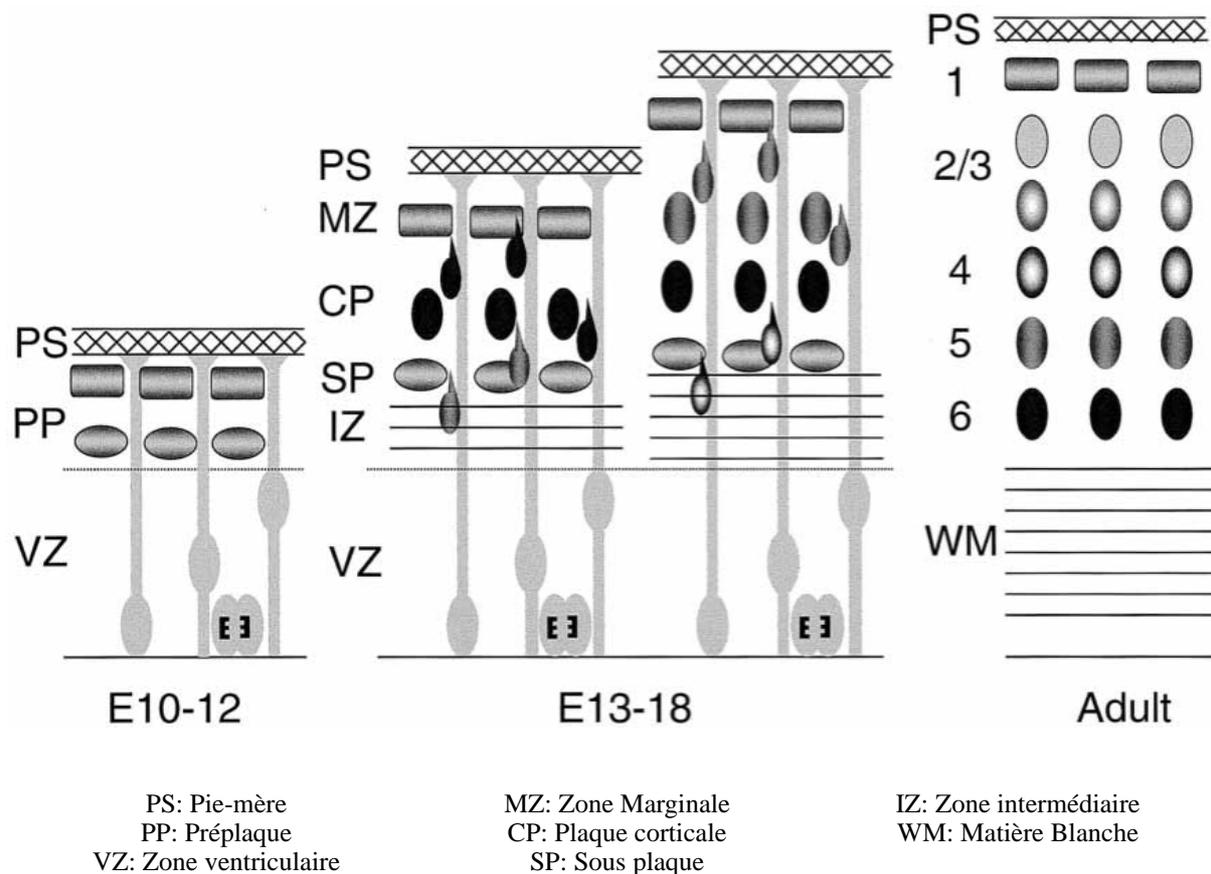


Figure 6: Formation des plaques corticales (Kubo et al., 2003)

Il existe deux modes distincts de migration radiale (fig.7):

-la locomotion,

-la translocation somale.

-Les cellules se déplaçant grâce à la locomotion, migrent le long des prolongements des cellules gliales radiaires qui traversent toute l'épaisseur de la paroi cérébrale en développement.

Ces cellules gliales radiaires jouent un rôle clé dans le développement neuronal en constituant un support dans la migration des neurones. De plus, elles proviennent du même précurseur neuroépithélial que les neuroblastes (Anthony et al., 2004). Les prolongements cytoplasmiques s'étendent en prenant la forme de piliers de Corti qui servent de guide aux neuroblastes au cours de leur migration.

Les neurones migrant par ce mode, ont la caractéristique d'avoir une morphologie bipolaire, en possédant un processus épais, et un processus plus mince.

-Dans la translocation somale, la cellule possède un processus prépondérant qui s'attache à la pie-mère. Le corps cellulaire se déplace vers le bord principal, ce qui entraîne le raccourcissement du processus principal, bien que sa terminaison reste attachée à la pie-mère (Tamamaki et al., 2001).

Une étude de la migration radiale des neurones néocorticaux a révélé que chaque mode de migration a une dynamique distincte, et survient préférentiellement à un niveau de développement différent (Nadarajah et al., 2001). Aux 12<sup>ème</sup> et 13<sup>ème</sup> jours embryonnaires (E12-13) chez la souris, les neurones utilisent la translocation somale pour scinder la préplaque, tandis qu'aux 15<sup>ème</sup> et 16<sup>ème</sup> jours (E15-16), la locomotion prédomine.

Alors que la translocation somale se réalise en mouvement continu et n'a pas besoin des prolongements des cellules gliales radiales, la locomotion est entre-coupée de pauses, et dépend de ces prolongements.

Des analyses histologiques ont montré l'existence de cellules multipolaires dans la zone intermédiaire, qui ne pouvait être expliquée simplement par la locomotion ou la translocation somale (morphologie bipolaire ou monopolaire ). Ceci est expliqué par le fait que les neurones changent dynamiquement leur morphologie et leur mode de migration pendant leur trajet vers la surface piale (Tabata et al. 2001 et 2002).

Ainsi, chaque neurone migre selon plusieurs modes, en fonction de la phase de migration et du stade de développement. L'existence de divers modes de migration est importante, car les gènes responsables des défauts de formation du néocortex pourraient être impliqués dans des modes distincts.

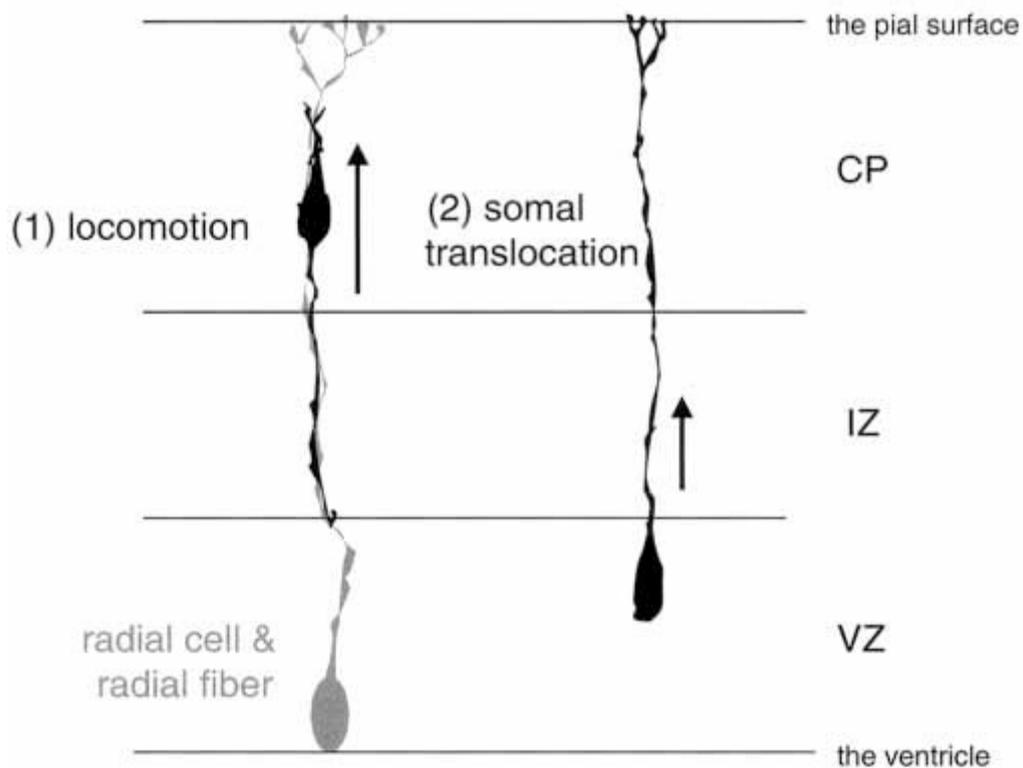


Figure 7: Migration de neurones lors de la formation des plaques corticales, (Kubo et al. 2003).

Hartfuss et al. (2003) ont suggéré que la réeline régule les protéines des fibres radiales dans l'hippocampe. Les anomalies morphologiques de la souris *reeler* suggèrent une fonction complexe possible du signal réeline, qui est impliqué non seulement dans la détermination de la position finale des neurones lors de leur migration, mais aussi dans la ségrégation neuronale et le développement de la glie radiale. Il est probable que la fonction du signal réeline soit dépendante du contexte, et une explication possible à cela, est qu'il s'agit d'une interaction entre le signal réeline et d'autres signaux. En fait, la migration neuronale est contrôlée par une combinaison de plusieurs mécanismes de signalisation.

### **-Formation du néocortex de la souris *reeler***

Le schéma classique de lamination dans le cortex cérébral est perturbé chez les souris *reeler*, et semble présenter une inversion des couches corticales (Rakic et Caviness, 1995). La position ectopique des neurones corticaux est une conséquence de l'échec de la migration cellulaire. En effet, lors de leur migration nous avons vu que les cellules générées en dernier

doivent migrer au delà des neurones formés antérieurement. Or, chez ces mutants, les précurseurs neuronaux destinés à la plaque corticale ne parviennent pas à scinder la préplaque, entraînant un échec de la migration des cellules lors de leur contournement des cellules générées plus précocement (Caviness, 1982; Hoffarth et al., 1995; Ogawa et al., 1995; Sheppard et Pearlman, 1997).

De même, le regroupement de neurones observés chez la souris normale est moins évident chez la souris *reeler*, et des zones acellulaires dénommées Zones intermédiaires plexiformes (IPZ), apparaissent dans la plaque corticale. Ces zones contiennent des fibres innervant les neurones de la sous plaque ectopique et de la plaque corticale. (Yuasa et al., 1994; Sheppard et Pearlman, 1997).

-Au niveau embryologique, une faible expression de réeline est détectée à partir de E9.5, avec une expression un peu plus forte dans les parties rostrale et caudale du neuroépithélium du télencéphale, qui est composé de cellules souches neuronales (Ikeda et Terashima 1997b; Baba et al. 2006), mais l'importance de l'expression de la réeline à ce stade embryonnaire précoce est encore à définir.

-À E12.5 et E14.5, l'expression de réeline par les cellules Cajal-Retzius est détectée juste sous la surface piaie du cortex cérébral correspondant à la future couche I (Ikeda et Terashima, 1997b; Alcantara et al. 1998). Les cellules de Cajal-Retzius sont nées dans des régions spécifiques du télencéphale, telles que l'ourlet cortical, le septum, la frontière pallial-subpallial, et migrent tangentiellement pour couvrir l'ensemble du pallium dorsal (Meyer et al. 2004; Bielle et al. 2005; García-Moreno et al. 2007).

Caviness (1982) a effectué une expérience de marquage en utilisant de la thymidine tritiée, et a montré que les neurones nés précocement et ceux nés plus tardivement au niveau du cortex de la souris *reeler*, occupent respectivement les couches supérieures et plus profondes. Ainsi, le modèle de lamination est inversé en terme de date de formation des groupes de neurones. Bien que la thymidine tritiée marque les cohortes de neurones qui sont nés à la même date embryonnaire, ceux-ci peuvent avoir des fonctions et des connectivités neuronales différentes. Ainsi, l'expérience de marquage ne dit pas si l'organisation cytoarchitecturale du cortex cérébral est inversée chez la souris *reeler*.

Les neurones de la couche V peuvent être marqués par l'injection de traceurs neuronaux rétrogrades tels que la HRP dans la moelle épinière. Il a ainsi été observé que dans le cortex cérébral de *reeler*, les neurones marqués par l'activité enzymatique de la HRP sont dispersés uniformément tout au long de son axe radial (Inoue et al. 1991; Ikeda et Terashima, 1997a; Yamamoto et al. 2003).

La caractérisation du cortex cérébral de la souris *reeler* par des marqueurs a également rapporté que:

-Fez1 est exprimé dans la couche V de manière spécifique chez la souris normale (Inoue et al. 2004). Les souris mutantes nulles pour ce gène perdent des neurones moteurs corticospinaux dans la couche V, suggérant que Fez1 est un gène clé pour la projection neuronale de la couche V (Molyneaux et al. 2005). Dans le cortex cérébral de *reeler*, les neurones exprimant Fez1 sont éparpillés à travers l'axe radial du cortex (Inoue et al. 2004). Ainsi, ni les expériences de traçage neuronale des neurones de la couche V, ni les expressions des marqueurs spécifiques à certaines couches ne montrent le schéma inversé de lamination dans le cortex cérébral de la souris *reeler*,

-Cux2, exprimé spécifiquement dans les couches II et III du néocortex cérébral de souris normale, est exprimé uniformément tout le long de l'axe radial du néocortex cérébral de *reeler* (Ferrere et al. 2006), en ne présentant aucun modèle de lamination inversée. D'autre part, l'expression de Cux1, qui est normalement exprimé de façon similaire à Cux2, a été observée dans la partie profonde du cortex de *reeler* (Ferrere et al. 2006).

De récentes études ont réexaminé l'expérience de marquage du cortex de *reeler*, et les résultats n'étaient pas semblables à ceux rapportés par Caviness (1982) (Dekimoto et al., 2010). Ainsi, nous ne pouvons actuellement pas donner de conclusion sur l'inversion possible des couches corticales chez la souris *reeler*.

Les frontières de la plaque corticale sont moins distinctes, suggérant que la topographie des cellules était déjà anormale à E16,5. La formation initiale de la préplaque continue cependant normalement. La position superficielle des neurones de la sous plaque résulte de l'échec de la migration des cellules corticales à envahir la préplaque. Ainsi, la préplaque n'est plus divisée en deux couches, l'une contenant des neurones de Cajal-Retzius et l'autre contenant les

neurones de la sous plaque au cours des étapes initiales de l'organisation laminaire. Au lieu de cela, dans le cortex de *reeler* la majorité des cellules de la sous-plaque se trouvent au dessus de la plaque corticale avec les cellules de Cajal-Retzius dans une structure connue sous le nom de super plaque (superplate) (Caviness, 1982; Hoffarth et al., 1995; Ogawa et al., 1995; Sheppard et Pearlman, 1997).

Par conséquent, les cohortes de neurones générés sont incapables de migrer au delà de leurs prédécesseurs, ce qui entraîne un «hors-in» dans le modèle de développement (Caviness et al., 1982). Par conséquent, une plaque corticale désorganisée est formée sous la super-plaque, avec une schistosité indistincte et presque inversée.

Ainsi, bien que toutes les grandes catégories de cellules neuronales soient présentes, et que les neurones générés commencent leur migration dans les délais, ceux-ci n'arrivent pas à former la morphologie normale en couches et noyaux dans les régions cérébrales majeures.

Dans le cortex de la souris *reeler*, les directions des axones et des dendrites apicales des neurones pyramidaux présentent des angles variables (Terashima et al., 1983, 1985a). Pinto-Lord et Caviness (1979) émettent l'hypothèse que la croissance des dendrites apicales des cellules pyramidales provient des couches riches en axones. Sur la base de cette hypothèse, si les somas des neurones pyramidaux sont situés au-dessus de la couche riche en axones, leurs dendrites apicales adoptent une direction vers le bas, et il en résulte la génération des neurones pyramidaux inversés.

Des observations similaires ont été faites dans l'hippocampe et le colliculus supérieur; elles ont suggéré que l'organisation des circuits neuronaux majeurs et leurs fonctions dans le cerveau de la souris *reeler* sont comparables à celles observées dans les cerveaux normaux (Drager, 1981; Lemmon et Pearlman, 1981; Silva et al., 1991).

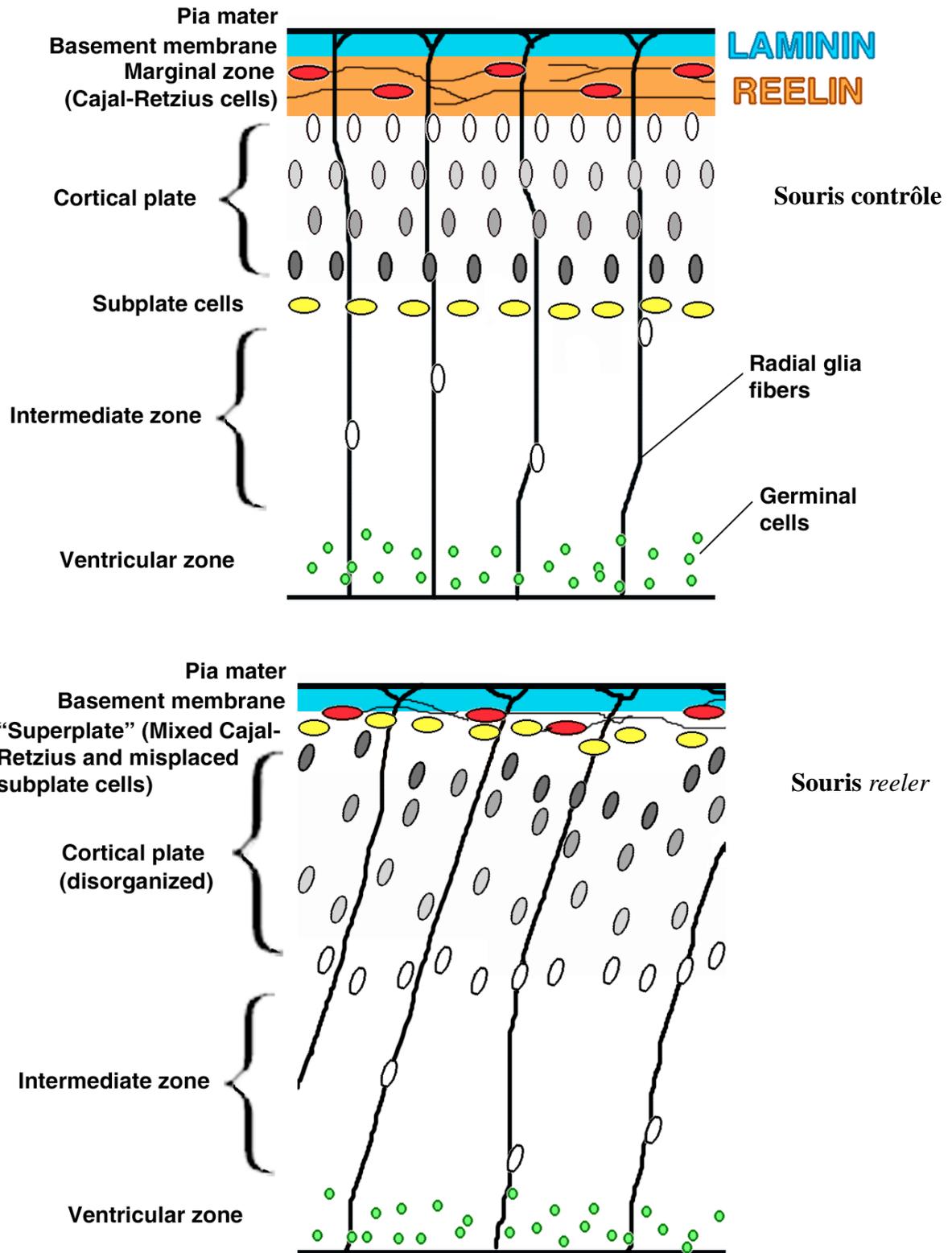


Figure 8: Représentation schématique de l'organisation corticale chez la souris contrôle et la souris *reeler* (Copper, 2006).

### **1.4.1.Régions affectées du système nerveux central des souris *reeler***

Après avoir défini la voie de signalisation de la réeline, et étudié la désorganisation tissulaire au niveau du néocortex, nous allons résumer les altérations morphologiques du système nerveux central de la souris *reeler* décrites dans la littérature car elle possède des caractéristiques phénotypiques communes à la souris *scrambler*, découlant d'anomalies touchant la même voie de signalisation.

Le système nerveux central est composé de:

- l'encéphale, situé à l'intérieur de la boîte crânienne, et qui est composé par:

- le cerveau antérieur (prosencephale), lui même divisé en télencéphale et diencéphale;

- le tronc cérébral divisé en mésencéphale, pont et bulbe rachidien;

- le cervelet.

- la moelle épinière (Duus, 1998).

#### **1.4.1.1.La moelle épinière**

Chez la souris *reeler*, plusieurs structures de la moelle épinière sont altérées:

##### **-Neurones moteurs autonomes**

La réeline est fortement exprimée dans la moelle épinière en développement (Ikeda et Terashima, 1997b; Schiffman et al., 1997), plus particulièrement dans l'aire ventro-latérale de la moelle épinière (Yip et al., 2004).

Sa fonction dans la moelle épinière est importante dans la migration des neurones moteurs autonomes (AMNs), qu'ils soient sympathiques (SPNs) ou parasympathiques (PPNs).

L'expression de *Dab1* par les AMNs indique leur capacité de réponse à la réeline qui est sécrétée par les cellules environnantes (Phelps et al., 2002; Yip et al., 2004). Les AMNs naissent au niveau du neuroépithélium, et migrent vers la moelle épinière ventro-latérale au jour embryonnaire E11.5. Après cette première migration, les AMNs changent la direction de

leur migration dorsale à partir de la colonne intermédiolatérale à E14.5 et adoptent au final une situation plus médiane en direction du canal central (Yip et al., 2000, 2003; Katsuyama et al., 2009).

### **-La corne dorsale et la voie nociceptive**

La moitié dorsale de la moelle épinière embryonnaire ne présente pas d'expression significative de réeline jusqu'au jour E12.5 (Kubasak et al., 2004; Yip et al., 2004). Elle ne se développera en situation dorsale qu'à partir de cette période (Villeda et al., 2006).

Dans la corne dorsale thoracique à E14.5, une expression de réeline a été observée à partir de la zone marginale (couche I et II) (Kubasak et al., 2004; Villeda et al., 2006), tandis que la zone plus profonde ne présente pas d'expression de réeline, excepté une expression sporadique par un petit nombre de neurones de grande taille possédant de longs dendrites, dont l'identité n'est pas connue (Kubasak et al., 2004).

Les zones superficielles de la corne dorsale de la moelle épinière chez les mammifères ont une structure laminée et reçoivent des informations nociceptives en provenance de nocicepteurs de la peau. Or, la souris *reeler* présente une hyperalgésie thermique et une diminution de la sensibilité tactile (Villeda et al., 2006) en rapport avec une organisation neuronale aberrante dans les couches I, II et IV de Rexed\* et la réduction du noyau spinal latéral (Villeda et al., 2006).

Parallèlement, Dab1 est fortement exprimé dans les neurones ectopiques des lames Rexed I-II et V et le noyau spinal latéral de la souris *reeler*, suggérant que le signal réeline/Dab1 est essentiel au développement normal du système nociceptif dans la corne dorsale de la moelle épinière (Akopians et al., 2008).

\*Les lames Rexed sont constituées d'un système de dix couches de matière grise.

### **1.4.1.2. Le rhombencéphale**

Le rhombencéphale se divise en deux portions au cours du développement embryonnaire:

- le bulbe rachidien (myélocéphale, médulla oblongata, ou moelle allongée);
- le métencéphale qui donnera naissance au pont et au cervelet.

Le rhombencéphale est organisé en huit «rhombomères», qui correspondent à des segments peu marqués morphologiquement, mais bien individualisés sur le plan de l'expression génique. On numérote les rhombomères en séquence rostro-caudale, de r1 à r8:

- r1 correspond à l'isthme, et le cervelet dérive de sa partie dorsale;
- r2-r5 correspondent au métencéphale;
- r6-r8 au bulbe.

#### **-Les neurones efférents du rhombencéphale**

Des études ont démontré que la réeline est exprimée au niveau du rhombomère 4 à partir de E11.5, c'est-à-dire à une période bien antérieure à la migration des neurones. Ce fait suggère que la fonction de la réeline est impliquée non seulement dans la migration neuronale, mais aussi dans certaines modifications biochimiques des cellules souches neuronales (Baba et al., 2006).

Les motoneurones orofaciaux ou branchiogéniques (motoneurones du noyau ambigu, facial et du moteur du trijumeau) sont connus pour migrer de leur lieu d'origine à leur implantation finale dans la zone ventro-laterale du rhombencéphale, et ces neurones sont distribués de façon ectopique chez la souris *reeler* (Ohshima et al., 2002; Setsu et al., 2001; Hirasugi et al., 2007).

Comme dans le cas des motoneurones faciaux, les motoneurones du trijumeau innervant les muscles masticateurs migrent à partir du plancher du quatrième ventricule en direction ventro-latérale et s'installent dans la division latérale de la protubérance, médialement au noyau sensoriel principal du trijumeau (Pr5). Le marquage rétrograde des motoneurones du trijumeau avec l'injection de horseradish peroxidase (HRP) dans les muscles masticateurs

montre que l'arrangement musculotopique dans le noyau moteur du trijumeau est normalement préservé (Terashima et al. 1994). Toutefois, des analyses détaillées révèlent que les motoneurones du trijumeau innervant les muscles d'ouverture de la mâchoire (muscle digastrique antérieur et muscle mylohyoïdien) sont légèrement déplacés, alors que ceux innervant les muscles de fermeture de la mâchoire (muscle temporal et muscle masséter) sont normalement distribués. La malposition des motoneurones responsables de l'ouverture de la mâchoire semble être dûe à un processus anormal à un stade avancé de la migration (Goffinet 1984; Terashima et al. 1993). Nomura et Mizuno (1983) ont montré que les axones des motoneurones de l'ouverture de la mâchoire font un petit genou dans la région tegmentale pontique dorso-médiane, près de la ligne médiane avant de quitter le pont, tandis que les axones des motoneurones de fermeture de la mâchoire passent ventro-latéralement en ligne droite pour quitter le pont.

La formation du genou reflète le déroulement de la migration, et donne un indice quant aux raisons pour lesquelles les motoneurones d'ouverture de la mâchoire, sont plus sévèrement disloqués par rapport à ceux de la fermeture de la mâchoire chez la souris *reeler*.

L'expression du marqueur moléculaire *islet1* (Bruce et al., 1997; Rossel et al., 2005) dans le rhombomère 4 à E12.5, a montré que la localisation dorsale des noyaux efférents vestibulaires n'est pas affecté chez la souris *reeler*, alors que les neurones afférents olivocochléaires, qui se localisent normalement près de la surface piaie ventrale, restent proche des neurones efférents vestibulaires (Rossel et al. 2005). Au cours du développement normal du cerveau, ces neurones sont nés dans la zone ventriculaire, mélangés les uns aux autres et commencent la migration latéralement, mais seuls les neurones olivocochléaires migrent ventralement. Ainsi, l'expression des marqueurs suggère que la réeline est essentielle pour la migration ventrale des neurones olivocochléaires (Rossel et al. 2005).

Dans le rhombomère 5 du cerveau normal, les motoneurones faciaux viscéraux et de petites populations de neurones olivocochléaires migrent latéralement à partir de la zone ventriculaire, puis changent la direction de leur migration et se dirigent ventralement. Chez la souris *reeler*, ces neurones stoppent leur migration au niveau du point de changement de direction.

Collectivement, les neurones du rhombencéphale réalisent trois types de migration distincts, qui sont:

- la migration primaire le long de l'axe rostro-caudal,
- la migration dorso-latérale,
- la migration ventrale.

Les deux premières migrations sont indépendantes de la réeline, tandis que la troisième est dépendante de la réeline (Rossel et al. 2005).

De plus, il a été remarqué que les doubles mutants ApoER2/Vldlr n'exposent pas le même phénotype que la souris *reeler* au niveau de ces neurones du rhombencéphale, suggérant que le signal réeline dans la migration des neurones efférents olivocochléaires et des motoneurones faciaux viscéraux, utilise d'autres molécules réceptrices pour leur migration le long des prolongements des cellules gliales radiaires (Rossel et al. 2005).

### **-Noyau olivaire inférieur**

Les neurones qui composent le noyau olivaire inférieur proviennent du bord rhombique du rhombomère caudal (Cambroner et Puelles 2000), et s'installent dans la partie médio-ventrale du rhombencéphale à E14. Ces neurones olivaires en migration expriment Dab1 (Lambert de Rouvroit et Goffinet, 1998).

Les neurones olivaires inférieurs sont séparés, regroupés de façon dense, et forment une structure repliée. Toutefois, cette morphologie unique du noyau olivaire inférieur n'est pas observée dans le rhombencéphale de la souris *reeler* (Goffinet, 1983; Dekimoto et al., 2010).

Les représentations topographiques des projections olivo-cérébelleuses chez les souris contrôle et *reeler* sont similaires, en dépit de la désorganisation du cervelet et de l'olive inférieure de la souris *reeler* (Blatt et Eisenman, 1988), suggérant que le cadre axonal est encore préservé dans ces deux structures.

## **-Noyau cochléaire dorsal**

Le noyau cochléaire dorsal (DCN) se développe dans une région à la partie dorsale du rhombencéphale. C'est le centre segmentaire auditif, il présente une architecture similaire à celle du cervelet.

En fait, le DCN est caractérisé par une structure stratifiée chez la souris contrôle, composée de 4 couches:

-Couche I ou couche moléculaire. Elle contient très peu de cellules,

-Couche II contient des cellules fusiformes et géantes qui sont les principales cellules du DCN, et forment une ligne entre couche I et II,

-Couche III contient un grand nombre de cellules granulaires,

-Couche IV constitue la frontière entre le DCN et le noyau cochléaire postéro-ventral.

Au cours du développement du DCN, la réeline est exprimée dans les cellules granulaires (Takaoka et al. 2005). Chez la souris *reeler*, la couche moléculaire s'amincit et une invasion de neurones dans cette couche a été observée. La densité des neurones est devenue plus faible, et les neurones des couches II et III sont confondus. De plus, les cellules géantes sont dispersées dans tout le noyau (Takaoka et al. 2005).

## **-Noyaux pontiques**

Les noyaux pontiques sont situés dans le pont basilaire autour des fibres longitudinales de la protubérance annulaire, et s'étendent du corps trapézoïde au noyau inter-pédonculaire chez les souris normale et *reeler* (Tanaka et al. 2007).

La taille de ces noyaux est très réduite chez la souris *reeler* et les neurones ont tendance à être décalés ventro-latéralement (Tanaka et al. 2007). Étant donné que les neurones des noyaux du pont naissent au niveau du bord rhombique, et migrent pour s'installer au niveau basal du pont, nous pouvons conclure qu'une fraction importante des neurones des noyaux pontiques chez la souris *reeler* s'arrête à la moitié de leur chemin de migration. Ainsi, au niveau de ces noyaux, la réeline sert à guider la migration des neurones (Ikeda et Terashima 1997b; Schiffman et al. 1997).

## **-Noyau facial**

Le noyau du nerf facial est divisé en 7 sous-noyaux, 6 sont situés dans le noyau principal, et le noyau facial accessoire est situé en dorsal de la partie rostrale du noyau principal.

Ces 7 sous-noyaux sont présents chez la souris *reeler* mais sont plus internes et leurs limites sont moins nettes.

Une étude a été réalisée afin de démontrer l'organisation musculotopique du noyau facial de la souris *reeler* grâce à la peroxydase de radis noir ou horseradish peroxidase (HRP) (Terashima et al., 1993).

Dans chaque cas les motoneurones marqués par HRP sont situés homolatéralement à l'injection. Les motoneurones sont de larges neurones multipolaires de type isodendritique, mais on ne peut pas faire de groupement ou distinguer les motoneurones en fonction du muscle qu'ils innervent. Ils paraissent tous semblables. Malgré cela, deux observations ont été faites concernant l'architecture du noyau moteur du nerf facial:

- premièrement, la disposition antéro-postérieure des muscles faciaux se retrouve dans une disposition latéro-médiale au niveau des motoneurones au sein du noyau,

- deuxièmement, le chef postérieur du digastrique est uniquement localisé dans le noyau facial accessoire (Terashima et al., 1993).

Prenons comme exemple le muscle naso-labial, qui est composé du muscle élévateur de la lèvre supérieure et du muscle dilatateur des narines. On retrouve ses motoneurones dans les sous-noyaux latéral et dorso-latéral chez les souris contrôle et *reeler*. Toutefois, on ne trouve pas de motoneurones marqués dans la partie la plus rostrale chez la souris contrôle, tandis que c'est dans la partie la plus caudale qu'on ne retrouve pas de cellules marquées chez la souris *reeler*.

Chez les deux souris, le muscle naso-labial représente une grande partie du noyau facial et il n'y a pas de grande différence dans la disposition des motoneurones, à la nuance près que, chez la souris *reeler*, les motoneurones se situent plus en interne et se répartissent de manière plus diffuse que chez la souris normale.

Ainsi, la représentation musculotopique est conservée chez la souris *reeler*, cependant, des différences existent et se font en deux points:

- les noyaux se trouvent plus en interne chez la *reeler*,
- les noyaux sont mal limités chez la *reeler* (Terashima et al., 1993).

### **-Le noyau ambigu**

Les motoneurones branchiogéniques localisés dans les noyaux moteurs trigéminal, facial et ambigu qui innervent les muscles striés du système orofacial, migrent de leur lieu d'origine, vers un lieu situé plus latéralement dans le rhombencéphale (Auclair, 1996).

Une étude portant sur la disposition des motoneurones au sein du noyau ambigu (NA) chez la souris *reeler* a été effectuée en injectant un adénovirus recombinant contenant le gène *E. coli-galactosidase (lacZ)* dans la portion abdominale de l'œsophage chez la souris *reeler* ainsi que chez la souris normale afin de déterminer d'éventuelles malpositions des motoneurones au sein du NA. Cette technique a permis de marquer de manière rétrograde un groupe de motoneurones compact au sein du NA (Barrett et al, 1994; Bieger et al, 1987; Hayakawa et al, 1996; Lee et al, 1992) et de déterminer une comparaison simple de la localisation topographique des motoneurones chez les deux populations de souris.

Chez la souris normale, ce marquage rétrograde permet la coloration d'une colonne cellulaire au niveau ventro-latéral de la moelle allongée, dénommée la formation compacte du NA. Les neurones marqués sont localisés au niveau le plus caudal du noyau facial et s'étendent jusqu'au niveau de l'obex.

La plupart de ces motoneurones sont multipolaires, d'une dimension approximative de 25x15µm.

Les axones partant de ces motoneurones ont un trajet dorso-médian vers la région sub-épendymale, proche de la ligne médiane, puis forment un coude pour continuer leur trajet en direction ventro-médiale avant de quitter le tronc cérébral.

Toutes les autres régions du cerveau sont dépourvues de marqueur.

Chez la souris *reeler*, les mêmes injections montrent que les motoneurones sont largement dispersés le long d'une courbe s'étendant entre la partie ventro-latérale de la moelle allongée (site correspondant aux motoneurones normo-positionnés) et la base du quatrième ventricule.

Cette courbure, au long de laquelle les motoneurones sont dispersés, semble représenter le trajet de migration de ces derniers lors de l'embryogénèse.

Les dendrites des neurones mal-positionnés partent dorso-médialement et ventro-latéralement dans la formation réticulée adjacente tandis que les neurones ayant atteint leur site de migration conservent une arborisation dendritique semblable à celle de la souris normale.

Les axones des motoneurones mal-positionnés forment des crochets proches de leur soma cellulaire ou se recourbent à 360°, tandis que les axones des motoneurones en position normale présentent des parcours axoniques semblables aux souris contrôle (Fujimoto et al., 1998).

### **-Le cervelet**

Le cervelet des souris contrôle est une structure stratifiée dans sa partie externe, et composée de noyaux cérébelleux entourés de substance blanche dans sa partie profonde.

Le cortex est formé de trois couches:

- la couche moléculaire,
- la couche des cellules de Purkinje,
- la couche des cellules à grains.

Dans le cervelet de la souris *reeler*, l'épaisseur de la couche moléculaire est irrégulière. Normalement, les cellules de Purkinje forment une couche cellulaire simple entre la couche moléculaire et la couche des cellules granulaires. Chez la souris *reeler*, 5% des cellules de Purkinje ont été observées entre les couches moléculaires et granulaires, 10% étaient dans la couche granulaire, et les autres ectopiques, localisées en profondeur où elles forment des amas cellulaires centraux entremêlés avec la matière blanche (Yuasa et al., 1993).

Les cellules granulaires de la souris *reeler* sont disposés sous la couche moléculaire, mais leur densité est inférieure à la normale (Dekimoto et al., 2010).

Dans le cervelet normal, les corps cellulaires des cellules de Bergmann sont localisés dans la couche des cellules de Purkinje et envoient des fibres radialement vers la surface piaie à travers la couche moléculaire. Chez la souris *reeler*, les cellules gliales de Bergmann sont localisées de façon ectopique, et leurs fibres descendent parfois en direction inverse (Terashima et al., 1985b).

De plus, seules quelques encoches superficielles sont observées; celles-ci sont probablement les restes de la foliation. La réduction de la prolifération des cellules granulaires se doit en grande partie à une atrophie du cervelet.

Dans le cervelet de chimère mutant normal-*reeler*, où une transplantation de cellules granulaires normales a été effectuée dans le cervelet de la souris *reeler*, les cellules de Purkinje mutantes peuvent former une couche unicellulaire (Terashima et al., 1986; Miyata et al., 1997), suggérant que le signal réeline induit la formation de la monocouche de cellules de Purkinje.

Étant donné que la protéine Sonic Hedgehog est sécrétée par les cellules de Purkinje et a un rôle mitogène pour les cellules granulaires (Wallace, 1999; Wechsler-Reya et Scott, 1999), il est probable que la localisation ectopique des cellules de Purkinje au cours du développement cérébelleux ait un effet indirect sur la prolifération des cellules granulaires (D'Arcangelo et Curran, 1998), impliquant une diminution du nombre de ces cellules.

Nagata et Terashima (1994) ont observé la réduction des progéniteurs des cellules granulaires, et la diminution de leur migration, suggérant des effets possibles directs de la réeline sur la prolifération et la migration des progéniteurs des cellules granulaires.

Dans le cervelet des embryons de souris, la réeline est exprimée dans la couche granulaire externe, tandis que la couche granulaire interne n'exprime la réeline qu'après la naissance (Miyata et al., 1996; Schiffmann et al., 1997). De plus, les cellules granulaires expriment la réeline en permanence dans le cerveau adulte, mais les cellules de Purkinje ne l'expriment jamais (Ikeda et Terashima, 1997b; Schiffmann et al., 1997).

### 1.4.1.3. Le mésencéphale

Dans le mésencéphale de la souris *reeler*, des anomalies cytoarchitecturales ont été signalées au niveau du colliculus supérieur (CS), du noyau trigéminal mésencéphalique, et de la substance noire.

#### -Le colliculus supérieur

Le colliculus supérieur (CS) du cerveau de souris est une structure stratifiée à l'horizontal composée de sept couches avec des fonctions cytoarchitecturales définies (Sefton et Dreher, 1995).

En effet, le colliculus supérieur est une structure laminaire, composée de deux ensembles superposés: les trois couches supérieures, essentiellement visuelles recevant des afférences directes de la rétine et du cortex occipital, doivent être distinguées des quatre couches profondes, de nature prémotrice, caractérisées par leurs systèmes de connexions afférentes et efférentes.

La réeline est fortement exprimée par les cellules fusiformes ou horizontales dans le tiers supérieur du CS (Baba et al., 2007).

De plus, la majorité de la zone occupée par le CS normal contient très peu de neurones, mais de nombreuses cellules ont été observées juste en dessous de la pie-mère chez la souris *reeler* (Sakakibara et al., 2003; Baba et al., 2007). Bien que les couches inférieures du CS de la souris *reeler* soient similaires à la normale, la démarcation entre les trois couches supérieures (la couche zonale, la couche grise superficielle, et la couche du nerf optique) n'est pas aussi nette et ce mélange des couches supérieures a été désigné "couche superficielle fusionnée".

Des tests immunohistochimiques utilisant des anticorps anti-MBP (Myelin Basic Protein) ont montré que les fibres myélinisées MBP-positives sont très peu nombreuses dans la couche zonale et la couche grise superficielle du CS des souris contrôle, alors qu'elles sont abondantes chez la souris *reeler* (Sakakibara et al., 2003; Baba et al., 2007).

Dans le CS normal, les axones ascendants atteignent en premier lieu la couche du nerf optique, et émettent des branches secondaires et tertiaires à l'intérieur de la couche du nerf optique et de la couche grise superficielle. Toutefois, au niveau du CS de la souris *reeler*, ce

schéma n'est pas observable, car les projections ne se limitent pas à une simple couche mais se dispersent en éventail reflétant l'imbrication des trois couches superficielles (Sakakibara et al., 2003; Baba et al., 2007).

Ainsi non seulement le modèle axonal est anormal, mais le positionnement des neurones l'est également (Sakakibara et al., 2003; Baba et al., 2007). Il est donc probable que les axones observés en situation aberrante sont secondaires à un mauvais positionnement neuronal dans les couches supérieures du CS.

### **-Le noyau trigéminal mésencéphalique**

Les neurones du noyau trigéminal mésencéphalique (Me5) innervent les fuseaux musculaires des muscles masticateurs et oculo-moteurs, ainsi que les mécano-récepteurs des ligaments parodontaux.

Ils constituent les neurones sensoriels primaires du système nerveux central, et sont issus de la crête neurale mésencéphalique embryologiquement (Stainier et Gilbert, 1991).

Les neurones du Me5 migrent du bourrelet neural mésencéphalique à leur emplacement définitif dans le mésencéphale. L'injection de traceurs rétrogrades dans les muscles masticateurs a révélé que ces neurones, dans le cerveau de la souris *reeler*, sont dispersés et forment une chaîne cellulaire tout le long de leur chemin de migration normal (Terashima, 1996). Les neurones Me5 migrent le long de leurs axones propres, et non selon les prolongements des cellules gliales radiaires (Stainier et Gilbert, 1991). Puisque aucune donnée montrant les mécanismes de la migration des neurones du Me5 n'est disponible à l'heure actuelle, des études complémentaires sont attendues pour élucider la raison pour laquelle la migration de neurones Me5 est affectée chez la souris *reeler*.

### **-La substance noire**

Chez la souris contrôle, au stade mi-embryonnaire, la réeline est fortement concentrée dans la zone ventrale du mésencéphale, où les neurones dopaminergiques noirs sont en cours de migration vers leur position dans le cerveau adulte.

Chez les souris mutantes *reeler*, les neurones dopaminergiques de la substance noire échouent lors de leur migration latérale, et restent anormalement groupés juste latéralement à la partie ventrale tegmentale (Nishikawa et al., 2003), bien que leurs axones se projettent normalement sur les îlots dopaminergiques dans le striatum.

#### **1.4.1.4.Le prosencéphale**

##### **-L'hippocampe**

La zone marginale de la région présomptive de l'hippocampe au niveau du prosencéphale à E12 exprime fortement la réeline (Ikeda et Terashima, 1997b). Cette région va par la suite s'invaginer pour devenir la formation hippocampique, et durant tout ce laps de temps la réeline y est exprimée en permanence (Alcantara et al., 1998). La forte expression de réeline entre l'hippocampe proprement dit (la corne d'Ammon) et le gyrus denté persiste à l'état embryonnaire tardivement (E17), et les cellules exprimant la réeline dans l'hippocampe en développement sont appelées cellules de Cajal-Retzius-like (Del Rio et al., 1997; Schiffmann et al., 1997; Alcantara et al., 1998). Chez La Souris *Reeler*, la couche des neurones pyramidaux de l'hippocampe est divisée en deux couches, et les cellules granulaires du gyrus denté sont dispersées. Les prolongements des cellules gliales radiaires, présumés être importants pour la migration neuronale, n'ont pas été observés dans l'hippocampe de la souris *reeler* (Weiss et al., 2003), suggérant que la réeline est impliquée dans la différenciation lors de la morphogénèse des cellules gliales radiaires. Soutenant cette possibilité, Hartfuss et al. (2003) ont rapporté une régulation directe des protéines d'expression des cellules gliales radiaires par la réeline.

La voie perforante est la voie afférente majeure de la formation hippocampique en provenance de cortex entorhinal; elle traverse la fissure hippocampique pour se terminer au niveau de l'hippocampe et du gyrus denté (van Groen et al., 2003; Muraoka et al., 2007). Toutefois, elle ne parvient pas à traverser la fissure hippocampique chez la souris *reeler*, et prend la forme d'une courbe aberrante parallèle à la fissure pour arriver à ses neurones cibles (Woodhams et Terashima, 2000; Muraoka et al., 2007).

L'immunomarquage des protéines gliales fibrillaires (GFAP) a suggéré que l'augmentation de la gliose chez la souris *reeler* empêche la pénétration des axones provenant du cortex entorhinal à travers la fissure hippocampique (Woodhams et Terashima, 1999, 2000; Muraoka et al., 2007).

Dans le gyrus denté des souris *reeler* adultes, le nombre de neurones nouvellement générés est dramatiquement abaissé, tandis que les astrocytes GFAP-positifs augmentent, suggérant que l'équilibre entre la neurogénèse et la gliogénèse est réglementé par la réeline dans le cerveau adulte (Zhao et al., 2007).

### **-Le bulbe olfactif**

Dans le bulbe olfactif (BO) adulte, la réeline est très fortement exprimée par les cellules mitrales et les cellules touffues, mais faiblement par les cellules périglomérulaires (Pappas et al., 2003; Okuyama - Yamamoto et al., 2005).

Le bulbe olfactif est une région unique où le turn-over des contacts synaptiques persiste à l'âge adulte (Cummings et al., 1997), et il est possible que la protéine réeline joue un rôle dans la maintenance des connexions synaptiques entre les terminaisons nerveuses olfactives nouvellement générées, et les dendrites des cellules mitrales et touffues qui produisent de la réeline.

Le bulbe olfactif est constitué de plusieurs couches chez la souris contrôle (de l'extérieur vers l'intérieur):

- la couche des nerfs,
- la couche glomérulaire,
- la couche plexiforme externe,
- la couche des cellules mitrales,
- la couche plexiforme interne,
- la couche des cellules granulaires.

Chez la souris *reeler*, les glomérules olfactifs sont légèrement perturbés.

La réeline agirait comme signal de détachement lors de la migration des précurseurs d'interneurones dans le bulbe olfactif. Ces cellules qui empruntent un trajet de migration spécifique (RMS= rostral migratory stream) expriment Dab1 et ApoER2, mais pas réeline (Alcantara et al., 1998; Hack et al., 2002). Les cellules mitrales, riches en réeline, sont des cibles synaptiques pour les interneurones (cellules olfactive glomérulaire ) qui migrent de la zone sous-ventriculaire du cortex cérébral de l'adulte par l'intermédiaire du RMS. Ainsi, ce modèle d'expression suggère que les interneurones précurseurs du RMS reçoivent le signal réeline provenant du bulbe olfactif dans le cerveau adulte.

Chez la souris *reeler*, au niveau du point d'entrée de la RMS dans le BO, les précurseurs des interneurones sont en quantité plus importante que dans le type sauvage (Hack et al., 2002).

Dans la couche de cellules granulaires du BO de *reeler*, les neurites de ces cellules sont peu abondantes par rapport à la normale. Enfin, les cellules granulaires sont organisées irrégulièrement (Wyss et al., 1980). Ces observations suggèrent que le signal réeline est requis pour l'incorporation des précurseurs d'interneurones dans la couche de cellules granulaires et leur maturation morphologique dans le BO.

Une autre étude suggère que l'expression de la réeline dans le bulbe olfactif de l'adulte est réglementée par les apports olfactifs. En effet, suite à une lésion chimique de l'épithélium olfactif, l'expression de la réeline par les cellules mitrales a été légèrement réduite à 5 jours post-lésionnels, et complètement abolie à 20 jours post-lésionnels. Cette expression a été restaurée au niveau normal à 40 jours post-lésionnel (Okuyama-Yamamoto et al., 2005). Ce modèle d'expression temporelle coïncide avec le temps de dégénérescence et le temps de régénération des nerfs olfactifs.

### **-Les neurones à GnRH**

Les neurones produisant la GnRH (Gonadotropin Releasing Hormone) migrent depuis la plaque olfactive et se dispersent dans le prosencéphale du cerveau mature (Wray, 2001).

Ainsi, cette population neuronale ne forme pas de structure distincte spatialement.

Chez la souris *reeler*, un grand nombre de neurones à GnRH est observé dans le cortex cérébral, mais un très petit nombre atteint la région basale du prosencéphale (Cariboni et al.,

2005). Cette anomalie d'acheminement des neurones à GnRH chez la souris *reeler* est probablement causée par l'absence de signal répulsif provenant du bulbe olfactif. De plus, les neurones à GnRH migrent normalement chez les mutant *Dab1* et double mutant *ApoER2/Vldlr*, suggérant que les neurones à GnRH sont sous l'influence de la réeline par l'intermédiaire d'une voie de signalisation inconnue (Cariboni et al., 2005).

## 1.5.Organisation centrale de l'innervation de l'appareil manducateur

Avant d'étudier l'organisation des centres segmentaires des nerfs crâniens impliqués dans l'innervation de l'appareil manducateur, il nous a semblé nécessaire de présenter l'embryologie du tronc cérébral afin de mieux comprendre les défauts de migration des populations cellulaires dans la mutation.

### 1.5.1.Embryologie du tronc cérébral

Le tronc cérébral, en continuité rostrale avec la moelle épinière, est semblable à cette dernière en termes d'organisation. Il est composé:

- du bulbe rachidien (myélocéphale ou moelle allongée);
- du pont, qui dérive du métencéphale;
- du mésencéphale.

A l'origine, le tronc cérébral est organisé en lames fondamentales et alaires, de manière semblable à la moelle épinière (Moriss-Kay et al., 1987). Une organisation, en quatre lames, centrées autour d'une cavité ventriculaire (Fig. 9):

- deux lames ventrales dites fondamentales,
- deux lames dorsales dites alaires.

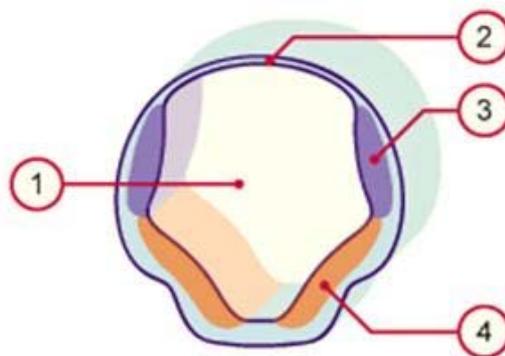


Figure 9: Différenciation précoce du tronc cérébral (Larsen, 1993)

Avec en n°1: le quatrième ventricule, n°2: la fine plaque du toit, n°3: la lame alaire et n°4: la lame fondamentale.

Les lames fondamentales contiennent les neurones moteurs tandis que les lames alaires contiennent les interneurons faisant synapse avec des fibres afférentes, et avec un motoneurone soit ipsilatéral soit controlatéral.

Au court du développement embryologique, des groupes de neurones entament une migration de leur site d'origine pour constituer un noyau possédant une morphologie spécifique à un autre endroit. Et c'est de par des migrations défectueuses que l'on observe des anomalies de formation au niveau des structures du tronc cérébral chez la souris *reeler*.

A l'origine, tous les types cellulaires du système nerveux central sont présents au sein du tronc cérébral, à l'exception des cellules de la microglie, et sont issus du neuro-épithélium bordant le canal neural.

Une première poussée de prolifération donne les neuroblastes qui vont migrer vers la périphérie, puis une seconde poussée donne les cellules gliales, parallèlement à une diminution de la production des neuroblastes. Ces glioblastes migrent également vers la périphérie.

L'épendyme est formé par la suite grâce à une modification de la couche neuro-épithéliale.

La zone du manteau est formée par un regroupement de neuroblastes autour du neuro-épithélium qui prend désormais le nom de zone ventriculaire. Cette zone produit des fibres qui constituent à leur tour la zone marginale, qui donnera plus tard la substance blanche par la présence future des gaines de myéline autour de ces fibres, synthétisées par les oligodendrocytes.

La différenciation du tube neural débute au niveau du rhombencéphale, région du tronc cérébral contenant la plupart des noyaux des nerfs crâniens.

### **1.5.1.1. La formation du rhombencéphale**

Le quatrième ventricule se crée par l'expansion dorsale des parois du rhombencéphale et possède un toit particulièrement mince. A l'origine, il prend le nom de canal neural rhombencéphalique et possède une forme losangique, son toit formé à partir de la lame alaire rhombencéphalique est appelé lèvre rhombique, à l'origine du cervelet (Ten Donkelaar et al., 2003).

La fine lame du toit est constituée d'une toile choroïdienne qui est constituée d'épendyme recouvert par un feuillet de la pie-mère.

À l'intérieur du quatrième ventricule, de part et d'autre de la ligne médiane se forme une mince lame en forme de doigt, le plexus choroïde, sécrétant le liquide céphalo-rachidien, semblable aux plexus choroïdes des ventricules cérébraux.

La circulation du liquide céphalo-rachidien se fait dans tous les ventricules ainsi qu'au sein du canal central de la moelle épinière, et dans l'espace sub-arachnoïdien à partir duquel ce liquide est résorbé.

### **1.5.1.2. Formation des noyaux des nerfs crâniens**

Les douze nerfs crâniens proviennent de noyaux présents au sein du tronc cérébral à l'exception du nerf olfactif et du nerf optique (respectivement première et deuxième paire de nerfs crâniens). Ces noyaux sont les structures les plus précocement formées au niveau cérébral, de part le développement des lames fondamentales du rhombencéphale et un peu plus tardivement par le développement des lames alaires (Wilson-Pauwels et al., 1988).

Les nerfs crâniens présentent certaines similitudes avec les nerfs spinaux, cependant ils sont moins uniformes dans leur composition; ils sont moteurs purs, ou sensitifs purs ou mixtes. Les nerfs purement sensitifs sont:

- le nerf olfactif (I) télencéphalique,
- le nerf optique (II) diencephalique,
- le nerf vestibulo-cochléaire (VIII) métencéphalique.

Les nerfs purement moteurs sont:

- le nerf trochléaire (IV) métencéphalique,
- le nerf abducens (VI) métencéphalique,
- le nerf accessoire (XI) myélocéphalique,
- le nerf hypoglosse (XII) myélocéphalique.

Les nerfs mixtes et parasymphatiques sont:

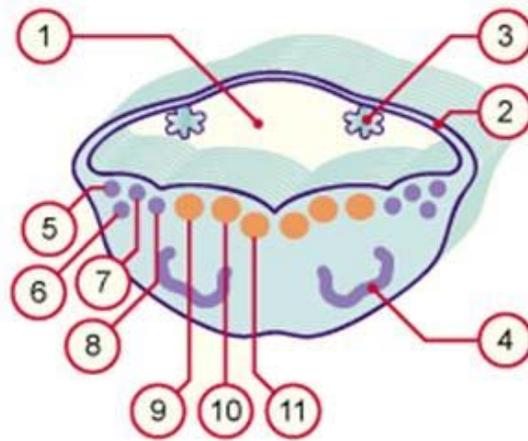
- le nerf facial (VII) métencéphalique,
- le nerf glosso-pharyngien (IX) myélocéphalique,
- le nerf vague (X) myélocéphalique,
- le nerf trijumeau (V) métencéphalique,
- le nerf oculo-moteur (III) mésencéphalique.

Le nerf trochléaire possède la particularité de naître au sein du métencéphale et de migrer secondairement dans le mésencéphale.

Le nerf trijumeau est mixte, ses noyaux sensitifs se forment au sein du métencéphale et du myélocéphale mais sont déplacés ultérieurement dans le mésencéphale. Par contre son noyau moteur naît et reste au sein du métencéphale (Didier et al.,1990).

L'homologie des fibres motrices et sensitives des nerfs crâniens avec celles des nerfs spinaux réside également dans leur organisation centrale.

Au sein du tronc cérébral, les noyaux des nerfs crâniens sont organisés en sept colonnes en rapport avec leur fonction, en analogie avec l'organisation en colonnes des lames de la moelle épinière. Ces sept colonnes formées par les lames alaires et fondamentales du tronc cérébral sont dévolues aux fonctions motrices et sensitives.



*Figure 10: Organisation primitive des noyaux des nerfs crâniens dans le tronc cérébral*  
 Avec en n°1: le quatrième ventricule, n°2: la plaque du toit, n°3: le plexus choroïde, n°4: le noyau olivaire, n°5: colonne des afférences sensitives spéciales, n°6: colonne des afférences sensitives générales, n°7: colonne des afférences viscérales spéciales, n°8: colonne des afférences viscérales générales, n°9: colonne des efférences viscérales générales, n°10: colonne des efférences viscérales spéciales et n°11: colonne des efférences somatiques générales (Larsen, 1993)

Le noyau de l'olive bulbaire est constitué de neurones de la lame alaire qui vont par la suite migrer dans la partie ventrale du bulbe. C'est la première structure supra-segmentaire à se mettre en place. Le noyau de l'olive bulbaire est une annexe de la formation réticulée et sert de relais dans la motricité involontaire. Il établit des connexions réciproques avec le cervelet.

### **-Les fonctions motrices**

Les fonctions motrices sont exclusivement représentées au niveau des colonnes fondamentales. Elles sont au nombre de trois:

- (1) les neurones somatiques efférents innervant les muscles de la langue ainsi que les muscles extrinsèques de l'oeil,
- (2) les neurones branchiaux efférents ou efférents viscéraux spéciaux innervant les muscles striés dérivés des arcs branchiaux, à l'exception des muscles trapèze et sterno-cléido-mastoïdien (ne dérivant pas du mésoblaste des arcs branchiaux) innervés par le noyau moteur du nerf accessoire considéré tout de même comme branchial,

- (3) les neurones viscéraux efférents ou efférents viscéraux généraux de la voie parasympathique pour les muscles intrinsèques de l'oeil (sphincter pupillaire et muscles ciliaires) innervé par le nerf vague ainsi que les muscles lisses, les glandes viscérales thoraco-abdomino-pelviennes ainsi que les glandes salivaires.

### **-Les fonctions sensibles**

Les fonctions sensibles sont exclusivement représentées au niveau des colonnes alaires du tronc cérébral. Elles sont également au nombre de trois:

- (1) les neurones afférents généraux reçoivent les informations sensibles de la tête et du cou ainsi que les informations des muqueuses de toutes les cavités de la face;

- (2) les neurones afférents spéciaux pour les afférences viscérales (goût) et somatiques spécifiques (équilibre et ouïe) correspondant aux deux colonnes de noyaux afférents spéciaux se développant au sein du tronc cérébral;

- (3) les neurones viscéraux afférents reçoivent via le nerf vague les influx nerveux des récepteurs sensitifs des viscères thoraco-abdomino-pelviens.

### **-Les colonnes fondamentales motrices**

A l'origine, les colonnes sont orientées dans un axe ventro-médial dorso-latéral au sein du rhombencéphale. Les trois colonnes motrices sont, depuis la plus ventro-médiale:

- (1) la colonne efférente somatique avec:

- le noyau moteur du nerf hypoglosse (XII), au sein de la région caudale du rhombencéphale,

- le noyau moteur du nerf abducens (VI), en position plus rostrale que celui du XII,

- le noyau moteur du nerf trochléaire (IV) dans le mésencéphale,

- le noyau moteur du nerf oculomoteur (III) mésencéphalique.

- (2) la colonne efférente branchiale, située au sein du rhombencéphale, renferme trois noyaux:

- le noyau moteur du nerf trijumeau (V),

- le noyau moteur du nerf facial (VII),

Situés tous les deux en position rostrale au sein du rhombencéphale.

- le noyau ambigu regroupant les fibres motrices des structures périphériques (muscles) innervés par le nerf glosso-pharyngien (IX), le nerf vague (X) et le nerf accessoire (XI).

- (3) la colonne efférente viscérale est composée de deux noyaux rhombocéphaliques.

Les noyaux salivaires innervant les glandes salivaires et lacrymales grâce aux nerfs facial (VII) et glosso-pharyngien (IX).

Le noyau dorsal du nerf vague, en position caudale par rapport aux noyaux salivaires, est formé par des neurones sympathiques viscéraux.

### **-Les colonnes sensibles alaires**

Les colonnes sensibles alaires sont au nombre de quatre et s'organisent dans un axe ventro-médial dorso-latéral. Depuis le plan le plus ventro-médial on observe:

- (1) La colonne afférente générale comprenant les neurones sur lesquels se projettent les afférences sensibles générales de la face et du crâne. C'est la plus importante colonne nucléaire du tronc cérébral, s'étendant sur l'ensemble du rhombencéphale et du mésencéphale. La colonne afférente somatique spéciale constituée des noyaux vestibulaires (au nombre de quatre) et cochléaires (au nombre de 2), en rapport avec les récepteurs de l'ouïe et de l'équilibre,

- (2) La colonne afférente spéciale ou colonne afférente viscérale spéciale comprenant la partie du noyau du tractus solitaire qui reçoit les informations sensorielles gustatives des nerfs facial, glosso-pharyngien et vague (respectivement VII, IX et X),

- (3) La colonne afférente viscérale correspondant au noyau du tractus solitaire pour les afférences intéroceptives véhiculées par le nerf vague (X).

### **1.5.1.3.Migration des noyaux du tronc cérébral**

Certains de noyaux qui se sont formés dans les colonnes fondamentales et alaires migrent au cours du développement du système nerveux central (Hatten, 1999).

C'est le cas du noyau ambigu, du noyau moteur du nerf facial, du noyau olivaire et des noyaux du pont.

Le noyau ambigu migre dans une direction ventrale, tout comme le noyau olivaire et les noyaux pontiques.

Le noyau moteur du nerf facial migre dans deux directions consécutives, tout d'abord dans un sens dorso-caudal puis chemine en direction ventrale et s'enfonce plus profondément que sa fonction ne le laisserait supposer.

Ces trajets laissent des traces dans les structures nerveuses; en effet les neurones migrant en groupe laissent derrière eux leurs fibres axoniques tout le long de leur trajet de migration. Ces axones représentent alors en fin de maturation, les trajets embryologiques des noyaux, formant des coudes ou genoux (Dickson B.J., 2002).

### **1.5.1.4.Développement des ganglions parasympathiques et sensitifs**

#### **-Les ganglions parasympathiques**

Les ganglions parasympathiques se développent parallèlement aux nerfs crâniens. Ils sont constitués d'une série de deux neurones:

- Le neurone central au sein d'un noyau du système nerveux central,
- Le neurone périphérique situé au sein d'un ganglion.

Il existe deux groupes de ganglions parasympathiques des nerfs crâniens:

-Les ganglions associés au nerf vague (X) au sein des parois des viscères thoraco-abdomino-pelviens;

-Les ganglions associés aux nerfs oculomoteur, facial et glosso-pharyngien (respectivement III, VII et IX) pour les structures glandulaires de la tête et du cou.

Ces ganglions parasympathiques sont originaires embryologiquement de la crête neurale, en regard des noyaux du tronc cérébral correspondant. Par exemple, les ganglions submandibulaire et sphéno-palatin du nerf facial (VII) sont originaires de la région de la crête neurale en regard de l'extrémité rostrale du rhombencéphale. Les ganglions otiques du nerf glosso-pharyngien et les ganglions entériques du nerf vague sont quant à eux originaires de la région caudale du rhombencéphale (D'Amico-Martel, 1983).

### **-Les ganglions sensitifs**

Les ganglions sensitifs des nerfs crâniens possèdent une origine double, de la crête neurale, tout comme les ganglions végétatifs et des placodes ectoblastiques. L'ensemble des placodes ectoblastiques est formé par:

-La placode nasale, dont sont issus les cellules neuro-sensorielles de l'épithélium olfactif ainsi que les neurones du nerf olfactif (I),

-La placode cristallinienne ou placode optique,

-La placode otique,

-La placode trigéminal située entre les placodes optique et épibranchiales.

Les quatre placodes épibranchiales se développent sur le versant dorsal des poches pharyngiennes.

En règle générale, les ganglions se trouvant proche du cerveau sont originaires de la crête neurale, tandis que les ganglions plus éloignés dérivent des placodes (D'Amico-Martel, 1983). Les cellules gliales sont, quant à elles, toutes originaires de la crête neurale.

Le ganglion trigéminal possède une double origine, à la fois crestale et placodique. Sa portion proximale est essentiellement constituée de cellules provenant de la crête neurale tandis que sa portion distale est constituée de cellules issues de la placode trigéminal.

Le ganglion inférieur pétreux du nerf glosso-pharyngien est issu de la seconde placode épibranchiale et les neurones du ganglion inférieur géniculé du nerf facial (VII) proviennent de la première placode épibranchiale (Ghanassia, 1999).

Les différentes informations sont regroupées dans le tableau ci-dessous:

Nerf crânien	n°	région cérébrale	ganglion	type	origines ganglionnaires
Olfactif	I	télencéphale	Epithélium olfactif	afférent spécial	placode nasale
Optique	II	diencéphale			placode cristallinienne
Oculomoteur	III	mésencéphale	ganglion ciliaire	efférent viscéral	crête neurale diencéphalique caudale et mésencéphalique rostrale
Trochléaire	IV	métencéphale			
Trijumeau	V	métencéphale	ganglion trigéminal	afférent général	crête neurale diencéphalique caudale et mésencéphalique rostrale, placode trigéminale
Abducens	VI	métencéphale			
Facial	VII	métencéphale	ganglion supérieur	afférent général et spécial	1ère placode épibranchiale
			ganglion inférieur genculé	afférent général et spécial	1ère placode épibranchiale
			ganglion sphéno-palatin	efférent viscéral	crête neurale rhombocéphalique
			ganglion submandibulaire	efférent viscéral	crête neurale rhombocéphalique
Vestibulo-cochléaire	VII I	métencéphale	ganglion acoustique cochléaire	afférent spécial	placode otique
			ganglion vestibulaire	afférent spécial	placode otique et crête neurale
Glosso-pharyngien	IX	myélocéphale	ganglion supérieur	afférent général et spécial	crête neurale rhombocéphalique
			ganglion inférieur pétreux	afférent général et spécial	2ème placode épibranchiale
			ganglion otique	efférent viscéral	crête neurale rhombocéphalique
Vague	X	myélocéphale	ganglion supérieur	afférent général	crête neurale rhombocéphalique
			ganglion inférieur	afférent général et spécial	3ème et 4ème placodes épibranchiales
			ganglions entériques parasymphatiques	efférents viscéraux	crête neurale rhombocéphalique
Accessoire	XI	myélocéphale			
Hypoglosse	XII	myélocéphale			

Tableau 1: Les nerfs crâniens (Larsen, 1993)

### **1.5.2. Formation des vésicules cérébrales primitives**

Le système nerveux central (SNC) dérive d'une plaque neurale, à partir de l'ectoblaste du disque embryonnaire, qui donnera plus tard le tube neural en s'invaginant.

Les trois divisions du cerveau (le prosencéphale ou cerveau antérieur, le mésencéphale ou cerveau moyen, et le rhombencéphale ou cerveau postérieur) sont visibles avant le début de la neurulation, délimitées par les plis formés lors du début de l'infléchissement de la région.

La neurulation débute avant la fermeture du neuropore rostral du tube neural, les trois divisions du cerveau sont représentées à ce stade par les vésicules cérébrales primitives qui sont le résultat de la dilatation du tube neural.

Des renflements supplémentaires apparaissent et sont appelés neuromères.

Au niveau du prosencéphale présomptif on observe deux de ces neuromères ainsi qu'au niveau du mésencéphale présomptif. Neuf neuromères sont visibles au niveau de rhombencéphale présomptif, dont un segment isthmique, situé au niveau de l'isthme du rhombencéphale, suivi de huit rhombomères numérotés de r1 à r8, dans une progression rostro-caudale.

Le nerf V prend naissance entre le premier et le second rhombomère, tandis que les nerfs VII et VIII se forment au sein du quatrième rhombomère, plus caudal.

Ces structures ne sont observables que très peu de temps au cours de la formation du SNC.

Les trois vésicules cérébrales primitives vont laisser place à cinq vésicules cérébrales secondaires par dédoublement des vésicules du prosencéphale et du rhombencéphale, respectivement en télencéphale (division rostrale) et diencéphale (division caudale) pour le prosencéphale, et en métencéphale et myélencéphale pour le rhombencéphale.

Au sein de chacun des cinq ventricules, le canal neural se dilate pour donner un ventricule primitif. Celui du rhombencéphale donnera plus tard le quatrième ventricule, celui du mésencéphale donnant l'aqueduc de Sylvius et celui du diencéphale donnant le troisième ventricule.

La formation du SNC se poursuit par l'infléchissement de ces structures au niveau des courbures céphalique, cervicale et pontine. La courbure céphalique est la première inflexion à apparaître, et se manifeste par une rotation ventrale puis postérieure du prosencéphale présomptif, pour se rabattre sous le mésencéphale présomptif. La seconde inflexion est celle de la courbure cervicale, située entre la moelle épinière et le myélocéphale.

Ces deux courbures ventrales sont suivies d'une courbure inverse, dorsale, qui se fait en regard du futur pont.

Le rhombencéphale donnera la moelle allongée (medulla oblongata), le pont et le cervelet.

La moelle allongée fonctionne principalement comme un centre relais entre la moelle épinière et les centres supérieurs, elle est originaire du myélocéphale. Cette partie de l'encéphale est la partie la plus semblable à la moelle épinière.

Le métencéphale est à l'origine du pont et du cervelet. Le pont contient surtout le tractus blanc destiné au cervelet, et sert de relais entre la moelle épinière et les cortex (cérébral et cérébelleux) d'une part et le cervelet d'autre part.

### **1.5.2.1. Formation embryologique du cervelet**

Le cervelet est originaire des lèvres rhombiques du métencéphale. Les lames cérébelleuses sont des épaisissements des lèvres rhombiques; elle forment les prémisses du futur cervelet.

Par la suite, les lèvres continuent à se développer jusqu'à se réunir sur la ligne médiane au niveau de leur portion rostrale, recouvrant le quatrième ventricule.

Le développement se poursuit par la suite en direction dorsale vers la partie rostrale du rhombencéphale.

Le cervelet est séparé, à ce stade, par la fissure postéro-latérale en deux portions (rostrale et caudale). La portion rostrale est volumineuse et est constituée du vermis, médian, unissant les deux hémisphères cérébelleux. La portion caudale est constituée d'une paire de lobes flocculo-nodulaires.

La portion caudale est la partie la plus primitive du cervelet et la partie rostrale sera quant à elle, la partie prépondérante du cervelet mature. La portion rostrale va par la suite s'infléchir et se modifier en marquant une fissure primaire divisant le vermis et les hémisphères cérébelleux en deux lobes:

- un lobe antérieur (rostral);
- un lobe moyen (caudal).

Des fissures transverses vont apparaître au cours du développement venant subdiviser ces lobes en plusieurs lobules. Ces processus se poursuivent tout au long du développement ayant pour conséquence une augmentation importante de la surface du cortex cérébelleux.

Le cervelet possède deux types de substance grise:

- interne constitué par les noyaux cérébelleux profonds;
- externe constitué par le cortex cérébelleux.

Les noyaux profonds (noyaux denté, globuleux, emboliforme et fastigial) servent de relais aux informations arrivant au niveau du cortex cérébelleux.

Le cortex cérébelleux possède une organisation cellulaire identique dans l'ensemble du cervelet et les cellules qui le composent sont organisées en couches.

Ces structures sont produites par des successions de processus complexes. Le premier d'entre eux est la prolifération initiale du neuro-épithélium des lèvres rhombiques produisant trois couches:

- la couche ventriculaire;
- la couche du manteau;
- la couche marginale.

Une seconde poussée proliférative se produit au niveau de la couche marginale donnant la couche granulaire externe. La couche ventriculaire prend alors le nom de couche germinative interne.

Ces deux dernières couches de cellules sont à l'origine des différents neuroblastes du cervelet.

Les neuroblastes nucléaires primitifs issus de la couche germinative interne vont migrer en profondeur pour former les noyaux cérébelleux.

Cette couche va aussi produire les neuroblastes primitifs de Purkinje qui donneront les cellules de Purkinje, ainsi que les neuroblastes primitifs de Golgi qui donneront les cellules de Golgi.

Les neuroblastes primitifs de Purkinje migrent en direction du cortex tout en conservant un contact synaptique avec les neuroblastes des futurs noyaux, ils formeront la couche des cellules de Purkinje, sous la couche granulaire externe.

La couche granulaire externe donnera par la suite:

- les neuroblastes à corbeille,
- les neuroblastes granulaires,
- les neuroblastes étoilés.

La couche granulaire, sous la couche des cellules de Purkinje, est essentiellement formée par des neuroblastes granulaires et quelques neuroblastes à corbeille et étoilés.

La plupart des neuroblastes à corbeille et étoilés restent en surface, en relation étroite avec les cellules de Purkinje, et forment la couche moléculaire.

### **1.5.2.2. Formation du mésencéphale**

Le mésencéphale contient trois noyaux de nerfs crâniens:

- le noyau moteur du nerf oculo-moteur (III),
- le noyau moteur du nerf trochléaire (IV),
- le noyau mésencéphalique trigéminal (V).

Le noyau moteur du III est le seul à être formé par des neuroblastes mésencéphaliques. Tandis que le noyau moteur du nerf trochléaire et le noyau mésencéphalique trigéminal sont tout deux issus du métencéphale et migrent secondairement dans le mésencéphale.

L'essentiel du mésencéphale est cependant constitué de substance blanche faisant relais entre le cerveau antérieur, le cerveau postérieur et le cervelet.

Sur sa face dorsale, le mésencéphale présente quatre proéminences qui sont les collicules inférieurs et supérieurs.

Les collicules proviennent des cellules des lames alaires mésencéphaliques migrant médialement. Les collicules supérieurs sont impliqués dans les réflexes oculaires tandis que les collicules inférieurs forment un relais entre les noyaux cochléaires et les aires auditives cérébrales.

Le canal neural du mésencéphale produit l'aqueduc cérébral et achemine le liquide céphalo-rachidien du prosencéphale vers le quatrième ventricule.

### **1.5.2.3. Formation du prosencéphale**

Le prosencéphale est constitué de deux vésicules cérébrales secondaires qui sont le télencéphale et le diencephale.

Les parois du diencephale sont faites des lames alaires et à ce niveau les lames fondamentales ne sont pas présentes.

Ces lames alaires sont à l'origine de trois éléments préfigurés par trois renflements:

- le thalamus,
- l'hypothalamus,
- l'épithalamus.

### **1.5.2.4. Formation du télencéphale**

Les hémisphères cérébraux sont des diverticules latéraux du télencéphale, et se développent vers l'arrière en recouvrant le diencephale. Le cortex cérébral est originaire des parois et du toit des hémisphères cérébraux, tandis que le plancher donnera les noyaux basaux des hémisphères cérébraux.

Les parois des hémisphères cérébraux sont à l'origine lisses et des mécanismes semblables à ceux du cortex cérébelleux se mettent en place afin d'obtenir un plissage du cortex en circonvolutions complexes.

## **1.6. Configuration des centres segmentaires anatomique et histologique**

En se basant sur la littérature, nous présenterons l'aspect histologique des structures nerveuses centrales impliquées dans la manducation chez la souris contrôle. Nous comparerons ces structures avec celles observées chez la souris *scrambler*, de manière qualitative (morphologie et localisation des noyaux) via la microscopie optique d'une part et d'autre part, de manière quantitative via l'absorbance lumineuse (niveau enzymatique de COX et AChE).

Dans les chapitres suivants, nous allons décrire la structure morphologique et fonctionnelle des noyaux impliqués dans la fonction manducatrice.

### **1.6.1. Les centres segmentaires du nerf trijumeau**

Le nerf trijumeau apparaît sous forme de deux faisceaux: un faisceau sensitif, et un faisceau moteur.

Le système sensitif trigéminal s'étend sur toute la hauteur du tronc cérébral, du mésencéphale jusqu'au niveau de la moelle épinière cervicale supérieure. Il est divisé en trois noyaux:

- le noyau mésencéphalique (Me5) dans la partie haute mésencéphalique du tronc cérébral, comme son nom l'indique,
- le noyau principal (Pr5) dans la partie pontique du tronc cérébral,
- le noyau trigéminal spinal (Sp5) lui-même subdivisé en trois sous-noyaux:
  - oral (Sp5O) dans la partie pontique du tronc cérébral,
  - interpolaire (Sp5I) dans la partie bulbaire du tronc cérébral,
  - caudal (Sp5C) dans la partie bulbaire du tronc cérébral, débordant dans la moelle épinière cervicale jusqu'à C3-C4.

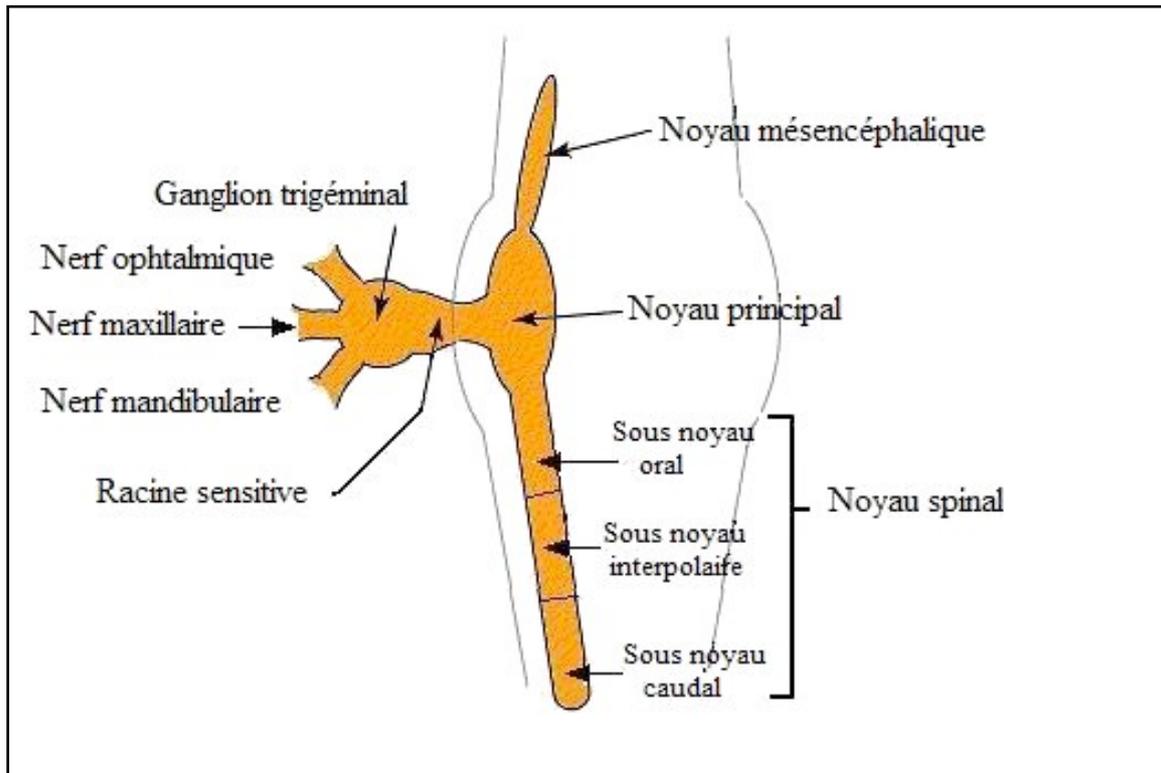


Figure 11: Schéma du système sensitif trigéminal.

Le complexe moteur trigéminal contient également:

- le noyau moteur trigéminal (Mo5) situé médialement au noyau sensitif principal,
- trois noyaux associés au centre segmentaire moteur :
  - le noyau supra-trigéminal (Su5) situé sur le versant dorso-médial du noyau sensitif principal,
  - le noyau inter-trigéminal situé entre le noyau sensitif principal et le noyau moteur trigéminal,
  - le noyau para-trigéminal situé entre la surface médullaire latérale, en partie intégré à l'intérieur du tractus spinal trigéminal.

Ces trois noyaux associés font partie de la formation réticulée. Ils sont composés d'interneurones assurant le relais entre les différents centres segmentaires impliqués dans les fonctions manducatrices.

Les noyaux moteur trigéminal, supra-trigéminal et inter-trigéminal sont associés aux réflexes manducateurs et au contrôle des mouvements de la mâchoire.

### 1.6.2. Le contingent afférent somatique général

Le contingent afférent somatique général est représenté par le système sensitif trigéminal. Ainsi, dans cette partie, nous décrirons l'organisation anatomique de ce système et aborderons la fonctionnalité de chacune de ses subdivisions.

❖ **Chez l'homme**, la face et les cavités annexes sont innervées par les trois branches du trijumeau dans sa grande majorité. La cavité buccale est innervée par le nerf maxillaire supérieur dans sa moitié supérieure et par le nerf maxillaire inférieur, dans sa moitié inférieure.

Le nerf trigéminal se divise en trois branches principales qui forment à leur tour des ramifications, dont voici le détail :

-Le nerf ophtalmique (V1)

Le nerf ophtalmique passant par la fissure orbitaire supérieure du sphénoïde cédant au passage plusieurs collatérales sensitives : les nerfs nasal, lacrymal, frontal et supratrochléaire

-Le nerf maxillaire (V2)

Le nerf maxillaire donne plusieurs collatérales sensitives: les nerfs sous-orbitaire, sphéno-palatin, nasopalatin, dentaire antérieur, dentaire postérieur, et nerf du canal ptérygoïdien.

-Le nerf mandibulaire (V3)

Le nerf mandibulaire est le seul à posséder une racine motrice responsable de l'innervation des muscles issus du premier arc branchiomérique, à savoir les muscles masticateurs:

-responsables de la fermeture de la cavité orale:

-nerf profond du muscle temporal,

-nerf du muscle ptérygoïdien latéral,

-nerf du muscle ptérygoïdien médial,

-nerf du muscle masséter.

-responsables de l'ouverture de la cavité orale:

-nerf du ventre antérieur du muscle digastrique,

-nerf du muscle mylo-hyoïdien.

Et deux muscles associés dont l'innervation trigéminal résulte de l'évolution phylogénétique du splanchnocrane:

- nerf du muscle du marteau;

- nerf du muscle tenseur du voile du palais.

Le nerf mandibulaire, par sa branche sensitive, donne plusieurs collatérales assurant l'innervation des dents mandibulaires, de l'articulation temporo-mandibulaire et des territoires muqueux et tégumentaires de l'étage inférieur du visage: les nerfs auriculo-temporal, buccal, lingual, dentaire inférieur, plexus dentaire inférieur, et le nerf mentonnier.

❖ **Chez la souris**, le nerf trijumeau conserve ce schéma d'organisation et innerve les zones suivantes:

-le nerf ophtalmique (V1) innerve l'arrière de la tête, les vibrisses supra-orbitales, la cornée et la conjonctive de l'œil, la peau glabre et celle velue située sur le dos et le bout du museau, la muqueuse intra-nasale;

-le nerf maxillaire (V2) innerve: la peau post-orbitale, la lèvre supérieure, les vibrisses mystaciales, la zone latérale du museau, la muqueuse supérieure intra-orale, les dents supérieures;

-le nerf mandibulaire (V3) innerve: l'articulation temporo-mandibulaire, la peau autour de la mandibule, la lèvre inférieure, la muqueuse inférieure intra orale, les dents inférieures, la partie antérieure de la langue.

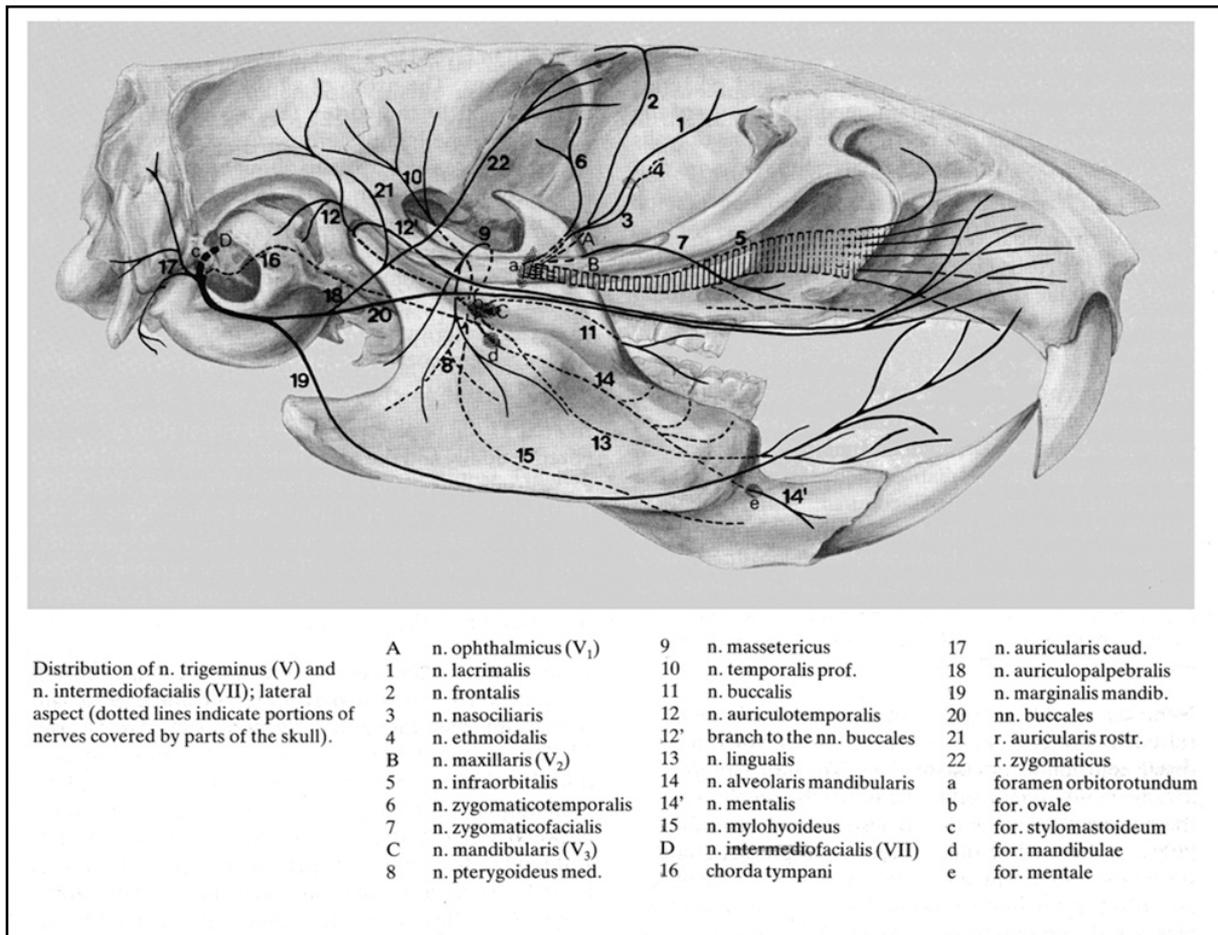


Figure 12; Distribution des nerfs trigéminal et facial chez la souris (Hebel et al., 1986)

Les vaisseaux sanguins du crâne et la dure-mère sont également innervés par des afférences trigéminales, provenant du nerf ophtalmique et du nerf mandibulaire (Pfaller et Arvidsson, 1988).

Les corps cellulaires de la plupart des fibres afférentes sont situés au niveau du ganglion trigéminal. Ce ganglion contient environ 50 000 neurones (Forbes et Welt, 1981) qui desservent des zones relativement localisées et sont organisés de façon somatotopique ; en effet les divisions maxillaire et ophtalmique ne sont pas dissociables, tandis que la division mandibulaire est clairement distincte. Toutes les études ont montré que la somatotopie est seulement approximative car les corps cellulaires de neurones issus de territoires géographiques différents se réunissent en groupes fonctionnels (cluster) (Martin et Dolivo, 1983).

Les cellules du ganglion trigéminal sont de type pseudo-unipolaire (Kai-Kai, 1989). Elles représentent les corps cellulaires de toute la sensibilité de la tête et du cou. Il existe cependant

une exception pour la localisation des neurones proprioceptifs des fuseaux neuromusculaires des muscles masticateurs, et de quelques récepteurs parodontaux. Ces neurones ont leur corps cellulaires situés dans le noyau trigéminal mésencéphalique que nous détaillerons ultérieurement.

Bien que beaucoup des afférences trigéminales aient des propriétés similaires à celles des autres régions du corps, certaines structures présentent des particularités. En effet, la cornée, la dure-mère ainsi que la pulpe dentaire donnent lieu à des sensations nociceptives, tandis que les récepteurs parodontaux détectent une pression effectuée sur la dent (Tabata et Karita, 1992). Par ailleurs, les cellules activées par une stimulation de la dure-mère répondent aussi généralement aux stimulations provenant de la face, notamment au niveau de la peau située dans la zone périorbitaire (Dostrovsky et al., 1991).

### **1.Le noyau trigéminal mésencéphalique (Me5)**

Le noyau mésencéphalique forme une étroite bande de cellules s'étendant du bord latéral du noyau gris périaqueducal, dans sa partie rostrale jusqu'au niveau du noyau moteur trigéminal dans sa partie caudale pontique.

Le noyau mésencéphalique trigéminal est composé des corps cellulaires des neurones afférents proprioceptifs des muscles masticateurs et d'une partie des récepteurs proprioceptifs du ligament alvéolo-dentaire. Contrairement aux autres afférences primaires, il reçoit des afférences sérotoninergiques et dopaminergiques.

Leurs axones se projettent essentiellement sur le noyau moteur trigéminal, mais également en plus faible quantité sur d'autres noyaux du tronc cérébral:

- le noyau moteur du nerf hypoglosse,

- le noyau sensitif principal du nerf trijumeau,

- le noyau spinal du nerf trijumeau,

- le noyau du faisceau solitaire,

- le noyau supra trigéminal,

- la formation réticulée parvicellulaire. (Luo et al., 1991 ; Raappana et Arvidsson, 1993).

Ce noyau contient approximativement 1000 à 1600 cellules, dont 60% sont localisées dans la partie caudale, triangulaire du noyau. Les corps cellulaires des fibres nerveuses d'origine musculaire sont localisées sur toute la longueur rostro-caudale du noyau mésencéphalique trigéminal, tandis que les cellules afférentes aux récepteurs à la pression sont localisées dans la partie caudale.

Les axones des neurones unipolaires du Me5 situés dans la partie triangulaire pontique du noyau, se projettent sur les motoneurones des muscles masséter et temporal qui ont une fonction de fermeture de la mâchoire. Ainsi, les collatérales d'axones de ces fibres se projettent sur:

- le noyau moteur trigéminal,

- la région supra et inter-trigéminal,

- la formation réticulée parvicellulaire,

- la partie dorsomédiale et médiale des noyaux trigéminaux spinaux intra-oral et interpolaire,

- le noyau de Probst.

Les projections provenant de la partie rostrale du noyau mésencéphalique trigéminal établissent leurs prolongements en effectuant un trajet caudal, tout d'abord au sein du tractus mésencéphalique du trijumeau, puis au niveau caudal du noyau moteur trigéminal, dans le tractus de Probst, qui peut être suivi jusqu'au segment supérieur de la moelle cervicale.

C'est depuis ce tractus que des branches collatérales se distribuent aux différents noyaux de projection.

## **2.Le noyau sensitif principal (Pr5)**

Le noyau sensitif principal se situe dans la partie latérale du pont, en avant du noyau moteur du nerf facial et du noyau spinal, partie orale, du nerf trijumeau. Il contient une forte densité de neurones de moyenne et petite taille. Toutefois, il y a quelques neurones de grande taille, situés dorsalement, dont certains sont immunoréactifs pour la calbindine (calcium binding proteins) (Bennett-Clarke et al., 1992).

La projection principale de ces neurones afférents secondaires se situe au niveau du thalamus controlatéral (Chiaia et al., 1991a ; Bennett-Clarke et al., 1992), dans le noyau ventro-postéro-médian.

En plus de ces connections thalamiques, le noyau se projette au niveau:

- du cervelet,
- du noyau moteur trigéminal,
- du colliculus supérieur,
- de la zona incerta,
- du noyau moteur du nerf hypoglosse (Bruce et al., 1987).

### **3.Le noyau spinal du nerf trijumeau (Sp5)**

Le noyau spinal du nerf trijumeau est divisé en trois sous-noyaux qui sont:

- le sous-noyau oral,
- le sous-noyau interpolaire,
- le sous-noyau caudal.

#### **-Le sous-noyau oral**

Le sous-noyau oral est situé en continuité avec le noyau facial. Il contient quelques cellules de très grande taille, de 30 à 50 micromètres, ainsi que des cellules de moyenne et de petite taille, dont certaines contiennent de la parvalbumine, de la calbindine et du glutamate.

Les cellules du noyau trigéminal spinal intra-oral ont typiquement un grand champ périphérique, avec des champs dendritiques généralisés (Jacquin et Rhoades, 1990). Les faisceaux de fibres intra-trigéminales proviennent de connexions entre les noyaux, et sont caractéristiques de la colonne nucléaire spinale.

Le noyau trigéminal spinal-oral fournit une projection importante au noyau moteur du nerf facial. De même, il existe des projections en direction:

- du noyau ventro-postéro-médial du thalamus (VPM),
- du noyau trigéminal spinal-caudal,
- de la moelle épinière cervicale,
- de la zona incerta,
- du noyau prétectal antérieur ( Jacquin et Rhoades, 1990; Yoshida et al., 1992).

#### **-Le sous-noyau interpolaire**

Le sous-noyau interpolaire s'étend du noyau moteur du nerf facial jusqu'en dessous de l'obex. Ses limites caudales avec le noyau trigéminal spinal caudal sont obliques.

Ce noyau est le plus large des noyaux sensitifs du nerf trijumeau, et contient des neurones de taille petite à moyenne, et quelques cellules de grande taille. De nombreuses cellules

contenant de la parvalbumine, de la calbindine ou du GABA, et quelques neurones glutaminergiques sont présents (Bennett-Clark et al., 1992).

Les réponses à une entrée cutanée de faible intensité, comme les mouvements des vibrisses, sont générales, mais les réponses nociceptives aux stimulations cornéennes sont reportées dans le noyau trigéminal spinal interpolaire caudal (Pozo et Cervero, 1993). Les champs récepteurs périphériques des cellules du sous noyau interpolaire sont généralisés, tout comme pour le noyau trigéminal spinal-oral, mais contrairement au noyau sensitif principal.

Les projections principales du noyau trigéminal spinal interpolaire se font sur le cervelet, à la fois directement et indirectement par le noyau olivaire et le colliculus supérieur. De plus, il existe des projections en direction

- du noyau ventro-postero-médial du thalamus (VPM),
- du noyau postérieur du thalamus (Po),
- de la zona incerta,
- du noyau prétectal antérieur (Phelan et Falls, 1991).

### **-Le sous noyau caudal**

Le sous noyau caudal s'étend depuis le niveau de l'obex jusqu'à la corne cervicale dorsale supérieure, avec laquelle il est en continuité. Il a une organisation laminaire, composé par:

-la couche marginale (lame 1), contenant une variété de types cellulaires avec quelques cellules larges multipolaires, alignées parallèlement au tractus spinal,

-la substance gélatineuse (lame 2) comprenant principalement de petites cellules de type ovulaire, ou des cellules fusiformes,

-la couche magnocellulaire (lames 3 et 4), contenant principalement des cellules de taille moyenne, ainsi que des cellules multipolaires.

Des cellules contenant du GABA, du glutamate, ou de l'aspartate sont observées dans l'ensemble des couches, tandis que quelques cellules situées dans les couches 1 et 2, possèdent de la parvalbumine et de la calbindine (Haring et al., 1990).

## **2. Les contingents moteurs efférents somatiques et branchiomériques**

La fonction masticatrice met en jeu plusieurs groupes musculaires, les muscles masticateurs innervés par le nerf trijumeau, la sangle labio-jugale innervée par le nerf facial et enfin la sangle musculaire linguale innervée par le nerf hypoglosse.

Ainsi quatre noyaux moteurs seront sollicités:

- le noyau moteur du nerf trijumeau (V),
- le noyau moteur du nerf facial (VII),
- le noyau moteur du nerf l'hypoglosse (XII),
- le noyau ambigu (IX, X, XI).

Ceux-ci permettent divers comportements, allant du simple reflexe oral à des fonctions complexes telle que la déglutition.

Bien que la plupart des efférences des noyaux moteurs des nerfs trigéminal et facial est relative à des fonctions orales, divers muscles non oraux sont également innervés par ces noyaux. Cette hétérogénéité de fonction est mise en évidence grâce aux projections centrales qui différencient les motoneurones oraux et les autres, à l'intérieur des subdivisions du noyau moteur correspondant.

## **2.1.Le noyau moteur trigéminal**

### **-Organisation myotopique**

Le noyau moteur du nerf trijumeau, est divisé en une large zone dorso-latérale s'étendant sur toute la longueur rostro-caudale du noyau, et une petite zone ventro-médiale située dans les deux tiers caudaux du noyau ( Lynch, 1985 ; Rokx et al., 1985). La région dorso-latérale innerve les muscles de fermeture de la mâchoire (élevateurs) qui sont:

- le muscle masséter,
- le muscle temporal,
- les muscles ptérygoïdiens médial et latéral.

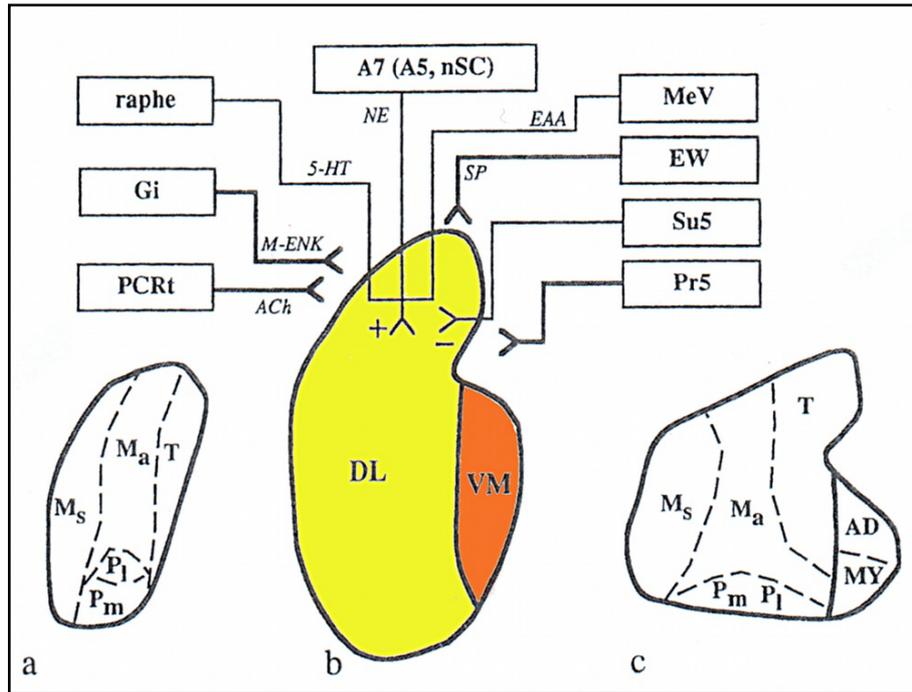
La région ventro-médiale, quant à elle, innerve les muscles d'ouverture de la mâchoire qui sont:

- le chef antérieur du muscle digastrique,
- le muscle mylohyoïdien.

Un tiers des muscles d'ouverture de la mâchoire, ainsi que le ptérygoïdien latéral sont groupés avec les motoneurones de fermeture de la mâchoire situés dans la zone ventrale de la division dorso-laterale. Les motoneurones des muscles ptérygoïdiens latéral et médial n'ont pas été identifiés individuellement dans la zone dorso-laterale.

Par ailleurs, une distribution laminaire définit l'organisation des motoneurones à l'intérieur de la division dorso-laterale (Rokx et al., 1985). Ceux qui innervent le chef antérieur profond du muscle masséter sont interposés entre les motoneurones innervant le chef superficiel du muscle masséter, situés latéralement, et ceux innervant le muscle temporal dorso-médialement.

A l'intérieur de la division ventro-médiale du noyau moteur du trijumeau, les motoneurones innervant le chef antérieur du muscle digastrique sont situés dorso-médialement aux motoneurones innervant le muscle mylohyoïdien. Dans cette division se retrouvent également les motoneurones innervant le muscle tenseur du voile du palais (Keller et al., 1983).



*Figure X: Organisation myotopique du noyau moteur trigéminal et ces afférences. DL: dorso-latéral; VM: ventro-médial; a: tiers rostral; b: tiers moyen, c: tiers caudal; Ms: masséter chef superficiel; Ma: masséter chef antérieur; T: muscle temporal; Pm: muscle ptérygoïdien médial; Pl: muscle ptérygoïdien latéral; AD: muscle digastrique antérieur; MY: muscle mylo-hyoïdien;*

*EW: noyau d'Edinger-Westphal; GI: noyau gigantocellulaire; nSC: noyau subceruleus; PCRt: formation réticulaire parvicellulaire, Pr5: noyau sensitif principal du nerf trigéminal; Su5: noyau supra-trigéminal.*

### **-Organisation cytoarchitectonique**

Chaque noyau moteur du trijumeau contient approximativement entre 2200 à 3000 cellules selon les auteurs, dont la majorité sert à l'innervation des muscles de fermeture de la mâchoire (Kemplay et Cavanagh, 1983).

La division dorso-latérale contient des cellules multipolaires de petit diamètre (8 à 14µm) et de gros diamètre (28 à 42µm) assurant l'innervation respective des motoneurones α et des motoneurones γ.

La division ventro-médiale contient également des cellules multipolaires présentant une différence de taille moins importante d'un diamètre qui varie entre 16 et 34 $\mu$ m. Certains auteurs différencient 2 classes de neurones, peut être en rapport avec la taille des unités motrices, car contrairement aux muscles de fermeture, les muscles d'ouverture n'ont pas de fuseau neuro-musculaire, et par conséquent, ces muscles n'ont pas de motoneurones  $\gamma$ . Ainsi, ils différencient des cellules de grand diamètre (24 à 34 $\mu$ m, plus petit que les cellules à grand diamètre de la division dorso-latérale), et des cellules de petit diamètre (16 à 20 $\mu$ m, de taille plus élevée que les cellules à petit diamètre de la division dorso-latérale).

La distribution synaptique est différente parmi les classes de neurones au sein du noyau moteur trigéminal. Les synapses axosomatiques couvrent en moyenne 78% du soma des cellules multipolaires de gros diamètre, tandis que pour les petites cellules multipolaires ainsi que pour les cellules fusiformes il existe beaucoup moins de synapses (Card et al., 1986).

Le trajet intracrânien des axones est différent selon leur provenance dorso-latérale ou ventro-médiale. Les axones en provenance de la division dorso-latérale quittent le cerveau directement en formant une large racine motrice qui passe sous le noyau principal du nerf trijumeau. Les axones provenant de la division ventro-médiale contournent dorsalement le genou du nerf facial avant d'emprunter un trajet en direction ventrale pour rejoindre la racine provenant de la division dorso-latérale (Szekely et Matesz, 1982).

### **-Architecture dendritique**

Quelques-unes des dendrites des motoneurones de fermeture de la mâchoire s'étendent dorsalement et latéralement au delà du noyau moteur du trijumeau et rejoignent:

- le noyau mésencéphalique du nerf trijumeau,
- le noyau sensitif principal du nerf trijumeau(Pr5),
- les noyaux supra et inter-trigéminal,
- ou se projettent médialement à l'intérieur de la formation réticulée pontique (Lingenhohl et Friauf, 1991).

Il est intéressant de noter que les dendrites des motoneurones des noyaux trigéminaux accessoires qui innervent la musculature non orale, ne chevauchent pas le champ synaptique des motoneurones du trijumeau à destination orale. Ainsi, les dendrites des motoneurones du muscle tenseur du voile du palais sont à proximité de l'olive supérieure, fournissant ainsi un substrat possible pour la fonction du réflexe auditif (Friauf et Baker, 1985).

## **2.2.Le noyau facial**

### **-Organisation myotopique**

Les cellules, situées à l'intérieur du noyau facial, sont groupées en amas séparés par des lames de substance blanche. Grâce à la coloration de Nissl sur une coupe coronale, il est possible d'observer les subdivisions latérale, dorsolatérale, intermédiaire, et médiale.

Ces subdivisions sont observables sur la plus grande longueur rostrocaudale du noyau (Paxinos et Watson, 1986).

L'organisation topographique du noyau facial reflète à la fois l'origine cellulaire des différentes branches nerveuses spécifiques du nerf facial (Semba et Egger, 1986) et la représentation des muscles faciaux individuels (Shohara et Sakai, 1983). On peut noter que certains muscles possèdent une innervation multiple par différentes branches nerveuses, tandis qu'il existe des groupes musculaires qui ne sont innervés que par une seule branche nerveuse (Watson et al., 1982).

Néanmoins, un modèle d'organisation générale apparaît chez plusieurs espèces: les muscles dorsaux sont représentés dorsalement, les muscles ventraux, ventralement, et les muscles de l'axe antéro-postérieur, latéro-médialement (Friauf et Herbert, 1985)

A l'intérieur du noyau facial, les motoneurones innervent:

- le proboscis se situent latéralement,
- les zones péri-orale et péri-orbitaire se situent latéralement,
- les oreilles et le cou se situent médialement.

Au niveau de la subdivision latérale, les motoneurones innervant les muscles intrinsèques des vibrisses dorsales sont localisés dorsalement à ceux innervant les vibrisses situées plus ventralement (Klein et Rhoades, 1985). La position antéro-postérieure des vibrisses individuelles n'est pas organisée myotopiquement à l'intérieur du noyau facial.

D'autres muscles innervés par le nerf facial, comme le muscle digastrique postérieur, le muscle stylohyoïdien, et le muscle stapédien (muscles qui ne sont pas impliqués dans l'expression faciale) sont innervés par des motoneurones situés à l'extérieur du noyau moteur principal, dans le noyau facial accessoire (Acs7).

La localisation du noyau facial accessoire, dorsal à la terminaison rostrale du noyau facial, place ses cellules à peu près en continuité avec les motoneurones du nerf trijumeau innervant le ventre antérieur du digastrique, avec lesquels ils partagent des caractéristiques fonctionnelles et morphologiques communes (Szekely et Matesz, 1982).

Dans ce noyau accessoire, les motoneurones innervant le muscle stylohyoïdien sont situés ventralement à ceux innervant le ventre postérieur du digastrique.

### **-Cytoarchitecture et architecture dendritique**

Les neurones du noyau facial ont une forme multipolaire, avec un diamètre variable de 15 à 55µm. Au sein de ce noyau, la population cellulaire est estimée à 3400 à 5800 cellules (Friauf et Herbert, 1985).

Bien que les dendrites primaires peuvent s'étendre dans toutes les directions, les champs dendritiques sont spécifiques à chaque subdivision cytoarchitectonique. Ils sont séparés selon leur fonctionnalités, impliqués dans les fonctions oro-faciales, ou innervant les muscles auriculaires. Néanmoins, les champs dendritiques des neurones peuvent se chevaucher, particulièrement pour les subdivisions latérale et intermédiaire.

Les neurones dans le noyau facial ne sont pas tous des motoneurones. Une minorité des cellules se projettent sur le flocculus cérébelleux qui est impliqué dans le contrôle de l'équilibre (Roste, 1989).

### **2.3.Le noyau moteur dorsal du nerf vague**

Le nerf vague ou pneumogastrique est un nerf complet, il est à la fois moteur, sensitif, sensoriel et végétatif.

Il est le nerf du quatrième arc branchial, c'est à dire du larynx et du laryngo-pharynx. Il contient un important contingent de fibres nerveuses parasympathiques destinées aux viscères thoraciques et abdominaux.

Il est également le nerf de la phonation par ses fibres branchio-motrices (Doyon, 2006).

Les contingents sont formés dans les centres segmentaires du nerf vague au sein du tronc cérébral.

Les fibres branchio-motrices font partie du contingent nerveux viscéral spécial. Elles sont destinées aux muscles du quatrième arc branchial, c'est à dire les muscles du pharynx (muscles constricteur moyen et inférieur du pharynx) ainsi que des muscles du voile du palais et du larynx.

Le centre viscéral spécial du nerf vague est commun avec ceux du nerf glossopharyngien (IX) et du nerf accessoire. Cette colonne unique de motoneurons forme le noyau ambigu, structure analogue aux centres moteurs pluri-segmentaires retrouvés dans la moelle épinière (Prades et al, 1999). Nous ferons l'étude du noyau ambigu à la fin de ce chapitre.

Les neurones viscéro-moteurs sont originaires du noyau moteur dorsal du nerf vague, appelé également noyau cardio-pneumo-entérique. Le noyau est parasympathique et est destiné à l'innervation des viscères thoraciques et de l'abdomen. En tant qu'élément du système parasympathique, l'activité de ce noyau entraîne une bradycardie et stimule la sécrétion gastrique ainsi que le péristaltisme. Il provoque également la constriction des bronches.

A ce titre, le nerf vague possède un très grand rôle neuro-physiologique et est la composante parasympathique la plus importante du tronc cérébral.

Le noyau moteur dorsal du nerf vague reçoit plusieurs types d'afférences supra-segmentaires hypothalamique ou de la formation réticulée.

Il reçoit également des projections des noyaux sensitifs voisins comme le noyau du faisceau solitaire (Pritchard et al, 2002; Rouvière et al, 2002).

Positionné latéralement au-dessus du noyau moteur du nerf hypoglosse, le noyau moteur dorsal du nerf vague forme le trigone vagal du plancher du quatrième ventricule, situé ventralement à ce dernier. Il est formé par un amas de petites cellules cholinergiques.

Les fibres préganglionnaires parasympathiques quittent le noyau moteur dorsal ventro-latéralement pour passer sous le noyau spinal du trijumeau avant de quitter le tronc cérébral en se réunissant à l'autre composante efférente viscérale spéciale du nerf vague (Norton, 2009)

Il est intéressant de noter également que les afférences sensibles du nerf vague concernent les muqueuses du larynx et du laryngo-pharynx. Les fibres nerveuses atteignent le tractus spinal du trijumeau (Cambier et al, 2008). Cette sensibilité est de type extralemniscale et est composée de fibres véhiculant le tact protopathique, la température et la douleur. La sensibilité spéciale concerne la gustation et ces fibres atteignent les noyaux gustatifs du faisceau solitaire (Leblanc et al., 2004).

#### **2.4.Le noyau moteur du nerf hypoglosse**

Le noyau moteur du nerf hypoglosse est disposé sur toute la longueur du bulbe de part et d'autre de la ligne médiane sous le plancher du quatrième ventricule.

Il est responsable de l'innervation des muscles intrinsèques (le muscle longitudinal supérieur, les muscles longitudinaux inférieurs, les muscles verticaux et les muscles transverses) et des muscles extrinsèques (les muscles génioglosse, hypoglosse, styloglosse) de la langue.

#### **-Organisation myotopique**

Il existe quelques motoneurons du VII qui quittent le tronc cérébral en empruntant le nerf hypoglosse pour participer à l'innervation des muscles de la langue. Par contre, les motoneurons innervant le muscle palatoglosse semblent provenir du noyau ambigu, et non de l'hypoglosse (Sokoloff et al, 1992).

Le noyau de l'hypoglosse est constitué par une série de colonnes de neurones orientées longitudinalement, empilées dans le sens dorso-ventral. L'organisation myotopique s'organise selon trois relations anatomiques et fonctionnelles (Uemura-Sumi et al, 1988).

Les neurones protrusifs et rétrusifs sont organisés dans le sens dorso-ventral, les neurones protrusifs étant disposés ventralement et les neurones rétrusifs disposés dorsalement. Les axones des motoneurones dorsaux cheminent dans la partie latérale du nerf hypoglosse, et ceux des motoneurones ventraux dans la partie médiane du nerf.

Les neurones innervant les muscles intrinsèques sont disposés médialement aux motoneurones des muscles extrinsèques.

Plus les motoneurones innervent un muscle, ou faisceau musculaire, en position distale, plus ils seront localisés dans la partie caudale de la colonne cellulaire correspondante, à l'exception des motoneurones innervant le muscle génioglosse (Uemura-Sumi et al, 1988).

Les motoneurones des muscles stylo-glosse et hyoglosse sont localisés au niveau du dixième rostral du noyau, dorsalement aux motoneurones innervant le muscle génioglosse qui eux sont situés dans la région ventro-latérale du noyau.

Le groupe de motoneurones innervant le muscle génioglosse s'étend plus caudalement que ne le font les motoneurones innervant le styloglosse et l'hypoglosse, et chevauche les motoneurones innervant le muscle génio-hyoïdien.

Les motoneurones du génio-hyoïdien dépassent le pôle caudal du noyau moteur du XII en un groupe cellulaire localisé ventro-latéralement à ce noyau.

Des preuves recevables suggèrent que les motoneurones des muscles intrinsèques de la langue siègent au sein du noyau du XII de manière contiguë aux motoneurones innervant des muscles extrinsèques embryologiquement proche ou bien physiologiquement proche.

Les dendrites des motoneurones du styloglosse s'arborescent largement en caudal de leur corps cellulaire dans la division dorsale du noyau, à savoir dans les sites susceptibles de chevaucher les motoneurones longitudinaux.

Les motoneurones innervant les muscles intrinsèques qui allongent la langue lors des mouvements protrusifs (muscles verticaux et horizontaux) se retrouvent en position médiane

au niveau du noyau moteur et de manière contiguë aux motoneurones innervant les muscles protrusifs, en particulier le muscle génioglosse (Uemara-Smith et al., 1988; Sokoloff et Deacon, 1992).

Le marquage immunohistochimique des variétés de neurotransmetteurs, leurs précurseurs ou dérivés, délimite les divisions musculotopiques du noyau moteur.

- Par exemple, le marquage des catécholamines par tyrosine-hydroxylase se retrouve tout au long du noyau mais est particulièrement dense dans le quadrant ventromédial de la moitié caudale de ce dernier (Aldes et al., 1988b).

- Le marquage de la sérotonine 5-HT est, quant à lui, particulièrement dense dans la division dorsale des deux tiers caudaux du noyau et dans la région ventrolatérale, au dessus des motoneurones innervant le muscle génio-hyoïdien.

- Les marquages immunohistochimiques de l'enzyme de conversion de la dopamine- $\beta$ -hydroxylase et de la phenyl-ethanolamine marquent préférentiellement la région ventromédiale du noyau et le marquage de l'adénosine déaminase est limité à la division dorsale (Senba et al., 1987). L'adénosine fonctionne dans la neurotransmission ou comme neuromodulateur.

## **-Morphologie des neurones**

Le noyau moteur du nerf hypoglosse contient, chez la souris, en moyenne 3 500 neurones. Dans la grande majorité, il s'agit de motoneurones, mais il existe aussi quelques interneurones.

Les motoneurones sont différents en fonction des régions du noyau, tant dans leur forme, leur taille que dans l'orientation de leurs dendrites (Boone et al., 1984b; Cooper, 1981; Kitamura et al., 1983).

En effet, les motoneurones présents dans la partie dorsale du noyau ont une apparence fusiforme, orientés dans le sens médio-latéral avec une longueur variant de 17  $\mu\text{m}$  à 40  $\mu\text{m}$ .

Les motoneurones de la région centrale ont une forme plus globulaire, avec un diamètre variant de 17  $\mu\text{m}$  à 30  $\mu\text{m}$ , et ceux de la région ventrale sont de type multipolaire et légèrement plus volumineux (diamètre de 35  $\mu\text{m}$  à 50  $\mu\text{m}$ ).

Le diamètre des cellules est en moyenne de 28,7  $\mu\text{m}$  dans la partie ventrolatérale, ce qui exclut la présence de motoneurones  $\gamma$  (Kitamura et al., 1983), la microdissection des muscles génioglosse et longitudinaux démontre la présence de quelques fuseaux neuromusculaires (O'Reilly et al., 1990; Smith, 1989).

Ces motoneurones sont essentiellement cholinergiques, cependant des études démontrent une présence de cellules GABAergiques (Davidoff and Schultz 1988) et des marquages immunohistochimiques colorent une sous-population de motoneurones. Le marquage de l'AChE met également en évidence les motoneurones de ce noyau. De même la galanine et la CGRP sont identifiés dans les distributions coextensives et qui se chevauchent des motoneurones de ce noyau mais pas dans les mêmes neurones (Moure, 1989).

Les interneurones du noyau moteur du nerf hypoglosse ont été initialement identifiés comme des cellules non marquées par l'injection de peroxydase de radis noir (HRP) dans les muscles de la langue (Bones et al., 1984b).

Ces neurones de petite taille, entre 10  $\mu\text{m}$  et 18  $\mu\text{m}$ , possèdent beaucoup moins de dendrites que les motoneurones. Ils se situent sur les bords dorso et ventro-latéraux du noyau.

Au niveau ultrastructural, ce sont des petites cellules possédant un noyau invaginé et un petit cytoplasme par rapport aux motoneurones qui contiennent un large noyau rond centré et un abondant cytoplasme. Des études ont montré la présence de multiples synapses axodendritiques entre les interneurones et les motoneurones (Takasu et al, 1988). Ces interneurones auraient une activité GABAergique, comme le suggèrent des études par absorption radioactive et marquage immunohistochimique de GABA et de son précurseur enzymatique l'acide glutamique décarboxylase (GAD) (Simon et al., 1985; Takasu et al., 1987). Le marquage de GABA et GAD sont retrouvés au sein de l'ensemble du noyau, cependant la coloration est plus dense dans la région ventrale de ce noyau, particulièrement dans sa moitié caudale (Aldes et al., 1988c). Quelques neurones marqués comme étant GABAergiques sont localisés latéralement au sein du noyau et le long de son bord dorso latéral, c'est à dire dans la même position que les interneurones identifiés par HRP. Ces neurones marqués par la coloration du GABA sont petits (12 - 18 um) ronds et en petits nombres. Ainsi, il est certain que le noyau contient une petite population d'interneurones et que ces interneurones sont probablement GABAergiques. Toutefois, il est encore difficile de savoir si ces interneurones reçoivent les collatérales d'axones des motoneurones excitateurs se comportent comme les cellules de Renshaw de la moelle épinière ou si les terminaisons synaptiques de ces cellules dérivent exclusivement de sources externes (Takasu et al., 1988).

### **-Architecture dendritique**

Les neurones peuvent être classés en deux groupes en fonction de leur architecture dendritique. Les cellules dont les dendrites cheminent hors des limites du noyau peuvent être qualifiées d'externes et celles dont les dendrites sont confinées au sein du noyau peuvent être qualifiées d'interne. Les dendrites des cellules de la division dorsale sont des deux types (externe et interne). Les dendrites "externes" peuvent atteindre 1mm de longueur, dans la formation réticulée, et peuvent atteindre le faisceau longitudinal médian et le noyau du raphé obscur, le noyau Sp5 ou encore le noyau du tractus solitaire ipsilatéral et pour une infime partie d'entre eux, le noyau du tractus solitaire controlatéral, en traversant le noyau moteur dorsal du nerf vague. Des dendrites d'interneurones cheminent également jusqu'au noyau controlatéral (Wan et al, 1982).

Il existe dans le noyau moteur du nerf hypoglosse deux zones particulièrement denses en dendrites, la partie dorsale du noyau (ventralement au noyau du X) et la partie centrale du noyau autour du canal central.

## **2.5.Le noyau ambigu**

Le noyau ambigu réunit les motoneurones du nerf vague (X), du nerf glosso-pharyngien (IX), ainsi que de la portion crânienne du nerf accessoire (XI). Ce noyau reçoit des afférences supra-segmentaires des hémisphères cérébraux par un faisceau cortico-nucléaire. De plus, il reçoit des afférences du noyau spinal trigéminal, et du noyau du faisceau solitaire, participant ainsi à des arcs réflexes au niveau des muqueuses respiratoires et digestives, en déclenchant des réflexes de toux ou de nausée.

Le noyau ambigu donne naissance à des fibres motrices efférentes viscérales du nerf vague se terminant dans les muscles du pharynx, du larynx, et la musculature striée de la partie supérieure de l'œsophage, ainsi que des fibres efférentes motrices pour le nerf glosso-pharyngien (IX) aboutissant sur le muscle stylo-pharyngien. Des études morphologiques et électrophysiologiques ont montré la localisation de neurones laryngés à l'intérieur du noyau ambigu (Yayima et Hayashi, 1983).

Le noyau ambigu est formé par une colonne longitudinale de neurones multipolaires de grande taille situés ventralement au noyau réticulé parvicellulaire, et dorsalement au noyau réticulaire latéral (Bystrzycka et Nail, 1985). Il s'étend de l'extrémité caudale du noyau moteur facial à la décussation pyramidale. Bien que classiquement décrit comme étant composé des motoneurones qui innervent les muscles du larynx et du pharynx (Kalia et Sullivan, 1982; Portillo et Pa'saro, 1988a), il comporte également des neurones parasympathiques qui innervent les viscères thoraciques et abdominaux, ainsi que d'autres neurones qui se projettent sur la moelle épinière (Stuesse et Powell, 1982).

Ce noyau est divisé en plusieurs sous-noyaux:

-le noyau rétro-facial est la division la plus rostrale. Il est formé d'étroits groupes cellulaires, qui innervent les muscles du pharynx, du larynx, et de l'œsophage. Cette subdivision s'étend en longeant l'axe du bord postéro-dorsal du noyau facial, environ 700µm en caudal de celui-ci (Bieger et Hopkins, 1987; Portillo et Pasaro, 1988 b);

-la division rostrale du noyau ambigu. Située de façon caudale et contiguë au noyau rétro-facial, ce sous-noyau est formé d'une colonne de cellules d'une taille légèrement supérieure, et moins regroupées que celles se trouvant dans la division précédente. Les neurones s'y trouvant innervent les muscles du pharynx et du larynx. Des neurones parasympathiques, ainsi que des neurones bulbospinaux ont été décrits dans les environs de la formation réticulée environnante. Ainsi, cette division du noyau ambigu s'étend en rostral jusqu'à l'obex.

-la division caudale du noyau ambigu, est adjacente à la partie rostrale du noyau, sans posséder de limites distinctes. Elle est formée par un groupe de neurones multipolaires, de taille moyenne, qui innervent les muscles du larynx.

Des neurones respiratoires ont été localisés au niveau de l'aire péri-ambigüe (Ezure et al., 1988). De plus des afférences en relation avec les fonctions respiratoires, telles que les barorécepteurs, les chémorécepteurs, et les récepteurs de l'étirement pulmonaire convergent vers le noyau solitaire latéral et dans le noyau médial parabrachial, ainsi que dans le noyau de Kolliker-Fuse (Ross, 1985; Saper et Loewy, 1980). Ainsi, la formation externe du noyau ambigu envoie des fibres produisant une broncho-constriction, pouvant entraîner une diminution du débit aérien bronchique pulmonaire.

De plus ce noyau possède des neurones parasympathiques cholinergiques pour le coeur assurant des changements rapides de la pression artérielle par une contraction des artéioles, et des contractions cardiaques plus rapides et puissantes.

C'est à travers le système sympathique provenant du centre vasomoteur du tronc cérébral, et des projections parasympathiques provenant du noyau ambigu, et du noyau moteur dorsal du nerf vague, que les informations entraînant une diminution de l'activité cardiaque, en réponse à l'augmentation rapide de la pression artérielle, sont transmises.

La localisation des structures décrites précédemment est illustrée dans le schéma ci-dessous:

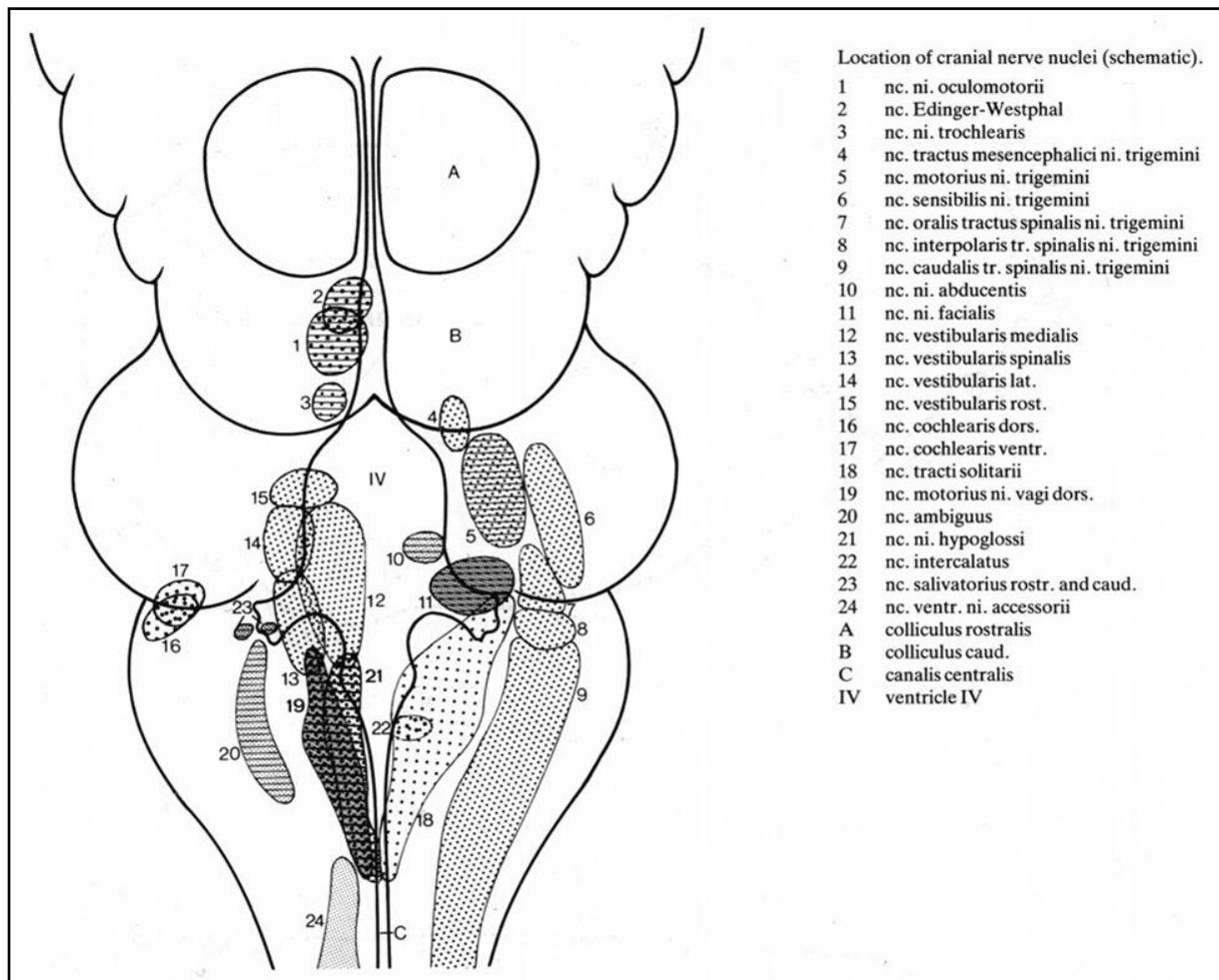


Figure 13: Localisation des noyaux des nerfs crâniens chez la souris

(Hebel et al., 1986)

Florent CHAPUIS

**INCIDENCE DE LA VOIE DE SIGNALISATION DE LA RÉELINE  
SUR L'ORGANISATION DU SYSTÈME NERVEUX ET DES  
MUSCLES IMPLIQUÉS DANS LES FONCTIONS  
MANDUCATRICES: ÉTUDE MORPHOLOGIQUE CHEZ LA  
SOURIS *SCRAMBER (DAB 1)***

## **2.Étude morphologique des structures encéphaliques impliquées dans le système manducateur chez la souris *scrambler***

La description détaillée de ces centres segmentaires chez la souris normale va nous servir de point de départ pour l'observation comparative des noyaux de la souris *scrambler* caractérisée par des défauts de migration.

L'observation des cellules en microscopie optique est possible par coloration des coupes au crésyl violet. Nous en avons présenté les principes et la technique dans un chapitre reporté à la fin de la thèse (cf. Annexe).

### **2.1.Le noyau moteur du nerf facial (VII)**

Les photographies présentent le noyau moteur du nerf facial sur une coupe frontale chez les souris contrôle et *scrambler* (Fig.15), afin d'évaluer les différences morphologiques. Ainsi nous avons pu noter les résultats suivants:

Chez la souris contrôle, ce noyau (Fig.14) s'étend en rostro-caudal sur une longueur de 650µm-700µm; situé au deux tiers d'un axe médio-latéral en bordure ventrale du tronc cérébral. Dans le sens ventro-dorsal, il s'étend sur le quart de la hauteur du tronc cérébral sur une hauteur de 500µm-600µm. Ce noyau a une forme hémisphérique, à base ventrale. Il est orienté selon un axe ventro-latéral à dorso-médian. Ses contours sont nets. Les subdivisions fonctionnelles du noyau sont bien délimitées.

Chez la souris *scrambler* bien que ce noyau soit situé aux deux tiers de l'axe médio-latéral, conformément à la souris contrôle, il s'étend bien au delà du quart de la hauteur de tronc cérébral, atteignant les deux tiers de cette hauteur, soit environ 1200µm.

Le noyau semble donc étiré selon l'axe vertical ventro-dorsal.

L'orientation selon le grand axe ventro-latéral à dorso-médian est préservé, mais quelques différences sont observées:

-la forme hémisphérique n'est pas retrouvée, et ce noyau prend plus une forme ovale. Les groupes cellulaires sont beaucoup plus étirés selon l'axe décrit ci-dessus.

-les contours sont mal délimités et diffus. Toutefois, les subdivisions fonctionnelles sont reconnaissables.

La surface occupée par ce noyau est en moyenne 80% plus grande chez la souris *scrambler* que chez la souris contrôle. Cette augmentation de surface est due à un allongement du noyau dans l'axe ventro-dorsal, tandis que dans l'axe medio-latéral ses dimensions restent constantes. Cette modification de surface entraîne une diminution de la densité cellulaire.

Les neurones présentent une forme multipolaire identique dans les deux populations de souris. Cependant, leur taille semble varier selon les mesures que nous avons pu effectuer. Une diminution de l'ordre de 13% est observée chez la souris mutante. Cette différence de taille est statistiquement significative (P=0,048).

	contrôle	<i>scrambler</i>		différence (%)
Taille des neurones (en $\mu\text{m}$ )	24,1 $\pm$ 4,9	21,3 $\pm$ 4	P=0,048	13

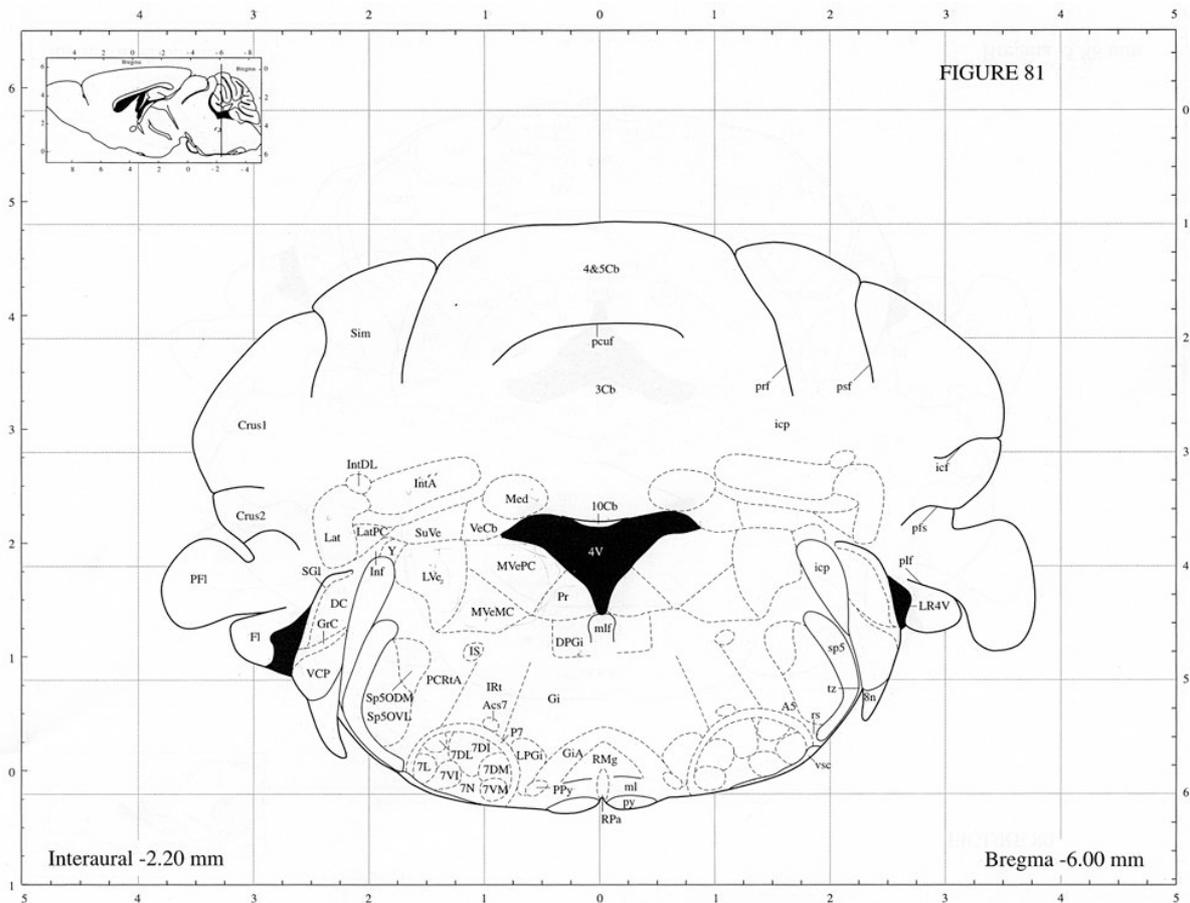
Les résultats obtenus nous montrent une nette altération morphologique du noyau moteur du nerf facial chez la souris *scrambler*. On note particulièrement un allongement de ce dernier le long de l'axe vertical, représentant l'axe de migration des cellules lors de l'embryogenèse. À l'observation, les cellules sont en densité plus faible au sein du noyau qui apparaît comme étiré, entraînant une répartition plus éparse des cellules, limitant de manière imprécise le noyau. La limitation de la migration détermine une absence de colonisation de la bordure ventrale du tronc cérébral, limite atteinte chez la souris contrôle.

La taille des motoneurones est modifiée. Les motoneurones  $\alpha$  présentent des caractéristiques en fonction des unités motrices qu'ils innervent. Les motoneurones des unités motrices rapides sont généralement de taille plus importante et ils présentent des axones à conduction plus rapide que les motoneurones des unités lentes qui sont de diamètre plus petit et ont des axones à vitesse de conduction plus lente. Nos résultats ont montré que les cellules du noyau moteur du nerf facial étaient plus petites. On peut supposer qu'elles innervent des unités motrices plus petites caractérisées par des potentiels d'action réguliers à relativement basse fréquence.

Terashima et collaborateurs en 1993, ont étudié l'organisation musculotopique du noyau facial, à l'aide de l'HRP, chez la souris *reeler*. Ces auteurs ont montré que la représentation

musculotopique était conservée chez la souris *reeler*, bien que les différents groupes musculaires dans les sous-noyaux soient mal limités.

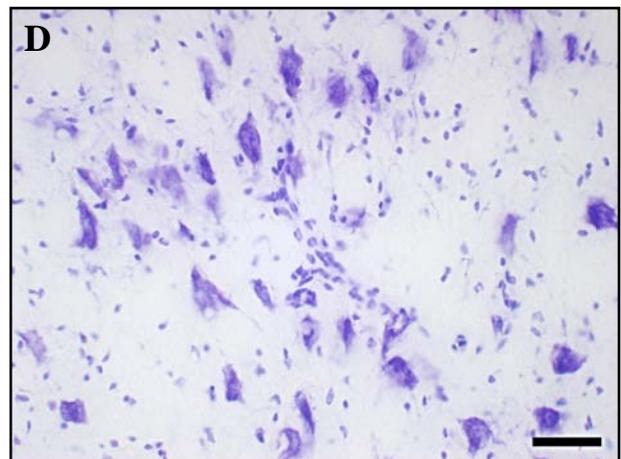
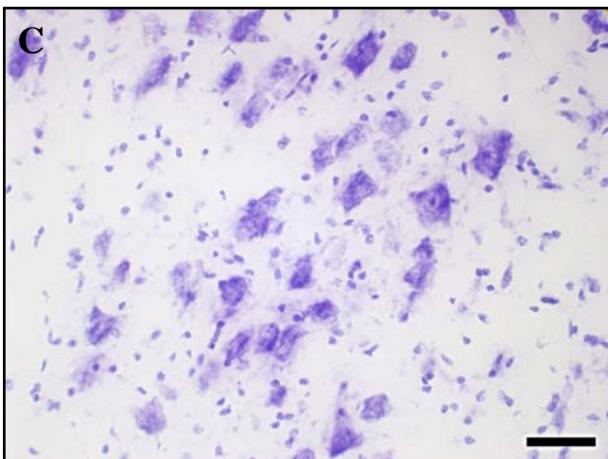
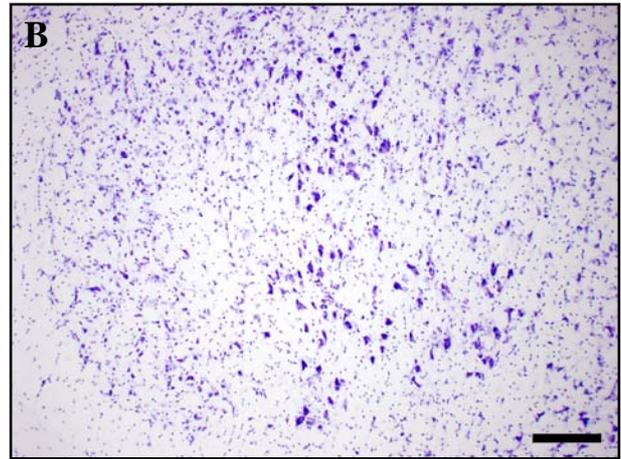
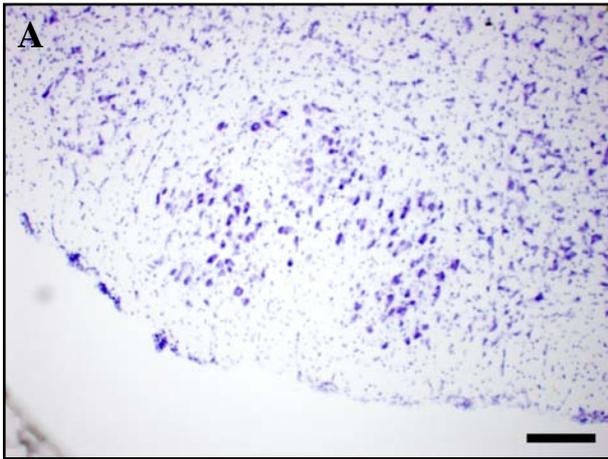
Des altérations de morphologie et de position de noyau moteur du nerf facial sont observées à la fois chez les souris *reeler* et *scrambler*, indiquant que l'altération de la voie de signalisation réeline/*dab1* entraîne une anomalie de position cellulaire. De plus nos analyses ont démontré une diminution statistiquement significative de la taille des neurones chez la souris *scrambler*, pouvant avoir pour cause cette anomalie de positionnement et pouvant signer une modification fonctionnelle.



3Cb 3rd	Cerebell lobule	10Cb	10th Cerebell facial nu	icp	inferior cerebell pedunc
4&5th Cerebell lob	Cerebell lobule	Acs7	accessory facial nu	Inf	infracerebell nu
4V	4th ventric	Crus1	crus 1, ansiform lob	IntA	interpos Cb nu, ant
<b>7DI</b>	<b>facial nu dors intermed</b>	Crus2	crus 2, ansiform lob	IntDL	interpos Cb nu, dl
<b>7DL</b>	<b>facial nu, dorsolat</b>	DC	dors cochlear nu	Irt	intermed retic nu
<b>7DM</b>	<b>facial nu, dorsomed</b>	DMSp5	dorsmed spin 5 nu	IS	inferior salivatory nu
<b>7L</b>	<b>facial nu, lat</b>	DPGi	dors paragigantcell nu	Lat	lat (dentate) cerebell nu
<b>7N</b>	<b>facial nu</b>	Fl	flocculus	LatPC	lat Cb nu, parvicell
<b>7VI</b>	<b>facial nu, vent intermed</b>	Gi	gigantocell retic nu	LPGi	lat paragigantcell nu
<b>7VM</b>	<b>facial nu, ventmed</b>	GiA	gigantocell retic nuclei	LR4V	lat recess, 4th ventric
8n	vestibulocochlear nerve	GrC	gran Ir cochlear nuclei		
A5	noradrenaline cells	icf	intercrural fissure		

Figure 14: Schéma de la coupe cérébrale en Bregma -6.00mm chez la souris,

(Paxinos et al., 2004)



*Figure 15; Noyau moteur du nerf facial (7N) marquage au crésyl violet,*

*(A,C) Souris contrôle, (B,D) Souris scrambler,*

*Barre d'échelle = 200 $\mu$ m (A,B), 50 $\mu$ m (C,D).*

## 2.2. Le noyau moteur du nerf trigéminal (V)

Les photographies (Fig.17) présentent le noyau moteur du nerf trigéminal (V) sur une coupe frontale chez les souris contrôle et *scrambler*, afin d'évaluer les différences morphologiques. Ainsi nous avons pu noter les résultats suivants:

Dans le plan ventro-dorsal, la localisation de ce noyau est identique entre les deux populations de souris, c'est-à-dire à la moitié de l'axe ventro-dorsal du tronc cérébral. Il est étendu suivant l'axe rostro-caudal sur une surface de 600µm environ.

On observe une atrophie des structures adjacentes à ce noyau et plus particulièrement du cervelet qui a perdu sa lamination et est réduit à une lame horizontale.

Ce noyau a une forme ovalaire orientée selon un grand axe ventro-dorsal, sur une hauteur d'environ 750µm.

Les noyaux observés chez la souris *scrambler* présentent une morphologie comparable à celle observée chez la souris normale. Cependant, la forme du noyau semble différente, en effet, chez la souris contrôle, le noyau est allongé suivant un grand axe orienté vers le haut (dorsal) et en dedans (médian).

Chez la souris *scrambler*, la forme du noyau est plus arrondie, plus large et semble moins haute.

La surface occupée par l'ensemble du noyau semble équivalente quantitativement chez les 2 souris.

La coloration au crésyl violet, nous permet d'observer que :

-les cellules semblent identiques en forme, de type multipolaire.

-les cellules présentent un soma de taille réduite chez la souris *scrambler* de l'ordre de 20%. Cette différence n'est pas significative.

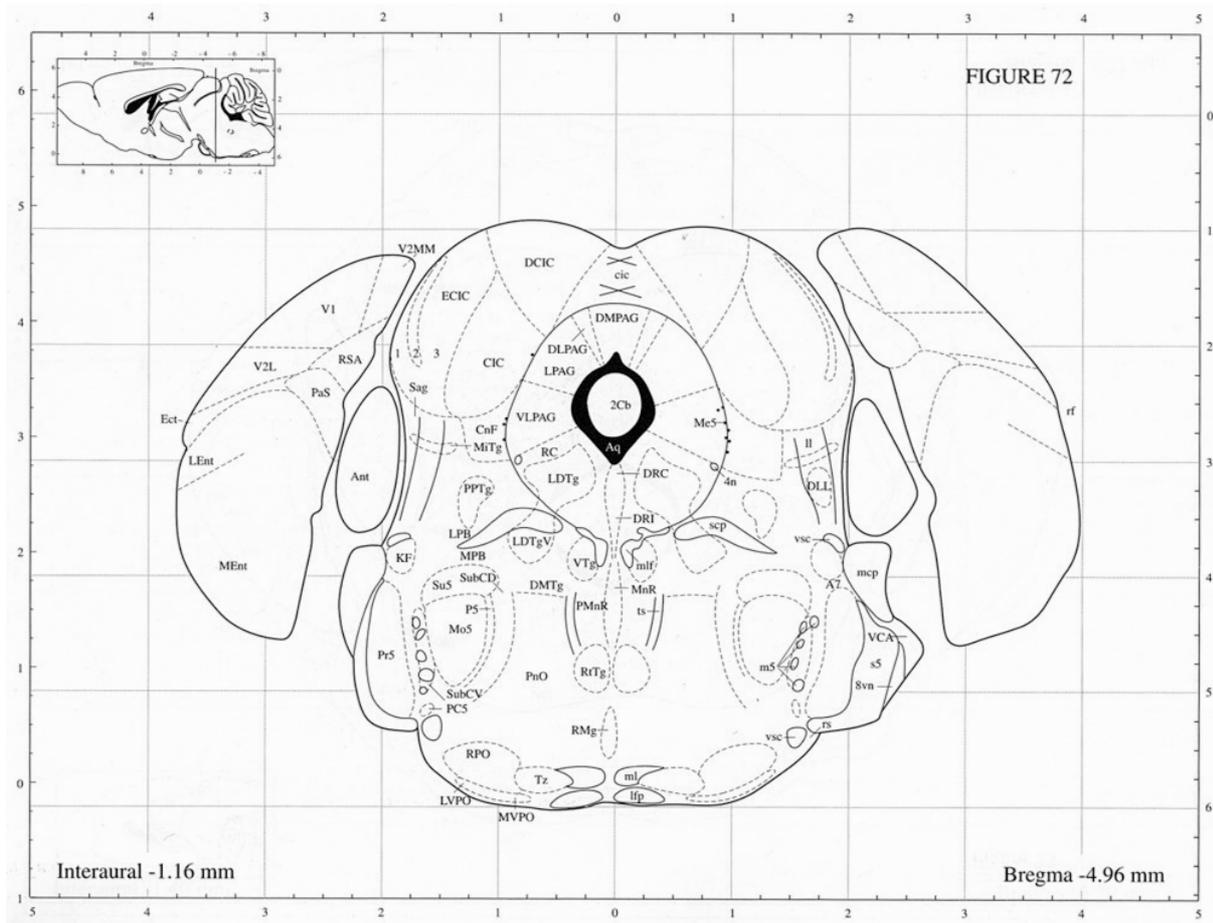
	contrôle	<i>scrambler</i>		différence (%)
Taille des neurones (en µm)	28 ± 3.85	23,3 ± 3.98	P=0,1218	18

En conclusion, on ne note pas de différence notable de morphologie entre la souris *scrambler* et la souris contrôle en ce qui concerne le noyau moteur trigéminal. La position, la surface et la forme du noyau semblent conservées chez la souris mutante.

La taille des neurones est légèrement réduite chez la souris *scrambler*, mais cette différence n'est pas statistiquement significative ( $P > 0,05$ ).

Une étude sur l'organisation musculotopique du noyau moteur trigéminal de la souris *reeler* à été réalisée précédemment (Terashima et al., 1994). Les résultats ont été obtenus par marquage rétrograde à l'HRP, injectée dans différents muscles masticateurs, afin d'observer une éventuelle malposition des motoneurons de ce noyau chez la souris *reeler*. Cette étude conclut sur l'absence de différence notable entre la souris *reeler* et la souris contrôle en ce qui concerne l'organisation musculotopique du noyau moteur du nerf trigéminal.

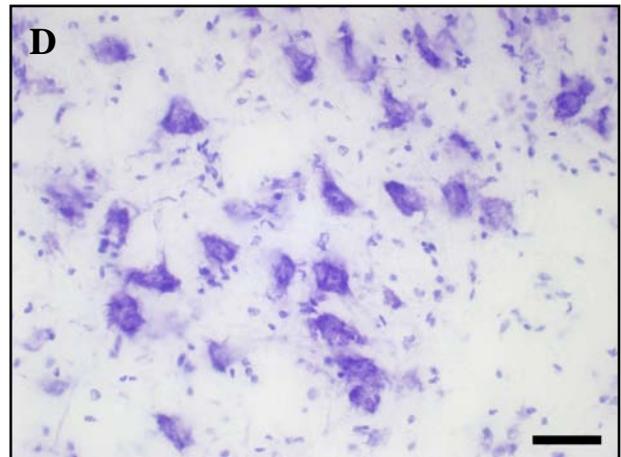
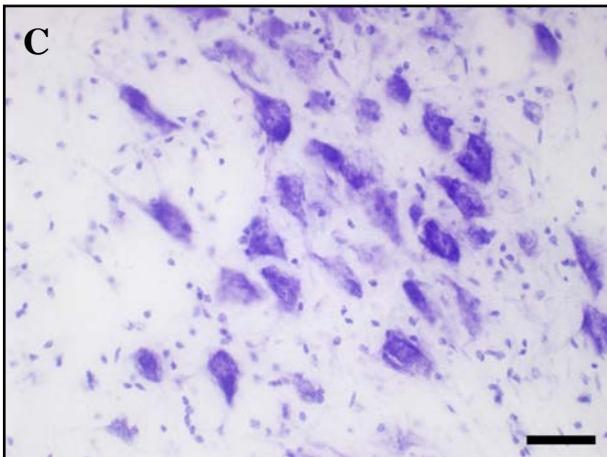
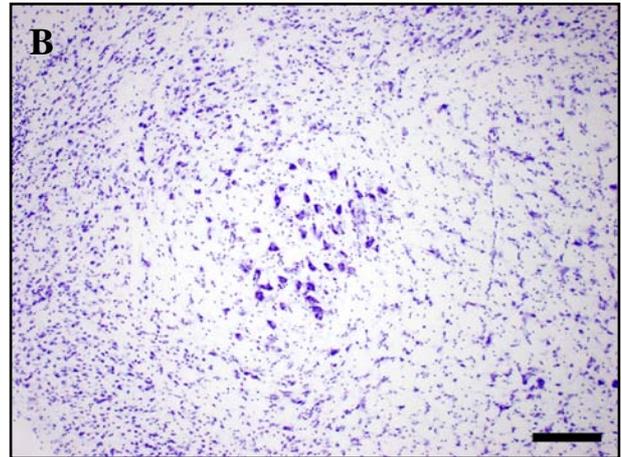
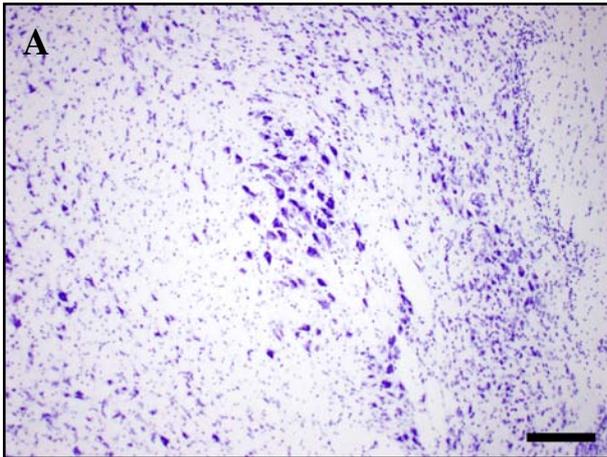
Il semble que ce soit également le cas de la souris *scrambler*, permettant d'émettre l'hypothèse que la migration neuronale du noyau moteur du trijumeau lors de l'embryogenèse emprunte une autre voie de signalisation que celle de la réeline/Dab1.



ml	med lemnisc	Pr5	princip sensory 5 nu	SubCD	subcoerul nu dors
mlf	med longitud fascic	PRh	perirhinal cortex	subCV	subcoerul nu vent
MnR	median raphe nu	Rbd	rhabdoid nu	SuG	superfic gray lr sup coll
Mo5	motor trigeminal nu	RC	raphe cap	TeA	temporal assoc cortex
MPB	med parabrach nu	rf	rhinal fissure	ts	tectospinal tr
MVPO	mediovent perioliv	RMg	raphe magnus nu	Tz	nu, trapezoid body
Op	optic n lr sup coll	RPO	rostral perioliv	V1	primary visual cortex
P5	peritrigeminal zone	rs	rubrospinal tr	V2L	2nd visual cx, lat area
PaS	parasubiculum	RSA	retosplenial agan cx	V2MM	2nd vis cx, medmed
PC5	parvicell mot 5 nu	RtTg	reticuloteg nu, pons	VCA	vent cochlear nu, ant
PL	paralemniscal nu	s5	sensory root, 5 n	VLPAG	ventlat PAG
PMnR	paramed raphe nu	Sag	sagulum nu	vsc	ventspinocerebell tr
PnO	pontine retic nu, oral pt	scp	sup cerebell pedunc	VTg	vent tegment nu
PPTg	pedunculopont teg nu	Su5	supratrigeminal nu	Zo	zonal lr sup coll

Figure 16: Schéma de la coupe cérébrale en Bregma -4.96 mm chez la souris

(Paxinos et al., 2004)



*Figure 17: Noyau moteur du nerf trigéminal (5N) marquage au crésyl violet,*

*(A,C) Souris contrôle, (B,D) Souris scrambler;*

*Barre d'échelle = 200 $\mu$ m (A,B), 50 $\mu$ m (C,D).*

### 2.3. Le noyau mésencéphalique du nerf trigéminal (V)

Les photographies (fig.19) mettent en évidence le noyau mésencéphalique du nerf trijumeau chez les souris contrôle et *scrambler*, afin d'observer les différences morphologiques. Ainsi, nous avons pu noter les résultats suivants:

Le noyau mésencéphalique du nerf trijumeau est visualisable à partir des coupes situées entre 4,16mm et 5,68mm en arrière du point Bregma, s'étendant ainsi sur une distance rostro-caudale d'environ 1500µm. Il s'arrête aux limites latérales de la substance grise périaqueducule et se poursuit en caudal en prenant une direction ventrale, pour se terminer latéralement au locus coeruleus. Cette localisation est identique chez les deux types de populations de souris.

Il est mal défini, sans limites distinctes. Il est formé par un cordon de cellules réparties de façon similaire chez les deux types de souris, en chapelet formant des groupes cellulaires.

Si le noyau mésencéphalique du nerf trijumeau est mal individualisé, les cellules sont facilement reconnaissables car très fortement colorées au crésyl violet et de gros diamètre.

Les cellules observées sont de type pseudo-unipolaire, de forme ronde ou ovale. La mesure de leur diamètre a montré des tailles moyennes de 32 et 31 µm respectivement pour les souris contrôle et *scrambler*, sans différence significative entre les deux groupes de souris.

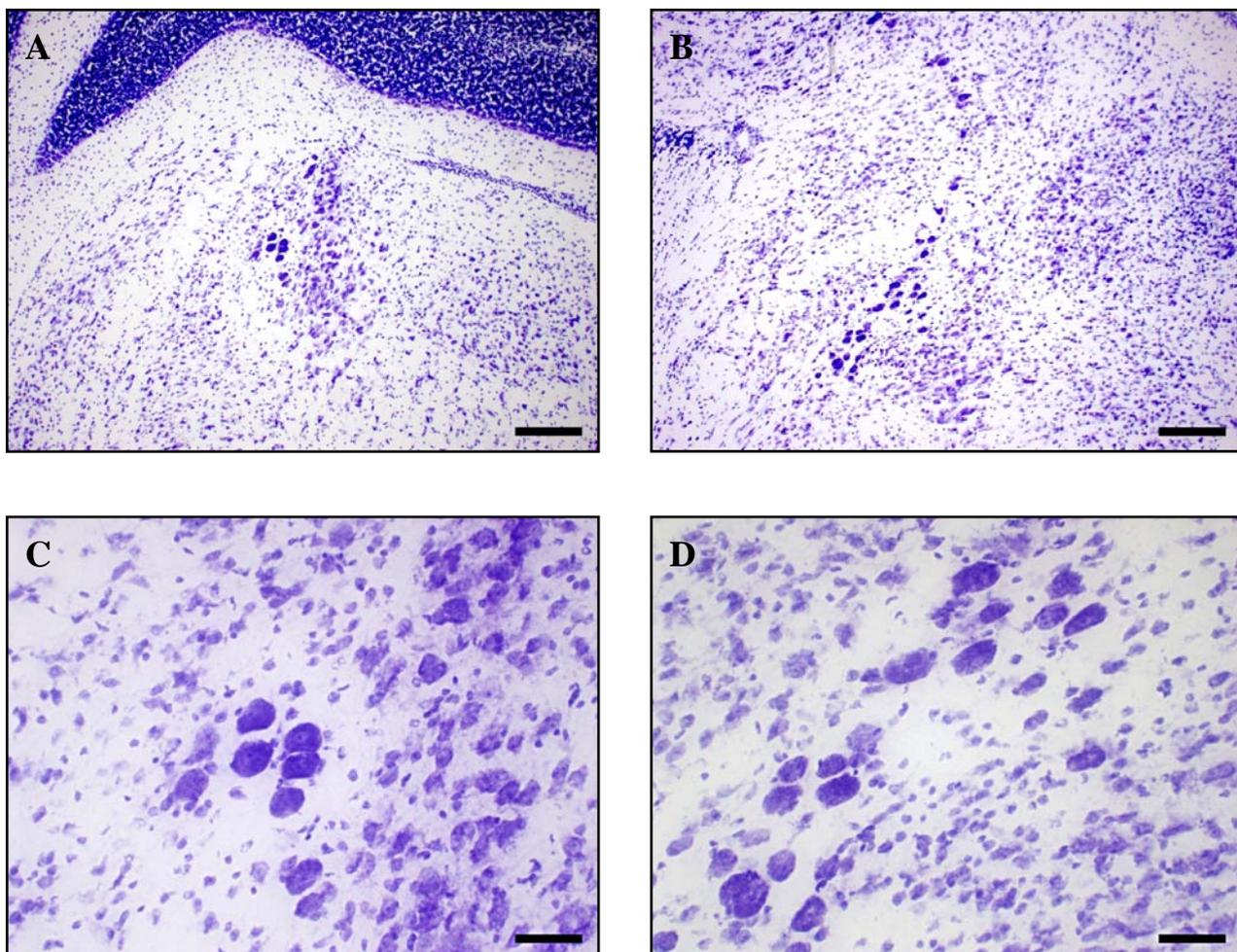
	contrôle	<i>scrambler</i>		différence (%)
Taille des neurones (en µm)	32,35 ± 3,67	30,67 ± 2,79	P=0,2278	5
Nombre de cellules	61,9 ± 4,1	48,3 ± 3,2	P=0,0202	-33

Une estimation cellulaire a été faite sur l'ensemble de la population des souris au microscope au grossissement x20, elle était aisée car les cellules étaient parfaitement identifiables. Entre trois et six coupes ont été utilisées pour chaque souris. Les résultats ont montré une diminution de 33% du nombre de cellules chez la souris *scrambler*.

En résumé, lors de nos observations, nous n'avons pas constaté de différence notable de morphologie entre la souris contrôle et la souris *scrambler* du noyau mésencéphalique du nerf trigéminal. Le nombre des cellules est diminué et bien que leur taille semble réduite, cette différence entre *scrambler* et contrôle n'est pas statistiquement significative (P>0,05).

Pour la souris *reeler*, une étude réalisée par Terashima en 1996 à l'aide d'injection de traceurs rétrogrades injectés dans les muscles masticateurs, a montré que les neurones proprioceptifs innervant les fuseaux neuromusculaires sont dispersés tout le long de leur chemin de migration neuronale, en une longue chaîne cellulaire, diminuant la quantité des cellules localisées dans la partie pontique du noyau. Une semblable répartition est observée chez la souris *scrambler*, suggérant un phénomène similaire.





*Figure 19: Noyau mésencéphalique du nerf trigéminal (Me5) marquage au crésyl violet,*

*(A,C) Souris contrôle; (B,D) Souris scrambler,*

*Barre d'échelle= 200 $\mu$ m (A,B) 50 $\mu$ m (C,D).*

## 2.4. Le noyau ambigu (Amb)

Les photographies présentent le noyau ambigu (fig.21) sur une coupe frontale chez les souris contrôle et *scrambler*, afin d'évaluer les différences morphologiques. Ainsi, nous avons pu noter les résultats suivants:

Le noyau ambigu est un petit noyau observable sur les coupes situé à 6,84mm en arrière du point Bregma. Il se localise à mi-distance entre la ligne médiane et la limite latérale du bulbe rachidien, et au tiers ventral de la hauteur du tronc cérébral dans le sens ventro-dorsal.

Chez la souris contrôle, le noyau est de forme ovoïde (250µm de diamètre environ), bien délimité, orienté suivant un grand axe oblique dorso-médian légèrement étiré dans sa partie ventrale.

La localisation de ce noyau est semblable dans les deux groupes de souris. Par contre, pour la souris *scrambler*, le noyau est fusiforme, comme étiré selon l'axe présent chez la souris contrôle. De plus, il présente une densité moindre par rapport à la souris contrôle, et ses cellules semblent plus dispersées. Une quantification cellulaire est nécessaire afin d'appréhender la perte cellulaire au sein de la zone principale.

Le noyau ambigu est formé par une colonne longitudinale de neurones multipolaires. La morphologie de ces derniers est similaire chez les deux types de souris. Les forts grossissements renseignent sur le caractère dispersé des cellules.

La taille des neurones chez la souris *scrambler* est réduite par rapport à la souris contrôle, de l'ordre de 16%, cette différence n'est toutefois pas statistiquement significative du fait de la grande variabilité intragroupe.

	contrôle	<i>scrambler</i>		différence (%)
Taille des neurones (en µm)	19,38 ± 2,68	16,71 ± 4,05	P=0,3139	16

Le noyau ambigu présente des altérations morphologiques importantes chez la souris *scrambler*. Le noyau se présente comme étiré le long de son grand axe, qui est également l'axe de migration embryologique des cellules qui le compose. Cette élongation s'accompagne d'une dispersion relativement importante des neurones au sein du tronc cérébral et une délimitation très diffuse du noyau, ce qui semble directement imputable à un défaut de migration cellulaire. La taille réduite des neurones observés chez la souris *scrambler* laisse supposer une altération fonctionnelle de ces derniers.

Une étude effectuée chez la souris *reeler* par marquage rétrograde montre une dispersion neuronale importante au sein du noyau ambigu. Le noyau semble s'étaler le long d'un axe qui rappelle le trajet de migration cellulaire lors de l'embryogénèse, et s'accompagne d'une délimitation moins marquée (Fujimoto et al., 1998). Nous n'avons pas pu faire une évaluation de la taille des neurones, car trop dispersés, et nous n'avons pas pu les différencier de manière spécifique. Un marquage à l'HRP à partir des muscles serait nécessaire pour les identifier.

De la même façon, chez le rat SRK (Shaking Rat Kawasaki), caractérisé également par un déficit en réeline, l'ectopie cellulaire est maximale pour les motoneurones des muscles du larynx et de l'œsophage. La taille des cellules diminuerait pour les muscles du larynx, atteignant une réduction significative de 30% pour le muscle crico-arythénoïdien postérieur (Hirasugi et al., 2007).

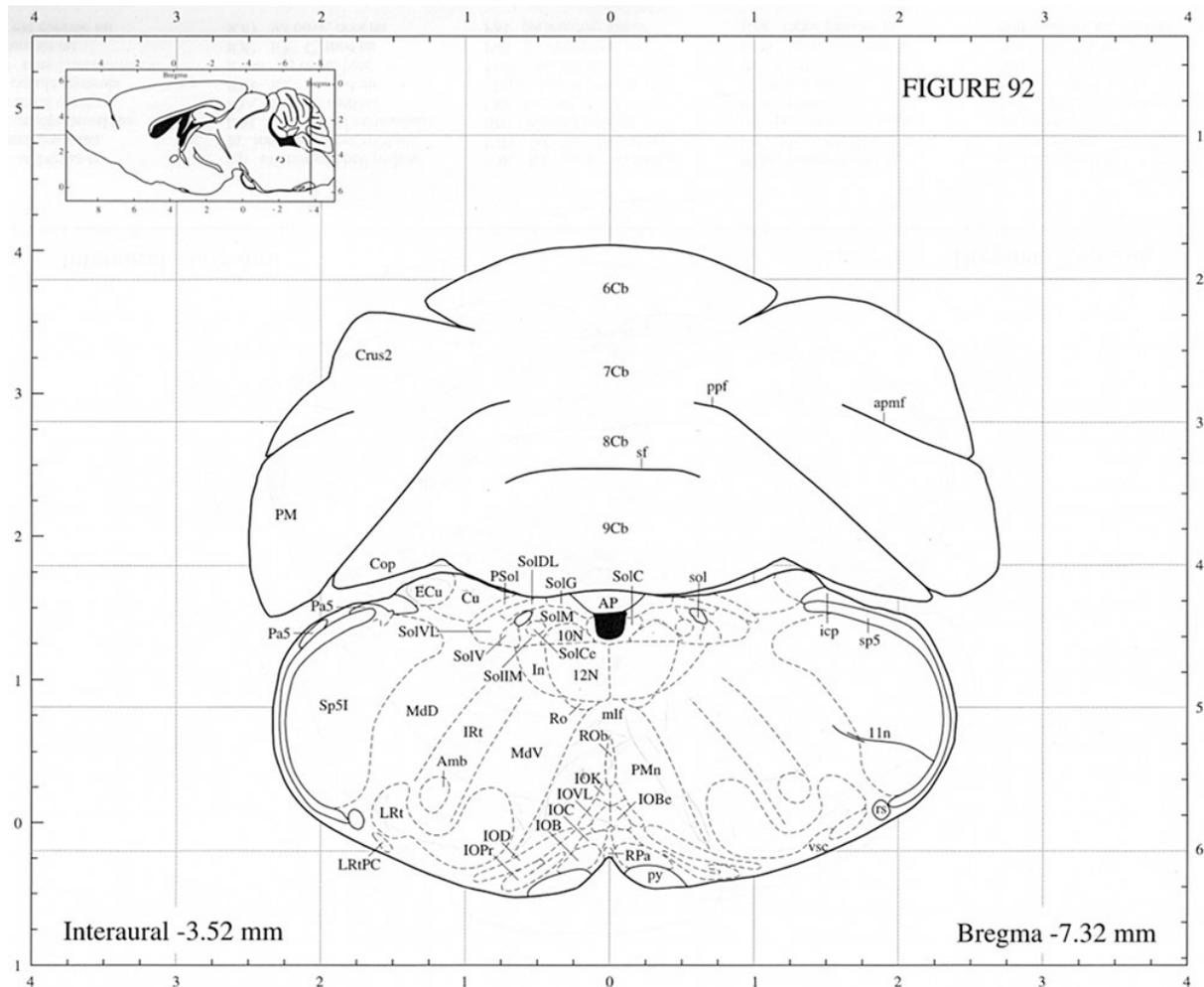
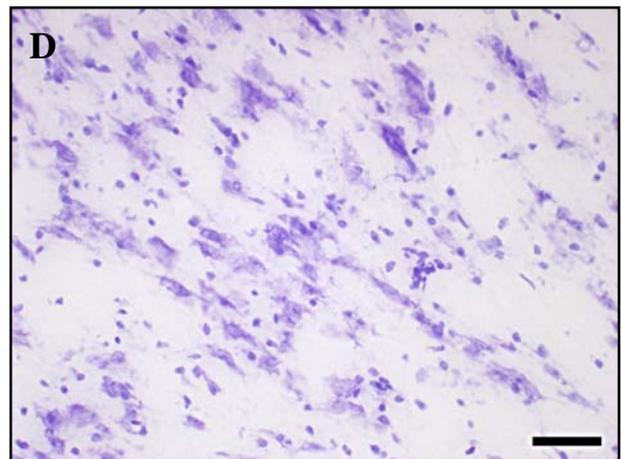
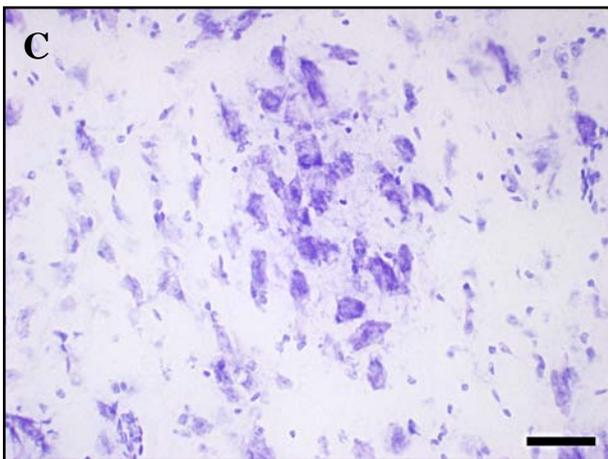
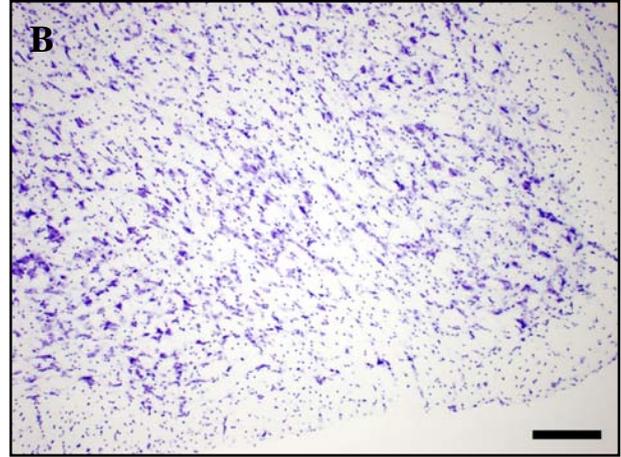
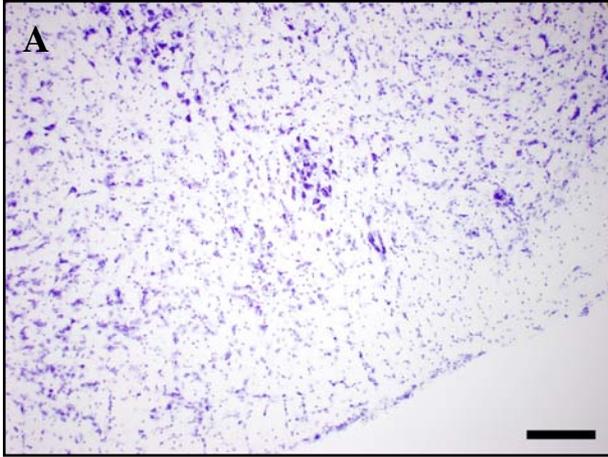


FIGURE 92

6Cb	6th Cerebell lobule	IOB	IO, B, med nu	ROb	raphe obscurus nu
7Cb	7th Cerebell lobule	IOBe	inf olive, beta	RPa	raphe pallidus nu
8Cb	8th Cerebell lobule	IOC	IO, C, med nu	rs	rubrospinal tr
9Cb	9th Cerebell lobule	IOD	inf olive, dors nu	sf	2nd fissure
10N	dors motor nu, vagus	IOK	IO, cap, Kooy, med nu	sol	solitary tr
12N	hypoglossal nu	IOPr	inf olive, princip nu	SolC	solitary nu, comm
A1	A1 noradrenaline cells	IRt	intermed retic nu	SolCe	solitary nu, ce
<b>Amb</b>	<b>ambiguus nu</b>	LRt	lat retic nu, dors	SolDL	sol nu, dorsalat pt
AP	area postrema	MdD	medull retic nu, dors	SolG	solitary nu, gelati
apmf	ansoparamed fiss	MdV	medull retic nu, vent	SolI	solitary nu, intersit
CC	central canal	Pa5	paratrigeminal nu	SolIM	nu solitary tr, intmed
Cop	copula, pyramis	PM	paramedian lobule	SolM	solitary nu, med
Crus2	crus 2, ansiform lob	PMn	paramed retic nu	SolV	sol nu, vent pt
Cu	cuneate nu	ppf	prepyramidal fissure	SolVL	solitary nu, ventlat
Ecu	ext cuneate nu	psf	post superior fissure	sp5	spinal trigeminal tr
icp	inferior cerebell pedunc	Psol	parasolitary nu	Sp5C	spin 5 nu, caud pt
In	intercalated nu, medulla	py	pyramidal tr	Sp5I	spin 5 nu, interpolat
InM	intermedius nu, medulla	Ro	nu, Roller	vsc	vent spinocerebell tr
IOA	IO, A, med nu				

Figure 20: Schéma de la coupe cérébrale en Bregma -7.32 mm chez la souris

(Paxinos et al., 2004)



*Figure 21; Noyau ambigu (Amb) marquage au crésyl violet,*

*(A,C) Souris contrôle; (B,D) Souris scrambler,*

*Barre d'échelle= 200 $\mu$ m (A,B), 50 $\mu$ m (C,D).*

## 2.5. Les noyaux moteur dorsal du nerf vague (X) et de l'hypoglosse (XII)

Les photographies présentent le noyau moteur dorsal du nerf vague, et le noyau moteur de l'hypoglosse (fig.23) sur une coupe frontale chez les souris contrôle et *scrambler*, afin d'évaluer les différences morphologiques. Ainsi, nous avons pu noter les résultats suivants:

Ces noyaux sont observables sur les coupes frontales postérieures à 7,20mm en arrière du point Bregma.

Le noyau du nerf hypoglosse (XII) se situe sous le quatrième ventricule, de part et d'autre de la ligne médiane. Il s'étend en arrière sur une longueur d'environ 150µm.

Le noyau moteur dorsal du nerf vague se situe dorsalement au noyau du nerf hypoglosse, en contact intime avec ce dernier, de part et d'autre du quatrième ventricule. Par contre, il est plus étendu, débordant latéralement et rostralement le noyau moteur du nerf hypoglosse. Il est alors intimement lié au noyau du faisceau solitaire.

Cette localisation est semblable dans les 2 types de populations de souris.

Le noyau du nerf hypoglosse chez la souris contrôle prend une forme de quart de cercle légèrement étiré sur sa face rostrale, dans le sens médio-latéral. Il possède trois noyaux d'association, les noyaux intercalé, prépositus et de Roller. Le noyau moteur dorsal du nerf vague de cette même souris, a une forme de lentille à base ventrale reposant sur la face dorsale du noyau moteur du nerf hypoglosse. Ses dimensions médio-latérales sont similaires aux dimensions médio-latérales du noyau du XII. Il a une hauteur d'environ 150µm.

Chez la souris *scrambler* cette morphologie est altérée : en effet, pour le noyau du nerf hypoglosse, la composante légèrement étirée disparaît, et le noyau apparaît plus atrophié dans le sens médio-latéral. De même, le noyau moteur dorsal du nerf vague apparaît plus atrophié dans le sens médio-latéral.

Concernant la morphologie cellulaire, le noyau du nerf hypoglosse présente des cellules multipolaires. Chez la souris *scrambler* on remarque une diminution de taille des neurones de l'ordre de 5%. De plus, les cellules observées chez la souris *scrambler* sont plus éparées.

Le noyau moteur dorsal du nerf vague possède des cellules ayant une forme arrondie. La forme des neurones est similaire entre les souris contrôle et *scrambler*, cependant la densité de

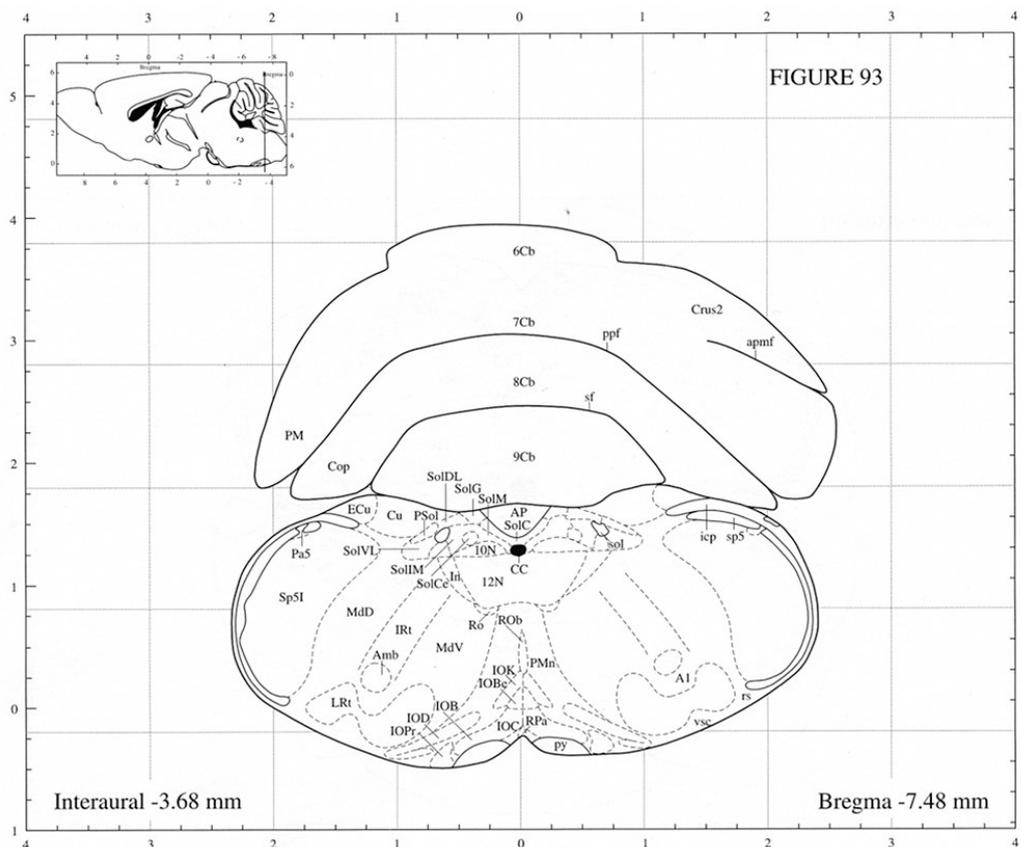
cellules semble moins importante chez la souris mutante. La taille des neurones est plus faible chez la souris *scrambler* avec une diminution de 18%, qui n'est pas significative.

Taille en $\mu\text{m}$	contrôle	<i>scrambler</i>		différence (%)
Taille des neurones X	17,9 $\pm$ 2,13	15,2 $\pm$ 2,62	P=0,135	18
Taille des neurones XII	24,8 $\pm$ 2,9	23,7 $\pm$ 2,69	P=0,105	5

Bien que la localisation des neurones soit la même entre les souris *scrambler* et les souris contrôle, nous avons observé quelques différences.

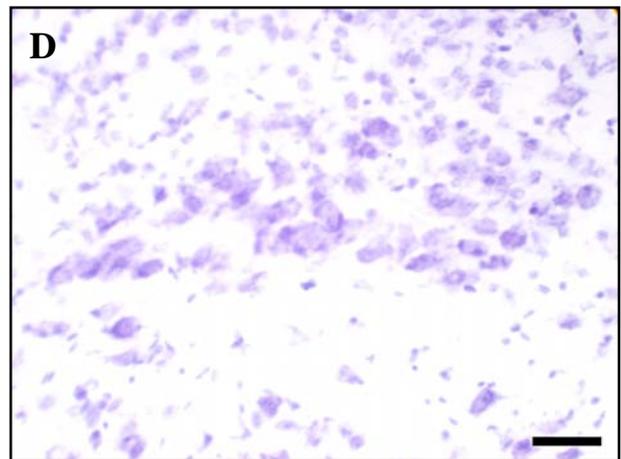
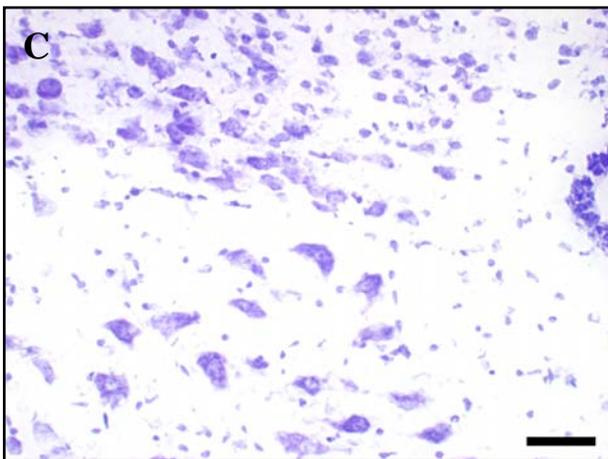
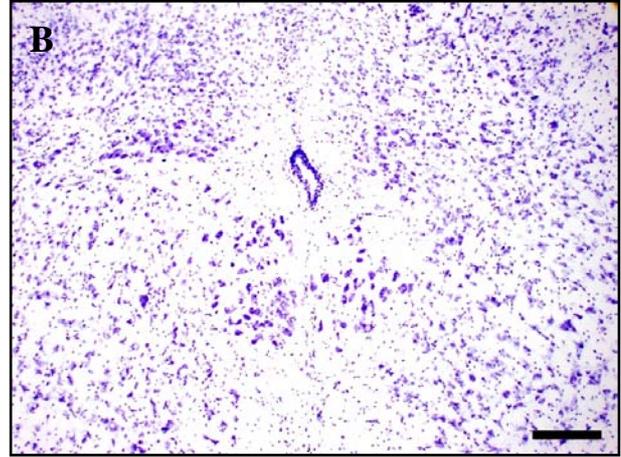
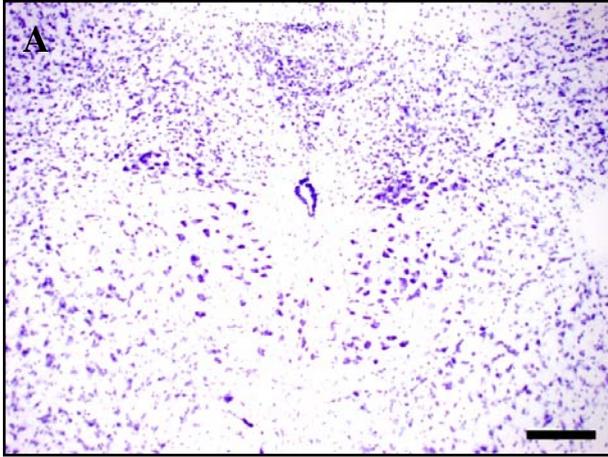
Les morphologies du noyau de l'hypoglosse et du noyau dorsal du nerf vague sont altérés chez la souris *scrambler*, en effet, ceux-ci sont plus étroits dans le sens médio-latéral. De plus, nous pouvons noter une légère diminution du volume cellulaire, de l'ordre de 5% pour le noyau de l'hypoglosse, et de 18% pour le noyau dorsal du nerf vague.

Ces altérations de positionnement et de taille au sein de ces noyaux chez la souris *scrambler*, montre qu'une partie de la migration cellulaire est modifiée par l'altération de la voie de signalisation réeline/dab1.



6Cb	6th Cerebell lobule	IOB	IO, B, med nu	ROb	raphe obscurus nu
7Cb	7th Cerebell lobule	IOBe	inf olive, beta	RPa	raphe pallidus nu
8Cb	8th Cerebell lobule	IOC	IO, C, med nu	rs	rubrospinal tr
9Cb	9th Cerebell lobule	IOD	inf olive, dors nu	sf	2nd fissure
<b>10N</b>	<b>dors motor nu, vagus</b>	IOK	IO, cap, Kooy, med nu	sol	solitary tr
<b>12N</b>	<b>hypoglossal nu</b>	IOPr	inf olive, princip nu	SolC	solitary nu, comm
A1	A1 noradrenaline cells	IRt	intermed retic nu	SolCe	solitary nu, ce
Amb	ambiguus nu	LRt	lat retic nu, dors	SolDL	sol nu, dorsalat pt
AP	area postrema	MdD	medull retic nu, dors	SolG	solitary nu, gelati
apmf	ansoparamed fiss	MdV	medull retic nu, vent	SolI	solitary nu, intersit
CC	central canal	Pa5	paratrigeminal nu	SolIM	nu solitary tr, intmec
Cop	copula, pyramis	PM	paramedian lobule	SolM	solitary nu, med
Crus2	crus 2, ansiform lob	PMn	paramed retic nu	SolV	sol nu, vent pt
Cu	cuneate nu	ppf	prepyramidal fissure	SolVL	solitary nu, ventlat
Ecu	ext cuneate nu	psf	post superior fissure	sp5	spinal trigeminal tr
icp	inferior cerebell pedunc	Psol	parasolitary nu	Sp5C	spin 5 nu, caud pt
In	intercalated nu, medulla	py	pyramidal tr	Sp5I	spin 5 nu, interplar
InM	intermedius nu, medulla	Ro	nu, Roller	vsc	vent spinocerebell tr
IOA	IO, A, med nu		raphe obscurus nu		

Figure 22: Schéma de la coupe cérébrale en Bregma -7.48mm chez la souris  
(Paxinos et al., 2004).



*Figure 23: Noyaux moteurs des nerfs vague (10N) et hypoglosse (12N), marquage au crésyl violet, (A,C) Souris contrôle, (B,D) Souris scrambler, Barre d'échelle= 200 $\mu$ m (A,B), 50 $\mu$ m (C,D).*

Jean-François BASTIEN

**INCIDENCE DE LA VOIE DE SIGNALISATION DE LA RÉELINE  
SUR L'ORGANISATION DU SYSTÈME NERVEUX ET DES  
MUSCLES IMPLIQUÉS DANS LES FONCTIONS  
MANDUCATRICES: ÉTUDE HISTOCHIMIQUE FONCTIONNELLE  
CHEZ LA SOURIS *SCRAMBLER (DAB 1)***

### **3.Étude histochimique fonctionnelle du système nerveux central impliqué dans la manducation chez la souris *scrambler***

Nous venons de voir que certains noyaux segmentaires présentent des modifications morphologiques, parfois de taille, et le plus souvent de localisation. Le but de notre étude est de vérifier si ces variations de structures déterminent des altérations fonctionnelles. Pour ce faire, nous allons procéder à l'évaluation de marquages neurochimiques utilisés comme indices fonctionnels par la cytochrome oxydase et l'acétylcholinestérase. L'observation en microscopie électronique de deux muscles squelettiques va également nous renseigner sur la fonction musculaire.

L'association étroite entre l'activité neuronale et le métabolisme énergétique oxydatif, forme la base de l'usage de la cytochrome oxydase comme marqueur métabolique endogène des neurones.

La cytochrome oxydase, enzyme du complexe IV de la chaîne mitochondriale, participe directement à la création d'énergie pour la cellule; il est ainsi possible de savoir si l'activité métabolique de celle-ci est plus ou moins importante, suivant la quantité d'énergie produite en son sein.

Les muscles et le système nerveux sont des structures qui ont besoin de beaucoup d'énergie, or les cellules les composant ne stockent pas cette énergie. Celle-ci est produite à la demande grâce à la phosphorylation oxydative. Ainsi, plus l'activité métabolique cellulaire augmente, plus la cellule fabrique d'énergie et plus l'activité enzymatique de la cytochrome oxydase sera élevée au sein de la cellule.

#### **3.1.Activité métabolique du système nerveux central chez la souris *scrambler***

Le marquage de la cytochrome-oxydase (COX) reflète donc fidèlement le niveau d'activité métabolique global de la cellule étudiée (Wong-Riley, 1989), permettant ainsi l'observation microscopique des structures, et l'utilisation d'un analyseur d'images pour établir des comparaisons statistiques entre souris *scrambler* et souris contrôle. L'analyse régionale de l'absorbance obtenue est quantitative, et peut être ramenée à des mesures d'activité

enzymatique par utilisation de standards (broyats de tissus dont l'activité enzymatique a été mesurée en spectrophotométrie) incubés en même temps que les lames. Les valeurs obtenues s'expriment en  $\mu\text{mol}/\text{min}/\text{g}$ . Les résultats obtenus sont présentés dans les tableaux 2 et 3.

Une cartographie de l'ensemble des régions du système nerveux central a été effectuée, et nous avons étudié les centres segmentaires des nerfs crâniens de l'appareil branchiomérique ainsi que les structures suprasegmentaires susceptibles de contrôler ces fonctions manducatrices. Nous distinguerons donc dans l'analyse des résultats:

- les centres segmentaires,
- les structures nerveuses du contrôle de la sensori-motricité faisant partie des systèmes pyramidal et extrapyramidal,
- les structures végétatives centrales.

De façon générale, chez la souris *scrambler*, nous observons des modifications d'activité du métabolisme régional dans des régions très variables de l'encéphale.

Au niveau des centres segmentaires, nous avons précédemment décrit des désorganisations cellulaires et plus particulièrement au niveau du noyau facial et du noyau ambigu. Toutefois, le marquage de la COX ne montre aucune altération métabolique dans ces noyaux ou dans la colonne nucléaire sensitive du nerf trijumeau qui représente les fibres afférentes de ces noyaux moteurs.

Excepté pour le noyau mésencéphalique du nerf trijumeau, et le noyau vestibulaire latéral, on a un marquage de la COX qui intéresse plus le neuropile, c'est-à-dire les terminaisons nerveuses des fibres afférentes (connexions synaptiques) que le corps cellulaire des neurones. Ceci est particulièrement vrai au niveau des centres sensitifs (marquage homogène), mais un peu moins au niveau des centres moteurs au niveau desquels on distingue les corps cellulaires multipolaires.

Plusieurs études sur la souris *reeler* ont montré qu'en dépit de la désorganisation tissulaire, les synapses s'établissaient justement et étaient préservées. Il est établi que le marquage de la COX au sein de ces noyaux est révélatrice de l'activité des neuropiles et particulièrement de la qualité des synapses. Ainsi, nous pouvons conclure que les défauts de migration ne

perturbent en rien l'activité fonctionnelle de la cellule à partir du moment où les synapses s'établissent normalement.

La diminution d'activité métabolique peut-être également mise en parallèle avec le déficit de coordination motrice présente chez la souris *scrambler*.

Pour le noyau mésencéphalique du nerf trijumeau, les neurones sont fortement marqués, attestant de l'activité métabolique interne de ces cellules. Impliquées dans l'activité tonique des muscles de la posture mandibulaire, ces cellules proprioceptives ont une activité constante. On peut noter qu'elles sont considérées comme une des populations cellulaires du système nerveux central à posséder un des métabolismes les plus importants.

Au niveau des centres suprasegmentaires, le cervelet de la souris *scrambler* est également affecté de façon importante, l'activité métabolique régionale étant augmentée dans le cortex et diminuée dans les noyaux profonds du cervelet, zone effectrice de la structure suprasegmentaire. Nous observons une structure très atrophiée par l'absence de migration des cellules de Purkinje et par la perte partielle des cellules à grain. Le cortex a perdu son aspect folié, étant réduit à une barre latérale de chaque côté de l'axe médian. Ainsi, l'hypermétabolisme obtenu peut être expliqué par l'atrophie considérable du cortex cérébelleux. En rapportant l'activité métabolique à la quantité de surface, on obtient alors un effondrement de cette activité métabolique, à l'instar des noyaux profonds. Les noyaux profonds reçoivent normalement les axones GABAergiques des cellules de Purkinje, ainsi que des collatérales d'axones des fibres moussues ou grimpanes afférentes au cervelet.

L'hypermétabolisme observé au sein de ces noyaux peut être le reflet de la désorganisation des populations cellulaires du cortex:

- avec la perte partielle des cellules à grain et par conséquent une diminution non compensée des fibres afférentes qui normalement se projettent sur ces cellules,

- avec le défaut de migration des cellules de Purkinje qui se retrouvent alors groupées en amas, en position ectopique.

Il est intéressant de noter que les principales structures connectées au cervelet sont toutes affectées à la hausse:

- les noyaux du pont, structure afférente de la voie cortico-cérébello-corticale,

- l'olive bulbaire, structure interconnectée avec le cervelet responsable de la modulation des afférences cérébelleuses,

- les noyaux vestibulaires assurent avec le cervelet le contrôle de l'équilibre et de l'orientation spatiale dans les activités motrices statiques et dynamiques.

Seuls les noyaux de la réticulée du tronc cérébral, interconnectés avec le cervelet, présentent une diminution de l'activité métabolique.

Il est évident que ces altérations peuvent être la conséquence d'un dysfonctionnement du cervelet atteint dans sa structure. Mais, elles peuvent également traduire une désorganisation intrinsèque du noyau lui-même. Nous pouvons observer à l'œil nu la déformation générale de l'olive bulbaire, par exemple, qui se trouve plus réduite en surface dans le sens frontal.

D'autres structures de la motricité extra-pyramidale sont également affectées, ce sont particulièrement le pallidum médian et la substance noire pars réticulata qui constituent la voie efférente du néostriatum. Normalement GABAergique, leur diminution d'activité pourrait induire une levée d'inhibition et par conséquent expliquer l'hyperactivité observée chez la souris *scrambler*. La diminution d'activité métabolique dans le colliculus supérieur pourrait être également expliquée de la sorte.

Les cortex sensitifs et visuels présentent un hypermétabolisme alors que les centres moteurs ne semblent pas affectés. Il est intéressant de noter que les noyaux postérieurs (VPM et VPL) du thalamus ne présentent pas d'altération suggérant ainsi qu'il n'existe pas d'atteinte des voies sensitives afférentes aux cortex; l'altération métabolique obtenue signerait ainsi la désorganisation tissulaire observée dans les cortex de la souris *scrambler*. Il reste toutefois à définir pourquoi l'atteinte est spécifique de certains cortex. L'époque de maturation corticale au cours de la période embryonnaire pourrait être responsable de ces variations.

Le cortex pariétal postérieur semble également touché chez la souris *scrambler* avec une diminution de son activité de 17,8%. Les cortex pariétal postérieur et visuel sont des cortex associatifs. Ils agissent sur l'intégration des informations sensorielles Ils sont impliqués dans la perception de l'espace et dans l'attention.

Cette dernière peut donc se superposer au déficit de coordination motrice dont souffre la souris mutante et compléter le tableau ataxique.

Enfin, une atteinte des voies végétatives est observée. L'hypothalamus présente un hypermétabolisme de sa partie médiane. A l'inverse, les centres segmentaires végétatifs et plus particulièrement le noyau moteur dorsal du nerf vague, présentent un hypermétabolisme significatif. Des structures également impliquées dans le système nerveux végétatif comme le locus coeruleus, structure noradrénergique, l'area postrema, centre du vomissement et le noyau solitarius responsable du pôle afférent végétatif, ont une activité diminuée.

Les souris *scrambler* se caractérisent par une taille plus petite et un poids plus faible que les souris contrôles. Ces différences apparaissent très tôt dans les premières semaines post-natales et perdurent à l'âge adulte. Elles étaient mises sur le compte d'un manque de compétitivité avant le sevrage. Par ailleurs, plus de la moitié des souris meurent avant le sevrage. Une altération des noyaux végétatifs centraux pourrait être à l'origine de ces troubles et des études plus précises seraient nécessaires pour spécifier ces atteintes.

Régions	contrôle	scrambler		%
Moteur M1	46,0 ± 0,8	46,0 ± 0,7		0,0
M2	45,2 ± 0,7	46,8 ± 0,6		3,5
Parietal S1	47,9 ± 0,7	45,4 ± 0,3	* (P=0,0049)	-5,3
Parietal postérieur	60,0 ± 2,1	49,3 ± 2,6	* (P=0,0055)	-17,8
Visual V1	42,5 ± 1,0	38,0 ± 0,7	* (P=0,0035)	-10,6
Visual associatif	41,3 ± 1,2	37,2 ± 0,5	* (P=0,0098)	-9,9
<b>Striatum</b>				
-ventral	52,2 ± 0,9	51,6 ± 0,8		-1,1
-dorsal	48,1 ± 0,6	48,5 ± 0,9		0,8
<b>Pallidum</b>				
-médian	25,5 ± 0,4	22,6 ± 0,3	** (P<0,0001)	-11,4
-latéral	35,7 ± 0,7	35,5 ± 0,8		-0,6
<b>Thalamus</b>				
-ventro-médial	47,8 ± 1,6	47,6 ± 1,5		-0,3
-ventro-latéral	73,5 ± 2,0	75,2 ± 1,3		2,3
-vpl/vpm	44,7 ± 1,9	47,0 ± 1,2		5,3
-latéral	37,1 ± 1,3	39,8 ± 1,5		7,1
-médian	53,9 ± 1,9	53,5 ± 1,3		-0,7
Hypothalamus médial	50,4 ± 2,0	55,8 ± 1,1	(P=0,0402)	10,7
Cortex cérébelleux	91,7 ± 2,5	103,9 ± 3,3	* (P=0,0076)	13,3
Noyaux cérébelleux	40,0 ± 1,6	32,6 ± 1,4	* (P=0,0042)	-18,5
<b>Substance noire:</b>				
-pars compacta	39,7 ± 1,1	38,8 ± 1,3		-2,4
-pars reticulata	42,9 ± 1,4	37,5 ± 0,9	(P=0,0067)	-12,6
Aire tegmentale ventrale	31,2 ± 0,9	32,6 ± 1,1		4,5
<b>Noyau rouge:</b>				
-paléorubrum	45,0 ± 1,2	43,8 ± 1,3		-2,7
-néorubrum	33,5 ± 0,9	32,5 ± 1,0		-3,0
Colliculus supérieur	43,3 ± 1,2	40,0 ± 1,0	(P=0,0555)	-7,6
Noyaux du pont	38,0 ± 1,0	43,9 ± 1,4	* (P=0,0038)	15,5
<b>Formation réticulée</b>				
-tégmentale	31,5 ± 0,5	28,1 ± 0,7	** (P=0,0009)	-10,8
-latérale	32,5 ± 0,7	29,0 ± 0,8	* (P=0,0037)	-10,8
-paramédiane	24,0 ± 0,8	24,2 ± 0,6		0,8
-paragigantocellulaire	48,9 ± 0,6	48,2 ± 0,4		-1,4
Locus coeruleus	58,2 ± 0,9	56,0 ± 0,5	(P=0,0456)	-3,8
N. cunéiforme lat.	38,7 ± 1,3	39,4 ± 0,8		1,8
<b>Noyau parabrachial:</b>				
-latéral	54,6 ± 0,7	52,7 ± 0,7	(P=0,0636)	-3,5
-medial	56,5 ± 1,1	55,7 ± 0,6		-1,4

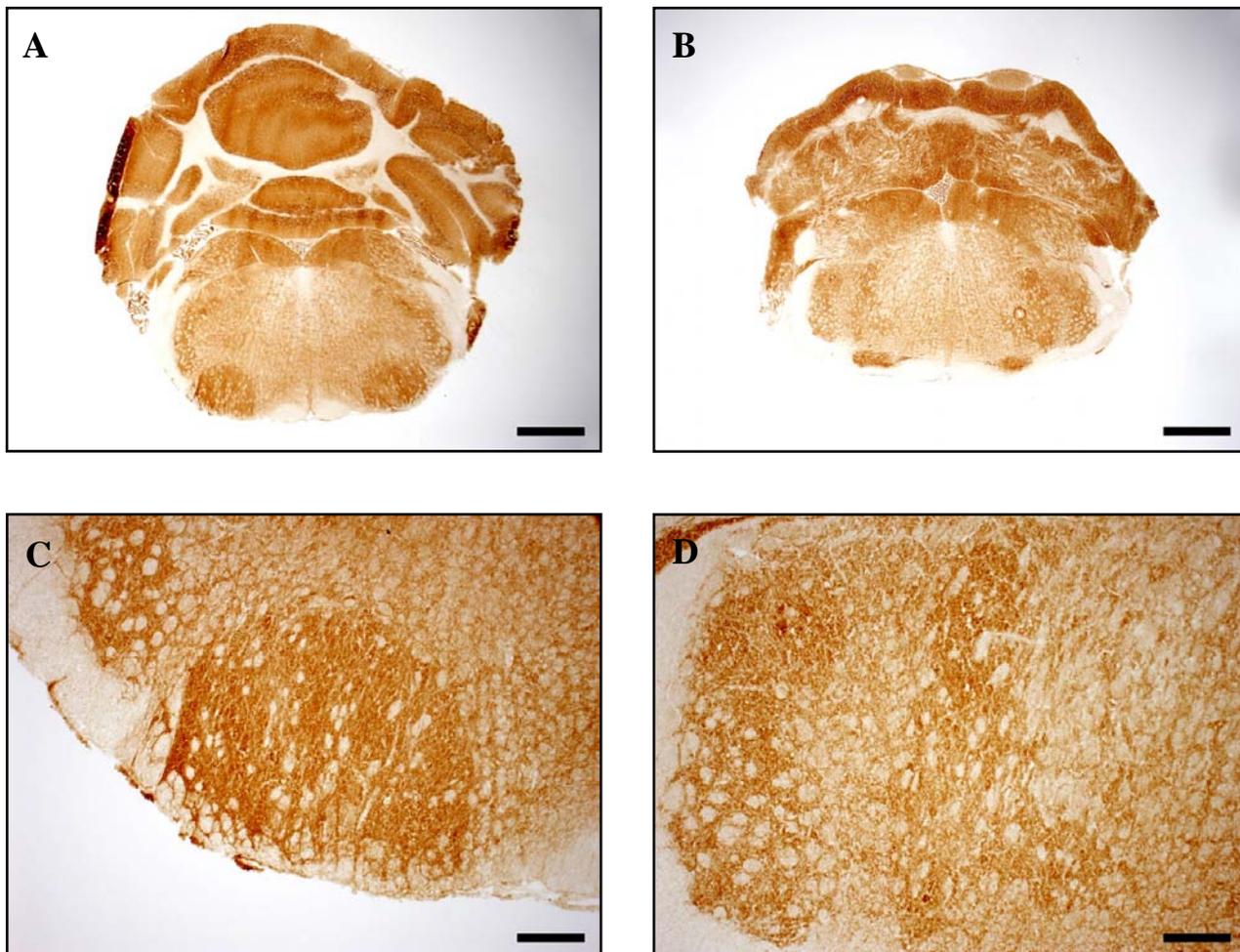
\*P<0.01 vs controls; \*\*P<0.001 vs controls

Tableau 2: Activité de la COX au niveau des centres supra-segmentaires chez les souris contrôle et scrambler, valeurs exprimées en  $\mu\text{mol}/\text{min}/\text{g}$ .

Regions	contrôle	<i>scrambler</i>		%
Solitarius	34,8 ± 0,6	33,0 ± 0,5	(P=0,0249)	-5,3
N. principal V	59,3 ± 1,0	58,2 ± 0,9		-1,9
N. spinal V (oral)	54,1 ± 1,0	56,2 ± 0,7		3,8
N. spinal V (interpolaire)	33,3 ± 0,6	34,9 ± 0,8		4,6
N. moteur du V	57,9 ± 0,9	56,3 ± 0,7		-2,8
N. moteur du VII	60,5 ± 1,1	60,2 ± 0,7		-0,4
N. ambigu	36,5 ± 0,8	36,7 ± 0,8		0,5
N. moteur dorsal du X	37,4 ± 1,0	33,9 ± 0,7	(P=0,0086)	-9,4
N. moteur du XII	43,3 ± 0,7	41,8 ± 0,8		-3,6
Olive bulbaire	57,4 ± 1,8	67,6 ± 2,8	* (P=0,0078)	17,8
Area postrema	33,6 ± 1,7	28,4 ± 1,1	(P=0,0345)	-15,5
N. vesti. médian PC	74,6 ± 1,6	81,4 ± 2,8	(P=0,0526)	9,1
N. vesti. médian MC	42,0 ± 1,2	50,0 ± 2,6	(P=0,0110)	19,0
N. vesti. latéral	33,2 ± 0,8	33,8 ± 1,9		1,8
N. vesti. spinal	45,4 ± 2,0	55,2 ± 1,9	(P=0,0021)	21,6

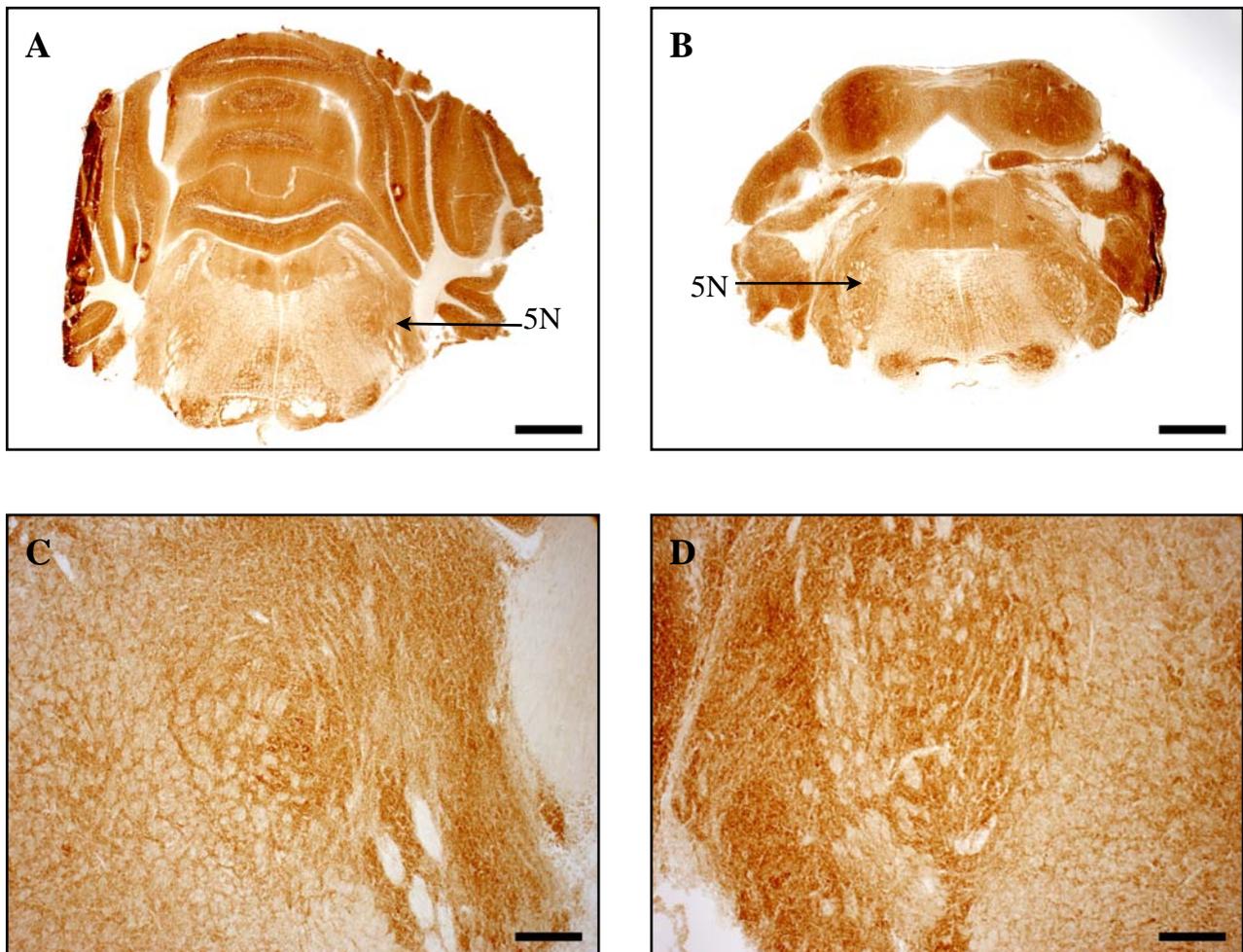
\*P<0.01 vs controls; \*\*P<0.001 vs controls

*Tableau 3: Activité de la COX au niveau des centres segmentaires impliqués dans la manducation chez les souris contrôle et scrambler, valeurs exprimées en µmol/min/g.*



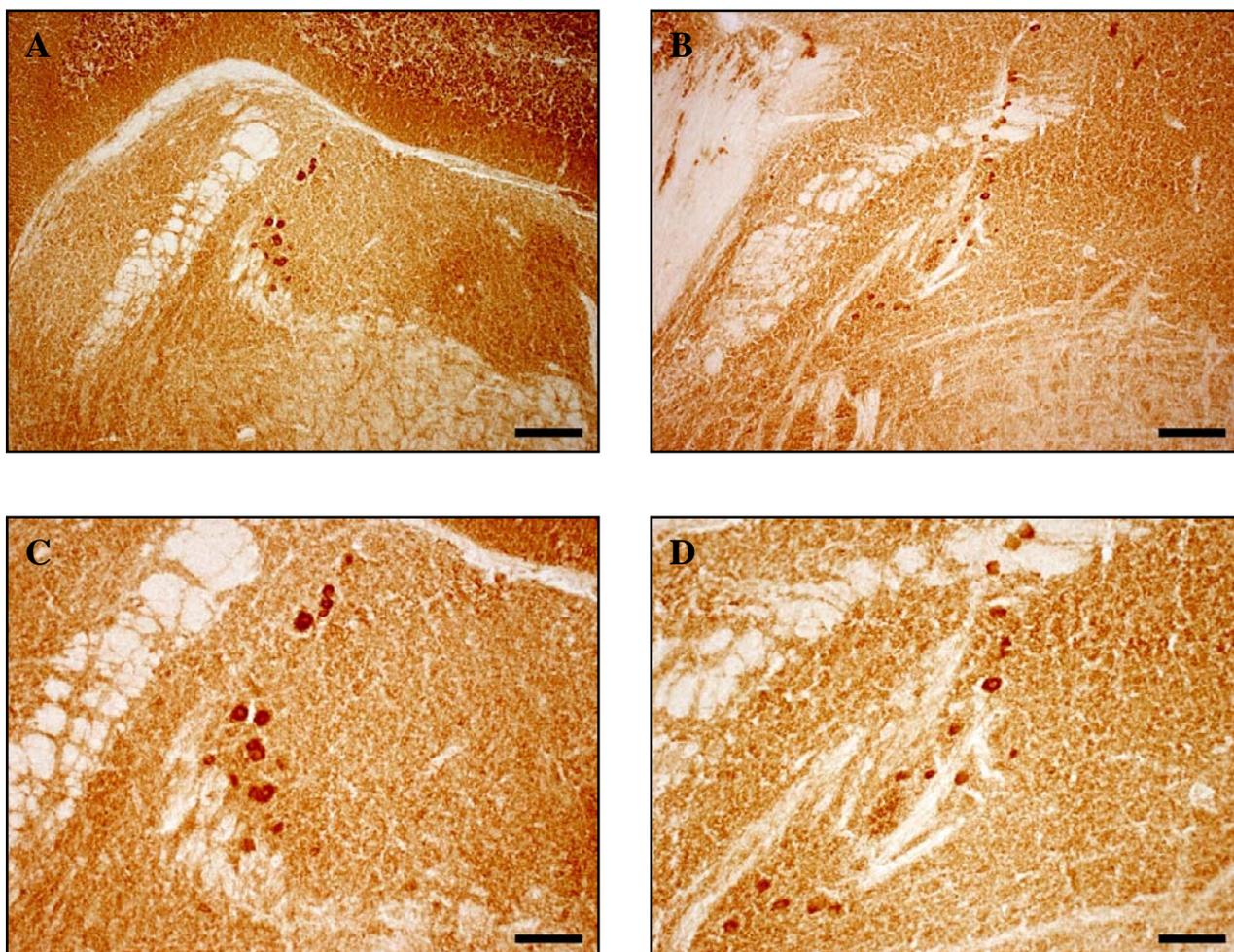
*Figure 24; Noyau moteur du nerf facial (7N) marquage de la COX,  
 (A,C) Souris contrôle, (B,D) Souris scrambler,  
 Barre d'échelle= 500 $\mu$ m (A,B), 250 $\mu$ m (C,D).*

Le noyau moteur du nerf facial est bien marqué. Nous distinguons un marquage de fond qui correspond aux neuropiles; toutefois, les pericaryons présentent un marquage plus important, ce qui permet la dissociation des cellules par rapport aux fibres. Nous pouvons noter la localisation ectopique des motoneurons du noyau (fig.24-b) qui n'atteignent pas la base de la coupe mais qui s'étendent sur plus de la moitié de la hauteur du tronc cérébral.



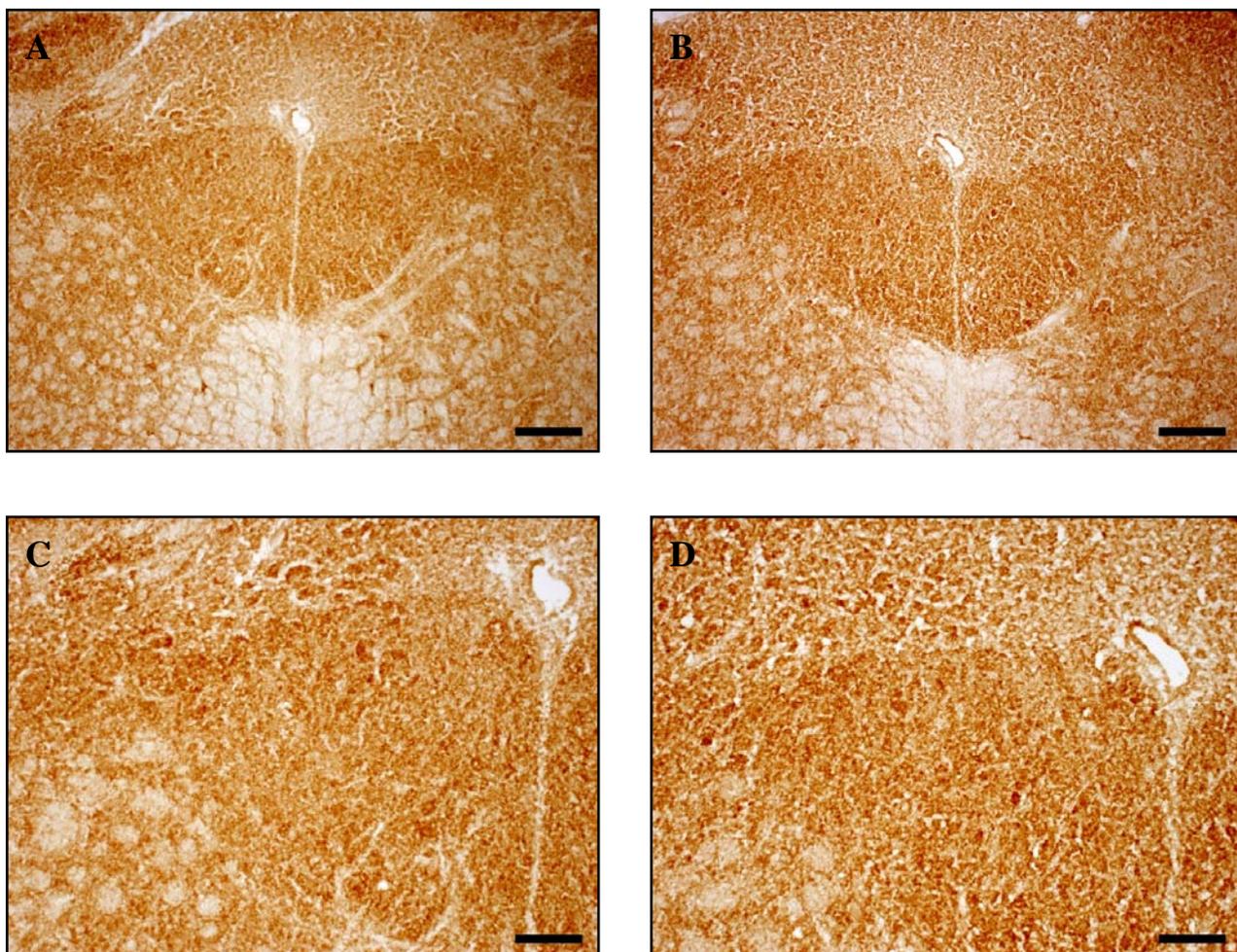
*Figure 25: Noyau moteur du nerf trijumeau (5N) marquage de la COX,  
 (A,C) Souris contrôle, (B,D) Souris scrambler,  
 Barre d'échelle= 500 $\mu$ m (A,B) 250 $\mu$ m (C,D).*

Le noyau moteur du nerf trijumeau présente un marquage similaire aux autres noyaux moteurs, à la fois neuropile et pericaryon. Dans la photo nous distinguons bien le corps cellulaire des motoneurones  $\alpha$  plus fortement marqués que leur arborisation dendritique. La configuration du noyau est similaire entre les deux groupes de souris.



*Figure 26; Noyau mésencéphalique du nerf trigéminal (Me5) marquage de la COX,  
 (A,C) Souris contrôle; (B,D) Souris scrambler;  
 Barre d'échelle= 500µm (A,B) 100µm (C,D).*

Les cellules du noyau mésencéphalique présentent une activité métabolique très importante, elles sont une des populations cellulaires les plus riches en COX. On observe chez la souris *scrambler* des cellules plus disséminées (absence de regroupement fonctionnel) et une activité métabolique qui à l'observation est moins importante.



*Figure 27: Noyau moteur du nerf vague (10) et de l'hypoglosse (12) marquage COX,  
 (A,C) Souris contrôle; (B,D) Souris scrambler;  
 Barre d'échelle = 200 $\mu$ m (A,B), 100 $\mu$ m (C,D).*

Le marquage des deux noyaux moteurs bulbaires, pour la musculature lisse et les muscles squelettiques de la langue, présente une certaine homogénéité. Le marquage est à la fois neuropile et somatique. Les cellules végétatives sont plus grosses et semblent plus actives que celles du noyau moteur du XII.

### **3.2.Résultats obtenus par coloration acétylcholinésterase**

L'innervation cholinergique du système nerveux central est principalement constituée:

-d'un système ascendant réticulaire d'activation formé par des neurones cholinergiques organisés en 6 régions nucléaires situées dans le cerveau antérieur et dans la partie supérieure du tronc cérébral (Mesulam et al, 1983; Mesulam et Geula, 1988) (tableau 17): le complexe basal cholinergique du cerveau antérieur comprend le septum médian (Ch1), la bande diagonale de Broca formé d'un bras vertical (Ch2) et d'un bras horizontal (Ch3) et un ensemble de structures anatomiques (Ch4) formé du noyau basal de Meynert, du globus pallidus, de la substance innominée et du noyau préoptique. Les fibres cholinergiques se projettent majoritairement sur l'hippocampe (pour Ch1/Ch2), sur le cortex limbique cingulaire (pour Ch2) et les bulbes olfactifs (pour Ch3) ainsi que sur le complexe amygdalien, et l'ensemble du néocortex (pour Ch4). Les projections cholinergiques issues des deux noyaux du tronc cérébral, pédonculopontique (Ch5) et latérodorsal (Ch6) du tegmentum forment la voie dorsotegmentale ascendante et innervent principalement les noyaux diffus du thalamus facilitant la transmission thalamocorticale. Deux petites aires cholinergiques (Ch7 et Ch8) sont associées : l'habénula médiane (Ch7) se projette sur le noyau interpédonculaire, tandis que le noyau parabigéminale (Ch8) se projette sur le colliculus supérieur,

-d'interneurones disséminés dans différentes régions comme le néostriatum (noyaux caudé, putamen et accumbens), l'hippocampe, le cortex cérébral, l'hypothalamus et la moelle épinière.

-de motoneurones dans les centres segmentaires moteurs et les centres végétatifs parasympathiques. C'est cette dernière innervation qui nous intéresse plus particulièrement.

Les neurones cholinergiques utilisent l'acétylcholine (ACh) pour la neurotransmission. L'enzyme de synthèse, la choline acétyltransférase (ChAT) ainsi que les vésicules transporteur d'ACh sont situées dans le compartiment présynaptique uniquement, alors que l'enzyme de dégradation, l'acétylcholinestérase (AChE), se trouve à la fois dans les compartiments présynaptique du neurone cholinergique et postsynaptique du neurone cholinocéptif (Smiley et al, 1997). Le compartiment postsynaptique répond à l'ACh par l'intermédiaire de récepteurs de type muscarinique ou de type nicotinique.

Classification des régions cholinergiques et leurs zones de projection au niveau de l'encéphale, d'après Mesulam et al. (1983) tableau 4:

<b>Désignation</b>	<b>Structures contenant les noyaux cholinergiques</b>	<b>Zones de projection</b>
<b>Ch1</b>	septum médian (SM)	Hippocampe et gyrus denté Subiculum Cortex entorhinal et périrhinal Cortex cingulaire Noyau interpédonculaire
<b>Ch2</b>	Bras vertical de la bande diagonale de Broca (VBD), incluant l'aire préoptique magnocellulaire	Hippocampe et gyrus denté Subiculum Cortex entorhinal, périrhinal et rétrospécial Cortex préfrontal (cingulaire, orbitaire médian, pré- et infralimbique) Cortex occipital
<b>Ch3</b>	Bras horizontal de la bande diagonale de Broca (HBD)	Régions olfactives (bulbe, noyau antérieur, tubercule et cortex piriforme) Cortex préfrontal (cingulaire, orbitaire, insulaire, pré- et infralimbique) Cortex entorhinal latéral et rétrospécial Cortex occipital
<b>Ch4</b>	Noyau basal magnocellulaire Substance innominée Noyau de l'anse lenticulaire	Cortex préfrontal Cortex frontopariétal Cortex temporal Régions olfactives Amygdale
<b>Ch5</b> <b>Ch6</b>	Noyau tegmental pédonculopontique Noyau tegmental dorsolatéral	Thalamus Septum latéral Septum médian et bande diagonale de Broca Noyau basal magnocellulaire Formation réticulée Substance noire Aire tegmentale ventrale Noyaux du raphé Locus coeruleus Noyaux cérébelleux et géniculés
<b>Ch7</b>	Habénula médiane	Noyau interpédonculaire
<b>Ch8</b>	Noyau parabigéminale	Colliculus supérieur

Diverses techniques permettent de mettre en évidence l'innervation cholinergique centrale, celles-ci ayant évolué avec le temps et les progrès technologiques.

L'AChE est un marqueur non spécifique mais très sensible de l'innervation cholinergique du cerveau, sa distribution, associée à la libération d'acétylcholine, comprend non seulement des corps cellulaires cholinergiques présynaptiques et des axones, mais aussi les neurones postsynaptiques cholinérgiques (Gil-Bea et al, 2005).

Le marquage histochimique AChE, sur tissus fraîchement congelés a été choisi car il permettait d'estimer de façon quantitative l'innervation cholinergique de l'encéphale chez la souris *scrambler*.

Globalement, la cartographie histochimique AChE a révélé des altérations cholinérgiques dans les mêmes structures que celles pour lesquelles des altérations de l'activité métabolique avaient été observées. Ces structures sont essentiellement postérieures, situées dans le tronc cérébral, et sont directement impliqués dans la motricité. Elles sont soit cholinérgiques, comme les centres segmentaire moteurs ou elles reçoivent une innervation cholinérgique qui vient de Ch5-Ch6, les deux structures cholinérgiques postérieures de la classification de Mesulam.

Nous distinguerons comme précédemment: les centres segmentaires et les centres suprasegmentaires du système extrapyramidal.

Concernant les centres suprasegmentaires, le cortex cérébelleux et les noyaux profonds du cervelet présentent une forte augmentation de l'activité cholinérgique de 48% pour le cortex cérébelleux, et de 115,6% pour le cervelet total.

Le cervelet a pour fonction principale de réguler la fonction motrice (les mouvements, la posture et l'équilibre), en recevant et analysant les informations reçues par tous les segments du névraxe. Chez la souris *scrambler*, nous avons vu que le cervelet est très atrophié comparé à la souris normale.

Actuellement, le rôle des fibres cholinérgiques de cette structure motrice n'est pas encore totalement élucidé. Elles agiraient, à l'instar des fibres monoaminérgiques comme neuromodulateur des cellules de Purkinje. Les déficiences cellulaires du cortex cérébelleux, liées à l'atrophie, pourraient expliquer cette augmentation d'activité qui ne reflète peut être

que la densité importante des fibres au sein d'un tissu totalement atrophié. Ramené à la même quantité de surface ou volume, le marquage diminue de façon importante, en lien direct avec la perte des cellules de Purkinje au sein du cortex.

Les structures associées avec le cervelet sont également altérées, plus précisément :

-Le noyau pontique médian est caractérisé par une augmentation d'activité cholinergique de 16,2% chez la souris *scrambler*.

-La formation réticulée est constituée de cellules nerveuses disposées en réseau tout le long du tronc cérébral. Chez la souris *scrambler*, nous avons observé une augmentation significative de l'activité AChE dans les noyaux de la réticulée latérale et paramédiane.

Les neurones de la formation réticulaire possèdent de nombreuses projections axonales notamment au niveau du cervelet, du thalamus, de l'hypothalamus et de la moelle épinière. La formation réticulée est directement impliquée dans le contrôle moteur. Associé au cervelet, les deux noyaux altérés se projettent sur les centres segmentaires moteurs pour contrôler l'activité musculaire.

La substance noire, située dans la moitié rostrale du mésencéphale, est composée de 2 parties distinctes: la pars compacta et la pars reticulata, toutes deux diminuées dans leur activité AChE significativement pour la pars compacta (12%), région des cellules dopaminergiques de la voie negro-striée.

La substance noire appartient à un ensemble de structure constituant les noyaux gris centraux (ganglions de la base) composé également par le noyau caudé, le putamen, le pallidum et le noyau subthalamique. Ces structures participent au contrôle de la motricité, avec l'aide du cervelet, de différentes aires du cortex moteur et des noyaux moteurs du tronc cérébral. Elles permettent les processus d'intégration, de motivation et de vigilance situées au centre du choix d'un mouvement.

Les neurones de la pars reticulata se projettent sur le colliculus et certaines régions du thalamus, tandis que ceux de la pars compacta se projettent sur les ganglions de la base.

Ainsi ces diminutions d'activité cholinergique au sein de la substance noire pourraient être une des causes de la mauvaise coordination motrice et des stéréotypies observées chez la souris *scrambler*.

Au niveau des centres segmentaires, dans les structures motrices pour lesquelles nous avons observé des anomalies de migration, le noyau ambigu possède une diminution significative d'activité cholinergique de 20% chez la souris *scrambler* (Tab.6). Cette différence d'activité observée pourrait être le résultat de la désorganisation cellulaire du noyau, et par conséquent d'un biais lors de la mesure régionale lors du marquage, car le noyau principal possède très peu de neurones. Toutefois, comme le marquage est important, le repérage cellulaire est facile, et la mesure s'est faite précisément au niveau des motoneurones en place au niveau du noyau principal.

Le noyau ambigu innerve les muscles du larynx, du pharynx et de l'œsophage (partie supérieure) mais des études complémentaires seraient nécessaires pour déterminer la position des différentes populations de cellules motrices et nous ne savons pas actuellement où se projettent les motoneurones dont nous avons mesuré l'activité cholinestérasique (Hurasugi et al., 2007).

Nous pouvons observer que les neurones qui n'ont pas terminé leur migration ont une configuration différente de celles des motoneurones normaux : ils ont une forme aplatie, fusiforme qui indique que les cellules ne sont pas orientées dans le même plan que chez la souris normale.

Les noyaux afférents responsables du contingent viscéral sont principalement le noyau solitarius associé au noyau parabrachial latéral, tous deux altérés dans leur activité, mais à la hausse.

Nous avons vu dans l'étude morphologique, que la configuration du noyau moteur du nerf trijumeau était peu affectée chez la souris *scrambler*, alors que l'activité acétylcholinestérasique est augmentée. Cette augmentation n'est donc vraisemblablement pas le résultat d'un facteur intrinsèque au noyau, et pourrait être lié aux altérations

neurochimiques du cervelet et de ses structures associées. Elle signale une augmentation d'activité des motoneurones  $\alpha$  et par conséquent des muscles masticateurs.

Le tableau présente l'ensemble des résultats obtenus pour l'activité de l'AChE au sein des différentes structures étudiées, ils s'expriment en  $\mu\text{mol}/\text{min}/\text{g}$  de tissu.

Régions	contrôle	scrambler		%
M1	5,8 ± 0,2	6,4 ± 0,2		10,3
Pariétal S1	5,1 ± 0,1	5,0 ± 0,3		-2,0
Interpositus & dentale	7,9 ± 0,1	8,7 ± 0,2	(P=0.0112)	10,1
Putamen caudé	88,3 ± 1,5	89,7 ± 2,3		1,6
Thalamus médian	9,2 ± 0,2	10,1 ± 0,3	(P=0.0207)	9,8
Thalamus:				
-ventro-médial	6,7 ± 0,3	7,1 ± 0,1		6,0
-ventro-latéral	7,3 ± 0,5	8,4 ± 0,6		15,1
-vpl/vpm	5,2 ± 0,2	5,4 ± 0,2		3,8
-postérieur	8,0 ± 0,4	7,8 ± 0,4		-2,5
-latéral	10,5 ± 0,2	11,3 ± 0,4		7,6
-médial	8,3 ± 0,2	9,0 ± 0,3		8,4
Hypothalamus				
-médial	8,3 ± 0,2	9,1 ± 0,3		9,6
-latéral	10,5 ± 0,2	11,3 ± 0,4		7,6
Cortex cérébelleux & n. profonds	7,4 ± 0,2	11,0 ± 0,3	** (P<0,0001)	48,6
Cervelet total	3,2 ± 0,1	6,9 ± 0,2	** (P<0,0001)	115,6
Substance noire:				
-pars compacta	33,2 ± 0,7	29,2 ± 1,2	* (P=0.0094)	-12,0
-pars reticulata	23,6 ± 0,6	21,6 ± 0,5	(P=0.0132)	-8,5
Noyau rouge:				
-paleorubrum	14,5 ± 0,2	14,4 ± 0,2		-0,7
-neorubrum	14,5 ± 0,3	15,2 ± 0,5		4,8
Colliculus supérieur	32,6 ± 0,4	30,7 ± 0,6	(P=0.0175)	-5,8
N. du pont	29,1 ± 1,1	33,8 ± 0,8	* (P=0.0048)	16,2
Formation réticulée:				
-tegmental	20,5 ± 0,8	19,1 ± 0,8		-6,8
-latéral	11,2 ± 0,2	12,2 ± 0,3	* (P=0.008)	8,9
-paramédial	7,1 ± 0,2	8,1 ± 0,2	* (P=0.0039)	14,1
-paragigantocellulaire	13,2 ± 0,6	13,0 ± 0,2		-1,5
Locus coeruleus	41,2 ± 2,8	38,0 ± 1,9		-7,8
Noyau parabrachial:				
-latéral	11,1 ± 0,3	13,7 ± 0,4	** (P<0.0001)	23,4
-médial	12,2 ± 0,3	13,1 ± 0,4		7,4
Inferior olive	7,4 ± 0,2	9,1 ± 0,6	* (P=0.0093)	23,0
Area postrema	12,8 ± 0,5	13,6 ± 1,0		6,3

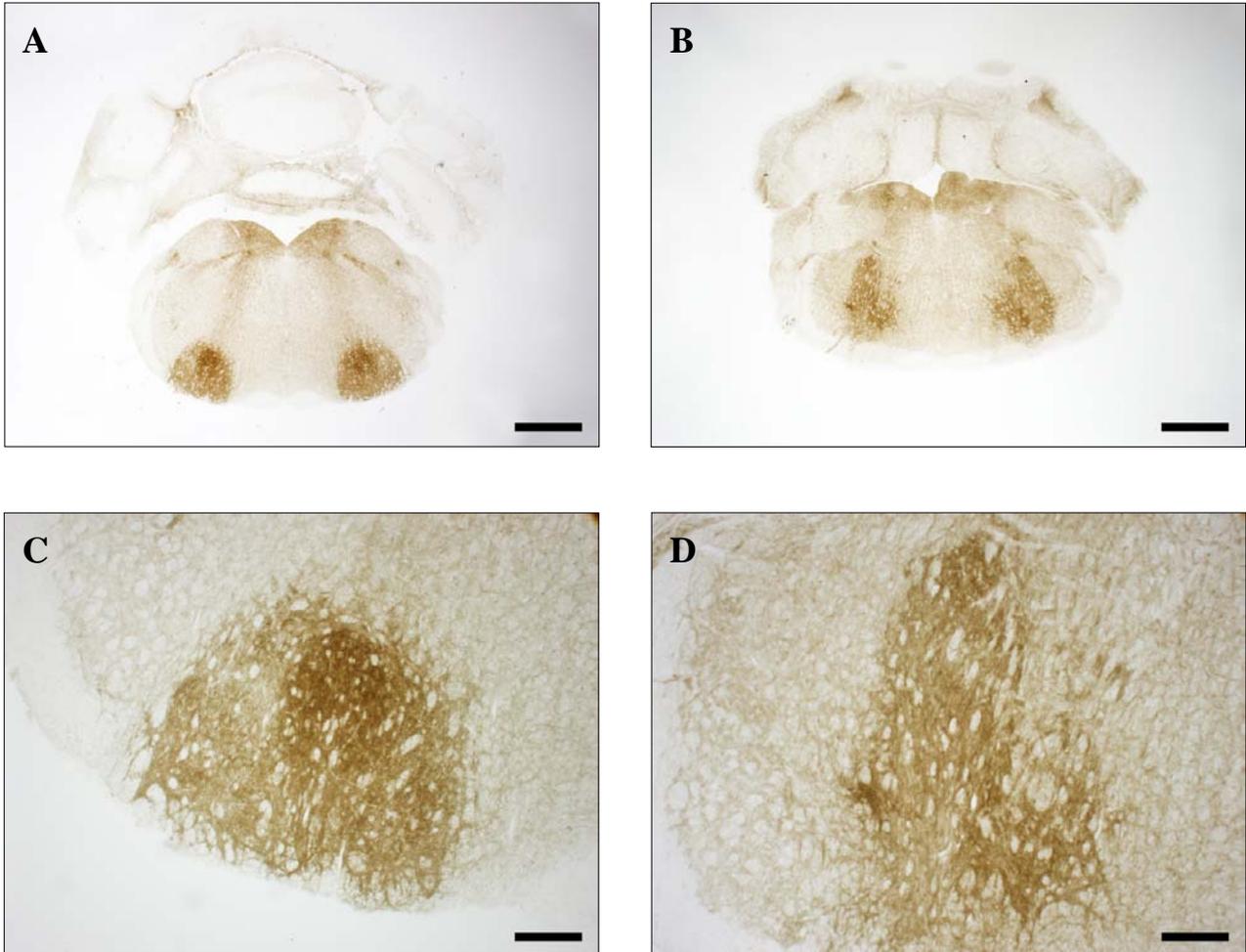
\*P<0.01 vs controls; \*\*P<0.001 vs controls

Tableau 5: Activité de l'AChE au niveau des centres supra-segmentaires étudiés chez les souris contrôle et scrambler, valeurs exprimées en  $\mu\text{mol}/\text{min}/\text{g}$ .

Régions	contrôle	scrambler		%
Solitaris	19,2 ± 0,4	21,3 ± 0,5	* (P=0.0025)	10,9
N. principal du V	10,9 ± 0,3	11,5 ± 0,4		5,5
N. spinal du V (oral)	10,2 ± 0,3	10,7 ± 0,4		4,9
N. spinal du V (interpolaris)	9,1 ± 0,2	9,9 ± 0,6		8,8
N. moteur du V	34,1 ± 0,9	37,5 ± 0,6	* (P=0.0096)	10,0
N. moteur du VII	36,8 ± 1,3	34,4 ± 0,9		-6,5
N. ambigu	51,2 ± 1,7	41,0 ± 1,1	** (P=0.0002)	-19,9
N. moteur dorsal du X	29,8 ± 0,7	28,6 ± 0,8		-4,0
N. moteur du XII	53,2 ± 0,9	53,4 ± 1,3		0,4
N. vesti. médian PC	20,0 ± 0,5	19,7 ± 0,3		-1,5
N. vesti. médian MC	11,9 ± 0,2	12,0 ± 0,2		0,8
N. vesti. latéral	6,3 ± 0,2	6,2 ± 0,2		-1,6

\*P<0.01 vs controls; \*\*P<0.001 vs controls

Tableau 6: Activité de l'AChE au niveau des centres segmentaires étudiés chez les souris contrôle et scrambler, valeurs exprimées en  $\mu\text{mol}/\text{min}/\text{g}$ .

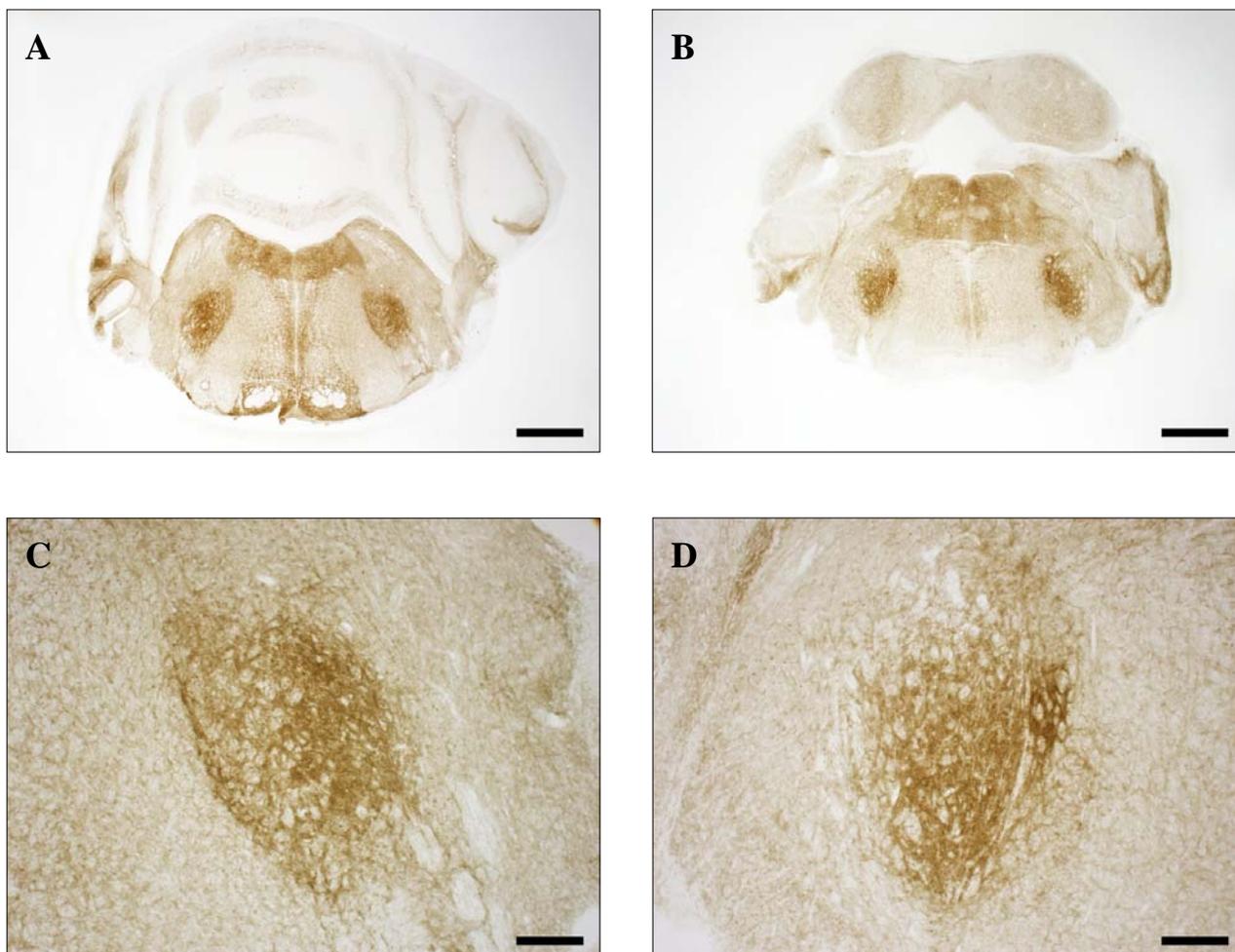


*Figure 28; Noyau moteur du nerf facial (7N) marquage AChE,*

*(A,C) Souris contrôle, (B,D) Souris scrambler,*

*Barre d'échelle= 500 $\mu$ m (A,B) 250 $\mu$ m (C,D)*

Le marquage à l'acétylcholinesthérase nous permet de visualiser la différence de forme du noyau entre les deux souris contrôle et *scrambler*. Nous pouvons observer dans les deux populations une hétérogénéité de marquage entre les populations de motoneurones  $\alpha$  qui constituent le noyau.

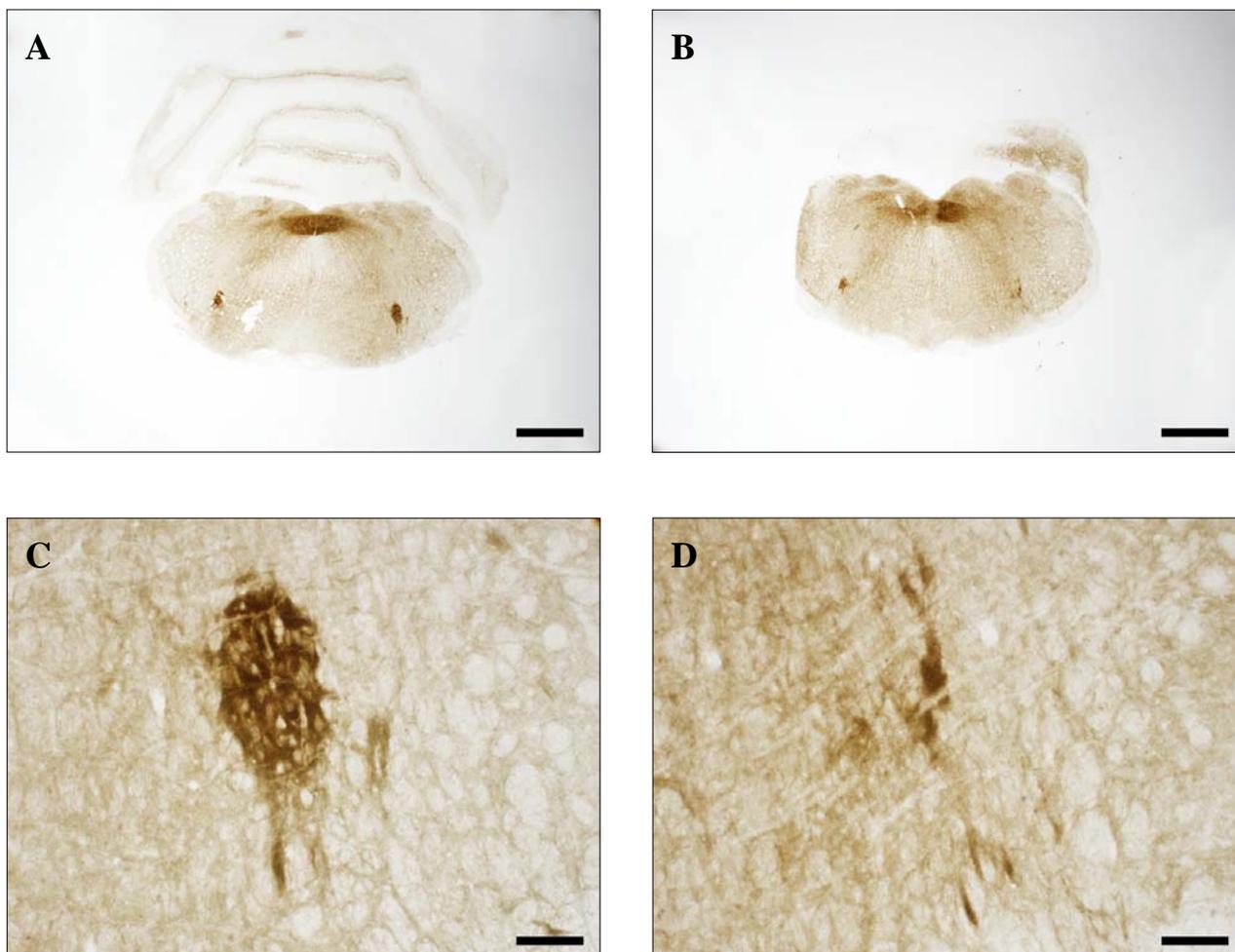


*Figure 29; Noyau moteur du nerf trigéminal (5N) marquage AChE,*

*(A,C) Souris contrôle, (B,D) Souris scrambler,*

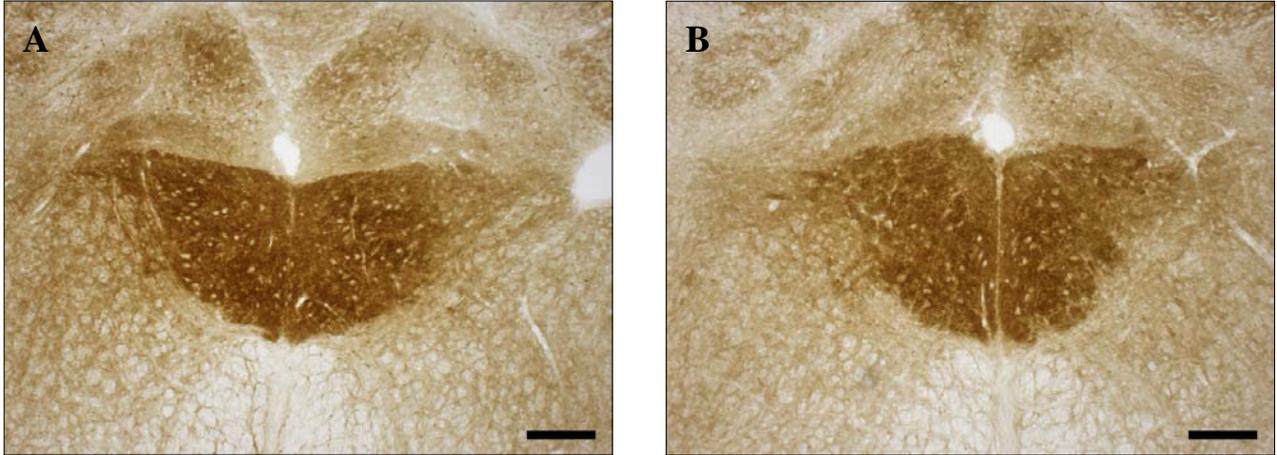
*Barre d'échelle = 500 $\mu$ m (A,B) 250 $\mu$ m (C,D)*

Chez la souris *scrambler*, le marquage de l'acétylcholinestérase dans le noyau est plus important, particulièrement au niveau des motoneurones  $\alpha$  les plus médian correspondant au muscle temporal.



*Figure 30: Noyau ambigu (Amb) marquage AChE  
 (A,C) Souris contrôle, (B,D) Souris scrambler,  
 Barre d'échelle = 500 $\mu$ m (A,B), 100 $\mu$ m (C,D).*

Le marquage à l'acétylcholinestérase nous permet d'observer la faible quantité de motoneurons  $\alpha$  en place dans le noyau chez la souris *scrambler*. Quelques cellules marquées sont observées de part et d'autre de ce noyau mais la configuration cellulaire est très différente de celle multipolaire du motoneurone  $\alpha$ .



*Figure 31: Noyau moteur du nerf vague (10) et de l'hypoglosse (12) marquage AChE,  
(A,C) Souris contrôle, (B,D) Souris scrambler,  
Barre d'échelle= 200 $\mu$ m (A,B) 100 $\mu$ m (C,D).*

Le noyau moteur du nerf hypoglosse, étant constitué essentiellement de motoneurones  $\alpha$ , est très riche en AChE. Pourtant le marquage est moins important dans le noyau moteur dorsal du nerf vague alors que les cellules sont également cholinergiques.

Florent CHAPUIS

**INCIDENCE DE LA VOIE DE SIGNALISATION DE LA RÉELINE  
SUR L'ORGANISATION DU SYSTÈME NERVEUX ET DES  
MUSCLES IMPLIQUÉS DANS LES FONCTIONS  
MANDUCATRICES: ÉTUDE MORPHOLOGIQUE CHEZ LA  
SOURIS *SCRAMBLER (DAB 1)***

Jean-François BASTIEN

**INCIDENCE DE LA VOIE DE SIGNALISATION DE LA RÉELINE  
SUR L'ORGANISATION DU SYSTÈME NERVEUX ET DES  
MUSCLES IMPLIQUÉS DANS LES FONCTIONS  
MANDUCATRICES: ÉTUDE HISTOCHIMIQUE FONCTIONNELLE  
CHEZ LA SOURIS *SCRAMBLER (DAB 1)***

## **4. Etude comparative des structures musculaires impliquées dans la mastication chez la souris *scrambler***

### **4.1. Introduction**

La désorganisation des centres segmentaires moteurs impliqués dans la manducation peut être la cause d'une altération des fonctions motrices au sein de la musculature de l'appareil manducateur. Nous avons vu précédemment que le noyau moteur du nerf trijumeau présentait chez la souris *scrambler* une augmentation de l'activité cholinergique des motoneurones  $\alpha$ .

Nous trouvons qu'il était intéressant de faire une analyse histologique des muscles masticateurs pour étudier, par l'intermédiaire de la structure, les éventuelles répercussions des altérations centrales. Une étude a été effectuée sur le muscle masséter et le muscle *flexor digitorum superficialis (FDS)*, dans les deux populations de souris, contrôle et *scrambler*. Il nous a semblé utile de faire au préalable quelques rappels histologiques de la fibre musculaire.

### **4.2. Rappel histologique et physiologique du tissu musculaire squelettique**

Il existe trois types de tissus musculaires: squelettique, cardiaque et lisse. Les muscles masséter et *FDS* sont de type squelettique. Le tissu musculaire squelettique, comme son nom l'indique, recouvre le squelette osseux et s'y insère.

Le métabolisme élevé des fibres musculaires entraîne une consommation importante d'oxygène et de nutriments ainsi qu'une production de déchets métaboliques nécessitant un apport vasculaire conséquent. Généralement, chaque muscle est irrigué par une artère et une ou plusieurs veines.

L'innervation est assurée par des fibres nerveuses, les motoneurones  $\alpha$  acheminant l'ordre moteur jusqu'aux fibres musculaires.

Les nerfs ainsi que les vaisseaux sanguins pénètrent au sein du muscle en son milieu et se ramifient à l'intérieur des enveloppes conjonctives, rejoignant la couche la plus profonde qui est l'endomysium. A ce niveau, les capillaires ont un trajet sinueux permettant une élévation de ces derniers lors des phénomènes d'élévation musculaire.

Chaque terminaison axonale, provenant d'un nerf moteur, chemine à travers le muscle et vient au contact d'une seule fibre musculaire, tel qu'un même neurone peut innover plusieurs fibres musculaires, mais une fibre musculaire est innervée par un neurone unique.

Le couple neurone moteur et fibres musculaires lui étant affectées forme une unité motrice.

#### **4.2.1. La fibre musculaire squelettique**

La fibre musculaire squelettique est un unique et long syncytium, résultant de la fusion de nombreuses cellules embryonnaires, renfermant de nombreux noyaux ovalaires repoussés sous la surface de la fibre en contact avec la membrane plasmique appelée sarcolemme. Le diamètre de ces fibres varie entre 10 et 100 $\mu$ m, et celles-ci peuvent atteindre une longueur de 30cm chez l'homme.

Le sarcoplasme renferme d'importantes réserves de glycogène ainsi que de myoglobine, typique des fibres musculaires striées, constituant un réservoir d'oxygène.

Les fibres musculaires contiennent, en plus des organites habituellement retrouvées au sein des cellules, les myofibrilles, le réticulum sarcoplasmique et les tubules transverses ou tubules T du sarcolemme.

## 4.2.2. Les myofibrilles

Les myofibrilles représentent les éléments contractiles des fibres musculaires. D'un diamètre moyen de  $1,5\mu\text{m}$ , les myofibrilles occupent 80% du volume de la fibre musculaire. L'observation microscopique de la myofibrille laisse apparaître une alternance de stries sombres (stries A) et de stries claires (stries I) tout au long de la fibre. Chaque strie A possède en son milieu une zone claire ou strie H, uniquement visible lorsque la fibre est au repos, elle même séparée en deux par une ligne foncée nommée ligne M. Il existe également une ligne foncée au milieu des stries I nommée ligne Z ou télôphragme. Deux lignes Z consécutives délimitent un sarcomère, qui est la plus petite unité contractile fonctionnelle de la fibre musculaire mesurant en moyenne  $2\mu\text{m}$  de long.

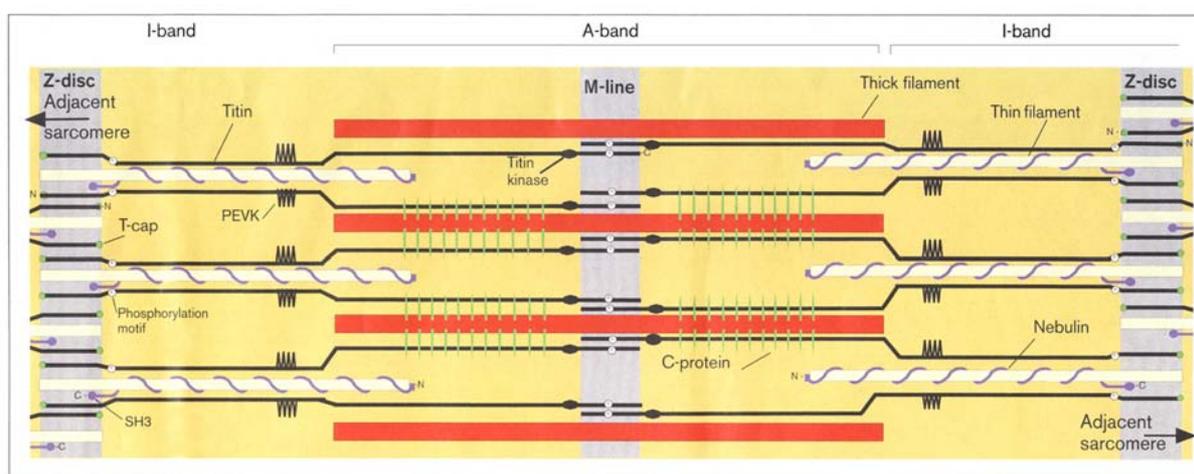


Figure 32: Schéma représentant la structure du sarcomère

*Thick filament* = filament de myosine ; *Thin filament* = filament d'actine

Au niveau moléculaire, le sarcomère est formé par la disposition ordonnée de deux types de myofilaments qui sont les filaments d'actine et de myosine.

Les filaments de myosine sont les plus épais. Mesurant  $16\text{nm}$  de diamètre, chaque filament possède environ 200 molécules de myosine. La myosine est constituée d'une tige cylindrique, comportant deux chaînes identiques polypeptidiques lourdes entrelacées, se terminant en une tête sphérique à deux lobes, appelée pont d'union. Ces ponts d'union sont répartis de manière hélicoïdale sur la surface de la myofibrille de myosine, à l'exception de la zone claire (strie H) où ils sont absents. Ils comportent des sites de liaison à l'actine et de liaison à l'ATP ainsi que des ATPases responsables de la production énergétique nécessaire à la contraction musculaire.

Les filaments d'actine sont nettement plus fins puisqu'ils mesurent en moyenne 7nm de diamètre. L'actine est formée de sous-unités polypeptidiques, actine G, comportant des sites de liaison avec les ponts d'union nécessaires lors de la contraction. Les monomères d'actine G sont polymérisés en un long filament d'actine de structure hélicoïdale. Au sein de ce myofilament il existe des protéines de régulation: la tropomyosine et la troponine.

La tropomyosine est une protéine fibreuse dimérique cylindrique qui s'enroule autour de l'actine et qui sert à la rigidifier. Dans une fibre au repos, elle bloque les sites actifs d'actine.

La troponine, élément du filament mince, est un complexe composé de trois polypeptides:

- TnI: sous-unité inhibitrice se liant à l'actine,
- TnT: se liant à la tropomyosine pour l'aligner avec les molécules d'actine,
- TnC: se liant avec les ions calcium ( $Ca^{++}$ ).

D'autres protéines découvertes plus récemment, composent l'unité motrice, comme la titine, protéine géante de 1 $\mu$ m, qui s'étend de ligne Z à la M, et serait impliquée dans l'organisation de la striation ainsi que dans la capacité que possède le muscle de reprendre sa forme après étirement.

#### **4.2.3.Réticulum sarcoplasmique et tubules transverses**

Des tubules intracellulaires traversent la fibre musculaire squelettique, ils s'organisent en deux séries:

- le réticulum sarcoplasmique
- les tubules transverses du sarcolemme

Le réticulum sarcoplasmique forme un réseau enlaçant les myofibrilles de manière longitudinale. Il forme également des citernes terminales au niveau des jonctions entre stries A et I. Son rôle consiste en la régulation de calcium ionique et donc à la contraction musculaire.

Les tubules transverses (prolongement du sarcolemme) ou tubule T, traversent la cellule musculaire entre les citernes terminales du réticulum sarcoplasmique. Ce regroupement de

trois structures membranaires forme la triade (citerne terminale n + tubule transverse + citerne terminale n+1 cf fig.33).

Les tubules transverses parcourent le tour de chaque sarcomère, permettant l'acheminement de nutriments au coeur des fibres musculaires et une contraction immédiate et coordonnée des muscles. Il existe des relations étroites entre les éléments de la triade. Les protéines membranaires au niveau du tubule T sont voltage-dépendantes tandis que celles présentes à la surface du réticulum sarcoplasmique régissent la libération du calcium ionique des citernes terminales.

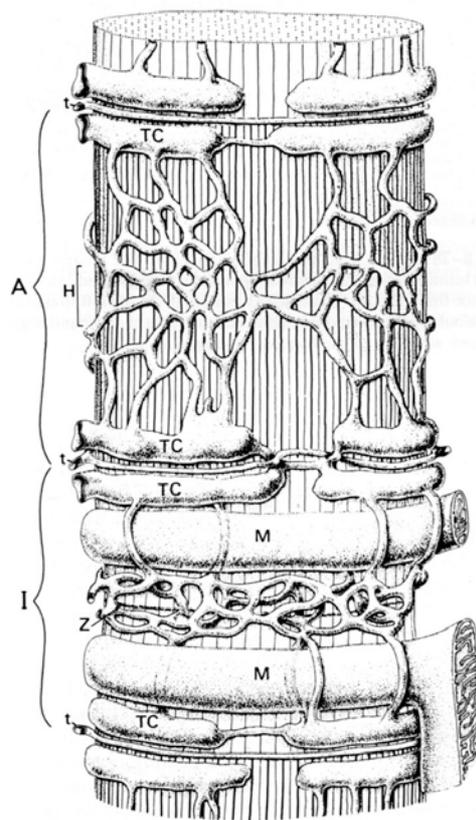


Figure 33: Représentation schématique de la triade avec A: strie A; Z: strie Z; H: zone claire, M: mitochondrie; t: tubule transverse; TC: citerne terminale.

#### 4.2.4. Les différents types de fibres musculaires squelettiques

Classiquement, on considère trois types de fibres musculaires squelettiques:

-les fibres oxydatives à contraction lente, de petit diamètre et possédant de nombreuses mitochondries avec comme voie principale de synthèse de l'ATP la voie aérobie. Elles sont de couleur rouge,

-les fibres oxydatives à contraction rapide, de diamètre intermédiaire et possédant de nombreuses mitochondries (voie aérobie),

-les fibres glycolytiques à contraction rapide (voie glycolyse anaérobie) qui sont les fibres rapides fatigables de couleur pâle, de grand diamètre et possédant peu de mitochondries.

		Fibres oxydatives à contraction lente	Fibres oxydatives à contraction rapide	Fibres glycolytiques à contraction rapide
<b>Caractéristiques métaboliques</b>	Vitesse de contraction	Lente	Rapide	Rapide
	Activité de l'ATPase de la myosine	Lente	Rapide	Rapide
	Voie principale de la synthèse de l'ATP	Aérobie	Aérobie	Glycolyse anaérobie
	Concentration de la myoglobine	Elevée	Elevée	Faible
	Réserve en glycogène	Faible	Intermédiaire	Elevée
	Vitesse de fatigue	Lente	Intermédiaire	Rapide
<b>Caractéristiques structurales</b>	Couleur des fibres	Rouge	De rose à rouge	Blanche
	Diamètre des fibres	Petit	Intermédiaire	Grand
	Mitochondries	Nombreuses	Nombreuses	Peu nombreuses
	Capillaires	Nombreux	Nombreux	Peu nombreux

Tableau 7: Récapitulatif des caractéristiques métaboliques et structurales des trois types de fibres musculaires

#### **4.2.5.La contraction musculaire**

La contraction musculaire entraîne un raccourcissement des sarcomères par glissement des filaments fins le long des filaments épais, de telle sorte que les filaments d'actine et de myosine se recouvrent de plus en plus au cours de la contraction, entraînant une disparition de la zone claire (H), par action de flexion ATP-dépendante de la tête de myosine sur les filaments d'actine. La contraction musculaire est déclenchée par une augmentation de la concentration en calcium ionique intracellulaire, issu des réserves présentes au sein du réticulum sarcoplasmique. Elle passe de  $0,1\mu\text{mol.L}^{-1}$  en phase de repos à  $0,1\text{mmol.L}^{-1}$  lors de la phase de contraction. Le potentiel d'action issu de la terminaison nerveuse motrice entraîne une libération d'acétylcholine au niveau de la fente synaptique qui se fixe sur des récepteurs nicotiniques entraînant la dépolarisation locale de la membrane post-synaptique musculaire, se propageant sur la totalité du sarcolème.

Cette dépolarisation se propage jusqu'au coeur de la fibre via les tubules transverses entraînant alors la libération du calcium ionique stocké dans les citernes terminales.

#### **4.2.6.Métabolisme musculaire**

La source énergétique unique présente au sein du muscle, et essentielle à sa contraction est l'ATP. Sa concentration cellulaire est relativement faible au vu de son importance stratégique nécessitant une production continue. Il existe trois voies de production de l'ATP:

- l'interaction entre l'ADP et la créatine phosphate présente en grande quantité dans le muscle,
- la glycolyse anaérobie (entraînant une augmentation de concentration en acide lactique),
- la respiration aérobie mitochondriale.

### **4.3. Les muscles prélevés sur les souris**

#### **4.3.1. Le muscle masséter**

Le muscle masséter fait partie des muscles de l'appareil manducateur, sa contraction entraîne une élévation de la mandibule.

Il est formé par trois faisceaux:

-le superficiel s'insère sur les 2/3 antérieurs de l'arc zygomatique avec une insertion sur le bord postéro-inférieur de l'os zygomatique, par une lame aponévrotique rejoignant le bord latéral du muscle. Son trajet est oblique en bas et en arrière, il s'insère sur la partie inférieure de la branche montante de la mandibule et recouvre le gonion.

-intermédiaire, plus postérieur que le faisceau superficiel qui le recouvre en presque totalité, son trajet est plus vertical que le faisceau superficiel.

-profond, du bord inférieur de l'arc zygomatique et du processus zygomatique de l'os temporal, son trajet est vertical et se termine sur la face latérale du ramus jusqu'au processus coronoïde.

Il est innervé par le nerf temporo-massétérique, branche du nerf mandibulaire issu du nerf trigéminal (V).

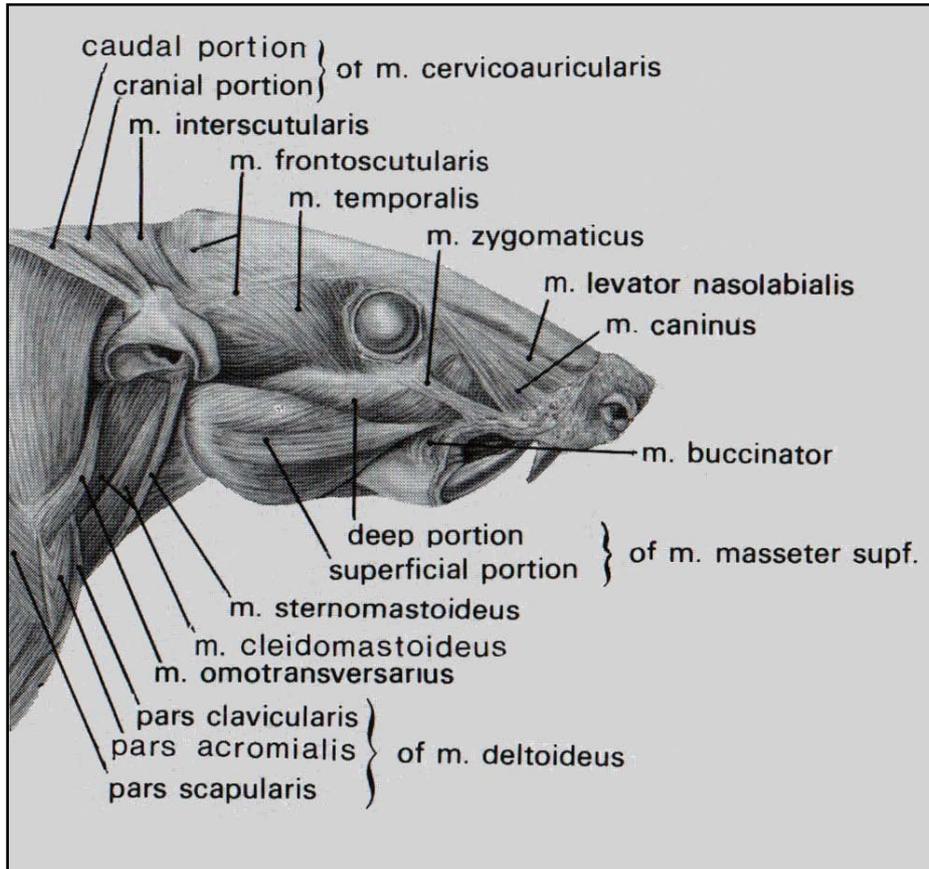


Figure 34: Vue latérale des muscles superficiels du crâne (Hebel et al., 1986)

#### 4.3.2. Le muscle *flexor digitorum superficialis*

Le muscle *flexor digitorum superficialis* (fig.35) comporte deux chefs (un latéral ou externe, et un médial ou interne).

Le chef médial du muscle *flexor digitorum superficialis* prend pour insertion d'origine le tubercule supra-condyloire médial du fémur au-dessus du condyle médial du fémur, tandis que le chef latéral s'insère sur le tubercule supra-condyloire latéral sous le condyle latéral du fémur et sur la surface poplitée sous l'épicondyle latéral.

Les deux chefs cheminent en direction distale, au-dessus du muscle soléaire, et se rejoignent environ à mi-hauteur de la patte postérieure. Ils se terminent avec le muscle soléaire en une lame tendineuse formant le tendon calcanéen qui s'insère sur toute la hauteur de la face postérieure du calcaneus.

Le muscle *flexor digitorum superficialis* est innervé par le nerf tibial, branche du nerf ischiatique.

Il est fléchisseur du genou lorsque la patte est en extension, assurant la force propulsive de la locomotion. Il est également fléchisseur de la patte ainsi qu'adducteur et rotateur interne.

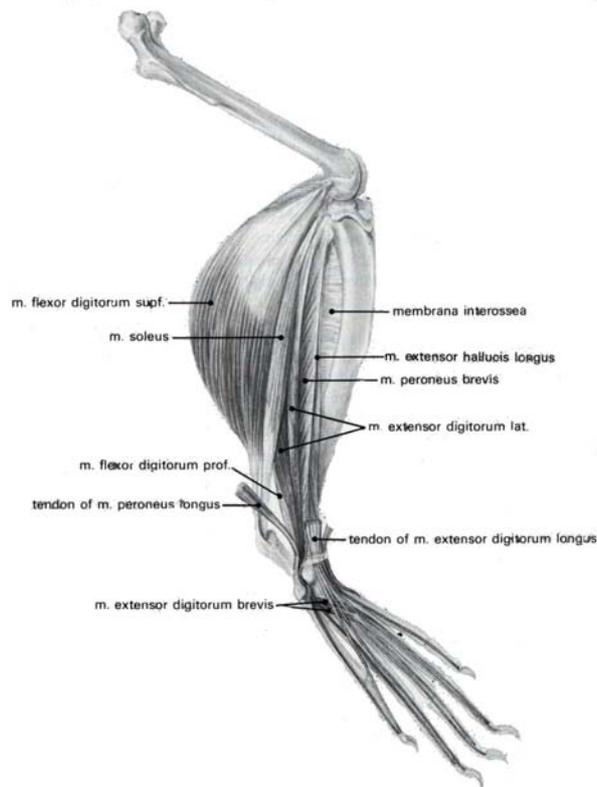
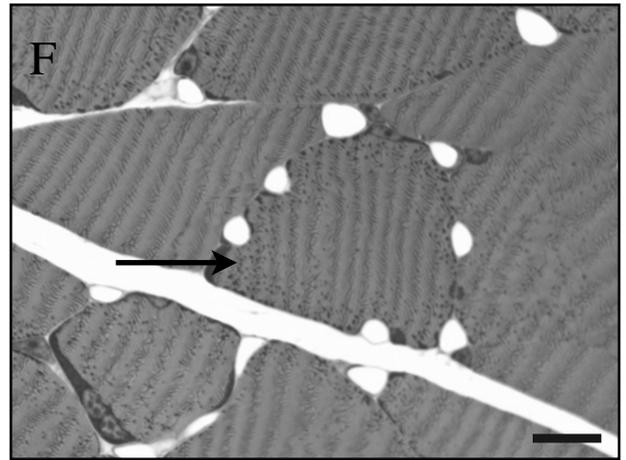
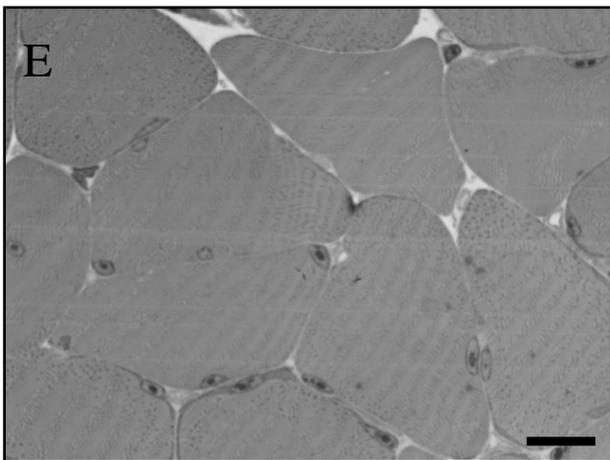
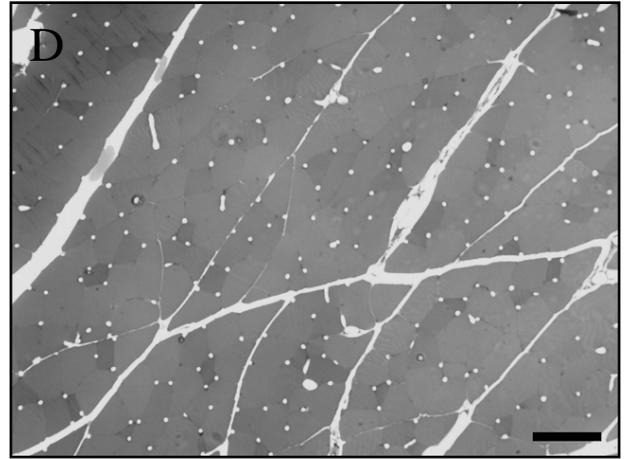
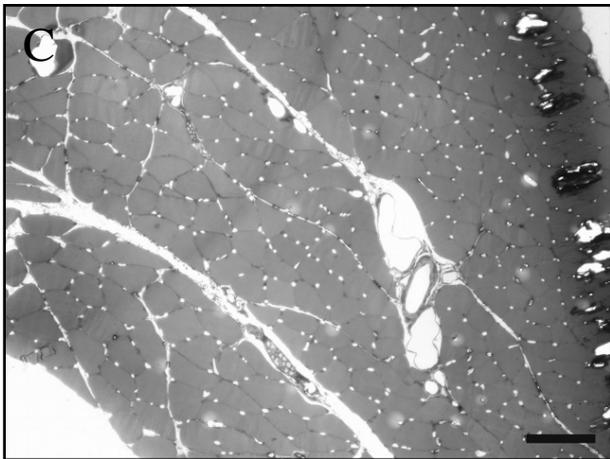
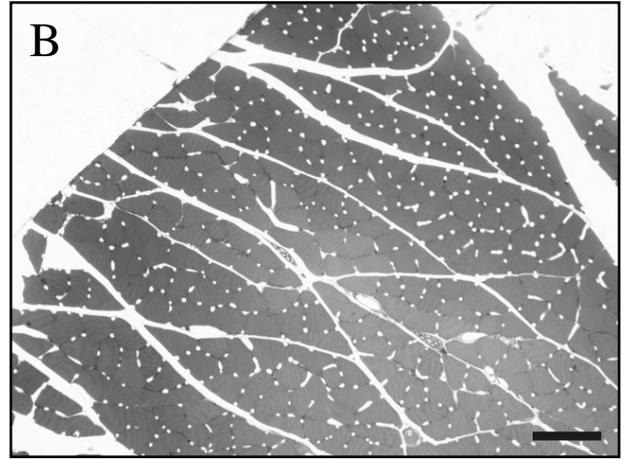
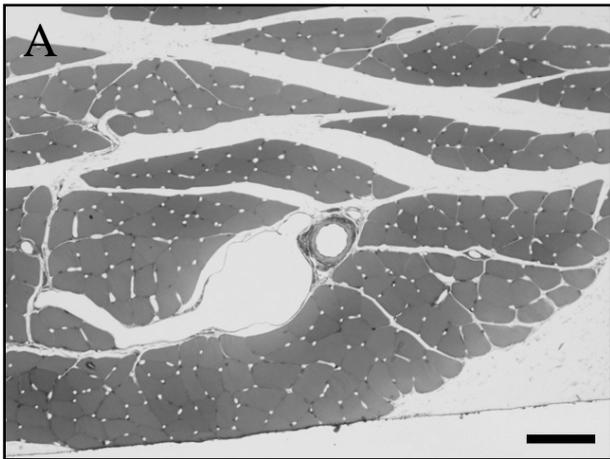


Figure 35: Muscles de la patte arrière chez la souris (Hebel et al., 1986)

#### 4.4.Observations

Les muscles ont été observés en microscopie optique et en microscopie électronique. La microscopie optique a permis une analyse qualitative des différentes fibres musculaires dans les deux populations de souris ainsi qu'une analyse quantitative intéressant le diamètre des fibres afin de déterminer la présence éventuelle d'une atrophie musculaire dans le muscle masséter chez la souris *scrambler*.

La microscopie électronique a permis d'appréhender l'ultrastructure des fibres musculaires afin d'en vérifier les capacités métaboliques et l'intégrité du cytosquelette.



*Figure 36: Coupes transversales du muscle masséter des souris contrôles (A,C,E) et scrambler (B,D,F) à faible et fort grossissement. barre d'échelle: 250 $\mu$ m (A,B,C,D) et 25 $\mu$ m (E,F)*

L'observation des tissus musculaires en microscopie optique ne permet pas de noter des différences histologiques entre les muscles issus des souris *scrambler* et ceux issus des souris contrôle. Les dimensions des fibres musculaires ainsi que leurs morphologies, apparaissant sur les coupes transversales, semblent proches entre les deux types de souris.

Il semblerait que les fibres oxydatives à contraction rapide, que l'on peut par exemple remarquer au centre de l'image F de la figure 36, soient moins présentes chez la souris *scrambler* ce qui permettrait d'avancer l'hypothèse d'une diminution de l'endurance et de la tonicité du muscle masséter chez cette souris.

Les résultats statistiques obtenus par mesure du diamètre des fibres musculaires chez les deux types de souris sont présentés dans le tableau ci-dessous.

	contrôle	<i>scrambler</i>		différence (%)
Diamètre des fibres (en $\mu\text{m}$ )	$34,59 \pm 5,78$	$29,55 \pm 4,55$	P=0,8808	17

Tableau 8: Diamètre des fibres musculaires.

Les résultats ne montrent aucune différence nette à l'observation en microscopie optique.

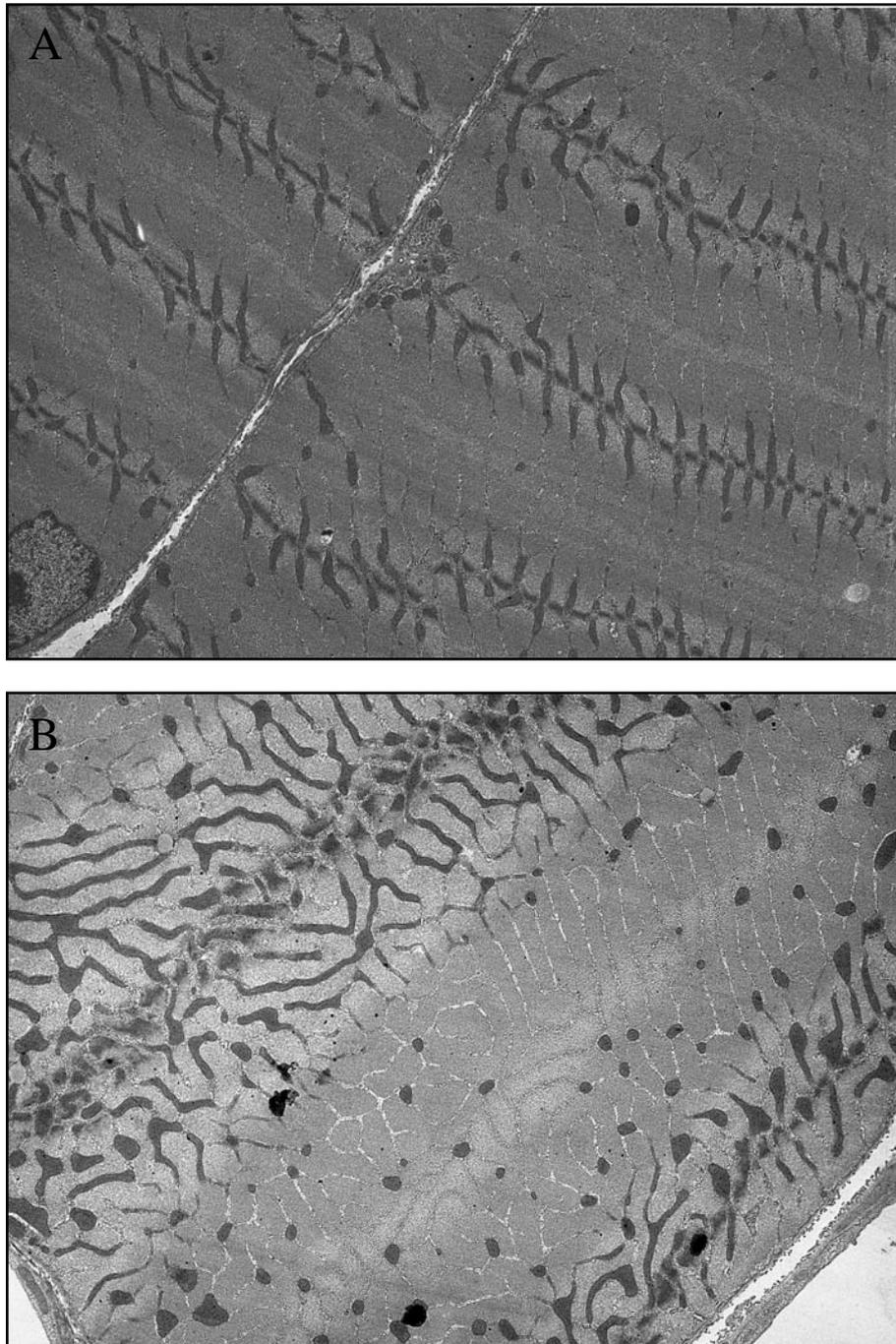
Toutefois une tendance à la diminution a été enregistrée. Celle-ci pourrait traduire une atrophie, ou une transformation de ces fibres et qui évoluerait vers une typologie de fibres oxydatives à contraction lente. Il serait nécessaire de procéder à une étude histochimique pour caractériser la fonction du muscle plus précisément.

Nous ne présentons ici que les résultats pour le muscle masséter, le seul des deux muscles que nous ayons étudié qui soit impliqué dans la fonction manducatrice. Pour ce muscle, nous avons observé :

- Une augmentation de l'épaisseur des enveloppes entourant les faisceaux de fibres motrices, peut être en rapport avec une certaine atrophie des muscles (fig.36-A;D),

- Un nombre de capillaires important,

- Une préservation du diamètre des fibres.

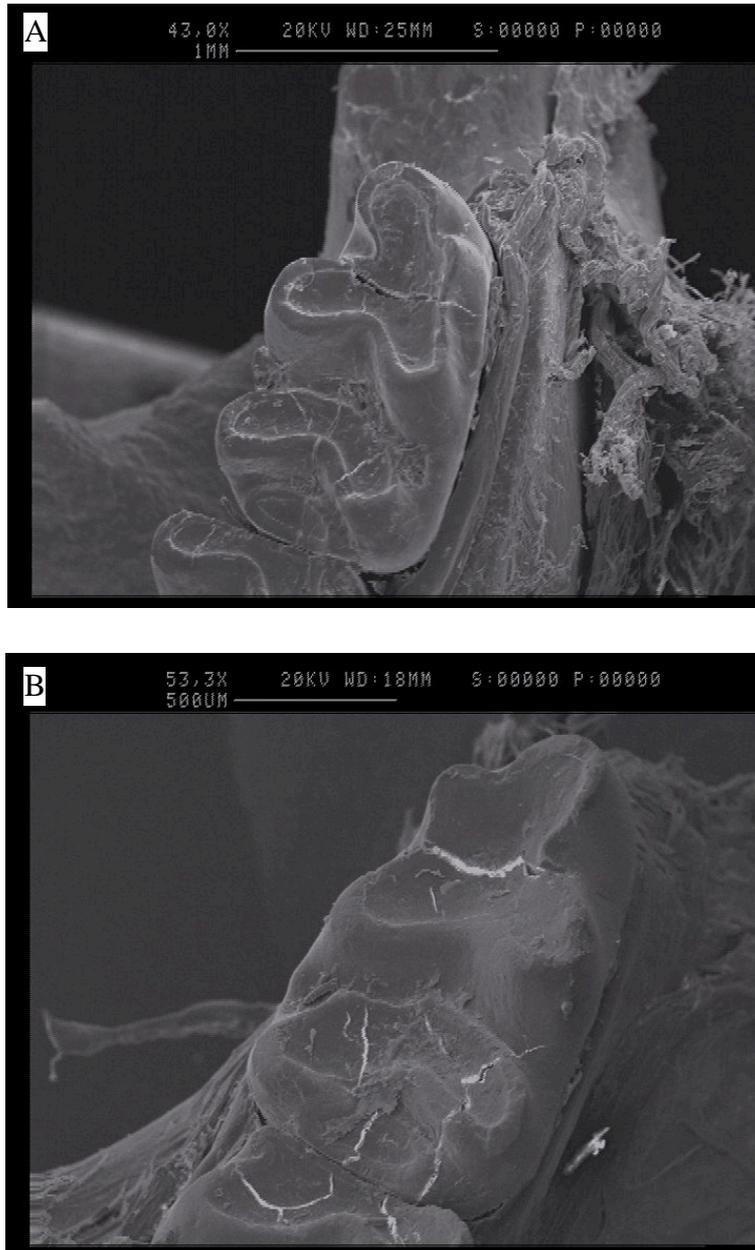


*Figure 37: Photographies réalisées au microscope électronique à transmission du muscle masséter chez la souris contrôle (A) et chez la souris scrambler (B),*

*Grossissement x3.810*

L'étude en microscopie électronique confirme la transformation intrinsèque des fibres musculaires. Une augmentation du nombre des mitochondries est observée. Ces dernières ont une forme très allongée, évoquant une multiplication par scissiparité non achevée (Fig. X B). Ces résultats préliminaires indiquent la nécessité de poursuivre cette étude.

L'activité métabolique du noyau moteur du nerf trijumeau étant augmentée chez la souris *scrambler*, nous pensons qu'une augmentation de la fonction manducatrice ait pu se traduire au niveau périphérique par une usure plus importante des dents. Une étude en microscopie électronique à balayage des mâchoires de 5 souris *scrambler* et 5 souris contrôle a été effectuée, mais n'a montré aucune différence significative entre les deux groupes de souris.



*Figure 38: Photographies réalisées au microscope électronique à balayage des troisièmes molaires postérieures chez la souris contrôle (A) et scrambler (B), Grossissement x43 (A) et x53,3 (B).*

## 5. Conclusion

La souris *scrambler*, dont la protéine mutée Dab-1 est intégrée dans la voie de signalisation de la réeline, est caractérisée par une désorganisation tissulaire de nombreuses régions du système nerveux central.

Nous nous étions fixés comme objectif d'étudier les centres segmentaires des nerfs crâniens impliqués dans les fonctions manducatrices afin d'en déterminer les anomalies de forme et de structure et d'en évaluer les éventuelles conséquences fonctionnelles.

L'analyse histologique en microscopie optique nous a permis d'observer une déformation générale de nombreuses structures correspondant à un étirement vertical selon l'axe dorso-ventral et un rétrécissement frontal selon l'axe médio-latéral.

Cette déformation était bien visible au niveau du noyau moteur du nerf facial ainsi que du noyau ambigu. Une dispersion cellulaire importante annihilait les limites de ces noyaux au point d'avoir l'impression d'une perte cellulaire, notamment pour le noyau ambigu. A l'inverse, les noyaux sensitifs semblaient préservés; seul, le noyau mésencéphalique du nerf trijumeau présentait une dispersion cellulaire importante.

Cette configuration histologique est semblable à celle décrite chez la souris *reeler*. Toutefois, la diminution du nombre des cellules proprioceptives au sein du noyau mésencéphalique mise en évidence dans le noyau mésencéphalique de la souris *scrambler* n'a jamais été décrite dans la mutation *reeler*. Il semble donc que des différences subtiles puissent exister entre les deux mutants.

Malgré les modifications morphologiques observées, les marquages histochimiques traduisant la fonctionnalité des noyaux montrent peu de différences dans la mutation. Il semblerait donc que les connexions synaptiques s'établissent normalement au sein des structures motrices altérées dans leur configuration architectonique.

Toutefois, le défaut des cellules proprioceptives mésencéphaliques en lien avec l'augmentation de l'activité métabolique des motoneurones responsables de l'innervation des muscles masticateurs signe des perturbations fonctionnelles de l'appareil manducateur. L'altération des fibres musculaires du muscle masseter confirment la pathologie mais des études plus poussées, histochimiques et biochimiques, sont nécessaires pour préciser les caractéristiques histopathologiques et fonctionnelles de ces noyaux directement impliqués dans le contrôle des fonctions manducatrices.

ANNEXE

MATERIELS ET METHODES

## 6. Annexe

Dans cette annexe, nous allons présenter les animaux et les techniques histologiques ayant servi aux expérimentations réalisées dans le cadre de cette étude.

### 6.1. Les animaux

L'élevage de souris *scrambler* (de souche Agouti (a/a)) au sein de l'animalerie centrale de la faculté de médecine de Nancy, s'effectue sur des portées obtenues par accouplement de couples hétérozygotes provenant du laboratoire Jackson Laboratory. Etant donné la fragilité des souris *scrambler* avant, et surtout pendant la période de sevrage, le protocole standard d'élevage a dû être adapté.

La reproduction nécessite une procédure particulière. En effet, les souris mâles homozygotes sont incapables de s'accoupler à cause de leur ataxie. Les femelles homozygotes peuvent, quand à elles, s'accoupler, mais leur maturité sexuelle survient plus tardivement que chez les souris saines. Il est donc impossible d'obtenir une souche pure\* de souris *scrambler*.

Les souris soignées sont de trois types:

- les souris de type sauvage homozygote,
- les souris hétérozygotes, portant les allèles sauvage et *scrambler*,
- les souris de type *scrambler* homozygote.

Ainsi l'union de mâles hétérozygotes, avec des souris femelles homozygotes ou hétérozygotes sont réalisés, afin d'obtenir des animaux homozygotes *scrambler*.

La probabilité d'obtention de souriceaux homozygotes est donc de:

- Mâle hétérozygote/femelle hétérozygote:  $\frac{1}{4}$  de petits homozygotes,
- Mâle hétérozygote/femelle homozygote:  $\frac{1}{2}$  de petits homozygotes.

\*Une souche pure est une population se reproduisant à l'identique pour certains gènes.

Une fois l'accouplement des souris effectué, les mâles et les femelles sont séparés, et les animaux sont distribués dans chaque cage. Les souris contrôles assurent un maternage des souris *scrambler*, moins vigoureuses, favorisant leur survie, tout en n'entraînant aucune compétition entre elles (même sexe, nourriture abondante, faible nombre). En effet, les souris *scrambler* ont un poids plus faible, car elles sont peu compétitives du fait de leurs troubles moteurs. De plus, un nombre important de ces animaux mutés est perdu lors du sevrage (qui est plus tardif) vraisemblablement en rapport avec un retard de maturation fonctionnel.

Les animaux sont au nombre de 2 à 3 par cage, et leur litière est changée chaque semaine. Au sein de chaque cage, 2 souris hétérozygotes sont placées avec 1 souris *scrambler*. Ces cages sont situées dans une salle maintenue à température, et degré d'humidité constante, en un cycle de 12h/24h d'éclairage. La nourriture est apportée sous forme de croquettes enrichies M25, qu'elles peuvent consommer à volonté, ainsi que l'eau.

Les études histologiques et histochimiques ont été réalisées sur :

-9 souris *scrambler* (scm/scm), 6 femelles et 3 mâles

-10 souris contrôle (+/?), 8 femelles et 2 mâles

Les individus des 2 groupes sont des adultes jeunes d'un âge équivalent. Le poids est significativement inférieur pour les souris *scrambler*. Avec une moyenne de poids de  $19,28g \pm 3.54g$  pour les souris *scrambler* et  $26,94g \pm 2,5g$  pour les souris contrôle,  $P < 0,0001$ .

La liste des souris utilisées, avec sexe, âge et poids est présentée dans le tableau 1.

Cage	souris n°	Mère	Père	Née le	Sexe	Génotype	Poid au sacrifice (g)
1	1	30	9	28/12/08	F	+/?	26,3
1	2	8	2	28/12/08	F	scm/scm	19,2
2	3	27	6	12/12/08	F	+/?	24,3
2	4	27	6	12/12/08	F	+/?	24
2	5	27	6	12/12/08	F	scm/scm	15,6
2	6	27	6	12/12/08	F	scm/scm	15,4
3	7	12	5	09/12/08	F	+/?	29
3	8	12	5	09/12/08	F	scm/scm	17
4	9	9	2	03/11/08	F	+/?	24,3
4	10	6	6	03/11/08	M	scm/scm	23,4
5	11	18	6	16/11/08	M	scm/scm	25
6	12	18	6	16/11/08	M	+/?	27,4
7	13	6	6	05/01/08	M	+/?	31,7
7	14	6	6	05/01/08	M	scm/scm	22,6
8	15	20	5	23/01/09	F	scm/scm	18,2
8	16	20	5	23/01/09	F	scm/scm	17,1
9	17	20	5	23/01/09	F	+/?	29,6
9	18	20	5	23/01/09	F	+/?	28
9	19	20	5	23/01/09	F	+/?	24,8

Tableau 9: Population des souris utilisées pour l'étude.

## **6.2. Le prélèvement des tissus**

L'euthanasie des souris *scrambler* s'est déroulé le 4 mai 2009, après avoir subi chacune une pesée (voir tableau).

Les souris sont euthanasiées par décapitation après une anesthésie gazeuse à l'halothane. Pour se faire, elles sont installées dans une enceinte en verre saturée par le gaz anesthésiant.

La décapitation se fait au moyen de ciseaux chirurgicaux, puis le prélèvement de l'encéphale s'accomplit en l'extrayant de la boîte crânienne, celle-ci ayant été fracturée de façon précise au niveau des sutures de la calotte.

Les tissus nerveux extraits sont directement plongés dans une solution d'isopentane (N-methylbutane) refroidie à l'aide de carboglace, à une température est comprise entre -40 et -50°C (la température est contrôlée en permanence à l'aide d'un thermomètre).

Une fois l'ensemble des prélèvements acquis, ils sont placés dans un congélateur à -80°C et peuvent ainsi être conservés plusieurs mois, voir plusieurs années.

## **6.3. Réalisation des coupes**

La préparation histologique des tissus, permet de façonner ceux-ci de part la réalisation de coupes d'épaisseur standardisée, et de coloration, pour effectuer des études au microscope et à l'analyseur d'image.

L'encéphale est placé dans un cryostat permettant d'effectuer des coupes frontales sériées de 20µm d'épaisseur. Les coupes réalisées à une température de -20°C environs, sont disposées sur des lames gélatinées-chrome-alun.

L'intérêt de cette méthode de coupe est d'avoir toutes les régions de l'encéphale sur deux lames (antérieur et postérieur), les coupes étant séparées entre elles d'une épaisseur de 300µm. Les coupes sont montées, puis mises à sécher à température ambiante pendant 2 à 3 heures. Cette étape est importante car la déshydratation qui en résulte va permettre d'éviter la formation de cristaux de glace dommageables pour les tissus lors de la congélation. Les lames sont alors conservées au congélateur à -80°C.

La gélatinisation des lames histologiques permet une meilleure adhérence des tissus biologiques sur la lame et de préserver l'intégrité des tissus lors des traitements histologiques. Les lames nettoyées et dégraissées, sont essuyées avec un papier spécial haute précision puis plongées quelques secondes dans une solution d'eau distillée chauffée à 40°-50°C avec 0.5g de gélatine et 0.05g de chrome-alun/100 ml. Cette solution est filtrée avant utilisation. Ensuite, les lames sont recouvertes par un papier d'aluminium, et mises à sécher pendant deux jours à température ambiante. Enfin, elles sont rangées dans des boîtes hermétiques, à l'abri de la lumière et de la poussière.

## **6.4.Colorations histologiques et histochimiques**

### **6.4.1.Coloration histologique au crésyl violet**

Cette méthode permet de détecter les corps de Nissl, au sein du cytoplasme des neurones fixés. En effet, les corps de Nissl correspondent à agrégats de citernes de réticulum endoplasmique granulaires entre lesquels de nombreux ribosomes libres peuvent être observés, situés dans le corps cellulaire des neurones, les dendrites, mais absents dans les axones.

L'abondance de cet ergastoplasme nous renseigne sur l'importance des synthèses protéiques de la cellule nerveuse.

Grâce à la coloration au crésyl violet, les corps de Nissl prendront une teinte en bleu/violet, spécifique aux neurones, permettant ainsi d'évaluer la densité cellulaire au sein du tissu nerveux.

Pour que ce colorant puisse trouver son efficacité, les tissus doivent être préalablement dégraissés en passant par divers bains d'alcool, filtrage croissant puis décroissant pour une réhydratation, jusqu'à terminer dans un bain d'eau distillée.

#### **❖Mode de fonctionnement:**

Le crésyl violet est une base qui s'accroche aux macromolécules anioniques, qui sont des macromolécules ayant gagné un électron, et possédant une charge électrique négative.

L'ADN ainsi que l'ARN étant tous deux de telles molécules, leur coloration à l'aide du crésyl violet est réalisable.

Ainsi, ce colorant est utilisé essentiellement pour la mise en évidence des noyaux, et des corps de Nissl, grâce aux ribosomes qui sont des complexes ribonucléoprotéiques, composé par de l'ARN ribosomique et des protéines ribosomiques, ayant pour fonction de synthétiser des protéines en décryptant les informations données par les ARN messagers.

### ❖ Préparation de la solution de crésyl violet:

-Pour 250 ml de solution:

-15 ml d'acétate de sodium 1M,

-75 ml d'acide formique 0.2M,

-150 ml de crésyl violet aqueux 0.5%,

-filtrer la solution.

### ❖ Le protocole histologique:

-Séchage des lames à température ambiante,

-Fixation à la formaline (formaldéhyde 4% tamponné) pendant 24 heures,

-Rinçage des lames dans de l'eau distillée (1 rinçage rapide suivi d'un rinçage de 5 min),

-Dégraissage des tissus par trempages successifs (3 min chacun) des lames dans une série ascendante puis une série descendante de bains d'alcool, (alcool 50°, 70°, 96°, 100° (2 fois), xylène, 100° (2 fois), 96°, 70°, 50°),

-Rinçage à l'eau distillée pendant 5 min,

-Coloration des lames par immersion pendant 30 min dans la solution de crésyl violet (Procéder par essais pour définir le temps optimal de façon à obtenir une coloration bien contrastée),

-Rinçage rapide pour éliminer l'excès de colorant,

-Immersion des lames dans une série de bains d'alcool 50°, 70°, 96°,100° (2 fois), xylène (2 fois), 3 min chacun,

-La déshydratation sert à différencier la coloration (la myéline perd la coloration alors que le corps cellulaire la conserve). Cette différenciation est accélérée en acidifiant légèrement les bains d'alcool 70° et 96° avec de l'acide acétique,

-Montage des lames à l'Eukitt.

#### **6.4.2.Marquage histochimique de la cytochrome oxydase (COX)**

La cytochrome oxydase (COX) est une protéine transmembranaire présente au niveau de la membrane mitochondriale interne de tous les eucaryotes et dans la membrane cellulaire de certains procaryotes.

L'association étroite entre l'activité neuronale et le métabolisme énergétique oxydatif, forme la base de l'usage de la COX comme marqueur métabolique endogène des neurones (Wong-Riley, 1989).

Ainsi, il existe une corrélation étroite entre le taux de COX relevé par histochimie, et l'activité métabolique des neurones. La COX n'étant pas stockée dans la cellule, et étant fabriquée en fonction des besoins énergétiques, elle donne ainsi un index fiable du métabolisme énergétique des cellules travaillant en aérobie.

Les muscles, et le système nerveux, sont des structures qui sont basés sur un métabolisme oxydatif, or les cellules ne stockent pas cette énergie. Donc celle-ci est produite à la demande grâce à la phosphorylation oxydative. Ainsi, plus l'activité métabolique cellulaire augmente, plus la cellule aura besoin d'un apport énergétique important et plus la quantité de cytochrome oxydase présente au sein de la cellule sera élevé.

De la même façon, une diminution de cytochrome oxydase reflètera une diminution de l'activité métabolique ou une destruction cellulaire (lors de destructions cellulaires au sein d'un tissu, il est possible qu'une compensation de la fonction par les cellules subsistantes se

réalise, produisant ainsi une augmentation de l'activité métabolique en leur sein; par contre si la compensation ne peut se produire, une diminution de l'activité métabolique sera observée.)

Histochimiquement, il est possible de marquer les tissus proportionnellement à la quantité de cytochrome oxydase, fournissant une localisation précise du produit de réaction au niveau régional et cellulaire.

La COX est révélée par histochimie, par une réaction d'oxydo-réduction, dont le produit est mis en évidence à l'aide du 3,3'diaminobenzidine. Sa quantification, mise au point par Gonzalez-Lima et Jones (1994), permet d'estimer l'activité de l'enzyme en fonction de l'absorbance du marquage obtenu par histochimie.

Une série de coupes de cerveau de chaque souris ainsi que des lames standards ont été utilisées.

### ❖ **Protocole histochimique**

- Séchage des lames à température ambiante,
- Incubation à 37°C, à l'obscurité, sur agitateur pendant environ 1 heure (45 à 75 minutes - temps à déterminer suivant l'intensité de la coloration) dans le mélange suivant: pour 180 ml de tampon phosphate 0.1 M (pH 7.4):
  - 40 mg de cytochrome c (SIGMA, type III, de cheval),
  - 100 mg de DAB-4HCl,
  - 8 g de sucrose,
  - 36 mg de catalase.
- Rinçage au tampon phosphate 0.1M sucrosé à 10% à 4°C pendant 5 min pour arrêter la réaction,
- Fixation dans un bain de formaline (formaldéhyde 4% tamponné) pendant 30 min,
- Rinçage 3 fois au tampon phosphate 0.1M (5 min et 2 x 2 min),

- Déshydratation dans des bains successifs d'alcool (3 min chacun) de 50°, 70°, 96°, puis de 100° (2 fois 5 min) et enfin de xylène (2 fois 5 min),

- Montage à l'Eukitt.

Parallèlement, deux contrôles négatifs sont immergés dans la même solution mais l'un sans DAB et l'autre avec du cyanide de potassium 0.01M pendant le même temps d'incubation. Aucun marquage de CO n'est présent sur ces lames.

Le marquage, de couleur brune, est analysé à l'aide d'un microscope à transmission, en lumière blanche. Etant donné que l'intensité du marquage est proportionnelle à la quantité de tissus analysée et au temps d'incubation, l'analyse de la densité de marquage se fait par mesure de l'absorbance.

### **❖ Calcul de l'activité enzymatique spécifique de la COX**

Les standards sont préparés comme pour le protocole de l'acétylcholinestérase (décrit ci-après)

L'activité enzymatique est calculée par spectrophotométrie. La méthode a été décrite par Hess et Pope (1953) sur des homogénats réalisés à partir de broyats d'encéphale de souris.

- diluer le cytochrome c (SIGMA) à une concentration de 30 $\mu$ M dans du tampon phosphate 0.05M (pH 7),

- rajouter 0,3g de sodium hydrosulfite (= hydrosulfite de Na) pour 100 ml de solution de cytochrome c, soit une concentration de 17mM.

Le cytochrome c est réduit par l'hydrosulfite de Na et passe d'une coloration saumon à une coloration rose (Nous obtenions par exemple, à 565nm une D.O. de 0.13 et à 550nm une D.O. de 2.08, soit un rapport d'environ 16. Ce rapport doit être impérativement >6 sinon la solution doit être réduite à nouveau),

- mélanger alors 0.9ml de cette solution de cytochrome réduit avec 0.1ml d'homogénat (l'homogénat est mélangé à du déoxycholate 0.75% dans un rapport de 0.012g de pâte pour 5ml de déoxycholate. Pour bien homogénéiser, utiliser un tube et un piston en friction),

- mesure de la D.O. à 550nm.

On obtient une chute importante de la D.O. avec une courbe dont la pente est importante. Cette pente représente l'activité enzymatique qui est calculée directement par l'appareil par la formule :  $OD/E/(tissu)=\mu\text{mol}/\text{min}/\text{g}$  de tissu sec à 22° pH 7 ( $E = 19.6\text{nM}^{-1}\cdot\text{cm}^{-1}$ )

Le calcul de la pente se fait lorsque la pente est la plus droite entre T15sec et T75sec.

Le ferricyanide de potassium doit arrêter tout de suite la réaction d'oxydation.

L'activité spécifique mesurée ( $38,5\mu\text{mol}/\text{min}/\text{g}$  de tissu) reste stable pendant plusieurs mois.

### **6.4.3.Marquage histochimique de l'acétylcholinesthérase**

L'activité de l'AChE est utilisée pour marquer l'innervation cholinergique dans le système nerveux central (Gil-Bea et al., 2005). Bien que l'AChE ne soit pas un marqueur spécifique puisque l'enzyme est présente à la fois dans les neurones présynaptiques et postsynaptiques, sa révélation histochimique nous permet d'en faire une évaluation quantitative. Ce marqueur est intéressant car il marque les motoneurones des centres segmentaires.

Le principe de la méthode histochimique est la mesure du niveau de la thiocholine produite par hydrolyse de l'acétylthiocholine utilisée comme un analogue du substrat naturel. La révélation de la thiocholine est effectuée par le sodium sulfide.

Pour les besoins de nos observations, une série de coupes de cerveau de chaque souris ( $20\mu\text{m}$  d'épaisseur) ainsi que des lames de standards (homogénats d'encéphale de souris) ont été utilisées. Le marquage est effectué selon le protocole de Paxinos et Watson (1998). L'intensité du marquage est directement proportionnelle au volume du tissu biologique (épaisseur) et à la durée d'incubation.

La mesure de l'activité enzymatique des homogénats utilisés pour les standards par spectrophotométrie permet la conversion de l'absorbance en activité enzymatique et la réalisation d'une évaluation quantitative de l'AChE.

## ❖ Préparation des solutions

-Préparation d'un tampon acétate 0,1M de pH=5,0

-Solution A : (pour 100ml):

-0.57ml acide acétique glacial 1N (pour faire une solution à 0.1N),

-eau distillée.

-Solution B : (pour 200ml),

-1.64g sodium acétate pour une solution à 0.1N (PM : 82.03),

-eau distillée.

-Solution finale = 59ml de solution A + 141ml de solution B (soit 200ml à 0.1M),

- Utilisation de tampon acétate 50mM de pH=5,0 : dilution de la solution finale par 2, soit un ajout de 200ml d'eau distillée,

- Préparation de la solution stock : ajouter au tampon acétate (pour 400ml):

-4mM de sulfate de cuivre (soit 0,2554g),

-16mM de glycine (soit 0,4804g). Cette solution stock peut se conserver pendant des mois au réfrigérateur et indéfiniment au congélateur,

- Préparation de la solution d'incubation: ajouter à la solution stock (pour 100ml):

-116mg de S-acétylthiocholine iodide,

-3mg d'éthopropazine, bien mélanger la solution car l'éthopropazine se dissout difficilement.

## ❖ Protocole histochimique

- Séchage des lames à température ambiante,

- Incubation des lames à température ambiante, sans agitation pendant 12 heures,
- Rinçages rapides à l'eau distillée (3 fois) pour arrêter la réaction,
- Révélation dans une solution de 1% de sodium sulfide  $\text{Na}_2\text{S} \cdot 9\text{H}_2\text{O}$  à  $\text{pH}=7,5$  (ajout d'acide acétique jusqu'à obtention du  $\text{pH}$  souhaité) pendant 10min,
- Rinçages rapides à l'eau distillée (3 fois) pour arrêter la réaction,
- Fixation dans un bain de formaline (formaldéhyde 4% tamponné) pendant 30min,
- Rinçage à l'eau distillée (5min et 2x2min),
- Déshydratation dans des bains successifs d'alcool (3min chacun) de  $50^\circ$ ,  $70^\circ$ ,  $96^\circ$ , puis de  $100^\circ$  (2x5min) et enfin de xylène (2x5min),
- Montage à l'Eukitt.

Parallèlement, un contrôle négatif est immergé dans la même solution sans S-acétylthiocholine iodide, pendant le même temps d'incubation. Aucun marquage d'AChE n'est présent sur ces lames.

Le marquage, de couleur brune, est analysé à l'aide d'un microscope à transmission classique (lumière normale). Etant donné que l'intensité du marquage est proportionnelle à la quantité de tissus analysée et au temps d'incubation, l'analyse de la densité de marquage se fait par mesure de l'absorbance.

### **❖Préparation des standards**

La préparation des standards se réalise de la façon suivante :

- prélèvement de plusieurs encéphales de souris,
- broyage manuel des encéphales de souris à l'aide d'un broyeur manuel de type Dounce jusqu'à obtention d'une pâte,
- conservation de la pâte dans des petits ependorfs cylindriques,

Pour une bonne homogénéisation (densité uniforme de la pâte) faire tourner les homogénats rapidement dans une centrifugeuse (1800 rpm) à  $4^\circ$  pendant 15-30 sec.

- congélation des ependorfs dans l'isopentane à  $-40^\circ\text{C}$  avant de les conserver au congélateur à  $-80^\circ\text{C}$ .

Pour la préparation des lames de standards, il suffit de démouler les petits "boudins" de pâte congelée, les placer sur un porte-objet, les couper à des épaisseurs variables de 10, 20 et 40  $\mu\text{m}$  et les placer sur une même lame.

Pour extraire les boudins de pâte des ependorfs, il suffit de couper l'extrémité du tube et de les pousser à l'aide d'un bâtonnet : procéder sur de la carboglace pour maintenir une température en dessous de  $-20^{\circ}\text{C}$ .

### **❖ Calcul de l'activité enzymatique spécifique de l'AChE**

L'activité enzymatique de l'AChE a été déterminée en spectrophotométrie au moyen de la méthode colorimétrique d'Ellman et al. (1961) modifiée par Dumont et al., (2005). La thiocholine, formée durant l'hydrolyse de l'acetylthiocholine, est capable de réagir rapidement avec l'acide 5-5'-dithiobis-2-nitrobenzoïque (DTNB) en libérant un anion 5-thio-2-nitrobenzoate dont la couleur présente un maximum d'absorption à la longueur d'onde de 412 nm.

- Réalisation d'un homogénat formé de 50mg de pâte (standard d'encéphale de souris) dans 1ml de tampon phosphate 0.1M (pH 8,0),

- Préparation d'aliqots de concentration tissulaire variable à partir de l'homogénat précédent (12.5 to 50 $\mu\text{l}$ ) par dilution dans du tampon phosphate contenant 25 $\mu\text{l}$  de DTNB (0.5mM),

- Mesure de l'absorbance à 412 nm de chaque aliqot après avoir rajouter dans la cuve de spectrophotomètre 10  $\mu\text{l}$  d'acetylthiocholine-iodide (0.5mM)

La valeur d'absorbance est proportionnelle à la concentration tissulaire ( $r=0.997$ ).

L'activité enzymatique est calculée directement par l'appareil par la formule :

$$\Delta\text{OD}/E/(\text{tissu})=\mu\text{mol}/\text{min}/\text{g de tissu sec à } 22^{\circ} \text{ pH } 7 \quad (E=1,36\text{nM}\cdot\text{l}\cdot\text{cm}^{-1})$$

L'ajout de 50 $\mu\text{M}$  d'ambenonium (Tocris, Illkirch, France), un puissant inhibiteur de l'AChE supprime la réaction.

L'activité spécifique mesurée (13,0 $\mu\text{mol}/\text{min}/\text{g}$  de tissu) reste stable pendant plusieurs mois pour les standards conservés à  $-80^{\circ}\text{C}$ .

## 6.2. Matériels et méthodes ayant été utilisés lors de la préparation des tissus musculaires

### 6.2.1. Animaux

Les souris utilisées dans l'étude des structures musculaires proviennent d'une série différente de celle utilisée dans l'étude des structures segmentaires impliquées dans la fonction manducatrice.

Les études histologiques effectuées sur les muscles ont été réalisées sur (Tableau 2) :

- 4 souris femelles *scrambler* (scm/scm),
- 5 souris femelles contrôle.

Les individus des 2 groupes sont des adultes jeunes d'un âge équivalent. Le poids est significativement inférieur pour les souris *scrambler* avec une moyenne de poids de  $23,35\text{g} \pm 1,75\text{g}$  pour les souris *scrambler* et  $39,66\text{g} \pm 5,71\text{g}$  pour les souris contrôle,  $P < 0,001$ .

Cette diminution importante de poids est liée à une diminution de la taille des souris *scrambler*. La masse musculaire semble réduite mais nous n'en avons pas évalué la quantité.

N° manip	N° animalerie	née le	sexe	génotype	poids sacrifice (en g)	Âge au sacrifice (en mois)
1	42.09	1 juil. 09	F	+/?	44,4	10
2	40.09	1 juil. 09	F	scm/scm	25,6	10
3	14.09	20 mai 09	F	+/-	45,8	12
4	9.09	22 mai 09	F	scm/scm	22,8	12
5	5.10	17 mai 09	F	+/?	31,6	12
6	9.10	8 sept. 09	F	scm/scm	23,6	8
7	7.10	8 sept. 09	F	+/?	39,1	8
8	6.10	8 sept. 09	F	+/+	37,4	8
9	14.10	8 sept. 09	F	scm/scm	21,4	8

Tableau 10, présentant les souris utilisées pour l'observation des muscles.

### **6.2.2.Préparation des tissus : perfusion intracardiaque**

Les souris sont anesthésiées par inhalation d'halothane, puis fixées en décubitus dorsal sur une grille au dessus d'un évier. Une incision de la peau et des muscles thoraciques est réalisée, le sternum est également sectionné, découvrant le cœur. Une entaille est effectuée au niveau de la pointe du ventricule gauche à l'aide d'un bistouri. Puis, un cathéter est inséré en intracardiaque, et fixé au myocarde à l'aide d'une pince à clamer. Une incision est réalisée au niveau de l'oreillette droite afin de permettre une évacuation des liquides du système cardiovasculaire.

Du sérum physiologique (9‰ de NaCl, environs 150 ml) est tout d'abord injectée dans le système vasculaire du rongeur, afin de rincer les tissus, puis 150 ml d'une solution de glutaraldehyde à 2,5% dans du tampon cacodylate est injecté à l'aide du cathéter, en prenant soin de ne pas former de bulles au sein du circuit.

# BIBLIOGRAPHIE

## A

**Akopians A. L., Babayan A. H., Beffert U., Herz J., Basbaum A. I. et Phelps P. E.** (2008) Contribution of the Reelin signaling pathways to nociceptive processing. *Eur. J. Neurosci.* 27, 523–537.

**Alcantara S., Ruiz, M., D’Arcangelo G., Ezan F., de Lecea L., Curran T., Sotelo C. et Soriano E.** (1998) Regional and cellular patterns of reelin mRNA expression in the forebrain of the developing and adult mouse. *J. Neurosci.* 18, 7779– 7799.

**Allendoerfer K. L. et Shatz C. J.** (1994) The subplate, a transient neocortical structure: Its role in the development of connections between thalamus and cortex. *Ann. Rev. Neurosci.* 17, 185-218.

**Anthony T.E., Klein C., Fishell G. et Heintz N.** (2004) Radial glia serve as neuronal progenitors in all regions of the central nervous system. *Neuron.* 41, 881-890.

**Auclair F., Valdes N. et Marchand R.** (1996) Rhombomere-specific origin of branchial and visceral motoneurons of the facial nerve in the rat embryo, *J. Comp. Neurol.* 369, 451-461.

## B

**Baba K., Dekimoto H., Muraoka D., Agata K., Terashima T. et Katsuyama, Y.** (2006) A mouse homologue of Strawberry Notch is transcriptionally regulated by Reelin signal. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 350, 842–849.

**Baba K., Sakakibara S., Setsu T. et Terashima T.** (2007) The superficial layers of the superior colliculus are cytoarchitecturally and myeloarchitecturally disorganized in the reelin-deficient mouse, *reeler*. *Brain Res.* 1140, 205–215.

**Badea A., Nicholls P. J., Johnson G. A. et Wetsel W. C.** (2007) Neuroanatomical phenotypes in the *reeler* mouse. *Neuroimage* 34, 1363–1374.

**Barrett R.T., Bao X., Miselis R.R., Altschuler S.M.** (1994) Brain stem localization of rodent esophageal premotor neurons revealed by transneuronal passage of pseudorabies virus, *Gastroenterology* 107, 728-737.

**Bayer S. A. et Altman J.** (1991): *Neocortical Development*, New York, Raven Press

**Beckmann H.** (1999) Developmental malformations in cerebral structures of schizophrenic patients. *Eur. Arch. Psychiatry Clin. Neurosci.* 249, 44-47.

**Bennett-Clarke C.A., Chiaia N.L., Jacquin M.F. et Rhoades R.W.** (1992) Parvalbumin and calbindin immunocytochemistry reveal functionally distinct cell groups and vibrissa-related patterns in the trigeminal brainstem complex of the adult rat. *J. Comp. Neurol.* 320, 323-338.

**Bieger D. et Hopkins D.A.** (1987) Viscerotopic representation of the upper alimentary tract in the medulla oblongata in the rat: the nucleus ambiguus. *J. Comp. Neurol.* 262, 546-562.

**Bielle F., Griveau A., Narboux-Nême N., Vigneau S., Sigrist M., Arber S., Wassef M. et Pierani A.** (2005) Multiple origins of Cajal-Retzius cells at the borders of the developing pallium. *Nat. Neurosci.* 8, 1002–1012.

**Blatt G. J. et Eisenman L. M.** (1988) Topographic and zonal organization of the olivocerebellar projection in the *reeler* mutant mouse. *J. Comp. Neurol.* 267, 603–615.

**Bossy J., Bastide G., Godlewski G., Guerin J., Lasjaunias P., Lefebvre D., Prat D., Roland J., Salama J., Muller F., O'Rahilly R., Rodesch G. et Sambuc P.** (1990) *Neuro-Anatomie*. Ed. Springer-Verlag, France.

**Bruce L.L., McHaffie J.G. et Stein B.E.** (1987) The organization of trigeminotectal and trigeminothalamic neurons in rodents: A double-labeling study with fluorescent dyes. *J. Comp. Neurol.* 262, 315-330.

**Bruce L. L., Kingsley J., Nichols D. H. et Fritzsich B.** (1997) The development of vestibulocochlear efferents and cochlear afferents in mice. *Int. J. Dev. Neurosci.* 15, 671-692.

**Bystrzycka E.K. et Nail, B.S.** (1985) Brain stem nuclei associated with respiratory, cardiovascular and other autonomic functions. In *The Rat Nervous System*. Ed. Academic Press, 95-110.

## C

**Cambier J., Masson M., Dehen H. et Masson C.** (2008) *Neurologie*. Ed. Elsevier Masson.

**Cambroner F. et Puelles L.** (2000) Rostrocaudal nuclear relationships in the avian medulla oblongata: a fate map with quail chick chimeras. *J. Comp. Neurol.* 427, 522–545.

**Cariboni A., Rakic S., Liapi A., Maggi R., Goffinet A. et Parnavelas J. G.** (2005) Reelin provides an inhibitory signal in the migration of gonadotropin-releasing hormone neurons. *Develop.* 132, 4709–4718.

**Card J.P., Riley J.N. et Moore R.Y.** (1986) The motor trigeminal nucleus of the rat: Analysis of neuronal structure and the synaptic organization of noradrenergic afferents. *J. Comp. Neurol.* 250, 469-484.

**Caviness V. S. Jr.** (1982) Neocortical histogenesis in normal and *reeler* mice: a developmental study based upon [3H]thymidine autoradiography. *Brain Res.* 256, 293-302.

**Caviness V.S. Jr.** (1988) Crandall JE, Edwards MA: The *Reeler* malformation: implications for neocortical histogenesis. In: Peters A, Jones EG, Ed, Cerebral Cortex, vol. 17, New York, Plenum, 59-89.

**Caviness V.S. Jr. et Sidman R.L.** (1973) Time of origin of corresponding cell classes in the cerebral cortex of normal and *reeler* mutant mice: an autoradiographic analysis. J. Comp. Neurol. 148, 141-151.

**Cook E. H. Jr. et Scherer S. W.** (2008) Copy-number variations associated with neuropsychiatric conditions. Nature 455, 919-923.

**Copper K.** (2006) Corticogenesis of a mouse. Six cortical layers. [http://en.wikipedia.org/wiki/File:Corticogenesis\\_in\\_a\\_wild-type\\_mouse\\_with\\_captions\\_in\\_english\\_copy.gif](http://en.wikipedia.org/wiki/File:Corticogenesis_in_a_wild-type_mouse_with_captions_in_english_copy.gif).

**Cummings D. M., Henning H. E. et Brunjes P. C.** (1997) Olfactory bulb recovery after early sensory deprivation. J. Neurosci. 17, 7433-7440.

## D

**D'Amico-Martel A. et Nodem D.M.** (1983) Contribution of placodal and neural crest cells to avian cranial peripheral ganglia. Am. J. Anat. 166, 445-468.

**D'Arcangelo G., Miao G. G., Chen S. C., Soares H. D., Morgan J. I. et Curran T.** (1995) A protein related to extracellular matrix proteins deleted in the mouse mutant, *reeler*. Nature 374, 719-723.

**D'Arcangelo G. et Curran T.** (1998) *Reeler*: new tales on an old mutant mouse. BioEssays 20, 1-10.

**D'Arcangelo G., Homayouni R., Keshvara L., Rice D. S., Sheldon M. et Curran T.** (1999) Reelin is a ligand for lipoprotein receptors. Neuron 24, 471-479.

**Dekimoto H., Terashima T. et Katsuyama Y.** (2010) Dispersion of the neurons expressing layer specific markers in the *reeler* brain. *Development Growth & Differentiation* 52, 181-193.

**Del Río J. A., Heimrich B., Borrell V., Förster E., Drakew A., Alcántara S., Nakajima K., Miyata T., Ogawa M., Mikoshiba K., Derer P., Frotscher M. et Soriano E.** (1997) A role for Cajal-Retzius cells and reelin in the development of hippocampal connections. *Nature* 385, 70-74.

**Dickson B.J.** (2002) Molecular mechanisms of axon guidance. *Sci.* 298, 1959-64.

**Didier Y.R. et Gilbert W.** (1990) Pioneer neurons in the mouse trigeminal sensory system. *Proc. Natl. Acad. Sci.* 87, 923-927.

**Dostrovsky J.O., Davis K.D. et Kawakita K.** (1991) Central mechanisms of vascular headaches. *Can. J. Physiol. Pharm.* 60, 652-658.

**Doyon D.** (2006) *Les nerfs crâniens* Ed. Elsevier Masson

**Drager U. C.** (1981) Observations on the organization of the visual cortex in the *reeler* mouse. *J. Comp. Neurol.* 201, 555-570.

**Dulabon L., Olson E. C., Taglienti M. G., Eisenhuth S., McGrath B., Walsh C. A., Kreidberg J. A. et Anton E. S.** (2000) Reelin binds alpha3beta1 integrin and inhibits neuronal migration. *Neuron* 27, 33-44.

**Duus P.** (1998) *Diagnostic neurologique les bases anatomiques.* Ed. DeBoeck Université Thieme.

## **E**

**Ezure K., Manabe M. et Yamada H.** (1988) Distribution of medullary respiratory neurons in the rat. *Brain Research* 455, 262-270.

## **F**

**Fatemi S. H.** (2005) Reelin glycoprotein: structure, biology and roles in health and disease. *Mol. Psychiatry* 10, 251-257.

**Ferrere A., Vitalis T., Gingras H., Gaspar P. et Cases O.** (2006) Expression of Cux-1 and Cux-2 in the developing somatosensory cortex of normal and barrel-defective mice. *Anat. Rec. A Discov. Mol. Cell Evol. Biol.* 288, 158-165.

**Forbes D.J. et Welt C.** (1981) Neurogenesis in the ganglion of the albino rat: A quantitative autoradiographic study. *J. comp. Neurol.* 199, 133-147.

**Friauf E. et Baker R.** (1985) An intracellular HRP-study of cat tensor tympani motoneurons. *Exp. Brain Res.* 57, 499-511.

**Fujimoto Y., Setsu T., Ikeda Y., Miwa A., Okado H. et Terashima T.** (1998) Ambiguous nucleus neurons innervating the abdominal esophagus are malpositioned in the *reeler* mouse. *Brain Res.* 811, 156-160.

## G

**García-Moreno F., López-Mascaraque L. et De Carlos J. A.** (2007) Origins and migratory routes of murine Cajal-Retzius cells. *J. Comp. Neurol.* 500, 419-432.

**Ghanassia E. et Procureur V.** (1999) *Biologie du développement et de la reproduction.* Ed. Estem.

**Gil-Bea F.J., Garcia-Alloza M., Dominguez J., Marcos B. et Ramirez M.J.** (2005) Evaluation of cholinergic markers in Alzheimer's disease and in a model of cholinergic deficit. *Neurosci. Lett.* 375, 37-41.

**Goffinet A.M.** (1983) The embryonic development of the cerebellum in normal and *reeler* mutant mice. *Anat. Embryol.* 168, 73-86

**Goffinet A. M.** (1984) Abnormal development of the facial nerve nucleus in *reeler* mutant mice. *J. Anat.* 138, 207-215.

**Gotthardt M., Trommsdorff M., Nevitt M.F., Shelton J., Richardson J.A., Stockinger W., Nimpf J. et Herz J.** (2000) Interactions of the low density lipoprotein receptor gene family with cytosolic adaptor and scaffold proteins suggest diverse biological functions in cellular communication and signal transduction. *J. Biol. Chem.* 275, 25616-25624.

**van Groen T., Miettinen P. et Kadish I.** (2003) The entorhinal cortex of the mouse: organization of the projection to the hippocampal formation. *Hippocampus* 13, 133-149.

## H

**Hack I., Bancila M., Loulier K., Carroll P. et Cremer H.** (2002) Reelin is a detachment signal in tangential chain-migration during postnatal neurogenesis. *Nat. Neurosci.* 5, 939-945.

**Haring J.H., Henderson T.A. et Jacquin M.F.** (1990) Principalisior parabrachial-projecting spinal trigeminal neurons do not stain for GABA or GAD. *Somat. Motor Res.* 7, 391-397.

**Hartfuss E., Förster E., Bock H. H., Hack M. A., Leprince P., Luque J. M., Herz J., Frotscher M. et Götz M.** (2003) Reelin signaling directly affects radial glia morphology and biochemical maturation. *Develop.* 130, 4597-4609.

**Hashimoto-Torii K., Torii M., Sarkisian M. R., Bartley C. M., Shen J., Radtke F., Gridley T., Sestan N. et Rakic P.** (2008) Interaction between Reelin and Notch signaling regulates neuronal migration in the cerebral cortex. *Neuron.* 60, 273-284.

**Hatten M.E.** (1999) Central nervous system neuronal migration. *Annu. Rev. Neurosci.* 22, 511-539.

**Hayakawa T., Yajima Y., Zyo K.** (1996) Ultrastructural characterization of pharyngeal and esophageal motoneurons in the nucleus ambiguus of the rat, *J. Comp. Neurol.* 370, 135-146.

**Hebel R. et Stromberg M.W.** (1986) *Anatomy and Embryology of the rat Laboratory Rat.* Ed. BioMed Verlag.

**Hess H.H. et Pope A.** (1953) Ultramicrospectrophotometric determination of cytochrome oxidase for quantitative histochemistry. *J. Biol. Chem.* 204, 295-306.

**Hiesberger T., Trommsdorff M., Howell B. W., Goffinet A., Mumby M. C., Cooper J. A. et Herz J.** (1999) Direct binding of Reelin to VLDL receptor and ApoE receptor 2 induces tyrosine phosphorylation of disabled-1 and modulates tau phosphorylation. *Neuron*. 24, 481-489.

**Hirai S., Kawaguchi A., Hirasawa R., Baba M., Ohnishi T. et Ohno S.** (2002) MAPK-upstream protein kinase (MUK) regulates the radial migration of immature neurons in telencephalon of mouse embryo. *Develop*. 129, 4483-4495

**Hirasugi K., Hisa Y., Setsu T. et Terashima T.** (2007) Ambiguous motoneurons innervating laryngeal and esophageal muscles are malpositioned in the Reelin-deficient mutant rat, Shaking Rat Kawasaki. *Acta. Otolaryngol*. 127, 213-220.

**Hirotsune S., Takahara T., Sasaki N., Hirose K., Yoshiki A., Ohashi T., Kusakabe M., Murakami Y., Muramatsu M., Watanabe S., Nakao K., Katsuki M. et Hayashizaki Y.** (1995) The *reeler* gene encodes a protein with an EGF-like motif expressed by pioneer neurons. *Nat. Genet*. 10, 77-83.

**Hoffarth R. M., Johnston J. G., Krushel L. A. et van der Kooy D.** (1995) The mouse mutation *reeler* causes increased adhesion within a subpopulation of early postmitotic cortical neurons. *J. Neurosci*. 15, 4838-4850.

**Howell B.W., Gertler F.B. et Cooper J.A.** (1997a) Mouse disabled (mDab1): a Src binding protein implicated in neuronal development. *Embo. J*. 16, 121-132.

**Howell B. W., Hawkes R., Soriano P. et Cooper J. A.** (1997b) Neuronal position in the developing brain is regulated by mouse disabled-1. *Nature* 389, 733-737.

**Howell B.W., Herrick T.M. et Cooper J.A.** (1999a) Reelin-induced tyrosine phosphorylation of disabled 1 during neuronal positioning. *Genes Dev*. 13, 643-648

**Howell B.W., Herrick T.M., Hildebrand J.D., Zhang Y. et Cooper J.A.** (2000) Dab1 tyrosine phosphorylation sites relay positional signals during mouse brain development. *Curr. Biol.* 10, 877-885

**Howell B.W., Lanier L.M., Frank R., Gertler F.B. et Cooper J.A.** (1999b) The disabled 1 phosphotyrosine-binding domain binds to the internalization signals of transmembrane glycoproteins and to phospholipids. *Mol. Cell. Biol.* 19, 5179-5188

**Hong S. E., Shugart Y. Y., Huang D. T., Shahwan S. A., Grant, P. E., Hourihane J. O., Martin N. D. et Walsh C. A.** (2000) Autosomal recessive lissencephaly with cerebellar hypoplasia is associated with human *RELN* mutations. *Nat. Genet.* 26, 93-96.

**Hourihane J.O., Bennett C.P., Chaudhuri R., Robb S.A. et Martin N.D.** (1993) A sibship with a neuronal migration defect, cerebellar hypoplasia and congenital lymphedema. *Neuropediatrics* 24, 43-46.

## I

**Ikeda Y. et Terashima T.** (1997a) Corticospinal tract neurons are radially malpositioned in the sensory-motor cortex of the Shaking rat Kawasaki. *J. Comp. Neurol.* 383, 370-380.

**Ikeda Y. et Terashima T.** (1997b) Expression of reelin, the gene responsible for the *reeler* mutation, in embryonic development and adulthood in the mouse. *Dev. Dyn.* 210, 157-172.

**Impagnatiello F., Guidotti A. R., Pesold C., Dwivedi Y., Caruncho H., Pisu M. G., Uzunov D. P., Smalheiser N. R., Davis J. M., Pandey G. N., Pappas G. D., Tueting P., Sharma R. P. et Costa E.** (1998) A decrease of reelin expression as a putative vulnerability factor in schizophrenia. *Proc. Natl Acad. Sci. USA* 95, 15718-15723.

**Inoue K., Terashima T. et Inoue Y.** (1991) The intracortical position of pyramidal tract neurons in the motor cortex of the *reeler* changes from postnatal day 10 to adulthood. Dev. Brain Res. 62, 146-150.

## J

**Jacquin M.F et Rhoades R.W.** (1990) Cell structure and reponse properties in the trigeminal subnucleus oralis. Somat. Motor Res. 7, 265-288.

**Janzten-Ossola C.** (2009) Caractérisation phénotypique neurocomportementale de la souris *scrambler* Dab 1<sup>scm</sup>. Master « Sciences de la Vie et de la Santé » Spécialité M2R « Bioingénierie-Pharmacologie » Université Henri Poincaré, Nancy 1.

**Jossin Y.** (2008) Chemistry of reelin. In: Reelin Glycoprotein (ed. S. H. Fatemi), pp. 37-48. Springer, New York.

## K

**Kai-Kai M.A.** (1989) Cytochemistry of the trigeminal and dorsal root ganglia and spinal cord of the rat. Comp. Biochem Physiol. A 93, 183-193.

**Kalia M. et Sullivan M.J.** (1982) Brain stem projections of sensory and motor components of the vagus nerve in the rat. J. Comp. Neurol. 211, 248-264.

**Katsuyama Y et Terashima T.** (2009) Developmental anatomy of *reeler* mutant mouse. Develop. Growth Differ. 51, 271-86.

**Keller J.T., Saunders M.C., Ongkiko C.M., Jonhson J., Frank E., Van Loveren H. et Tew J.M.** (1983) Identification of motoneurons innervating the tensor tympani and tensor veli palatine muscles in the cat. Brain Res. 270, 209-215.

**Kemplay S. et Cavanagh J.B.** (1983) Bilateral innervations of the anterior digastrics muscle by trigeminal motor neurons. *J. Anat.* 136, 417-423.

**Kim D.H., Iijima H., Goto K., Sakai J., Ishii H., Kim H.J., Suzuki H., Kondo H., Saeki S. et Yamamoto T.** (1996) Human apolipoprotein E receptor 2. A novel lipoprotein receptor of the low density lipoprotein receptor family predominantly expressed in brain. *J. Biol. Chem.* 271: 8373-8380.

**Kim S. et Webster M. J.** (2010) Correlation analysis between genome-wide expression profiles and cytoarchitectural abnormalities in the prefrontal cortex of psychiatric disorders. *Mol Psy.* 15, 326-336.

**Klar A., Baldassare M., Jessell T.M.** (1992) F-spondin: a gene expressed at high levels in the floor plate encodes a secreted protein that promotes neural cell adhesion and neurite extension. *Cell.* 69, 95–110.

**Klein B.G. et Rhoades R.W.** (1985) Representation of whisker follicle intrinsic muscular in the facial motor nucleus of the rat. *J. Comp. Neurol.* 232, 55-69.

**Kubasak M. D., Brooks R., Chen S., Villeda S. A. et Phelps P. E.** (2004) Developmental distribution of reelin-positive cells and their secreted product in the rodent spinal cord. *J. Comp. Neurol.* 468, 165-178.

**Kubo K. et Nakajima K.** (2003) Cell and molecular mechanisms that control cortical layer formation in the brain. *Keio. J. Med.* 52, 8-20.

## L

**Lalonde R. et Strazielle C.** (1999) Motor performance of spontaneous murine mutations with cerebellar atrophy. Crusio W., Gerlai R. (Eds). Handbook of Molecular Genetic Techniques for Brain and Behavior Research, Techniques in the Behavioral and Neural Sciences 13, 627-37, Elsevier, Amsterdam.

**Lalonde R. et Strazielle C.** (2011) Brain regions and genes affecting limb-clasping responses. Res Rev. 67, 252-9.

**Lambert de Rouvroit C. et Goffinet A. M.** (1998) The *reeler* mouse as a model of brain development. Adv. Anat. Embryol. Cell Biol. 150, 1-106.

**Laroche M. et Simard M.G.** (2002) Épaisseur du cortex cérébral de la souris en fonction de son environnement de développement, Expo-Journal, rapport interne, programme des sciences de la nature, Cégep de Saint-Félicien.

**Larsen W.J.** (1993) Human embryology. Churchill Livingstone Inc, New York.

**LeBlanc A., LeBlanc A., Francke J.P., Lasjaunias P. et Guerrier Y.** (2004) Système Nerveux Encéphalo-Périphérique: Vascularisation Anatomie Imagerie, ed. Springer-Verlag Berlin et Heidelberg GmbH et Co. K

**Lee B.H., Lynn R.B., Lee H.S., Miselis R.R., Altschuler S.H.** (1992) Calcitonin gene-related peptide in nucleus ambiguus motoneurons in rat: viscerotopic organization, J. Comp. Neurol. 320, 431-543.

**Lemmon V. et Pearlman A. L.** (1981) Does laminar position determine the receptive field properties of cortical neurons? A study of corticotectal cells in area 17 of the normal mouse and the *reeler* mutant. *J. Neurosci.* 1, 83-93.

**Lingenhohl K. et Friauf E.** (1991) Sensory neurons and motoneurons of the jaw-closing reflex pathway in rats: A combined morphological and physiological study using the intracellular horseradish peroxidase technique. *Exp. Brain. Res.* 83, 385-396.

**Luo P.F., Wang B.R., Peng Z.Z. et Li J.S.** (1991) Morphological characteristics and terminating patterns of masseteric neurons of the mesencephalic trigeminal nucleus of the rat: An intracellular horseradish peroxidase labeling study. *J. Comp. Neurol.* 303, 286-299.

**Lynch R.** (1985) A quantitative investigation of the topographical representation of masticatory muscles within the motor trigeminal nucleus of the rat: A horseradish peroxidase study. *Brain Res.* 327, 354-358.

## M

**Marín-Padilla M.** (1998). Cajal-Retzius cells and the development of the neocortex. *Trends in Neurosci.* 21, 64-71.

**Martin M.R.** (1981) Morphology of the cochlear nucleus of the normal and *reeler* mutant mouse. *J Comp. Neurol.* 197, 141-152

**Martin X. et Dolivo M.** (1983) Neuronal and transneuronal tracing in the trigeminal system of the rat using the herpes virus suis. *Brain Res.* 273, 253-276.

**McManus M. F. et Golden J. A.** (2005) Neuronal migration in developmental disorders. *J. Child Neurol.* 20, 280-286.

**Mesulam M.M., Mufson E.J., Wainer B.H. et Levey A.I.** (1983) Central cholinergic pathways in the rat: an overview based on an alternative nomenclature (Ch1-Ch6). *Neurosci.* 10, 1185-1201.

**Mesulam M.M. et Geula C.** (1988) Nucleus basalis (Ch4) and cortical cholinergic innervation in the human brain: observations based on the distribution of acetylcholinesterase and choline acetyltransferase. *J. Comp. Neurol.* 275, 216-240.

**Meyer G., Cabrera-Socorro A., Perez-Garcia C. G., Martinez-Millan L., Walker N. et Caput D.** (2004) Developmental roles of p73 in Cajal-Retzius cells and cortical patterning. *J. Neurosci.* 24, 9878-9887.

**Miyata T., Nakajima K., Mikoshiba K. et Ogawa M.** (1997) Regulation of Purkinje cell alignment by reelin as revealed with CR-50 antibody. *J. Neurosci.* 17, 3599-3609

**Miyata T., Nakajima K., Aruga J., Takahashi S., Ikenaka K., Mikoshiba K. et Ogawa M.** (1996) Distribution of a *reeler* gene-related antigen in the developing cerebellum: an immunohistochemical study with an allogeneic antibody CR-50 on normal and *reeler* mice. *J. Comp. Neurol.* 372, 215-228

**Molyneaux B. J., Arlotta P., Hirata T., Hibi M. et Macklis J. D.** (2005) Fez1 is required for the birth and specification of cortico spinal motor neurons. *Neuron.* 47, 817-831.

**Morriss-Kay G et Tuckett F.** (1987) Fluidity of the neural epithelium during forebrain formation in rat embryos. *J. Cell. Sci.* 8, 433-449.

**Muraoka D., Katsuyama Y., Kikkawa S. et Terashima T.** (2007) Postnatal development of entorhinodentate projection of the *reeler* mutant mouse. *Dev. Neurosci.* 29, 59-72.

## N

**Nadarajah B., Brunstrom J.E., Grutzendler J., Wong R.O. et Pearlman A.L.** (2001) Two modes of radial migration in early development of the cerebral cortex. *Nat. Neurosci.* 4, 143-150.

**Nagata T. et Terashima T.** (1994) Migration behavior of granule cells on laminin in cerebellar microexplant cultures from early postnatal *reeler* mutant mice. *Int. J. Dev. Neurosci.* 12, 387-395.

**Nakajima K., Mikoshiba K., Miyata T., Kudo C. et Ogawa M.** (1997) Disruption of hippocampal development in vivo by CR-50 mAb against reelin. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 94, 8196-8201.

**Nishikawa S., Goto S., Yamada K., Hamasaki T. et Ushio Y.** (2003) Lack of Reelin causes malpositioning of nigral dopaminergic neurons: evidence from comparison of normal and *Reln* (*rl*) mutant mice. *J. Comp. Neurol.* 4612, 166-173.

**Nomura S. et Mizuno N.** (1983) Axonal trajectories of masticatory motoneurons: a genu formation of axons of jaw-opening motoneurons in the cat. *Neurosci. Lett.* 37, 11-15.

## O

**Ogawa M., Miyata T., Nakajima K., Yagyu K., Seike M., Ikenaka K., Yamamoto H. et Mikoshiba K.** (1995) The *reeler* gene associated antigen on Cajal-Retzius neurons is a crucial molecule for laminar organization of cortical neurons. *Neuron.* 14, 899-912.

**Ohshima T., Ogawa M., Takeuchi K., Takahashi S., Kulkarni A. B. et Mikoshiba K.** (2002) Cyclin-dependent kinase 5/ p35 contributes synergistically with Reelin/Dab1 to the positioning of facial branchiomotor and inferior olive neurons in the developing mouse hindbrain. *J. Neurosci.* 22, 4036-4044.

**Okuyama-Yamamoto A., Yamamoto T., Miki A. et Terashima T.** (2005) Changes in reelin expression in the mouse olfactory bulb after chemical lesion to the olfactory epithelium. *Eur. J. Neurosci.* 21, 2586-2592.

**Olson E. C. et Walsh C. A.** (2008) Reelin/Dab1 signaling in the developing cerebral cortex. In: *Reelin Glycoprotein* (ed. S. H. Fatemi), Springer, New York. 89-106.

**Ozelik T., Akarsu N., Uz E., Caglayan S., Gulsuner S., Onat O. E., Tan M. et Tan U.** (2008) Mutations in the very low-density lipoprotein receptor VLDLR cause cerebellar hypoplasia and quadrupedal locomotion in humans. *Proc. Natl Acad. Sci. USA* 105, 4232-4236.

## P

**Pappas G. D., Kriho V., Liu W. S., Tremolizzo L., Lugli G. et Larson J.** (2003) Immunocytochemical localization of reelin in the olfactory bulb of the heterozygous *reeler* mouse: an animal model for schizophrenia. *Neurol. Res.* 25, 819-830.

**Paxinos G. et Watson C.R.R.** (1986) *The rat Brain in Sterotaxic Coordinates*. Ed. Academic Press.

**Paxinos G. et Watson C.** (1998) *The rat brain in stereotaxic coordinates*. Ed. Academic Press.

**Paxinos G. et Franklin K.B.J.** (2004) *The mouse brain*. Ed. Academic Press.

**Pfaller K. et Arvidsson J.** (1988) Central distribution of trigeminal and upper cervical primary afferents in the rat studied by anterograde transport of horseradish peroxidase conjugated to wheat germ agglutinin. *J. Comp. Neurol.* 268, 91-108.

**Phelan K.D. et Falls W.M.** (1991) A comparison of the distribution and morphology of thalamic, cerebellar and spinal projection neurons in rat trigeminal nucleus interpolaris. *Neuroscience* 40, 497-511.

**Phelps P. E., Rich R., Dupuy-Davies S., Ríos Y. et Wong T.** (2002) Evidence for a cell-specific action of Reelin in the spinal cord. *Dev. Biol.* 244, 180-198.

**Pinto Lord M.C., Caviness V.S. Jr.** (1979) Determinants of cell shape and orientation: a comparative Golgi analysis of cell-axon interrelationships in the developing neocortex of normal and *reeler* mice. *J. Comp. Neurol.* 187, 49-69.

**Pritchard T. et Alloway K.** (2002) *Neurosciences médicales: les bases neuroanatomiques et neurophysiologiques* ed. De Boeck Université.

**Portillo F. et Pasaro R.** (1988a) Location of bulbospinal neurons and of laryngeal motoneurons within the nucleus ambiguus of the rat and cat by means of retrograde fluorescent labelling. *J. Anat.* 159, 11-18.

**Portillo F. et Pasaro R.** (1988b) Location of motoneurons supplying the intrinsic laryngeal muscles of rats. Horseradish peroxidase and fluorescent double-labeling study. *Brain, Behavior and Evolution* 32, 220-225.

**Pozo M.A. et Cervero F.** (1993) Neurons in the rat spinal trigeminal complex driven by corneal nociceptors: receptive-field properties and effects of noxious stimulation of the cornea. *J. Neurophysiol.* 70, 2370-2378.

**Prades J.M., Laurent B. et Navez M.L.** (1999) *Anatomie clinique du système nerveux central*, ed. Elsevier Masson.

## R

**Raappana P. et Arvidsson J.** (1993) Location, morphology and central projections of mesencephalic trigeminal neurons innervating rat masticatory muscles studied by axonal transport of cholera toxin B subunit. *J. Comp. Neurol.* 328, 103-114.

**Rakic P. et Caviness V. S.** (1995). Cortical development: view from neurological mutants two decades later. *Neuron* 14, 1101-1104.

**Rice D. S., Sheldon M., D'Arcangelo G., Nakajima K., Goldowitz D. et Curran T.** (1998) Disabled-1 acts downstream of Reelin in a signaling pathway that controls laminar organization in the mammalian brain. *Development* 125, 3719-3729.

**Rokx J.T.M., Juch P.J.W. et Van Willigen J.D.** (1985) On the bilateral innervation of masticatory muscles: A study with retrograde tracers. *J. Anat.* 140, 237-243.

**Ross C.A., Ruggiero D.A. et Reis D.J.** (1985) Projections from the nucleus tractus solitarius to the rostral ventrolateral medulla. *Journal of Comparative Neurology* 242, 511-534.

**Ross M.E. et Walsh C.A.** (2001a) Human brain malformations and their lessons for neuronal migration. *Annu Rev Neurosci* 24, 1041-1070.

**Ross M.E., Swanson K., Dobyns W.B.** (2001b) Lissencephaly with cerebellar hypoplasia (LCH): a heterogeneous group of cortical malformations. *Neuropediatrics* 32, 256-263.

**Rossel M., Loulier K., Feuillet C., Alonso S. et Carroll P.** (2005) Reelin signaling is necessary for a specific step in the migration of hindbrain efferent neurons. *Development* 132, 1175-1185.

**Roste G.K.** (1989) Non-motoneurons in the facial and motor trigeminal nuclei projecting to the cerebellar flocculus in the cat: A fluorescent double labeling and WGA-HRP study. *Exp. Brain Res.* 75, 295-305.

**Rouvière H. et Delmas A.** (2002) *Anatomie humaine: descriptive, topographique et fonctionnelle*, Volume 1 Ed. Elsevier Masson.

## S

**Sakai J., Hoshino A., Takahashi S., Miura Y., Ishii H., Suzuki H., Kawarabayasi Y. et Yamamoto T.** (1994) Structure, chromosome location, and expression of the human very low density lipoprotein receptor gene. *J. Biol. Chem.* 269, 2173-2182.

**Sakakibara S., Misaki K. et Terashima T.** (2003) Cytoarchitecture and fiber pattern of the superior colliculus are disrupted in the Shaking Rat Kawasaki. *Brain Res. Dev Brain Res.* 141, 1-13.

**Saper C. B. et Loewy A.D.** (1980) Efferent connections of the parabrachial nucleus in the rat. *Brain Research* 197, 291-317.

**Schiffmann S. N., Bernier B. et Goffinet A. M.** (1997) Reelin mRNA expression during mouse brain development. *Eur. J. Neurosci.* 9, 1055-1071.

**Sefton A. J. et Dreher B.** (1995) Visual system. In: *The Rat Nervous System*. Ed. Academic Press 833-898.

**Setsu T., Ikeda Y., Woodhams P. L. et Terashima T.** (2001) Branchiogenic motoneurons innervating facial, masticatory, and esophageal muscles show aberrant distribution in the *reeler*-phenotype mutant rat, Shaking Rat Kawasaki. *J. Comp. Neurol.* 439, 275-290.

**Sheldon M., Rice D. S., D’Arcangelo G., Yoneshima H., Nakajima K., Mikoshiba K., Howell B. W., Cooper J. A., Goldowitz D. et Curran T.** (1997) *Scrambler* and *yotari* disrupt the disabled gene and produce a *reeler*-like phenotype in mice. *Nature* 389, 730-733.

**Sheppard A. M. et Pearlman A. L.** (1997) Abnormal reorganization of preplate neurons and their associated extracellular matrix: an early manifestation of altered neocortical development in the *reeler* mutant mouse. *J. Comp. Neurol.* 378, 173-179.

**Silva L. R., Gutnick M. J. et Connors B. W.** (1991) Laminar distribution of neuronal membrane properties in neocortex of normal and *reeler* mouse. *J. Neurophysiol.* 66, 2034-2040.

**Simmons P. A., Lemmon V. et Pearlman A. L.** (1982) Afferent and efferent connections of the striate and extrastriate visual cortex of the normal and *reeler* mouse. *J. Comp. Neurol.* 211, 295-308.

**Stainier D. Y. et Gilbert W.** (1991) Neuronal differentiation and maturation in the mouse trigeminal sensory system, *in vivo* and *in vitro*. *J. Comp. Neurol.* 311, 300-312.

**Stockinger W., Hengstschlager-Ottndad E., Novak S., Matus A., Huttinger M., Bauer J., Lassmann H., Schneider W.J., Nimpf J.** (1998) The low density lipoprotein receptor gene family. Differential expression of two alpha2-macroglobulin receptors in the brain. *J. Biol. Chem.* 273, 32213-32221.

**Stuesse S.L. et Powell K.S.** (1982) Brainstem areas which project to cardiac regions of the nucleus ambiguus in the rat. *Society for Neuroscience Abstracts* 8, 76.

**Sweet H.O., Bronson R.T., Johnson K.R., Cook S.A. et Davisson M.T.** (1996) *Scrambler*, a new neurological mutation of the mouse with abnormalities of neuronal migration. the Jackson Laboratory, Bar Harbor, Maine 04609, USA. *Mamm. Genome.* 11, 798-802.

**Szekely G. et Matesz C.** (1982) The accessory motor nuclei of the trigeminal, facial, and abducens nerves in the rat. *J Comp. Neurol.* 210, 258-264.

## T

**Tabata H. et Nakajima K.** (2001) Efficient in utero gene transfer system to the developing mouse brain using electroporation: visualization of neuronal migration in the developing cortex. *Neuroscience* 103, 865-872.

**Tabata H et Nakajima K** (2002) Neurons tend to stop migration and differentiate along the cortical internal plexiform zones in the Reelin signal-deficient mice. *J. Neurosci. Res.* 69, 723-730.

**Tabata T. et Karita K.** (1992) Reponse field of cat trigeminal sensory complex neurons responsive to mechanical stimulation of the canine tooth. *Jpn. J. Physiol.* 42, 159-164.

**Takahara T., Ohsumi T., Kuromitsu J., Shibata K., Sasaki N., Okazaki Y., Shibata H., Sato S., Yoshiki A., Kusakabe M. et al.** (1996) Dysfunction of the Orleans *reeler* gene arising from exon skipping due to transposition of a full-length copy of an active L1 sequence into the skipped exon. *Hum. Mol. Genet.* 5, 989-993.

**Takahashi S., Kawarabayasi Y., Nakai T., Sakai J., Yamamoto T.** (1992) Rabbit very low density lipoprotein receptor: a low density lipoprotein receptor-like protein with distinct ligand specificity. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 89, 9252-9256.

**Takaoka Y., Setsu T., Misaki K., Yamauchi T. et Terashima T.** (2005) Expression of reelin in the dorsal cochlear nucleus of the mouse. *Brain. Res. Dev. Brain. Res.* 159, 127-134.

**Tamamaki N., Nakamura K., Okamoto K., Kaneko T.** (2001) Radial glia is a progenitor of neocortical neurons in the developing cerebral cortex. *Neurosci. Res.* 41, 51-60

**Tanaka Y., Okado H. et Terashima T.** (2007) Retrograde infection of precerebellar nuclei neurons by injection of a recombinant adenovirus into the cerebellar cortex of normal and *reeler* mice. Arch. Histol. Cytol. 70, 51-62.

**Ten Donkelaar H.J., Lammens M., Wesseling P., Thijssen H.O. et Renier W.O.** (2003) Development and developmental disorders of the human cerebellum. J Neurol. 250, 1025-36.

**Terashima T., Inoue K., Inoue Y., Mikoshiba K. et Tsukada Y.** (1983) Distribution and morphology of corticospinal tract neurons in *reeler* mouse cortex by the retrograde HRP method. J. Comp. Neurol. 218, 314-326.

**Terashima T., Inoue K., Inoue Y., Mikoshiba K. et Tsukada Y.** (1985a) Distribution and morphology of callosal commissural neurons within the motor cortex of normal and *reeler* mice. J. Comp. Neurol. 232, 83-98.

**Terashima T., Inoue K., Inoue Y., Mikoshiba K. et Tsukada Y.** (1985b) Observations on Golgi epithelial cells and granule cells in the cerebellum of the *reeler* mutant mouse. Brain Res. 350, 103-112.

**Terashima T., Kishimoto Y. et Ochiishi T.** (1993) Musculotopic organization of the facial nucleus of the *reeler* mutant mouse. Brain Res. 617, 1-9.

**Terashima T., Kishimoto Y. et Ochiishi T.** (1994) Musculotopic organization in the motor trigeminal nucleus of the *reeler* mutant mouse. Brain Res. 666, 31-42.

**Terashima T.** (1996) Distribution of mesencephalic trigeminal nucleus neurons in the *reeler* mutant mouse. Anat. Rec. 244, 563-571.

**Trommsdorff M., Gotthardt M., Hiesberger T., Shelton J., Stockinger W., Nimpf J., Hammer R. E., Richardson J. A. et Herz J. (1999)** *Reeler/Disabled-like* disruption of neuronal migration in knockout mice lacking the VLDL receptor and ApoE receptor 2. *Cell.* 97, 689-701.

## V

**Villeda S. A., Akopians A. L., Babayan A. H., Basbaum A. I. et Phelps P. E. (2006)** Absence of Reelin results in altered nociception and aberrant neuronal positioning in the dorsal spinal cord. *Neurosci.* 139, 1385-1396.

## W

**Wallace V. A. (1999)** Purkinje-cell-derived Sonic hedgehog regulates granule neuron precursor cell proliferation in the developing mouse cerebellum. *Curr. Biol.* 9, 445-448.

**Walsh C.A. (1999)** Genetic malformations of the human cerebral cortex. *Neuron* 23, 19-29.

**Walsh T., McClellan J. M., McCarthy S. E., Addington A. M., Pierce S. B., Cooper G. M., Nord A. S., Kusenda M., Malhotra D., Bhandari A., Stray S. M., Rippey C. F., Roccanova P., Makarov V., Lakshmi B., Findling R. L., Sikich L., Stromberg T., Merriman B., Gogtay N., Butler P., Eckstrand K., Noory, L., Gochman P., Long R., Chen Z., Davis S., Baker C., Eichler E. E., Meltzer P. S., Nelson S. F., Singleton A. B., Lee M. K., Rapoport J. L., King M. C. et Sebat J. (2008)** Rare structural variants disrupt multiple genes in neurodevelopmental pathways in schizophrenia. *Science* 320, 539-543.

**Ware M.L., Fox J.W., Gonzalez J.L., Davis N.M., Lambert de Rouvroit C., Russo C.J., Chua S.C. Jr., Goffinet A.M., Walsh C.A. (1997)** Aberrant splicing of a mouse disabled homolog, *mdab1*, in the *scrambler* mouse. *Neuron* 19, 239-249

**Watson C.C.R., Sakai S. et Armstrong W.** (1982) Organization of the facial nucleus in the rat. *Brain Behav. Evolution* 20, 19-28.

**Wechsler-Reya R. J. et Scott M. P.** (1999) Control of neuronal precursor proliferation in the cerebellum by Sonic Hedgehog. *Neuron* 22, 103-114.

**Weiss K. H., Johansen C., Tielsch A., Herz J., Deller T., Frotscher M. et Förster E.** (2003) Malformation of the radial glial scaffold in the dentate gyrus of *reeler* mice, *scrambler* mice, and ApoER2/VLDLR-deficient mice. *J. Comp. Neurol.* 460, 56-65.

**Wilson-Pauwels L., Akesson E.J. et Stewart P.A.** (1988) Cranial nerves: anatomy and clinical comments. BC Decker Inc, Toronto.

**Wong-Riley M.T.T.** (1989) Cytochrome oxidase an endogenous metabolic marker for neuronal activity. *Trends Neurosci.* 12, 94-101

**Wood J. G., Martin S. et Price D. J.** (1992). Evidence that the earliest generated cells of the murine cerebral cortex form a transient population in the subplate and marginal zone. *Dev. Brain Res.* 66, 137-140.

**Woodhams P. L. et Terashima T.** (1999) Laminar boundaries persist in the hippocampal dentate molecular layer of the mutant Shaking Rat Kawasaki despite aberrant granule cell migration. *J. Comp. Neurol.* 409, 57-70.

**Woodhams P. L. et Terashima T.** (2000) Aberrant trajectory of entorhino-dentate axos in the mutant Shaking rat Kawasaki: a DiI-labelling study. *Eur. J. Neurosci.* 12, 2707-2720.

**Wray S.** (2001) Development of luteinizing hormone releasing hormone neurons. *J. Neuroendocrinol.* 13, 3-11.

**Wyss J. M., Stanfield, B. B. et Cowan W. M.** (1980) Structural abnormalities in the olfactory bulb of the *Reeler* mouse. *Brain Res.* 188, 566-571.

## Y

**Yamamoto T., Sakakibara S., Mikoshiba K. et Terashima T.** (2003) Ectopic corticospinal tract and corticothalamic tract neurons in the cerebral cortex of *yotari* and *reeler* mice. *J. Comp. Neurol.* 461, 61-75.

**Yayima Y. et Hayashi Y.** (1983) Identification of motoneurons in the nucleus ambiguus by antidromic stimulation of the superior and the recurrent laryngeal nerves in rats. *Brain Research* 288, 302-306.

**Yip J.W., Yip Y.P., Nakajima K. et Capriotti C.** (2000) Reelin controls position of autonomic neurons in the spinal cord. *Proc Natl Acad Sci USA* 97, 8612-8616

**Yip Y. P., Capriotti C. et Yip J. W.** (2003) Migratory pathway of sympathetic preganglionic neurons in normal and *reeler* mutant mice. *J. Comp. Neurol.* 460, 94-105.

**Yip Y. P., Zhou G., Capriotti C. et Yip J. W.** (2004) Location of preganglionic neurons is independent of birthdate but is correlated to reelin-producing cells in the spinal cord. *J. Comp. Neurol.* 475, 564-574.

**Yoshida A., Sessle B.J., Dostrovsky J.O. et Chiang C.Y.** (1992) Trigeminal and dorsal column nuclei projection to the anterior pretectal nucleus in the rat. *Brain Res.* 590, 81-94.

**Yuasa S., Kitoh J., Oda S. et Kawamura K.** (1993) Obstructed migration of Purkinje cells in the developing cerebellum of the *reeler* mutant mouse. *Anat. Embryol.* 188, 317-329.

**Yuasa S., Kitoh J. et Kawamura K.** (1994) Interactions between growing thalamocortical afferent axons and the neocortical primordium in normal and *reeler* mutant mice. *Anat. Embryol.* 190, 137-154.

## Z

**Zaki M., Shehab M., El-Aleem A. A., Abdel-Salam G., Koeller H. B., Ilkin Y., Ross M. E., Dobyns W. B. et Gleeson J. G.** (2007) Identification of a novel recessive RELN mutation using a homozygous balanced reciprocal translocation. *Am. J Medical Genet. A.* 143A, 939-44.

**Zhao S., Cai X. et Frotscher M.** (2007) Balance between neurogenesis and gliogenesis in the adult hippocampus; role for reelin. *Dev. Neurosci.* 29, 84-90.

**CHAPUIS Florent** - Incidence de la voie de signalisation de la réeline sur l'organisation du système nerveux et des muscles impliqués dans les fonctions manducatrices: étude morphologique chez la souris *scrambler* (Dab 1)

**BASTIEN Jean-François** - Incidence de la voie de signalisation de la réeline sur l'organisation du système nerveux et des muscles impliqués dans les fonctions manducatrices: étude histochimique fonctionnelle chez la souris *scrambler* (Dab 1)

Nancy 2011 : . .

Th. : Chir.-Dent. : Nancy-1 : 2011

**Mots clés :** ataxie, système nerveux central, système manducateur, cervelet, protéine Dab1

**Résumé :**

Le phénotype *scrambler* s'exprime chez la souris par une ataxie cérébelleuse. Il résulte de la mutation autosomique récessive de la protéine Dab1, impliquée dans la voie de signalisation de la réeline. Cette mutation détermine un positionnement anormal des neurones dans le système nerveux central et par conséquent une désorganisation tissulaire de certaines structures du système nerveux central. L'objectif des nos travaux est l'étude morphologique et fonctionnelle des structures nerveuses impliquées dans la fonction manducatrice chez les souris *scrambler*.

Pour ce faire, trois marqueurs sont utilisés: le crésyl violet, l'acétylcholinestérase et la cytochrome oxydase grâce auxquels des observations au microscope optique et à l'analyseur d'image ont été réalisées.

Ainsi, nous avons pu observer des anomalies morphologiques et fonctionnelles dans certaines structures segmentaires (noyaux moteurs du nerf facial, du nerf hypoglosse et dorsal du nerf vague ainsi que le noyau ambigu). Les cartographies neurochimiques montrent que les centres de contrôle s'exerçant sur les noyaux moteurs sont affectés illustrant ainsi les défauts de coordination motrice observée chez l'animal in vivo.

**Membres du jury :**

<u>Pr C. STRAZIELLE</u>	Professeur des Universités	Président
Dr J.M. MARTRETTE	Maître de Conférences	Juge
Dr C. JAVELOT		Juge
Dr A. RIFFAULT	Assistante d'Université	Juge

**Adresses des auteurs :**

**Florent CHAPUIS**

4 rue Amédée Ponceau 25000 Besançon

**Jean-François BASTIEN**

25 rue de la Madeleine 54000 Nancy

Jury : Président : C.STRAZIELLE – Professeur des Universités  
Juges : J.M MARTRETTE – Maître de Conférence des Universités  
C.JAVELOT – Assistante Hospitalier Universitaire  
A. RIFFAULT – Assistante Hospitalier Universitaire

Thèse pour obtenir le diplôme D'Etat de Docteur en Chirurgie Dentaire

Présentée par: **Monsieur CHAPUIS Florent, Marie, François**

né(e) à: **BESANCON (25)**

le **2 septembre 1985**

et ayant pour titre : **«Incidence de la voie de signalisation de la réeline sur l'organisation du système nerveux et des muscles impliqués dans les fonctions manducatrices : étude morphologique chez la souris SCRAMBLER (DAB1).**

Le Président du jury,



C.STRAZIELLE

Le Doyen  
de la Faculté d'Odontologie



Autorise à soutenir et imprimer la thèse 3651.

NANCY, le 14. 6. 2011

Le Président de l'Université Henri Poincaré, Nancy-1

Pour le Président  
et par Délégation.

La Vice-Présidente du Conseil  
des Etudes et de la Vie Universitaire,

J.-P. FINANCE

C. CAPEVILLE-ATKINSON

Jury : Président : C.STRAZIELLE – Professeur des Universités  
Juges : J.M MARTRETTE – Maître de Conférence des Universités  
C.JAVELOT – Assistante Hospitalier Universitaire  
A. RIFFAULT – Assistante Hospitalier Universitaire

Thèse pour obtenir le diplôme D'Etat de Docteur en Chirurgie Dentaire

Présentée par: **Monsieur BASTIEN Jean-François, Eugène, Gaston**

né(e) à: **METZ (57)**

le **28 novembre 1982**

et ayant pour titre : **«Incidence de la voie de signalisation de la réeline sur l'organisation du système nerveux et des muscles impliqués dans les fonctions manducatrices : étude morphologique chez la souris SCRAMBLER (DAB1).**

Le Président du jury,



C.STRAZIELLE

Le Doyen  
de la Faculté d'Odontologie



Autorise à soutenir et imprimer la thèse 3650'

NANCY, le 14.06.2011

Le Président de l'Université Henri Poincaré, Nancy-1

Pour le Président  
et par Délégation,  
La Vice-Présidente du Conseil  
des Etudes et de la Vie Universitaire,

J-P. FINANCE

C. CAPDEVILLE-ATKINSON