

Institut de Physiologie
Département de Médecine
Université de Fribourg (Suisse)

Etude morphologique et fonctionnelle des projections
auditives et non-auditives au noyau cochléaire chez le
cochon d'Inde.

THESE

présentée à la Faculté des Sciences de l'Université de Fribourg (Suisse) pour l'obtention du
grade de *Doctor rerum naturalium*

Anne-Valérie MONNEY-JACOMME

France

Acceptée par la Faculté des Sciences de l'Université de Fribourg (Suisse) sur la proposition de Raymond Romand, Jean-Pierre Gabriel et Alexandre Babalian.

Fribourg, le

Le Directeur de thèse :

Le Doyen :

Thèse n° 1452
Imprimerie de Miséricorde
2004

Acceptée par la Faculté des Sciences de l'Université de Fribourg (Suisse) sur la proposition de Raymond Romand, Jean-Pierre Gabriel et Alexandre Babalian (experts) et Prof. Marco Celio, (Président du jury).

Fribourg, le

Le Directeur de thèse :

Le Doyen :

Prof. Eric M. Rouiller

Prof. Dionys Baeriswyl

Table des matières

Résumé	p. 8
Summary	p. 9
Remerciements	p. 10
Liste des abréviations	p. 11
1. Introduction	p. 12
1.1 L'organe récepteur auditif	
1.1.1 Structure du système récepteur	
1.1.2 Physiologie de l'organe récepteur	
1.2 Les voies auditives	
1.2.1 Le noyau cochléaire	
1.2.1.1 Cytoarchitecture	
1.2.1.2 Innervation du noyau cochléaire	
1.2.1.3 les voies de sorties	
1.2.1.4 Types de réponses des neurones du noyau cochléaire	
a. le noyau cochléaire ventral	
b. le noyau cochléaire dorsal	
1.2.1.5 Tonotopie	
1.2.1.6 Autres propriétés fonctionnelles du noyau cochléaire	
1.2.1.7 Les principaux neurotransmetteurs dans le noyau cochléaire	
1.2.2 Le complexe de l'olive supérieure	
1.2.3 Les noyaux du latéral lemniscus	
1.2.4 Le colliculus inférieur	
1.2.5 Le thalamus	
1.2.6 Le cortex auditif	
1.3 Notre étude	p. 41
2. Matériel et méthode	p. 44
2.1 Préparation du cerveau	
2.1.1 Animaux	
2.1.2 Dissection	

2.1.3	Perfusion du cerveau	
2.1.4	Solutions	
2.1.5	Quelques remarques	
2.2	Setup de perfusion	
2.3	Expérience électrophysiologique	
2.3.1	Setup électrophysiologique	
2.3.2	Electrodes de stimulation	
2.3.3	Enregistrement intracellulaire	
2.3.4	Marquage par la neurobiotine	
2.4	Analyse des résultats	
2.4.1	Anatomiques	
2.4.1.1	Histologie : Protocole Biocytine (méthode ABC)	
2.4.1.2	Reconstruction des cellules marquées	
2.4.2	Physiologiques	
3.	Résultats	p. 58
3.1	Première expérience : stimulation du nerf auditif contralatéral	p. 58
3.1.1	Inhibition glycinergique des cellules en buisson et des cellules étoilées dans le noyau cochléaire contralatéral	
3.1.2	Discussion	
3.2	Deuxième expérience : stimulation des noyaux de la colonne dorsale et du nerf trijumeau	p. 67
3.2.1	Résultats	p. 67
3.2.1.1	Noyaux de la colonne dorsale	
3.2.1.2	Nerf trijumeau	
3.2.2	Discussion	
3.3	Troisième expérience : projections du cortex auditif vers le noyau cochléaire chez le cochon d'Inde : une étude anatomique <i>in vivo</i> et électrophysiologique <i>in vitro</i>	p. 85
3.3.1	Méthode pour les expériences neuroanatomiques <i>in vivo</i>	p. 85
3.3.2	Résultats	
3.3.2.1	Expérience <i>in vivo</i>	
3.3.2.2	Expérience <i>in vitro</i>	
3.3.3	Discussion	

4. Discussion générale

p. 98

5. Bibliographie

p. 105

Résumé

Le noyau cochléaire (NC) est une structure clé du système auditif central. En effet, il est le premier relais des voies auditives. Il reçoit toutes les informations des récepteurs acoustiques via le nerf auditif et sa fonction correspond à encoder les différents aspects des stimuli auditifs. Il opère une transformation de l'information et envoie le résultat de ce traitement à différents centres auditifs.

Le but de cette thèse était de tester les propriétés physiologiques des entrées synaptiques des différentes sources des projections auditives et non-auditives par le biais d'une préparation *in vitro* de cerveau isolé de cochon d'Inde. On entreprend des enregistrements intracellulaires d'un neurone dans le noyau cochléaire.

Les structures activées incluraient : le nerf auditif ipsi et contralatéral, les noyaux de la colonne dorsale, le nerf trijumeau et le cortex auditif.

Les résultats obtenus nous ont montré que les projections provenant du nerf auditif contralatéral vers le noyau cochléaire antéro-ventral sont exclusivement inhibitrices dans les cellules étudiées (7 cellules en buisson, 8 cellules étoilées et 12 non identifiées). De plus, les latences de ces réponses (moy.: 6.2 ± 4 ms) suggèrent des projections di-trisynaptiques. La stimulation des noyaux de la colonne dorsale ainsi que du nerf trijumeau ont induit une majorité de réponses inhibitrices dans les trois subdivisions du NC. Quelques cellules dans le noyau cochléaire dorsal ont montré des réponses excitatrices ou mixtes (PPSI-PPSE). Les latences (2.8 à 23 ms) indiquent à nouveau des transmissions polysynaptiques. Dans ces expériences, les réponses inhibitrices testées pharmacologiquement sont bloquées par la strychnine et donc suggèrent des transmissions glycinergiques.

Les entrées directes du cortex auditif vers le noyau cochléaire sont confirmées par des expériences *in vivo*. Seulement deux cellules ont répondu à une stimulation électrique au cours des expériences *in vitro*. Ces réponses étaient excitatrices avec de longue latence (20 et 33 ms).

Donc les cellules principales du noyau cochléaire sont sous le contrôle inhibiteur du nerf auditif contralatéral, des noyaux de la colonne dorsale et du nerf trijumeau. De plus, les résultats indiquent qu'il existe des transmissions directes du cortex auditif au noyau cochléaire mais qui exercent une action limitée sur le noyau cochléaire.

Summary

The cochlear nucleus is the key structure of the central auditory system. It is the first relay of the auditory ways. It receives all information of the acoustic receivers via the auditory nerve and its function corresponds to encode the various aspects of the auditory stimuli. It exerts a transformation of information and sends in various auditory centers.

The goal of this thesis was to test the physiological properties of the synaptic entries of the various sources of auditory and non-auditory projections by the means of an in vitro preparation of brain isolated from guinea pig. One undertakes intracellular recordings of only one neuron in the cochlear nucleus. The activated structures let us include: the nerve ipsi and contralateral, the dorsal column, the nerve trigeminal and the auditory cortex.

The results obtained showed us that projections coming from the auditory nerve contralateral towards the anteroventral cochlear nucleus are exclusively inhibiting in the studied cells (in 7 bushy, 8 stellate and 12 non identified). Moreover, latencies of these answers (average : 6.2 ± 4 ms) suggest di-trisynaptic projections. The stimulation of the dorsal column as of the nerve trigeminal induced a majority of inhibiting answers in the three subdivisions of the CN. Some cells in the dorsal cochlear nucleus showed exciting or mixed answers (IPSP-EPSP). Latencies (2.3 to 23 ms) indicate polysynaptic transmissions again. In these experiments, the inhibiting answers tested pharmacologically are blocked by strychnin and thus suggest glycinergic transmissions.

The direct entries of the auditory cortex towards the cochlear nucleus are confirmed by experiments in vivo. Only two cells answered an electric stimulation during in vitro experiments. These answers were exciting with long latency (20 and 33 ms).

So the principal cells of the cochlear nucleus are under the inhibiting control of the contralateral auditory nerve, of the dorsal column and the nerve trigeminal. Moreover, the results indicate that there are direct transmissions of the auditory cortex to the cochlear nucleus but which exerts an action limited on it.

Remerciements

Je remercie toutes les personnes qui m'ont permis d'élaborer cette thèse plus particulièrement

Eric Rouiller, qui m'a accueilli dans son laboratoire, m'a conseillé, soutenu tout le long de ces années. Sans lui, je n'aurai probablement pas entamé ni fini cette thèse.

Alexandre Babalian de m'avoir appris cette méthode si exceptionnelle.

Christine Roulin pour tout son travail en histologie ainsi qu'en dessin.

Ma famille, qui m'a soutenu moralement tout le temps.

Laurent Monney, mon mari, qui embellit tous les jours et de plus en plus ma vie...

Liste des abréviations

AAF	aire auditive antérieure
AI	cortex audit primaire
BDA	biotinylated dextran amine
CA	cortex auditif
CCE	cellule ciliée excitatrice
CCI	cellule ciliée inhibitrice
CGM	corps genouillé médian
CI	colliculus inférieur
COS	complexe olivaire supérieur
DC	champ dorsocaudal
DCG	domaine des cellules granulaires
FC	Fréquence caractéristique
FOC	Faisceau olivo-cochléaire
IWB	isolated whole brai
LL	lemniscus latéral
NA	nerf auditif
NC	noyau cochléaire
NCAV	noyau cochléaire antéro-ventral
NCD	noyau cochléaire dorsal
NCoDo	noyaux de la colonne dorsale
NCPV	noyau cochléaire postéro ventral
NCV	noyau cochléaire ventral
NDLL	noyau dorsal du lemniscus latéral
NILL	noyau intermédiaire du lemniscus latéral
NMCT	noyau médian du corps trapézoïde
NPO	noyau périolivaire
NT	neurotransmetteur
NVLL	noyau ventral du lemniscus latéral
OSL	olive supérieur latéral
OSM	olive supérieur médian
PA	potentiel d'action
PAF	aire auditive postérieure
PM	potentiel de membrane
PPSE	potentiel post synaptique excitateur
PPSI	potentiel post synaptique inhibiteur
VPAF	aire auditive ventro-postérieure

1. INTRODUCTION

Le système auditif est formé de plusieurs structures disposées en série dont les fonctions sont différentes (Figure 1.1):

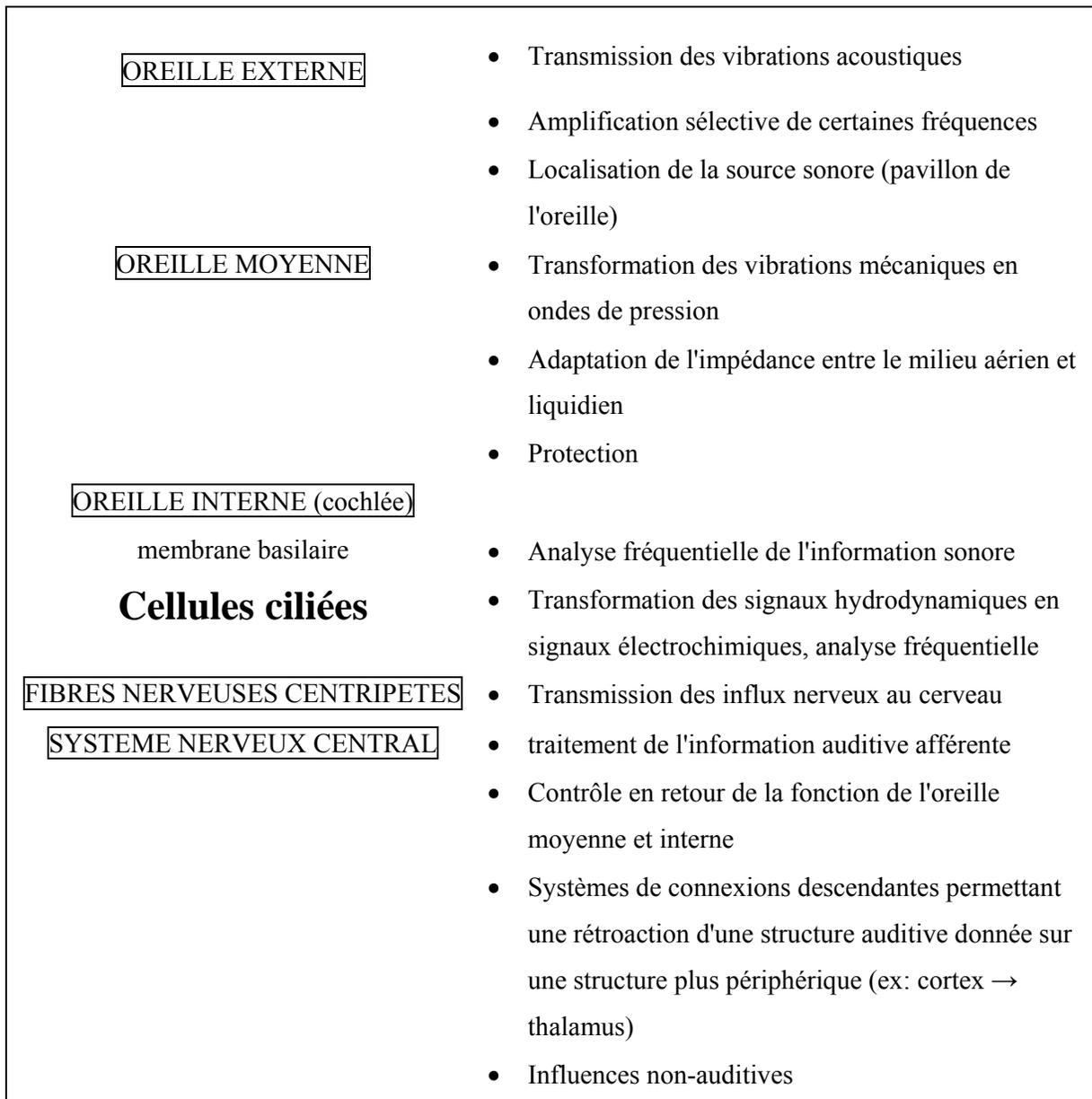


Figure 1.1 : les structures du système auditif, disposées en séries, ont des fonctions différentes

- l'oreille externe guide les vibrations d'air produites par les ondes sonores jusqu'au tympan,

- la chaîne des osselets de l'oreille moyenne transforme les vibrations mécaniques du tympan en ondes de pression qui sont transmises aux liquides de l'oreille interne,
- les variations de pression des liquides cochléaires font vibrer la membrane basilaire de l'organe de Corti qui réalise la première analyse fréquentielle de l'information sonore,
- les cellules ciliées de l'organe de Corti assurent la transduction des signaux hydrodynamiques en des signaux électrochimiques, qui conduiront à la genèse d'influx nerveux transmis par les fibres centripètes du nerf auditif (principalement à partir des cellules ciliées internes). Les cellules ciliées externes exercent essentiellement une action locale qui contribue à l'analyse spectrale,
- le système nerveux central interprète les messages codés par l'organe de Corti, ce qui va contribuer à la perception auditive. De plus, le système nerveux central envoie à l'oreille interne des signaux descendants, dont le rôle reste mal connu, mais consiste vraisemblablement en un contrôle en retour de la sensibilité des structures réceptrices.

1.1 L'organe sensoriel auditif

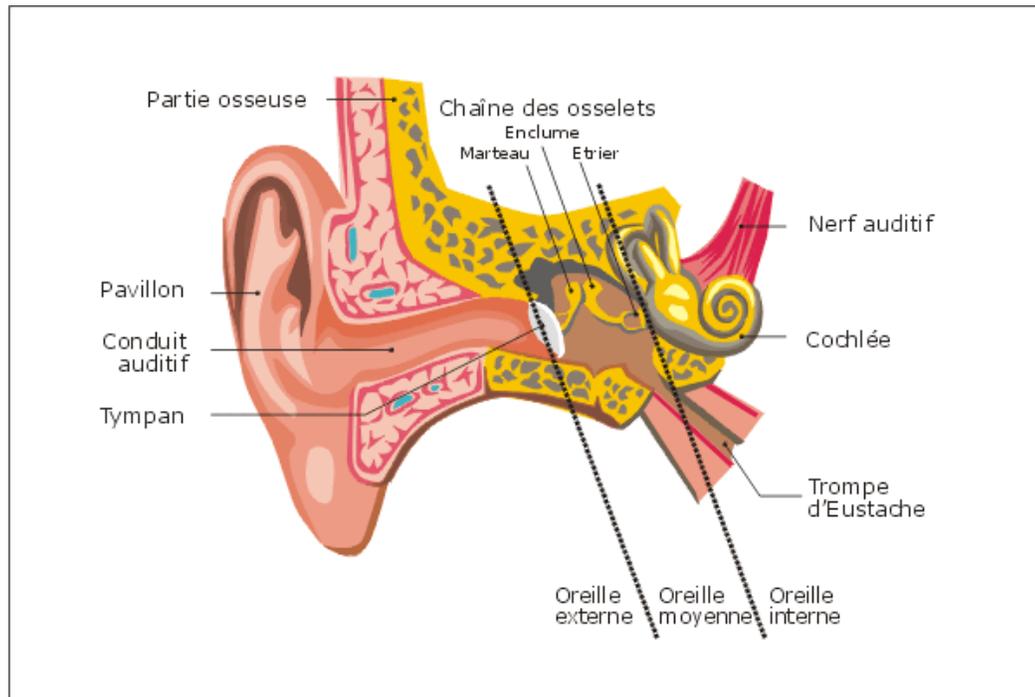


Figure 1.2: Coupe longitudinale de l'appareil auditif humain (modifié d'après "Neurosciences à la découverte du cerveau" de Bear, Connors, Paradiso, 1997)

L'oreille est l'organe périphérique de l'audition. En l'absence de toute affection ou lésion du système auditif dans ses composantes perceptives, le système auditif reçoit, intègre et gère les variations d'énergie sonore qui lui parviennent, construisant une sorte de représentation mentale de l'environnement sonore, à la fois en termes acoustiques (niveau et spectre du signal) qu'en termes spatiaux (détermination du lieu d'émission). L'oreille comporte trois parties : **l'oreille externe** (pavillon et conduit auditif), **l'oreille moyenne** (tympan et chaîne des osselets), et **l'oreille interne** dont la partie antérieure appelée cochlée comprend les récepteurs auditifs proprement dit (Fig.1.2). D'un point de vue physiologique, c'est-à-dire du point de vue de la fonction "audition" dans son ensemble, on peut distinguer l'appareil de réception (oreille externe et paroi externe du tympan), l'appareil de transmission (tympan, osselets, fenêtres ovale et ronde et cochlée), et l'appareil de transduction et de perception qui commence à l'organe de Corti et qui se poursuit par les différents neurones aboutissant aux aires corticales auditives. Nous envisagerons, tout d'abord, l'anatomie macroscopique générale de l'organe auditif des mammifères, puis plus en détail la physiologie de cet organe.

1.1.1 Structure du système auditif périphérique (Fig. 1.2)

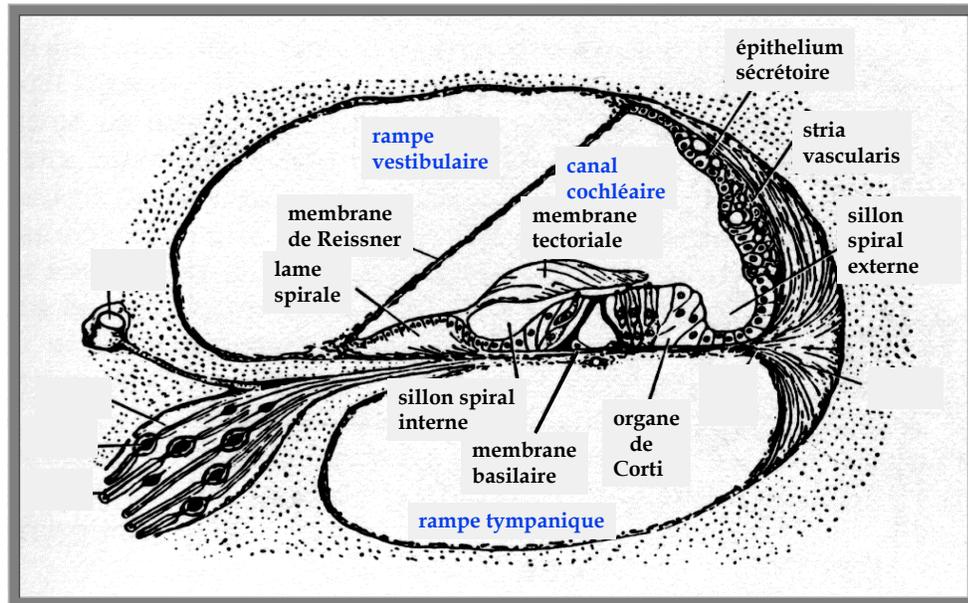
a) **L'oreille externe** est la partie visible du système auditif. Elle est à la fois une structure de protection et de résonance. Elle a un rôle mécanique de transmission des vibrations acoustiques au tympan et participe à la localisation spatiale des sources sonores. L'oreille externe comporte : (i) le conduit auditif externe, fermé à son extrémité centrale par la membrane tympanique ; (ii) le pavillon. Celui-ci a souvent la forme d'un cornet qui sert à collecter les sons et que certains animaux (ce qui n'est pas le cas de l'homme) peuvent incliner à volonté dans la direction d'où vient le son, à l'aide de muscles insérés au pavillon lui-même. Le pavillon (pinna) avec ses plis caractéristiques est formé essentiellement de cartilage recouvert de peau. Chez les mammifères, le pavillon joue un rôle important dans la localisation de la source sonore, en particulier la capacité de distinguer des sons venant de l'avant ou de l'arrière d'en haut ou d'en bas. Le pavillon est ainsi impliqué dans la capacité de localisation monaurale (en utilisant une seule oreille).

b) **L'oreille moyenne** s'intercale entre le conduit auditif externe et l'oreille interne. Le rôle de l'oreille moyenne est double: elle doit à la fois protéger l'oreille interne et transformer les vibrations aériennes arrivant de l'oreille externe en vibrations solidiennes (analysables par l'oreille interne), la première étape de la transformation de l'énergie sonore. L'oreille moyenne est composée d'une chambre contenant de l'air, appelée caisse du tympan, qui contient la chaîne tympano-ossiculaire.

A la limite du conduit auditif externe se situe le tympan, membrane ayant l'allure d'un cône évasé s'enfonçant légèrement dans l'oreille moyenne par son centre. La caisse du tympan est fermée sur l'oreille externe par la membrane du tympan. Le tympan est d'une grande mobilité et peut réagir à des vibrations aériennes de très faible niveau de pression. Il vibre en fonction de la fréquence et de l'intensité du stimulus acoustique. Pour des sons graves, il semble que tout le quadrant postéro-supérieur de la membrane vibre avec l'amplitude maximum. Pour des sons aigus, le mode de vibration serait segmentaire (Von Bekesy, 1970; Tonndorf et Khana, 1972).

L'oreille moyenne communique avec l'oreille interne par les fenêtres ronde et ovale (Uziel, 1983). De plus, elle communique avec le pharynx par la trompe d'Eustache.

Fig. 1.3 : coupe transversale de la cochlée.



Entre le tympan et la fenêtre ovale s'étend *la chaîne des osselets*. Les osselets s'articulent mécaniquement pour transmettre le son depuis le tympan jusqu'à l'oreille interne. Chez pratiquement toutes les espèces de mammifères, ils sont au nombre de trois: le marteau, l'enclume, et l'étrier.

- Le *marteau* est formé de deux parties, la tête et le manche; ce dernier est attaché sur le tympan et contribue par les tensions qu'il transmet, à entretenir la forme du cône, concave vers l'intérieur, de la membrane tympanique. Le marteau est suspendu par quatre ligaments, antérieur, postérieur, latéral et supérieur.
- L'*enclume* est articulée entre le marteau et l'étrier. Elle est retenue par le ligament postérieur. La liaison marteau-enclume est rigide chez la plupart des espèces. En revanche, la liaison enclume-étrier est beaucoup plus souple permettant un déplacement de l'étrier.
- L'*étrier* présente une portion plate qui obture la fenêtre ovale; son autre extrémité est articulée par l'enclume.

Enfin, deux muscles contrôlent la mobilité de la chaîne des osselets, le *tensor tympani* (muscle du marteau) et le *stapedius* (muscle de l'étrier). Les muscles de l'oreille moyenne sont remarquables par leur innervation motrice: la taille des unités motrices est généralement faible. Cette modalité d'innervation n'est pas sans rappeler celle des muscles oculomoteurs. Les muscles de l'oreille moyenne sont activés de manière réflexe, en réponse à des sons de plus de 80 dB SPL généralement. La fonction du muscle de l'étrier est plus marquée que celle du muscle du marteau chez l'homme.

c) **L'oreille interne**, faisant partie de l'os temporal, représente en fait plusieurs cavités communiquant entre elles, le vestibule, les canaux semi-circulaires et la cochlée ou limaçon osseux, qui constituent l'ensemble du labyrinthe osseux.

Le labyrinthe osseux s'ouvre sur l'oreille moyenne par deux orifices, la fenêtre ovale, obturée par une membrane sur laquelle s'articule l'étrier, et la fenêtre ronde, obturée par une autre membrane. La cochlée est remplie de liquide et constitue le système de transduction générant une réponse nerveuse aux vibrations de la membrane placée sur la fenêtre ovale. Elle

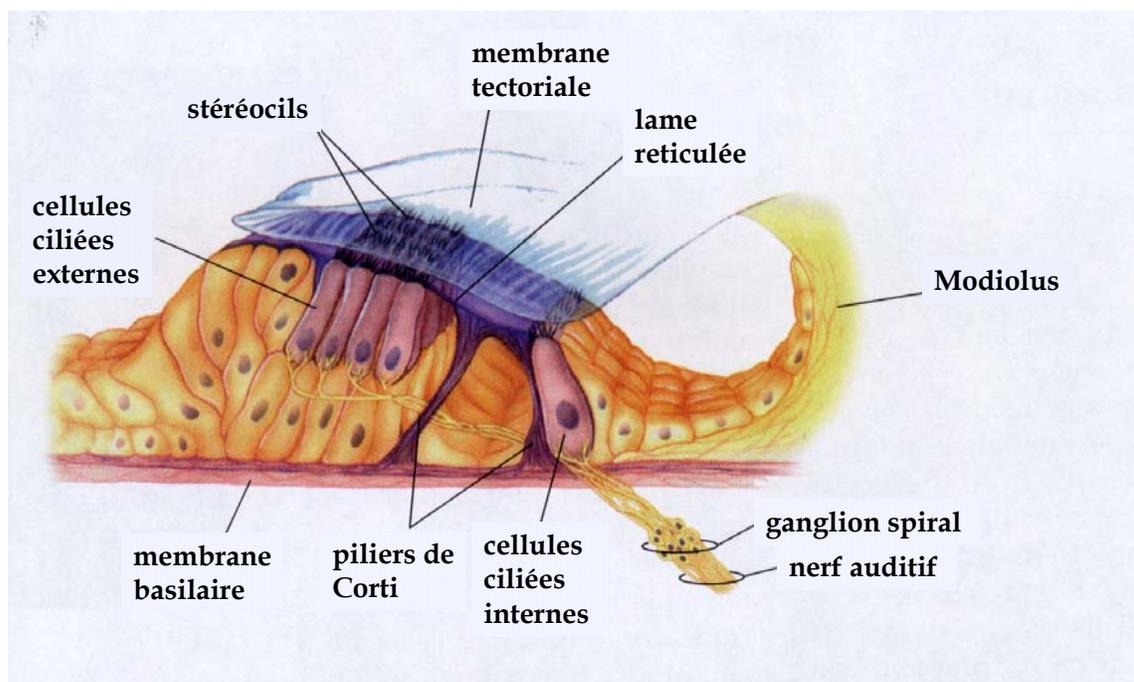
a une forme spiralée, s'enroulant sur un certain nombre de tours. C'est un tube d'environ 35 mm de long enroulé autour d'un axe creux qui contient le nerf auditif. Elle forme deux tours et demi depuis sa base. La cochlée est divisée en trois compartiments ou rampes : la *rampe vestibulaire*, la *rampe tympanique* et le *canal cochléaire*. Les trois rampes s'enroulent à l'intérieur de la cochlée comme un escalier en spirale. La rampe vestibulaire et le canal cochléaire sont séparés par la *membrane de Reissner*; la rampe tympanique et le canal cochléaire par la *membrane basilaire* qui supporte l'*organe de Corti* où siègent les cellules réceptrices auditives. La *membrane tectoriale* est tendue au-dessus de l'organe de Corti (Fig. 1.3). A l'apex de la cochlée, le canal cochléaire se referme, alors que la rampe vestibulaire et tympanique communiquent par un orifice à travers les membranes. Le liquide présent dans la rampe vestibulaire et dans la rampe tympanique s'appelle la *pérylimphe*, riche en sodium. Le canal cochléaire est rempli par un liquide appelé *endolymphe*, riche en potassium.

La membrane de Reissner est formée de deux assises de cellules, elle n'est pas un système imperméable; certains échanges semblent pouvoir exister entre la pérylimphe et l'endolymphe.

La membrane basilaire, du côté du canal cochléaire, est formée de deux couches cellulaires. La couche inférieure est au contact de la rampe tympanique. Sur la couche supérieure se situe l'organe sensoriel auditif, l'*organe de Corti*. La largeur de la membrane basilaire augmente progressivement de la base à l'apex de la cochlée, passant de 100 à 500 microns environ. La rigidité de la membrane basilaire diminue d'un facteur de 100 entre la base de la cochlée et l'apex, ce qui joue un rôle essentiel dans les propriétés de codage fréquentiel de l'organe de Corti.

L'organe de Corti (Fig. 1.4), élément sensible de l'ouïe, comporte des cellules réceptrices au contact desquelles prennent naissance les fibres du nerf auditif. Ces cellules réceptrices sont des cellules dites ciliées (car pourvues de stéréocils) constituant deux populations séparées: on distingue trois- quatre rangées de cellules ciliées externes (CCE) et une rangée de cellules ciliées internes (CCI). Ces rangées s'étendent sur toute la longueur de la membrane basilaire (35 mm), de la base au sommet (apex) de la cochlée.

Figure 1.4: Schéma de l'organe de Corti. (modifié d'après "Neurosciences à la découverte du cerveau" de Bear, Connors, Paradiso, 1997)



La lame réticulaire, située sur le même plan que la surface apicale des cellules ciliées sépare la périlymphe dans laquelle baigne le soma des cellules ciliées, de l'endolymphe dans laquelle baignent les stéréocils. La périlymphe est un liquide extracellulaire standard (riche en sodium) au contraire de l'endolymphe qui est un milieu extracellulaire particulier, car riche en potassium. De plus, l'endolymphe est chargée positivement (+80mV) par rapport à la périlymphe. Les CCI sont situées plus au contact de la membrane basilaire. Les CCI sont entourées de cellules de soutien tandis que les CCE sont pratiquement libres sur toute leur hauteur, au contact de la périlymphe. Le reste de l'organe de Corti est formé par différents types de cellules de soutien (Spoendlin, 1966; Bodian, 1983; Hudspeth, 1989).

Au-dessus des cellules réceptrices, s'étend une membrane fibreuse et gélatineuse, la *membrane tectoriale*; elle recouvre l'organe de Corti. Les stéréocils les plus longs des CCE sont ancrés dans la membrane tectoriale. Ce couplage est probablement responsable du rôle joué par les CCE dans l'affinement de la sensibilité et de la sélectivité fréquentielle des CCI.

La face externe du canal cochléaire est tapissé par la *strie vasculaire* qui, très vraisemblablement, joue un rôle trophique important, et contribue à la mobilisation du K^+ dans l'endolymphe. C'est le seul épithélium vascularisé de l'organisme.

La cochlée s'entoure autour d'un axe creux, la *columelle*, qui laisse passer les fibres du nerf cochléaire.

La cochlée des mammifères est innervée par trois types de fibres présentes dans le nerf cochléaire: (i) les **fibres afférentes** (fig.1.5), qui sont les axones émis par les neurones auditifs primaires, et qui transmettent au système nerveux central les influx produits suite à la libération des neurotransmetteurs par les cellules ciliées; (ii) les **fibres efférentes** (fig. 1.5), qui transmettent à l'oreille interne des influences centrifuges en provenance du complexe de l'olive supérieure; (iii) les **fibres sympathiques**, pourraient participer à la synchronisation des décharges des fibres afférentes.

Les cellules ciliées sont innervées par des fibres afférentes qui correspondent aux dendrites des neurones auditifs primaires dont le corps cellulaire est localisé dans le ganglion spiral. Les axones de ces neurones constituent le nerf auditif et vont jusqu'au tronc cérébral, où ils établissent des contacts synaptiques avec les neurones auditifs secondaires dans le NC. Les neurones auditifs primaires sont donc responsables du transfert de l'information auditive de l'organe récepteur au système nerveux central. Le câblage des CCI et des CCE est assuré par deux systèmes différents à partir du ganglion spiral.

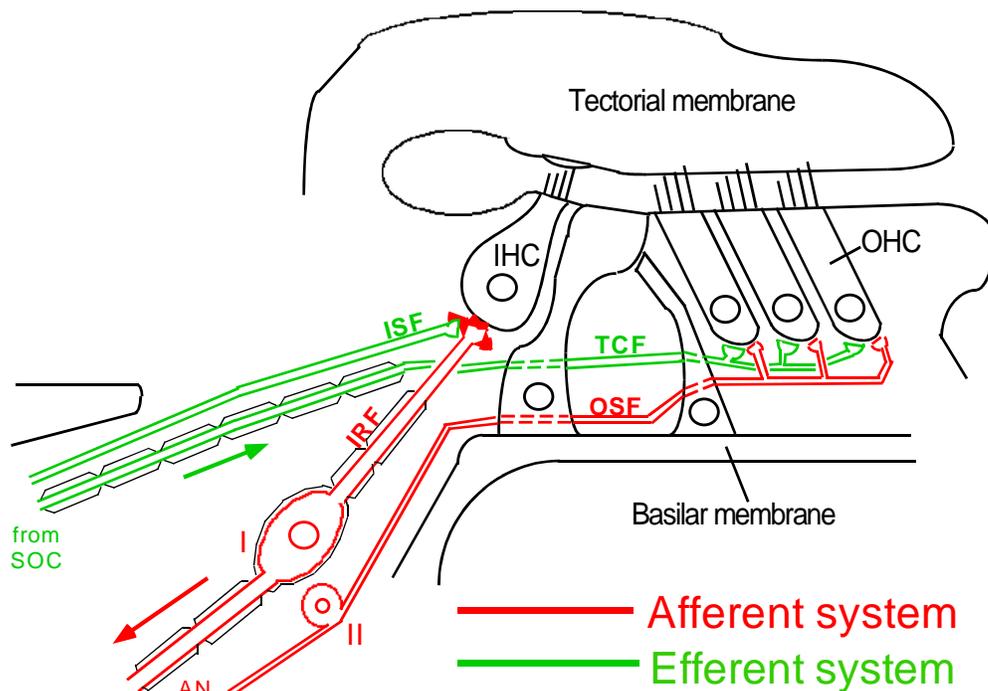


Figure 1.5: Innervation afférente et efférente de la cochlée (tectorial membrane : membrane tectoriale; basilar membrane: membrane basilaire; afferent system : système afférent; efférent system: système efférent; OHC: CCE; IHC: CCI; IRF: système radial; OSF: faisceau externe spiral; I: neurone auditif primaire de type I; II: neurone auditif primaire de type II; AN: nerf auditif; SOC: complexe olivaire supérieur; ISF : faisceau spiral interne; TCF: faisceau traversant le tunnel (de Corti)). Voir texte pour description des différentes populations de fibres nerveuses.

Le **système radial** (IRF dans Fig. 1.5) innerve les CCI ; il est constitué par les neurones de type I du ganglion spiral (neurones de grande taille, bipolaires, myélinisés, Spoendlin, 1969; Kiang et coll., 1982). Chaque neurone ne s'articule qu'avec une CCI par l'intermédiaire de leur dendrite, mais chaque CCI peut être contactée par une dizaine de neurones de type I (Spoendlin, 1969; Liberman, 1980). Les CCE ont une innervation afférente nettement différente de celle des CCI (figure 1.6). Le **système spiral externe** (OSF dans Fig. 1.5) innerve les CCE, il est constitué de neurones de type II du ganglion spiral (neurones de petite taille, pseudo-unipolaires, non myélinisés). Chaque neurone de type II innerve environ 10 CCE (Spoendlin, 1966, 1969, Kiang et coll., 1982). Il en résulte que même si le nombre des CCE est environ cinq fois supérieur à celui des CCI, plus de 95% des neurones du ganglion spiral communiquent avec le petit nombre relatif de CCI. Seulement 5% des neurones auditifs primaires reçoivent des informations par voie synaptique des CCE. D'après ces chiffres, il est possible de conclure que la majeure partie de l'information provenant de la cochlée vient des CCI.

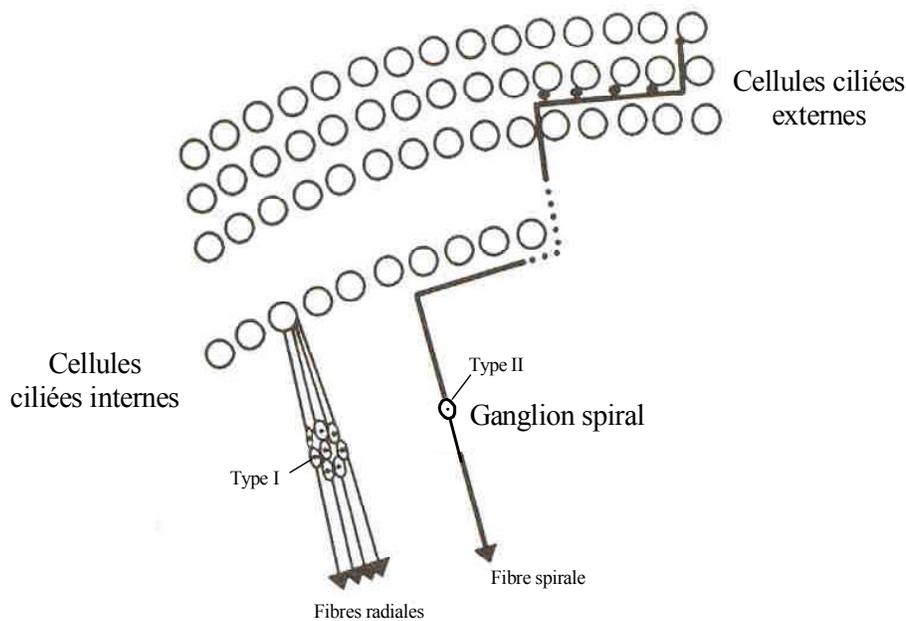


Figure 1.6 : Innervation afférente des cellules ciliées de l'organe de Corti (d'après Spöndlin, 1966).

L'innervation efférente de la cochlée (Fig. 1.5) prend son origine dans le tronc cérébral, plus précisément dans la région du complexe olivaire supérieur (SOC dans Fig. 1.5) où l'on trouve les neurones olivo-cochléaires, au nombre de 1500-2000 environ. Les axones olivo-cochléaires donnent naissance à des contacts axo-dendritiques à proximité des cellules ciliées internes (fibres ISF dans fig. 1.5) et axo-somatiques sur les cellules ciliées externes (Fibres TCF dans la Fig. 1.5).

1.1.2 Physiologie de l'organe récepteur

Le stimulus sonore traverse d'abord l'oreille externe et l'oreille moyenne lesquelles assurent la distribution et la transmission des sons jusqu'à la cochlée où s'effectue la réception proprement dite. Nous décrirons donc successivement les deux opérations, celle de la transmission, puis celle de la réception et de l'élaboration du message afférent.

L'oreille externe (pavillon et conduit auditif) permet de recueillir les sons et de les amplifier. Le pavillon capte et concentre les ondes sonores, tout en amortissant la brutalité du passage de l'air libre à l'air enclos du conduit auditif. Puis ces ondes acoustiques passent à travers le conduit auditif, en se comportant comme des ondes rectilignes sur une longueur d'environ deux à trois centimètres, avant de rencontrer la membrane du tympan. Celle-ci se met alors à osciller sous l'effet des fluctuations de pression de l'onde acoustique dans le conduit. L'oreille moyenne (tympan et osselets) assure la fonction de transmission proprement dite, qui inclut une transformation d'ondes sonores aériennes en ondes liquidiennes. Cette transformation se fait par l'intermédiaire des osselets: les vibrations du tympan entraînent successivement des déplacements du bloc marteau-enclume, puis de l'étrier, qui les transmet à l'oreille interne via la fenêtre ovale. Un rôle fondamental de l'oreille moyenne est de compenser (en grande partie) la perte d'énergie sonore lors du passage du milieu aérien au milieu liquidien. Pour ce faire, l'oreille amplifie l'énergie sonore par l'intermédiaire d'un rapport de surface de 17x (tympan/fenêtre ovale) et d'un effet de levier (1.4x) réalisé par la chaîne des osselets. Le signal de pression acoustique transmis par la chaîne tympano-ossiculaire et de la fenêtre ovale à la rampe vestibulaire constitue le signal d'entrée de la cochlée. Il induit dans les structures cochléaires des phénomènes hydrodynamiques qui sont à

la base de l'analyse fréquentielle du signal acoustique: les variations de pression acoustique sont transformées en une onde qui se déplace le long de la membrane basilaire et déclenche les processus de transduction au niveau des cellules ciliées (fig. 1.7).

La sensibilité de la membrane basilaire est déterminée par deux propriétés structurales. D'abord, la membrane est plus large à l'apex qu'à la base, d'un facteur 5, environ. Deuxièmement, la rigidité de la membrane diminue de la base à l'apex, la base étant à peu près 100 fois plus rigide. En repoussant la partie plate de l'étrier sur la fenêtre ovale, le son entraîne un déplacement de la périlymphe dans la rampe vestibulaire, mais aussi de l'endolymphe dans le canal cochléaire puisque la membrane de Reissner est très souple. Avec les hautes fréquences, la base plus rigide de la membrane vibre considérablement, en dissipant beaucoup d'énergie, et l'onde ne se déplace pas très loin (Fig. 1.7a). De la même manière, les ondes sonores à basse fréquence se propagent jusqu'à l'apex flexible de la membrane, avant que toute l'énergie soit dissipée (Fig. 1.7b). La réponse de la membrane basilaire établit un codage de site répertoriant les endroits où la membrane est la plus distendue en fonction des fréquences différentes du son (Fig. 1.7c). La position longitudinale de la cochlée où le déplacement de la membrane basilaire est maximal détermine ainsi le codage spatial des fréquences.

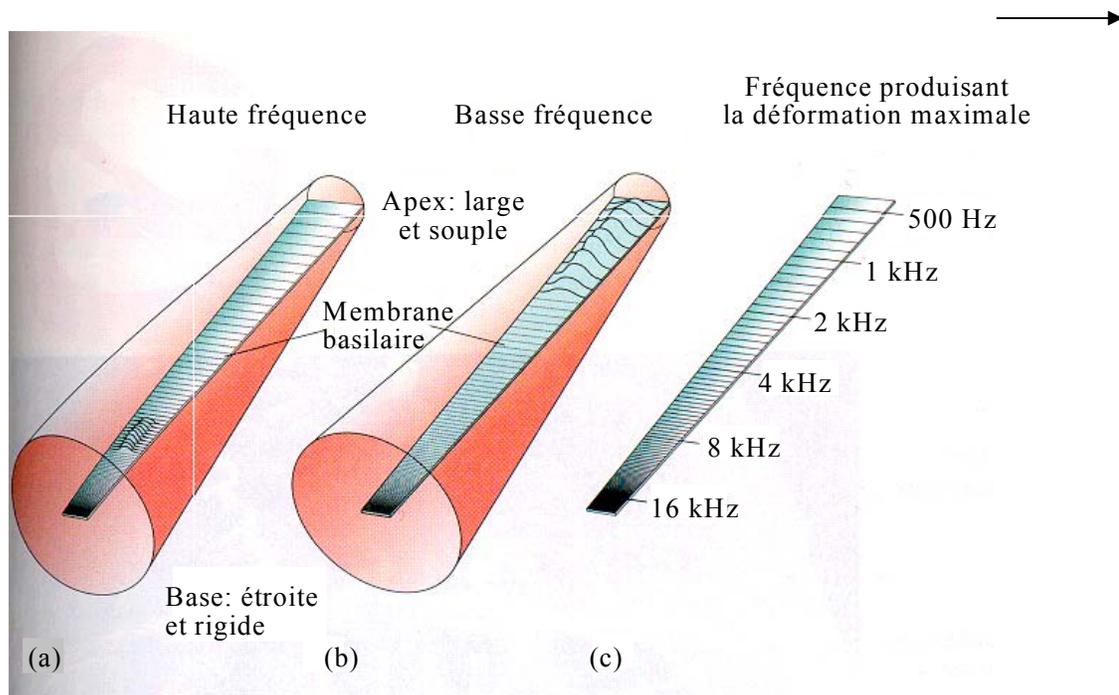


Figure 1.7

Figure 1.7: Sélectivité tonale et gradient de rigidité de la membrane basilaire. (modifié d'après "Neurosciences à la découverte du cerveau" de Bear, Connors, Paradiso, 1997)

L'onde hydrodynamique met en mouvement la membrane basilaire: les cellules ciliées internes (CCI), solidaires de la membrane basilaire, entrent en contact avec la membrane tectoriale, ce qui entraîne une déflexion leurs stéréocils. Cependant, ce mécanisme ne fonctionne que pour un niveau sonore supérieur à 50 dB. Pour des sons inférieurs à 50 dB, la

membrane basilaire se déforme mais pas suffisamment pour défléchir directement les stéréocils des CCI; ce sont alors les CCE qui se contractent (car elles sont munies de mécanismes contractiles actifs contrairement aux CCI), ce qui a pour effet de déplacer la membrane tectoriale: cette dernière entre en contact avec les CCI, défléchit les stéréocils conduisant à la transmission des informations au cerveau pour des sons inférieurs à 50 dB. La transduction du signal mécanique en un signal électrique dépend de la déflexion des stéréocils des CCI induite par la membrane basilaire. La déflexion des stéréocils entraînent une modification du potentiel membranaire (due à une ouverture plus ou moins longue de canaux de transduction potassiques situés à l'extrémité des stéréocils, donc une entrée plus ou moins importante de K^+). La dépolarisation membranaire ou potentiel récepteur, proportionnelle à l'intensité du signal mécanique, se propage à la membrane basolatérale de la cellule ciliée. Cette dépolarisation ouvre des canaux calciques sensibles au voltage et l'entrée du Ca^{2+} va permettre l'exocytose des vésicules synaptiques conduisant à la libération du neurotransmetteur. Le neurotransmetteur va ensuite se fixer sur les récepteurs des dendrites des neurones auditifs primaires et provoquer des potentiels générateurs.

Parmi les nombreux neurotransmetteurs qui ont été proposés pour la transmission afférente des CCI (Klinke, 1981), la plupart des études récentes présentent des évidences en faveur du glutamate (Pujol et coll., 1985, 1986; Ehrenberger et Felix, 1991; Eybalin, 1993; Felix et Ehrenberger, 1992; Nordang et coll., 2000; Glotwatzki et Fuchs, 2002).

Les potentiels générateurs se propagent jusqu'au premier nœud de Ranvier (le long du dendrite) et, si le seuil est atteint, des potentiels d'action (PA) sont déclenchés. La séquence des PA se propagera le long des fibres du nerf auditif, afin de transmettre l'information acoustique ainsi codée au système nerveux central ayant pour premier relais le noyau cochléaire.

1.2 Les voies auditives

Les fibres afférentes du nerf auditif issues du ganglion spiral pénètrent dans le tronc cérébral, innervant ainsi le noyau cochléaire (NC). Chaque axone se ramifie en une branche ascendante et une branche descendante et forme des synapses sur les neurones des NC ventral et dorsal respectivement. Les cellules du NC se projettent sur l'olive supérieure de chaque côté du tronc cérébral et/ou, plus loin et contralatéralement, sur les noyaux du lemnisque latéral et/ou le colliculus inférieur. Les axones des neurones olivaires empruntent le lemnisque latéral et innervent le colliculus inférieur (CI), au niveau du mésencéphale. Toutes les voies ascendantes convergent vers le CI. Les neurones du CI projettent vers le corps genouillé médian du thalamus, qui se projette à son tour vers le cortex auditif. Le CI envoie aussi des axones vers le colliculus supérieur et dans le cervelet.

Plus bas, nous allons décrire en détails les différents étages des voies auditives.

1.2.1 Le noyau cochléaire (NC)

Le NC est le premier noyau des voies auditives ascendantes. L'hétérogénéité cellulaire, sa morphologie, son fonctionnement, son innervation par des fibres efférentes, et la complexité de ses circuits intrinsèques montrent que le NC est le premier centre de traitement et d'intégration des messages transmis par le nerf cochléaire. Il est situé sur la face dorso-latérale du tronc cérébral à la jonction du pont et de la medulla.

1.2.1.1 Cytoarchitecture

La division du NC en sous-régions est basée sur l'innervation, mais surtout sur les différentes populations de neurones. Les études ont été réalisées principalement chez le chat (Lorente de Nö, 1933; Osen, 1969; Brawer et coll., 1974; voir aussi Romand et Avan 1997 pour revue). Le NC comporte trois subdivisions dont la cytoarchitecture et les connexions sont différentes: le noyau cochléaire dorsal (NCD), le noyau cochléaire ventral (NCV), lui même divisé en noyau cochléaire antéroventral (NCAV), la région la plus volumineuse (Kiang et coll., 1975) et le noyau cochléaire postéroventral (NCPV). NCD et NCPV sont séparés du NCAV par la zone d'entrée du nerf cochléaire, dénommé aussi noyau interstitiel (NI) par Lorente de Nö (1933). La partie antéroventrale du NC reçoit ses afférences primaires principalement à partir de la branche ascendante des fibres du nerf auditif; les branches descendantes traversent le NCPV pour se terminer dans le NCD.

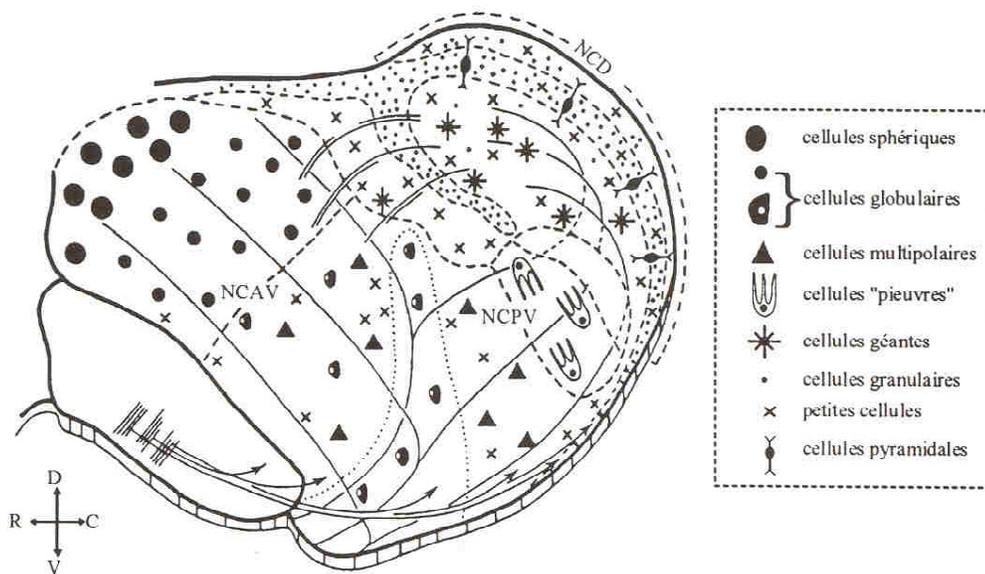


Figure 1.8: Cytoarchitecture du noyau cochléaire décrite à partir de coupes du noyau cochléaire préparées selon la méthode de Nissl (d'après Osen, 1969).

A partir de coupes histologiques traitées selon la technique de Golgi (permettant la visualisation complète du corps cellulaire et de l'arbre dendritique d'une partie de l'ensemble des neurones) ou selon la technique de Nissl (visualisation principalement du corps cellulaire, mais en principe de toutes les cellules), plusieurs catégories de neurones ont été décrites dans le NC, dont la distribution spécifique a permis de définir des subdivisions distinctes du noyau (fig.1.8) (Osen, 1969b; Morest et coll., 1973; Kane, 1973, 1974; Tolbert, 1978; Cant et Morest, 1979; Cant, 1981; Tolbert et Morest, 1982a, b; Tolbert et coll., 1982; Wouterlood et Mugnaini, 1984, Hackney et coll., 1990).

Noyau cochléaire antéroventral

Les études en Golgi les plus anciennes (Held, 1893; Cajal, 1909; Lorente de Nö, 1933) et d'autres plus récentes (Brawer et coll., 1974; Brawer et Morest, 1975; Kane, 1974; Lorente de Nö, 1976, 1981; Hackney et coll., 1990) entreprises principalement sur des animaux jeunes, voire immatures, mettent en évidence des détails cellulaires pas toujours confirmés chez les animaux adultes avec des injections intracellulaires de peroxydase de raifort ou une imprégnation argentique (Ryugo et Fekete, 1982; Fekete et coll., 1984; Rhode et coll., 1983b; Rouiller et Ryugo, 1984; Smith et Rhode, 1987). Mais ces différences ne modifient pas dramatiquement les caractères principaux des types cellulaires, présentés dans la Fig. 1.8 pour le chat.

En se basant sur les descriptions d'Osen (1969) et de l'équipe de Morest (Brawer et coll., 1974; Cant et Morest, 1979b; Tolbert et Morest, 1982a,b), nous pouvons décrire les différents groupes cellulaires dans le NCAV. Le NCAV contient, dans sa partie la plus rostrale, des cellules sphériques de grande taille (définies en Nissl) caractérisées en Golgi par une arborisation dendritique ramassée en forme de buisson, d'où leur nom de cellules "en buisson" (Bushy cell). Immédiatement en arrière de la zone des cellules sphériques, on trouve des cellules multipolaires (Multipolar cell) ou étoilées mélangées à des cellules en buisson de plus petite taille (Golgi), qui se distinguent des premières par la position excentrée de leur noyau dans des coupes traitées en Nissl, auxquelles Osen a donné le nom de cellules globulaires. Les cellules en buisson (Golgi) correspondent donc aux cellules sphériques et globulaires décrites en Nissl. La position des cellules globulaires dans le noyau cochléaire correspond en fait essentiellement à la région d'entrée et de bifurcation des fibres du nerf auditif. Le NCAV contient également des cellules géantes (Giant cell; voir Figs 1.9E et 1.10E pour le cobaye) et des cellules de petite taille (petites cellules et, sur le bord dorsal, des cellules granulaires). Deux exemples de cellules en buisson sont présentées dans les Figs. 1.9 et 1.10 (B et C) pour le cochon d'Inde, correspondant à des cellules globulaires et sphériques (Nissl), respectivement.

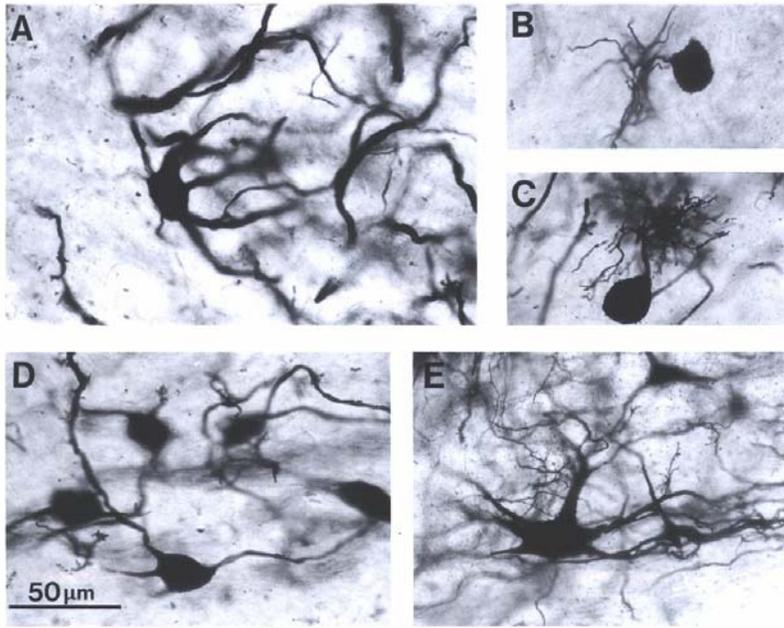


Figure 1.9 : Types de cellules (imprégnation de Golgi) dans le NCAV et le NCPV chez le cobaye (reproduites à la même échelle que dans D).

A : cellule octopus dans le NCPV dorsomédial

B : cellule en buisson correspondant à une cellule globulaire dans le NCPV ventral

C : cellule en buisson dans le NCAV rostral, correspondant donc à une cellule sphérique.

D : cellule multipolaire dans le NCPV rostral

E : cellule géante du NCAV caudal à la région de la racine du NA.

(Hackney et coll., 1990)

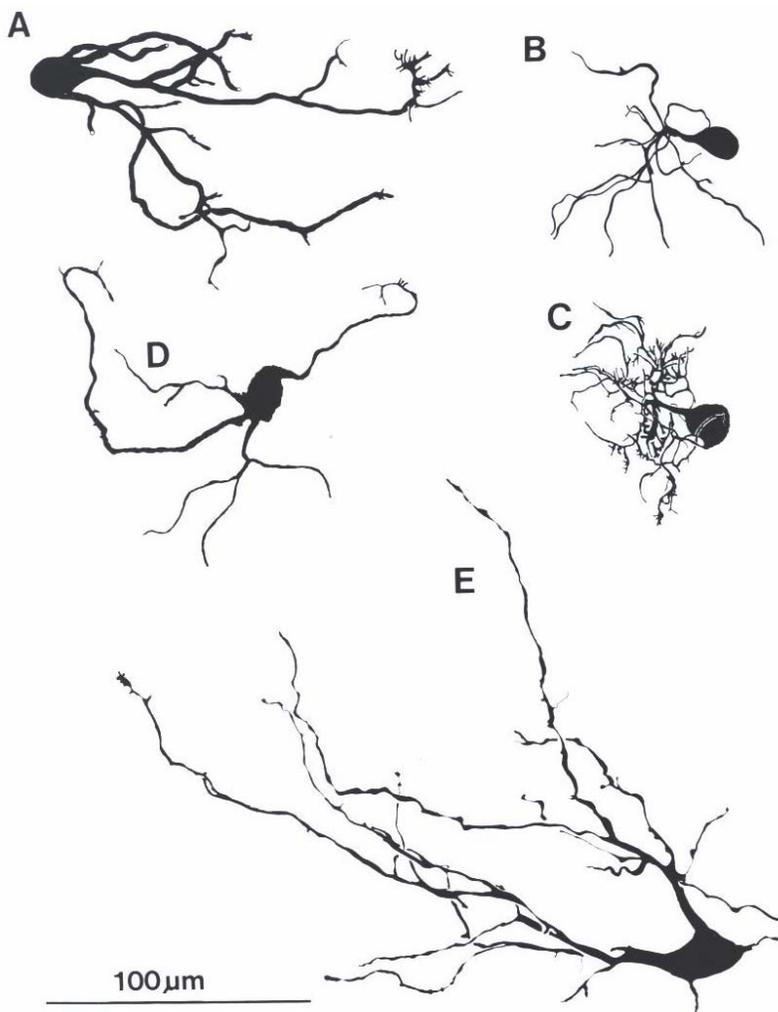


Figure 1.10: Dessins de cellules provenant du NCV chez le cobaye (imprégnation de Golgi). Les cellules sont identiques à la figure précédente :

A : cellule octopus

B : cellule en buisson, (globulaire en Nissl)

C : cellule en buisson, (sphérique en Nissl)

D : cellule multipolaire

E : cellule géante

(Hackney et al, 1990)

Noyau cochléaire postéroventral

Le NCPV contient d'assez nombreux types cellulaires, mais nous ne citerons que les principaux:

- Les cellules multipolaires ou étoilées qui sont regroupées plutôt en avant du NCPV; néanmoins, ces mêmes cellules multipolaires ne sont pas localisées uniquement dans le NCPV puisqu'elles sont présentes également dans le NCAV, le plus souvent mélangées avec les cellules globulaires (voir ci-dessus).

- Les cellules "pieuvres" (octopus) qui constituent une sous-région bien définie, dans la partie postérieure du NCPV. Elles sont caractérisées par un corps cellulaire de grande taille ainsi que par les dendrites volumineuses qui s'étendent toutes vers une direction.

Les deux types de cellules typiques du NCPV sont illustrés dans les Figs. 1.9 et 1.10 (A et D) pour le cobaye (imprégnation de Golgi).

Il est à noter que le NCPV reçoit ses afférences principalement de la branche descendante des fibres du nerf auditif bien que certaines collatérales de la branche ascendante ou de la fibre avant la bifurcation puissent, dans certains cas, se distribuer dans le NCPV (Fekete et coll., 1984).

Noyau cochléaire dorsal

Le NCD, qui correspond à la partie la plus dorsale et postérieure du NC, contient également d'assez nombreux types cellulaires (Fig. 1.8). En fait, le NCD a une structure lamellaire, plus ou moins nette selon les espèces, car on peut distinguer une bande parallèle au pourtour du NCD qui contient des grandes cellules dites fusiformes ou pyramidales. Cette bande entoure une zone plus profonde du NCD où l'on rencontre des cellules dites géantes (cellules de grandes tailles et de grandes diversités morphologiques: bipolaire, multipolaire, radiaire, globulaire). Le NCD est également riche en deux catégories de cellules, toutes deux de plus petites taille, les cellules dites petites (small) et granulaires (Osen et coll., 1984). Les cellules petites et granulaires sont aussi présentes dans le NCPV (en particulier dorsalement par rapport à la zone de bifurcation des fibres du nerf auditif) et, en plus petit nombre, dans le NCAV. Ces 2 derniers types de cellules sont d'ailleurs très abondants à la périphérie du noyau cochléaire, et de plus forment une lamelle séparant en partie NCV de NCD. Ces différents types cellulaires du NCD sont présentés pour le cobaye dans les Figures 1.11 et 1.12.

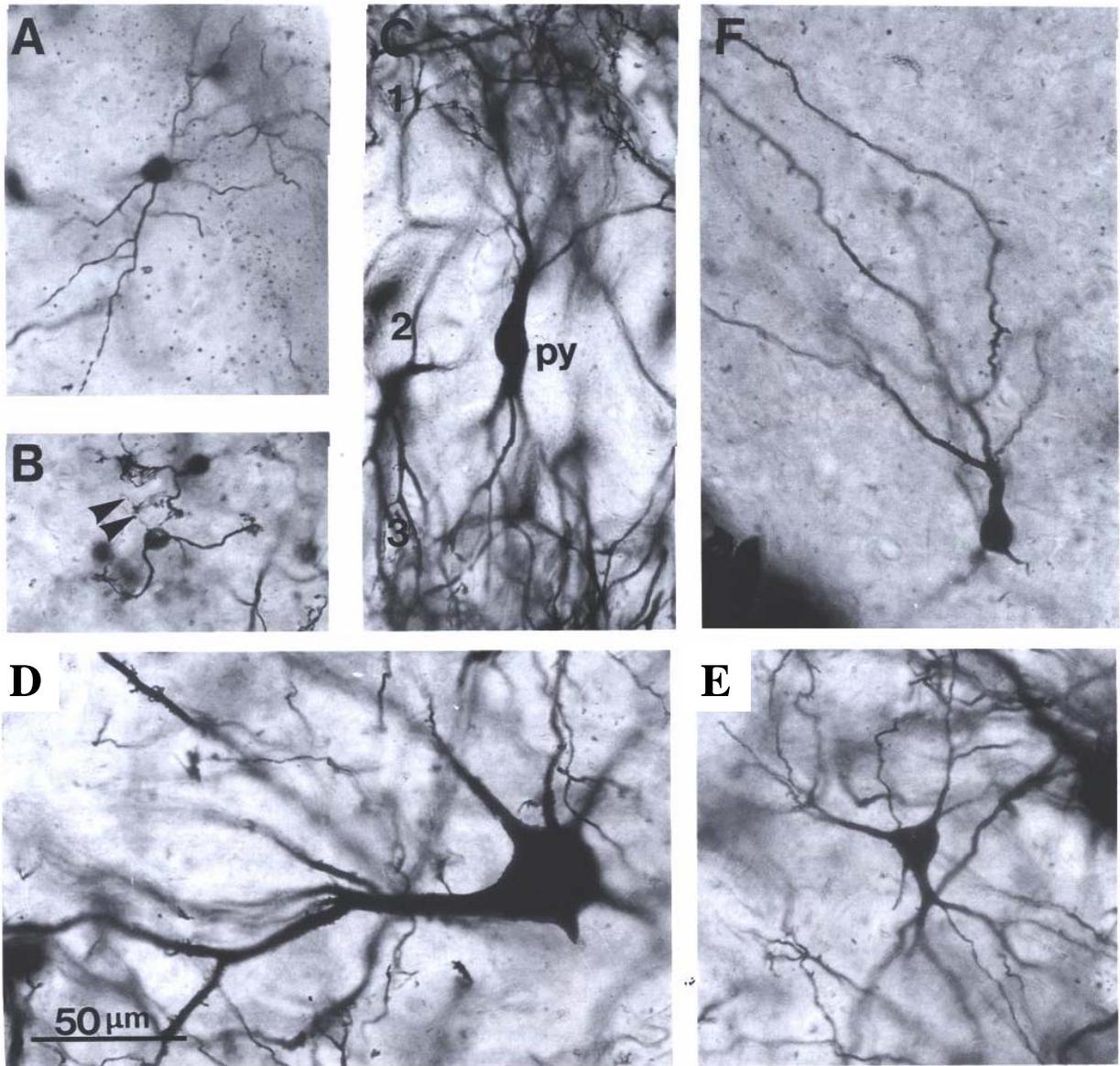


Figure 1.11 : Imprégnation de Golgi illustrent les types de cellules dans le NCD du cobaye (reproduites à la même échelle que dans D). A : Cellule étoilée; B : cellule granulaire; C : cellule pyramidale; D : cellule géante; E : cellule multipolaire; F : petite cellule (verticale) (Hackney et coll.,1990).

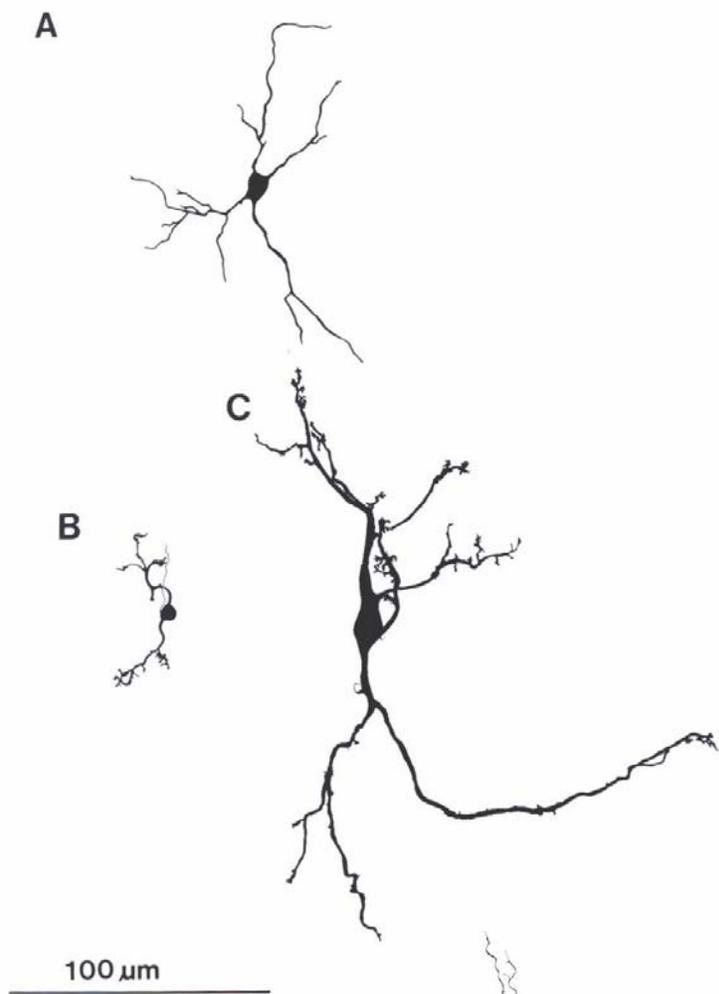
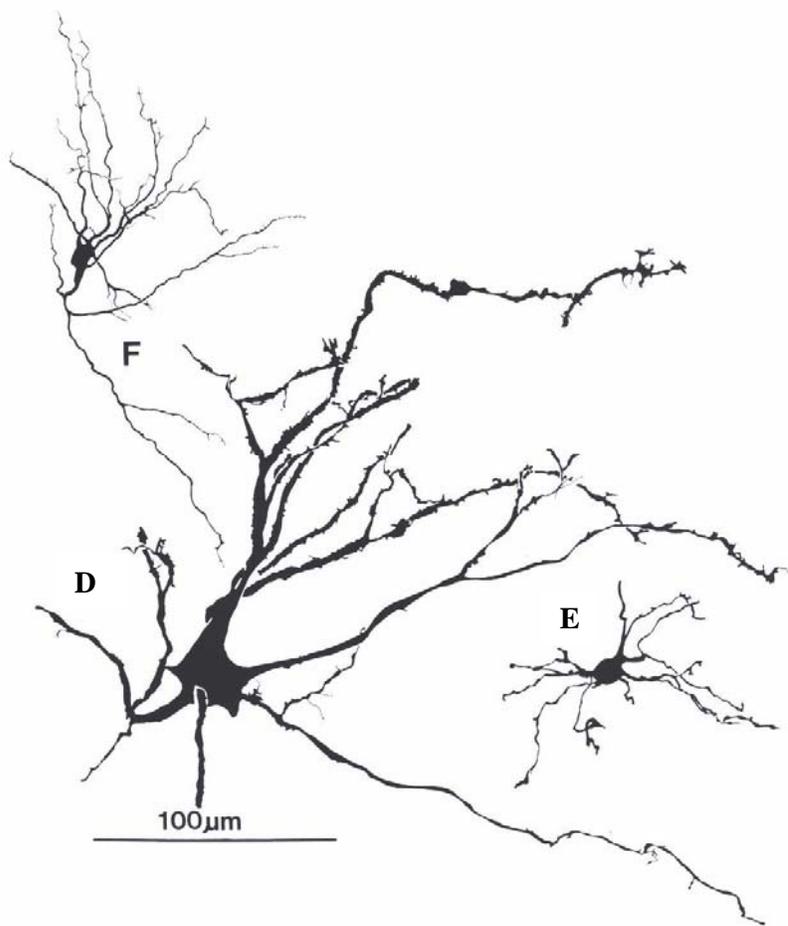


Figure 1.12 : Dessins de cellules provenant du NCD chez le cobaye (imprégnation de Golgi). Les cellules sont identiques à la figure précédente :

- A : cellule étoilée
 - B : cellule granulaire
 - C : cellule pyramidale
 - D : cellule géante
 - E : cellule multipolaire
 - F : petite cellule (verticale)
- (Hackney et coll., 1990)



	Cortex auditif Noyaux de la colonne dorsale Nerf Trijumeau	
Cellules granulaires	Collatérales du FOC médian Cortex auditif Noyaux de la colonne dorsale Nerf trijumeau Noyaux pontiques	

Tableau 1: L'innervation centrifuge du noyau cochléaire (d'après Rasmussen, 1960, 1967, Gacek, 1973; Kane, 1977; Conlee et Kane, 1982; Itoh et coll., 1987; Weinberg et Rustioni, 1987; Wenthold, 1987; Ryan et coll., 1990; Benson et Brown, 1990; Caicedo et Herbert, 1993, Feliciano et coll., 1995, Ohlrogge et coll. 2001). CI: colliculus inférieur; FOC: faisceau olivo-cochléaire; LL: noyaux du lemnisque latéral; OSL: olive supérieure latérale. Les projections les plus importantes sont signalées en gras.

1.2.1.3 Voies de sorties du NC

Les projections efférentes du NC destinées aux noyaux auditifs du tronc cérébral (le complexe olivaire supérieur; les noyaux du lemnisque latéral et le colliculus inférieur) se répartissent comme décrit ci-dessous en trois voies de sorties parallèles: les stries acoustiques ventrale (ou corps trapézoïde), intermédiaire et dorsale (Fig. 1.13).

- Le *corps trapézoïde ou strie acoustique ventrale*; il regroupe les fibres provenant du NCAV qui se projettent dans le complexe olivaire supérieur (COS) ipsilatéral et contralatéral, ou dans les structures plus rostrales contralatérales comme le lemnisque latéral (LL) et le CI
- La *strie acoustique intermédiaire*; elle est composée principalement de fibres provenant du NCPV se projetant bilatéralement dans les noyaux périolivaires. Certains gagnent les noyaux contralatéraux du LL et du CI (Thompson et Thompson, 1987).
- La *strie acoustique dorsale*; elle est composée de fibres issues des cellules pyramidales et des cellules géantes du NCD se dirigeant sur les noyaux du LL et du CI du côté opposé.

Toutes (ou presque) les voies auditives ascendantes, qu'elles passent ou non par le COS, convergent finalement vers le CI (Aitkin et Phillips, 1984). Toutefois, une récente étude a montré l'existence d'une projection directe du NC vers le thalamus auditif (Malmierca et coll., 2002).

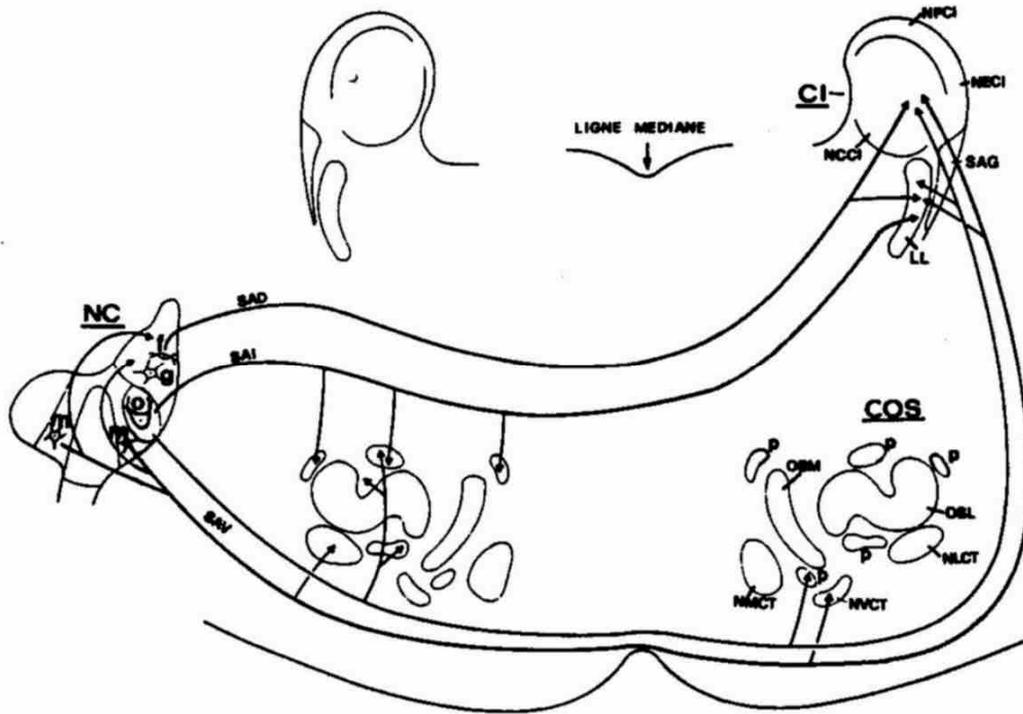


Fig. 1.13: Représentation schématique des projections des fibres efférentes du noyau cochléaire. SAD: strie acoustique dorsale; SAI: strie acoustique intermédiaire; SAV: strie acoustique ventrale (corps trapézoïde). (D'après Rouiller, 1992)

Enfin, les projections ascendantes issues du colliculus inférieur se dirigent vers le corps genouillé médian (CGM) ipsilatéral et contralatéral qui sert de relais. Puis le CGM se projette principalement sur le cortex auditif primaire ou AI situé dans le lobe temporal (Fig. 1.14), ainsi que sur d'autres voies corticales (non primaires).

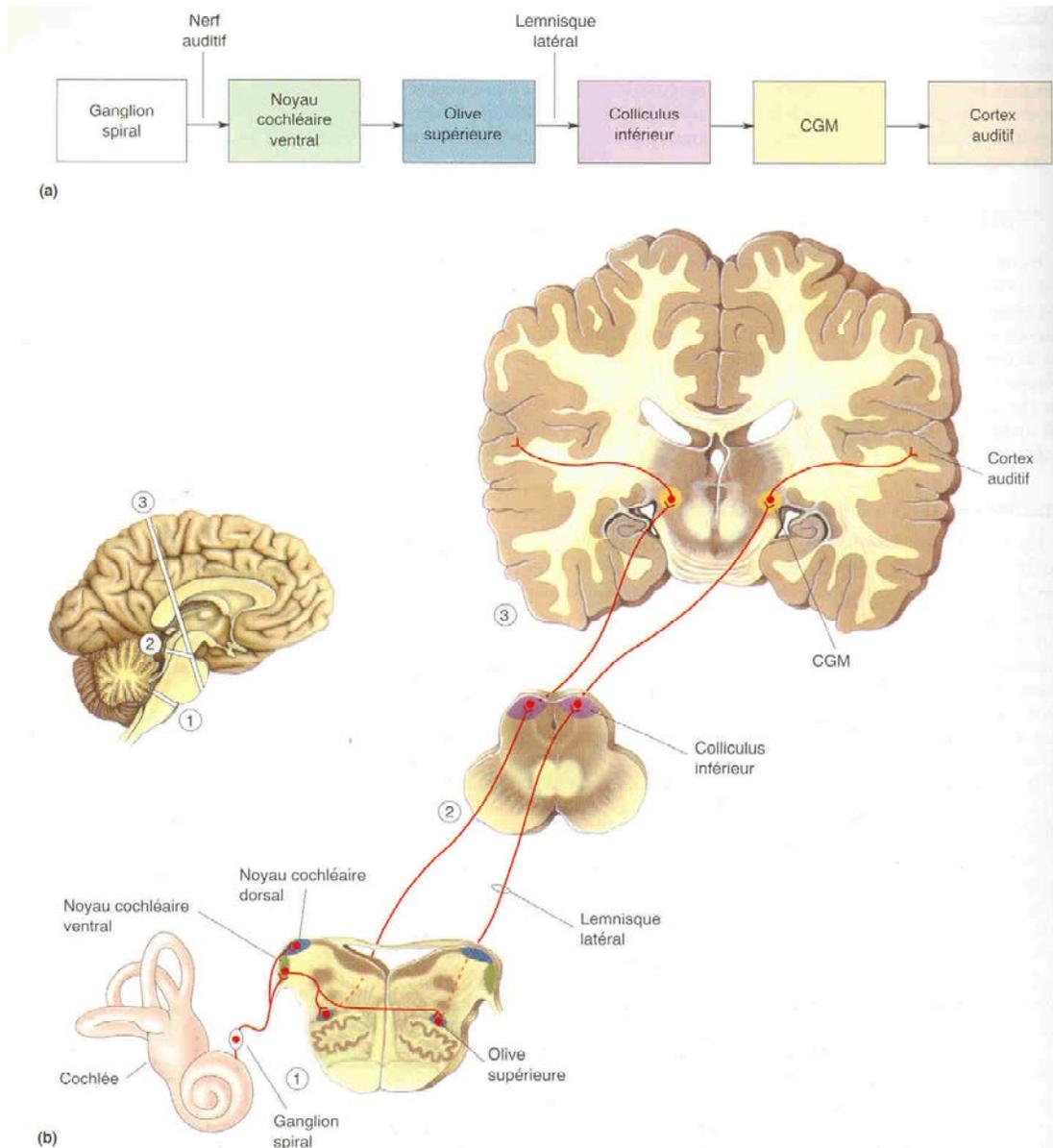


Figure 1.14 : Différentes voies auditives existent entre le ganglion spiral et le cortex auditif; les illustrations reproduisent la voie principale, (a) sous forme schématique et (b) à partir de différentes sections de l'encéphale chez l'homme. (modifié d'après "Neurosciences à la découverte du cerveau" de Bear, Connors, Paradiso, 1997)

1.2.1.4 Types de réponses des neurones du noyau cochléaire aux stimuli acoustiques

La variété de types cellulaires dans le NC est généralement associée à une grande variété de réponses (Kiang et coll., 1965b; Pfeiffer et Kiang, 1965; Pfeiffer, 1966; Moeller, 1969; Goldberg et Brownell, 1973; Godfrey et coll., 1975a, b; Brownell, 1975; Bourk, 1976; Adams, 1976; Webster, 1977; Romand, 1978, 1979; Romand et Avan, 1997; Friauf et Ostwald, 1988) (Fig. 1.15).

a. le noyau cochléaire ventral

En réponse à des bouffées de son pur la majorité des neurones du NCAV ont des décharges de type primaire ("*primary-like*") et ces réponses sont produites par les cellules sphériques. Ce type de réponse est similaire à celui des fibres du nerf auditif. On observe d'abord un brusque pic d'activité précisément calé avec le début du stimulus, puis une diminution de la décharge (adaptation) correspondant à une activité tonique qui se maintient pendant le reste de la stimulation (Fig. 1.15). Les réponses primaires échancrées ("*primary-like with notch*") ont une enveloppe comparable à celle des "primary-like", mais se distinguent par l'existence, immédiatement après le pic initial, d'un arrêt de l'activité neuronale de courte durée (1 msec), ce qui crée l'encôche ("notch"). Les réponses primaires échancrées sont enregistrées dans la partie postérieure du NCAV. Elles sont produites probablement par les cellules globulaires.

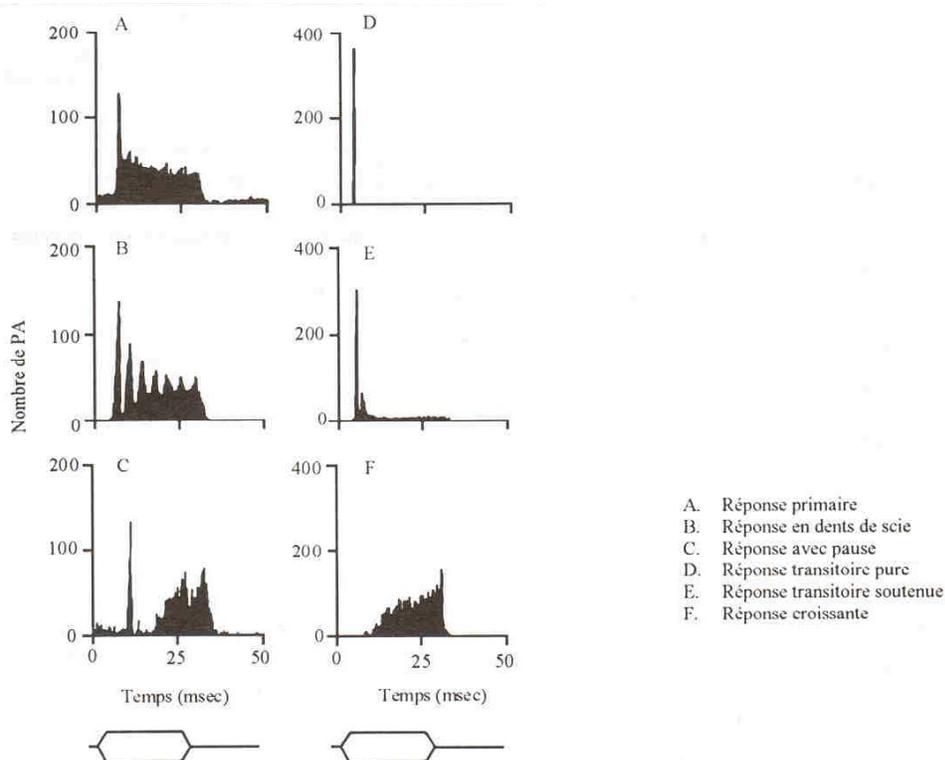


Figure 1.15 : Histogramme péristimulus des réponses des cellules du noyau cochléaire. Dans chaque cas le stimulus est une bouffée tonale de 25 msec. (D'après Romand, 1992)

Dans le NCPV, les cellules "octopus" produisent essentiellement un type de réponse dit transitoire ("*on*"). Ces réponses sont caractérisées par l'apparition d'un pic très marqué au début de la stimulation, suivi d'une diminution extrêmement rapide de l'activité cellulaire qui s'éteint en quelques dizaines de millisecondes au maximum quelle que soit la durée de la stimulation. Ils correspondent à une afférence activatrice, suivie d'une inhibition latérale par un inter-neurone. Tantôt le pic reste isolé, on parle alors de réponses transitoires pures ("*on type-I*", Fig. 1.15). Dans d'autres cas, l'activité cellulaire reprend, de façon assez faible mais soutenue pendant toute la durée de la bouffée tonale; on parle alors de réponses transitoires soutenues ("*on type-L*", Fig. 1.15). Certaines cellules en buisson produisent des réponses transitoires soutenues, mais ces dernières peuvent aussi être le fait de cellules multipolaires du NCV ou de cellules géantes du NCD.

Un troisième type de réponse, dite en dents de scie ("*chopper*"), a été identifié dans le noyau ventral (Fig. 1.15). Leur histogramme montre un taux de décharge périodique pendant le temps de la stimulation. Cette périodicité n'est pas liée à la période du stimulus sonore, et

devient désordonné à la fin du stimulus, ce qui distingue cette réponse en dents de scie d'une réponse de type synchronisée ("*Phase-locked*") présente en réponse à des sons purs de basse fréquence (<3kHz). Les cellules produisant les réponses en dents de scie reçoivent un grand nombre d'afférences synaptiques produisant chacune une très faible dépolarisation membranaire. Lorsque le seuil est atteint ces cellules se déchargent. Leur temps de latence est plus long que les autres types de réponses décrites plus haut.

b. le noyau cochléaire dorsal

Outre les réponses précédentes, d'autres formes de réponses dues à la complexité des interactions synaptiques ont été observées. Des réponses de type avec pause ("*pauser*") présentent un pic initial d'activité puis, après une période de silence, une reprise graduelle (Fig. 1.15). Les cellules croissantes ("*build up*") n'ont pas de pic initial, remplacé par une inhibition elle-même suivie d'une excitation apparaissant progressivement durant le reste de la stimulation (Fig. 1.15). Ces types de réponses sont produits principalement par des cellules pyramidales ou des cellules géantes dans le NCD.

Enfin, on peut trouver des réponses de type inhibiteur, qui consistent en diminution, voire un arrêt du taux de décharge durant la stimulation par rapport à l'activité spontanée. La complexité des réponses dans le NCD est importante, ce qui a conduit à une classification des types de réponse par d'autres auteurs, fondée sur l'importance des effets inhibiteurs (Evans et Nelson, 1973a, b; Young et Brownell, 1976; Young, 1980; Voigt et Young, 1980, 1988; Young et Voigt, 1982).

1.2.1.5 Tonotopie

La plupart des neurones répondent de manière différenciée en fonction de la fréquence de sons purs et se trouvent être particulièrement sensibles à la fréquence dite caractéristique (FC). La FC est la fréquence qui correspond à la pointe de la courbe d'accord de la cellule auditive considérée. Cette sensibilité préférentielle est largement associée aux propriétés mécaniques de la membrane basilaire, car les différentes fréquences sonores provoquent une déformation maximale de différentes parties de la membrane basilaire. Depuis la base jusqu'à l'apex de la cochlée, il existe une diminution progressive de la fréquence qui produit une déformation maximale de la membrane basilaire. Par conséquent, il existe une représentation de fréquence correspondante dans le nerf auditif; les fibres du nerf auditif connectées avec les cellules ciliées internes situées près de la membrane basilaire apicale sont le plus sensible à des sons de basse fréquence, et celles qui sont connectées avec les cellules ciliées internes près de la base de la membrane basilaire sont le plus sensible à des sons de haute fréquence (Fig. 1.16). Cette relation entre position des cellules et FC (appelée tonotopie) est présente dans le nerf auditif puis répercutée dans le NC (Fig. 1.16). En effet, les fibres venant de la base de la cochlée codant les hautes fréquences se projettent dans les régions dorsales du NC, alors que les fibres venant de l'apex représentant les basses fréquences se terminent dans les régions ventrales du NC (Sando, 1965; Osen, 1970; Arnesen et Osen, 1978; Lorente de Nõ, 1981) établissant l'organisation tonotopique du NC (Bourk et coll., 1981; Spirou et coll., 1993).

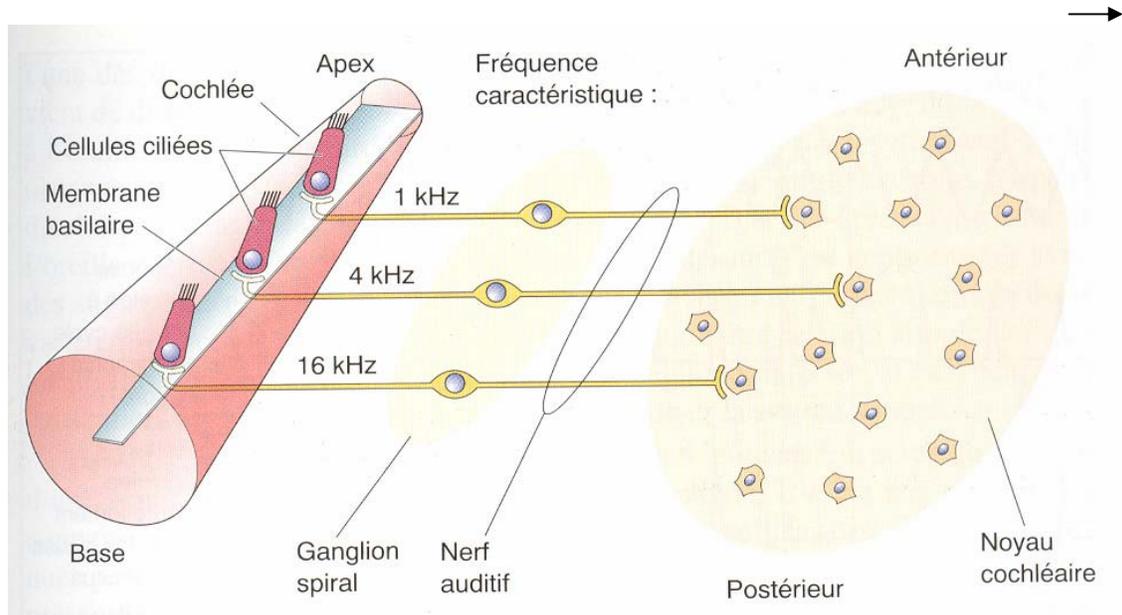


Figure 1.16

Figure 1.16 : représentation tonotopique au niveau de la membrane basilaire, du nerf auditif et du noyau cochléaire. De la base à l'apex de la cochlée, la réponse de la membrane basilaire varie avec la fréquence du son; la base étant plus sensible aux hautes fréquences, et l'apex aux basses fréquences. Cette tonotopie est préservée dans le nerf auditif et le noyau cochléaire. A ce niveau, il existe des populations de neurones présentant les mêmes fréquences caractéristiques, formant des lignes iso-fréquence. (modifié d'après "Neurosciences à la découverte du cerveau" de Bear, Connors, Paradiso, 1997)

En d'autres termes, il existe une cartographie de la membrane basilaire au niveau des noyaux cochléaires (Fig. 1.17). En fait, le NC comprend trois représentations du domaine des fréquences audibles, une dans chaque subdivision (NCAV, NCPV et NCD), comme décrit dans plusieurs études (Bourk, 1981; Ehret et Fisher, 1991; Friauf, 1992; Godfrey et coll., 1975a,b; Rouiller et coll., 1992; Spirou et coll., 1993; Romand et Avan, 1997).

Figure 1.17 →

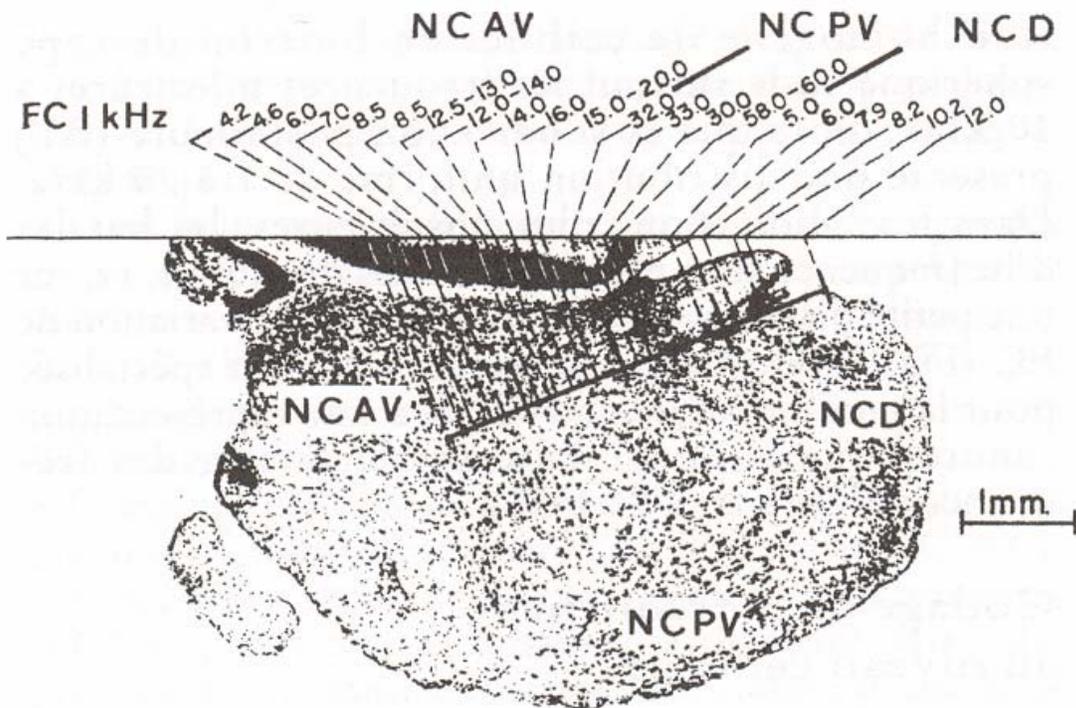


Figure 1.17 : Représentation tonotopique dans le noyau cochléaire. Coupe sagittale du noyau cochléaire révélant les trois principales régions: NCAV, NCPV, NCD, après une coloration de Nissl. La reconstitution du trajet de l'électrode entrant dans la région dorsale du NCD et se dirigeant vers la région du NCAV en traversant la partie dorsale du NCPV permet de suivre les modifications de la représentation en fréquence telle que l'illustrent la progression des fréquences caractéristiques (FC). (D'après Romand et Avan, 1997).

1.2.1.6 Autres propriétés fonctionnelles du NC

Sélectivité tonale. La sélectivité tonale est exprimée par la courbe de sélectivité ou "courbe d'accord". Pour le NC, les neurones caractérisés par des types de réponses de type primaire, primaire échançrée, transitoires soutenues ou en dents de scie, ont des courbes d'accord comparables à celle des neurones auditifs primaires de type I (Bourk, 1976). En revanche, les cellules caractérisées par des réponses de types transitoires pures ont une courbe d'accord étroite à des intensités qui s'approchent du seuil, mais qui devient plus large pour des intensités croissantes (Godfrey et coll., 1975a). Les neurones présentant d'autres types de réponses ont des courbes d'accord plus complexes avec une zone d'activation entourée par une zone d'inhibition.

Synchronisation. La propriété de synchronisation des décharges avec la phase de stimulus pour des sons purs de basse fréquence (*phase-locking*) est préservée pour des fréquences inférieures à 3-4 kHz (Lavine, 1971; Britt, 1976), exclusivement pour des réponses de type primaire, primaire échançrée et transitoire soutenu. En revanche, la propriété de synchronisation des décharges pour les autres types de réponse est limitée à des fréquences plus basses (environ 1 kHz pour les réponses en dents de scie et transitoire pure; Bourk, 1976; Rhode et Smith, 1986a), alors que la synchronisation est très nettement altérée, voire nulle, pour les réponses avec pause et croissante dans le NCD (Lavine, 1971; Gisbergen et coll., 1975b; Goldberg et Brownell, 1973; Rhode et Smith, 1986b).

Fonction d'intensité. En ce qui concerne le taux de décharge en fonction de l'intensité du son pur, la majorité des neurones dans le NC (cellules de types en buisson, octopus et

multipolaire) caractérisés par des réponses primaires, primaires échancrées, transitoires, et en dent de scie, ont des fonctions d'intensité monotoniques avec un domaine dynamique de 30-40 dB (écart en dB entre le seuil et l'intensité de saturation). Pour les fonctions monotoniques, le domaine dynamique est ainsi la partie de la courbe dans laquelle l'intensité est codée de manière non ambiguë par le nombre de potentiels d'action. Cette fonction d'intensité est comparable aux neurones auditifs primaires (domaine dynamique de 30-40 dB). Au contraire, des fonctions d'intensité non-monotoniques ont le plus souvent été observées pour les unités présentant des réponses de type avec pause ou croissante (cellules pyramidales et géantes).

Latences. La latence du premier potentiel d'action (PA) de la réponse et sa variabilité sont caractéristiques des différents type de réponses. L'écart entre la latence la plus courte du NC et celle du nerf auditif correspond assez bien à un délai synaptique (0.5 à 0.6 ms). Les latences les plus courtes dans le NC sont obtenues, entre autres, pour les réponses primaires et transitoires (Fig. 1.18) (Pfeiffer, 1966a; Gisbergen et coll., 1975a; Rhode et Smith, 1986a; Young et coll., 1988a). Selon Gisbergen et coll. (1975a), la latence du premier PA peut-être utilisée comme un index de la vitesse d'intégration cellulaire, c'est-à-dire qu'elle correspondrait au temps nécessaire à la cellule pour intégrer les activités présynaptiques à un niveau suffisant pour produire un PA. La latence des réponses en dent de scie est assez élevée avec une variabilité faible pour le premier PA (Fig. 1.18). Si la fréquence caractéristique diminue, il y a une augmentation des latences qui reflète le temps de déplacement vers l'apex de la déformation maximale de la membrane basilaire.

Figure 1.18 →

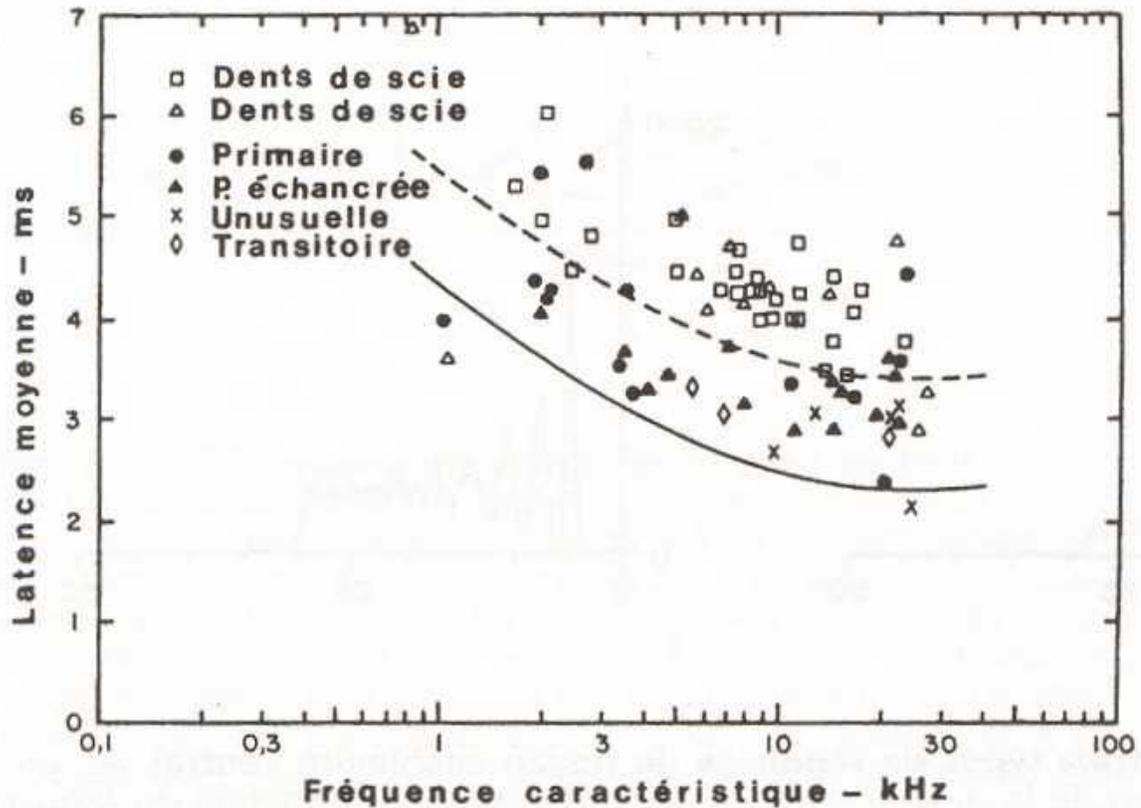


Figure 1.18 : Latences moyennes en fonction de la fréquence caractéristique pour différentes réponses du noyau cochléaire ventral. Les réponses de type primaire, primaire avec échancre et transitoire soutenue ont, dans l'ensemble, des latences plus courtes que les réponses en dents de scie. La courbe en trait plein correspond aux latences maximales des fibres du nerf auditif, la ligne en pointillé est la translation de la précédente en ajoutant 1 ms. Les stimuli sont des bouffées tonales de 25 ms de durée avec 1.6 ms de temps de montée et de descente et 25-35 dB de niveau sonore au-dessus du seuil. Les valeurs indiquées comprennent le délai acoustique de 0.5 ms (D'après Young et coll., 1988).

1.2.1.7 Les principaux neurotransmetteurs dans le noyau cochléaire

L'acétylcholine a été une des premières substances identifiées comme neurotransmetteur dans le NC. Quelques observations histochimiques ont montré que des fibres cholinergiques du complexe olivaire supérieur projettent vers le NC (Schuknecht et coll., 1959; Rasmussen, 1960, 1964; Osen et Roth, 1969; Brown et Howlett, 1972; Martin, 1981; Osen et coll., 1984; Godfrey et coll., 1985; Godfrey, 1993).

Quelques résultats antérieurs ont montré que des neurotransmetteurs inhibiteurs sont impliqués dans des transmissions synaptiques dans le NC, en particulier la glycine et le GABA. La glycine est rencontrée en quantité importante dans le NCD et spécialement dans les couches pyramidales (Godfrey et coll., 1977b, 1978; Wenthold et coll., 1987; Osen et coll., 1990). Une application iontophorétique de glycine inhibe immédiatement l'activité neuronale dans le NCV et le NCD, et la présence d'un antagoniste réduit ces effets inhibiteurs (Caspary et coll., 1979; Martin et coll., 1982; Evans et Zhao, 1993).

On trouve dans le NC d'autres neurotransmetteurs, tels que la noradrénaline. Le lieu principal d'origine des fibres noradrénergiques semble être le locus coeruleus (Levitt et Moore, 1979, Thompson, 2003). La stimulation électrique de ce noyau du tronc cérébral induit une inhibition de l'activité des cellules du NC (Chikamori et coll., 1980). De plus,

l'ablation bilatérale du locus coeruleus ne permet plus de détecter du point de vue biochimique la présence de noradrénaline dans le NC.

On dispose de moins de données concernant les acides aminés excitateurs, qui semblent propres à certains neurones du NC. Il a cependant été postulé que des neurones du domaine granulaire utilisent le glutamate ou l'aspartate comme neurotransmetteur (Oliver et coll., 1983)

On peut signaler aussi le rôle joué par d'autres molécules que les neurotransmetteurs, par exemple les facteurs trophiques. D'après une étude récente (Burette et Romand, 1998), la neurotrophine (NT3) est aussi observée dans certaines cellules du NC, telles que les cellules globulaires et sphériques. Il est possible que la NT3 soit responsable de la survie de ces cellules et stabilise l'homéostasie neurale en régulant la concentration de calcium. Cette neurotrophine pourrait être impliquée dans la plasticité synaptique.

1.2.2 Le complexe de l'olive supérieure

Il s'agit d'un ensemble de noyaux situé dans la partie ventrale du pont. Il comporte trois noyaux principaux: le noyau olivaire supérieur latéral (OSL); le noyau olivaire supérieur médian (OSM) et le noyau médian du corps trapézoïde (NMCT). D'autres noyaux périolivaires (NPO) entourent ces noyaux principaux (Fig. 1.19).

Le COS est le premier relais auditif qui reçoit massivement des afférences en provenance des deux oreilles, via les NC. Le COS est donc le premier relais auditif sur lequel converge une information binaurale massive.

Figure 1.19 →

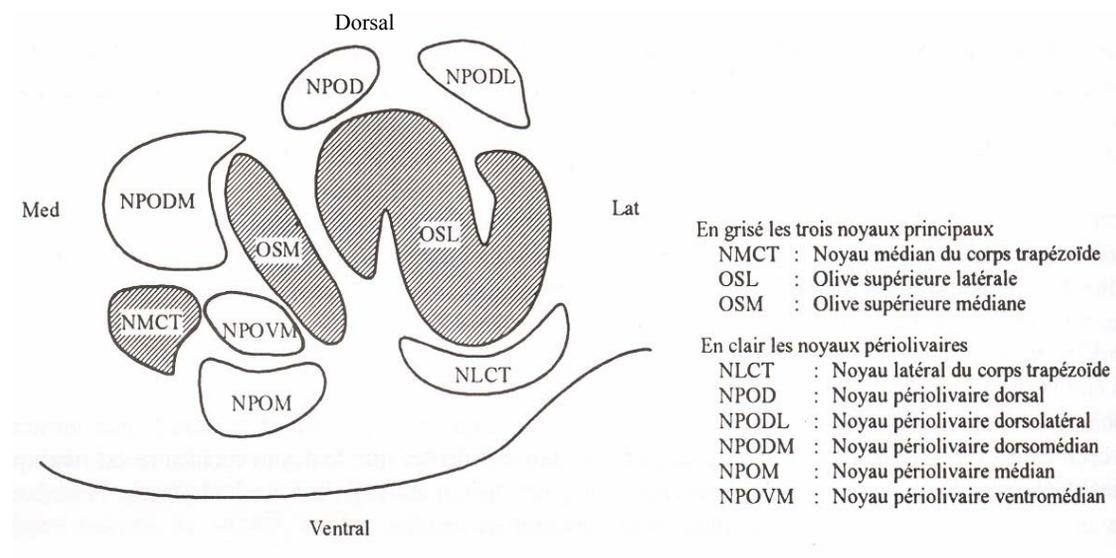


Figure 1.19 : Les noyaux du complexe olivaire supérieur sur une coupe transverse du tronc cérébral, chez le rat.

Le NMCT reçoit la majorité de ses afférences des cellules globulaires de la partie caudale du NCAV contralatéral. Plus précisément, ces cellules globulaires se projettent sur le soma des neurones principaux du NMCT (Warr, 1972; Jean-Baptiste et Morest, 1975). Leurs axones envoient en outre des collatérales au noyau périolivaire dorsomédian (NPODM). Les

dendrites des neurones principaux du NMCT sont également contactées par des collatérales des axones des cellules sphériques qui se dirigent vers l'OSM.

Les axones des neurones principaux du NMCT se terminent de façon tonotopiquement organisée dans l'OSL ainsi que dans les noyaux du latéral lemniscus (LL). Ils envoient des collatérales au noyau périolivaire dorsomédian (NPODM), à l'OSM ainsi qu'une projection locale dans le NMCT. Le NMCT reçoit des projections descendantes du CI.

Les neurones du NMCT ont des propriétés fonctionnelles comparables à celles des fibres du nerf auditif et du NCAV. La plupart des cellules du NMCT sont de type à excitation contralatérale. Le NMCT est organisé tonotopiquement, les FC élevées sont situées dans les régions ventro-médianes tandis que les FC basses sont en position dorso-latérale (Spangler et coll., 1985). Une fonction importante que l'on peut attribuer au NMCT est la distribution d'inhibition glycinergique à divers noyaux du COS (surtout l'OSL).

Les neurones principaux de l'OSL reçoivent des afférences depuis le NMCT ipsilatéral, le NCAV et les interneurons de l'OSL. Les projections du NCAV ipsilatéral concernent toute l'OSL et sont tonotopiquement organisées; les projections du NCAV contralatéral, beaucoup moins nombreuses, ne concernent que l'OSL médiane. Les neurones principaux de l'OSL se projettent bilatéralement sur les noyaux du LL, sur le CI (Oliver et Morest, 1984), et sur d'autres noyaux du COS (Adams, 1979). L'OSL ne se projette pas sur le COS contralatéral mais sur le NMCT ipsilatéral.

La cartographie des FC dans l'OSL du chat a montré une représentation tonotopique stricte. Les basses fréquences sont représentées latéralement et les hautes fréquences sont dans la région médiane (Galambos et coll., 1959; Caird et Klinke, 1983; Tsuchitani et Boudreau, 1966; Guinan et coll., 1972b; Brownell et coll., 1979).

L'OSL est sans doute impliquée préférentiellement dans la localisation des sons ayant un spectre incluant les hautes fréquences. Pour la plupart des mammifères, l'utilisation de l'indice de différence d'intensité interaurale pour la localisation du son est très développée dans l'OSL.

Les neurones principaux de l'OSM sont principalement afférentés par les cellules sphériques de la partie antérieure des deux NCAV. Ils reçoivent également des collatérales des neurones du NMCT qui se projettent sur l'OSL ainsi que des projections du CI. Les neurones principaux de l'OSM se projettent bilatéralement de façon tonotopique sur le colliculus inférieur et les noyaux dorsal et ventral du LL. De nombreuses cellules de l'OSM sont des neurones binauraux. Une fonction clairement établie de l'OSM est celle liée à la localisation du son dans l'espace, en utilisant l'indice de différence de temps entre les deux oreilles, ou pour les stimuli périodiques le déphasage entre les deux oreilles. Cela implique que l'OSM est en partie spécialisée pour les sons de basse fréquence.

Les noyaux périolivaires constituent la source du faisceau olivo-cochléaire. Le nombre total de neurones olivocochléaires est estimé à environ 1500 chez le chat, et à 1200 chez le cobaye. Ils possèdent une grande sélectivité tonale et ils respectent une organisation tonotopique, plus particulièrement en ce qui concerne la zone de la cochlée sur laquelle ils se projettent (Guinan et coll., 1983).

1.2.3 Les noyaux du lemnisque latéral

Ils sont situés entre le COS et le CI. Les noyaux du LL sont innervés par le COS et le NC et projettent principalement vers le CI. Les différents noyaux du lemnisque latéral sont identifiés par leur position anatomique (noyau ventral du latéral lemniscus, NVLL;

intermédiaire, NILL et dorsal, NDLL). Le NDLL reçoit des fibres du COS et du NDLL contralatéral et des fibres du NC. Cette structure est binaurale puisque le COS lui-même reçoit des afférences en provenance des deux cochlées. Le NVLL reçoit des afférences du NC contralatéral, très peu du COS. Cette formation serait donc essentiellement monaurale. Quant au NILL, sa source principale d'afférences est le noyau médian du corps trapézoïde. Les fibres descendantes provenant du LL projettent vers le COS et le NC (Huffman et Henson, 1990).

1.2.4 Le colliculus inférieur

Le CI occupe une position centrale dans les voies auditives. Il reçoit les informations des noyaux situés plus bas et projette dans le corps genouillé médian. Il est aussi un important constituant des voies descendantes, étant une cible des projections du cortex auditif et du thalamus, aussi bien qu'une source de projections dirigées plus bas vers le complexe olivaire supérieur et le noyau cochléaire (Huffman et Henson, 1990; Spangler et Warr, 1991; Rouiller, 1997). Les projections colliculaires vers le NC sont originaires de cellules situées dans plusieurs subdivisions du CI (Van Noort, 1969; Carey et Webster, 1971; Adams et Warr, 1976; Andersen et coll., 1980; Conlee et Kane, 1981; Hashikawa, 1983; Hashikawa et Kawamura, 1983; Faye-lund, 1986, 1988; Ostapoff et coll., 1990; Shore et coll., 1991; Caicedo et Herbert, 1993; Malmierca et coll., 1996; Shore et Moore, 1998; Saldaña, pour revue 1993).

Le CI est généralement divisé en noyaux central, dorsal et externe (CIC, CID, CIE respectivement). Chaque noyau a des connections afférentes et efférentes propres. Le CIC reçoit des projections ascendantes du NC ventral et dorsal, du COS et des noyaux du LL alors que les projections descendantes venant du CIC vont vers le COS et le NC. Le CIC se projette principalement sur la division ventrale du corps genouillé médian (CGM). Le CID reçoit des projections descendantes du cortex auditif et projette vers la division dorsale du CGM, tandis que les entrées ascendantes proviennent des noyaux du LL. Le CIE reçoit des informations descendantes du cortex auditif et somatosensoriel et il projette vers la division médiane du CGM. Le CI est un relais obligatoire pour les voies auditives ascendantes et descendantes (Aitkin et Philipps, 1984), à l'exception des projections ascendantes du NC sur le thalamus auditif (Malmierca et coll., 2002) et des projections corticales directes vers le NC et le COS (Feliciano et coll., 1995; Weedman et Ryugo, 1996b; Budinger et coll., 2000; Coomes et coll., 2001; Doucet et coll., 2002).

1.2.5 le thalamus

Le CGM constitue le relais thalamique obligatoire entre le colliculus inférieur et le cortex auditif. Le CGM comprend plusieurs sous-noyaux qui se distinguent par leur densité et leur morphologie neuronale, ainsi que par leurs afférences et leurs efférences dirigées vers le cortex cérébral (De Ribaupierre, 1997). Le CGM comprend trois divisions principales : ventrale, dorsale et médiane. La division ventrale représente le relais principal du noyau central du CI vers le cortex auditif primaire. Il possède une organisation laminaire en couches concentriques, parallèles à la surface, qui est le support anatomique de la cochléotopie. Les couches superficielles correspondent aux basses fréquences, et les couches profondes aux fréquences élevées. Le thalamus auditif, en plus du CGM, comprend encore le noyau postérieur (en partie) et le secteur auditif du noyau réticulé du thalamus.

Comme pour tous les relais thalamiques, les projections corticales descendantes (corticothalamiques) sont très denses et réalisent une boucle de contrôle en retour très précise qui fait que le thalamus et le cortex auditif sont étroitement associés dans le traitement de

l'information acoustique. Si l'on considère le CI, le CGM et le cortex auditif avec leurs subdivisions respectives caractérisées par des propriétés connexionnelles et fonctionnelles généralement différenciées, on peut proposer un concept de traitement parallèle de l'information auditive ascendante en trois canaux distincts (Rouiller, 1997).

1.2.6 Le cortex auditif

La voie thalamo-corticale aboutit principalement à l'aire auditive primaire, bien que parallèlement des projections thalamo-corticales ont pour cibles des aires auditives corticales non primaires. Le cortex auditif peut être défini comme la partie du néocortex impliquée dans l'audition. Chez le chat, plusieurs études fonctionnelles ont permis de montrer que le cortex auditif occupe une surface importante et présente plusieurs zones distinctes : le cortex auditif primaire (AI), les aires auditives antérieure (AAF), postérieure (PAF) et ventro-postérieure (VPAF), toutes organisées tonotopiquement, auxquelles il faut ajouter les aires secondaire et temporale.

Le cortex auditif est divisé classiquement en six couches distinctes en fonction de la morphologie et de la densité de ses neurones, ainsi que de l'importance et de l'orientation de ses fibres nerveuses. A l'intérieur de cette organisation en six couches parallèles à la surface, une aire donnée peut-être considérée comme formée d'une série de modules fonctionnels unitaires juxtaposés. Ces modules, ou colonnes corticales, sont constitués par l'ensemble des neurones compris dans un cylindre de 200 à 300 μm de diamètre, perpendiculaires à la surface et traversant le cortex dans toute son épaisseur. Tous les neurones d'un module partagent des propriétés fonctionnelles identiques (FC et types d'interactions binaurales) qui sont redistribués à l'intérieur du module par l'intermédiaire de ses connexions intrinsèques (De Ribaupierre, 1997).

Des études récentes (Redies et coll., 1988,1989; Wallace et coll., 2000), ont permis d'établir les aires auditives chez le cochon d'Inde. Quatre aires tonotopiquement organisées ont été définies : (1) AI partageant une bande de hautes fréquences avec l'aire dorsocaudale (DC) et une bande de basse fréquence avec le champ S; (2) l'aire DC a une représentation des fréquences partiellement discontinue; (3) le champ S est très petit et par conséquent le gradient de fréquence également; (4) le champ ventro-rostral (VRB, *ventrorostral belt*) est localisé ventrolatéralement à AI et son gradient de fréquence est approximativement parallèle à celui de AI. Trois aires additionnelles ont été décrites: le champ dorsorostral (DRB, *dorsorostral belt*), le champ dorsocaudal (DCB, *dorsocaudal belt*) et le champ ventrocaudal (VCB, *ventrocaudal belt*) qui entoure le DC, S et une partie de AI.

AI et DC reçoivent des projections provenant du noyau ventral du CGM. Les afférences vers le petit champ S proviennent principalement du noyau rostromédial du CGM, un noyau situé médialement au noyau ventral du CGM dans la moitié rostrale du CGM. Le VRB reçoit des afférences des aires situées dorsomédialement dans le pôle rostral du CGM.

A part les nombreuses projections centrifuges vers le CGM et le CI, le cortex auditif donne aussi naissance à des projections descendantes vers le NC (Feliciano et coll., 1995; Weedman et Ryugo, 1996a, b), ainsi que chez le cochon d'Inde (Schofield et coll., 2001).

1.3. Notre étude

Le but principal de cette recherche est de décrire l'intégration fonctionnelle dans le système auditif au niveau du noyau cochléaire, c'est-à-dire de comprendre comment les circuits neuronaux du NC traitent les signaux provenant de différentes sources auditives et non-auditives. Le NC reçoit des informations acoustiques entrantes provenant du nerf auditif,

encode les différents aspects des stimuli auditifs sous forme de potentiels d'action, puis envoie ces messages transformés vers des relais auditifs plus centraux via les voies auditives ascendantes (Osen, 1969; Brawer et coll., 1974; Cant et Morest, 1979; Tolbert et Morest, 1982a,b; Tolbert et coll., 1982; Hackney et coll., 1990). Durant les vingt dernières années, plusieurs études ont été conduites afin de corrélérer de manière directe les différents types anatomiques de cellules dans le NC avec les réponses physiologiques stéréotypées. Pour ce faire, des chercheurs ont couplé enregistrements et marquages intracellulaires pour définir les relations structure-fonction dans le NC (Rhode et coll., 1983a,b; Rouiller et Ryugo, 1984; Smith et Rhode, 1985, 1987, 1989; Friauf et Ostwald, 1988; Smith et coll., 1991, 1993; Ostapoff et coll., 1994). Toutefois, le nombre de cas observés est limité, du aux difficultés de cette technique *in vivo*. Plusieurs études ont démontré que le NC ne reçoit pas exclusivement des entrées venant du nerf cochléaire ipsilatéral mais aussi d'autres structures qui modulent l'activité du NC. Ces projections sont originaires du NC contralatéral (Cant et Gaston, 1982), du colliculus inférieur (Malmierca et coll., 1996) et du cortex auditif (Feliciano et coll., 1995; Weedman et Ryugo, 1996a,b), mais aussi de régions non auditives provenant du nerf trijumeau, des noyaux de la colonne dorsale (Itoh et coll., 1987; Weinberg et Rustioni, 1987; Saadé et coll., 1989; Young et coll., 1995), du nerf et des noyaux vestibulaires (Burian et Goestner, 1988; Kevetter et Perchio, 1989). Toutefois, le rôle fonctionnel de ces voies et leurs cibles spécifiques dans le NC restent largement méconnus. L'analyse de ces projections vers le NC et de leurs propriétés fonctionnelles est très difficile, voir impossible avec une technique utilisant des méthodes *in vivo*. C'est pourquoi nous proposons ici une méthode *in vitro*, basée sur une préparation de cerveau entier isolé (Isolated Whole Brain, IWB) pour répondre à cette question. Cette préparation combine les avantages des méthodes *in vitro* telle que la tranche de cerveau (stabilité des enregistrements, contrôle du milieu extracellulaire...) avec la préservation des connexions intactes du cerveau. Avec la préparation de cerveau entier *in vitro*, nous pouvons réaliser des enregistrements intracellulaires de neurones dans le NC dans le but de tester les propriétés physiologiques des entrées synaptiques provenant de différentes sources. Les structures activées sont le nerf auditif ipsilatéral et contralatéral, le nerf trijumeau, les noyaux de la colonne dorsale, le colliculus inférieur ipsilatéral et contralatéral, et enfin le cortex auditif. Nous voulons accumuler un nombre important d'identifications morphologiques de neurones avec leurs propriétés physiologiques données par les réponses induites par stimulation électrique de ces diverses sources d'entrées au NC. Ceci permettra d'étendre les critères de classification neuronale dans le NC, de décrire la circuiterie locale dans le NC, et d'obtenir une meilleure compréhension des contributions relatives des différents types de cellules dans le traitement de l'information auditive dans le NC. Enfin, cette approche permet de considérer le rôle des voies descendantes auditives et non auditives dans la modulation de l'activité dans le NC. En intégrant les caractéristiques anatomiques et physiologiques du NC, nous espérons avoir une meilleure compréhension des mécanismes de traitement de l'information invoqués dans l'audition.

Plus spécifiquement, la présente thèse a pour but de traiter trois questions précises qui correspondent à autant de chapitres expérimentaux dans la partie résultats :

- 1) Quels sont les effets d'une activation des projections originaires du NC contralatéral sur les neurones du NC ? Entre autres, comment les neurones du NC sont-ils influencés par le NC opposé ?
- 2) Quels sont les effets d'une activation de sources non auditives telles que les noyaux de la colonne dorsale et du nerf trijumeau sur les neurones du NC ?

3) Quels sont l'organisation et les effets d'activation des projections descendantes originaires du cortex auditif sur les neurones du NC ?

2. MATERIELS ET METHODES

2.1 Préparation du cerveau.

2.1.1 Animaux.

Les expériences ont été réalisées sur des cerveaux de jeunes cochons d'Inde des deux sexes (*Cavia porcellus*) de 150-400g (Equatoria, commerce et élevage d'animaux, Fribourg).

2.1.2 Dissection.

La méthode utilisée pour isoler le cerveau est une technique originalement décrite par Mühlethaler et al. (1993), quelques modifications ayant été introduites dans notre laboratoire (Babalian et al., 1997, 1999). Après une anesthésie générale avec un barbiturique (Pentobarbital, 150-300mg/kg, i.p.), une rapide thoracotomie est entreprise, suivie par une perfusion cardiaque de solution de Ringer à travers l'aorte ascendante pendant une minute à température ambiante. A ce moment, l'oreillette droite est incisée pour permettre l'évacuation de la solution. Pendant les 5 minutes suivantes, la perfusion est poursuivie avec la solution de Ringer refroidie à 9-13°C. La tête de l'animal est mise dans l'eau froide (5-10°C) durant toute la perfusion. A la fin de la perfusion, la température du cerveau est de 10°C environ.

Après la perfusion, l'animal est décapité, la peau du crâne est détachée de ce dernier. Utilisant une petite pince, les os frontaux et nasaux sont enlevés exposant ainsi les bulbes olfactifs et les lobes frontaux. Puis les os pariétaux et occipitaux sont retirés faisant apparaître le reste du cortex cérébral (fig. 2.1A). A ce stade, les os sous le cervelet sont délicatement désarticulés. Le cerveau doit apparaître blanc, signe d'une perfusion exécutée de manière correcte. Ensuite, on libère l'accès à la moelle épinière (fig. 2.1B), cette dernière étant sectionnée au niveau de C2-C3 en utilisant une lame de rasoir. Pour accéder à la face ventrale du cerveau, la dure-mère est enlevée (Fig. 2.1C). Le cerveau est ensuite progressivement dégagé en poussant délicatement sur la surface ventrale des bulbes olfactifs en utilisant une spatule (Fig. 2.1D). Lors de la séparation du cerveau de la boîte crânienne, on sectionne les carotides, les nerfs optiques, les nerfs crâniens et les artères vertébrales (Fig. 2.1E). Tout au long de la dissection,

le cerveau est humidifié par la solution de Ringer refroidie (7-13°C), ce qui maintient le cerveau froid et humide.

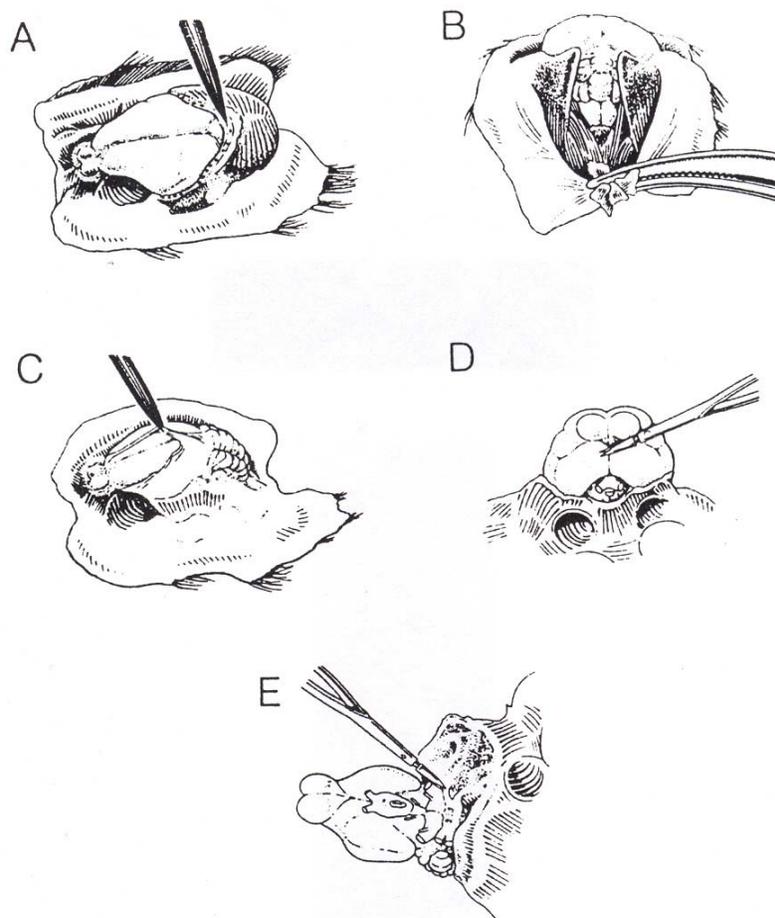


Figure 2.1: Etapes d'isolation du cerveau. (A) Vue dorsale du cerveau après ablation des os frontaux et pariétaux. (B) Vue postérieure du cerveau après ablation des os occipitaux et section de la moelle épinière. (C) Ecartement de la dure-mère à la surface du cerveau. (D) Soulèvement du cerveau afin d'exposer les nerfs optiques et les carotides. (E) Section des nerfs crâniens.

Dès le moment où le cerveau est totalement isolé, il est transféré dans une solution de Ringer dans la chambre d'incubation/enregistrement où la température est maintenue à 13°C dans un premier temps. L'isolation du cerveau prend entre 10-15 minutes. Bien que l'isolation du cerveau doive être effectuée rapidement, le temps court de cette opération n'est pas le seul garant d'une bonne préparation. En effet, le soin et la délicatesse des opérations sont aussi importants que la vitesse d'exécution.

2.1.3 Perfusion du cerveau.

Le cerveau est placé sur sa face dorsale et stabilisé par 2 élastiques fixés sur le bord de la chambre. Une fois que le cerveau est mécaniquement stable, une des artères vertébrales est séparée de la dure-mère, et est canulée à l'aide d'un tube métallique (diamètre externe 0.4 mm), connecté au système de perfusion. La canule est fixée à l'artère par 2 nœuds. Lorsque la canule est dans l'artère vertébrale, le flux de perfusion est établi à 1.5-2 ml/min. L'artère vertébrale contralatérale est ensuite ligaturée.

La prochaine étape est de fermer les 2 carotides, qui sont la source majeure de fuite de perfusât du système vasculaire du cerveau. Ensuite, les artères hypophysaires, les artères labyrinthiques et les autres petites artères qui seraient susceptibles de provoquer des fuites de perfusât sont à leur tour ligaturées. Le temps de la procédure, de la mise en place du cerveau dans la chambre à la fermeture complète des artères prend entre 15 à 30 minutes.

Après 30-60 minutes (incluant la canulation et la fermeture des vaisseaux) à 13°C, le cerveau est progressivement réchauffé jusqu'à 29°C durant 90 minutes. La température est ensuite maintenue à 29°C jusqu'à la fin de l'expérience. La vitesse de la perfusion est augmentée graduellement et en parallèle avec la température jusqu'à une vitesse finale de 4.5-5 ml/min.

Suivant le temps de préparation, l'expérience proprement dite débute 2 à 3 heures après le début de la procédure d'isolation. La moyenne du temps de survie du cerveau en bon état physiologique est de 5-6h après le réchauffement à 29°C.

2.1.4 Solutions.

La solution physiologique de Ringer est utilisée pour la perfusion transcardiaque de l'animal, pour maintenir le cerveau humide lors de la dissection, et pour le remplissage initial de la chambre d'incubation/enregistrement. Elle a la composition suivante (mM): NaCl 130, NaHCO₃ 20, MgSO₄ 1.3, KH₂PO₄ 1.2, KCl 5, CaCl₂ 2.4, glucose 10.

La solution utilisée pour la perfusion du cerveau dans la chambre est légèrement différente, et comprend (mM): NaCl 126, NaHCO₃ 26, MgSO₄ 1.3, KH₂PO₄ 1.2, KCl 3, CaCl₂ 2.4, glucose 15. La solution inclut 1.5-3.0% de dextrans (MW 70.000, MacrodexTM, B. Braun Medical AG, Suisse), qui a pour but d'augmenter la pression oncotique du perfusât (Llinás et Mühlethaler, 1988). Le perfusât est oxygéné tout au long de l'expérience avec un mélange 95% O₂ et 5% CO₂.

Pour les études pharmacologiques des neurotransmetteurs dans le noyau cochléaire de la strychnine, (un antagoniste des récepteurs glycinergiques), et de la bicuculline, (un antagoniste des récepteurs GABA) ont été ajoutées à la solution de perfusion aux concentration souhaitées.

2.1.5 Quelques remarques.

Animaux. Le poids optimal pour les animaux se situe entre 150-250g. Les préparations obtenues à partir de petits animaux (<150g) sont rendues plus difficiles dû à la petitesse des vaisseaux et à la fragilité des tissus et des os. En contraste, avec des animaux plus âgés (>250g), la dissection s'avère plus difficile à cause de la dureté des os et des sutures crânielles.

2.2 Setup de perfusion

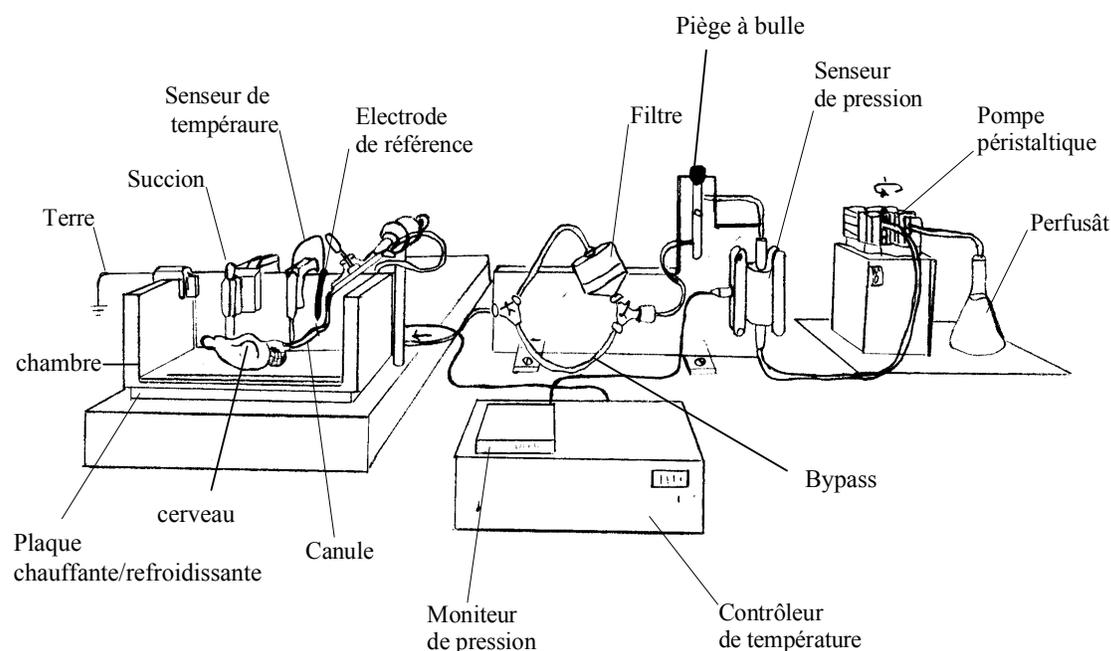
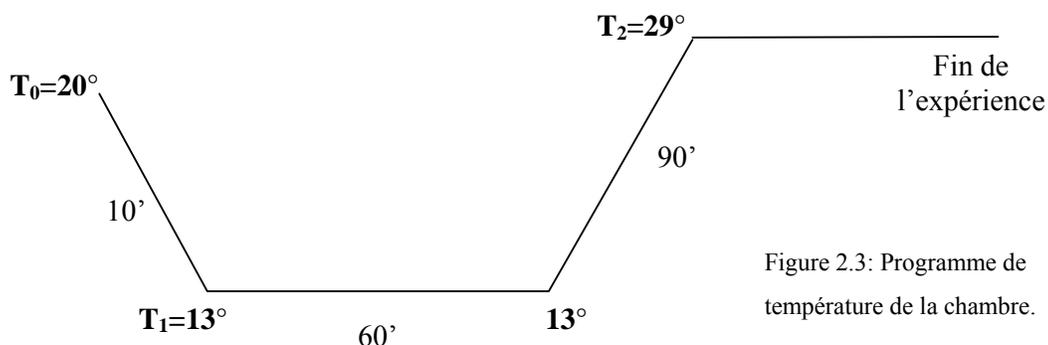


Figure 2.2: Chambre d'incubation/enregistrement et système de perfusion

Le premier appareil du circuit de perfusion est une pompe péristaltique (Gilson) qui permet de propulser le perfusât dans le système, à une vitesse contrôlable. Tous les éléments du circuit sont connectés par des tuyaux en polyéthylène. La solution va en premier lieu passer au

niveau du capteur de pression (Honeywell) connecté au moniteur de pression (Druck), pour surveiller au cours de l'expérience la pression exercée dans le circuit. Le perfusât traverse le piège à bulle, ensuite un filtre (Millipore, 0.22 μm de diamètre des pores) et après avoir décrit quelques boucles sur la plaque chauffante/refroidissante (voir ci-dessous) arrive au niveau de la canule insérée dans l'artère vertébrale. L'augmentation progressive de la pression dans le circuit au cours de l'expérience indique que le filtre est encrassé ce qui nécessite son changement. Pour effectuer cette intervention, le système de perfusion est équipé d'un système de "bypass" qui permet de changer le filtre sans interruption de la perfusion du cerveau. La solution circule dans le cerveau isolé placé dans la chambre d'incubation (Fig. 2.2). Le niveau de solution de la chambre est réglé par un tube métallique évacuant le fluide par succion.

Dans la chambre, le cerveau est immergé dans une solution de Ringer. La présence d'un capteur de température dans cette chambre permet de mesurer la température du milieu dans lequel baigne le cerveau. Le capteur de température est connecté à un contrôleur programmable de température qui régule la température dans la chambre au moyen d'une plaque chauffante/refroidissante attachée au fond de la chambre. La chambre avec cette plaque repose sur un circuit d'eau mis en route au début de l'expérience. Ce circuit est nécessaire pour évacuer l'excès de chaleur produit pendant l'activation de la plaque chauffante/refroidissante. Nous avons établi le programme de température suivant pour le cours de l'expérience. La température est maintenue à 20° (T_0) durant la préparation de la chambre pour l'expérience. Le programme de température est mis en route au commencement de la préparation du cerveau. Lors de l'extraction du cerveau de la boîte crânienne, la température de la chambre est descendu à 13° (T_1). Cette température est maintenue durant 60 min, le temps suffisant pour extraire le cerveau, le mettre en place dans la chambre et fermer les vaisseaux coupés lors de la dissection. La température est ensuite montée à 29° (T_2) pour la suite de l'expérience. Cette augmentation se fait graduellement en 90 min (Fig. 2.3).



Enfin, dans la chambre, se trouve une électrode de référence nécessaire pour les enregistrements électrophysiologiques.

La chambre est constituée d'une boîte en aluminium ouverte sur le dessus. La face frontale est en partie constituée d'une plaque de plexiglas par laquelle il est possible d'observer le cerveau (fig. 2.4). Le fond de la chambre est couvert d'une couche de silicone. A la fin de chaque expérience, le circuit est rincé avec 3% H₂O₂.

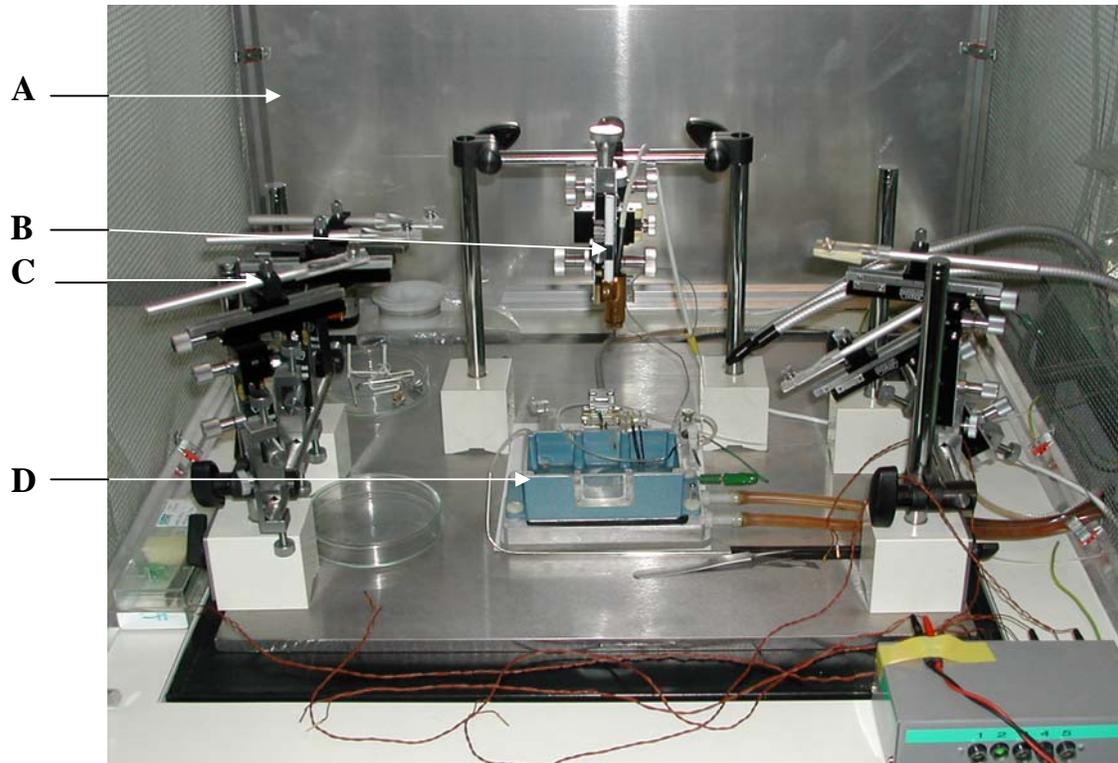


Figure 2.4: Photographie du setup. (A) cage de Faraday; (B) micromanipulateur pour la micropipette en verre (microélectrode); (C) manipulateurs pour les électrodes de stimulation; (D) chambre d'incubation/enregistrement.

Les appareils électriques (lampe, pompe, oscilloscope, ordinateur, etc...) sont la source d'interférences électriques. Ce bruit est éliminé en plaçant la chambre d'enregistrement dans une cage de Faraday (Fig. 2.4), une boîte en tôle et/ou grillage métallique au sein de laquelle le champ électrique ne peut interférer.

2.3 Expérience électrophysiologique

2.3.1 Setup électrophysiologique

L'équipement électrophysiologique conventionnel, illustré dans la figure 2.5, est utilisé pour les enregistrements, stimulations et stockage des données. Différentes parties du cerveau sont stimulées par des électrodes de stimulation reliées à des isolateurs de stimuli qui permettent de moduler les paramètres des stimuli électriques. L'enregistrement intracellulaire d'activité neuronale dans le NC est effectué avec une micropipette en verre connectée à un amplificateur pour étude intracellulaire (WPI). Le signal amplifié est visualisé en direct sur un oscilloscope ainsi que sur l'écran d'ordinateur (PC) et enregistré simultanément sur une cassette vidéo à l'aide d'un interface adéquat (Neuro Data Instruments) et transcrits sur support informatique. Tous les enregistrements sont sauvegardés sur un PC utilisant un logiciel d'acquisition de données (Powerlab, ADI Instruments) pour une analyse ultérieure. Un stimulateur (WPI) est utilisé pour commander les applications de courant généré par l'amplificateur intracellulaire (pour le passage du courant à travers la microélectrode) et par isolateurs de stimuli (pour la stimulation du cerveau).

Le placement des électrodes de stimulation et la descente de la microélectrode dans le NC sont effectués par des micromanipulateurs (Narishige).

Figure 2.5 

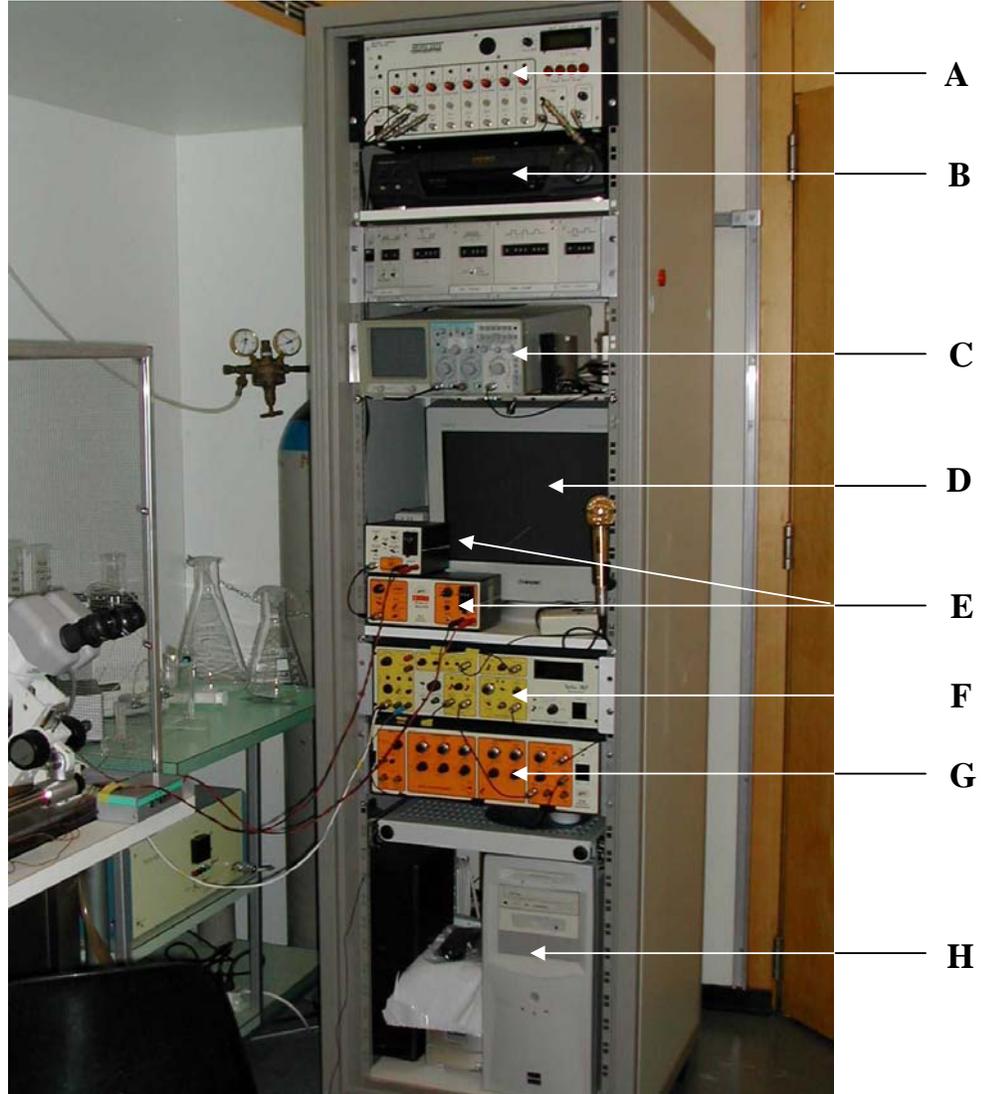


Figure 2.5 : Setup electrophysiologique : (A) interface qui permet l'enregistrement des signaux sur le magnétoscope (B); (C) oscilloscope; (D) écran de l'ordinateur; (E) isolateurs de stimulation (F) amplificateur intracellulaire; (G) stimulateur; (H) ordinateur.

2.3.2 Electrodes de stimulation

La stimulation des différentes parties du cerveau est effectuée par des électrodes métalliques bipolaires produites par nous mêmes à partir de microélectrodes en acier inoxydable ou tungstène (FHC, Maine, USA).

Les nerfs auditifs (ipsilatéral et contralatéral), le nerf trijumeau et les noyaux de la colonne dorsale (NCoDo) sont stimulés avec des électrodes (distance interpolaire de 0.5-1 à 3-4 mm) insérées dans la racine des nerfs correspondants ou dans la medulla oblongata.

Le cortex auditif est stimulé au moyen d'une électrode avec une distance interpolaire de 2-3 mm placée à la surface du cortex auditif. La position des électrodes est illustrée dans la figure 2.6.

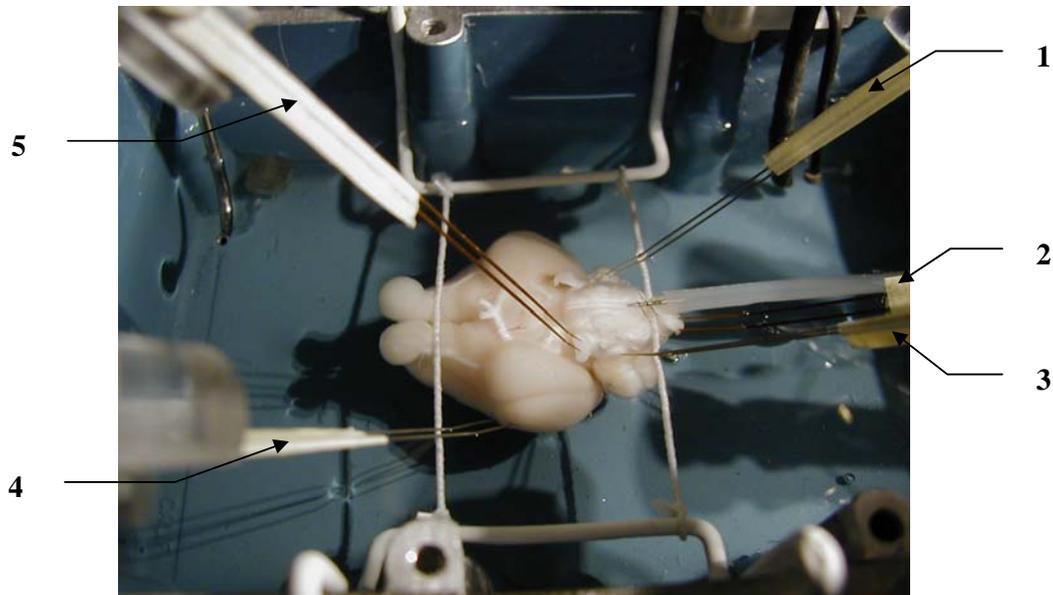


Figure 2.6: Cerveau isolé dans la chambre d'enregistrement avec les électrodes de stimulations insérées dans : (1) le nerf auditif contralatéral; (2) les noyaux de la colonne dorsale; (3) le nerf auditif ipsilatéral; (4) le cortex auditif; (5) le nerf trijumeau.

2.3.3 Enregistrement intracellulaire

Pour l'enregistrement intracellulaire, les micropipettes sont fabriquées à partir de capillaires en verre (diam. ext.: 1.5 mm; diam. int.: 0.86 mm; Harvard Appar.) contenant un microfilament, et étirées par une étireuse horizontale (Sutter Instruments). Les micropipettes sont ensuite remplies avec 1-2 % de neurobiotine dans une solution de CH_3COOK à 2M. La micropipette est fixée à un descendeur manuel. La résistance des micropipettes est de l'ordre de 100-150 M Ω .

2.3.4 Marquage par la neurobiotine.

L'identification morphologique des neurones enregistrés intracellulairement est indispensable pour l'étude des relations structure-fonction dans le système nerveux. Un marqueur approprié doit :

- être facilement éjecté des micropipettes en verre,
- diffuser rapidement dans la cellule,
- être histologiquement stable et fortement visible,
- ne pas altérer la fonction normale de la cellule ou les propriétés d'enregistrement de l'électrode.

La neurobiotine est un neuro-traceur qui satisfait à tous ces critères.

Les neurones sont marqués en passant un courant positif, qui éjecte la neurobiotine de la micropipette par iontophorèse. Pour les injections, des pulses de 0.5-1.5 nA (200 ms à 2 Hz) sont appliqués. Les injections durent jusqu'à 30 minutes par cellule.

Des aspects plus détaillés des méthodes, en particulier anatomiques, relatifs à des phases spécifiques de certaines expériences complémentaires (par exemple injection de traceur antérograde dans le cortex auditif) sont décrits dans les chapitres des résultats concernés.

2.4 Analyse des résultats

2.4.1 Anatomie

2.4.1.1 Histologie : Protocole Biocytine (méthode ABC)

Après chaque expérience, les cerveaux sont perfusés avec du fixateur (solution de paraformaldéhyde 4% dans un tampon phosphate 0.1 M), puis conservés dans cette même solution pendant une nuit. Les cerveaux fixés sont alors immergés dans une solution de sucrose 30%. Quelques jours après, le protocole d'histologie suivant est mis en route (Wan et al., 1992):

Jour 1

Les cerveaux sont congelés et coupés en sections frontales de 100 µm d'épaisseur avec un microtome à congélation à glissières (Model HM 440 E, Microm). Les coupes sont récoltées dans du tampon Phosphate (PBS 0.1 M). Les sections sont lavées (4 x 20 minutes) dans du PBS 0.1 M + 1% Triton X-100 (PBS-T) puis incubées toute la nuit à température ambiante dans le complexe avidine-biotine-peroxydase (1:500; ABC Vectastain, peroxydase standard PK 4000, Vector Laboratories) dans une solution de PBS en présence de Triton pour perméabiliser les membranes.

Jour 2

Les coupes sont ensuite lavées dans du Tris-HCl (0.05 M) (4 x 5 minutes). Le traceur couplé au complexe ABC-peroxydase, est révélé en présence d'eau oxygénée, du chromogène diaminobenzidine tetrahydrochloride (DAB) et de nickel selon la procédure standard (kit DAB; *Vector Laboratories*). Les sections sont rincées 3 fois 5 minutes dans du Tris-HCl (pH 7.6). Les coupes sont montées sur des lames gélatinées, déshydratées puis sont soumises à une légère contre-coloration au violet de crésyl. Finalement, elles sont recouvertes par une fine lamelle.

2.4.1.2 Reconstruction des cellules marquées

Les neurones marqués par la neurobiotine sont observés et photographiés au microscope photonique (Olympus BX40). Ils apparaissent de couleur violet foncé ou noirs (Fig. 2.7).

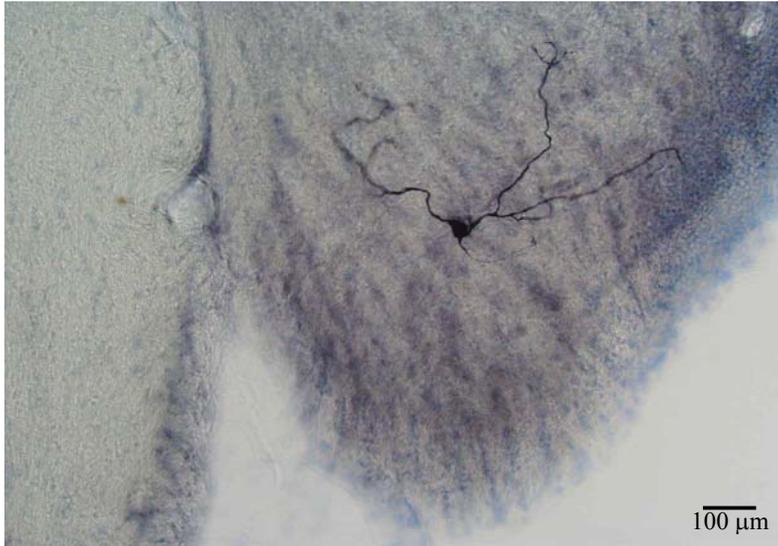


Figure 2.7: Cellule marquée à la neurobiotine dans le PVCN.

Certaines cellules ont été reconstruites à partir des sections sériées avec un objectif x40 (air) et x100 (huile) à l'aide d'un tube à dessin (grossissement final de x400 et de x1000, respectivement). Les reconstructions correspondent à une représentation en 2D de la cellule (Fig. 2.8A). Une reconstruction du noyau cochléaire avec un objectif x4 (air) permet une visualisation des projections axonales (fig. 2.8B) afin de déterminer la voie de sortie du NC utilisée (striée ventrale, intermédiaire ou dorsale).

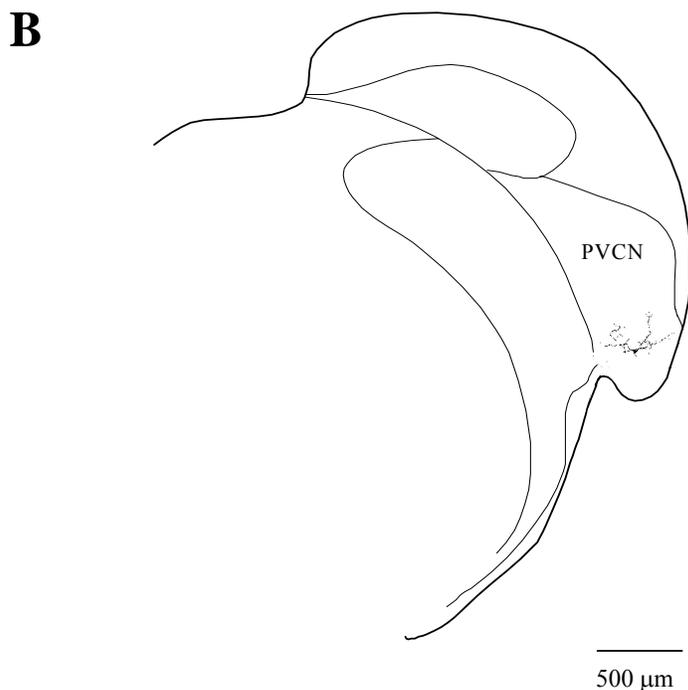
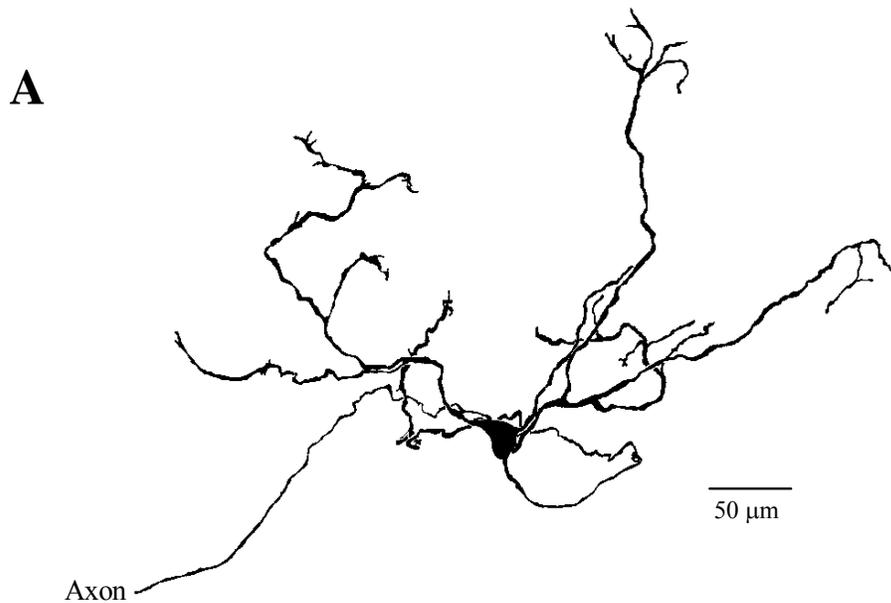


Figure 2.8: Reconstruction d'un neurone à fort grossissement (x1000) (A) et localisation du neurone dans le noyau cochléaire sur une section frontale (B). L'axone ce neurone sort du NC par la strie acoustique ventrale.

2.4.2 Physiologie

Les enregistrements électrophysiologiques sont relus et analysés "off-line" en utilisant le système d'acquisition de données (Powerlab, ADI Instruments). Les latences, les amplitudes et les autres paramètres des réponses sont quantifiés par l'intermédiaire de ce logiciel, qui permet aussi une représentation des traces d'enregistrements individuels ou moyennés.

3. RESULTATS

3.1 Chapitre expérimental I : *Les effets synaptiques dans les neurones du NCAV induits par la stimulation du nerf auditif contralatéral*

Les interactions fonctionnelles entre les noyaux cochléaires pourraient représenter une étape importante dans l'intégration binaurale. Les évidences disponibles pour les interactions commissurales des deux NC manquent, toutefois, des corrélations directes entre les propriétés fonctionnelles des voies impliquées et des cibles de leurs actions dans le NC. Des études physiologiques précédentes, conduites principalement dans le NCD d'animaux intacts, ont démontré que les neurones peuvent être inhibés (Pirsig, et coll., 1968; Klinke, et coll., 1969; Mast, 1970; Young et Brownell, 1976) et/ou excités (Young et Brownell, 1976, Mast, 1973) par des sons appliqués au niveau de l'oreille contralatérale. Toutefois, les limitations de la technique d'enregistrement extracellulaire utilisée dans ces études, n'ont pas permis une détermination précise de la nature et de la structure temporelle des événements synaptiques, ceci combiné avec l'identification des neurones du NC affectés par la stimulation contralatérale. Les démonstrations anatomiques des projections directes provenant d'un NC à l'autre (Adams et Warr, 1976; Cant et Gaston, 1982; Wenthold, 1987; Benson et Potashner, 1990; Saint Marie et coll., 1991; Kolston et coll., 1992; Shore et coll., 1992; Schofield et Cant, 1996) ont fourni des informations limitées concernant le fonctionnement des connexions et des neurones cibles dans le NC. D'ailleurs, les méthodes anatomiques ne permettent pas de démontrer l'existence de voies indirectes, qui pourraient être fonctionnellement plus efficaces que les voies plus directes. Plusieurs des limitations mentionnées peuvent être contournées en utilisant la préparation d'un cerveau entier isolé in vitro. Cette méthode permet l'évaluation directe des propriétés fonctionnelles et pharmacologiques des entrées activées électriquement par enregistrement et marquage intracellulaire des neurones du NC. Utilisant cette approche, une étude récente a démontré les caractéristiques des entrées du NC contralatéral dans les principaux types de cellules pour les subdivisions postero-ventrale et dorsale du NC (Babalian et coll., 1999). Cependant, les propriétés physiologiques des entrées commissurales dans le NCAV ne sont pas connues. Le NCAV contient deux classes neuronales principales, les cellules étoilées et les cellules en buisson (Hackney et coll., 1990), projetant vers les centres auditifs supérieurs. Ces deux types de cellules dans le NCAV, spécialement les cellules en buisson, ont des propriétés

morphologiques, connexionnelles, et physiologiques distinctes des neurones des autres subdivisions du NC (pour revue voir Romand et Avan, 1997; voir aussi Doucet et coll., 1999), suggérant que les neurones du NCAV pourraient avoir une relation spécifique avec le NC contralatéral. Dans la présente étude, nous démontrons l'existence d'entrées commissurales efficaces pour des neurones identifiés du NCAV.

3.1.1 Inhibition glycinergique des cellules en buisson et des cellules étoilées dans le NC antéroventral.

La qualité des enregistrements intracellulaire est certifiée par le niveau (au moins -55 mV) et la stabilité (± 2 mV) du potentiel de membrane (PM), ainsi que par la courte durée des potentiels d'action ne montrant aucun signe de détérioration des cellules durant toute la période d'enregistrement. Nous avons enregistré l'activité de 27 neurones dans le NCAV. Quinze de ces neurones ont été identifiés sur les coupes histologiques et correspondaient à des cellules *en buisson* ($n=7$) ou *étoilée* ($n=8$). Les 12 autres neurones soit n'ont pas été retrouvés, soit marqués partiellement, ou encore n'ont pas pu être maintenus lors du marquage intracellulaire. Ce groupe de neurones, qui a été référencié comme des cellules non identifiées, avait des propriétés physiologiques similaires aux cellules en buisson et étoilées et a été inclus dans les données. La moyenne et l'écart-type du PM de tous les neurones était de -61.1 ± 4.2 mV (de -55 à 73 mV; $n=27$), et il n'y avait pas de différence entre les trois groupes de cellules ($p=0.52$, ANOVA à un facteur).

Les propriétés morphologiques et physiologiques des cellules représentatives des cellules en buisson et étoilées sont illustrées dans la Figure 3.1 et dans la Figure 3.2 respectivement. Les neurones (Fig. 3.1A, Fig. 3.2A) sont localisés rostralement par rapport à l'entrée de la racine du NA dans le NC (Fig. 3.1B et Fig. 3.2B). Les axones des deux cellules quittent le NC par le corps trapézoïde (SAV). L'axone de la cellule en buisson a donné naissance à quelques axones collatéraux dirigés vers les noyaux du complexe olivaire supérieur ipsilatéral (Fig. 3.1B), alors que l'axone de la cellule étoilée n'a pas donné naissance à des branches collatérales (Fig. 3.2B). Tous les neurones, pour lesquels les trajectoires axonales ont été tracées ($n=14$), ont envoyé leurs axones vers le corps trapézoïde (SAV) et aucune branche collatérale récurrente n'a été observée.

La stimulation du nerf auditif (NA) ipsilatéral induit une excitation monosynaptique des cellules en buisson et étoilées, suivie par une inhibition (Fig.3.1C, Fig. 3.2C). Les

propriétés passives de la membrane et les patterns de réponse des cellules en buisson par rapport aux cellules étoilées dans le CNAV des cochons d'Inde sont généralement similaires à ceux des cellules en buisson/type II et des étoilée/type I dans le CNAV de souris (Oertel, 1983; Wu and Oertel, 1984).

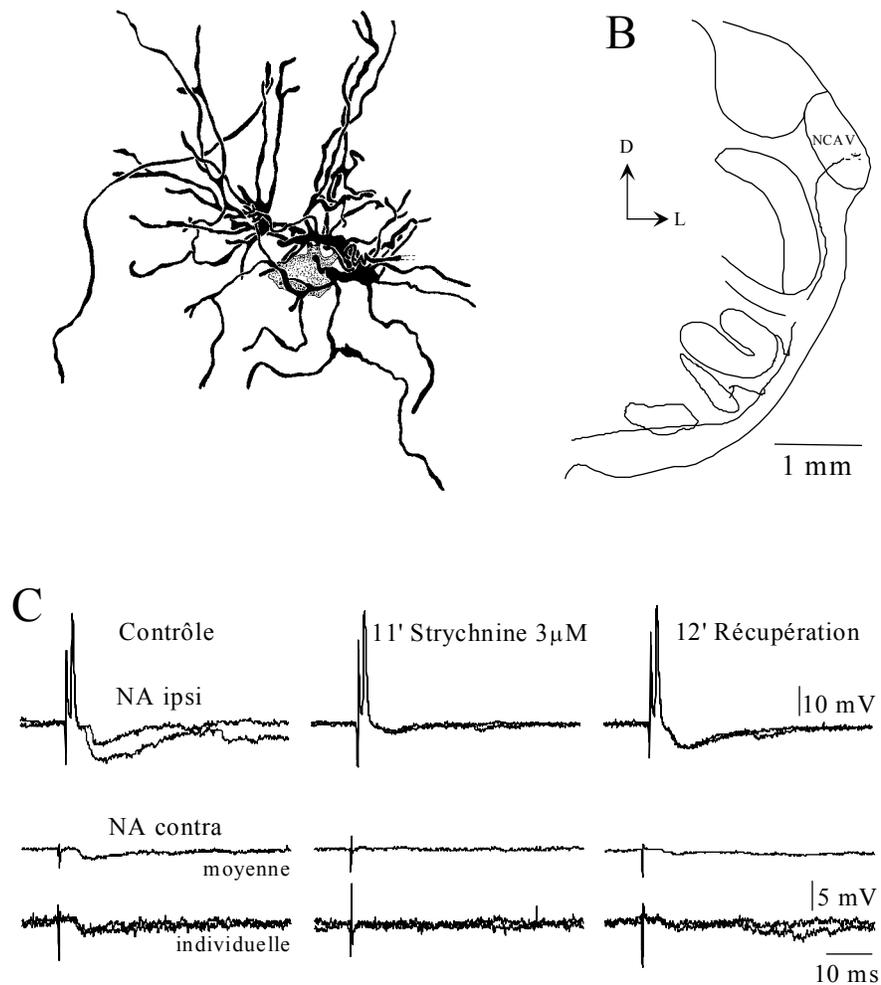


Figure 3.1 : Propriétés anatomiques et physiologiques d'une cellule en buisson dans le noyau cochléaire antéroventral. Reconstruction de la cellule à fort grossissement (A) et sa localisation schématique sur une coupe frontale du cerveau (B). Orientation des flèches : D, dorsal; L, latéral. (C) Enregistrements intracellulaires (avec un potentiel de membrane de -62mV) des réponses induites par la stimulation des nerfs auditifs ipsilatéral (première ligne) et contralatéral (seconde et troisième ligne). La première et la troisième ligne sont des superpositions de réponses individuelles, alors que les traces de la seconde ligne sont la moyenne des enregistrements. La colonne de gauche : réponses avec une solution de perfusion normale; colonne du milieu : modification des réponses après 11 minutes de perfusion du cerveau avec une solution contenant de la strychnine; colonne de droite: récupération partielle des réponses initiales 12 mn après la perfusion avec une solution normale. Sur cette figure et la suivante, noter un blocage par la strychnine des PPSI évoqués par la stimulations des nerfs auditifs contralatéral et ipsilatéral.

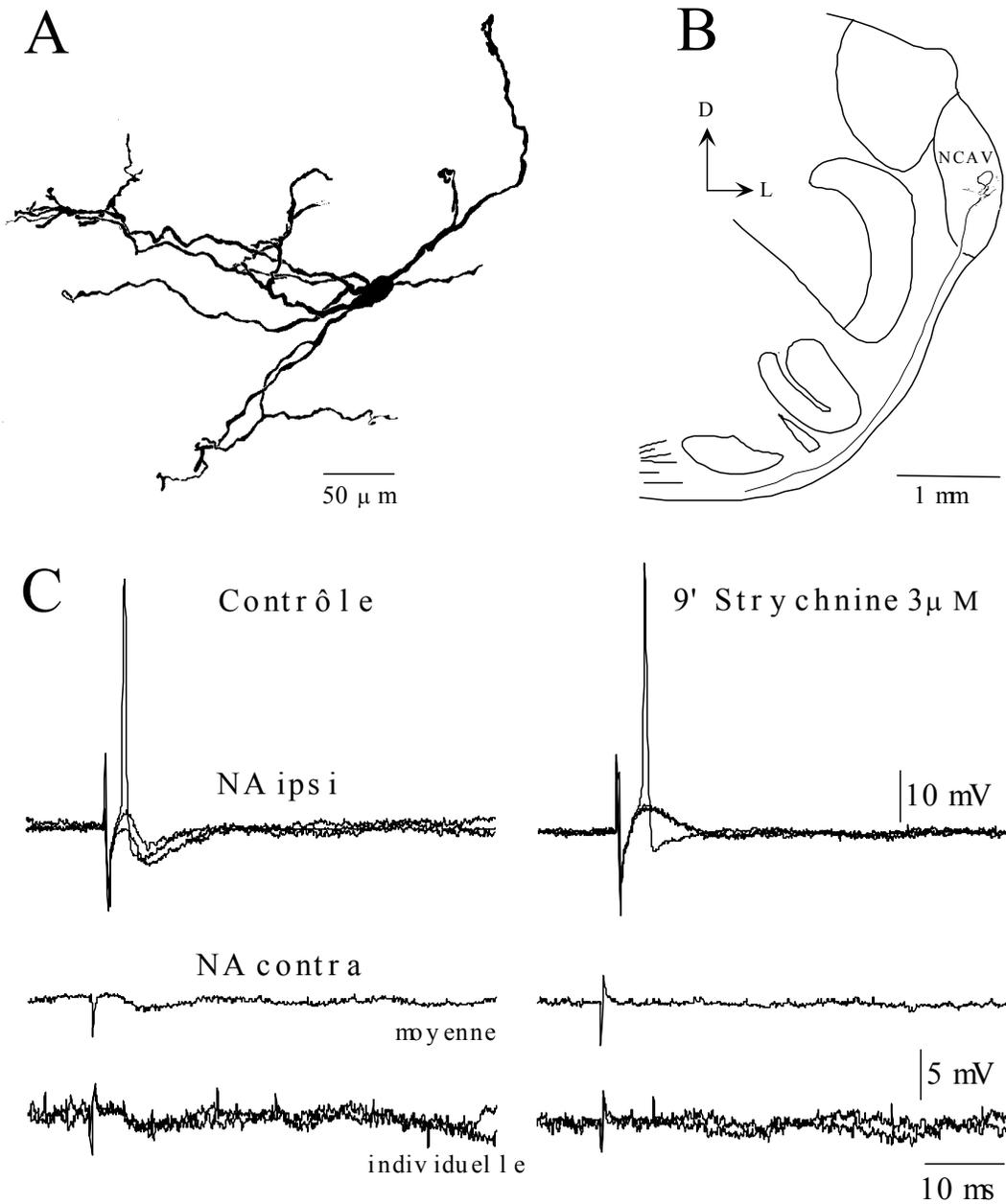


Figure 3.2: Propriétés anatomiques et physiologiques d'une cellule étoilée dans le noyau cochléaire antéroventral. Reconstruction de la cellule à fort grossissement (A) et sa localisation schématique sur une coupe frontale du cerveau (B). Orientation des flèches : D, dorsal; L, latéral. (C) Effets intracellulaires de la stimulation du nerf auditif ipsilatéral (première ligne) et contralatéral (seconde et troisième ligne) enregistrés avec une perfusion de solution normale (colonne de gauche) et 9 min après le commencement de la perfusion avec une solution contenant de la strychnine (colonne de droite). La première et la troisième ligne sont des superpositions de réponses individuelles, alors que les traces de la seconde ligne sont la moyenne des enregistrements. La récupération de la réponse dans une solution normale n'a pas été enregistrée pour cette cellule. Le potentiel de membrane du neurone était de -56mV.

La stimulation du NA contralatéral induit souvent un potentiel post synaptique inhibiteur (PPSI) dans les cellules en buisson et étoilées (Fig. 3.1C et Fig. 3.2C). La perfusion du cerveau avec une solution contenant de la strychnine a bloqué le PPSI induit contralateralement aussi bien que l'inhibition évoquée par la stimulation du NA ipsilatéral (Fig. 3.1C, Fig. 3.2C). Ces observations suggèrent que les deux types de réponses inhibitrices sont générées par des transmissions glycinergiques. Une réapparition graduelle des réponses est observée quand on perfuse de nouveau le cerveau avec une solution normale (Fig. 3.1C).

La stimulation du NA contralatéral a induit des PPSI dans 17 des 27 cellules enregistrées (63%). Aucun signe d'excitation n'a été observé. Il n'y avait pas de différences significatives entre les PM des cellules montrant une inhibition contralatérale et les neurones dans lesquels les PPSI étaient absents ($60.2 \pm 4\text{mV}$ et $62.5 \pm 4.3\text{ mV}$, respectivement; $p=0.09$). Ces observations, plus les enregistrements faits à différents niveaux du potentiel de membrane, indiquent que l'absence de réponses inhibitrices dans une partie des cellules est réelle et qu'elle n'est pas due à un possible masquage des PPSI par les potentiels de membrane qui seraient près de leur potentiel d'équilibre. Les PPSI ont été observés dans 5 des 7 cellules en buisson (71%), 5 des 8 cellules étoilées (63%), et 7 des 12 cellules non identifiées (58%). Les latences des PPSI ont été mesurées sur des réponses moyennes, permettant d'exclure une possible confusion des réponses évoquées avec les activités spontanées. La latence moyenne des PPSI était de $6.2 \pm 4\text{ ms}$ ($n=17$), avec la majorité des latences (15 des 17 cellules) variant entre 3.3 et 7.6 ms. La distribution des latences des PPSI induits par stimulation du NA contralatéral est montrée dans la Fig. 3.3A. Les latences des PPSI pour les cellules en buisson ($7.3 \pm 6.4\text{ ms}$; $n=5$), étoilées ($5.4 \pm 3.9\text{ ms}$; $n=5$) et non identifiées ($5.9 \pm 1.3\text{ ms}$, $n=7$) ne sont pas statistiquement différentes ($p=0.18$, test de Kruskal-Wallis). Les amplitudes des PPSI, mesurées pour chaque cellule comme une moyenne de 5-20 réponses individuelles, varient entre 0.5 et 8 mV et ont une valeur moyenne de $2.6 \pm 1.9\text{ mV}$ ($n=17$). La nature glycinergique proposée des PPSI et le fait que le potentiel d'équilibre des PPSI glycinergiques dans le noyau cochléaire est proche du potentiel de membrane des neurones (Wu et Oertel, 1986; nos tests de polarisation) suggèrent que la valeur absolue des amplitudes des PPSI peut dépendre fortement du niveau du PM. Toutefois, l'absence de différences significatives entre le PM des 3 groupes de cellules enregistrées nous permet de comparer l'efficacité relative des inhibitions dans les différents types de cellules. Les amplitudes des PPSI dans les cellules en buisson ($1.8 \pm 1\text{ mV}$, $n=5$), étoilées ($2.3 \pm 1.3\text{ mV}$, $n=5$) et non identifiées ($3.5 \pm 2.4\text{ mV}$, $n=7$) ne sont pas significativement différentes ($p=0.3$, test de Kruskal-Wallis).

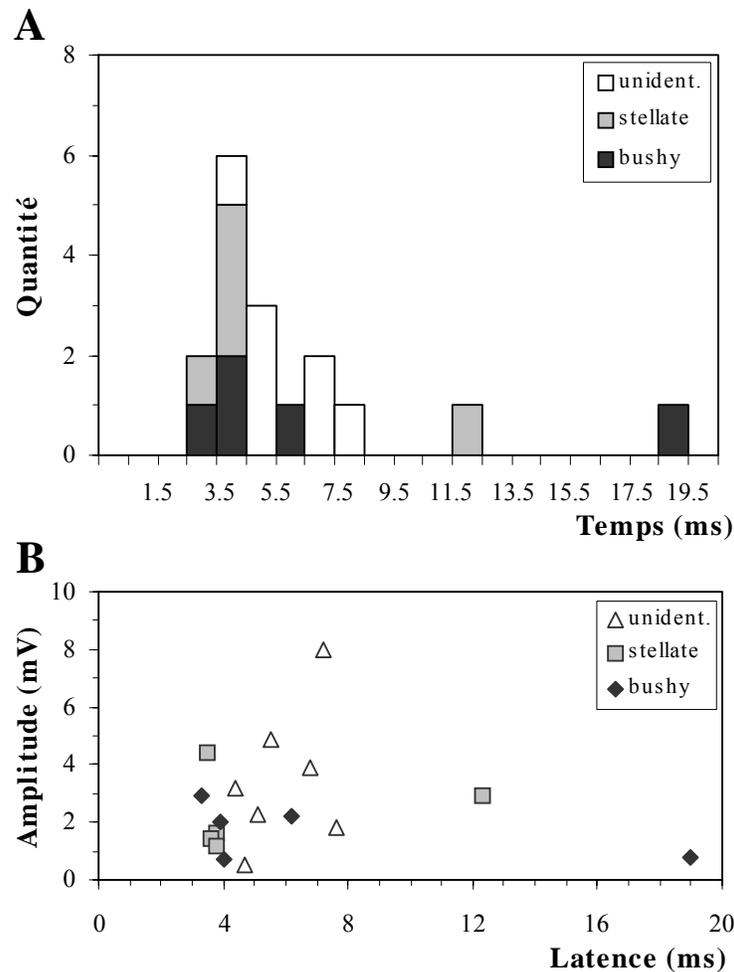


Figure 3.3 : Caractéristiques quantitatives des PPSI induits dans les cellules du noyau cochléaire antéroventral par stimulation du nerf auditif contralatéral. (A) Distribution des latences pour les PPSI dans les différents types de cellules (*bushy* = en buisson; *stellate* = étoilée; *unident.* = non identifiées). Noter la similitude des latences des réponses dans les différentes catégories. (B) Diagramme des amplitudes des PPSI en fonction de leurs latences. L'absence de corrélation significative entre les deux paramètres suggère que l'efficacité des entrées inhibitrices n'est pas en relation avec les propriétés morphologiques des voies impliquées (voir le texte pour les détails).

Comme les amplitudes des PPSI enregistrés peuvent être potentiellement dépendantes du nombre de synapses et/ou du diamètre des fibres dans les voies provenant du NC contralatéral, les amplitudes des réponses ont été reportées en fonction de leurs latences (Fig. 3.3B). La corrélation entre les deux paramètres est faible et n'est pas statistiquement significative ($r=0.05$, $p=0.84$), ce qui suggère que l'efficacité des entrées inhibitrices provenant du côté contralatéral ne dépend pas des propriétés morphologiques des voies impliquées.

3.1.2 Discussion

Cette expérience complète les études sur les effets induits par la stimulation du NA sur des neurones identifiés dans différentes subdivisions du NC. Dans l'expérience précédente (Babalian et coll., 1999), il a été démontré que 70% des neurones parmi les types majeurs de cellules dans le NCPV et le NCD étaient inhibés par la stimulation du NA contralatéral. La présente étude montre que les effets induits contralatralement dans les neurones du NCAV sont qualitativement et quantitativement similaires à ceux observés précédemment dans le NCPV et le NCD. En effet, le pourcentage de cellules influencées, la nature exclusivement inhibitrice de ces influences, les latences et les amplitudes des PPSI sont similaires dans les trois subdivisions du NC. Ces résultats sont en accord avec les données morphologiques chez les cochons d'Inde montrant que les axones commissuraux provenant du NC contralatéral sont distribués dans la totalité du NC (Schofield et Cant, 1996). De telles terminaisons diffuses pourraient servir de substrat morphologique pour des effets relativement homogènes sur les différents types de cellules du NC. Nos résultats représentent ainsi la première démonstration directe que les deux principaux types de cellules dans le NCAV, les cellules en buisson et les cellules étoilées, reçoivent des entrées fonctionnelles du NC contralatéral et que ces entrées sont inhibitrices. La proportion de cellules non identifiées influencées contralatralement et les patterns de leurs activités synaptiques, similaires à ceux des cellules étoilées et en buisson, suggèrent que la plupart des neurones non identifiés, sinon tous, appartiennent aussi à la catégorie des cellules en buisson et des cellules étoilées.

Les latences des PPSI évoqués par la stimulation du NA contralatéral se situent entre 3.3 et 7.6 ms pour la majorité des neurones, et sont similaires à celles des PPSI induits contralatralement dans le NCPV et le NCD (Babalian et coll., 1999). Ces valeurs de latences dans la préparation IWB correspondent à des transmissions di- et tri- synaptiques provenant du NA contralatéral, ou, respectivement, à des transmissions mono- et disynaptiques provenant du NC contralatéral. La possibilité que certaines de ces influences provenant du NC contralatéral soient monosynaptiques est tout à fait en accord avec les études morphologiques démontrant des connections directes entre les deux NC (Adams et Warr, 1976; Cant et Gaston, 1982; Wenthold, 1987; Saint Marie et coll., 1991; Shore et coll., 1992; Schofield et Cant, 1996). Une possible voie disynaptique originaire du NC contralatéral pourrait impliquer le complexe olivaire supérieur et/ou des interneurones locaux inhibiteurs à l'intérieur du NC (voir discussion dans Babalian et coll., 1999). Il n'est pas exclu, toutefois, que les PPSI avec

longues latences soient transmis directement par des fibres commissurales de petit diamètre à conduction lente. Cette possibilité est accentuée par l'observation que les diamètres des fibres commissurales reliant les deux NC sont compris entre 2-4 μm pour les plus épaisses et 0.5 μm pour les plus fines (Schofield et Cant, 1996). Les deux PPSI avec une très longue latence (> 12 ms), comme les réponses similaires dans le NCPV et NCD (Babalian et coll., 1999), pourraient provenir de voies polysynaptiques, qui incluent des relais additionnels dans le tronc cérébral ou autres niveaux du cerveau.

Les PPSI induits dans les cellules du NCAV par la stimulation du NA contralatéral étaient bloqués par la strychnine. De même, l'action inhibitrice des stimulations contralatérales acoustiques sur l'activité de neurones dans le NC ventral était bloquée par une administration systémique de strychnine (Pirsig et coll., 1968). Ces résultats suggèrent que les neurones responsables d'une inhibition provenant du NC contralatéral utilisent la glycine comme neurotransmetteur. Récemment, il a été démontré dans des coupes de moelle épinière chez le rat que la strychnine à des concentrations identiques utilisées dans notre étude peuvent bloquer non seulement des récepteurs glycinergiques mais aussi, partiellement, des récepteurs GABA-A (Jonas et coll., 1998). Le fait que nous observons un blocage total des PPSI par la strychnine élimine une possibilité d'une contribution significative des transmissions GABA-ergiques. Notre conclusion que les transmissions glycinergiques jouent un rôle dominant dans les entrées provenant d'un NC à l'autre est en concordance avec les données morphologiques démontrant que les projections commissurales sont pour la plupart immunoréactives pour la glycine (Wenthold, 1987; Benson et Potashner, 1990; Kolston et coll., 1992). En outre, les données physiologiques indiquent que la glycine joue un rôle majeur dans les autres circuits inhibiteurs du NC (Wu et Oertel, 1986; Wickesberg et Oertel, 1990; Lim et coll., 2000), particulièrement dans les voies responsables de l'inhibition retardée des cellules du NC en réponse à la stimulation du NA ipsilatéral (notre étude, Wu et Oertel, 1986; Lim et coll., 2000).

Les PPSI induits contralateralement sont vraisemblablement significatifs fonctionnellement. Nous avons observé que les PPSI évoqués par la stimulation du NA contralatéral peuvent inhiber l'activité évoquée des neurones du NC ainsi que les décharges de neurones spontanément actifs dans le NCD. Ces effets exercés par des PPSI de petite amplitude pourraient être expliqués par des augmentations significatives de la conductance membranaire, qui habituellement accompagne des actions inhibitrices.

En résumé, une large proportion de neurones principaux du NC est efficacement inhibée via des voies activées par le NA contralatéral. Ces observations suggèrent que les interactions binaurales prennent déjà place au niveau du NC, avant même les circuits binauraux bien connus du complexe olivaire supérieur. Donc, le NC devrait être considéré parmi les autres structures (COS, noyau du lemniscus latéral, colliculus inférieur) comme étant potentiellement impliquées dans les mécanismes binauraux de la localisation du son et de l'audition directionnelle. Des expériences comportementales et physiologiques supplémentaires sont nécessaires afin de comprendre comment l'inhibition commissurale entre les deux NC est intégrée dans ces mécanismes.

3.2 Chapitre expérimental 2 : les entrées synaptiques *des noyaux de la colonne dorsale et du nerf trijumeau sur les neurones du noyau cochléaire*

Il a été démontré que des stimuli somatosensoriels évoquent des réponses dans des neurones auditifs, par exemple dans la partie médiane du corps genouillé médian (Aitkin et coll., 1978, 1981). Ces intégrations multisensorielles pourraient jouer un rôle dans la localisation du corps et du son dans l'espace. Le nerf trijumeau est une des composantes de cette intégration, contribuant comme source d'entrées somatosensorielles. Plus récemment, des études neuroanatomiques ont montré que les informations somatosensorielles et auditives convergent vers des sites plus périphériques. Les noyaux de la colonne dorsale (NCoDo), composés du noyau cuneatus et du noyau gracilis, sont les premiers relais somatosensoriels situés sur la surface dorsale de la medulla. Ils reçoivent des entrées primaires directes des cellules du ganglion dorsal qui innervent les récepteurs du toucher, vibratoires et proprioceptifs sur la surface du corps. Ces récentes années, plusieurs zones de projections issues des NCoDo ont été identifiées chez le rat, incluant les projections thalamiques aussi bien que les colliculi inférieur et supérieur, les noyaux pontiques, le complexe olivaire inférieur,... (Lund et Webster, 1967; Feldman et Kruger, 1980; Swenson et coll., 1984). Plus récemment, des études neuroanatomiques (Itoh et coll., 1987; Weinberg et Rustioni, 1987; Wright et Ryugo, 1994; Shore et coll., 2000) ont démontré que les cellules du nerf trijumeau et des NCoDo qui reçoivent les entrées sensorielles de l'arrière de la tête et du pavillon des oreilles (Miller et Basbaum, 1975; Maslany et coll., 1991), envoient des projections vers la région granulaire du NC. D'autres études électrophysiologiques (Saadé et coll., 1989; Young et coll., 1995; Kanold et Young, 2001) ont démontré chez le chat, que des neurones du NC, en particulier dans le NCD, sont influencés par des stimulations des NCoDo et du nerf trijumeau, en plus des entrées auditives déjà connues. Toutefois, la signification fonctionnelle de ces entrées non-auditives et l'identification de leurs cibles spécifiques dans le NC restent largement méconnues.

C'est pourquoi, le but de notre étude dans cette partie, est d'établir les propriétés des réponses synaptiques de neurones du NC à une stimulation électrique de sources non-auditives telles que les NCoDo et du nerf trijumeau. De plus, nous avons entrepris une identification des cellules influencées par de telles stimulations. En premier lieu, nous avons étudié les réponses induites dans le NC par une stimulation des NCoDo et, dans un second temps, les réponses induites par une stimulation du nerf trijumeau.

3.2.1 Résultats

3.2.1.1 Noyaux de la colonne dorsale

La stimulation des NCoDo a été effectuée au niveau du noyau cuneatus et du noyau gracilis. La figure 3.4 montre la position des électrodes de stimulation au niveau des NCoDo dans une expérience typique.

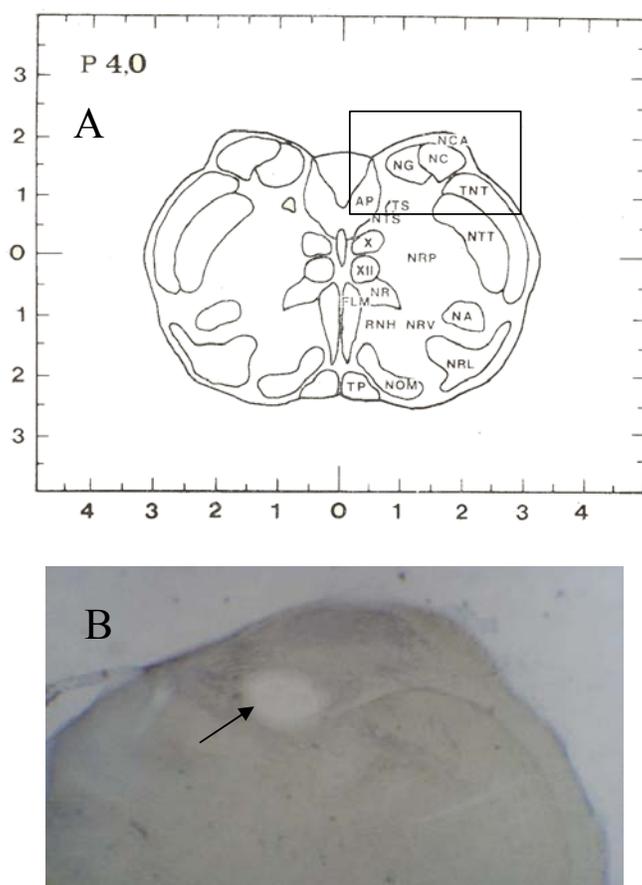


Figure 3.4 : (A) Représentation d'une coupe frontale de référence du cerveau de cochon d'Inde (Voitenko et Marlinskii, 1993), NG: noyau gracilis; NC: noyau cuneatus. La zone dans le rectangle est représentée par une microphotographie en B(B) Position des électrodes de stimulation (dans une expérience typique), repérée par une lésion électrolytique du tissu au moyen de l'électrode de stimulation. La lésion a été effectuée avec un courant de 0.2 - 0.25 mA pendant 25 s. La flèche indique la zone lésée.

Nous avons testé l'effet de la stimulation électrique ipsilatérale des NCoDo dans 130 neurones localisés dans les trois subdivisions du NC : 30 dans le NCAV, 74 dans le NCPV et 26 dans le NCD (Tableau 3.1). 74 cellules distribuées dans les trois subdivisions du NC ont pu être identifiées sur coupes histologiques, ce qui n'a pas été le cas des 56 autres neurones. Ceci est dû à un marquage à la neurobiotine trop léger ou à une perte du neurone après la caractérisation physiologique.

Localisation	Type de cellule	Nombre de cellules testées	Nombre de cellules influencées par la stimulation	Pourcentage de cellules influencées
NCAV	Etoilée	9	6	67
	Buisson	7	3	43
	Non identifiée	14	8	57
NCPV	Etoilée	32	19	60
	Octopus	10	3	30
	Non identifiée	32	10	31
NCD	Etoilée	1	1	100
	Géante	5	3	60
	Pyramidale	4	3	75
	Verticale	6	4	67
	Non identifiée	10	6	60
Total	NCAV	30	17	57
	NCPV	74	32	43
	NCD	26	17	65
	NC	130	66	51

Tableau 3.1 : Distribution des cellules testées et influencées par la stimulation des NCoDo dans chaque subdivision du noyau cochléaire.

Considérant le NC dans son ensemble, 66 cellules (51%) étaient influencées par la stimulation électrique des NCoDo : 17 dans le NCAV (57% des cellules testées dans le NCAV); 32 dans le NCPV (43%) et 17 (65%) dans le NCD (Figure 3.5).

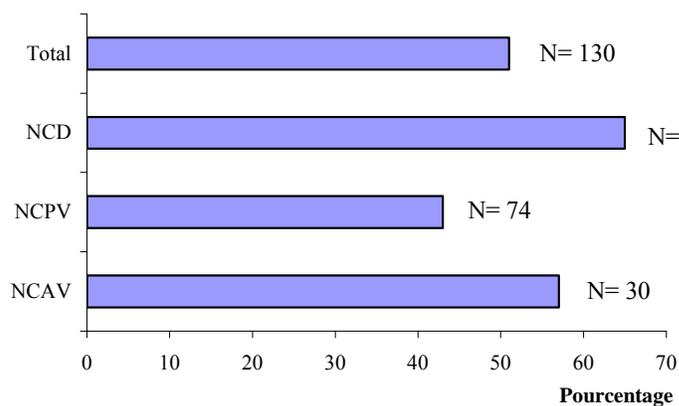


Figure 3.5: Pourcentage de cellules influencées par la stimulation électrique des NCoDo dans les trois subdivisions du NC.

Le nombre de cellules identifiées dans chaque division du NC, ainsi que le pourcentage des différents types de cellules influencées par la stimulation des NCoDo sont présentés en détail dans le tableau 3.1. Parmi les 130 cellules testées, 66 ont été influencées par la stimulation des NCoDo. Dans le NCAV, sur 30 cellules testées, 57% des cellules ont été influencées dont la moitié a pu être identifiée comme des cellules de type en buisson ($n=3$), et de type étoilée ($n=6$). Les huit autres n'ont été que partiellement retrouvées et n'ont pas permis une identification précise. Dans le NCPV, sur 74 cellules testées, 43 % des cellules ont été influencées ($n=32$). 22 cellules ont été identifiées comme des cellules de type étoilée ($n=19$) et de type octopus ($n=3$). Enfin dans le NCD, sur 26 cellules testées, 65% des cellules sont influencées ($n=17$), 11 cellules ont été identifiées comme des cellules de type étoilée ($n=1$), géante ($n=3$), pyramidale ($n=3$) et verticale ($n=4$).

Les figures 3.6 et 3.7 illustrent deux exemples de réponse obtenue dans le NCAV pour deux types de cellules : en buisson (Fig. 3.6) et étoilée (Fig. 3.7). La stimulation des NCoDo a induit un PPSI dans les deux cas. La perfusion du cerveau avec une solution contenant de la strychnine a bloqué le PPSI induit par la stimulation (Figs. 3.6C, 3.7C). Cette observation suggère que ces réponses sont générées par des transmissions glycinergiques. Une réapparition graduelle des réponses a été observée lors d'une re-perfusion avec une solution normale (Figs. 3.6C, 3.7C). Un exemple de réponses obtenues de la part d'une cellule étoilée dans le NCPV est illustré dans la Figure 3.8. La stimulation des NCoDo a induit une inhibition (Fig. 3.8C). Ce PPSI peut être, comme dans les autres cas, bloqué par la perfusion du cerveau avec une solution contenant de la strychnine (Fig. 3.8C). La stimulation des NCoDo a induit principalement des réponses inhibitrices (83%) dans toutes les subdivisions du NC. Dans le NCAV, la stimulation des NCoDo a induit dans toutes les cellules influencées un PPSI (Fig. 3.9). Aucun signe d'excitation, i.e. de potentiel post synaptique excitateur (PPSE), n'a été observé. Dans le NCPV, la stimulation a induit une majorité de PPSI ($n=29$)(Fig.3.9) mais, dans quelques cas, nous avons observé un PPSE ($n=3$). Enfin, dans le NCD, nous avons enregistré des PPSI ($n=9$) (Fig. 3.10), des PPSE ($n=5$), mais aussi des réponses mixtes c'est-à-dire une séquence PPSE/PPSI ou PPSI/PPSE ($n=3$) (Fig. 3.9). La figure 3.11 illustre un exemple de ce type de réponse enregistré dans une cellule pyramidale. La stimulation des NCoDo a induit une réponse inhibitrice suivie d'une réponse excitatrice. Les cellules octopus étaient parmi les moins influencées par la stimulation des NCoDo (tableau 3.1). La figure 3.12 montre l'exemple d'une cellule octopus dans laquelle aucune réponse n'a été obtenue.

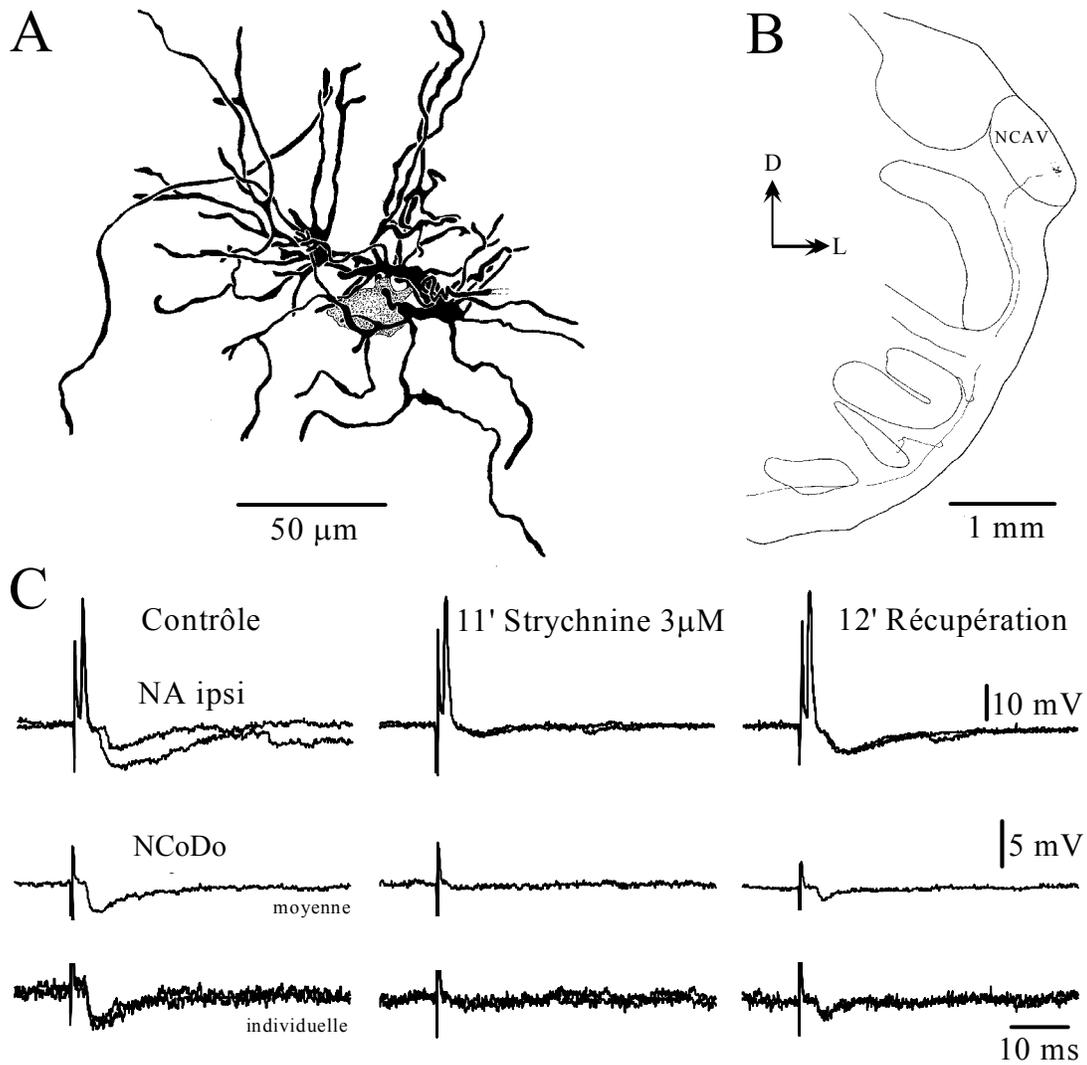


Figure 3.6: Propriétés anatomiques et physiologiques d'une cellule en buisson dans le noyau cochléaire antéroventral. Reconstruction d'une cellule à fort grossissement (A) et sa localisation schématique sur une coupe frontale du cerveau (B). Orientation des flèches: D, dorsal; L, latéral. (C) Effets intracellulaires de la stimulation du nerf auditif ipsilatéral (première ligne) et des NCoDo (seconde et troisième lignes) enregistrés sous perfusion de solution physiologique (colonne de gauche) et 11 min après le commencement de la perfusion avec une solution contenant de la strychnine (colonne du milieu). La première et la troisième lignes sont des superpositions de réponses individuelles, alors que les traces de la seconde ligne sont la moyenne de 10-20 traces d'enregistrements individuels. La récupération graduelle des réponses dans une solution normale a été enregistré pour cette cellule (troisième colonne). Il s'agit de la même cellule que celle illustrée dans la figure 3.1.

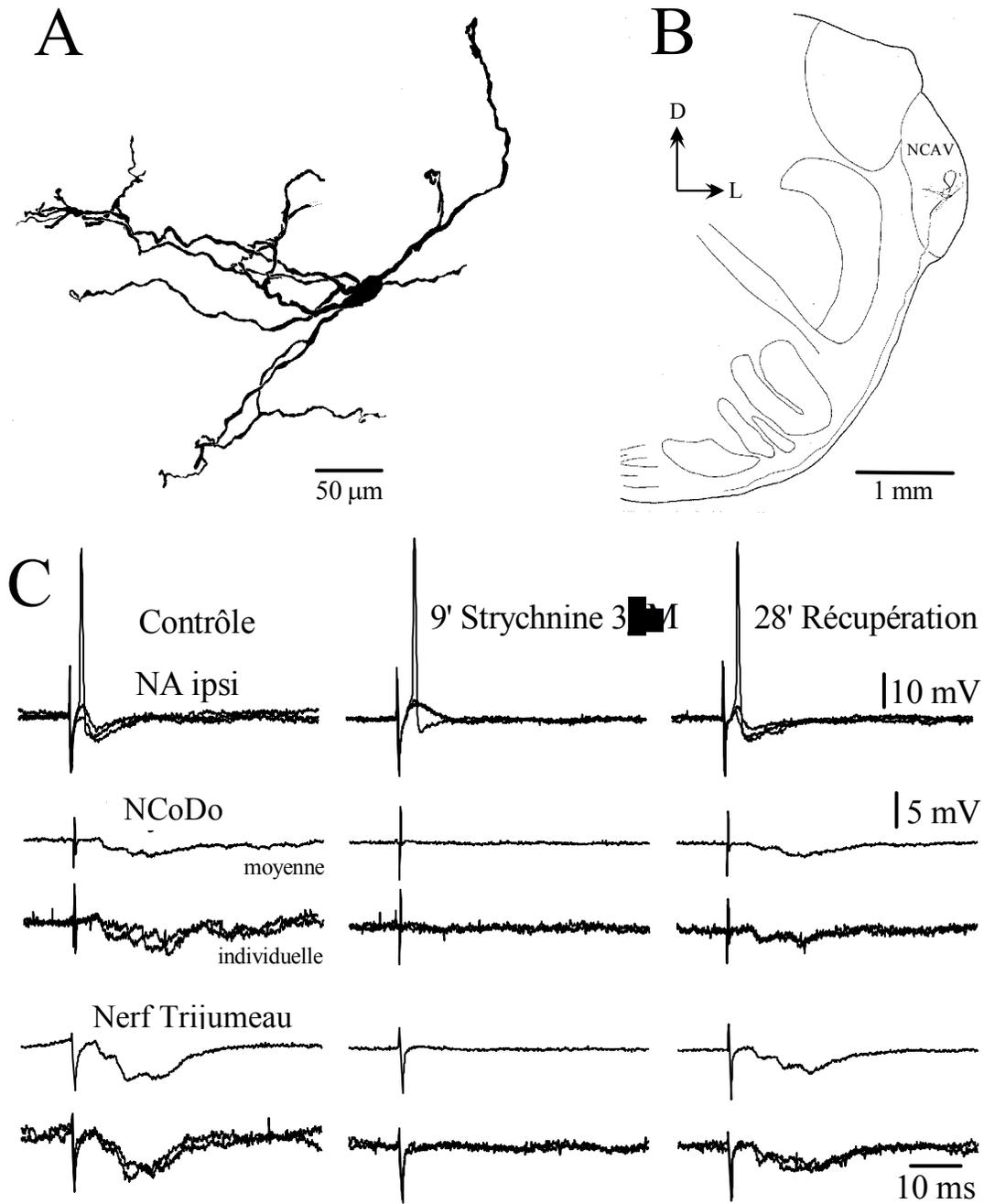


Figure 3.7 : Propriétés anatomiques et physiologiques d'une cellule étoilée dans le noyau cochléaire antérovéntral. Reconstruction de la cellule à fort grossissement (A) et sa localisation schématique sur une coupe frontale du cerveau (B). Orientation des flèches: D, dorsal; L, latéral. (C) Effets intracellulaires de la stimulation du nerf auditif ipsilatéral (première ligne), des NCoDo (seconde et troisième lignes) et du nerf trijumeau (quatrième et cinquième lignes) enregistrés sous perfusion par une solution physiologique (colonne de gauche) et 9 min après le commencement de la perfusion avec une solution contenant de la strychnine (colonne du milieu). La première, troisième et cinquième lignes sont des superpositions de réponses individuelles, alors que les traces de la seconde et quatrième lignes sont la moyenne de 10-20 traces d'enregistrements individuels. La récupération graduelle des réponses dans une solution physiologique a été enregistré dans cette cellule (colonne de droite).

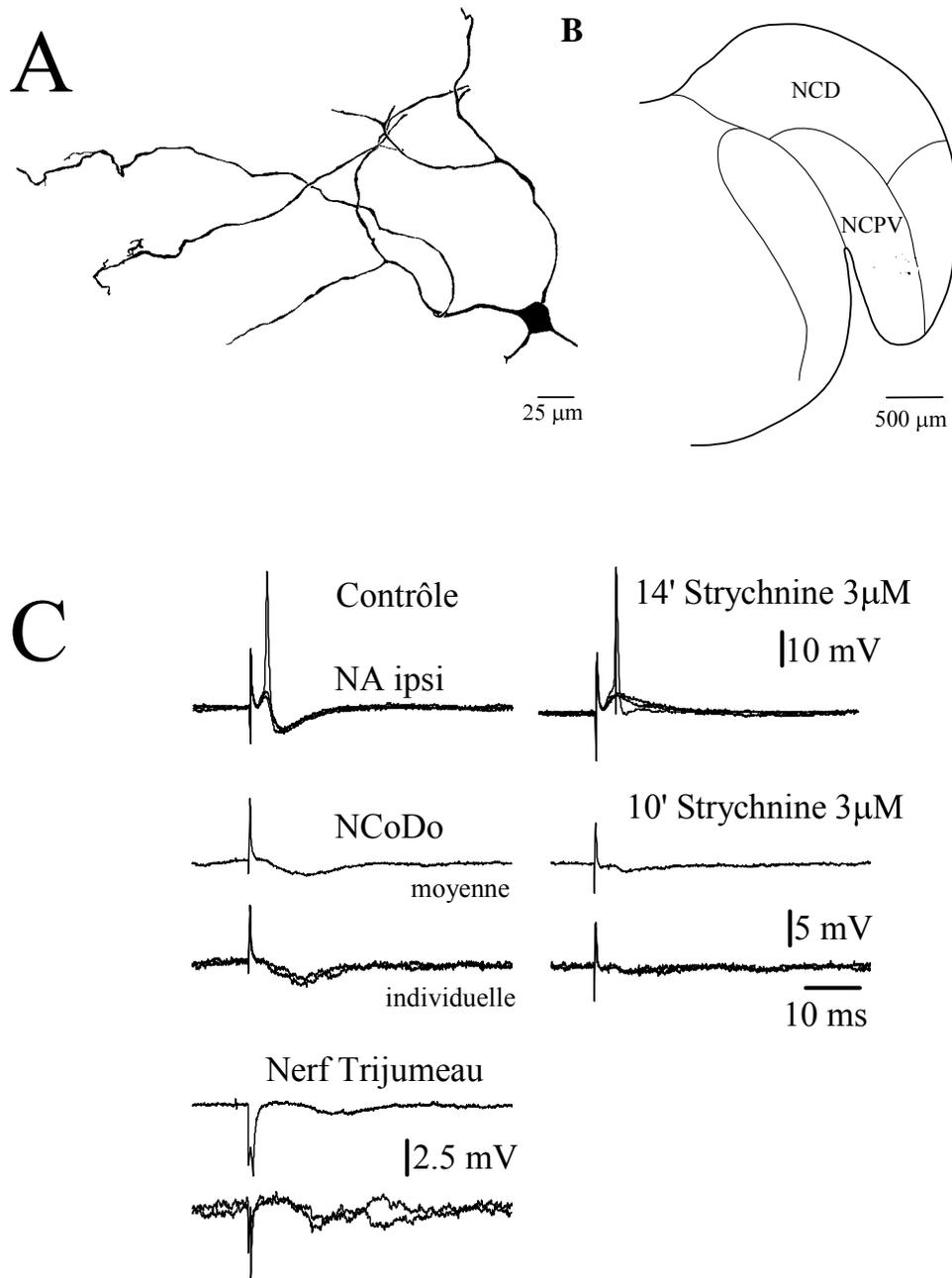


Figure 3.8 : Propriétés anatomiques et physiologiques d'une cellule dans le noyau cochléaire postéroventral. Reconstruction de la cellule à fort grossissement (A) et sa localisation schématique sur une coupe frontale du cerveau (B). Même si le marquage de la cellule n'était pas complet, la forme de l'arbre dendritique indique qu'il s'agit d'une cellule de type étoilée. (C) Effets intracellulaires de la stimulation du nerf auditif ipsilatéral (première ligne), des NCoDo (seconde et troisième lignes) et du nerf trijumeau (quatrième et cinquième lignes) enregistrés sous perfusion de solution physiologique (colonne de gauche) et 10 min après le commencement de la perfusion avec une solution contenant de la strychnine (colonne de droite). La première, troisième et cinquième lignes sont des superpositions de réponses individuelles, alors que les traces de la seconde et quatrième lignes sont la moyenne de 10-20 traces d'enregistrements individuels. Les réponses à la stimulation du nerf trijumeau n'ont pas pu être enregistrées dans la solution contenant de la strychnine.

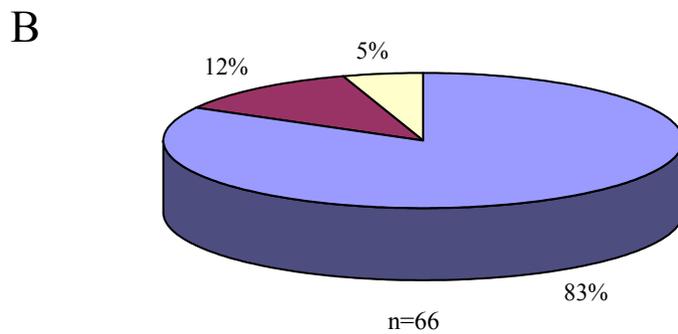
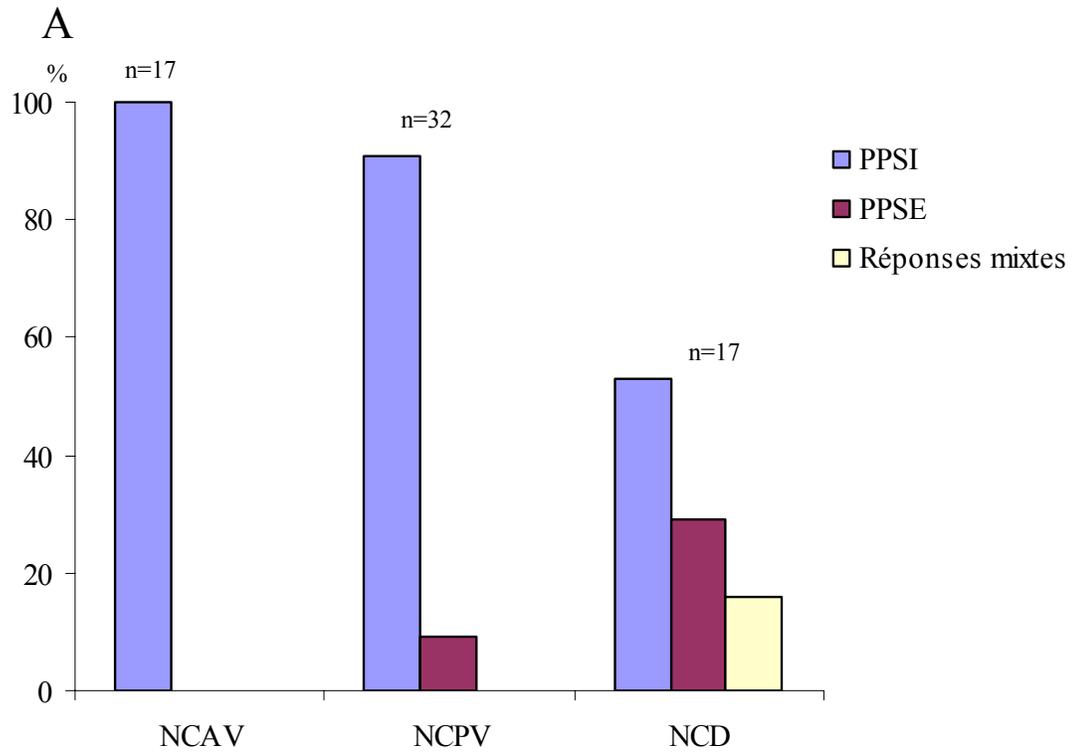


Figure 3.9: (A) Types de réponses enregistrées dans les trois subdivisions du NC induites par une stimulation électrique des NCoDo. (B) Pourcentage des différentes réponses enregistrées dans le NC pris en entier.

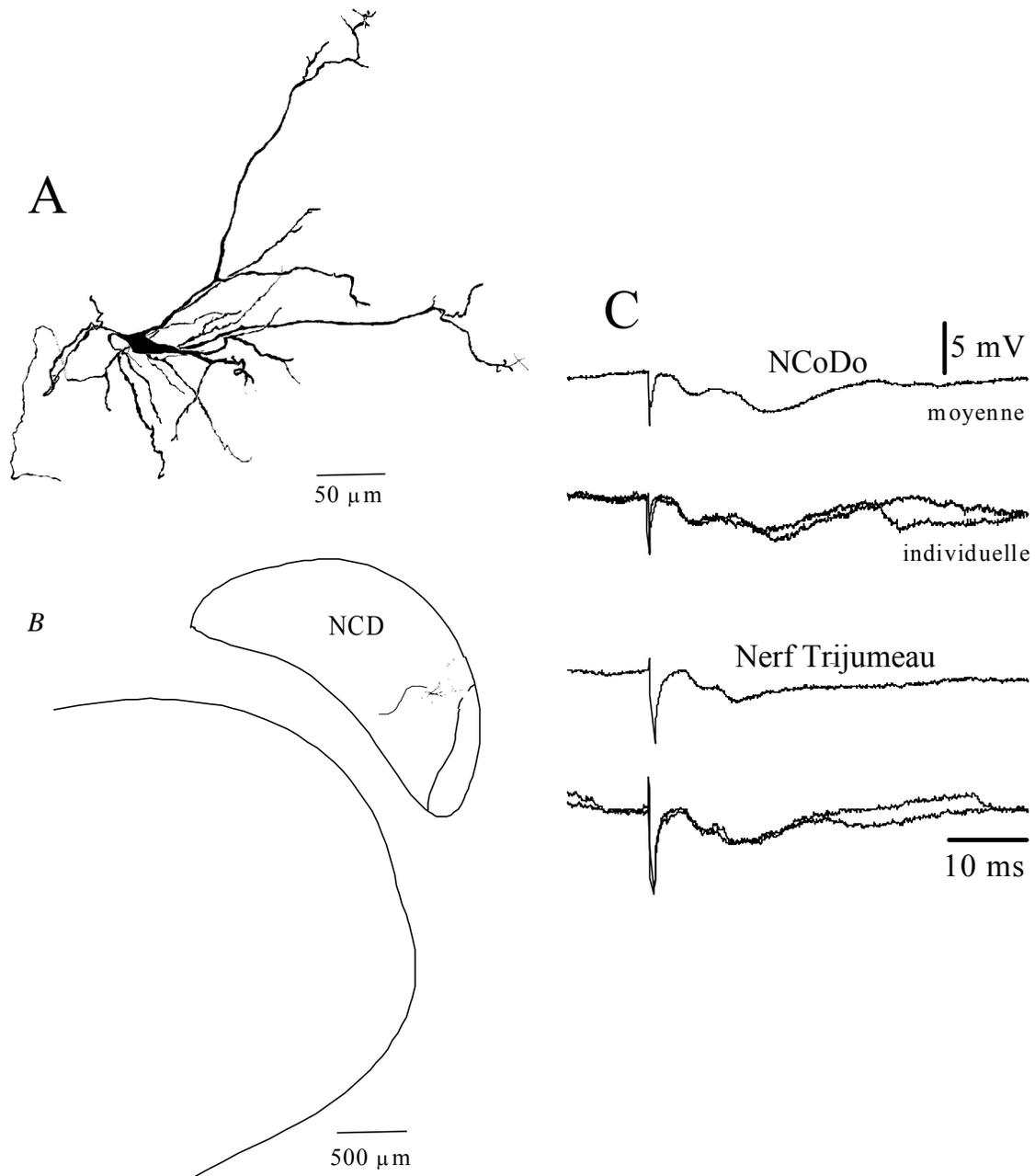


Figure 3.10: Propriétés anatomiques et physiologiques d'une cellule verticale dans le noyau cochléaire dorsal. Reconstruction de la cellule à fort grossissement (A) et sa localisation schématique sur une coupe frontale du cerveau (B). (C) Effets intracellulaires de la stimulation des NCoDo (première et deuxième lignes) et du nerf trijumeau (troisième et quatrième lignes). Les première et troisième lignes sont la moyenne de 10-20 traces d'enregistrements individuels; alors que les traces de la seconde et quatrième lignes sont des superpositions de réponses individuelles.

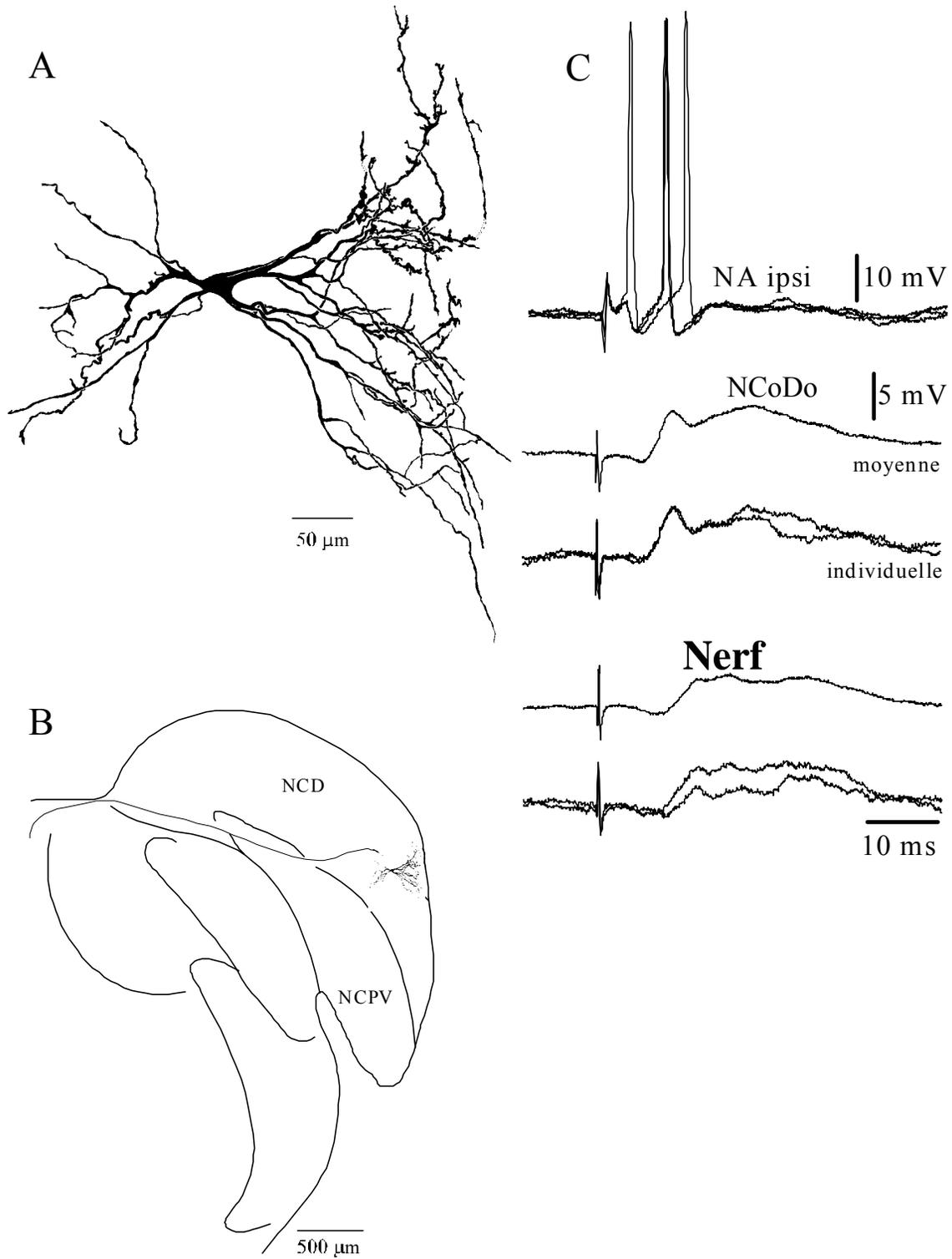


Figure 3.11: Propriétés anatomiques et physiologiques d'une cellule pyramidale dans le noyau cochléaire dorsal. Reconstruction de la cellule à fort grossissement (A) et sa localisation schématique sur une coupe frontale du cerveau (B). (C) Effets intracellulaires de la stimulation du nerf auditif (première ligne), des NCoDo (deuxième et troisième lignes) et du nerf trijumeau (quatrième et cinquième lignes). Les première, troisième et cinquième lignes sont des superpositions de réponses individuelles, alors que les traces de la seconde et quatrième lignes sont la moyenne entre 10-20 traces d'enregistrements individuels.

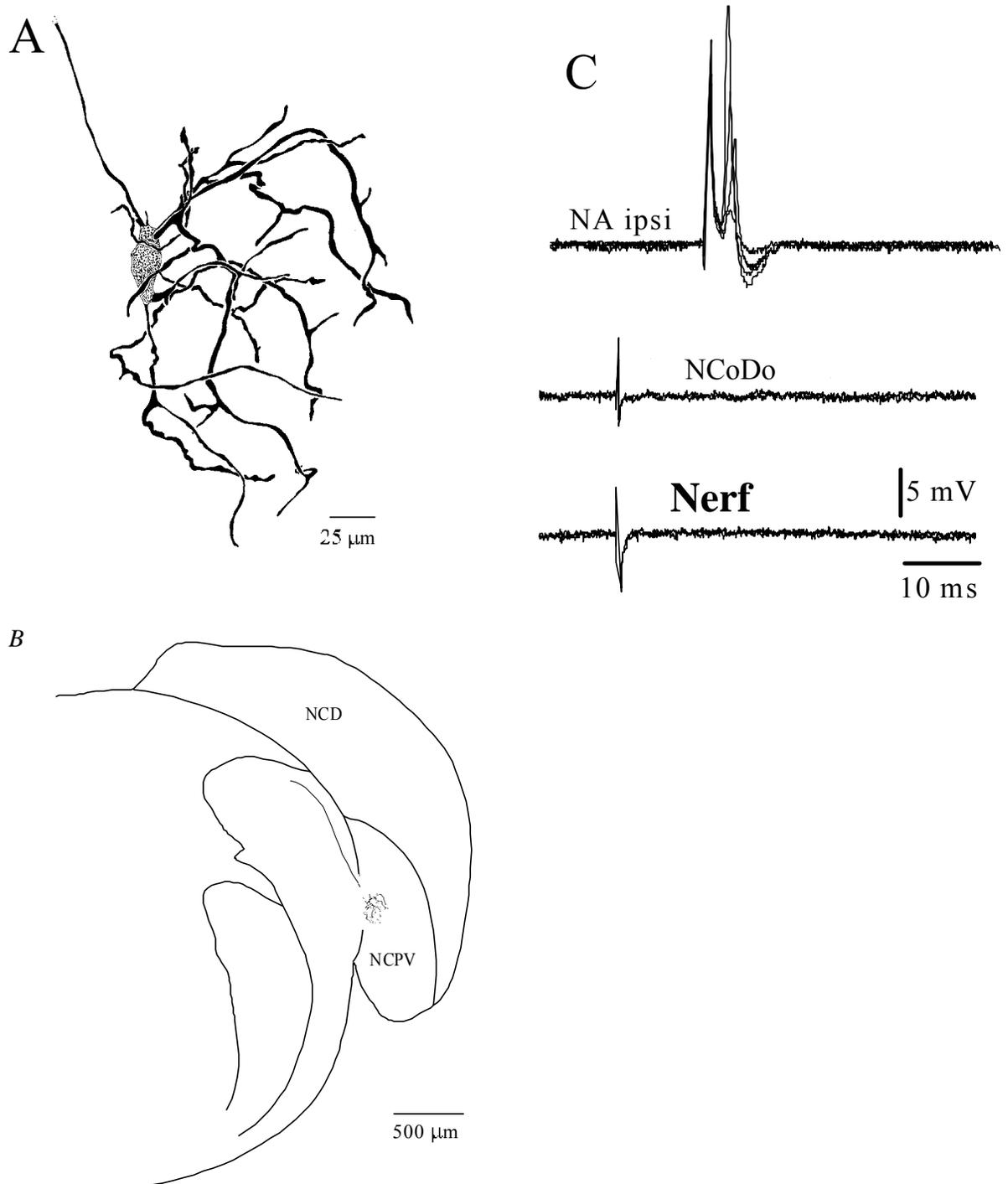


Figure 3.12: Propriétés anatomiques et physiologiques d'une cellule octopus dans le noyau cochléaire postéroventral. Reconstruction de la cellule à fort grossissement (A) et sa localisation schématique sur une coupe frontale du cerveau (B). (C) Enregistrements intracellulaires montrant l'absence de réponse suite à une stimulation des NCoDo et du nerf trijumeau.

La latence moyenne des PPSI était de 6.11 ± 3.22 ms (2.8-19.2 ms; $n=55$), la majorité des latences de réponse variant entre 3 et 8 ms. La latence moyenne des PPSE était de 5.77 ± 2.13 ms (2.9-9.5 ms; $n=11$). La distribution des latences des réponses induites par la stimulation des NCoDo est montrée dans la Figure 3.13. Les amplitudes des PPSI avaient une moyenne de 2.73 ± 1.61 mV et celle des PPSE était de 2.9 ± 1.81 mV.

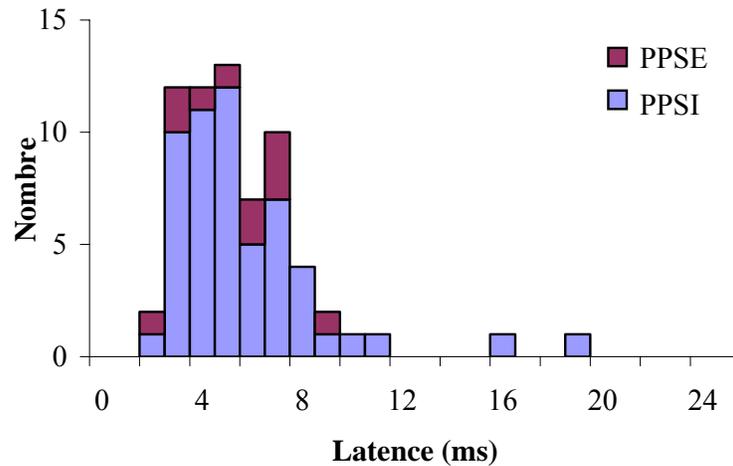


Figure 3.13: Distribution des latences des réponses induites dans les cellules du noyau cochléaire par une stimulation électrique des NCoDo.

3.2.1.2 Nerf trijumeau

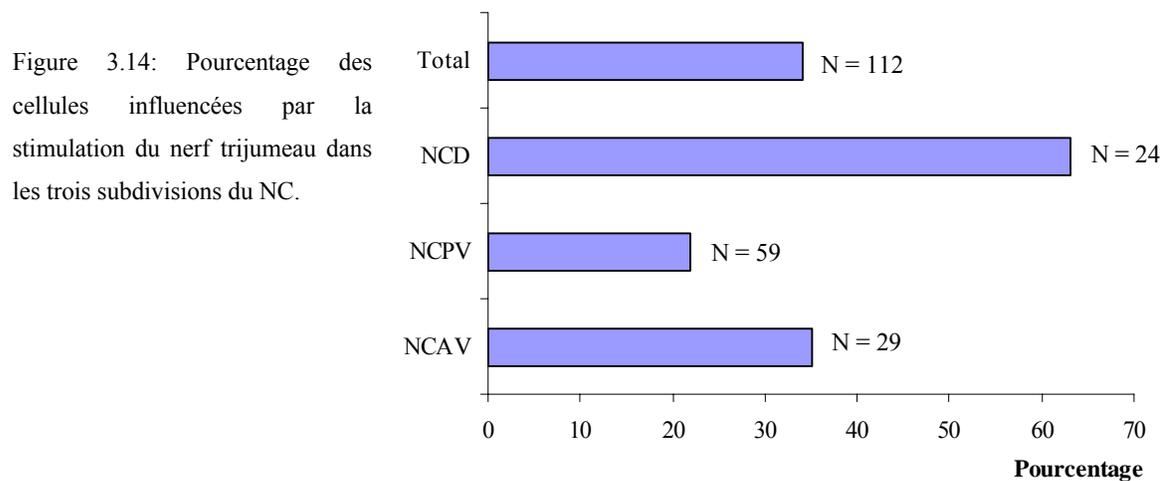
Nous avons testé les effets d'une stimulation électrique du nerf trijumeau sur 112 neurones localisés dans les trois subdivisions du NC: 29 dans le NCAV, 59 dans le NCPV et 24 dans le NCD. Nous avons pu identifier 62 cellules testées par la stimulation du nerf trijumeau, distribuées dans le NCAV ($n=16$), le NCPV ($n=32$), et dans le NCD ($n=14$). Le tableau 3.2 indique la distribution des cellules testées et influencées par la stimulation du nerf trijumeau dans le NC.

Tableau 3.2 →

Localisation	Type de cellule	Nombre de cellules testées	Nombre de cellules influencées par la stimulation	Pourcentage de cellules influencées
NCAV	Etoilée	9	4	44
	Buisson	7	1	14
	Non identifiée	13	5	38
NCPV	Etoilée	23	8	35
	Octopus	9	1	11
	Non identifiée	27	4	15
NCD	Etoilée	1	0	0
	Géante	4	2	50
	Pyramidale	4	3	75
	Verticale	5	2	40
	Non identifiée	10	8	80
Total	NCAV	29	10	35
	NCPV	59	13	22
	NCD	24	15	63
	NC	112	38	34

Tableau 3.2 : Distribution des cellules testées et influencées par la stimulation du nerf trijumeau dans chaque subdivisions du noyau cochléaire.

Nous avons observé une réponse à la stimulation électrique du nerf trijumeau dans 38 cellules du NC sur 112 (34%): 10 dans le NCAV sur 29 testées (35%), 13 dans le NCPV sur 59 testées (22%), 15 dans le NCD sur 24 testées (63%) (Figure 3.14).



Parmi les 112 cellules testées, 29 se trouvaient dans le NCAV, 59 dans le NCPV, et 24 dans le NCD. Dans le NCAV, 16 cellules ont pu être identifiées comme des cellules de type étoilée ($n=9$) et en buisson ($n=7$). Sur 29 cellules testées dans le NCAV, 35% ($n=10$) ont été influencées, correspond à 4 cellules de type étoilée sur 9 testées (44%) et une cellule de type en buisson sur 7 testées (14%), tandis que les 5 autres n'ont pas pu être retrouvées ou identifiées sur les coupes histologiques (38% des cellules testées et non-identifiées). Dans le NCPV, sur 59 cellules testées, 32 cellules ont pu être identifiées comme des cellules de type étoilé ($n=23$) et octopus ($n=9$). 22% des cellules testées sont influencées par la stimulation du nerf trijumeau : 8 cellules étoilées (35%), une cellule octopus (11%) et 4 cellules non identifiées (15%). Dans le NCD, sur 24 cellules testées, 14 ont pu être identifiées comme des cellules de type étoilée ($n=1$), géante ($n=4$), pyramidale ($n=4$) et verticale ($n=5$). 63% des cellules testées ont été influencées par la stimulation : 2 cellules géantes (55%), 3 cellules pyramidales (75%), 2 cellules verticales (40%) et 8 cellules non identifiées (80%).

La stimulation électrique du nerf trijumeau a induit en grande majorité des PPSI (84%) dans les trois subdivisions du NC (Figure 3.15). Dans la partie antéroventrale toutes les réponses observées étaient inhibitrices (Figure 3.15). La stimulation du nerf trijumeau a induit une grande majorité de réponses inhibitrices dans le NCPV également (92%), sauf dans une cellule où nous avons observé une réponse excitatrice. Dans le NCD enfin, nous avons observé des réponses inhibitrices (67%) ainsi que des réponses excitatrices (33%) (Fig. 3.15).

Un exemple de réponse inhibitrice obtenue par la stimulation du nerf trijumeau dans une cellule du NCAV est illustré dans la figure 3.7. La perfusion du cerveau avec une solution contenant de la strychnine a bloqué le PPSI induit par la stimulation (Fig. 3.7C). Cette observation suggère que ces réponses sont générées, comme dans le cas des noyaux de la colonne dorsale, aussi par des transmissions glycinergiques. La récupération graduelle de la réponse peut être observée si le cerveau est perfusé à nouveau avec une solution normale. Un exemple de réponse obtenue pour une cellule étoilée dans le NCPV est illustré dans la figure 3.8 où la stimulation du nerf trijumeau a induit un PPSI de petite amplitude. Aucune réponse n'a été obtenue par la stimulation du nerf trijumeau dans la plupart des cellules octopus, ce qui est illustré pour l'une d'elles dans la figure 3.12. Dans le NCD un exemple de réponse excitatrice précédée par une légère hyperpolarisation dans une cellule pyramidale est illustré dans la figure 3.11, alors que la figure 3.10 montre un PPSI évoqué dans une cellule verticale.

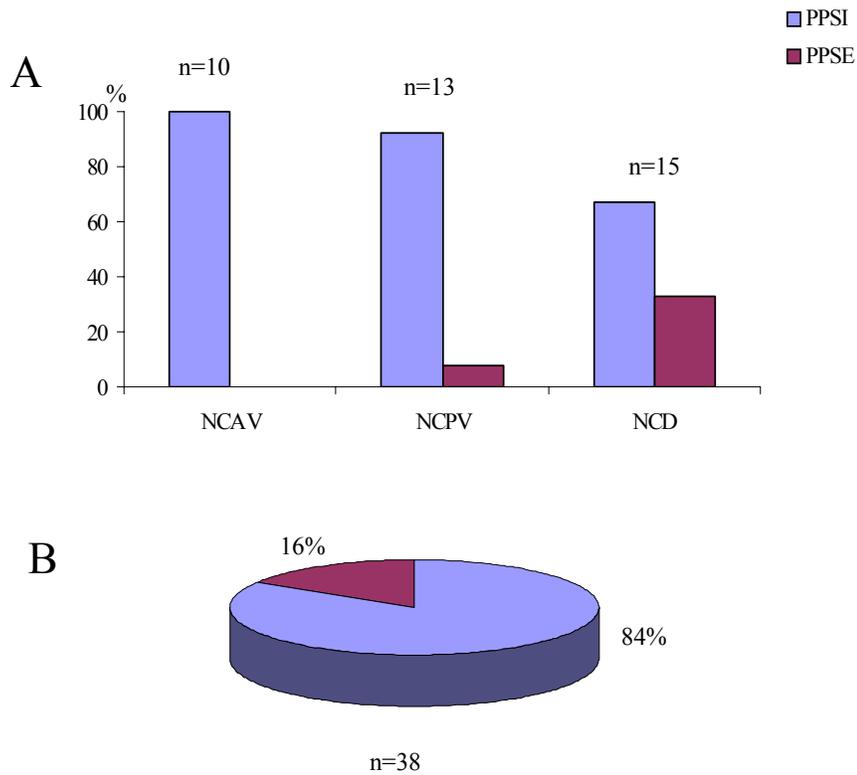


Figure 3.15: (A) Types de réponses enregistrées dans les trois subdivisions du NC induites par une stimulation électrique du nerf trijumeau. (B) Pourcentage des différentes réponses enregistrées dans le NC pris en entier.

La latence moyenne des PPSI était de 8.86 ± 4.68 ms (3.4-23 ms; $n=32$), la majorité des latences de réponse variant entre 4 et 10 ms. La latence moyenne des PPSE était de 9.8 ± 2.79 ms (7-15 ms; $n=6$) (Figure 3.16). Les amplitudes des PPSI avaient une moyenne de 2.48 ± 1.68 mV et celle des PPSE était de 2.42 ± 1.37 mV.

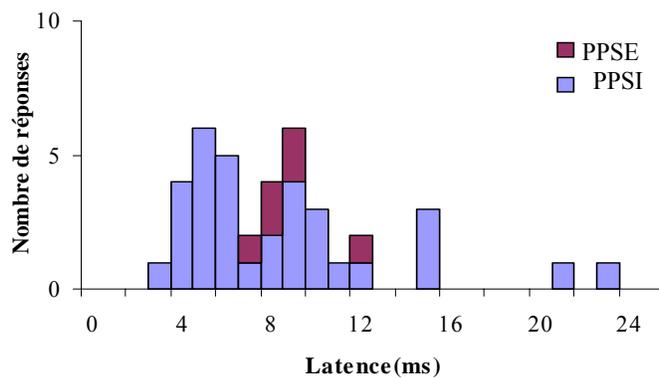


Figure 3.16: Distribution des latences de réponses induites dans les cellules du noyau cochléaire par une stimulation électrique du nerf trijumeau.

3.2.2 Discussion

Le but de cette étude était de déterminer si les projections somesthésiques exercent une influence sur le noyau cochléaire. Des études neuroanatomiques de marquage antérograde et rétrograde chez le rat et le chat ont montré que les neurones des noyaux de la colonne dorsale (noyau cunéiforme et noyau gracile) et du nerf trijumeau, lesquels reçoivent des informations sensorielles provenant du bas de la tête et du pavillon (Miller et Basbaum, 1975; Maslany et coll., 1991), envoient des fibres vers le noyau cochléaire. Ces études ont démontré que les NCoDo et le nerf trijumeau envoient des fibres plus particulièrement vers le NCD et NCV, vers la couche pyramidale du NCD et la couche granulaire du NC. Ces projections sont bilatérales, avec cependant une forte dominance ipsilatérale (Itoh et coll., 1987; Weinberg et Rustioni, 1987; Wright et Ryugo, 1996; Shore et coll., 2000).

Des études électrophysiologiques du noyau cochléaire ont démontré que des stimulations électriques des NCoDo et du nerf trijumeau ou des stimulations tactiles directes du pavillon en particulier, évoquaient des activités dans les neurones du NC. Habituellement ils étaient inhibés, mais pouvaient aussi être excités au niveau de certaines cellules dans les couches profondes du NCD et du NCV (Saadé et coll., 1989; Young et coll., 1995). Saadé et ses collaborateurs ont obtenu moins de réponses inhibitrices que Young et coll. en ont observé. Avec une stimulation électrique des NCoDo, seulement 6/50 des cellules testées par Saadé et coll. (1989) étaient inhibées, comparées aux 57/79 cellules inhibées dans le NCD dans l'étude de Young et coll. (1995). De plus, Saadé et coll. (1989) ont montré un peu plus d'excitation ou de facilitation que Young et coll. (1995). L'éventuelle explication de cette différence serait au niveau de la stimulation des NCoDo. Toutefois, l'inhibition des neurones du NCD serait produite par l'excitation de cellules dans la couche granulaire qui, ensuite, modifie l'activité des cellules principales dans le NCD (Young et coll., 1995).

Nos données suggèrent qu'une grande partie des cellules principales du NC sont sous l'influence de projections provenant des NCoDo et du nerf trijumeau. Les neurones du NC sont donc sensibles aux stimuli auditifs et non-auditifs. Une contribution nouvelle de cette étude est que l'influence des projections des NCoDo et du nerf trijumeau ne sont pas observées seulement dans le NCD, mais aussi dans les deux autres subdivisions du NC (NCAV et NCPV). 65% et 63% des cellules testées dans le NCD sont influencées par la stimulation électrique des NCoDo et du nerf trijumeau, alors que 50 et 23,5% des cellules dans le NCV sont influencées par ces mêmes stimulations respectivement (Tableaux 3.1 et

3.2). Il est à noter que dans le NCV, ce sont les cellules étoilées qui sont le plus influencées, tandis que dans le NCD, ce sont les cellules géantes et pyramidales.

Dans notre étude, les cellules du NC sont principalement inhibées par la stimulation électrique des NCoDo et du nerf trijumeau. Dans quelques cas, nous avons observé une réponse excitatrice des neurones du NC suite à la stimulation des NCoDo et du nerf trijumeau. Ces observations sont en accord avec des études in-vivo précédentes stimulant électriquement les voies somatosensorielles et démontrant un effet inhibiteur sur les cellules du NC (Young et coll., 1995).

L'application de strychnine lors de la stimulation des NCoDo et du nerf trijumeau a bloqué les réponses inhibitrices induites auparavant. Ces résultats suggèrent que les influences provenant des NCoDo et du nerf trijumeau impliquent des circuits dans lesquels une transmission glycinergique est présente. Cela confirme que la glycine joue un rôle majeur dans les circuits inhibiteurs du NC (voir discussion chapitre précédent).

Les amplitudes des PPSI et des PPSE induits par la stimulation des NCoDo (moyenne de 2.73 et 2.9 mV respectivement) et du nerf trijumeau (moyenne de 2.48 et 2.42 mV respectivement) sont généralement assez petites. Ces résultats pourraient avoir une relation, dans ce cas, avec les propriétés morphologiques des voies et/ou en fonction du nombre de synapses. De plus, les réponses induites ont des latences longues et dispersées: entre 2.8 et 19.2 ms pour la stimulation des NCoDo et entre 3.4 et 23 ms pour la stimulation du nerf trijumeau. Ces valeurs de latences suggèrent des transmissions polysynaptiques des NCoDo et du nerf trijumeau. On peut en conclure que les projections des NCoDo et du nerf trijumeau vers le NC n'établissent pas des contacts directs avec les neurones principaux du NC mais plutôt des contacts indirects (via la couche granulaire) et sont fonctionnels dans les trois subdivisions du NC. Des récentes études, utilisant un marquage antérograde et rétrograde, ont démontré qu'une des cibles de ces projections somatosensorielles est le domaine des cellules granulaires du NC (Wright et Ryugo, 1996, Haenggeli et coll., 2002). Le domaine des cellules granulaires reçoit plusieurs types d'entrées et projette principalement vers le NCD, qui en retour projette vers des structures auditives plus centrales.

Pour conclure, une large proportion des cellules principales du NC sont influencées par la stimulation des NCoDo et du nerf trijumeau ce qui suggère que le NC pourrait donc jouer un rôle d'intégration polysensorielle en plus de ses fonctions auditives. Mais, très vraisemblablement l'importance fonctionnelle des projections du NCoDo au NC se situe dans le contexte de la prise en compte de la position de la tête et des oreilles dans le traitement de l'information relative à la position d'une source sonore dans l'espace. De même que pour le

systeme visuel, le traitement de l'information est effectue dans un referentiel donne, par exemple externe ou interne (retine, differentes parties du corps). Dans le cas present de la determination de la position d'une source sonore dans l'espace, il reste a determiner quels sont les referentiels utilises a differents etages du systeme auditif en general et dans le NC en particulier.

3.3 Chapitre expérimental 3: *Projections du cortex auditif vers le noyau cochléaire: une étude anatomique in vivo et électrophysiologique in vitro.*

Le NC reçoit des entrées auditives descendantes qui constituent une proportion substantielle de connexions dans le système auditif (Huffman et Henson, 1990; Romand et Avan, 1997; Rouiller, 1997). Des projections auditives descendantes vers le NC proviennent du NC contralatéral (Cant et Gaston, 1982; Wenthold, 1987; Shore et coll., 1992; Schofield et Cant, 1996), du COS (Adams, 1983; Spangler et coll., 1987; Brown et coll., 1988; Schofield et Cant, 1999; Schofield et Coomes, soumis EBR), du noyau dorsal du latéral lemniscus (Caidedo et Herbert, 1993) et du CI (Van Noort, 1969; Carey et Webster, 1971; Adams et Warr, 1976; Kane, 1977; Andersen et coll., 1980; Conlee et Kane, 1982; Hashikawa, 1983; Faye-Lund, 1986, 1988; Coleman et Clerici, 1987; Herbert et coll., 1991; Malmierca et coll., 1996; Schofield, 2001; Schofield et Coomes, soumis EBR). Le cortex auditif est la région la plus éloignée donnant des projections auditives descendantes vers le NC. Pendant très longtemps, on a cru que le CA n'influçait le NC que par des voies indirectes. Cependant, des expériences anatomiques récentes (Feliciano et coll., 1995; Weedman et Ryugo, 1996a, b; Saldaña et coll., 1996; Schofield et coll., 2001; Doucet et coll., 2002) ont démontré l'existence de projections directes, bilatérales du CA au NC. Il a été montré que les projections du CA au NC chez le rat et le cochon d'Inde arrive de la couche V du cortex et se termine principalement dans le domaine des cellules granulaires du NC (Weedman et Ryugo, 1996a, b; Schofield et coll., 2001). Toutefois, la relation précise entre l'origine des projections dans le CA et la distribution des terminaisons dans le NC est largement inconnue. Bien que l'existence d'entrées auditives descendantes vers le NC suggère un mécanisme possible pour un contrôle cortical des informations afférentes à la périphérie, la nature fonctionnelle des influences exercées par les projections descendantes directes du CA vers le NC sont inconnues.

C'est pourquoi, le but de cette étude était double. Le premier but était d'étendre les données anatomiques disponibles, en établissant la distribution des axones corticobulbaires dans le NC. Le second objectif était d'évaluer les effets de l'activation des projections descendantes du CA au NC. Deux types d'expérience ont été conduits pour répondre à ces questions. Premièrement, la distribution des axones corticobulbaires dans le NC a été établie neuroanatomiquement *in vivo*, basé sur des injections restreintes d'un traceur antérograde, biotynylated dextran amine (BDA), dans des sites caractérisés physiologiquement dans le CA. Deuxièmement, la préparation IWB a été utilisée pour faire des enregistrements et marquage

intracellulaires des neurones individuels dans le NC dans le but de tester la présence et les propriétés physiologiques des réponses synaptiques à une stimulation électrique du CA. Du fait qu'il est impossible d'enregistrer des petits neurones intracellulairement dans cette préparation, les effets de la stimulation du CA ont donc été évalués seulement pour les cellules principales du NC.

3.3.1 Méthode pour les expériences neuroanatomiques *in vivo*

Pour ces expériences, des injections de BDA dans le CA ont été réalisées sur cinq cochons d'Inde (poids 530-850g). Sous une anesthésie générale (Diazepam 8mg/kg suivie 15 mn plus tard par du Pentobarbital 20 mg/kg, voir Evans, 1979), une craniotomie (environ 5 x 8 mm) a été faite sur l'os temporal. Des petites ponctions ont été pratiquées dans la dure-mère sous contrôle microscopique pour insérer des micropipettes en verre à basse impédance (< 3 M Ω), suivies par des enregistrements multiunitaires (3-5 neurones) à une profondeur de 500-1000 μ m. La fréquence préférentielle à chaque site d'enregistrement a été déterminée entre 20 et 80 dB SPL utilisant un système de présentation des sons suivant le protocole de Manunta et Edeline (1997, 1999). Brièvement, des séquences de sons purs de fréquences croissantes (fréquence 0.1-35 kHz, 100 ms de durée, 1 s d'intervalle entre les sons) ont été délivrées à l'oreille contralatérale. Les affichages en ligne des histogrammes post-stimulateurs ont suivi la détermination de la fréquence préférentielle à chaque intensité. Une progression régulière FC de basses à hautes de rostral à caudal a été interprétée comme typique du champ tonotopique de AI, alors qu'une progression régulière de la FC de haute à basse a été considérée comme typique du champ DC (Redies et coll., 1989; Wallace et coll., 2000). Les localisations dans les champs auditifs secondaires (DCB, *Dorsocaudal belt*, VCB, *ventrocaudal belt*; Wallace et coll., 2000) ont été caractérisées par (i) des réponses à longue latence, (ii) courbes d'accords très larges et (iii) une absence de tonotopie. Dans des sites caractérisés précédemment électrophysiologiquement, une pipette (diamètre de la pointe : 25-50 μ m) contenant de la BDA (10%, Molecular Probes, Eugene, OR) a été descendue à une profondeur de 1500 μ m au dessous de la surface et le traceur a été injecté iontophorétiquement durant 45 min (8 μ A, courant positif, 7 seconds "on/off"). Après un temps de survie de 7-10 jours, les animaux ont été profondément anesthésiés (Pentobarbital, 120 mg/kg) et ont été perfusés avec une solution de PFA 4% PFA dans du tampon phosphate 0.1 M (pH 7.4). Le cerveau a été post-fixé par immersion dans le fixateur durant 24 heures,

puis placé dans une solution de sucrose à 30% pour cryoprotection. Des sections coronales (40µm) ont été préparées avec un microtome à congélation et collectés dans du tampon Tris 0.05 M (pH 7.6). La BDA a été visualisée en utilisant un protocole décrit par Bajo et coll. (1999). Les sections individuelles ont été examinées au microscope à fond clair (4x, 10x, 20x, et 40x) et les reconstructions des axones corticobulbaires ont été réalisées en utilisant un tube à dessiner.

La division du NC et la nomenclature correspondante utilisée dans cette étude est dérivée d'une description originale du NC de cochon d'Inde par Hackney et coll. (1990) dans du matériel de Nissl. Caudalement, le NCD est subdivisé en 4 couches. Rostralement, le NCV contient deux régions distinctes, les subdivisions NCAV et NCPV séparées par la racine du nerf auditif. NCAV correspond au noyau "sca" de Hackney et coll., (1990), comprenant principalement des cellules sphériques. NCPV inclut les noyaux "gca" et "oca" de Hackney et coll., (1990), formé principalement par les cellules globulaires et les cellules octopus, respectivement. En plus, quelques territoires formés par des petits neurones entourent le NC. Ils constituent la couche superficielle granulaire ("sgrl") recouvrant la surface latérale et dorsale du NCV, la lamina granulaire ("lam") séparant le NCD et le NCPV, et la région de cellules cap ("cap") localisée médialement entre le bord dorsal de NCPV et le "sgrl". Pour simplifier, "lam" et "sgrl" sont groupés dans notre étude, et est référé comme le domaine des cellules granulaires (DCG).

3.3.2 Résultats

3.3.2.1 Expériences in vivo

Les sites d'injection de BDA sont illustrés dans la figure 3.14. Dans deux cochons d'Inde, la BDA a été injectée dans l'aire AI dans des sites où la FC était de 21 kHz et 2.1 kHz, respectivement. Dans deux autres cochons d'Inde, les injections de BDA ont été placées dans l'aire DC, où la FC était de 29 kHz et 0.9 kHz, respectivement. Finalement, un cochon d'Inde a reçu une injection de BDA dans l'aire DCB dans un site où la FC était de 29 kHz (Tableau 1). Dans tous les animaux injectés dans AI ou DC (n = 4), les champs de terminaisons marqués par la BDA, incluant les axones et les boutons en passant, sont présents dans le NC soit bilatéralement ou ipsilatéralement. Par contre, aucun axone marqué n'a été trouvé dans le NC soit ipsilatéralement ou contralatéralement comme résultat de l'injection dans l'aire DCB (Animal 38, Tableau 2).

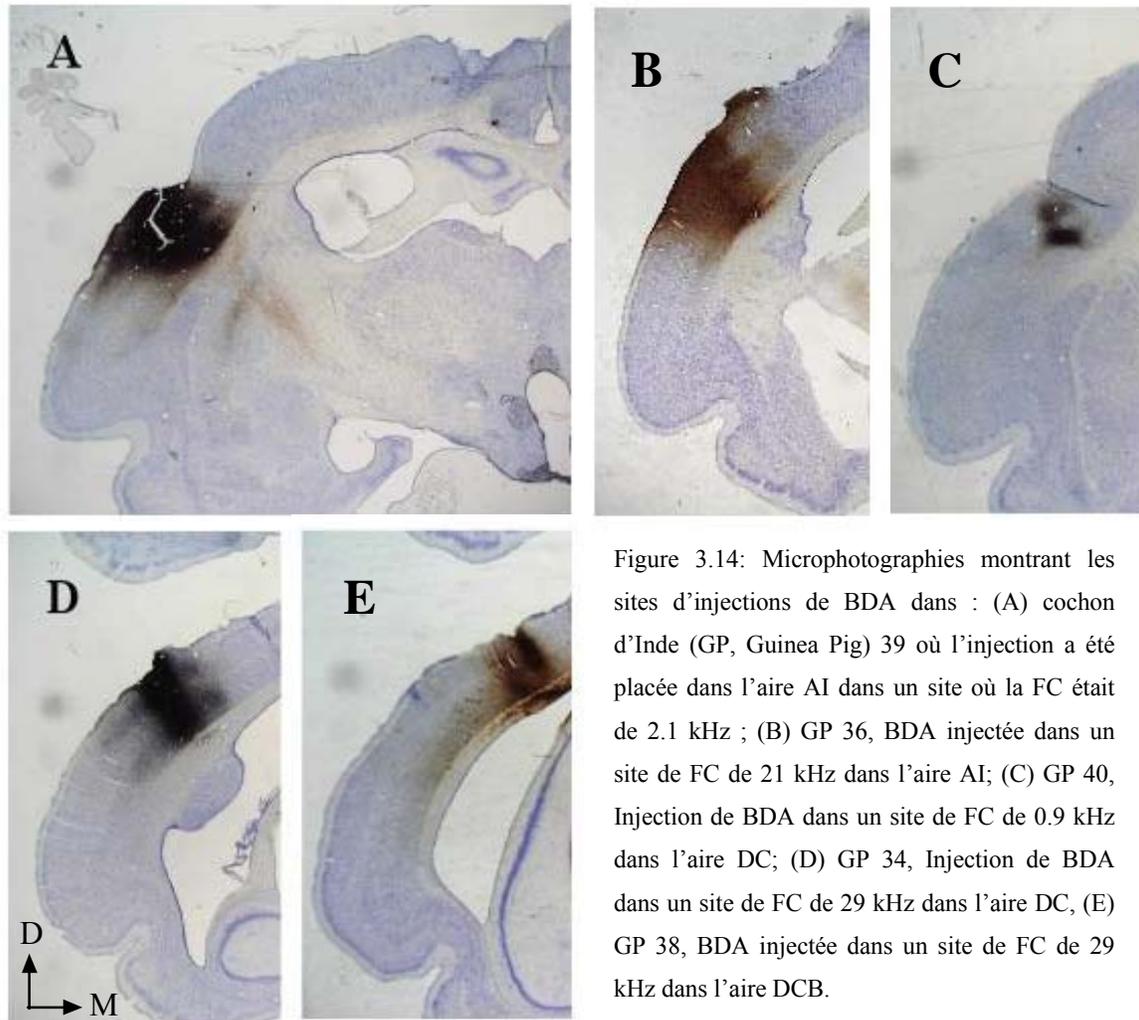


Figure 3.14: Microphotographies montrant les sites d'injections de BDA dans : (A) cochon d'Inde (GP, Guinea Pig) 39 où l'injection a été placée dans l'aire AI dans un site où la FC était de 2.1 kHz ; (B) GP 36, BDA injectée dans un site de FC de 21 kHz dans l'aire AI; (C) GP 40, Injection de BDA dans un site de FC de 0.9 kHz dans l'aire DC; (D) GP 34, Injection de BDA dans un site de FC de 29 kHz dans l'aire DC, (E) GP 38, BDA injectée dans un site de FC de 29 kHz dans l'aire DCB.

Cochon d'Inde	Localisation de l'injection	FC (kHz)	Présence d'axones marqués dans:	
			NC ipsilatéral	NC contralatéral
GP-34	DC	29	Oui	Non
GP-36	AI	21	Oui	Non
GP-38	DCB	29	Non	Non
GP-39	AI	2.1	Oui	Oui
GP-40	DC	0.9	Oui	Oui

Tableau 2: Propriétés des sites d'injection de BDA dans le CA et présence d'axones marqués dans le NC

Les axones marqués par la BDA vont du CA vers la partie la plus dorsale du pédoncule cérébral et atteignent le lemniscus latéral dans son coin rostral. Venant du lemniscus latéral, les fibres provenant de CA vont en direction de la strie acoustique dorsale et

entrent dans le NCD. Dans le NCD, ils vont dans la couche III et IV, dorsalement à ventralement et médialement à latéralement. La majorité des axones ont été observés dans le DCG entourant le NC et quelques-uns de ceux-ci ont atteint le NCPV. Très peu d'axones marqués ont été vus dans le corps trapézoïde.

Les terminaisons axonales marquées ont été observées dans des zones très restreintes du NC ipsilatéral dans quatre animaux. Dans deux de ces cochons d'Inde, quelques terminaisons axonales ont été trouvées aussi dans le NC contralatéral, mais elles étaient beaucoup moins nombreuses que dans le NC ipsilatéral. Les terminaisons axonales marquées ont été observées dans le NC contralatéral seulement dans les deux animaux ayant subi une injection dans des régions de basse FC (Tableau 1). Un exemple de distribution des champs terminaux marqués dans le NC ipsilatéral et contralatéral est montré dans la figure 3.15 pour deux animaux. La figure 3.15A montre que les axones marqués ont été retrouvés seulement dans le NC ipsilatéral après une injection dans AI, où la FC était de 21 kHz. La figure 3.15B montre la localisation des champs terminaux dans le NC bilatéralement, suite à l'injection dans DC où la FC était de 0.9 kHz. En tant que conclusion générale, les champs terminaux marqués sont présents principalement dans le DCG de NC et dans la région "cap". Peu d'axones marqués ont été vus dans les trois subdivisions du NC, avec une densité décroissante du NCD au NCPV et au NCAV. Après l'injection de BDA dans des sites du CA où la FC est élevée, le marquage axonal tendait à être localisé plus caudalement dans le NC (Fig. 3.15A) qu'après une injection dans des sites à basse FC (Fig. 3.15B rangée supérieure). Confirmant des études antérieures (Schofield et coll., 2001), les terminaisons axonales observées correspondent à des boutons sphériques *en passant* ou *terminaux*, comme illustrés dans la Figure 3.16 pour les champs terminaux dans le DCG et le NCD. Le diamètre des boutons était inférieur à un micron.

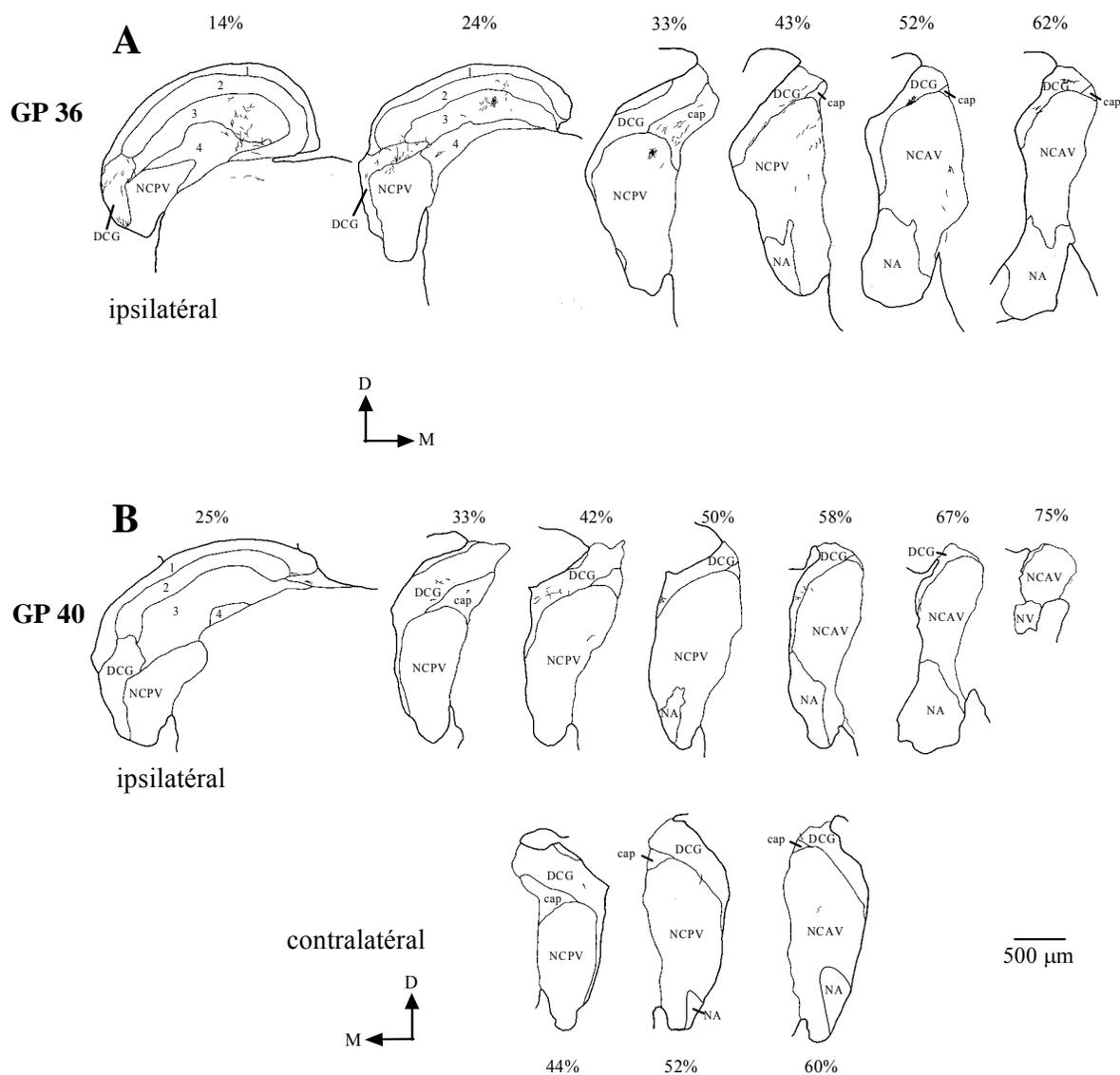


Figure 3.15: Distribution des axones marqués par la BDA dans le NC ipsilatéral du cochon d'Inde 36 (GP 36) et bilatéralement dans le cochon d'Inde 40 (GP 40). (A): GP 36, BDA a été injectée dans AI dans un site à FC de 21 kHz. (B): GP 40, BDA a été injectée dans le DC dans un site à FC de 0.9 kHz. Les coupes de NC sont arrangées de caudal (gauche) à rostral (droite). Le pourcentage indique le niveau caudorostral de chaque section où 0% est la limite caudale du NC et 100% sa limite rostrale. 1, 2, 3, 4 sont les quatre couches du NCD; NCPV: noyau cochléaire postéroventral; NCAV: noyau cochléaire antéroventral; cap: région de cellules cap du NCD; NA: nerf auditif; NV: nerf vestibulaire; DCG: domaine des cellules granulaires. Sur cette figure et deux figures suivantes les flèches de direction indiquent : D dorsal; M médial.

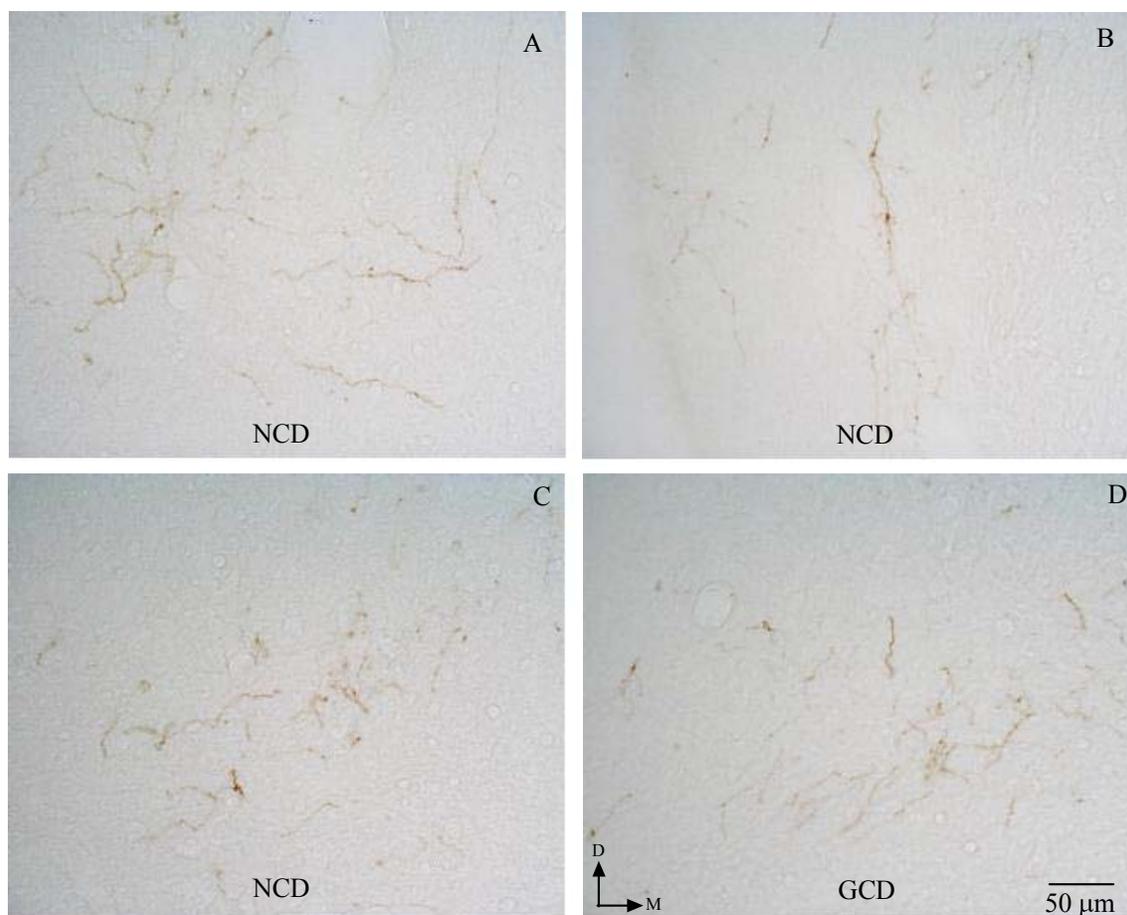


Figure 3.16: Photographies illustrant des exemples d'axones marqués antérogradement par la BDA dans le cochon d'Inde 36. A-B: champs terminaux marqués dans le NCD de la section correspondant à 14% du niveau caudorostral montré dans la figure 3.15A. C-D: champs terminaux marqués dans le NCD et dans la DCG de la section correspondant à 24% du niveau caudorostral montré dans la figure 3.15A.

3.3.2.2 Expériences in vitro

Etant donné que les projections du CA sur le NC sont principalement ipsilatérales (voir ci-dessus), les effets physiologiques sur les cellules du NC ont été testés par la stimulation électrique du CA ipsilatéral.

Nous avons testé l'effet de la stimulation du CA sur 52 cellules principales du noyau cochléaire dans 28 préparations IWB. Les neurones testés étaient localisés dans les trois subdivisions du NC: CNAV; CNPV; CND. Dans le CNAV, l'activité de 11 neurones a été enregistrée. Sept ont été retrouvés sur les coupes histologiques et ont été identifiés comme des cellules de type étoilée ($n = 6$) ou en buisson ($n = 1$). Les quatre autres neurones n'ont pas été retrouvés ou identifiés sur les coupes histologiques, à cause d'un marquage insuffisant ou

parce qu'ils n'avaient pas pu être marqués après la caractérisation physiologique. Parmi les 24 neurones enregistrés dans le CNPV, 7 ont été identifiés comme des cellules étoilées, 2 comme des cellules octopus et 15 n'ont pas été identifiés. Enfin la population des 17 neurones enregistrés dans le NCD, comprenait 3 cellules géantes, 3 cellules pyramidales, 2 cellules verticales, 2 cellules étoilées et 7 cellules non identifiées. La localisation dans le NC du corps cellulaire de tous les neurones identifiés est illustrée dans la Figure 3.17, suite à la transposition des coupes IWB sur un NC de référence, (Hackney et coll. 1990).

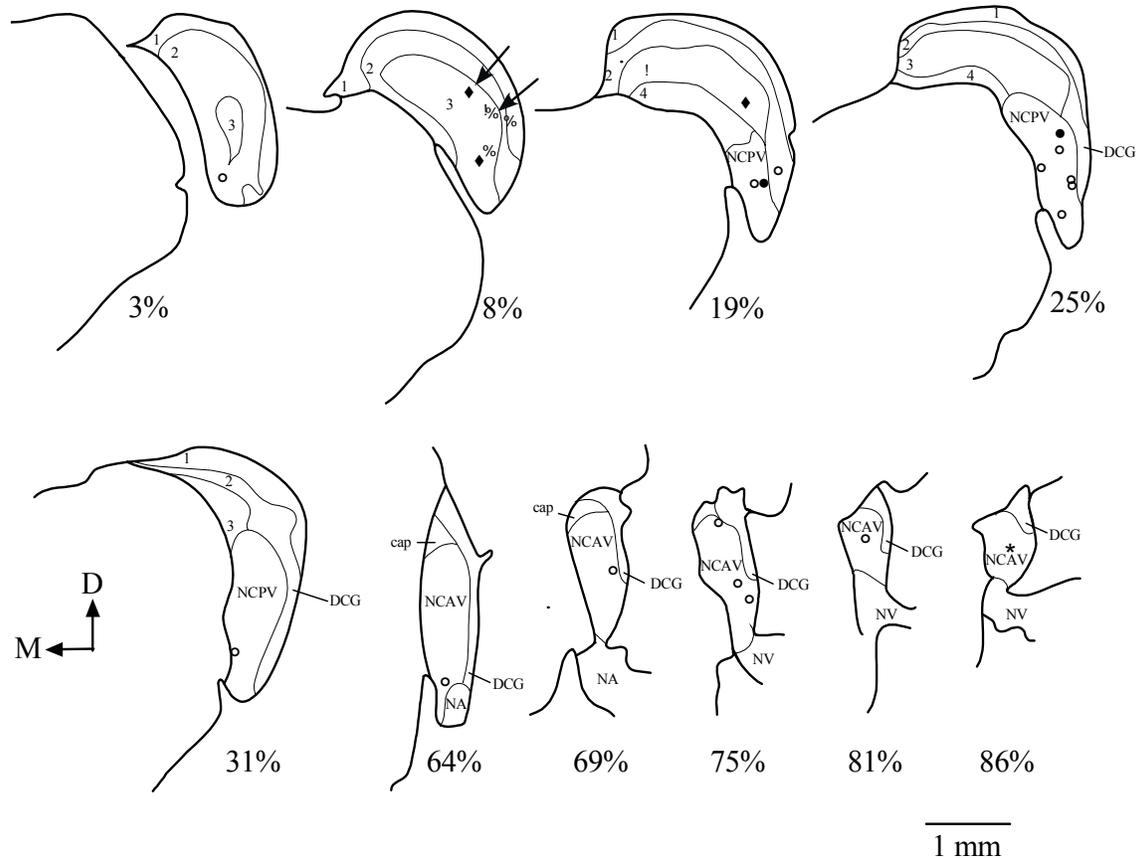


Figure 3.17: Distribution de toutes les cellules identifiées dans le NC dans les expériences *in vitro*. Le cerveau d'un cochon d'Inde à été sectionné dans un plan coronal dans le but d'établir un NC de référence (atlas). Les coupes individuelles provenant de la préparation du cerveau isolé sont superposées aux coupes rostrocaudales correspondantes de l'atlas pour positionner les neurones marqués intracellulairement. 1, 2, 3, 4 sont les quatre couches du NCD; NCPV: noyau cochléaire postéroventral; NCAV: noyau cochléaire antéroventral ; cap: région de cellules cap du NCD; NA: nerf auditif; DCG: domaine des cellules granulaires; NV: nerf vestibulaire. Les pourcentages indiquent le niveau caudorostral comme dans la Figure 3.15. Les flèches indiquent les deux cellules qui ont répondu à la stimulation du CA. * = cellules en buisson, ° = cellules étoilées, ◆ = cellules géantes, ▲ = cellules pyramidales, ■ = cellules verticales, ● = cellules octopus.

Une stimulation électrique isolée du CA a induit des réponses seulement dans 2 des 52 cellules testées (4%). Aucune réponse à la stimulation du CA n'a été observée dans la grande majorité des neurones, même si beaucoup d'entre eux ont répondu à la stimulation électrique

délivrées à d'autres structures d'entrées auditives ou non auditives au NC (e.g. NA contralateral, NCoDo, NT). Un train de stimulation électrique du CA (3-6 pulses à 100-250 Hz), testé dans environ 50% des cellules, n'a pas donné lieu à des réponses différentes de ce qui a été observé avec une stimulation isolée. Les 2 cellules du NC répondant à la stimulation étaient localisées dans le NCD (voir flèches dans Fig. 3.17) et montrent des propriétés morphologiques typiques des cellules géantes et pyramidales, respectivement. La morphologie de la cellule géante est illustrée dans la Figure 3.18A, et sa localisation dans le NC est illustrée dans la Figure 3.18B. L'axone de la cellule quitte le NC dans la direction de la strie acoustique dorsal (flèches de la Fig. 3.18B), sans émettre des collatérales dans le noyau lui-même.

Les deux cellules avaient des propriétés physiologiques similaires, qui sont illustrées dans la Figure 3.18C pour la cellule géante. Toutes les deux cellules répondaient par une séquence de PPSE et PPSI à la stimulation du nerf auditif ipsilatéral et par un PPSE avec une très longue latence à la stimulation du CA. La stimulation du CA évoque un PPSE de 2.9 mV avec une latence de 20 ms chez la cellule géante (Fig. 3.18C). Pour la cellule pyramidale, le PPSE avait une amplitude de 7 mV et une latence de 33 ms (non montré). Ces latences suggèrent que les réponses des neurones du NC à la stimulation du CA sont induites polysynaptiquement.

Afin d'assurer la stimulation dans une zone adéquate du CA, les potentiels de champs induits par la stimulation du nerf auditif ont été systématiquement enregistrés à travers l'électrode de stimulation placée dans le CA. La Figure 3.18D illustre un exemple de réponses dans le CA à la stimulation du nerf auditif ipsilatéral et contralatéral dans le même animal. La stimulation des nerfs auditifs a évoqué un potentiel de champ monophasique dans le CA. La latence de ces potentiels de champ était entre 10-15 ms et leurs amplitudes variaient de 0.1 à 0.5 mV d'une expérience à l'autre. Ces données confirment que la localisation des stimulations électriques était bien dans le CA.

Figure 3.18 →

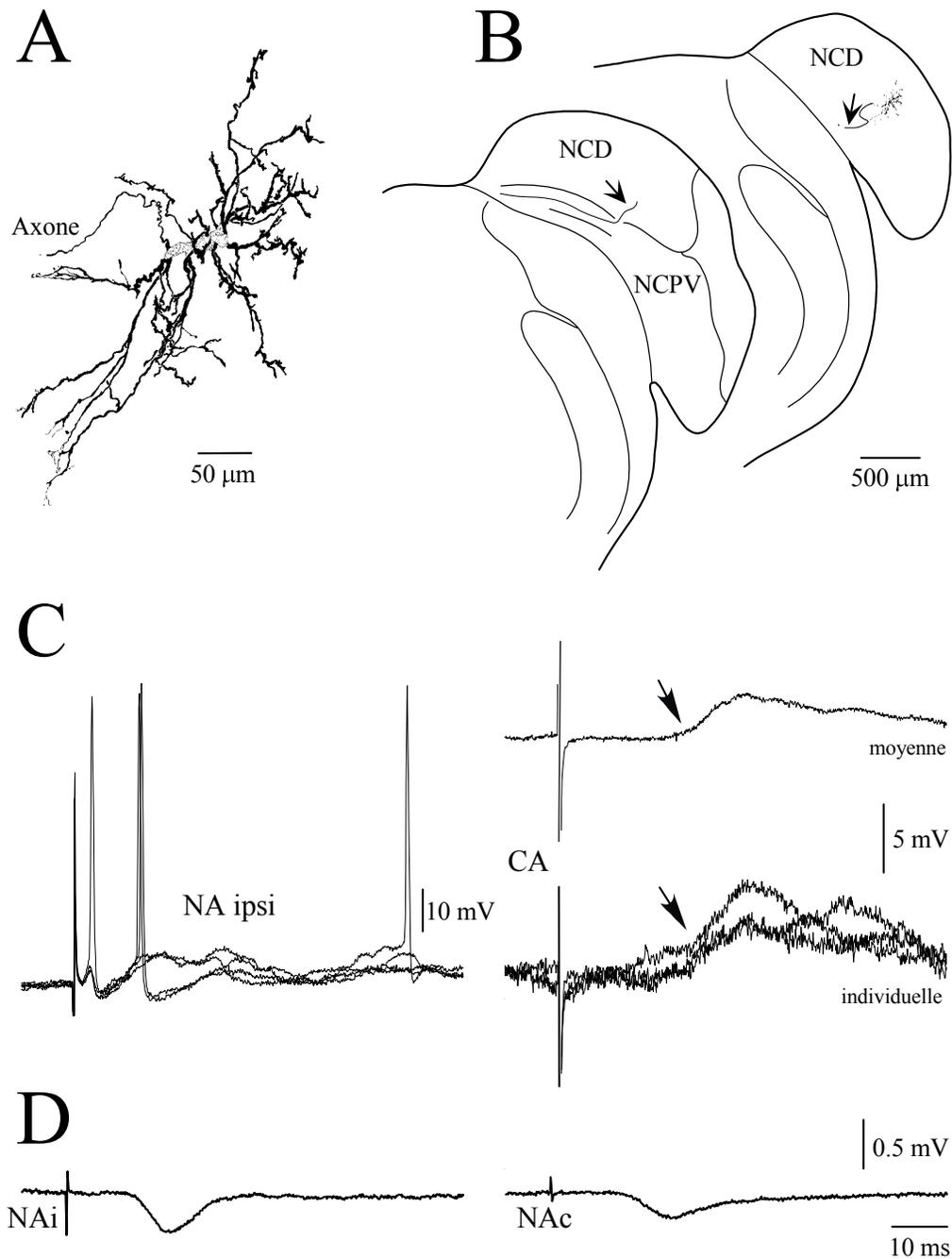


Figure 3.18: Caractéristiques physiologiques et morphologiques d'une cellule géante dans le NCD. (A) Reconstruction à fort grossissement du neurone, pour lequel sa localisation est montrée sur une coupe transversale du NC (B). Les flèches montrent l'axone de la cellule. (C): Enregistrements intracellulaires de la cellule à un potentiel de membrane de -60 mV. Les réponses induites par la stimulation du nerf auditif ipsilatéral (colonne gauche, NA ipsi, traces individuelles) ou le cortex auditif (colonne droite, CA, moyennes et traces individuelles). Les flèches indiquent le début de la réponse. (D): Potentiels de champ dans le CA en réponse à une stimulation du nerf auditif contralatéral (NAc) et du nerf auditif ipsilatéral (NAi), enregistrés dans la même expérience. Moyennes de 10-20 réponses.

3.4.3 Discussion

La contribution originale de cette étude est d'étendre les données sur les projections du CA vers le NC, en introduisant les caractéristiques physiologiques des sites d'injection du CA et une investigation des effets corticobulbaires dans la préparation IWB. Le transport antérograde de la BDA a été utilisé pour localiser les champs terminaux formés par la projection directe du CA au NC. Les axones corticobulbaires se terminent principalement dans le domaine des cellules granulaires du NC ipsilatéral et, un peu moins étendu, dans le NCPV et NCD. Ces résultats sont conformes avec des études précédentes de marquage antérograde et rétrograde chez le rat et le cochon d'Inde montrant des projections directes du CA au NC (Weedman et Ryugo, 1996a, b; Schofield et coll., 2001). Nous avons trouvé quelques terminaisons axonales dans le NC contralatéral, mais beaucoup moins que dans le NC ipsilatéral. Cette observation est aussi en accord avec une étude récente, basée sur un traçage antérograde chez le cochon d'Inde et démontrant des projections bilatérales du CA vers le NC, avec une prédominance de projections ipsilatérales (Schofield et coll., 2001). Le point nouveau de la présente étude est que les projections contralatérales du CA n'ont pas été observées dans les deux animaux ayant subi une injection de BDA dans des régions de AI ou DC à haute FC. Ces résultats ne sont pas dus à des petites injections dans les sites (voir Fig 3.14B et D) et/ou à un marquage insuffisant (voir Fig. 3.16). Néanmoins, les différences observées entre les projections provenant de régions à haute versus basse FC sont basées sur un petit nombre d'animaux ($n = 4$) et restent à confirmer.

Comme mentionné précédemment, dans nos expériences physiologiques utilisant la préparation IWB, les effets produits par la stimulation du CA n'ont pu être testés que sur les cellules principales du NC. En effet, les neurones du DCG et du "cap" sont de trop petite taille pour être empalés et enregistrés intracellulairement. Les réponses induites par la stimulation du CA, qui n'ont été observées que dans deux cellules du CND, avaient de très longues latences suggérant leur origine polysynaptique. Donc, il peut être conclu que les projections du CA vers les trois subdivisions du NC et vers la couche granulaire, n'établissent probablement pas des contacts directs avec le soma ou les dendrites des cellules principales du NC. De plus, les effets polysynaptiques ont été observés dans un très faible pourcentage (4%) de neurones principaux enregistrés dans le NC. Cette rareté d'effets observés est cohérente avec les projections relativement peu denses obtenues dans le NCAV, NCPV et le

NCD suite à une injection de BDA dans le CA. En revanche, beaucoup plus de projections ont été trouvées dans la couche de cellules granulaires. Le DCG consiste en une feuille continue de petites cellules qui entourent le NCV et pénètrent dans le NCD comme la couche II (Mugnaini et coll., 1980). Ces petites cellules se projettent sur les cellules principales du NC ou d'autres cellules qui contactent eux-mêmes des cellules principales du NC. Par conséquent, on peut se demander pourquoi nous avons observé si peu de réponses polysynaptiques induites par la stimulation du CA dans cette étude. Une explication possible pourrait être que la stimulation du CA et/ou la position des électrodes de stimulation dans le CA ne serait pas optimale. Toutefois, nous pensons que cet argument peut être éliminé pour deux raisons. Premièrement, la position des électrodes de stimulation dans le CA a été confirmée par l'enregistrement, à travers les mêmes électrodes, d'un potentiel de champ en réponse à la stimulation des nerfs auditifs. Deuxièmement, la large distance interpolaire des électrodes de stimulation et le courant élevé de la stimulation suggère qu'une large aire du CA et, par conséquent, un grand nombre de cellules corticales étaient activées dans nos expériences. L'observation des rares effets induits par les projections du CA dans les neurones du NC ne pourrait pas probablement être due à un circuit altéré du DCG ou encore d'autres circuits polysynaptiques dans la préparation du cerveau isolé. En effet, dans les mêmes expériences, une large proportion de cellules principales du NC répondait à la stimulation d'autres sources d'entrées du NC (e.g. NCoDo, NT; voir Babalian et coll., 2001) connus pour opérer aussi principalement à travers le DCG (Itoh et coll., 1987; Wright et Ryugo, 1996; Shore et coll., 2000, Ryugo et al, 2003). Cette comparaison dans les mêmes conditions expérimentales supporte donc l'interprétation que les projections du CA exercent réellement une influence plus limitée sur les neurones principaux du NC, que les deux autres sources d'entrées non auditives mentionnées ci-dessus. Les raisons pour cette influence limitée de la projection corticobulbaire ne sont pas connues. On peut spéculer que la densité des projections et/ou la fiabilité de la transmission synaptique dans la couche granulaire ou autres circuits polysynaptiques sont moindres pour les projections provenant du CA. Par exemple, la stimulation du CA pourrait produire principalement des modulations sous-liminales du potentiel de membrane dans des petits interneurons, ce qui résulterait qu'aucun effet ne serait visible dans les neurones du NC. L'échec possible des entrées du CA pour générer des potentiels d'action dans des petites cellules relais devrait avoir comme conséquence de rares observations de réponse au niveau des neurones principaux du NC. Cette explication contredit légèrement nos expériences utilisant un train de stimulation du CA, mis sur pied pour produire une sommation temporelle de réponses synaptiques et par conséquent des décharges dans les

neurones relais entre le CA et les cellules du NC. Pourtant il est possible que les paramètres du train de stimulation ne soient pas optimaux dans notre étude. Donc, les influences du CA sur les cellules granulaires et les autres interneurons du NC reste à être élucidées.

La nature polysynaptique des réponses excitatrices induites par le CA dans deux cellules du NCD, observée dans ces expériences, suggère une possibilité alternative que ces effets soient dus à une activation des projections du CA vers le CI et/ou vers le COS, qui ensuite projette vers le NC. L'existence de ces voies est bien documentée (Games et Winer, 1988; Herbert et coll., 1991; Feliciano et Potashner, 1995; Saldaña et coll., 1996; Malmierca et coll., 1996; Schofield et Cant, 1999; Budinger et coll., 2000; Schofield, 2001; Coomes et Schofield, 2001). Toutefois, cette possibilité semble être peu probable pour les raisons suivantes. Nos résultats précédents, obtenus dans la préparation IWB indiquent que la stimulation électrique du CI et des entrées auditives et non auditives du tronc cérébral vers le NC produit principalement des effets inhibiteurs dans une vaste majorité des cellules du NC (Babalian et coll., 2002; Jacomme et coll., 2002). Par contre, les deux réponses observées dans cette étude étaient excitatrices. De plus, la stimulation du CI et des entrées provenant du tronc cérébral vers le NC induit habituellement des réponses synaptiques dans les cellules du NC à des latences relativement courtes (moins de 10 ms). Même si nous tenons compte de la propagation et du retard synaptique lié aux activations additionnelles des projections du CA vers le CI et/ou tronc cérébral, les valeurs résultantes seraient peu compatibles avec les latences des réponses dans cette étude (20 et 33 ms). Donc, nous pensons que les réponses avec de longues latences sont générées à travers les projections du CA vers le NC et le traitement lent des signaux compatible avec le circuit des cellules granulaires ou d'autres circuits interneuronaux dans le NC. Le fait que les effets des stimulations du CA soient observés seulement dans les cellules du NCD pourrait indiquer que le CA influence préférentiellement, bien que de manière faible, les cellules principales du NCD. Cette interprétation est cohérente avec notre observation d'une projection plus dense du CA sur NCD que sur les autres subdivisions du NC.

En conclusion, les données anatomiques montrent des projections très éparses du CA vers les trois subdivisions du NC, tandis qu'elles sont plus denses dans le DCG. Les résultats physiologiques dans la préparation IWB indiquent l'existence d'une action modulatrice limitée du CA sur les cellules principales du NC. Donc, chez le cochon d'Inde, le CA pourrait moduler l'activité du NC essentiellement au niveau des cellules granulaires et des interneurons.

4. DISCUSSION GENERALE

4.1 Principales contributions du présent travail

Cette étude avait pour objectif de décrire l'intégration fonctionnelle du système auditif au niveau du noyau cochléaire (NC). Le NC reçoit des informations acoustiques provenant du nerf cochléaire, traite ce signal et envoie des messages modifiés sortants vers d'autres centres du cerveau via les voies auditives ascendantes. La corrélation entre les types morphologiques de cellules définies dans le NC et les réponses unitaires ne sont pas encore totalement élucidées. De plus, des études antérieures (Cant et Gaston, 1982; Itoh et al., 1987; Feliciano et al., 1995; Malmierca et al., 1996) ont démontré que les différents types de cellules dans le NC ne peuvent pas être exclusivement caractérisés par les entrées provenant du nerf cochléaire ipsilatéral et leurs implications dans les circuits locaux mais aussi par les voies auditives descendantes et d'une variété d'autres structures cérébrales qui modulent l'activité du NC. Ces projections sont originaires de structures auditives telles que le NC contralatéral, le complexe de l'olive supérieure, le colliculus inférieur ou le cortex auditif, aussi bien que de structures non auditives incluant les noyaux de la colonne dorsale, le nerf trijumeau et le nerf et noyaux vestibulaires. Dans cette étude, en utilisant une préparation de cerveau isolé *in vitro*, nous avons mis l'accent sur les projections provenant du nerf auditif contralatéral, des noyaux de la colonne dorsale, du nerf trijumeau ainsi que du cortex auditif.

L'investigation intracellulaire de ces entrées incluant une analyse des projections fonctionnelles vers les neurones du NC est pratiquement impossible en utilisant des techniques standard *in vivo*. Les enregistrements intracellulaires *in vivo* sont des techniques extrêmement difficiles du fait des mouvements de la préparation résultant des activités cardiaques et respiratoires de l'animal. Le NC est particulièrement instable à cause des pulsations cérébrales et il est très vulnérable au protocole chirurgical. Les neurones sont hautement susceptibles de subir des dommages résultant de l'implantation de l'électrode. Pour notre étude, nous avons utilisé une préparation de cerveau isolé *in vitro*. Cette préparation combine les avantages des préparations classiques de tranches *in vitro* : stabilité des enregistrements, thermorégulation, pharmacologie, etc... avec, en plus, la préservation des connexions d'un cerveau intact que l'on retrouve dans les préparations *in vivo*. L'avantage le plus important de la préparation du cerveau entier *in vitro* est que l'isolation complète du cerveau fournit, en plus du contrôle de l'environnement liquide, l'accès direct aux aires du cerveau que l'on veut stimuler (dans notre étude, le NA contralatéral, les NCoDo, le nerf

trijumeau et le cortex auditif) et la possibilité de dériver des enregistrements intracellulaires stables, à partir des neurones du NC dans notre cas.

La stimulation du NA contralatéral a induit exclusivement des réponses inhibitrices dans environ 60% des cellules principales incluant les cellules de type en buisson et étoilé. Ces réponses sont habituellement induites à des latences suggérant des transmissions di- et tri-synaptiques. Les cellules du NCAV seraient sous un contrôle inhibiteur provenant du NA contralatéral et donc suggèrerait que les interactions binaurales sont déjà présentes au niveau du NC. Donc le NC devrait être impliqués dans les mécanismes binauraux de la localisation du son et de l'audition directionnelle, en ayant la possibilité de mettre en place un pré-traitement binaural avant d'envoyer les messages à l'olive supérieure, considérée comme le site principal de convergence binaurale.

Les entrées provenant des NCoDo et du nerf trijumeau provoquent des réponses inhibitrices dans environ 50% des cellules dans les trois subdivisions du NC. Toutefois, les cellules de type octopus ne répondent presque jamais aux entrées provenant des NCoDo et du nerf trijumeau. De plus, quelques cellules dans le NCD montrent des réponses excitatrices ou des réponses mixtes (PPSI-PPSE). Les latences de ces réponses indiquent à nouveau des transmissions polysynaptiques.

Jusqu'à présent, les PPSI testés pharmacologiquement provenant des différentes entrées (Na contralatéral, NCoDo et nerf trijumeau) sont bloqués par la strychnine, ce qui suggère une prédominance de transmissions glycinergiques. Ceci est en accord avec des observations antérieures chez la souris, indiquant un rôle clé de la glycine dans les circuits inhibiteurs du NC (Wu et Oertel, 1986).

L'existence d'entrées directes du cortex auditif vers le NC sont confirmées par la présence de marquage antérograde dans le NC au cours de nos expériences, suite à une injection de BDA dans le cortex auditif *in vivo*. Ces entrées sont principalement ipsilatérales. Dans la préparation du cerveau entier isolé, seulement deux cellules, de type géant et pyramidal dans le NCD, ont répondu à une stimulation corticale. Aucune autre réponse n'a été observée dans la majorité des neurones, même si beaucoup d'entre eux ont répondu à la stimulation d'autres structures auditives ou non auditives. Les réponses obtenues étaient excitatrices et avaient de longues latences ce qui suggère des transmissions polysynaptiques via, entre autre, la couche granulaire du NC.

En conclusion, les cellules principales dans le NC apparaissent être sous le contrôle inhibiteur du NA contralatéral (via le NC opposé), des NCoDo et du nerf trijumeau. De plus, les données anatomiques, montrant des projections éparses du cortex auditif au NC, ainsi que

4.2 Spéculations sur la signification fonctionnelle des présentes observations.

4.2.1 Entrées somesthésiques

Les entrées somesthésiques en provenance des muscles du cou, et des muscles du pavillon par les propriocepteurs (fuseaux neuromusculaires, organes tendineux de Golgi, ainsi que les récepteurs de la peau et les récepteurs articulaires) sont appelées à jouer un rôle important dans la localisation du son. Ces informations sont cruciales pour connaître la position de la tête et du pavillon, ce qui est indispensable à la reconstruction de l'espace acoustique dans le contexte de la localisation d'une source sonore. Cette localisation est basée sur trois principes : ΔI , ΔT et une analyse des modifications spectrales dues au pavillon. Des cellules de l'olive supérieure sont sélectives pour les indices ΔT (dans OSM principalement) et ΔI (dans OSL principalement), information qui représente la base de la mise en place d'une carte de l'espace acoustique (dont la localisation n'est pas connue chez les mammifères, bien que le plus sérieux candidat serait le colliculus supérieur). Les entrées somesthésiques peuvent contribuer à une adaptation de cette carte basée sur des indices acoustiques pour des positions variables de la tête et/ou des pavillons. En effet, si l'espace acoustique utilise un référentiel centré sur le crâne, alors ce référentiel est influencé lors des mouvements de la tête et/ou des pavillons mais aussi par les entrées vestibulaires qui donnent des informations au NC (informations additionnelles sur le positionnement et les mouvements de la tête).

Des expériences faites par Lévine et coll. (2003), indiquent que des patients qui ont des acouphènes peuvent changer les attributs psychoacoustiques de leurs acouphènes avec des contractions énergiques de la tête et du cou. Parce que les résultats sont similaires avec des personnes profondément sourdes, les auteurs ont conclu que les interactions somatosensorielles et auditives dans le système nerveux central sont à l'origine des modulations somatiques des acouphènes aussi bien que le développement des perceptions avec des tests somatiques. D'autres observations par les mêmes auteurs soutiennent l'idée que ce sont bien les fuseaux neuromusculaires qui initient les activations neurales qui finalement modulent les voies auditives centrales. De plus, les auteurs proposent que ces influences somesthésiques sur la perception auditive ne sont pas limitées aux sujets qui ont des acouphènes mais sont une propriété fondamentale du système auditif.

4.2.2 Projections corticobulbaires

Plusieurs évidences indiquent que le cortex auditif joue un rôle crucial pour des tâches auditives complexes (par ex. "cocktail party situation"), qui impliquent une mise en jeu de phénomènes attentionnels (voir De Ribaupierre, 1997, pour revue). Bien que les mécanismes de l'attention soient loin d'être élucidés, il est souvent proposé que des influences de haut en bas ("top to bottom") dans l'organisation hiérarchique des systèmes sensoriels joue un rôle important. Dans notre cas, on peut imaginer la mise en place de phénomènes attentionnels via des projections cortico-fugales en générale, et corticobulbaires en particulier. Ainsi, grâce à sa projection directe sur le NC, le cortex auditif peut moduler déjà très à la périphérie le signal auditif entrant, de manière à accentuer certains attributs auditifs et à réduire l'impact d'autres attributs. Plus concrètement, dans la situation du "cocktail party", de telles projections pourraient contribuer à se focaliser sur un locuteur dans la salle plutôt que sur les autres personnes parlant en même temps.

4.2.3 Prédominance des inhibitions

Pourquoi obtenons-nous tant d'inhibitions ?

a) Interactions binaurales

L'interaction binaurale semblerait, vu les résultats obtenus, être très précoce dans les voies auditives. Elle prendrait déjà place au niveau du NC, avant même les traditionnels circuits binauraux du COS. Cela impliquerait le privilège d'une entrée dans une oreille qui serait plus forte ou qui recevrait les stimuli avant l'autre oreille. L'information de cette dernière verrait son influence dans le NC diminuée par les influences venant du NC opposé. Ce ne serait pas un effet de type tout ou rien mais plutôt une légère modulation, car les projections sont modérément denses.

b) Système somesthésique

En fonction de nos résultats, la notion d'intégration polysensorielle est extrêmement précoce (c'est-à-dire à des niveaux périphériques du SNC), car, normalement, elle était plutôt attendue pour le thalamus et le cortex cérébral. Il est donc intéressant de relever qu'une zone

telle que le NC, vue le plus souvent essentiellement comme une région purement auditive, est modulée par d'autres systèmes.

On peut donc imaginer ici lorsque des informations sensorielles de diverses modalités (visuelles, somesthésiques, auditives, etc...) nous parviennent en même temps, l'on désire privilégier l'une par rapport aux autres. Dans notre cas, les entrées somesthésiques au NC qui sont principalement auditives permettraient de placer quelque peu en retrait la perception auditive pour favoriser les entrées somesthésiques. Notre étude indique que de tels mécanismes peuvent se produire très à la périphérie du système (NC) et donc pas uniquement dans le thalamus et cortex cérébral. Des interactions polysensorielles précoces peuvent aussi être à la base, ou tout au moins contribuer à des phénomènes d'illusions sensorielles, où par exemple un stimulus d'une modalité est perçue par une autre modalité. Par exemple, il a été rapporté une illusion de perception visuelle induite par des sons (Shams et al., 2000) : un stimulus auditif présenté avec un intervalle court suite à une paire de stimuli visuel et auditif est interprété comme une perception de flashes multiples, bien que un seul stimulus visuel ait été présenté. Dans notre cas, on pourrait imaginer de telles interactions dès le NC entre audition et somesthésie.

4.3 Directions futures

Cette thèse était la continuité d'études préliminaires (Babalian et al., 1999) durant lesquelles la préparation du cerveau entier isolé in vitro était utilisée pour caractériser les neurones du NC morphologiquement et électrophysiologiquement. En particulier les propriétés de réponses de différents types de neurones du NC étaient testés utilisant des stimulations électriques uniques et pulsatile délivrés au NA ipsilatéral. Dans le futur, cette même préparation permettra de continuer sur la même problématique en testant d'autres sources auditives comme le colliculus inférieur (CI) et, non-auditives, comme les noyaux pontiques le cervelet le colliculus supérieur, et répondre à ces questions :

- Quels sont les effets sur les neurones du NC ?
- Quels sont les neurones du NC activés par ces projections ?
- Est-ce que tous les neurones du NC répondent de la même manière à l'activation de ces projections ?

Quelques expériences pilotes (Jacomme et al., 2002) ont permis d'enregistrer des réponses synaptiques dans les neurones du NC, provoqués par une stimulation du CI et des noyaux pontiques.

Le CI est un relais synaptique obligatoire le long des voies auditives et est impliqué dans le traitement d'informations ascendantes et descendantes. Un segment majeur des voies auditives descendantes provenant du CI inclut des projections vers le NC. Les propriétés physiologiques des entrées descendantes du CI au NC ne sont pas encore bien connues. Il semblerait que la stimulation des CI ipsilatéral et contralatéral influencent la majorité des cellules du NC dans les trois subdivisions du NC. L'activation des CI induirait des réponses excitatrices et inhibitrices ainsi que des réponses antidromiques. Mais ceci reste à confirmer avec de plus amples expériences. Similairement au colliculus inférieur, des expériences sont prévues pour établir les effets de la stimulation électrique des noyaux pontiques.

Dans le cas de notre étude, chaque relais ou noyau ayant une relation avec les projections auditives ascendantes, descendantes ou avec le NC, c'est-à-dire dans cette étude, le NA contralatéral, les NCoDo, le nerf trijumeau et le cortex auditif, était étudié séparément grâce à la préparation du cerveau entier isolé *in vitro*. Une autre possibilité offerte par cette méthode est de pouvoir stimuler plusieurs structures en même temps. De cette manière, il sera possible d'observer d'éventuelles synergies (par exemple sommations spatiales et/ou temporelles) entre certaines de ces projections, ainsi que le jeu d'influences inhibitrices ou excitatrices sur les neurones principaux du NC. Ceci pourrait faire l'objet de futures expériences et mettrait l'accent sur l'importance de certains relais par rapport à d'autres, et de l'éventuelle signification fonctionnelle de ces projections multiples sur les neurones du NC.

BIBLIOGRAPHIE

Adams JC. 1976. Single unit studies on the dorsal and intermediate acoustic striae. *J Comp Neurol* 170:97-106.

Adams JC and Warr WB. 1976. Origins of axons in the cat's acoustic striae determined by injection of horseradish peroxidase into severed tracts. *J Comp Neurol* 170:107-122.

Adams JC. 1979. Ascending projections to the inferior colliculus. *J Comp Neurol* 183:519-538.

Adams JC. 1983. Cytology of periolivary cells and the organization of their projections in the cat. *J Comp Neurol* 215:275-289.

Aitkin LM, Dickhaus H, and Schult W. ZM. 1978. External nucleus of inferior colliculus : auditory and spinal somatosensory afferents and their interactions. *J. Neurophysiol.* 41, 837-847.

Aitkin LM, Kenyon CE, and Philpott P. 1981. The representation of the auditory and somatosensory systems in the external nucleus of the cat inferior colliculus. *J.Comp.Neurol.* 196, 25-40.

Aitkin LM and Phillips SC. 1984. Is the inferior colliculus an obligatory relay in the cat auditory system? *Neurosci Lett* 44:259-264.

Andersen RA, Roth GL, Aitkin LM, and Merzenich MM. 1980. The efferent projections of the central nucleus and the pericentral nucleus of the inferior colliculus in the cat. *J Comp Neurol* 194:649-662.

Arnesen A.R. et Osen KK. 1978. The cochlear nerve in the cat : topography, cochleotopy and fiber spectrum. *J Comp Neurol* 178, 661-678.

Babalian AL, Ryugo DK, Vischer MW, and Rouiller EM. 1999. Inhibitory synaptic interactions between cochlear nuclei: evidence from an in vitro whole brain study. *Neuroreport* 10:1913-1917.

- Babalian AL, Jacomme AV, Doucet JR, Ryugo DK, and Rouiller EM. 2001. Auditory and non-auditory inputs to the cochlear nucleus neurons: an in vitro whole brain study. ARO Abstract 24, 197.
- Bajo VM, Merchán MA, Malmierca MS, Nodal FR, and Bjaalie JG. 1999. Topographic organization of the dorsal nucleus of the lateral lemniscus in the cat. *J Comp Neurol* 407:349-366.
- Benson CG and Potashner SJ. 1990. Retrograde transport of (3H) glycine from the cochlear nucleus to the superior olive in the guinea pig. *J Comp Neurol* 296:415-426.
- Benson TE and Brown MC. 1990. Synapses formed by olivocochlear axon branches in the mouse cochlear nucleus. *J Comp Neurol* 295:52-70.
- Bodian D. 1983. Electron microscopic atlas of simian cochlea. *Hear. Res* 2 : 201-246.
- Bourk TR. 1976. Electrical responses of neural units in the anteroventral cochlear nucleus of the cat. In Ph.D.Thesis Cambridge: Massachusetts Institute of Technology. Cambridge: Massachusetts Institute of Technology.
- Bourk TR, Mielcarz JP, and Norris BE. 1981. Tonotopic organization of the anteroventral cochlear nucleus of the cat. *Hear.Res* 4: 215-241.
- Brawer JR, Morest DK, and Kane EC. 1974. The neuronal architecture of the cochlear nucleus of the cat. *J Comp Neurol* 155:251-300.
- Brawer JR and Morest DK. 1975. Relations between auditory nerve endings and cell types in the cat's anteroventral cochlear nucleus seen with the Golgi method and Nomarski optics. *J Comp Neurol* 160:491-506.
- Britt R. 1976. Intracellular study of synaptic events related to phase-locking responses of cat cochlear nucleus cells to low-frequency tones. *Brain Res* 112:313-327.
- Brown J.C. and Howlett B. 1972 The olivocochlear tract in the rat and its bearing on the homologies of some constituent cell groups of the mammalian superior olivary complex: a thiocholine study. *Acta Anat* 83, 505-526.

Brown MC, Liberman MC, Benson TE, and Ryugo DK. 1988. Brainstem branches from olivocochlear axons in cats and rodents. *J Comp Neurol* 278:591-603.

Brownell WE. 1975. Organization of the cat trapezoid body and the discharge characteristics of its fiber. *Brain Res* 94:413-433.

Brownell WE and Manis P.B. RLA. 1979. Lateral inhibitory responses in the cat lateral superior olive. *Brain Res.* 177, 189-193.

Budinger E, Heil P, and Scheich H. 2000. Functional organization of auditory cortex in the Mongolian gerbil (*Meriones unguiculatus*). IV. Connections with anatomically characterized subcortical structures. *European Journal of Neuroscience* 12:2452-2474.

Burette A, Belliot G, Albuissou E, and Romand R. 1998. Localization of neurotrophin-3-like immunoreactivity in the rat cochlear nucleus. *Microsc Res Tech* 41:224-233.

Burian M and Gstoettner W. 1988. Projection of primary vestibular afferent fibres to the cochlear nucleus in the guinea pig. *Neurosci Lett* 84:13-17.

Caicedo A and Herbert H. 1993. Topography of descending projections from the inferior colliculus to auditory brainstem nuclei in the rat. *J Comp Neurol* 328:377-392.

Caird D and Klinke R. 1983. Processing of binaural stimuli by cat superior olivary complex neurons. *Exp Brain Res* 52:385-399.

Cajal SRy. 1909. *Histologie du système nerveux de l'homme et des vertébrés*. A.Maloine, Paris.

Cant NB and Morest DK. 1979. Organization of the neurons in the anterior division of the anteroventral cochlear nucleus of the cat, light microscopic observations. *Neurosci* 4:1909-1923.

Cant NB. 1981. The fine structure of 2 types of stellate cells in the anteroventral cochlear nucleus of the cat. *Neurosci* 7:2643-2655.

Cant NB and Gaston KC. 1982. Pathways connecting the right and left cochlear nuclei. *J Comp Neurol* 212:313-326.

- Carey C.L. and Webster D.B. 1971. Ascending and descending projections of the inferior colliculus in the kangaroo rat (*Dipodomys merriami*). *Brain Behav Evol* 4, 401-412.
- Casparly D.M., Havey D.C., and Faingold C.L. 1979. Effects of microiontophoretically applied glycine and GABA on neuronal response patterns in the cochlear nuclei. *Brain Res.* 172, 179-185.
- Chikamori Y., Sasa M., Fujimoto S., Takaori S. and Matsuoka I. 1980 Locus coeruleus-induced inhibition of dorsal cochlear nucleus neurons in comparison with lateral vestibular nucleus neurons. *Brain Res.* 194, 53-63.
- Coleman JR and Clerici WJ. 1987. Sources of projections to subdivisions of the inferior colliculus in the rat. *J Comp Neurol* 262:215-226.
- Conlee JW and Kane ES. 1982. Descending projections from the inferior colliculus to the dorsal cochlear nucleus in the cat: an autoradiographic study. *Neurosci* 7:161-172.
- Coomes DL and Schofield BR. 2001. Cortical projections to the superior olivary complex contact cells that project to the cochlear nucleus in guinea pig. *ARO Abstract* 24.
- Coomes DL, Abel M, Schofield BR. 2001. Cortical projections to the superior olivary complex in guinea pigs. *Assoc. Res. Otolaryngol.*, 24:45.
- De Ribaupierre. 1997. Le traitement de l'information auditive dans le thalamus et le cortex cérébral. Dans : Romand R (eds) *Le système auditif central*. Inserm. pp 183-220.
- Doucet JR, Ross AT, Gillespie MB, and Ryugo DK. 1999. Glycine immunoreactivity of multipolar neurons in the ventral cochlear nucleus which project to the dorsal cochlear nucleus. *J Comp Neurol* 408:515-531.
- Doucet JR, Weedman DL, and Ryugo DK. 2002. The projections of auditory cortex to the cochlear nucleus. *Ascona Abstract*.
- Ehrenberger K and Felix D. 1991. Glutamate receptors in afferent cochlear neurotransmission in guinea pigs. *Hear Res* 52:73-80.
- Evans EF and Nelson PG. 1973. On the functional relationship between the dorsal and ventral divisions of the cochlear nucleus of the cat. *Exp Brain Res* 17:428-442.

- Evans EF and Nelson PG. 1973. The responses of single neurones in the cochlear nucleus of the cat. *Exp Brain Res* 17:402-427.
- Evans EF and Zhao W. 1993. Varieties of inhibition in the processing and control of processing in the mammalian cochlear nucleus. *Brain Res* 97:117-126.
- Eybalin M. 1993. Neurotransmitters and neuromodulators of the mammalian cochlea. *Physiol Rev* 73:309-373.
- Faye-Lund H. 1986. Projection from the inferior colliculus to the superior olivary complex in the albino rat. *Anat.Embryol.* 175, 35-52.
- Faye-Lund H. 1988. Inferior colliculus and related descending pathways in rat. *Upsala J Med Sci* 93:1-17.
- Fekete DM, Rouiller EM, Liberman MC, and Ryugo DK. 1984. The central projections of intracellularly labeled auditory nerve fibers in cats. *J Comp Neurol* 229:432-450.
- Feldman S.G. and Kruger L. 1980. An axonal transport study of the ascending projection of medial lemniscal neurons in the rat. *J.Comp.Neurol.* 192, 427-454.
- Feliciano M and Potashner SJ. 1995. Evidence for a glutamatergic pathway from the guinea pig Auditory Cortex to the Inferior Colliculus. *Journal of Neurochemistry* 65:1348-1357.
- Felix D and Ehrenberger K. 1992. The efferent modulation of mammalian inner hair cell afferents. *Hear Res* 64:1-5.
- Friauf E and Ostwald J. 1988. Divergent projections of physiologically characterized rat ventral cochlear nucleus neurons as shown by intra-axonal injection of horseradish peroxidase. *Exp Brain Res* 73:263-284.
- Gaceck R.R. 1973. A cerebellar nucleus pathway in the cat. *Exp Neurol* 41, 101-112.
- Galambos R, Schwartzkopff J, and Ruppert A. 1959. Microelectrode studies of superior olivary nuclei. *Am.J Physiol.* 197, 527-536.
- Games KD and Winer JA. 1988. Layer V in rat auditory cortex: projections to the inferior colliculus and contralateral cortex. *Hear Res* 34:1-26.

- Gisbergen J.A.M. GJL, Johannesma P.I.M., and Vendrik A.J.H. 1975. Spectral and temporal characteristics of activation and suppression of units in the cochlear nuclei of anesthetized cats. *Exp. Brain Res.* 23, 367-386.
- Gisbergen J.A.M. GJL, Johannesma P.I.M., and Vendrik A.J.H. 1975. Neurons in the cochlear nucleus investigated with tone and noise stimuli. *Exp. Brain Res.* 23, 387-406.
- Glowatzki E and Fuchs PA. 2002. Transmitter release at the hair cell ribbon synapse. *Nature Neuroscience* 5:147-154.
- Godfrey DA, Kiang NYS, and Norris BE. 1975. Single unit activity in the posteroventral cochlear nucleus of the cat. *J Comp Neurol* 162:247-268.
- Godfrey DA, Kiang NYS, and Norris BE. 1975. Single unit activity in the dorsal cochlear nucleus of the cat. *J Comp Neurol* 162:269-284.
- Godfrey DA, Carter JA, Berger SJ, Lowry OH, and Matschinsky FM. 1977. Quantitative histochemical mapping of candidate transmitter aminoacids in cat cochlear nucleus. *J Histochem Cytochem* 25:417-431.
- Godfrey DA, Carter JA, Lowry OH, and Matschinsky FM. 1978. Distribution of gamma-aminobutyric acid, glycine, glutamate and aspartate in the cochlear nucleus of the rat. *J Histochem Cytochem* 26, 118-126.
- Godfrey DA, Park J.L., Dunn J.D., and Ross C.D. 1985. Cholinergic neurotransmission in the cochlear nucleus. In: *Auditory Biochemistry* (D.G.Drescher ed.), C.C.Thomas, Springfield, IL, 163-183.
- Godfrey DA. 1993. Comparison of quantitative and immunohistochemistry for cholin acetyltransferase in the rat cochlear nucleus. In: *The mammalian cochlear nuclei. Organization and function* (M.A.Merchan, J.S.Jui, D.A.Godfrey, and E.Mugnaini, eds.) Plenum Press, New York, 267-278.
- Goldberg JM and Brownell WE. 1973. Discharge characteristics of neurons in anteroventral and dorsal cochlear nuclei of cat. *Brain Res* 64:35-54.

- Guinan JJ, Norris BE, and Guinan S.S. 1972. Single auditory units in the superior olivary complex. II. Locations of unit categories and tonotopical organization. *Intern.J.Neurosci.* 4, 147-166.
- Guinan JJ, Warr WB, and Norris BE. 1983. Differential olivo-cochlear projections from lateral versus medial zones of the superior olivary complex. *J Comp Neurol* 221, 358-370.
- Hackney CM, Osen KK, and Kolston J. 1990. Anatomy of the cochlear nuclear complex of guinea pig. *Anat Embryol* 182:123-149.
- Haenggeli C.A., Doucet JR, and Ryugo DK. 2002. Trigeminal projections to the cochlear nucleus in rats. *ARO Abstract* 25.
- Hashikawa T and Kawamura K. 1983. Retrograde labeling of ascending and descending neurons in the inferior colliculus: a fluorescent double labeling study in the cat. *Exp Brain Res* 49:457-461.
- Hashikawa T. 1983. The inferior colliculopontine neurons of the cat in relation to other collicular descending neurons. *J Comp Neurol* 219, 241-249.
- Held H. 1893. Die central hörleitung. *Arch Anat Physiol Anat Abtlg* , 201-243.
- Herbert H, Aschoff A, and Ostwald J. 1991. Topography of projections from the auditory cortex to the inferior colliculus in the rat. *J Comp Neurol* 304:103-122.
- Hudspeth AJ. 1989. How the ear's works work. *Nature* 341:397-404.
- Huffman RF and Henson OW, Jr. 1990. The descending auditory pathway and acousticomotor systems: Connections with the inferior colliculus. *Brain Res Rev* 15:295-323.
- Itoh K, Kamiya H, Mitani A, Yasui Y, Takada M, and Mizuno N. 1987. Direct projections from the dorsal column nuclei and the spinal trigeminal nuclei to the cochlear nuclei in the cat. *Brain Res* 400:145-150.
- Jacomme AV, Rouiller EM, Ryugo DK, and Babalian AL. 2002. Physiological inputs from the inferior colliculus to the cochlear nucleus in the guinea pig studied in in vitro whole brain preparation. *FENS Abstract* 1.

- Jacomme AV, Nodal FR, Bajo VM, Manunta Y, Edeline JM, Babalian AL, and Rouiller EM. 2003. The projection from auditory cortex to cochlear nucleus in guinea pigs: an in vivo anatomical and in vitro electrophysiological study. *Exp. Brain Res.* 153, 467-476.
- Jean-Baptiste M and Morest DK. 1975. Transneuronal changes of synaptic endings and nuclear chromatin in the trapezoid body following cochlear ablation in cats. *J Comp Neurol* 162, 110-134.
- Jonas P., Bischofberger J., and Sandhulher J. 1998. Corelease of two fast neurotransmitters at a central synapse. *Science* 281, 419-424.
- Kane EC. 1973. Octopus cells in the cochlear nucleus of the cat: heterotypic synapses upon homeotypic neurons. *Intern J Neurosci* 5:251-279.
- Kane EC. 1974. Synaptic organization in the dorsal cochlear nucleus of the cat: a light and electron microscopic study. *J Comp Neurol* 155:301-330.
- Kane ES. 1977. Descending inputs to the octopus cell area of the cat cochlear nucleus : an electron microscopic study. *J Comp Neurol* 173, 337-354.
- Kanold PO and Young ED. 2001. Proprioceptive information from the pinna provides somatosensory input to cat dorsal cochlear nucleus. *J of Neuroscience* 21: 7848-7858.
- Kevetter GA and Perachio AA. 1989. Projections from the sacculus to the cochlear nuclei in the mongolian gerbil. *Brain Behav Evol* 34:193-200.
- Kiang NYS, Pfeiffer RR, Warr WB, and Backus ASN. 1965. Stimulus coding in the cochlear nucleus. *Ann Otol (St Louis)* 74:463-485.
- Kiang NYS, Godfrey DA, Norris BE, and Moxon SE. 1975. A block model of the cat cochlear nucleus. *J Comp Neurol* 162:221-246.
- Kiang NYS, Rho JM, Northrop CC, Liberman MC, and Ryugo DK. 1982. Hair cell innervation by spiral ganglion cells in adult cat. *Science* 217:175-177.
- Klinke R., Boerger G., and Gruber J. 1969. Studies on the functional significance of efferent innervation in the auditory system: afferent neuronal activity as influenced by contralaterally applied sound. *Pflüg. Arch.* 306, 165-175.

- Klinke R. 1981. Neurotransmitters in the cochlea and the cochlear nucleus. *Acta Otolaryngol* 91, 541-554.
- Kolston J, Osen KK, Hackney CM, Ottersen OP, and Storm-Mathisen J. 1992. An atlas of glycine- and GABA-like immunoreactivity and colocalization in the cochlear nuclear complex of the guinea pig. *Anat Embryol (Berl)* 186:443-465.
- Levine RA. 1971. Phase-locking in response of single neurons in cochlear nuclear complex of the cat to low-frequency tonal stimuli. *J Neurophysiol* 34:467-483.
- Levine RA., Abel M and Cheng H. 2003. CNS somatosensory-auditory interaction elicit or modulate tinnitus. *Exp. Brain. Res.* 153. 643-648.
- Levitt P and Moore R.Y. 1979. Origin and organization of brainstem catecholamine innervation in the rat. *Am J Anat* 118, 375-390.
- Liberman MC. 1980. Morphological differences among radial afferent fibers in the cat cochlea: an electron-microscopic study of serial sections. *Hearing Res* 3:45-63.
- Lim R, Alvarez FJ, and Walmsley B. 2000. GABA mediates presynaptic inhibition at glycinergic synapses in a rat auditory brainstem nucleus. *Journal of Physiology* 525:447-459.
- Llinás R and Mühlethaler M. 1988. A electrophysiological study of the in vitro, perfused brain stem-cerebellum of adult guinea-pig. *J physiolol* 404:215-240.
- Lorente de No. 1933. Anatomy of the VIIIth nerve. *Laryngoscope* 43, 327-350.
- Lorente de No. 1976. some unresolved problems concerning the cochlear nerve. *Otol.Rhinol.Laryngol.* 85, 1-28.
- Lorente de No. 1981. *The primary Acoustic Nuclei*. Raven Press, New York .
- Lund R.D. and Webster K.E. 1967. Thalamic afferents from the dorsal column nuclei. An experimental study in the rat. *J Comp Neurol* 130, 301-312.
- Malmierca MS, Le Beau FEN, and Rees A. 1996. The topographical organization of descending projections from the central nucleus of the inferior colliculus in guinea pig. *Hear Res* 93:167-180.

- Malmierca MS, Merchán MA, Henkel CK, and Oliver DL. 2002. Direct projections from Cochlear nuclear complex to auditory thalamus in the rat. *Journal of Neuroscience* 22:10891-10897.
- Manunta Y and Edeline JM. 1997. Effects of noradrenaline on frequency tuning of rat auditory cortex neurons. *Eur J Neurosci* 9:833-847.
- Manunta Y and Edeline JM. 1999. Effects of noradrenaline on frequency tuning of auditory cortex neurons during wakefulness and slow-wave sleep. *Eur J Neurosci* 11:2134-2150.
- Martin M.R. 1981. Acetylcholinesterase-positive fibers and cell bodies in the cochlear nuclei of normal and reeler mutant mice. *J Comp Neurol* 197, 153-167.
- Martin M.R., Dickson J.W., and Fex J. 1982. Bicuculline, strychnine and depressant aminoacid responses in the anteroventral cochlear nucleus of the cat. *Neuropharmacology* 21, 201-207.
- Maslany S, Crockett D.P., and Egger M.D. 1991. Somatotopic organization of the dorsal column nuclei in the rat: Transganglionic labeling with B-HRP and WGA-HRP. *Brain Res.* 564, 56-65.
- Mast T.E. 1970. Binaural interaction and contralateral inhibition in dorsal cochlear nucleus of the chinchilla. *J. Neurophysiol.* 33, 108-115.
- Mast T.E. 1973. Dorsal cochlear nucleus of the chinchilla: excitation by contralateral sound. *Brain Res.* 62, 61-70.
- Miller J and Basbaum A.I. 1975. Topography of the projection of the body surface of the cat to cuneate and gracile nuclei. *Exp Neurol* 49, 281-290.
- Moller A.R. 1969. Unit responses in the rat cochlear nucleus to repetitive, transient sounds. *Acta Physiol Scand* 75, 542-551.
- Morest DK, Kiang NYS, Kane EC, Guinan JJ, and Godfrey DA. 1973. Stimulus coding at caudal levels of the cat's auditory nervous system. II: pattern of synaptic organization. In Moller AR, editor. *Basic mechanisms in hearing*. New York: Academic Press. p 479-504.
- Mugnaini E, Warr WB, and Osen KK. 1980. Distribution and light microscopic features of granule cells in the cochlear nuclei of cat, rat, and mouse. *J Comp Neurol* 581-606.

- Mühlethaler M, De Curtis M, Walton K, and Llinás R. 1993. The isolated and perfused brain of the guinea-pig *in vitro*. *Eur J Neurosci* 5:915-926.
- Nordang L, Oestreicher E, Arnold W, and Anniko M. 2000. Glutamate is the afferent neurotransmitter in the human cochlea. *Acta Oto-Laryngologica* 120:359-362.
- Oertel D. 1983. Synaptic responses and electrical properties of cells in brain slices of the mouse anteroventral cochlear nucleus. *J Neurosci* 3:2043-2053.
- Ologge M, Doucet JR, and Ryugo DK. 2001. Projections of the pontine nuclei to the cochlear nucleus in rats. *J. Comp. Neurol* 436: 290-303.
- Oliver DL, Potashner SJ, Jones DR, and Morest DK. 1983. Selective labeling of spiral ganglion and granule cells with D-aspartate in the auditory system of the cat and guinea pig. *J Neurosci* 3:455-472.
- Oliver DL. 1984. Dorsal cochlear nucleus projections to the inferior colliculus in the cat: a light and electron microscopic study. *J Comp Neurol* 224:155-172.
- Oliver DL and Morest DK. 1984. The central nucleus of the inferior colliculus in the cat. *J Comp Neurol* 222:237-264.
- Osen KK. 1970. Course and termination of primary afferents in the cochlear nuclei of the cat: an experimental anatomical study. *Arch.Ital.Biol.* 108, 21-51.
- Osen KK. 1969. Cytoarchitecture of the cochlear nuclei in the cat. *J Comp Neurol* 136:453-484.
- Osen KK and Roth K. 1969. Histochemical localization of cholinesterases in the cochlear nuclei of the cat, with notes on the origin of acetylcholinesterase-positive afferents and the superior olive. *Brain Res* 16:165-185.
- Osen KK, Mugnaini E, Dahl AL, and Christiansen AH. 1984. Histochemical localization of acetylcholinesterase in the cochlear and superior olivary nuclei: a reappraisal with emphasis on the cochlear granule cell system. *Arch Ital Biol* 122:169-212.
- Osen KK, Ottersen OP, and Storm-Mathisen J. 1990. Colocalization of glycine-like and GABA-like immunoreactivities: a semiquantitative study of individual neurons in the dorsal

cochlear nucleus of cat. In Ottersen OP and Storm-Mathisen J, editors. Glycine neurotransmission. John Wiley & Sons. p 417-451.

Ostapoff EM, Morest DK, and Potashner SJ. 1990. Uptake and retrograde transport of [3H]GABA from the cochlear nucleus to the superior olive in the guinea pig. *J Chem. Neuroanat.* 3(4), 285-295.

Ostapoff EM, Feng JJ, and Morest DK. 1994. A physiological and structural study of neuron types in the cochlear nucleus. II. Neuron types and their structural correlation with response properties. *J Comp Neurol* 346:19-42.

Pfeiffer RR and Kiang NYS. 1965. Spike discharge pattern of spontaneous and continuously stimulated activity in the cochlear nucleus of anaesthetized cats. *Biophys J* 5:301-316.

Pfeiffer RR. 1966. Classification of response patterns of spike discharges for units in the cochlear nucleus: tone burst stimulation. *Exp Brain Res* 1:220-235.

Pirsig W., Pfalz R., and Sadanaga M. 1968. Postsynaptic auditory crossed efferent inhibition in the ventral cochlear nucleus and the blocking of it by strychnine nitrate (guinea pig). *Kumamoto Med.j.* 21, 75-82.

Pujol R., Eybalin M, and Lenoir M. 1986. Synaptology of the cochlea: different types of synapse, presumptive neurotransmitters, physiopathological implications. In: Salvi R., Henderson D., Hamrnik R.P., Colletti V eds. *Applied and basic aspects of noise-induced hearing loss.* Plenum Publ Ca, New York , 43-53.

Pujol R, Lenoir M, Robertson D, Eybalin M, and Johnstone BM. 1985. Kainic acid selectively alters auditory dendrites connected with cochlear inner hair cells. *Hearing Res* 18:145-151.

Rasmussen G.L. 1960. Efferent fibers to the cochlear nerve and cochlear nucleus. In: Rasmussen G.L., Windle P.R. eds *Neural mechanisms of the auditory and vestibular systems.* Thomas C.C., Springfield, III , 105-115.

Rasmussen G.L. 1964. Anatomical relationship to the ascending and descending auditory systems. In: *Neurological aspects of auditory and vestibular disorders* (S.W.Fields and B.R.Alford, eds.), C.C.Thomas, Springfield, IL , 5-23.

Rasmussen G.L. 1967. Efferent connections of the cochlear nucleus. In: Graham A.B.ed.Sensorineural hearing processes and disorders.Little Brown, Boston. 61-75.

Redies H, Sieben U and Creutzfeld O.D. 1988. Functional plasticity of frequency maps in the guinea pig primary auditory cortex. Symposium : Auditory pathway-Structure and function. Prague, August 23-26. Abstract.

Redies H, Brandner S, and Creutzfeld O.D. 1989. Functional subdivisions in the auditory cortex of the guinea pig. J Comp Neurol 282:473-488.

Rhode WS, Smith PH, and Oertel D. 1983. Physiological responses properties of cells labelled intracellularly with horseradish peroxidase in cat dorsal cochlear nucleus. J Comp Neurol 213:426-447.

Rhode WS, Oertel D, and Smith PH. 1983. Physiological response properties of cells labelled intracellularly with horseradish peroxidase in cat ventral cochlear nucleus. J Comp Neurol 213:448-463.

Rhode WS and Smith PH. 1986. Encoding timing and intensity in the ventral cochlear nucleus of the cat. J Neurophysiol 56:261-286.

Rhode WS and Smith PH. 1986. Physiological studies on neurons in the dorsal cochlear nucleus of cat. J Neurophysiol 56:287-307.

Romand R. 1978. Survey of intracellular recording in the cochlear nucleus of the cat. Brain Res 148:43-65.

Romand R. 1979. Intracellular recording of "chopper responses" in the cochlear nucleus of the cat. Hearing Res. 1, 95-99.

Romand R et Avan P. 1997. Anatomical and fonctionnal aspects of the cochlear nucleus. In : Ehret G, Romand R (Eds) The central auditory system. Oxford University Press, New York, pp97-191.

Rouiller EM and Ryugo DK. 1984. Intracellular marking of physiologically characterized cells in the ventral cochlear nucleus of the cat. J Comp Neurol 225:167-186.

Rouiller EM, Cronin-Schreiber R, Fekete DM, and Ryugo DK. 1986. The central projection of intracellularly labeled auditory nerve fibers in cats: an analysis of terminal morphology. *J Comp Neurol* 249:261-278.

Rouiller EM. 1997. Functional organization of the auditory pathways. In: Ehret G, Romand R, editors. *The central auditory system*. New York: Oxford University Press. pp 97-191.

Ryan AF, Keithley EM, Wang Z-X, and Schwartz IR. 1990. Collaterals from lateral and medial olivocochlear efferent neurons innervate different regions of the cochlear nucleus and adjacent brainstem. *J Comp Neurol* 300:572-582.

Ryugo DK and Fekete DM. 1982. Morphology of primary axosomatic endings in the anteroventral cochlear nucleus of the cat: a study of the endbulbs of Held. *J Comp Neurol* 210:239-257.

Ryugo DK and Rouiller EM. 1988. Central projections of intracellularly labeled auditory nerve fibers in cats: morphometric correlations with physiological properties. *J Comp Neurol* 271:130-142.

Ryugo DK and May SK. 1993. The projections of intracellularly labeled auditory nerve fibers to the dorsal cochlear nucleus of cats. *J Comp Neurol* 329:20-35.

Ryugo DK, Haenggeli C.A., and Doucet JR. 2003. Multimodal inputs to the granule cell domain of the cochlear nucleus. *Exp. Brain Res* 4 477-485.

Saadé N.E., Frangieh A.B., Atweh S.F., and Jabbur S.J. 1989. Dorsal column input to cochlear neurons in decerebrate-decerebellate cats. *Brain Res.* 486, 399-402.

Saint Marie RL, Benson CG, Ostapoff E-M, and Morest DK. 1991. Glycine immunoreactive projections from the dorsal to the anteroventral cochlear nucleus. *Hear Res* 51:11-28.

Saldaña E. 1993 Descending projections from the inferior colliculus to the cochlear nuclei in mammals. In: *The mammalian cochlear nuclei. Organization and function* (M.A. Merchan, J.S. Juiz, D.A. Godfrey, and E. MUGNAINI, EDS.), Plenum Press, New York, pp.153-165.

Saldaña E, Feliciano M, and Mugnaini E. 1996. Distribution of descending projections from primary auditory neocortex to inferior colliculus mimics the topography of intracollicular projections. *J Comp Neurol* 371:15-40.

Sando I. 1965. The anatomical interrelationships of cochlear nerve fibers. *Acta Oto.Laryngol.* 59, 417-436.

Schofield BR and Cant NB. 1996. Projections from the ventral cochlear nucleus to the inferior colliculus and the contralateral cochlear nucleus in guinea pigs. *Hear Res* 102:1-14.

Schofield BR and Cant NB. 1999. Descending auditory pathways: Projections from the inferior colliculus contact superior olivary cells that project bilaterally to the cochlear nuclei. *J Comp Neurol* 409:210-223.

Schofield BR. 2001. Origins of projections from the inferior colliculus to the cochlear nucleus in guinea pigs. *Journal of Comparative Neurology* 429:206-220.

Schofield BR, Coomes DL, and Schofield R. 2001. Projections from the auditory cortex to the cochlear nucleus in guinea pigs. *ARO*.

Schofield BR and Coomes DL. 2003. Organization of parallel descending pathways to the cochlear nucleus. *EBR* in press.

Schuknecht H.G, Churchill J.A., and Doran R. 1959. The localization of acetylcholinesterase in the cochlea. *Arch.Otolaryngol.* 69, 549-559.

Shams L, Kamitarai Y and Shimojo S. 2000. What you see is what you hear. *Nature* 408: 788.

Shore SE, Helfert RH, Bledsoe SC, Jr., Altschuler RA, and Godfrey DA. 1991. Descending projections to the dorsal and ventral divisions of the cochlear nucleus in guinea pig. *Hear Res* 52:255-268.

Shore SE, Godfrey DA, Helfert RH, Altschuler RA, and Bledsoe SC, Jr. 1992. Connections between the cochlear nuclei in guinea pig. *Hear Res* 62:16-26.

Shore SE and Moore JK. 1998. Sources of input to the cochlear granule cell region in the guinea pig. *Hear Res* 116:33-42.

Shore SE, Vass Z, Wys NL, and Altschuler RA. 2000. Trigeminal ganglion innervates the auditory brainstem. *Journal of Comparative Neurology* 419:271-285.

Smith PH and Rhode WS. 1985. Electron microscopic features of physiologically characterized, HRP-labeled fusiform cells in the cat dorsal cochlear nucleus. *J Comp Neurol* 237:127-143.

Smith PH and Rhode WS. 1987. Characterization of HRP-labeled globular bushy cells in the cat anteroventral cochlear nucleus. *J Comp Neurol* 266:360-375.

Smith PH and Rhode WS. 1989. Structural and functional properties distinguish two types of multipolar cells in the ventral cochlear nucleus. *J Comp Neurol* 282:595-616.

Smith PH, Joris PX, Carney LH, and Yin TCT. 1991. Projections of physiologically characterized globular bushy cell axons from the cochlear nucleus of the cat. *J Comp Neurol* 304:387-407.

Smith PH, Joris PX, and Yin TCT. 1993. Projections of physiologically characterized spherical bushy cell axons from the cochlear nucleus of the cat: Evidence for delay lines to the medial superior olive. *J Comp Neurol* 331:245-260.

Spangler K.M. and Warr WB. 1991. The descending auditory system. In: Altschuler RA, Hoffman DW, Bobbin RP, Clopton BM (eds) *The neurobiology of hearing Vol.II*, New York: Raven Press.

Spangler K, Warr WB, and Henkel CK. 1985. The projections of principal cells of the medial nucleus of the trapezoid body in the cat. *J Comp Neurol* 238:249-262.

Spangler KM, Cant NB, Henkel CK, Farley GR, and Warr WB. 1987. Descending projections from the superior olivary complex to the cochlear nucleus of the cat. *J Comp Neurol* 259:452-465.

Spirou GA, May BJ, Wright DD and Ryugo DK. 1993. Frequency organization of the dorsal cochlear nucleus in cats. *J. Comp. Neurol* 329 : 36-52.

Spoendlin H. 1966. The organization of the cochlea receptor. *Adv Otorhinolaryngol* 13, 1-227.

Spoendlin H. 1969. Innervation pattern of the organ of Corti of the cat. *Acta Otolaryngol* 67, 239-254.

- Swenson R.S., Kosinski R.J., and Castro A.J. 1984. Topography of spinal, dorsal column nuclear, and spinal trigeminal projections to the pontine gray in rats. *J Comp Neurol* 222, 301-311.
- Thompson AM and Thompson GC. 1987. Efferent projections from posteroventral cochlear nucleus to lateral superior olive in guinea pig. *Brain Res* 421:382-386.
- Thompson AM. 2003. Pontine sources of norepinephrine in the cat cochlear nucleus. *Journal of Comparative Neurology* 457:374-383.
- Tolbert LP. 1978. Synaptic organization in the anteroventral cochlear of the cat: a light and electron-microscope study. In Ph.D.Thesis Harvard University. Cambridge (Massachusetts): Harvard University.
- Tolbert LP, Morest DK, and Yurgelun-Todd D. 1982. The neuronal architecture of the anteroventral cochlear nucleus of the cat in the region of the cochlear nerve root: horseradish peroxidase labelling of identified cell types. *Neurosci* 7:3031-3052.
- Tolbert LP and Morest DK. 1982. The neuronal architecture of the anteroventral cochlear nucleus of the cat in the region of the cochlear nerve root: electron microscopy. *Neurosci* 7:3053-3067.
- Tolbert LP and Morest DK. 1982. The neuronal architecture of the anteroventral cochlear nucleus of the cat in the region of the cochlear nerve root: Golgi and Nissl methods. *Neurosci* 7:3013-3030.
- Tonndorf J. and Khana J.M. 1972. Tympanic membrane vibrations in human cadaver ears studied by time-averaged holography. *J.Acoust.Soc.Amer.* 52, 1221-1233.
- Tsuchitani C. and Boudreau J.C. 1966. Single unit analysis of cat superior olive S segment with tonal stimuli. *J.Neurophysiol.* 29, 684-700.
- Uziel.A. 1983. Physiologie de l'audition. L'oreille externe et l'oreille moyenne. In: Guerrier Y., Uziel A.eds *Physiologie neurosensorielle en ORL*.Masson, Paris. 63-70.
- Van Noort J. 1969. The structure and connections of the inferior colliculus. Assen: Van Gorcum Publisher .

Voigt HF and Young ED. 1980. Evidence of inhibitory interactions between neurons in dorsal cochlear nucleus. *J Neurophysiol* 44:76-96.

Voigt HF and Young ED. 1988. Neural correlations in the dorsal cochlear nucleus: pairs of units with similar response properties. *J Neurophysiol* 59:1014-1032.

Voitenko et Marlinskii. 1993. Stereotaxic atlas of the guinea pig brainstem. Kiev, Naukova Dumka.

Von Bekesy G. 1970. Travelling waves as frequency analysers in the cochlea. *Nature* 225:1207-1209.

Wallace MN, Rutkowski RG, and Palmer AR. 2000. Identification and localisation of auditory areas in guinea pig cortex. *Experimental Brain Research* 132:445-456.

Wan XST, Liang F, Moret V, Wiesendanger M, and Rouiller EM. 1992. Mapping of the motor pathways in rats: c-fos induction by intracortical microstimulation of the motor cortex correlated with efferent connectivity of the site of cortical stimulation. *Neurosci* 49:749-761.

Warr W.B. 1972. Fiber degeneration following lesions in the multipolar and globular cell areas in the ventral cochlear nucleus of the cat. *Brain Res.* 40, 247-270.

Webster W.R. 1977. Chopper units recorded in the cochlear nucleus of the awake cat. *Neurosci Lett* 7, 261-265.

Weedman DL and Ryugo DK. 1996. Projections from auditory cortex to the cochlear nucleus in rats: Synapses on granule cell dendrites. *J Comp Neurol* 371:311-324.

Weedman DL and Ryugo DK. 1996. Pyramidal cells in primary auditory cortex project to cochlear nucleus in rat. *Brain Res* 706:97-102.

Weinberg RJ and Rustioni A. 1987. A cuneocochlear pathway in the rat. *Neurosci* 20:209-219.

Wenthold RJ. 1987. Evidence for a glycinergic pathway connecting to the two cochlear nuclei: an immunocytochemical and retrograde transport study. *Brain Res* 415:183-187.

Wenthold RJ, Huie D, Altschuler RA, and Reeks KA. 1987. Glycine immunoreactivity localized in the cochlear nucleus and superior olivary complex. *Neurosci* 22:897-912.

Wickesberg RE and Oertel D. 1990. Delayed, frequency specific inhibition in the cochlear nuclei of mice: a mechanism for monaural echo suppression. *J Neurosci* 10:1762-1768.

Wouterlood FG and Mugnaini E. 1984. Cartwheel neurons of the dorsal cochlear nucleus: a Golgi-electron microscopic study in rat. *J Comp Neurol* 227:136-157.

Wright DD and Ryugo DK. 1994. Projections from dorsal column nuclei neurons from mossy fiber-like terminals in the dorsal cochlear nucleus of rat. *Abstr.Assoc.Res.Otolaryngol.* 17.

Wright DD and Ryugo DK. 1996. Mossy fiber projections from the cuneate nucleus to the cochlear nucleus in the rat. *J Comp Neurol* 365:159-172.

Wu SH and Oertel D. 1984. Intracellular injection with horseradish peroxidase of physiologically characterized stellate and bushy cells in slices of mouse anteroventral cochlear nucleus. *J Neurosci* 4:1577-1588.

Young ED and Brownell WE. 1976. Responses to tone and noise of single cells in the dorsal cochlear nucleus of unanaesthetized cats. *J Neurophysiol* 39:282-300.

Young ED. 1980. Identification of response properties of ascending axons from dorsal cochlear nucleus. *Brain Res* 200:23-37.

Young ED and Voigt HF. 1982. Response properties of type II and III units in dorsal cochlear nucleus. *Hearing Res.* 6, 153-169.

Young ED, Robert JM, and Shofner WP. 1988. Regularity and latency of units in ventral cochlear nucleus: implications for unit classification and generation of response properties. *J Neurophysiol* 60:1-29.

Young ED, Nelken I, and Conley RA. 1995. Somatosensory effects on neurons in dorsal cochlear nucleus. *J Neurophysiol* 73:743-765.