

Université de Montréal

Origine des projections sensorimotrices dans des sous-régions du cortex moteur primaire chez le singe capucin.

Par :

Melvin Dea

Département de Neurosciences

Faculté de Médecine

Mémoire présenté à la Faculté Médecine
en vue de l'obtention du grade de Maître ès Sciences (M.Sc.)
en Sciences Neurologiques

Avril, 2015

© Melvin Dea, 2015

Résumé

Certaines études ont démontrés que les connexions entre l'aire prémotrice ventrale (PMv) et la région de la main du cortex moteur primaire (M1) sont distribuées non-uniformément, ciblant des sous-régions spécifiques dans M1. Dans la présente étude nous avons voulu développer ces résultats en étudiant la distribution au sein de M1 des projections corticales issues de PMv, l'aire prémotrice dorsale (PMd), l'aire motrice supplémentaire (SMA) et les aires pariétales 1, 2 et 5. Pour se faire, nous avons combiné des approches électrophysiologiques et anatomiques chez trois singes naïfs du Nouveau Monde (*Cebus apella*) pour examiner l'organisation et la spécificité topographique des projections corticales dans M1. Nos résultats indiquent que quatre sous-régions à l'intérieur de la région dédiée à la main reçoivent des inputs prédominants de différentes aires sensorimotrices. Ces résultats suggèrent que des sous-régions de M1 puissent avoir des fonctions spécifiques pour le contrôle moteur de la main et des doigts.

Mots-clés : *Cebus apella*, singe, cortex moteur primaire, neuroanatomie, connexions, inputs, ipsilatéral, sensorimoteur, réseau, main.

Abstract

Previous studies have provided evidence that the ventral premotor cortex (PMv) is not uniformly interconnected with the hand area of the primary motor cortex (M1) but instead, only has connections with specific sub-regions. In the present study, we wanted to expand on these results and investigate the distribution of cortical inputs originating from PMv, the dorsal premotor cortex (PMd), supplementary motor area (SMA), and parietal areas 1, 2 and 5 within the hand area of M1. To do so, we combined electrophysiological and anatomical approaches in three naïve New World monkeys (*Cebus apella*) and examined the organisation and topographic specificity of ipsilateral cortical inputs to M1. Our results indicate that four sub-regions within the hand area of M1 receive predominant cortical inputs from different sensorimotor areas. These results suggest that M1 sub-regions are parts of different cortical networks that may serve specific functions for the control of hand and digit movements.

Keywords: *Cebus apella*, monkey, primary motor cortex, neuroanatomy, connections, inputs, ipsilateral, sensorimotor, network, hand area.

Table des matières

Résumé.....	i
Abstract.....	ii
Table des matières.....	iii
Liste des tableaux.....	v
Liste des figures.....	vi
Liste des sigles et abréviations.....	vii
Remerciements.....	ix
Chapitre I. Introduction générale.....	11
Le réseau sensorimoteur chez le primate.....	17
Connexions corticocorticales générales de M1.....	19
Division de M1 en sous-régions.....	21
<i>Cytoarchitecture de sous-régions de M1</i>	21
<i>Physiologie de sous-régions de M1</i>	22
<i>Connectivité de sous-régions de M1</i>	22
Patron de connexions spécifique de M1 et PMv.....	24
Récapitulatif.....	25
Chapitre II. Manuscrit pour soumission.....	27
Abstract.....	29
Introduction.....	30
Materials and methods.....	33
<i>Surgical procedures</i>	33
<i>Electrophysiological motor mapping</i>	34
<i>Electrophysiological somatosensory mapping</i>	35
<i>Neuronal tracer injections</i>	36
<i>Histological procedures</i>	37
<i>Neuroanatomical reconstruction and quantification of labelled cells</i>	38

Results.....	41
<i>Hand representations in primary motor and premotor cortex of cebus monkeys</i>	41
<i>Hand representations in the parietal cortex</i>	43
<i>Distribution of labelled cell bodies in the ipsilateral hemisphere</i>	44
Discussion.....	47
<i>Motor and somatosensory areas in the capuchin monkey</i>	47
<i>Pattern of projections from somatosensory areas to M1</i>	48
<i>Pattern of projections from premotor areas to M1</i>	50
<i>Support for subdivisions within the M1 hand area</i>	52
Acknowledgements.....	54
Figures and legends.....	55
Chapitre III. Discussion générale.....	66
Aires pariétales et connexions corticospinales	67
Aires prémotrices et connexions corticospinales	71
Études lésionnelles.....	74
Études d'inactivation	75
Directions futures.....	77
Conclusion générale.....	80
Bibliographie.....	i

Liste des tableaux

Chapitre 2: Manuscrit pour soumission

Table 1. Neuroanatomical tracers efficacy

Liste des figures

Chapitre 1 : Introduction générale

Figure 1 : Schématisation de l'organisation médio-latérale des segments majeurs du corps au sein du cortex moteur primaire (M1).

Figure 2 : Schématisation des aires corticales du réseau sensorimoteur à l'étude chez le singe capucin (*Cebus apella*).

Figure 3 : Schéma résumant la connectivité de la M1 avec d'autres aires corticales du réseau sensorimoteur chez le singe hibou

Chapitre 2: Manuscrit pour soumission

Figure 1. Electrophysiological mapping.

Figure 2. Cortical surface area of the hand representation in the primary (M1) and premotor areas.

Figure 3. Photomicrographs of retrogradely labeled cells in the hemisphere ipsilateral to the injection of neuronal tracer.

Figure 4: Reconstruction of the labelled cell bodies in CB-8.

Figure 5: Reconstruction of the labelled cell bodies in CB-6 and CB-3.

Figure 6: Proportion of labeled cell bodies in ipsilateral hemisphere.

Figure 7: Normalized strength of cortical projections to the M1's hand area from the different areas of the ipsilateral hemisphere.

Chapitre 3: Discussion générale

Figure 1: Schéma résumant la connectivité de M1 avec d'autres aires corticales du réseau sensorimoteur chez le singe capucin (*Cebus apella*).

Liste des sigles et abréviations

CM : corticomotoneuronale

CMA : aire motrice cingulée

CS : corticospinale

CST : faisceau corticospinal

EMG : électromyographique

GABA_A : récepteur de l'acide gamma-aminobutyrique de type A

ICMS : microstimulation intracorticale

M1 : cortex moteur primaire

M1c : portion caudale du cortex moteur primaire

M1r : portion rostrale du cortex moteur primaire

PET : tomographie par émission de positrons

PMd : aire prémotrice dorsale

PMv : aire prémotrice ventrale

PV : aire somatosensorielle pariétale ventrale

S1 : aire somatosensorielle primaire

S2 : aire somatosensorielle secondaire

SMA : aire motrice supplémentaire

SMAd : portion dorsale de l'aire motrice supplémentaire

SMAm : portion médiale de l'aire motrice supplémentaire

À ma famille et ami(e)s!

Remerciements

Je tiens tout d'abord à remercier mon directeur de recherche, Numa Dancause, pour m'avoir accueilli dans son laboratoire et de m'avoir fait confiance avec un projet de maîtrise audacieux de neuroanatomie chez un modèle de primates. Merci à Stephan Quessy pour toute l'aide octroyée au cours de cette maîtrise. Je n'oublierai jamais la chance que j'ai eu d'y consacrer les dernières années en votre compagnie, tant pour les chirurgies *overnight*, les discussions lors des lunchs, des 5à7 au Vices et Versa, mais surtout pour votre passion et dévouement envers la recherche scientifique. Merci également à tous les autres membres du laboratoire pour tout votre appui et assistance à tous les niveaux, tant sur le plan scientifique que personnel.

Je tiens aussi à remercier les membres de mon comité de parrainage pour votre présence et l'attention que vous avez porté à mon projet, ainsi qu'aux membres de mon jury, d'avoir accepté d'évaluer mon mémoire de maîtrise.

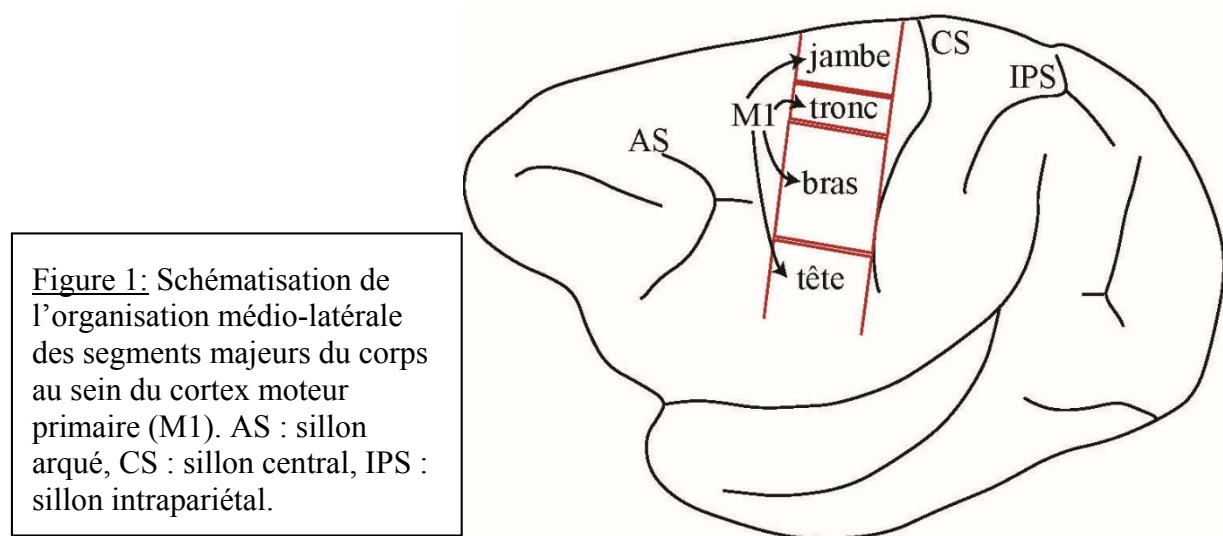
Je tiens à remercier tous mes ami(e)s proches, ainsi qu'aux membres de mon équipe d'hockey, *Des Piwis et des Hommes*, pour votre soutien et vos encouragements. Merci de m'avoir aidé à décompresser, déstresser et faire le vide part moment.

Un merci tout particulier à Silvia Themelidis, ton amour et soutien inconditionnel face aux différentes étapes de mon cheminement de maîtrise m'ont été indispensable! *Thank you gorgeous!*

Enfin, un énorme merci à mes parents et mes sœurs sans qui rien de tout ça n'aurait pu se concrétiser. C'est grâce à votre appui et présence que je suis rendu jusqu'ici! Sans vous je n'y serais pas arrivé. Merci infiniment, je vous aime de tout cœur!

Chapitre I. Introduction générale

Les premiers travaux de stimulation du cortex moteur par électrodes de surfaces ont permis de mettre à jour une organisation distincte des différentes parties du corps et des mouvements, autant chez l'humain (Penfield and Boldrey, 1937) que chez le macaque (Woolsey et al., 1952). Les efférences du cortex moteur sont organisées de façon systématique avec un arrangement spatial médio-latéral des segments du corps, avec la représentation de la jambe en médial, puis suivent latéralement le tronc, le bras et la tête. Le cortex moteur primaire (M1) est donc organisé somatotopiquement, ayant différents territoires corticaux régissant les segments majeurs du corps.



Chaque segment majeur du corps, mentionné ci-dessus, semble également avoir un arrangement somatotopique médio-latéral qui lui est propre. Par exemple, au sein même du territoire réservé à la représentation générale du bras, on retrouve médialement l'épaule, puis se succèdent latéralement le coude, le poignet, l'auriculaire, l'annulaire, le majeur, l'index et le petit doigt (Penfield and Boldrey, 1937, Woolsey et al., 1952). Ces premiers travaux ont

Introduction générale

donc présenté une organisation fonctionnelle de M1 selon une somatotopie et une topographie bien précise. Par contre, ces études initiales ont suggéré que la représentation des outputs moteurs originaires du territoire destiné au bras de M1 présente des chevauchements importants entre des parties adjacentes du corps. Par exemple, Penfield et Boldrey ont noté entre autres des entremêlements au niveau des représentations du pouce et de l'auriculaire (Penfield and Boldrey, 1937). D'autres travaux utilisant des méthodes de stimulation de surface chez le macaque ont démontré une somatotopie à l'intérieur même du territoire dédié à la représentation de la jambe de ce singe de l'Ancien Monde (Chang et al., 1947). Dans ce cas-ci, chaque muscle entourant la cheville posséderait un seul point de représentation focal précis, tout en présentant un chevauchement avec les représentations des autres muscles entourant l'articulation de la cheville. Ainsi, en plus d'un arrangement somatotopique des segments majeurs du corps au sein de M1, il y existerait un second degré d'organisation somatotopique à l'intérieur même de chacun de ces territoires dédiés aux représentations générales du corps.

Plusieurs groupes de recherche se sont par la suite penchés sur la question de l'organisation fonctionnelle détaillée au sein même des territoires corticaux consacrés aux représentations générales du corps, plus particulièrement celle du bras. Ainsi, l'avènement de nouvelles techniques électrophysiologiques plus invasives, telles que la microstimulation intracorticale (ICMS), l'enregistrement de neurones isolés, de *spike-triggered averaging* ou encore de *stimulus-triggered averaging*, a permis d'observer avec une meilleure résolution l'organisation fine à l'intérieur des différents territoires de représentations majeures du corps dans M1, et ce chez plusieurs modèles de primates. Des travaux effectués chez le singe capucin ont d'abord démontré qu'il existait aussi une carte topographique de la représentation des muscles ou des mouvements au sein du segment cortical consacré à la représentation dans

Introduction générale

M1 du bras de ce singe du Nouveau Monde (Asanuma and Rosen, 1972). Selon cette carte motrice, l'organisation corticale de chaque muscle entourant une articulation du bras posséderait un point de représentation focal précis avec un pourtour qui chevauche les représentations de muscles dont les fonctions se complètent (Asanuma and Rosen, 1972), tel que retrouvé à l'intérieur de la représentation de la jambe du macaque (Chang et al., 1947). Ainsi, les muscles et mouvements liés à un même segment majeur du corps et ayant des outputs moteurs similaires seraient colocalisés dans M1, témoignant d'une somatotopie à l'intérieur même d'un territoire dédié à la représentation d'un segment majeur du corps, retrouvant donc une organisation fonctionnelle du cortex moteur ressemblant à ceux initialement présentés.

Par la suite, d'autres travaux s'attardant aux détails à l'intérieur même du territoire dédié à la représentation du bras chez le macaque permirent d'établir que la position de la représentation des doigts est située caudalement dans M1, dans le mur antérieur du sulcus central (Kwan et al., 1978, Sessle and Wiesendanger, 1982). Cette aire destinée aux mouvements des doigts est ensuite partiellement bordée par une succession d'aires ayant chacune la forme d'un « U » celles-ci dédiées, dans l'ordre, à la représentation du poignet, du coude et de l'épaule (Kwan et al., 1978, Sessle and Wiesendanger, 1982). Ainsi, la représentation distale du bras de M1 est située au centre de représentations successivement de plus en plus proximales. Aussi, l'aire corticale destinée à la représentation d'une articulation du bras présente un chevauchement considérable avec celle d'une autre articulation contiguë du bras, tandis que les zones représentant deux articulations non contiguës du corps, telles que les doigts et les lèvres par exemple, se chevauchent minimalement ou pas du tout (Kwan et al., 1978). Ainsi, l'arrangement à l'intérieur du territoire consacré à la représentation du bras de

Introduction générale

M1 ne semble pas présenter une organisation fonctionnelle somatotopique médio-latérale stricte, ainsi que le proposaient précédemment les travaux de quelques groupes pionniers. Malgré cela, ceux-ci suggèrent toujours une ségrégation des mouvements et muscles proximaux et distaux.

Par la suite, des travaux extensifs de cartographie par ICMS chez le singe-hibou, le singe-écureuil et le macaque ont testé davantage le concept d'organisation de M1 et révélé encore plus sa complexité (Gould et al., 1986, Huntley and Jones, 1991, Donoghue et al., 1992). Les cartes des mouvements évoqués par ICMS ont de nouveau démontré une somatotopie globale des segments majeurs du corps dans M1 similaire aux travaux précédents, avec une organisation médio-latérale successive des territoires consacrés aux mouvements des jambes, du tronc, des bras et de la tête (Gould et al., 1986). Par contre, l'organisation fine à l'intérieur de chacun de ces territoires réservés à la représentation générale d'une section du corps ne semble suivre aucun plan d'arrangement topographique précis et constant (Gould et al., 1986, Huntley and Jones, 1991, Donoghue et al., 1992). De plus, cette organisation locale présente des variations considérables en ce qui a trait aux détails fins de chacune de ces représentations entre les sujets (Gould et al., 1986, Huntley and Jones, 1991, Donoghue et al., 1992). L'organisation au sein du territoire dédié à la représentation de la main de M1 est alors présentée comme une mosaïque de représentations de mouvements n'ayant pas de topographie précise (Gould et al., 1986, Huntley and Jones, 1991, Donoghue et al., 1992). Le territoire dédié à la représentation du bras de M1 serait donc dépourvu d'une organisation somatotopique médio-latérale intrinsèque. Selon ce modèle, les zones dédiées aux représentations de mouvements distaux et proximaux se mêlent l'une à l'autre. De plus, un même mouvement peut être induit à plusieurs endroits séparés spatialement au sein de la

Introduction générale

représentation du bras de M1 et les mouvements d'articulations non contiguës peuvent être obtenus de points de stimulation voisins (Gould et al., 1986, Huntley and Jones, 1991, Donoghue et al., 1992). L'arrangement en mosaïque et l'entremêlement des différentes représentations de muscles au niveau de la représentation du bras de M1 permettraient de placer ceux-ci à proximité l'un de l'autre pour la régulation et la coordination de mouvements mettant à contribution plusieurs articulations, ou encore pour permettre un réarrangement entre les groupes fonctionnels lors de l'apprentissage d'une nouvelle aptitude (Huntley and Jones, 1991, Donoghue et al., 1992, Schieber, 2001).

D'autres travaux chez le macaque rhésus notent aussi l'absence d'une organisation somatotopique au sein de la représentation du bras de M1. L'enregistrement de neurones isolés, alors que l'animal effectue une série de mouvements isolés, soit d'un doigt, soit du poignet, a permis de démontrer que la majorité des neurones isolés déchargeaient en lien avec les mouvements instruits de deux séries ou plus (Schieber and Hibbard, 1993). De ce fait, les populations neuronales consacrées à un mouvement isolé du poignet ou d'un doigt se chevauchaient grandement et apparaissaient coextensives. Donc les neurones générant une activité suite à un mouvement instruit précis étaient distribués dans le territoire de la représentation de la main de M1, démontrant une grande distribution spatiale de changements d'activité neuronale lors de l'exécution des divers mouvements requis (Schieber and Hibbard, 1993). Ainsi, le mouvement d'un doigt dépendrait d'une population neuronale distribuée dans le segment consacré à la représentation de la main dans M1 et non d'une population neuronale organisée somatotopiquement, rejoignant le concept d'un arrangement détaillé en mosaïque à l'intérieur de la représentation du bras de M1.

Introduction générale

D'autres travaux chez le singe-écureuil, réalisés au moyen de la technique du *stimulus-triggered averaging*, ont aussi démontré une organisation non somatotopique au sein même de la représentation du bras de M1. Il s'agit d'un arrangement où un noyau de représentations distales (poignet, main intrinsèque et doigts) au niveau du mur antérieur du sulcus central est entouré partiellement d'une zone de représentations proximales (coude et épaule) en forme de fer à cheval (Park et al., 2001, Park et al., 2004). Ce qui différencie ces travaux-ci de ceux relatant une organisation similaire en forme de croissant mentionnés plus haut (Kwan et al., 1978, Sessle and Wiesendanger, 1982) est l'identification d'une zone de transition relativement large où s'entremêlent la représentation proximale en forme de fer à cheval et le noyau de représentations distales accolé au sulcus central qu'elle encercle partiellement (Park et al., 2001, Park et al., 2004). Ainsi cette région corticale de M1, où se côtoient représentation proximale et distale du bras, pourrait permettre de solliciter l'action de groupes fonctionnels de muscles qui se retrouvent près les uns des l'autres et d'offrir un substrat potentiel pour la régulation de synergies musculaires lors de la coordination de mouvements impliquant plusieurs articulations (Park et al., 2001, Park et al., 2004) ou, tel que mentionné précédemment, pour permettre un réarrangement entre les groupes fonctionnels lors de l'apprentissage d'une nouvelle aptitude (Donoghue et al., 1992).

De ces travaux étudiant l'organisation fonctionnelle de M1, il ressort donc que les segments majeurs du corps de M1 sont organisés somatotopiquement de façon générale avec un arrangement spatial médio-latéral de ceux-ci, avec la représentation de la jambe en médial, puis latéralement le tronc, le bras et la tête, et ce grâce à différentes études mentionnées dans cette section (Kwan et al., 1978, Sessle and Wiesendanger, 1982, Gould et al., 1986, Huntley and Jones, 1991, Donoghue et al., 1992, He et al., 1993, Park et al., 2001). Par contre, notons

qu'à l'intérieur même de l'un de ces segments, tel que la représentation du bras de M1, il ne semble pas y avoir d'arrangement somatotopique qui prévale. Il s'agit plutôt d'une zone où se côtoient les représentations de divers muscles permettant une plus grande interaction entre différents muscles du bras, de la main et des doigts. Cette flexibilité du cortex moteur et ses représentations multiples d'un seul et même muscle laissent à penser que celles-ci interagiraient peut-être différemment avec d'autres aires corticales. Voyons donc comment cette organisation fonctionnelle de M1 se situe dans le réseau sensorimoteur de primates et d'humains.

Le réseau sensorimoteur chez le primate

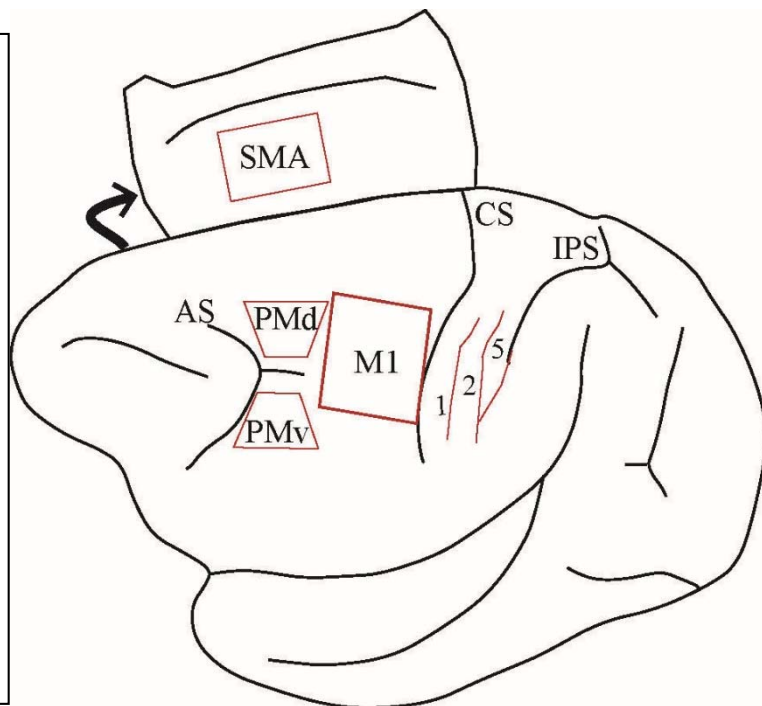
Débutons par un survol des principales aires corticales qui interagissent avec M1, soit des aires prémotrices et quelques aires du cortex pariétal. Une aire prémotrice est par définition une zone corticale dans le lobe frontal disposant d'un accès direct à M1 ainsi qu'à la moelle épinière, et qui possède une représentation distale de la musculature du bras distincte de celle de M1 (Dum and Strick, 1991, 2002, Chouinard and Paus, 2006). Ainsi les aires prémotrices pourraient avoir une influence directe sur la planification de mouvements des bras, mais aussi une influence indirecte en passant par M1. Parmi ces aires du cortex frontal, on retrouve l'aire prémotrice dorsale (PMd), l'aire prémotrice ventrale (PMv), l'aire motrice supplémentaire (SMA) et l'aire motrice cingulée (CMA).

L'aire somatosensorielle primaire (S1), qui se retrouve dans la portion antérieure du cortex pariétal, est pour sa part subdivisée en quatre bandes parallèles médio-latérales correspondant en fait à des subdivisions au sein de celle-ci (Kaas, 2004). Dans le cortex somatosensoriel, les aires 3a, 3b, 1 et 2 qui composent S1 comportent chacune une

Introduction générale

représentation de récepteurs sensoriels des segments majeurs contralatéraux du corps. Chez le macaque, l'aire 3a représente principalement les informations des propriocepteurs du corps, les aires 3b et 1 reçoivent majoritairement des informations issues des récepteurs cutanés, tandis que l'aire 2 reçoit un mélange des deux types de récepteurs sensoriels mentionnés (Kaas, 2004). Suivant caudalement ces aires somatosensorielles, on retrouve entre autres l'aire 5 et l'aire 7b. Ces aires du cortex pariétal postérieur, comme la majorité de celles qui s'y trouvent, sont sollicitées dans la production d'habiletés manuelles complexes par l'intégration d'informations sensorielles à celles-ci (Padberg et al., 2005, Padberg et al., 2010). Plus précisément, l'aire 5 serait sollicitée lors de mouvements d'atteinte et de préhension qui sont coordonnés et visuellement guidés (Padberg et al., 2010).

Figure 2: Schématisation des aires corticales du réseau sensorimoteur à l'étude chez le singe capucin (*Cebus apella*). Les contours en rouge servent à entourer la portion dédiée à la représentation du bras des différentes aires. La flèche représente une portion du mur médian déplié afin de visualiser SMA, qui s'y trouve. AS : sillon arqué, CS : sillon central, IPS : sillon intrapariétal, PMd : aire prémotrice dorsale, PMv : aire prémotrice ventrale, SMA : aire motrice supplémentaire, 1 : aire 1, 2 : aire 2, 5 : aire 5.



Connexions corticocorticales générales de M1

En plus de l'évolution des techniques électrophysiologiques qui permirent de mieux comprendre M1, considérons maintenant les techniques neuroanatomiques. Depuis les travaux de Brodmann , qui établirent les fondements des divisions cytoarchitecturales du cortex (Brodmann, 1909, Brodmann and Garey, 2007), l'utilisation de diverses techniques de marquage et l'évolution des traceurs neuronaux auront mis en évidence les connexions des différents territoires dédiés aux segments majeurs du corps de M1, autant entre eux qu'avec d'autres régions corticales. Parmi ces régions corticales connectées avec M1, on retrouve des aires prémotrices, des aires somatosensorielles et quelques-unes du cortex pariétal postérieur.

Suite à l'injection de divers traceurs neuronaux, les connexions corticocorticales intrinsèques de M1 qui sont révélées sont principalement restreintes à la représentation du segment majeur du corps qui fut injecté (Matsumura and Kubota, 1979, Godschalk et al., 1984, Huntley and Jones, 1991, Stepniewska et al., 1993). Chez le macaque par exemple, l'injection de la peroxydase de raifort à l'intérieur de la représentation distale du bras localisé par ICMS a mis en évidence des connexions antérogrades et rétrogrades dans toute la représentation du bras et une absence quasi totale de connexions avec les territoires consacrés aux autres représentations majeures du corps (i.e. jambe, tête et tronc) (Huntley and Jones, 1991). Il y aurait donc un réseau de connexions corticocorticales interreliant toutes les représentations du bras de M1 entre-elles. Ainsi, une division somatotopique du corps a des projections sur l'étendue rostrocaudale de ladite représentation dans M1, ce qui indique une forte interaction au niveau de M1 entre sa portion rostrale (M1r) et caudale (M1c), tant au niveau du bras que de la jambe, par exemple (Stepniewska et al., 1993). De plus, l'utilisation de traceurs neuronaux rétrogrades injectés dans un seul segment majeur du corps de M1 mettra

Introduction générale

en évidence des connexions avec la même représentation majeure du corps dans divers autres aires corticales, que ce soit la région de la main et l'avant-bras (Matsumura and Kubota, 1979, Huntley and Jones, 1991, Stepniewska et al., 1993, Tokuno and Tanji, 1993, Tokuno et al., 1997, Stepniewska et al., 2006), du tronc (Stepniewska et al., 1993, 2006), de la tête (Stepniewska et al., 1993, Tokuno and Tanji, 1993, Tokuno et al., 1997, Stepniewska et al., 2006) ou les jambes (Stepniewska et al., 1993) qui sont injectés. Chez le macaque, par exemple, l'injection de deux traceurs fluorescents rétrogrades (Fast Blue et Diamidino Yellow) dans la représentation des doigts et de l'épaule de M1, respectivement, révèle des connexions réciproques réparties sur la totalité du territoire représentant le bras dans M1, retrouvant même des somas de neurones doublement marqués (Tokuno and Tanji, 1993). Ceci met à nouveau en lumière les connexions intrinsèques importantes au sein même du territoire dédié au bras de M1. De plus, ces deux traceurs furent observés dans la même représentation de plusieurs autres aires prémotrices, sensorielles et pariétales, ainsi que dans la représentation du segment majeur du corps de M1 où le site d'injection est retrouvé. Ceci révèle donc le caractère somatotopique des projections de la représentation du bras de M1 qui interagiraient préférentiellement avec la région dédiée au bras d'autres aires du réseau sensorimoteur. Ainsi, selon les résultats de plusieurs études chez des primates de l'Ancien Monde ou du Nouveau Monde, l'injection de traceurs neuronaux dans la représentation du bras de M1 révèle des connexions organisées somatotopiquement avec les aires prémotrices PMd, PMv et SMA, ainsi qu'avec les aires somatosensorielles 3a, 1, 2 et S2 (Jones et al., 1978, Leichnetz, 1986, Ghosh et al., 1987, Stepniewska et al., 1993, 2006). De faibles connexions sont aussi observées avec l'aire somatosensorielle 3b, le cortex postérieur pariétal et l'aire motrice cingulée (CMA) (Leichnetz, 1986, Stepniewska et al., 1993, 2006). De plus, chez le macaque,

les aires 5 et 7b envoient des projections à M1 (Jones et al., 1978, Sessle and Wiesendanger, 1982, Godschalk et al., 1984, Leichnetz, 1986, Tokuno and Tanji, 1993, Tokuno et al., 1997, Rizzolatti et al., 1998). La connectivité de M1 sera abordée plus en détail à la section qui suit.

Division de M1 en sous-régions

Avec l'évolution des techniques électrophysiologiques et neuroanatomiques, la compréhension que nous avons de M1 a évolué. Ainsi, M1 chez les primates serait subdivisé en une portion rostrale (M1r) et une portion caudale (M1c) qui posséderait chacune des caractéristiques différentes (Jones et al., 1978, Strick and Preston, 1982a, b, Stepniewska et al., 1993, Preuss et al., 1996, Stepniewska et al., 2006). Seront donc abordés ci-dessous trois aspects qui auront permis d'avancer cette hypothèse d'une subdivision de M1, soit la cytoarchitecture, la physiologie et la connectivité. Cette subdivision en une région caudale et rostrale serait similaire chez l'humain (Geyer et al., 1996).

Cytoarchitecture de sous-régions de M1

Au niveau cytoarchitectural, chez le singe-hibou les cellules pyramidales de la couche laminaire V sont plus larges dans la partie caudale que dans la partie rostrale de M1 (Stepniewska et al., 1993, Preuss et al., 1996). Chez l'humain, une différence significative du volume de neurones et des densités laminaires des couches II à VI existe également entre la portion rostrale et caudale de la représentation du membre antérieur de M1 (Geyer et al., 1996). Il semble donc que des différences cytoarchitecturales existent entre M1r et M1c chez le primate et chez l'humain.

Physiologie de sous-régions de M1

En termes de physiologie, l'enregistrement de l'activité neuronale au niveau du territoire dédié au bras de M1 lors de la manipulation de la main et de l'avant-bras permettait une distinction de la portion rostrale et caudale de M1 en relation avec les inputs sensoriels qu'elle reçoit. Ainsi, chez le singe-écureuil la subdivision M1c reçoit des inputs somatosensoriels principalement d'ordre cutané, tandis que la subdivision M1r reçoit plutôt des inputs somatosensoriels musculaires ou articulaires (Strick and Preston, 1982b). Il semble donc y avoir une ségrégation entre les inputs somatosensoriels envoyés vers l'une et l'autre des subdivisions de M1. Chez l'humain, il fut démontré par l'analyse de patrons d'activation de scan de tomographie par émission de positrons (PET) que deux sous-régions de M1 sont activées différemment lorsque des sujets sains effectuent diverses tâches motrices sollicitant les doigts (Geyer et al., 1996). Ainsi, en effectuant diverses tâches requérant du sujet qu'il appuie sur un bouton avec un seul doigt suite à des stimuli somatosensoriels visuels ou tactiles, ou encore lors d'une tâche de mémoire, deux zones d'activations émergeaient, et ce différemment selon les tâches demandées. Dans ce cas-ci aussi, on note un certain chevauchement entre les zones d'activation décelé par PET (Geyer et al., 1996). Dans ces travaux qui s'attardent aux différences physiologiques potentielles au sein de M1, notons que l'apport d'information somatosensorielle est distribué différemment entre M1r et M1c.

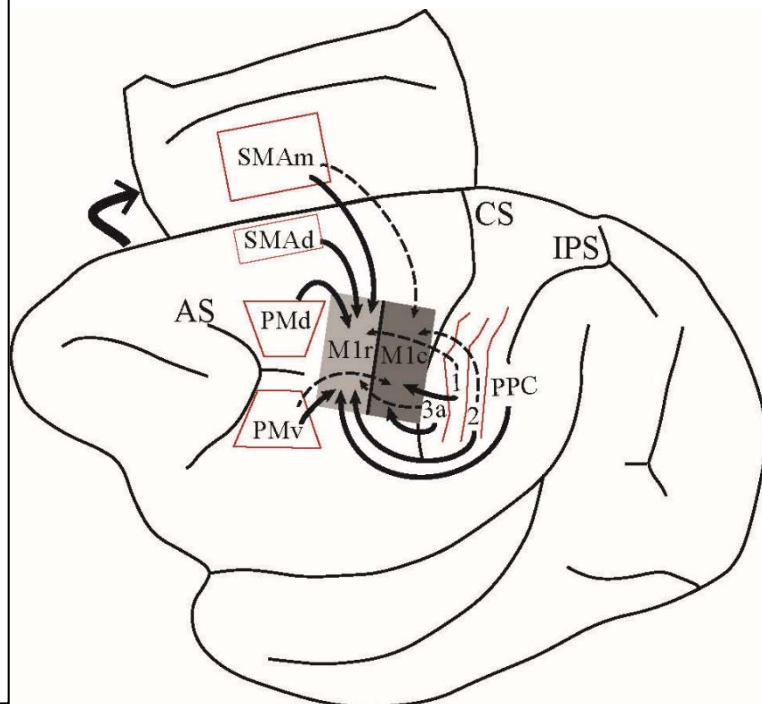
Connectivité de sous-régions de M1

Au sujet de la connectivité de M1r et M1c avec d'autres aires corticales, leurs patrons de connexions présentent des distinctions (Figure 3). Comme mentionné à la section précédente, l'utilisation de traceurs neuronaux rétrogrades injectés dans un seul segment

Introduction générale

majeur du corps de M1 marque typiquement la même représentation du corps dans plusieurs autres aires corticales. Chez le singe-hibou, M1r reçoit les inputs de la représentation du membre antérieur de PMd, de la portion dorsale de SMA (au niveau de la convexité du mur médian; SMAd) et du cortex postérieur pariétal (Stepniewska et al., 1993). Au niveau somatosensoriel, la représentation du membre antérieur de M1r reçoit principalement des inputs de l'aire 2 et minoritairement des aires 3a et 1, tandis que M1c reçoit une faible quantité d'inputs de l'aire 2 et reçoit de façon prédominante des inputs des aires 3a et 1 (Stepniewska et al., 1993). Pour ce qui est de PMv et la portion médiale de SMA (à l'intérieur du mur médian; SMAm), les deux subdivisions de M1 en reçoivent des inputs, mais M1r en reçoit de façon plus abondante. Au niveau du sulcus latéral, les aires PV et S2 envoient des projections aux deux subdivisions de M1 (Stepniewska et al., 1993).

Figure 3: Schéma résumant la connectivité de la M1 avec d'autres aires corticales du réseau sensorimoteur chez le singe hibou tel qu'énoncé ci-dessus. Les inputs reçus par la portion rostrale ou caudale M1 sont représentés par les flèches pleines, tandis que des connexions plus faibles sont représentées par des flèches pointillées. M1r : M1 rostral, M1c : M1 caudale, SMAd : SMA dorsale, SMAm : SMA médiale, 3a Aire 3a, PPC : cortex pariétal postérieur et autres conventions telles qu'aux figures précédentes.



On peut donc affirmer que les deux subdivisions de M1 sont différentes sur plusieurs plans, selon leurs cytoarchitectures, leurs propriétés physiologiques et leurs patrons de connectivités corticocorticales. Par contre, les travaux étudiant la connectivité de M1 ne présentent pas une résolution spatiale suffisante permettant de discerner l'organisation fine au sein même de la représentation du bras de M1. Ceux-ci ne permettaient donc pas de quantifier avec une grande précision la topographie des projections reliant de possibles subdivisions de M1 avec d'autres aires corticales.

Patron de connexions spécifique de M1 et PMv

D'ailleurs, de plus amples travaux chez le singe-écureuil ont démontré quantitativement qu'il existe un patron de connexions spécifique entre la représentation détaillée du bras des aires corticales M1 et PMv (Dancause et al., 2006b). Dans la portion caudale de la représentation distale de l'avant-bras de M1, seule la portion latérale possède des connexions avec PMv (Dancause et al., 2006b). Il y a donc un premier regroupement des connexions entre la représentation distale de PMv et M1 qui est formé au niveau caudolatéral de la représentation distale du membre antérieur de M1. Par contre, dans la subdivision rostrale de M1, autant la portion médiale et que latérale sont connectée à PMv. Il y a donc un deuxième et troisième regroupement des connexions entre la représentation distale de PMv et M1 qui est formée au niveau rostrolatéral et rostromédial de la représentation distale du membre antérieur de M1. Ainsi, ces travaux combinant données électrophysiologiques concernant la représentation distale de l'avant-bras avec des données neuroanatomiques ont démontré que la portion rostrolatérale de M1 est la sous-région de M1 qui est la plus fortement connectée avec PMv, tandis que la portion caudomédiale est largement dépourvue de

connexion avec PMv. La distinction entre le patron de connexions de la portion médiale et latérale de M1c, mais aussi en M1r, laisse entrevoir une potentielle division de celles-ci en deux sous-régions, le tout subdivisant M1 en quatre sous-régions, dont les projections présenteraient possiblement une topographie particulière comparé à d'autres aires prémotrices ou pariétales.

C'est donc dans le but de mettre à jour la connectivité de ces quatre sous-régions potentielles de M1 que nous avons entrepris les présents travaux chez trois singes naïfs du Nouveau Monde (*Cebus apella*). Nous avons voulu détailler la possible relation spécifique et précise entre des subdivisions de M1 et diverses aires corticales déjà connues pour leurs liens avec M1 en tirant profit d'une combinaison de techniques électrophysiologiques et neuroanatomiques. **Nous stipulons donc que les subdivisions de M1 proposées jusqu'ici ne se limiteraient plus à deux, mais plutôt à au moins quatre sous-régions présentant des patrons de connexions distincts avec différentes aires du réseau sensorimoteur.** De ce fait, nous suggérons que ces sous-régions de M1 contribueront à des fonctions spécifiques associées au contrôle moteur du bras, de la main et des doigts, en fonction de leurs différents emplacements au sein des diverses boucles d'interactions du réseau sensorimoteur.

Récapitulatif

Le développement d'une variété de techniques a permis de faire évoluer notre compréhension de l'organisation de M1. Certains travaux ont décrit des zones de spécialisation dans la représentation du membre antérieur de M1, proposant une distinction, tant sur le plan cytoarchitectural, physiologique, que connectionnelle, entre M1r et M1c (Jones et al., 1978, Strick and Preston, 1982a, b, Humphrey and Reed, 1983, Stepniewska et al., 1993,

Introduction générale

Geyer et al., 1996, Preuss et al., 1996, Stepniewska et al., 2006). On note aussi que la représentation distale de PMv est interconnectée précisément avec des subdivisions de celle de M1, illustrant à nouveau la distinction entre la portion caudale et rostrale de M1, mais également entre la portion médiale et latérale de chacune (Dancause et al., 2006b). Considérant le patron de connexions spécifique entre PMv et des subdivisions précises de M1, nous proposons que des patrons de connexions spécifiques entre ces subdivisions de la représentation du membre antérieur de M1 et celle d'autres régions corticales émergeront. Nos travaux examineront donc l'origine des projections sensorimotrices chez le singe capucin afin d'approfondir nos connaissances de la spécificité du réseau anatomique cortical des sous-régions de M1. Ces données nous aideront à comprendre le type d'interactions avec d'autres aires corticales qui peuvent prendre place dans ces mêmes sous-régions. Ultimement, ces résultats permettront de mieux comprendre comment l'organisation interne de M1 et l'existence de sous-réseaux corticaux pourraient contribuer à fractionner le contrôle de mouvement exercé par M1.

Chapitre II. Manuscrit pour soumission

Le manuscrit suivant fut soumis à *Cerebral Cortex* le 17 Juin 2015.

Different patterns of cortical inputs to subregions in the primary motor cortex hand representation

Melvin Dea¹, Adjia Hamadjida^{1,2}, Guillaume Elgbeili³, Stephan Quessy¹, and Numa Dancause^{1,2}

¹**Département de Neurosciences,**

² Groupe de recherche sur le système nerveux central (GRSNC)

Pavillon Paul-G-Desmarais,

Université de Montréal

³ Psychosocial Research Division, Douglas Institute Research Centre, Verdun, QC, Canada

Running title: Cortical networks of sub-regions in M1

Keywords: connections, cortex, hand, primary motor cortex, network.

Abstract

The primary motor cortex (M1) plays an essential role in the control of hand movements in primates and is part of a complex cortical sensorimotor network involving multiple premotor and parietal areas. In a previous study, we found that the ventral premotor cortex (PMv) projected mainly to 3 regions within the M1 forearm representation (rostro-medial (RM); rostro-lateral (RL) and caudo-lateral (CL)) with very few projections caudo-medially (CM). These results suggest that projections from premotor areas to M1 are not uniform, but rather segregated into subregions. The goal of the present work was to study how inputs from diverse areas of the ipsilateral cortical network are organized within the M1 hand representation. In *cebus apella*, different retrograde neuroanatomical tracers were injected in 4 subregions of the hand area of M1 (RM, RL, CM and CL). We found a different pattern of input to each subregion of M1. The predominant input to RM was from PMd, RL from PMv and CL from area 2. The proportion of inputs to CM was more evenly distributed among regions of the ipsilateral hemisphere. These results support that the M1 hand representation is composed of several subregions, each part of a unique cortical network.

Introduction

One common finding across neuroanatomical and functional studies is that the primary motor cortex (M1) is not uniform but may be comprised of subregions with distinct characteristics. For example, the caudal part of M1 has larger pyramidal cells than the rostral part (Stepniewska et al., 1993, Preuss et al., 1996) and, whereas the hand representation extends across both regions, current intensity to evoke movements with intracortical microstimulation (ICMS) tends to be lower caudally (Preuss et al., 1996). It is also in the caudal part of M1 that most neurons with monosynaptic projections onto motoneurons controlling hand and arm muscles are located (Rathelot and Strick, 2006, 2009).

The hand representation of M1 is part of an extensive network of cortical areas that interact for the production of arm movements. Several premotor as well as somatosensory areas send projections to M1 (Stepniewska et al., 1993, Dum and Strick, 2005), providing a substrate by which they can modulate the activity and outputs of M1 neurons (Tokuno and Nambu, 2000, Davare et al., 2008, Prabhu et al., 2009, Ziluk et al., 2010). Neuroanatomical tracing studies also often report that the distribution of these cortical inputs in M1 is not homogeneous. Projections from somatosensory areas are denser in the caudal portion of the M1 hand representation and are sparser rostrally (Stepniewska et al., 1993, 2006). Interhemispheric projections seem to follow an inverse pattern. They are located primarily in rostral M1, and are virtually absent in caudal M1 (Gould et al., 1986, Dancause et al., 2007). Inputs from ipsilateral premotor areas have also been proposed to preferentially target rostral M1 (Stepniewska et al., 1993, Dum and Strick, 2005, Dancause et al., 2006b, Stepniewska et al., 2006).

In a previous study, we analyzed the topographic distribution of projections from the ipsilateral PMv in relation to the M1 arm representation and found a more complex pattern than expected (Dancause et al., 2006a). PMv's projections were not simply primarily targeting the rostral M1 but rather formed 3 clusters (rostromedial, rostrolateral and caudolateral), leaving only the caudomedial region of M1 receiving few projections from PMv. These results extend the concept of M1 subdivisions beyond the rostro-caudal axis and suggest that PMv has a very specific pattern of connections with 4 regions within M1. One possibility is that other premotor and sensory areas also preferentially project to specific regions within M1 altogether forming multiple specialized zones, each with a distinct pattern of cortical connections. This idea was recently supported in a study using long-trains of stimulation to identify 'functional zones' (i.e. reach, defense and grasp) within the frontal cortex and the posterior parietal cortex (Gharbawie et al., 2011a). Injections of tracers in each zone revealed a unique pattern of connections. For example, the M1 grasp zone had few connections with S1 and was densely connected with the lateral portion of the posterior parietal cortex, where the parietal grasp zone is located. In contrast, the M1 defense zone had dense connections with S1 and had broader connections in the parietal cortex, with both the defense and grasp zones.

In the present set of experiments, our goal was to study the topographic specificity of cortical projections to M1. In particular, we wanted to directly compare the pattern of ipsilateral inputs to the 4 potential subregions (rostromedial (RM), rostrolateral (RL), caudomedial (CM) and caudolateral (CL)), within the M1's hand representation highlighted in our previous studies (Dancause et al., 2006a). We found that the proportion of input from each distant area of the sensorimotor cortex substantially varied across M1. These results show that subregions within the M1 hand representation have a unique pattern of cortical inputs from

premotor and somatosensory cortical areas. We propose that the M1 hand area is composed of multiple integration nodes that process and integrate largely different cortical inputs and could support specialized aspects of motor functions.

Materials and methods

Surgical procedures

Three naïve young adult female capuchin monkeys (*Cebus apella*), with weight ranging from 1.2kg to 3.5kg, were used in the present study. Our experimental protocol conformed to the guidelines of the Canadian Council on Animal Care and was approved by the Comité de Déontologie de l'Expérimentation sur les Animaux of the Université de Montréal.

All surgical procedures were conducted on the left hemisphere under aseptic conditions. Anesthesia was induced with an intramuscular injection of Ketamine (Ketaset®; 15mg/kg) and transitioned to isoflurane (~2% in 100% O₂). The animal was placed in a stereotaxic frame, pre-medicated with an intramuscular injection of Dexamethasone 2 (Vetoquinol®; 0.5 mg/kg). Lactated ringer's solution was delivered intravenously (10 ml/kg/h) and pulse rate, respiration rate, arterial oxygen saturation and body temperature were monitored and documented throughout the surgery. A dose of Mannitol 20% (1500 mg/kg) was given intravenously prior to the craniotomy to prevent swelling of the brain.

A craniotomy and durectomy exposed the forelimb areas of M1, PMv, dorsal premotor cortex (PMd), supplementary motor area (SMA), as well as the primary somatosensory cortex (S1) and the lateral portion of area 5. The cortex was covered with warm silicone oil and digital photographs of the exposed brain surface taken. Digital pictures were imported in technical illustration software (Canvas, ADC systems). A grid (250µm resolution) was overlaid on the photomicrograph and used to guide electrode penetrations during electrophysiological mapping. For the collection of electrophysiological data, isoflurane was

withdrawn and anesthesia maintained with intravenous injections of Ketamine (20mg/kg/hr) and Diazepam (Valium; 0.01mg/kg/hr). Intracortical microstimulation (ICMS) mapping techniques were used to identify the location of motor representations (Nudo et al., 1992, Dancause et al., 2006c, Dancause et al., 2007). Multi-unit recording techniques were used to locate S1 (area 1 and area 2) and area 5 (Dancause et al., 2006b, Padberg et al., 2007, Padberg et al., 2010). After physiological data collection, neuronal tracers were injected in M1. At the end of the surgery, monkeys received a subcutaneous injection of Carprofen (Rimadyl®; 10 mg/kg), Enrofloxacin (Baytril®; 5 mg/kg) and intramuscular injection of buprenorphine (Temgesic®; 0.01mg/kg). The recovery of the monkey was closely supervised and the drug regiment ensued for 3 days. At the end of the tracer incubation period of 21 days, the animal was killed with a lethal dose of pentobarbital, the brain perfused and processed for tissue sectioning.

Electrophysiological motor mapping

In all 3 animals, we identify the location of the hand representation in M1, PMd and PMv with ICMS. SMA's hand representation was also located with ICMS in 2 animals (CB-6 and CB-8). A glass-coated tungsten microelectrode (impedance ~ 1 M Ω ; FHC Bowdoin, ME USA) mounted on a micromanipulator (David Kopf Instruments, model 2662, Tujunga, CA) was lowered perpendicularly into the cortex. Cortical maps were derived using standard ICMS trains (Mansoori et al., 2014, Touvykine et al., 2015). A stimulation train consisted of 13 monophasic cathodic square pulses (0.2ms duration; 3.3ms interpulse interval) and trains were delivered at 1Hz. At each cortical site, electrical stimulation was applied at different depths (1750 μ m-6000 μ m) to identify the regions at which responses were evoked with the lowest current intensity. For M1, PMd and PMv the maximal responses were found between 1750 μ m-

2500 μm and for SMA between 3000 μm -4000 μm . Microelectrode interpenetration distances were 1000 μm in M1 and 500 μm in PMd, PMv and SMA. At each penetration site, once the depth with maximal response was identified, the movement evoked at threshold current intensity (the current at which movements were evoked by 50% of the stimulation trains) was identified by visual inspection and by palpation of the arm muscles by one experimenter and confirmed by another. This movement was used to construct the motor maps. If no movement was evoked at a maximum current intensity of 100 μA , the site was defined as unresponsive. The evoked movements were categorized using conventional terminology (Gould et al., 1986, Nudo et al., 1996a, Dancause et al., 2006c). Sites evoking movements of the digits and wrist and forearm (pronation and supination) were grouped into the hand representation. As defined, the hand representation in M1 typically forms a contiguous area that is surrounded by non-responsive sites caudally and sites evoking movements of the elbow, shoulder and face at the other borders (Nudo and Milliken, 1996, Nudo et al., 1996a, Nudo et al., 1996b, Dancause et al., 2006c).

Electrophysiological somatosensory mapping

To get some insights on the location of the hand representation and borders between areas in the parietal cortex, we conducted somatosensory mapping using multiunit recording techniques (Dancause et al., 2006b). A glass coated tungsten microelectrode (impedance $\sim 1\text{ M}\Omega$), similar to that used for ICMS, was lowered perpendicularly to the exposed cortex at depths varying from 500 μm to 1000 μm . The depth of the electrode was adjusted to obtain most robust response to stimulation of the receptive field. Signals were filtered, amplified and played through loud speakers for monitoring of the neuronal activity. Light touch, brushing, tapping, squeezing and joint manipulation were used to determine the extent of the receptive

fields and the modality of the stimulus driving the most vigorous cortical responses (Sur et al., 1982, Dancause et al., 2006b). We made one or two medio-lateral row(s) of microelectrode penetrations with 500µm interpenetration distance to identify all five digits in area 1 and the medial and lateral boundaries of the hand representation. An additional one or two rostro-caudal row(s) were made to identify the borders between area 1, area 2 and area 5. We established these borders based on the modality of the stimulus driving the neural responses most effectively, the size and location of receptive fields and the capacity to drive vigorous neural responses with stimulation of the receptive fields (Padberg et al., 2007, Padberg et al., 2010). Because of time restrictions caused by motor mapping, we chose not to conduct extensive documentation of the sensory cortex in our animals. In particular, we did not explore the walls of the central sulcus for the identification of area 3a and 3b and thus, did not include connections to these areas in our quantitative analyses. In addition for area 5, we only collected information about the rostral border. The limited physiological sensory mapping data collected should be kept in mind and the conclusions about proportions of projections to M1 from these areas weakened accordingly.

Neuronal tracer injections

Once the motor mapping procedures completed, the animal was put back on isoflurane anesthesia (~2% in 100% O₂) for the injection of 4 neuronal tracers all within the M1's hand area. Based on previous results (Dancause et al., 2006a), the M1 hand representation was arbitrarily subdivided into 4 quadrants (RM, RL, CM and CL). One of 4 neuroanatomical tracers, Biotinylated dextran amine (BDA; 3,000 MW; Invitrogen), Fluoro-ruby (FR; 3,000 MW; Invitrogen), Fast blue (FB; Dr. Illig Plastics GmbH) and Fluoro-emerald (FE; 3,000 MW; Invitrogen), was injected in each quadrant. In each monkey, we alternated the tracer

injected at the 4 sites within M1's hand area (RM, RL, CM and CL) to minimize any bias that may be caused by the properties of the tracers. A 1 μ L Hamilton syringe coupled to a microsyringe pump controller (Harvard apparatus, Holliston, MA) was used for all injections. In order to label the cortex through all layers of the grey matter, injections were made in three boluses at pre-determined depths (1,800 μ m, 1,500 μ m and 1,200 μ m), creating a column labelling all layers of the grey matter. Following each bolus of injection, the syringe was kept in place for 5 minutes to reduce potential backflow. The amounts of tracer injected at each injection site are provided in Table 1.

Histological procedures

Twenty-one days following neuronal tracer injections, the animals were deeply anesthetized with ketamine (Ketaset®; 15mg/kg; intramuscular) and administered with a lethal dose of pentobarbital (Euthansol; 100mg/kg; intraperitoneal). The animals were perfused transcardially with a solution of 0.2% heparin in 0.1M phosphate buffered saline (PBS; pH=7.4), followed by 3% paraformaldehyde in 0.1M PBS (pH=7.4). The brain was removed and the cerebral cortex isolated. The fronto-parietal cortices were then flattened between two glass slides (Gould and Kaas, 1981, Killackey et al., 1983, Dancause et al., 2005, Dancause et al., 2006b). The cortical block of tissue was post-fixed for two hours in a solution of 20% sucrose, 3% paraformaldehyde in 0.1M PBS, followed by a solution of 20% sucrose with 2% dimethyl sulfoxide in 0.1M PBS overnight and a solution of 20% sucrose in 0.1M PBS for 48 hours. The cryoprotected tissue was quickly frozen at -55°C with methyl butane before being stored at -80°C. Sections were cut tangentially to the cortical surface with a cryostat (thickness 50 μ m for CB-3 and 40 μ m for CB-6 and CB-8). The sections were collected in series of six. The first and fourth sections (2/6) were used for the documentation of labeled cell bodies

following injection of one of the 3 fluorescent tracers (FR, FE and FB). Those sections were immediately mounted after sectioning, air-dried and coverslipped the same day. The second and fifth sections (2/6) were processed to examine the cell bodies labeled with BDA. The third section and sixth sections were kept for Nissl staining (1/6) and myelin staining (1/6). Details of our histology protocols for the BDA and myelin staining have been previously published (Dancause et al., 2005, Dancause et al., 2006b).

Neuroanatomical reconstruction and quantification of labelled cells

To study the distribution of labeled cell bodies, we used a neuroanatomical reconstruction system (Neurolucida, MicroBright-Field, Colchester, VT) associated with a microscope (Olympus BX51, Tokyo, Japan). Sections that were reconstructed had to include the entire cortical region of interest. Incomplete or broken sections were not analysed. The numbers of sections reconstructed for each injection are provided in Table 1. Tangential sectioning facilitated the coregistration of anatomical and neurophysiological data (Xiao and Felleman, 2004, Dancause et al., 2005). In reconstructed sections, the location of large blood vessels, corresponding to large spherical holes, was marked. The same landmarks, along with the points of entry in the cortex of large blood vessels were identified on the photomicrograph used to construct the physiological maps. Reconstructed sections and the photomicrograph along with physiological maps were imported into Adobe Photoshop CS5 (Adobe Systems, San Jose, CA) and were aligned using landmarks, such as sulci and tracer injections sites, and the pattern of blood vessels. The co-registered data allowed us to identify the cortical areas that were physiologically defined on the anatomical sections. As only information about the caudal border of area 5 was available, our contour extended from that border caudally, along the intraparietal sulcus. The number of labeled cell bodies in each area was calculated with

Neuroexplorer, an analysis program linked to NeuroLucida (Dancause et al., 2006a, Dancause et al., 2006b).

For each injection site in a monkey, the number of labeled cell bodies in the various ipsilateral cortical areas was counted as a percentage of the total number of neurons labeled with this tracer in the reconstructed hemisphere. Because the count of labeled cells in M1 was affected by the multiple injections cores, we excluded all cells located in M1 from this calculation. The percentages thus only represent extrinsic ipsilateral inputs to M1 (Dancause et al., 2006b). Results from the 3 monkeys were combined to obtain the final distribution of cells following injections in the RM, RL, CM and CL M1. An ANOVA, with monkeys as the statistical units, was conducted on each of the 4 subregions of M1 to determine whether or not the percentages differ between areas. Post-Hoc analyses were conducted to determine which areas significantly differed from the others, using Tukey to correct for multiple testing. In addition, for each monkey, a chi-square test was conducted to determine if the distribution of labeled neurons across cortical areas were the same for the 4 subregions of M1.

Last, to compare the pattern of projections of each distant cortical area to each other, we normalized the percentage values according to the following formula:

$$\text{Normalized projections to an M1 subregion} = \frac{\% \text{ of labeled cells in area } n}{\% \text{ of labeled cells in area } H}$$

Where *area n* is the distant area studied (i.e. PMv, PMd, SMA, area 1, area 2 and area 5) and *area H* is the area with the highest proportion of labeled cells following injections in a given subregion of M1 (RM, RL, CM and CL). The values obtained vary between 1, for area H with the highest proportion of labeled cells, to potentially 0 in the case of an area with no labeled cells following injections in a subregion of M1. The numbers reflect the relative

strength of the projections from *area n* to the subregion in comparison to the other cortical areas we studied in the sensorimotor network.

Results

Hand representations in primary motor and premotor cortex of cebus monkeys

In the present study using ICMS techniques, we provide the most complete documentation of the hand representations in motor and premotor cortex in cebus monkeys to date. Figure 1 shows the electrophysiological mapping data from all 3 monkeys. Sites evoking digits, wrist and forearm formed a contiguous area in M1 that was surrounded by movements of the elbow, shoulder, orofacial or non-responsive sites. The M1 hand representation extended over a large cortical area, and comprised many sites evoking digit as well as site evoking wrist movements (Figure 2). In all 3 monkeys, proximal and non-responsive sites were typically found at the medial and rostral borders of the hand representation. At the lateral border orofacial responses were the most frequent. In one animal (CB-6), we also evoked trunk movements at the medial border of M1's hand area. Caudally, responses were evoked with low current intensities on the convexity of the rostral bank of the central sulcus. We unsuccessfully attempted to evoke movements along the sulcus (depths of $\sim 2000\mu\text{m}$ to $\sim 4000\mu\text{m}$), supporting that in cebus monkeys M1 is largely located on the convexity and that area 3a is situated in the anterior bank of the central sulcus (Felleman et al., 1983, Dum and Strick, 2005). The accessibility to the M1 hand representation facilitated motor mapping and allowed us to target our tracer injections to consistent locations in relation to the organization M1, as defined with ICMS techniques.

Additional ICMS mapping was conducted to locate the hand representations in PMv, PMd and SMA. The hand representation of PMv was found laterally to the spur of the arcuate sulcus. The average distance between the M1 and PMv hand representations for the 3

monkeys was 6.5mm. Almost exclusively digit movements could be evoked in PMv and the hand representation was much smaller than in M1 (Figure 2). Caudally and medially to the hand representation, cortical sites evoking orofacial movements were typically found. In some cases, we also evoked trunk, shoulder or elbow movements. Laterally and rostrally, cortical sites were typically non-responsive and we did not evoke movements along the caudal wall of the sulcus (depths of $\sim 2000\mu\text{m}$ to $\sim 4000\mu\text{m}$). Thus, as for M1, it appears that the hand representation of PMv in cebus monkeys is located on the cortical surface. The PMd hand area was located medially to the spur of the arcuate sulcus. It was in close proximity, but separated from the M1 hand representation (average distance 0.7mm). The size of the hand representation in PMd was comparable to PMv. However, a greater proportion of wrist movements were evoked in PMd than PMv (Figure 2). Non-responsive and proximal sites were found at the medial, rostral and lateral borders of the PMd hand area. In addition, some sites eliciting orofacial movements were found at the lateral border. In one case (CB-6), the PMd hand representation was not contiguous, but was rather formed of several isolated clusters separated by non-responsive sites and sites evoking proximal movements. We were able to locate the SMA's hand area in two monkeys (CB- 8 and CB-6). In comparison to PMv and PMd, responses were elicited at greater depths ($\sim 2500\mu\text{m}$ to $\sim 4000\mu\text{m}$), suggesting that most of the SMA hand representation is located along the medial wall. Based on these 2 monkeys, the distance between the M1 and SMA hand representations was 8.2mm. We collected enough data to construct a motor map in only one monkey (CB-8). Although this would have to be confirmed in additional animals, it appears that the size of SMA hand representation is comparable to other premotor areas (Figure 2). Ventrally, non-responsive sites surrounded the hand representation. Rostrally, in addition to non-responsive sites, we

found several orofacial responses. At both the dorsal and caudal borders of the SMA hand representation, we found sites from which we could evoke hindlimb, trunk, shoulder and elbow movements.

Hand representations in the parietal cortex

In the parietal cortex, we conducted electrophysiological mapping using multiunit recording techniques (Felleman et al., 1983, Dancause et al., 2006b, Padberg et al., 2007). One or two medio-lateral row(s) of electrode penetrations was done in area 1 of S1. The receptive fields of digits were organized somatotopically, with digit 5 found most medially and digit 1 most laterally. Lateral to the hand representation, we found receptive fields on the face and medial to the hand representation, the receptive fields were on the wrist and forearm. Due to time constraints, we could not identify the medial border of hand representation in CB-6 and thus, the location of this border was estimated based on somatosensory mapping data of other cebus monkeys from our laboratory (n=8). One or two rostro-caudal row(s) of electrode penetrations provided insights on the location of borders between area 1, area 2 and area 5. In area 1, neurons reacted to light cutaneous stimulations. In the rostral aspect of area 1, receptive fields were typically on the palm of the hand and were progressively found closer to the tip of digits as we moved the recording electrode caudally. The transition to area 2 was marked by the occurrence of larger receptive fields that covered several digits and often extended to the palm. Neurons in area 2 also often responded to movement of joints. In area 5, numerous sites were non-responsive or had activity that was weakly driven by manipulation of the hand and arm. Responsive sites typically reacted to joint manipulation, squeezing of multiple fingers or even the entire hand and forearm of the monkey (Padberg et al., 2007). Based on these results, we were able to approximate the location of medial and lateral borders of the hand

representation in area 1 and 2 and the borders between area 1, area 2 and area 5 for the quantification of labeled cells.

Distribution of labelled cell bodies in the ipsilateral hemisphere

Following identification of the hand area in M1, 4 different neuroanatomical tracers were injected in subregions (RM, RL, CM and CL). Figure 3 shows examples of neurons labeled by the different tracers. The use of multiple tracers injected in the same animal at physiologically identified locations allowed to directly compare the pattern of inputs of these subregions of M1 within each animal. Figure 4 shows the anatomical reconstruction of the flattened cortex and labeled cell bodies coregistered with the physiological mapping data of CB-8 and figure 5 shows CB-6 and CB-3. Within M1, the location and extent of the injection cores resulting from each injection are outlined. Each injection labelled many cells within M1 and several cells in all premotor and sensory areas for which we collected electrophysiological mapping data (i.e. PMv, PMd, SMA, area 1, area 2 and area 5). Additional cells were located along the cingulate sulcus in areas corresponding to the cingulate motor areas (CMAs) and the posterior operculum and inferior parietal cortex, in areas corresponding to the secondary somatosensory cortex (S2) and parietal ventral cortex (PV). We however excluded labeled cells in these areas from our quantitative analyses because the tissue in these regions was incomplete in several sections for each animal. In addition, the injection cores of the tracers prevented accurate counts in M1, and thus we also excluded these data of our quantitative analyses. The percentages of labeled cells thus reflect the distribution of ‘extrinsic’ inputs from PMv, PMd, SMA, area 1, area 2 and area 5 to the injected subregions of M1 (Dancause et al., 2006b). Cells in these areas represented more than 92% (mean = 95.0%) of the total number of labeled cells in the reconstructed sections following each tracer injection. A few

cells were inconsistently found in other areas, for example rostrally to PMv, between PMd and SMA or caudal to area 5 and account for the remaining proportion of labeled cells (~5%).

We first quantified the general pattern of inputs to M1. When pooling the data from all M1 injections (n=12), we found only slightly more labeled cells in premotor (55.1%) than in the somatosensory areas. PMd had the highest proportion of labeled cells (31.7%), followed by area 2 (18.6%), PMv (15.6%), area 5 (11.2%), area 1 (9.9%) and SMA (7.8%). Figure 6 shows separately the distribution of labeled cells that resulted from injections in each subregion of M1. A first striking feature of the distribution of labeled cells bodies after the different injections is that both rostral injections (RM and RL) labeled much more cells in the premotor areas (87.9% and 72.4% respectively). After injections in the RM M1 (n=3), most of these cells were in PMd (69.9%), followed by SMA (13.8%). When comparing the proportion of labeled cells in the different areas, we found that only the proportion of labelled cells in PMd was significantly greater than in all other cortical areas ($p>0.05$). Following injections in the RL M1 (n=3), most labeled cells were found in PMv (46.1%), followed by PMd (21.4%). Once again, only the proportion of labelled cells in PMv was significantly greater than in any other cortical area ($p>0.05$).

In contrast to rostral injections, both caudal injections (CM and CL) labeled more cells in the parietal cortex (51.1% and 79.4% respectively). Yet, after injections in the CM M1, the greatest proportion of labeled cells was in PMd (27.9%), followed by area 5 (25.6%). In addition, many labelled cells were also found in area 2 (16.4%), SMA (12.0%) and area 1 (9.0%) and fewer in PMv (4.0%). These proportions were not significantly different from each other. Thus, injections in the CM M1 resulted in a more even distribution of labeled cells across cortical areas. Finally, after injections in the CL M1, most of the labeled cells were in

area 2 (45.8%), followed by area 1 (21.3%). The proportion of cells in area 2 was significantly greater than all other areas, with the exception of area 1. The proportion of labeled cells in area 1 was not significantly different from any other cortical area. For each monkey, a chi-square test confirmed that the distribution of labeled neurons across cortical areas was different following the injections in each of the 4 subregions of M1 ($p < 0.0001$).

Next, we wanted to get better insights on the relative projections from each distant cortical area to the hand representation of M1. To do so, for each injection site the percentage of labeled cells found in a sensorimotor area was normalized to the predominant connection following this injection (Figure 7). We separated the strength of projections into 3 categories, Major (normalized projection value > 0.67), Moderate (between 0.66 and 0.34) and Minor (< 0.33). This analysis shows that PMd had the broadest pattern of projections, sending major projections to both RM and CM hand representation of M1, but also moderate projections to RL. PMv's pattern of projection was more segregated, sending major projections to RL and minor projections to other subregions of M1. Among premotor areas, the relative strength of SMA projections across M1 subregions was the weakest. It only sent moderate projections to CM and minor projections to other subregions. All 3 parietal areas only sent minor projections to rostral M1 (both RM and RL). Area 1 had the weakest projections to the M1 hand area. It sent moderate projections to CL and minor projections to other subregions. Area 2 sent major projections to CL and moderate projections to CM. In contrast, area 5 major projections to CM and minor projections to CL.

Discussion

Our previous work highlighted that PMv projections to M1 are not uniformly distributed but rather specifically target 3 subregions (Dancause et al., 2006). In the present study, our objective was to understand further the organization of ipsilateral cortical inputs in the M1 hand area. In each monkey, we injected various retrograde neuroanatomical tracers in 4 regions of the M1 hand representation and quantified the labeled cells bodies across several ipsilateral premotor and somatosensory areas. Injections in each subregion resulted in a unique pattern of cortical labeled cells. These data support a view that M1 is composed of several zones each receiving inputs of unequal strengths from diverse motor and sensory cortical areas of the ipsilateral hemisphere. Neurons in these M1 subregions are thus part of specific networks in which they can primarily interact with distinct(s) interlocutor(s) for the production of motor outputs involved in hand movements.

Motor and somatosensory areas in the capuchin monkey

We chose to conduct our study in cebus monkeys a New World species capable pseudo-opposition of the thumb and index (Christel and Fragaszy, 2000) that can use tools such as branches and stones, approximating the function of macaque monkeys or even some great apes (Visalberghi et al., 1995, Moura and Lee, 2004, Evans and Westergaard, 2006). These specialized hand tasks could be sustained by the numerous corticomotoneuronal projections from M1 that are present in capuchin and lacking in less dexterous New World monkeys (Bortoff and Strick, 1993, Lemon, 2008). As suggested from previous studies (Gould and Kaas, 1981, Dum and Strick, 2005), we found that the hand representations of M1, PMv and PMd are located on the cortical surface and thus easily accessible for cortical mapping. We found that the hand representation in M1 was large (~40mm²) and more than 6 times the

size of premotor areas, which all covered comparable cortical areas. This pattern is quite different than what has been reported in squirrel monkeys, another New World species, where PMv is much larger than other premotor areas (Dancause et al., 2006c, Dancause et al., 2007, Eisner-Janowicz et al., 2008, Dancause, 2013). It is not clear why PMd and SMA (although we have limited on SMA data in the present study) are larger in cebus monkeys in comparison to other New World primates. Perhaps the increased repertoire movements such as the opposition of the thumb rely on corticomotoneuronal connections, while the complexity of motor behaviors such as the use of tools emerged with the development of some premotor areas such as PMd and SMA.

Another appealing aspect of capuchin monkeys is that they have a well-defined area 2 in S1 (Padberg et al., 2007). In several other New World species, there is little support for the existence of area 2 (Merzenich et al., 1978, Padberg et al., 2005, Dancause et al., 2006b). In the present study, we did find receptive fields that are characteristic of area 2 and a transition that marked the rostral border of area 5. Altogether, the presence of these somatosensory areas with the accessibility of motor representations and behavioral traits of cebus monkeys make them a particularly appealing species to study the cortical network sustaining hand functions.

Pattern of projections from somatosensory areas to M1

There is a wealth of studies reporting that M1 is interconnected with S1 and with the posterior parietal cortex (Jones et al., 1978, Pons and Kaas, 1986, Ghosh et al., 1987, Stepniewska et al., 1993). Likewise, we consistently found that M1 received projections from these areas in all 3 monkeys. The large proportion of ipsilateral inputs to M1 originating from the parietal lobe (areas 1, 2 and 5) we found (44.9%) contrasts with a previous quantitative

study in macaque monkeys that reported much greater cortical connections between premotor areas and M1 (Ghosh et al., 1987). It is difficult to be certain about the cause of these discrepancies as the two studies were conducted in different species. However, we found a greater proportion of projections from parietal areas to caudal M1, an area buried deep in the central sulcus and more difficult to access in macaque monkeys. One possibility is that we found a greater proportion of connections from parietal areas because half of our injections specifically targeted caudal M1, resulting in a more complete documentation of M1's inputs.

It is also worth noting that the distribution of labeled cells in area 5 tended to vary along the intraparietal sulcus, depending on the location of the injections in M1. This is particularly obvious in CB-8, where labeled cells from the CL injection were located rostrally and from the CM injection caudally (see Figure 4). The lack of physiological data for area 5 in the present study limited our capacity to subdivide area 5 and conduct separate analyzes for each potential region. Nevertheless, there appears to be a similar trend between the qualitative pattern of projections of area 5 in our data with the one reported in Old and new World monkeys (Gharbawie et al., 2011a, Gharbawie et al., 2011b). From these studies as well as in ours, it appears that the rostral portion of area 5, where the 'grasp zone' is located, is preferentially connected to CL M1 while more caudal portions of area 5, where the 'reach' and 'defense zones' are located, are more interconnected with CM M1.

Whereas quantitative values of connections do not necessarily translate into efficacy, it is tempting to suggest that our data show that sensory inputs may be as important in modulating M1 neurons for the production of motor outputs as premotor areas. Similarly to previous studies (Ghosh et al., 1987), we found comparable proportions of inputs from area 1, area 2 and area 5. Balanced proportions of inputs from these areas could support continuous

flow of somatosensory information at various stages of processing (Krubitzer and Kaas, 1990). Populations of neurons located in subregions of M1 could use these different sensory signals to affect motor outputs depending of the demands of the task, such as the urgency of the response. Perturbations of arm movements have striking modulatory effects on the activity of M1's neurons (Evarts and Tanji, 1976, Herter et al., 2009) that can rapidly integrate information about the arm to correct errors (Pruszynski et al., 2011). Possibly, these rapid adaptive processes are supported by the numerous projections from sensory areas to M1. Ecological pressure prioritizing the efficacy of integration of sensory information to the effectors of motor outputs may have resulted in the preferential localization of sensory projections to caudal portion of M1. This phylogenetically 'newer' cortex hosts most pyramidal cells with direct access to motoneurons (Rathelot and Strick, 2006, 2009). These pyramidal cells are certainly equipped to integrate complex signals into spinal outputs (Spruston, 2008) and have the wiring for the most rapid and effective cortical effects on muscles.

Pattern of projections from premotor areas to M1

A previous study investigated the cortical network between the digit representations of M1 and premotor areas in cebus monkeys (Dum and Strick, 2005). Normalization of M1 inputs strength showed that the predominant projections came from PMd followed by PMv and SMA. We found an identical general pattern of inputs to M1. However the use of multiple smaller tracer injections in subregions of M1 in the present study showed that the distribution of cortical input across the M1 hand area is quite different for each premotor area. PMd sends broader connections across most of the hand area of M1. In contrast projections from SMA and PMv were more restricted, respectively to the CM and RL M1. These data suggest that, in

comparison to other premotor areas, PMd may have stronger and more widespread modulatory effects on M1's neurons. Single neuron recording experiments in monkeys have proposed that PMd is involved in the preparation for goal-oriented reaching and online control of movements (Kurata, 1993, Lee and van Donkelaar, 2006, Pesaran et al., 2006). The specific processing carried by PMd neurons could be required across a wide range of specialized functions carried by subregions in M1.

In squirrel monkeys, projections of PMv are found in 3 clusters extending over both hand and proximal representations. The largest and densest cluster is located in the RL portion of M1 arm area, and two other smaller clusters in the CM and CL regions (Dancause et al., 2006a). Results from the present study in cebus monkeys, where we looked more specifically at the pattern of projections to the hand area, are essentially in accordance with these findings. The greatest proportion of labeled cells in PMv was following RL injections with fewer labelled cells following injections in others subregions. Among the areas we studied, PMv had the lowest proportion of projections to CM M1. The finding that PMv sends its most robust projections to RL M1 is thus consistent in different New World monkey species. It is not clear why PMv neurons are preferentially projecting to RL M1. Studies of cortical interactions have shown that PMv has powerful modulatory effects on M1 outputs (Cerri et al., 2003, Shimazu et al., 2004, Davare et al., 2008), with no indication of weaker or stronger interactions with subregions. This is not so surprising when considering that, in both humans and macaque monkeys, caudal M1 is buried deep within the central sulcus. Thus, studies using transcranial magnetic stimulations (TMS) (Davare et al., 2008) or microwire arrays on the cortical surface are likely to have largely tested interactions between PMv and rostral M1 (Cerri et al., 2003, Shimazu et al., 2004). Based on our anatomical results, it would be interesting to compare the

interactions between PMv, but also PMd, with subregions of M1, something that would be more easily conducted in New World monkeys where the representations of the hand in these cortical areas are readily available on the cortical surface.

Support for subdivisions within the M1 hand area

Many studies have documented subdivisions of the M1 hand area in primates and humans. In particular, it was suggested that the forelimb representation of M1 would be subdivided in a rostral and a caudal aspect, each having different cytoarchitectural, neuronal response properties and patterns of connections with other cortical areas (Jones et al., 1978, Strick and Preston, 1982a, b, Humphrey and Reed, 1983, Stepniewska et al., 1993, Geyer et al., 1996, Preuss et al., 1996, Stepniewska et al., 2006). For example, corticospinal cells in the rostral portion of M1 mostly makes corticospinal connections with upper cervical segments (He et al., 1993). M1 neurons in rostral M1 are typically driven by proprioceptive inputs while neurons with cutaneous receptive fields are more common in caudal M1 (Strick and Preston, 1982b). In humans, comparable divisions of M1 into a rostral and caudal subregions has also been suggested based on cytoarchitecture and receptor binding and they show different patterns of activation that is task dependent (Geyer et al., 1996).

In the present study, we made injections of tracers into 4 subregions of the M1 hand representation based on our previous anatomical findings (Dancause et al., 2006a). This experimental design does not exclude the possibility that more subregions exist within M1 or that these somewhat arbitrary subdivisions are actually functionally relevant. It did however allow direct comparison of the pattern of connection of each subregion of the M1 hand representation we chose to study and convincingly showed that they have different patterns of

cortical inputs. These data add onto the already compelling evidence suggesting the existence of a rostral and caudal subdivision within M1. They also support the concept of a more elaborate parcellation of the hand area of M1 by showing that medio-lateral regions within the rostral and caudal M1 hand representation also have different patterns of cortical inputs.

Much like the present findings, injections of neuronal tracers into different functional zones in M1 (e.g. defense or grasping) identified with long-train stimulation methods revealed these zones are part of networks that include many of the same cortical areas but with great disparities for the amount of connections. Perhaps the parietal and premotor areas with same repertoire of movements (Graziano et al., 2002, Gharbawie et al., 2011a) would be preferentially interconnected to form networks that carry subcategories of movements and overlap between networks would allow coordination of these components to produce integrated movement production. Obviously, the functional implication of the fragmentation of M1 into functional subregions will be best settled using neural recording in awake behaving monkeys. Nevertheless, our data contribute to cumulating neuroanatomical evidences, from various species and using different motor mapping techniques (Stepniewska et al., 2009, Gharbawie et al., 2011a, Gharbawie et al., 2011b), that converge on the same conclusion: subregions within M1 are parts of largely distinct cortical networks. These recent anatomical data renew long-standing questions regarding internal organization of M1 hand area (Schieber and Hibbard, 1993) that are yet awaiting answers.

Acknowledgements

We thank Trevor Drew and Kelsey N. Dancause for insightful comments, suggestions and editing. This work was supported by a Natural Sciences and Engineering Research Council of Canada discovery grant to ND. ND is supported by a Canadian Institutes of Health Research (CIHR) New Investigator salary award.

Figures and legends

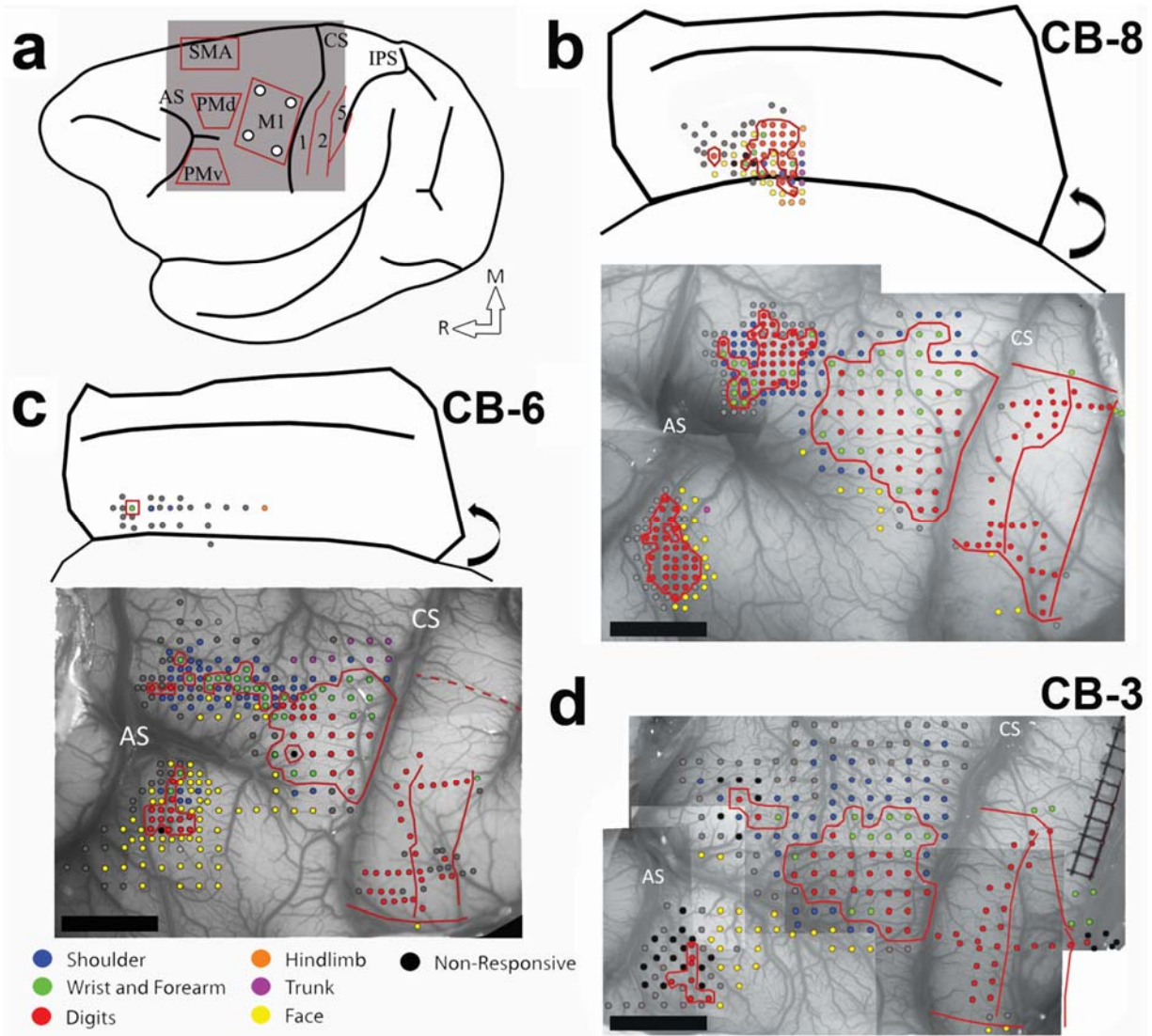


Figure 1. Electrophysiological mapping. **a)** Cartoon showing a lateral view of the brain and the approximate location of the craniotomy (grey square) and the areas of the frontal and parietal cortex studied with electrophysiological mapping methods. **b)** Motor and sensory mapping data in CB-8. Each colored dot on the digital photograph of the cortex represents a microelectrode penetration site. The evoked movement (frontal cortex) or somatosensory receptive field location (parietal cortex) are color-coded (legend). The hand representations of M1, PMv, PMd and SMA are outlined with red contours. In the parietal cortex, the mediolateral extent of the hand representation in S1 and location of rostrocaudal borders between area 1, area 2 and area 5 are shown with red lines. Note that the location of stimulation sites for SMA are approximated based on the distance from PMd and depth of the electrode. **(c)** Motor and sensory mapping data for CB-6. In this animal we were able to locate SMA but got limited data from it. As for CB-8, the location of the stimulation sites in SMA is estimated. In S1, we did not physiologically define the medial border of the hand

representation. Based on other animals, we estimated the location of this border and show it with a dotted red line. **(d)** Motor and sensory mapping data for CB-3. In this animal, we did not locate SMA. AS: arcuate sulcus; CS: central sulcus; IPS: intraparietal sulcus; M1: primary motor cortex; PMd: dorsal premotor cortex; PMv: ventral premotor cortex; SMA: supplementary motor area; 1: area 1; 2: area 2; 5: area 5; M: medial; R: rostral. Scale bar = 3 mm.

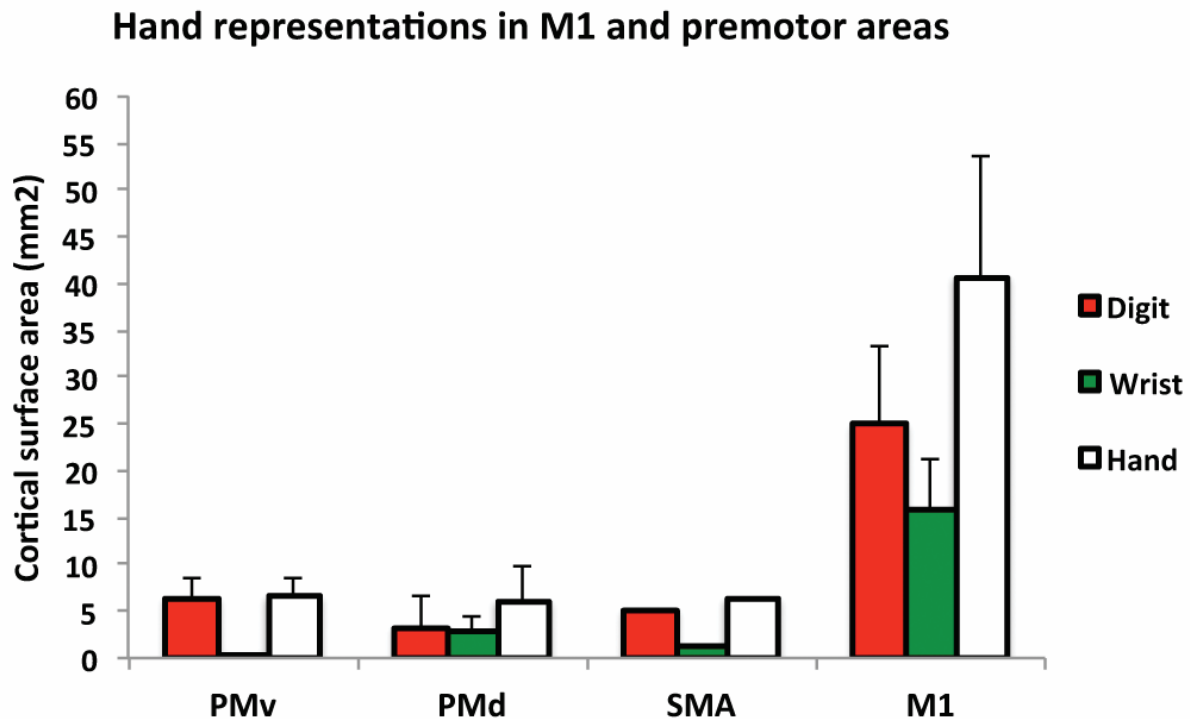


Figure 2. Cortical surface area of the hand representation in the primary (M1) and premotor areas. The graph shows the cortical area from which movements of the digits and wrist could be evoked in the different motor areas (average \pm standard deviation). The hand representation in PMv (n=3), PMd (n=3) and SMA (n=1) were of comparable size and much smaller than in M1 (n=3). In all four cortical areas, there was a larger territory devoted to movements of the digits in comparison to wrist. However this difference was smaller in PMd and greater in PMv.

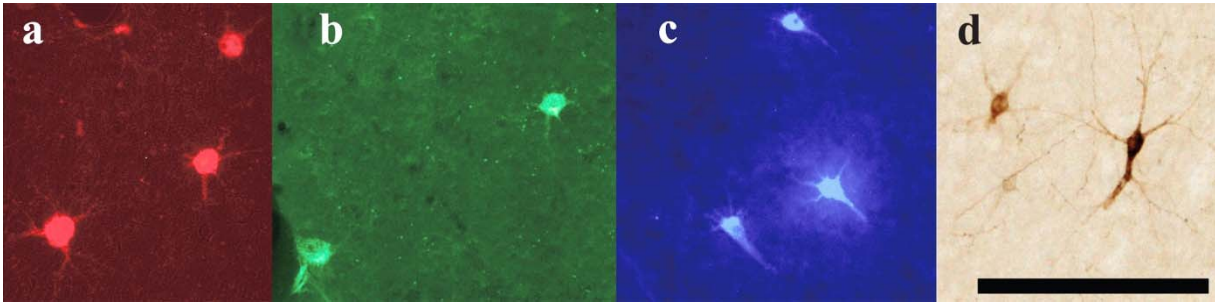


Figure 3. Photomicrographs of retrogradely labeled cells in the hemisphere ipsilateral to the injection of neuronal tracer. Cells labeled with (a) Fluoro-Ruby, (b) Fluoro-Emerald, (c) Fast Blue and (d) Biotinylated Dextran Amine. Only cell bodies displaying a fully round soma and a minimum of two protuberances (considered being either dendrites and/or axon) were considered labeled neurons. A marker was overlaid onto the cell in Neurolucida (Microbrightfield, inc) in the reconstruction of the section. Brightness and contrast were adjusted. Scale bars = 100 μ m.

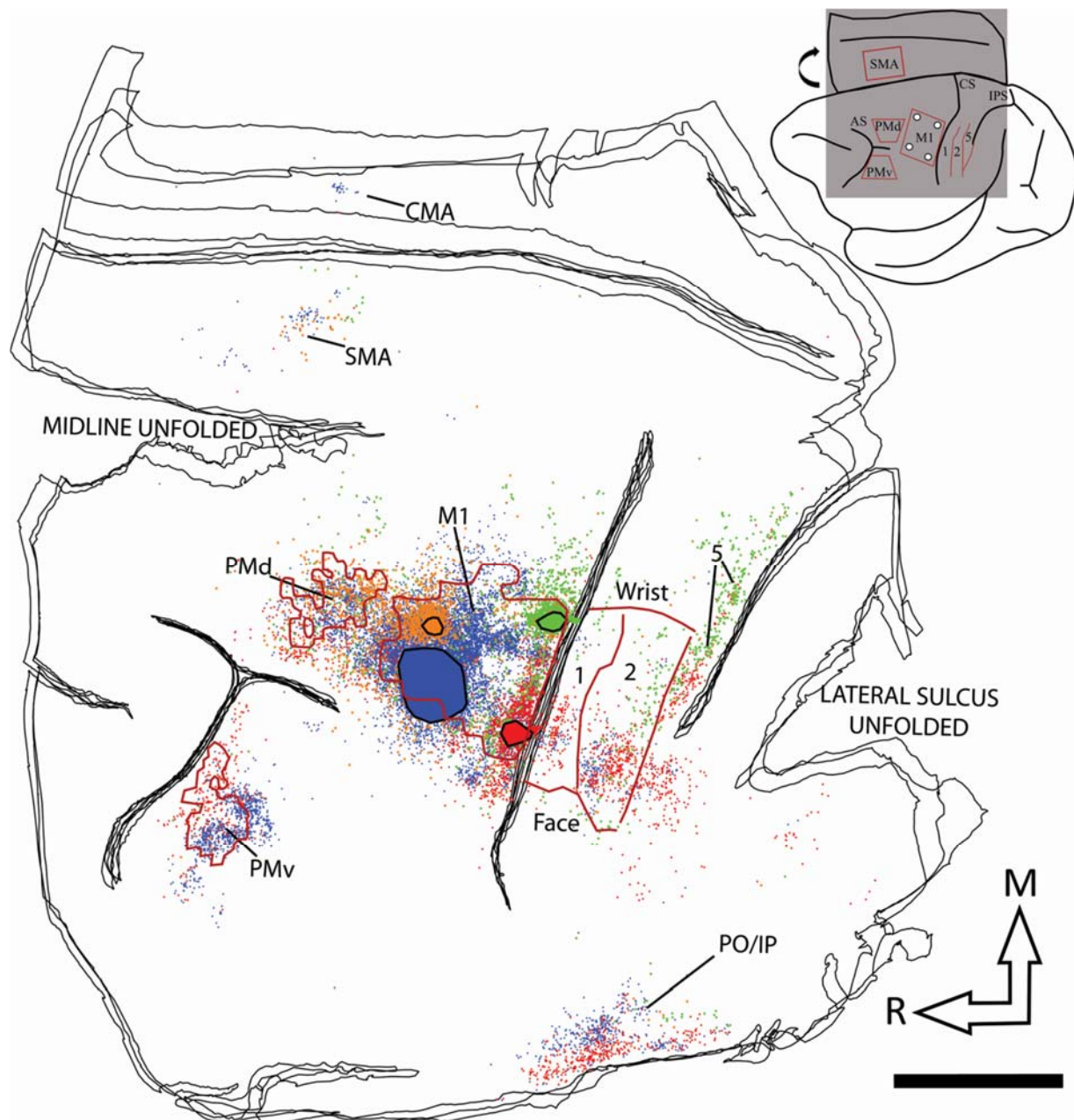


Figure 4. Reconstruction of the labelled cell bodies in CB-8. The cartoon (up right corner) illustrates the approximate extent and location of the sections within the Cebus brain. The black lines show the outlines of tangential sections of the flattened hemisphere. In the frontal cortex, the location of PMv, PMd and M1 hand representations are outlined with red contours. Because SMA was mainly located along the medial wall, we could not precisely align it with the anatomical data and thus do not show it on the reconstruction. In the parietal cortex, the medio-lateral extent of the hand representation and the location of the borders between area 1, area 2 and area 5 are shown with red lines. The location and extent of the injection cores in M1 are outlined with large color-coded blobs with a black contours (BDA = orange; FE = green; FR = red and FB = blue). Labeled cells from all 4 tracers are shown throughout the hemisphere with small dots that are colored according the same colors used for the injection

cores. AS: arcuate sulcus; CMA: cingulate motor areas; CS: central sulcus; IPS: intraparietal sulcus; M1: primary motor cortex; PMd: dorsal premotor cortex; PMv: ventral premotor cortex; PO/IPC: posterior operculum/inferior parietal cortex; SMA: supplementary motor area; 1: area 1 of the primary somatosensory cortex; 2: area 2 of the primary somatosensory area; 5: area 5; M: medial; R: rostral. Scale bar = 5 mm.

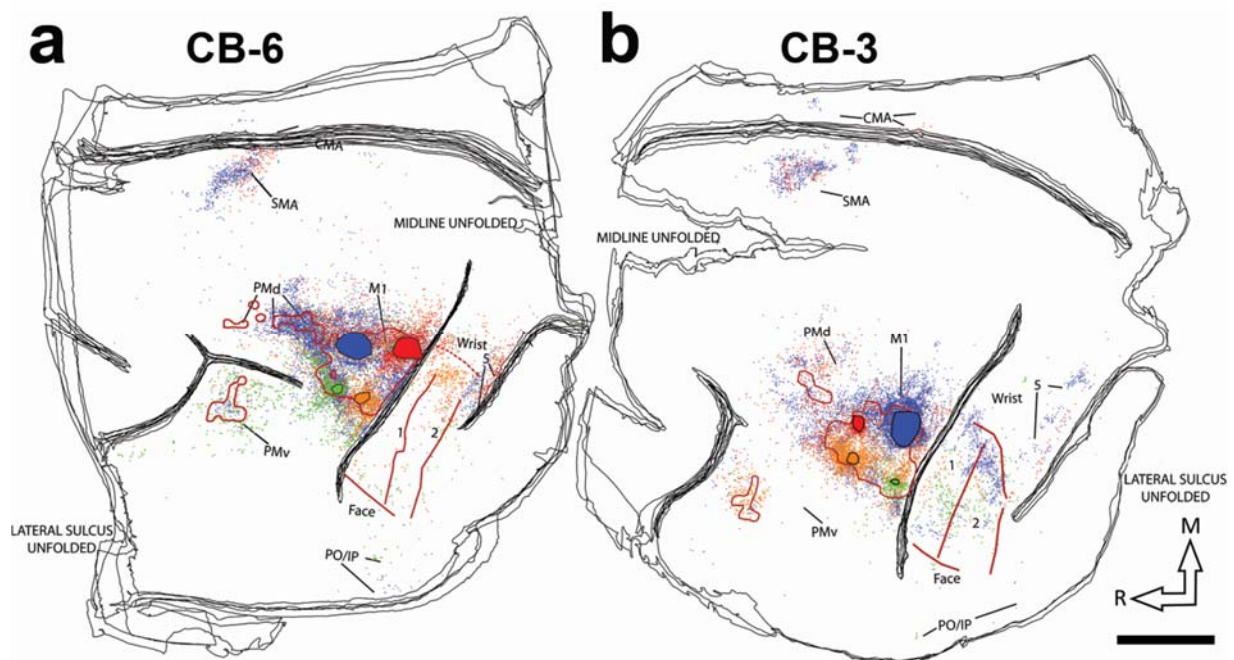


Figure 5. Reconstruction of the labelled cell bodies in CB-6 and CB-3. a) Reconstruction of CB-6. and b) CB-3. Color codes and lines are as described in Figure 4. However note that the location of the different tracers varies from one animal to another. In addition, the location of the medial border of the hand representation in CB-6 was estimated and is shown with a dotted red line. BDA = orange; FE = green; FR = red and FB = blue; AS: arcuate sulcus; CMA: cingulate motor areas; CS: central sulcus; IPS: intraparietal sulcus; M1: primary motor cortex; PMd: dorsal premotor cortex; PMv: ventral premotor cortex; PO/IPC: posterior operculum/inferior parietal cortex; SMA: supplementary motor area; 1: area 1 of the primary somatosensory cortex; 2: area 2 of the primary somatosensory area; 5: area 5; M: medial; R: rostral. Scale bar = 5 mm.

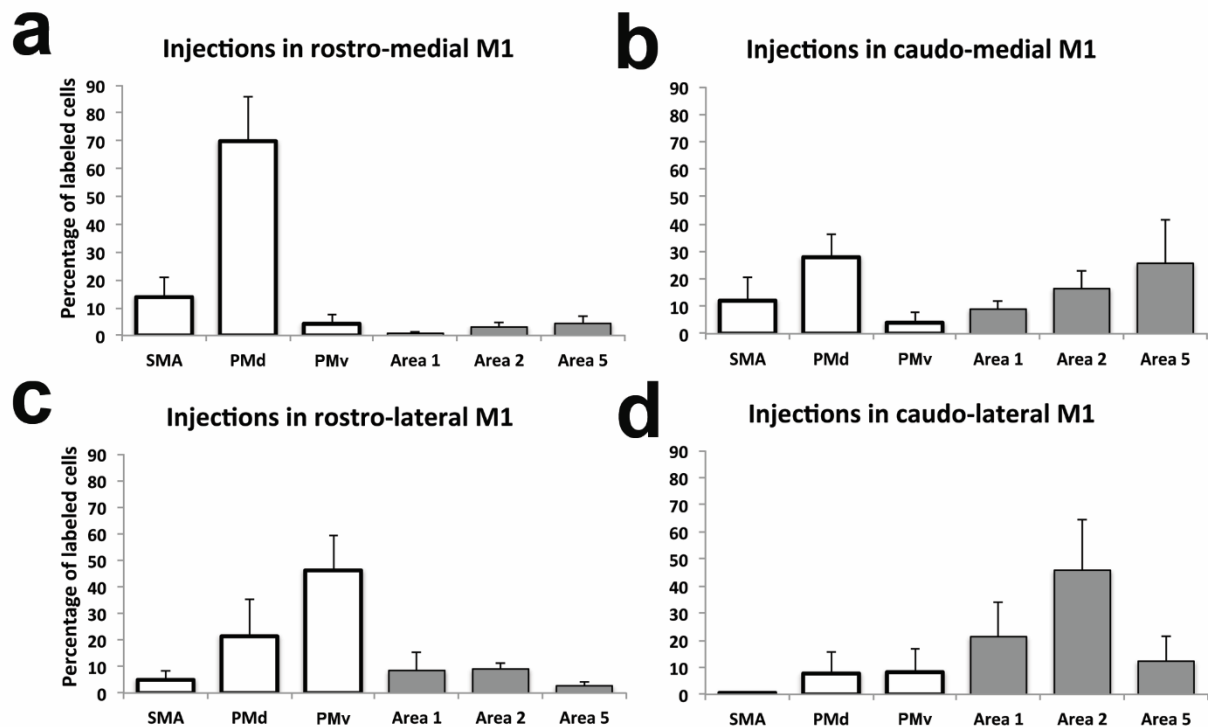


Figure 6. Proportion of labeled cell bodies in ipsilateral hemisphere. Each panel shows the average proportion of labeled cells in the different premotor and parietal areas (area 1, 2 and 5) in the reconstructed sections (mean \pm standard deviation; $n=3$). **a)** Following injections in the rostro-medial (RM) M1, most labeled cells were in the premotor areas and we found the greatest number of cells in PMd. **b)** Injections in the rostro-lateral (RL) M1 also labeled more cells in premotor cortex but the area with most labeled cells was PMv. **c)** Injections in the caudo-medial (CM) M1 resulted in a more distributed pattern of labeled cells. **d)** Finally, injections in the caudo-lateral (CL) M1 labeled more cells in area 2, followed by area 1.

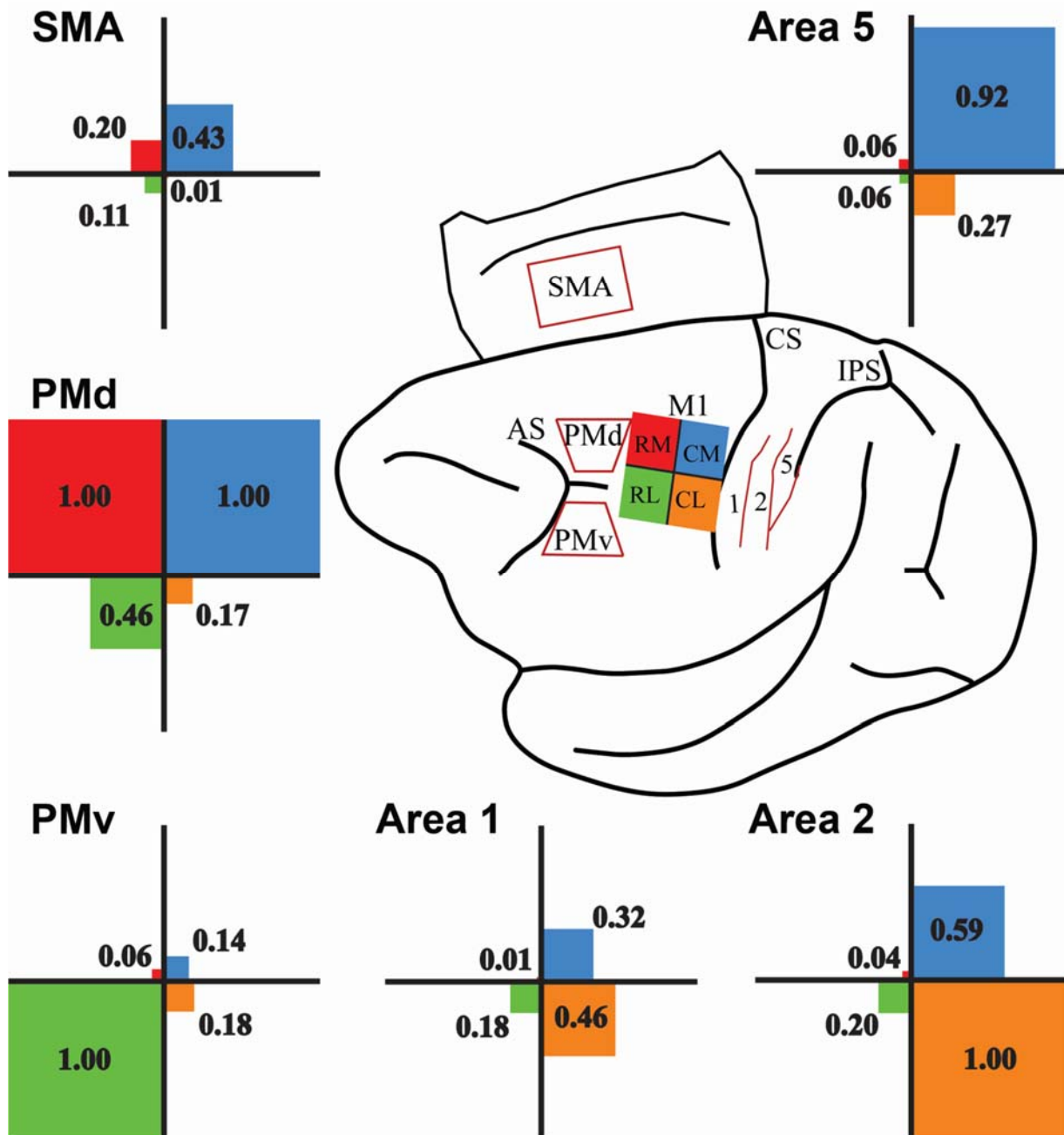


Figure 7. Normalized strength of cortical projections to the M1's hand area from the different areas of the ipsilateral hemisphere. To compare the pattern of projections to M1 from each distant cortical area of the ipsilateral hemisphere to each other, we normalized the proportion of labeled cells. For each injection site (rostralateral: RL; caudolateral: CL; rostromedial: RM and caudomedial: CM), the proportion of labeled cells found a distant cortical area was divided by the proportion value of the area with the most labeled cells. For example for RM injections, PMd had the highest proportion of labeled cells (normalized value = 1.0). The percentage of labeled cells found in SMA following RM injections was 5 times lower than in PMd (normalized value = 0.2). The cartoon in the middle of the figure shows the

color code for the different injection sites (RL = green; CL = orange; RM = red and CM = blue). For each distant cortical area (SMA, PMd, PMv, area 1, area 2 and area 5), a cross diagram shows the normalized strength of its projections to the 4 subregions of M1 hand area. In each quadrant, the value of the normalized projections is provided and the size of the color square is proportional to the strength of the projections.

Table 1. Neuroanatomical tracers efficacy

	Rostro-medial M1 (RM)					Caudo-medial M1 (CM)				
	Tracer	Volume of injected tracer (μ l)	Volume of injection core (mm^3)	Number of reconstructed sections	Total number of labeled cells	Tracer	Volume of injected tracer (μ l)	Volume of injection core (mm^3)	Number of reconstructed sections	Total number of labeled cells
CB-8	BDA	0.4	0.46	4	1719	FE	0.5	0.3	4	2242
CB-6	FB	0.2	14.7	4	33035	FR	0.4	1.3	6	4601
CB-3	FR	0.2	2.5	4	1921	FB	0.2	16.2	4	18896

	Rostro-lateral M1 (RL)					Caudo-lateral M1 (CL)				
	Tracer	Volume of injected tracer (μ l)	Volume of injection core (mm^3)	Number of reconstructed sections	Total number of labeled cells	Tracer	Volume of injected tracer (μ l)	Volume of injection core (mm^3)	Number of reconstructed sections	Total number of labeled cells
CB-8	FB	0.25	19.7	2	15042	FR	0.4	1.0	3	3542
CB-6	FE	0.4	0.36	6	1938	BDA	0.4	1.4	5	1126
CB-3	BDA	0.2	2.9	7	1659	FE	0.2	0.7	4	804

BDA: Biotinylated dextran amine; FB: Fast blue; FE: Fluoro-emerald; FR: Fluoro-ruby

Chapitre III. Discussion générale

La combinaison de données électrophysiologiques et neuroanatomiques, nous a permis de démontrer l'existence de sous-réseaux chez le singe capucin de par l'organisation connectionnelle entre M1 et des aires prémotrices, ainsi qu'entre M1 et des aires pariétales (Figure 1). Nous avons donc démontré que M1 pouvait non seulement être subdivisé en une portion rostrale et une caudale, mais que celles-ci pouvaient être à leur tour subdivisées en une portion médiale et latérale. Chacune de ces subdivisions présente un patron de connexions qui lui est propre. Nous retrouvons donc une majorité de projections issues de PMv se terminant dans la portion latérale de M1r. Pour sa part, SMA envoie principalement ses inputs à la portion médiale de M1c, tandis que PMd cible fortement la portion médiale de M1r et M1c. Pour ce qui est de la portion latérale de M1c, celle-ci reçoit principalement des projections issues de l'aire 2. Considérées dans leur ensemble, les aires prémotrices atteignent principalement la portion rostrale de M1, tandis que les aires pariétales à l'étude aboutissent dans la portion caudale de M1. Cette organisation différentielle des connexions du réseau sensorimoteur fait ressortir des sous-réseaux qui seraient un substrat anatomique à des fonctions précises dans le contrôle moteur du bras et de la main. Dans la discussion générale qui suit, différentes pistes seront abordées afin de mieux comprendre le rôle que pourraient remplir ces connexions préférentielles sur le plan fonctionnel au sein de M1.

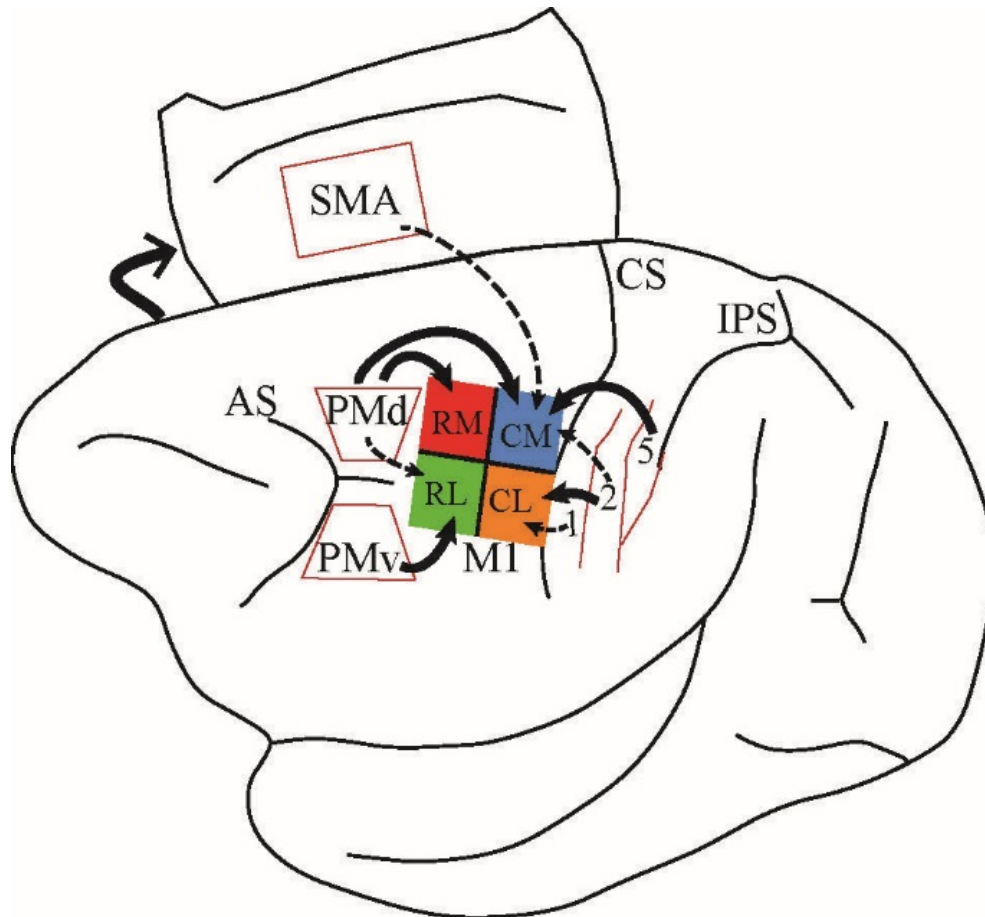


Figure 1: Schéma qui résume la connectivité de M1 avec d'autres aires corticales du réseau sensorimoteur chez le singe capucin (*Cebus apella*). Les inputs majeurs reçus par une sous-région de M1 sont représentés par les flèches pleines, tandis que des projections modérées sont représentées par des flèches pointillées. La flèche grasse représente une portion du mur médian dépliée afin de visualiser SMA, qui s'y trouve. AS : sillon arqué, CS : sillon central, IPS : sillon intrapariétal, PMd : aire prémotrice dorsale, PMv : aire prémotrice ventrale, SMA : aire motrice supplémentaire, 1 : aire 1, 2 : aire 2, 5 : aire 5, RM : rostromédial, RL : rostrolatéral, CM : caudomédial, CL : caudolatéral.

Aires pariétales et connexions corticospinales

Comme mentionné ci-dessus, les aires du cortex pariétal (*i.e.* aires 1, 2 et 5) envoient préférentiellement leurs inputs dans M1c. Ces connexions différentielles au sein de M1 pourraient témoigner de fonctions spécifiques à M1c que les aires pariétales seraient enclines à exploiter. M1 est une source majeure de projections descendantes parmi lesquelles on

Discussion générale

distingue deux types de neurones qui possèdent des projections spinales et forment le faisceau corticospinal (CST) (Lemon, 1993). Celles-ci seraient distribuées différenciellement entre M1r et M1c (Rathelot and Strick, 2006, 2009). Une première classe de neurones corticospinaux projette au niveau de la zone intermédiaire de la moelle épinière, contactant des interneurons spinaux. La deuxième classe de neurones du CST projette au niveau de la corne ventrale de la moelle, établissant des connexions monosynaptiques sur les motoneurons dites corticomotoneuronales (CM) directes. Les connexions CM existent chez diverses espèces animales, mais on les retrouve principalement chez les primates et l'humain (Lemon, 2008, Rathelot and Strick, 2009). De plus, celles-ci sont développées à des degrés différents selon les espèces de primates observées (Lemon, 1993, Lemon and Griffiths, 2005). Elles sont absentes chez les lémurs et les marmousets, variables pour le singe du Nouveau Monde (rare chez les singes écureuils et denses chez les capucins), bien développées chez les singes de l'Ancien Monde, et généralement, elles sont les plus nombreuses chez les grands singes (singe anthropoïde, *i.e.* chimpanzé, orang-outan, bonobo) et l'humain (Lemon, 1993, 2008). Il semble donc que l'apparition des connexions CM chez des modèles de primates et l'humain serait liée au développement de capacités motrices, notamment le contrôle volontaire de mouvements relativement indépendants et individualisés des doigts (Lemon, 1993, 2008). La quantité de connexions CM serait proportionnelle à la dextérité de la main, reflétant la capacité à utiliser les doigts pour des mouvements de préhension, à différents degrés, parmi toutes ces espèces (Heffner and Masterton, 1983). Il serait donc intéressant de voir si un parallèle existe entre la distribution des connexions issues du CST et nos résultats de connectivité des aires pariétales et M1c.

Discussion générale

L'utilisation d'un marquage rétrograde transneuronal, basé sur le pseudovirus de la rage, a permis d'identifier des connexions CM entre des neurones situés dans M1c et des muscles de la main, du poignet et de l'épaule (Rathelot and Strick, 2006, 2009). Ainsi, bien que les connexions corticospinales (CS) soient dispersées dans M1, les neurones effectuant des connexions CM directes sont principalement localisés dans M1c. De plus, ces connexions CM provenant de M1c peuvent cibler tant des muscles distaux que proximaux. On retrouve donc, entremêlées dans M1c, des projections CM propres à divers muscles de la main, du poignet et de l'épaule (Rathelot and Strick, 2006, 2009). Nos résultats démontrent que M1c reçoit une davantage de projections issues des aires pariétales que des aires prémotrices. Ainsi, les aires pariétales cibleraient la portion caudale de M1 afin d'interagir avec les connexions CM directes, ce qui permet de supposer que cette sous-région de M1 soit axée vers un contrôle moteur direct de l'avant-bras, de la main et des doigts. Il y aurait donc une intégration de l'information sensorielle au programme moteur monosynaptique issu de M1c.

Les aires 2 et 5 du cortex pariétal influent sur le développement d'habiletés complexes (*i.e.* exploration d'objets, mouvements d'atteintes et de préhension) de par l'intégration d'informations sensorielles issues de mécanorécepteurs et propriocepteurs de la main (Kaas, 2004, Padberg et al., 2005, Padberg et al., 2007, Padberg et al., 2010). Lors de la réalisation d'une action qui sollicite la main, telle que la manipulation d'un objet, des inputs sensoriels issus de récepteurs sensitifs de la main atteindraient le cortex pariétal. Ceci pourrait permettre de moduler et d'ajuster la main au moment où elle effectue la tâche requérant une utilisation relativement indépendante des doigts. Ce processus reposerait sur des feedbacks sensoriels envoyés des muscles intrinsèques de la main aux aires pariétales qui complètent la boucle à action rapide par leurs accès directs aux projections CM de M1c. Ainsi, les aires du cortex

Discussion générale

pariétal liées à M1c contribuent à la production d'habiletés motrices de par l'intégration d'informations sensorielles au programme moteur. Nos résultats suggèrent donc que la connectivité entre M1c et les aires pariétales constitue un substrat anatomique pour ces boucles d'interaction sensorimotrice.

Une autre habileté des doigts qui serait dépendante des connexions CM depuis M1 jusqu'aux motoneurones contrôlant les muscles distaux de la main est le pincement précis d'objets, qui consiste généralement en la préhension d'un petit objet entre le pouce et l'index (Lemon, 1993). Cet accès direct aux connexions CM de la représentation de la main par le cortex pariétal pourrait aussi servir à moduler et ajuster par un feedforward les intentions de mouvements. Ce feedforward agirait en tentant de prévoir les inputs sensoriels qui seront reçus par la main et le bras en effectuant la tâche à venir (Flanagan and Beltzner, 2000). Par exemple, lors de la préhension d'un objet qui semble lourd, le corps tentera de prévoir la force qui devra être exercée, et la manière dont cet effort affectera la main et le bras en passant par ce mécanisme de feedforward. Face à cette anticipation d'un apport musculaire important, ce feedforward contribuera à planifier l'activation des muscles de façon adéquate pour la tâche de préhension. En cas de mauvaise prédiction (c.-à-d. l'échec d'une préhension optimale de l'objet), les inputs sensoriels provenant des muscles sollicités constituent un feedback vers les aires pariétales, qui pourront en retour ajuster rapidement l'activité musculaire requise par leurs connexions privilégiées avec M1c. Cette modulation potentielle des projections CM de M1c par le cortex pariétal pourrait passer tant par feedforward, afin de prédire le feedback qui viserait à minimiser l'écart avec celui qui sera reçu, que par feedback sensoriel, afin d'ajuster activement l'écart entre le feedback réel et celui qui avait été prédit. Ainsi, les connexions

entre le cortex pariétal et M1c sont importantes pour pratiquement toutes les tâches de préhension quotidiennes.

Aires prémotrices et connexions corticospinales

Nos résultats mettent en évidence que les inputs depuis les aires prémotrices au sein de M1 atteignent des sous-régions spécifiques ayant la plus grande proportion de projections au niveau de M1r. Plus précisément, PMd projette principalement ses inputs dans la portion médiale de M1r et M1c; SMA, dans la portion médiale de M1c; tandis que PMv est majoritairement connecté avec la portion latérale de M1r. Tel que nous l'avons suggéré pour les connexions entre des aires pariétales et M1c, ses connexions préférentielles entre M1r et les aires prémotrices suggèrent que celles-ci puissent remplir des fonctions spécifiques pour le contrôle moteur de l'avant-bras, de la main et des doigts. M1r, n'ayant que très peu de connexions CM directes, influencerait les outputs moteurs liés aux mouvements fins de la main indirectement en contactant des interneurons spinaux. Effectivement, les neurones corticospinaux issus de M1r se terminent majoritairement dans la zone intermédiaire de la moelle épinière, où ils effectuent des connexions monosynaptiques avec des interneurons (Kuypers and Brinkman, 1970). Il en est de même pour les connexions CS de PMv, qui aboutissent quasi totalement dans la portion supérieure des segments cervicaux de la moelle épinière, région innervant principalement des muscles du cou. Sachant que la stimulation électrique intracorticale de PMv permet d'évoquer des mouvements des doigts, la suite serait de définir et de comprendre l'importance des connexions préférentielles que cette aire a avec la portion latérale de M1r, ainsi que leur rôle dans le contrôle des mouvements de la main et des doigts.

Des travaux sur le macaque ont d'ailleurs porté sur les interactions entre PMv et M1 lors de mouvements de la main. Voyons comment ceux-ci se conjuguent aux nôtres sur la connectivité. Une impulsion électrique (*single pulse*) envoyée au niveau de la représentation de la main de M1 par une électrode permet d'évoquer des bouffées corticospinales directes (D) et indirectes (I₁, I₂ et I₃) enregistrées controlatéralement, suivant la stimulation, à différents niveaux du funicule dorsolatéral de la moelle épinière et de l'activité EMG dans le bras (Cerri et al., 2003, Shimazu et al., 2004). La stimulation de M1 permet donc la production de potentiels postsynaptiques excitateurs (PPSE) au niveau de motoneurones responsables de bouffées corticospinales de type D et au niveau d'interneurones responsables de bouffées corticospinales de types I. Toutefois, lorsqu'appliquées à PMv, ces impulsions simples sont incapables d'évoquer des bouffées corticospinales, et donc la réponse EMG qui en découlerait (Cerri et al., 2003, Shimazu et al., 2004). L'absence de bouffées de types D confirme que PMv n'a pas un accès aux connexions CM directes tel que démontré par la localisation des connexions principales de PMv avec la portion latérale de M1r. De plus, une impulsion simple ne semble pas suffisante pour permettre à PMv de recruter des neurones de M1 afin de moduler les outputs moteurs issus de cette aire. Un protocole de stimulations combinées a ensuite été utilisé pour évaluer l'impact de l'activation des neurones dans PMv sur l'output moteur de M1. Une impulsion de conditionnement fut appliquée dans PMv suivie d'une impulsion test dans M1. Le conditionnement de PMv a induit une forte facilitation des bouffées de type I provenant de M1 sur les motoneurones de la main et l'avant-bras (Shimazu et al., 2004). On peut donc conclure qu'en absence de bouffées de type D, la stimulation de PMv ne permet pas d'évoquer de PPSE au niveau de motoneurones de la main directement : il serait plutôt nécessaire de passer par ses connexions corticocorticales avec M1 afin de les

influencer. De plus, la stimulation intracorticale de PMv avec une impulsion simple a démontré des effets facilitateurs sur l'activité EMG (4 et 12 fois plus importante) évoquée par des impulsions électriques simples au niveau de la représentation de la main de M1 (Cerri et al., 2003). Nos résultats suggèrent que la connectivité entre M1r et PMv constitue un substrat anatomique pour des boucles d'interaction motrice. Cette hypothèse est renforcée par le fait que les connexions CM, qui sous-tendent les habiletés motrices fines du bras et de la main se situent principalement en M1c, ce qui suggère que M1r requiert une modulation par les aires prémotrices afin d'influencer les outputs moteurs du bras et de la main. Donc, l'apport des aires prémotrice en M1r permettrait un plus fort recrutement de neurones afin d'influencer les interneurons du CST qu'ils atteignent à leurs tours, permettant au final une facilitation significative de l'activité EMG.

Dans le même ordre d'idées, SMA et PMd démontrent aussi un patron spécifique de connexions avec M1. Cependant, ce patron ne semble pas restreint à la portion rostrale de M1, se concentrant plutôt dans la portion médiale de M1. Suite à une stimulation intracorticale au niveau de la représentation de la main de SMA chez des macaques, seules des bouffées corticospinales de type I furent observées (Maier et al., 2002). Ainsi, aucun potentiel postsynaptique excitateur (PPSE) ou inhibiteur (PPSI) direct ne fut mis en évidence au niveau des motoneurons, bien que des PPSE et PPSI indirects furent observés (Maier et al., 2002). L'absence d'effet excitateur représenté par une bouffée directe témoigne de l'absence de connexions directes entre la représentation de la main de SMA et les motoneurons de la main testés. Par contre, la présence de PPSE issues de bouffées indirectes suggère que SMA peut tout de même exercer une certaine influence sur des motoneurons qui innervent la main. Nos résultats suggèrent qu'à l'instar des connexions de PMv susceptibles d'influer sur les

projections CS indirectes de M1r qui atteignent des interneurons spinaux, SMA pourrait moduler l'activité de M1r par ses faibles connexions avec la portion médiale de M1r. En revanche, nous avons démontré que les inputs issus de SMA atteindraient préférentiellement la portion médiale de M1c de la représentation de la main, qui contient sa part de projections CM directes. Ce patron de connexions de SMA est partagé par PMd qui envoie ses inputs de manière préférentielle à la portion médiale de M1, tant rostrale que caudale. Ces résultats suggèrent une possible modulation différente de la part de PMd et SMA sur les motoneurons innervant les muscles de la main par rapport à PMv. Ainsi, une première boucle d'interaction motrice existerait entre PMv et M1r, tandis qu'une seconde existerait entre PMd (ou SMA) et M1r. Enfin, on notera une troisième boucle d'interaction entre PMd (ou SMA) et M1c. Celles-ci permettraient d'influencer fonctionnellement les outputs moteurs du bras et de la main de façon différentielle.

Études lésionnelles

Afin de mieux comprendre l'apport de diverses aires corticales dans le contrôle moteur, de multiples travaux lésionnels furent effectués au fil des années. Une lésion à la représentation de la main de M1 est susceptible d'engendrer une diminution de la force, un tonus musculaire anormal, ou encore des lacunes sur le plan de des mouvements isolés des doigts (Porter and Lemon, 1993). De plus, suivant une lésion au niveau de la représentation de la main de M1, la taille de cette représentation diminue dramatiquement (Nudo and Milliken, 1996). On peut supposer que la contribution des aires prémotrices et pariétales à l'élaboration de commandes motrices efficaces, précises et bien planifiées serait réduite par un rapport diminué avec des sous-régions lésées dans M1. Considérant nos résultats, qui démontrent que

Discussion générale

M1c est préférentiellement connecté avec des aires du cortex pariétal tandis que M1r reçoit généralement plus d'inputs de la part des aires prémotrice, des lésions discriminant M1r et M1c entraînerait donc des déficits bien distincts. Une étude s'y est d'ailleurs intéressée. Cette étude lésionnelle a porté sur l'habileté à récupérer des pastilles de nourriture dans des puits de plus en plus petits chez un groupe ayant une lésion restreinte à M1c et un second groupe présentant une lésion confinée à M1r (Friel et al., 2005). Suivant une lésion restreinte au niveau de la représentation de la main de M1c, les singes examinaient visuellement fréquemment la paume de leur main après une tentative de récupération afin de vérifier la présence ou non d'une pastille de nourriture, indiquant un déficit sensoriel cutané. Cependant, suivant une lésion restreinte à la représentation de la main de M1r, les singes ne parvenaient pas à diriger correctement la main au puits contenant la récompense, atteignant fréquemment le panneau à côté du puits, témoignant d'un déficit possible d'ordre proprioceptif (Friel et al., 2005). Ces déficits distincts illustrent un apport différent de M1r et M1c à la commande motrice, ce qui va de pair avec nos résultats, qui démontrent une connectivité différentielle. Considérant que nos travaux démontrent également que ces deux subdivisions de M1 seraient à leurs tours subdivisées en une portion médiale et rostrale, il serait pertinent de déterminer si des lésions couvrant la portion médiale ou la portion latérale de M1 provoqueraient des déficits distincts à leur tour.

Études d'inactivation

L'alternative à des travaux extensifs de lésions, qui entraînent des déficits permanents chez les singes, serait de procéder à des inactivations temporaires. Ainsi, il est possible d'inactiver des régions corticales précises par l'injection de muscimol, un agoniste au

Discussion générale

récepteur GABA_A qui produit une puissante inhibition des neurones corticaux et dont l'effet se dissipe avec le temps (Kurata and Hoffman, 1994). L'inactivation n'étant pas permanente, elle ne permet pas d'observer des mécanismes compensatoires ou encore une réorganisation de connexions qui pourraient survenir suite à des dommages irréversibles (à la suite d'un accident vasculaire cérébral par exemple). En revanche, une inactivation transitoire permet de déterminer la portée d'une structure sans la soumettre à des mécanismes importants de plasticité post-lésionnelle ni induire des processus de diaschisis dans des structures connectées, qui pourraient contribuer aux déficits observés durant la récupération.

Suivant une injection de muscimol restreinte au niveau de la représentation de la main de M1c chez le singe, des déficits sélectifs et réversibles dans l'individuation des mouvements des doigts furent rapportés tout en épargnant le mouvement d'atteinte (Schieber and Poliakov, 1998). Par l'inactivation de M1c, et selon nos résultats, on peut supposer une élimination de l'accès de PMd, de SMA et des aires pariétales aux projections CM de M1c alors inactivées, éliminant ainsi les bouffées de décharges participant au recrutement rapide des motoneurones lors de mouvements soudains. Ceci semble cohérent avec un développement plus lent et moins puissant de la contraction musculaire (Schieber and Poliakov, 1998). Il a été démontré que l'inactivation de la région de la main de M1 vient réduire, voire abolir les mouvements évoqués lors de la stimulation électrique de PMv (Schmidlin et al., 2008). Pourtant, l'activité EMG engendrée par une stimulation directe de la moelle épinière, suivant l'inactivation de M1, était significativement moins affectée que celle générée par la stimulation de PMv. Il appert donc que la réduction ou l'abolition des réponses EMG provenant de la stimulation de PMv n'est pas due à une réduction de l'excitabilité des motoneurones, mais plutôt à leur perte de connexions avec M1, rendu inaccessible par l'injection de muscimol (Schmidlin et al.,

2008). Tel que mentionné précédemment, PMv doit agir par ces connexions en M1r afin d'influencer le contrôle moteur du bras et de la main en ayant un effet facilitateur sur l'activité EMG. Il est primordial de mieux comprendre les mécanismes sous-jacents aux interactions entre PMv et M1, mais aussi entre les autres aires prémotrices et M1.

Des microinjections de muscimol ont également été utilisées dans le cadre de travaux s'intéressant à l'apport différentiel de PMd et PMv sur les outputs moteur lors d'une tâche de flexion et d'extension du poignet (Kurata and Hoffman, 1994). Le singe alors soumis à des inactivations focales dans PMd et PMv devait effectuer, selon un signal visuel donné, le mouvement du poignet approprié. Lorsque l'inactivation affectait PMv, les mouvements du poignet avaient une amplitude plus petite, ainsi qu'une vitesse moindre, mais le singe effectuait très peu d'erreurs dans le choix du mouvement à effectuer selon le signal visuel donné. Lorsque l'inactivation était circonscrite au niveau de PMd, l'amplitude et la vitesse des mouvements étaient similaires à celles avant l'inactivation. Par contre, il y avait une augmentation du nombre d'erreurs dans la sélection du mouvement requis selon le stimulus visuel donné. Comme PMd et PMv semblent jouer des rôles différents dans le contrôle moteur de la main, il est possible que les sous-régions de M1 avec lesquelles elles sont préférentiellement connectées jouent elles aussi un rôle particulier dans le contrôle moteur de la main.

Directions futures

En plus des quelques avenues de recherches futures mentionnées jusqu'ici, en voici quelques-unes de plus qui permettraient de mettre encore plus en valeur nos résultats et leur pertinence dans la compréhension fonctionnelle du système sensorimoteur. Il serait

Discussion générale

singulièrement intéressant d'étudier la modulation des outputs moteurs de la main des primates au sein des quatre sous-régions de M1. Le recours aux techniques de stimulation combinées (*paired-pulse*) permettrait d'étudier l'interaction entre des aires pariétales ou prémotrices et leurs sous-régions de connexions préférentielles au sein de M1, ou encore avec les autres sous-régions de M1 avec lesquelles elles ne sont pas connectées de manière aussi prononcée. Ceci permettrait également de vérifier jusqu'à quel point le positionnement de la stimulation test dans M1 influencerait les résultats, selon les patrons de connexions préférentielles que nous avons mis en évidence lors de nos travaux. Le protocole de stimulations combinées permettrait l'application d'un stimulus électrique de conditionnement infraliminaire dans une aire du réseau sensorimoteur, suivi d'un stimulus test dans une sous-région précise et focale de M1 afin de voir si la réponse motrice évoquée sera modifiée (facilitation ou inhibition de l'activité musculaire). L'utilisation de différents délais entre les stimuli permettrait de caractériser davantage l'interaction entre différentes aires pariétales et prémotrice et diverses sous-régions de M1. De plus, il faudrait comparer M1r et M1c en suivant un même protocole d'impulsion simple pour voir si celles-ci sont tout aussi efficace à évoquer des bouffées corticospinales. À ma connaissance, aucune étude de l'activité neuronale du singe n'a permis de différencier fonctionnellement des neurones issus de sous-régions différentes de M1. Ceci constituerait potentiellement une découverte qui permettrait de mieux comprendre le réseau sensorimoteur qui commande le bras, la main et les doigts.

Afin de mettre en lumière l'apport différentiel sur les commandes motrices des sous-régions de M1, il suffirait de les abolir de façon permanente par des lésions corticales focales ou de façon transitoire par des injections inhibitrices de muscimol. L'utilisation de techniques d'inactivation focale de sous-régions présente des perspectives intéressantes, considérant

Discussion générale

qu'une réorganisation de connexions qui pourraient survenir suite à des dommages irréversibles ne devrait pas avoir lieu dans un court laps de temps. Ainsi, chez un seul et même singe, il serait possible d'observer l'implication fonctionnelle (par ex. la portion médiale de M1r) en inactivant celle-ci en premier, pour ensuite tester, quelques jours plus tard, la portion latérale de M1c en l'inactivant à son tour, et ainsi de suite. Donc, en comparant ces résultats d'inactivations focales des sous-régions de M1 avec les patrons de connexions spécifiques que nous avons mis en évidence, l'apport de celles-ci à la commande motrice serait mieux défini. De plus, il serait des plus intéressants de poursuivre ces travaux et de valider les résultats obtenus chez des singes sous anesthésie par des études avec des singes éveillés soumis à une inactivation focale. Par exemple, considérant que l'activité de neurones de PMv serait majeure dans la coordination de la main avec des mouvements oro-faciaux et de la tête (Graziano et al., 1997, Rizzolatti et al., 1998), il serait particulièrement enrichissant de voir si l'effet observé entre PMv et différentes sous-régions de M1 serait aussi présent lorsque des singes éveillés effectuent une tâche de préhension guidée visuellement. De tels travaux affinaient notre compréhension du système sensorimoteur et de l'interaction entre ses différentes composantes, et y révéleraient certainement de nouveaux sous-réseaux.

Conclusion générale

Nos travaux actuels démontrent que les projections ipsilatérales issues d'aires corticales prémotrices et pariétales ne sont pas distribuées uniformément au sein de la représentation de la main de M1. Ceci suggère qu'il existerait des sous-régions au sein de l'aire dédiée à la main de M1 et que celles-ci seraient inter-reliées différenciellement avec des régions corticales distantes. Nos résultats nous portent à croire que ses sous-régions puissent tenir des fonctions particulières dans le contrôle moteur fin de l'avant-bras et de la main. Cette différence de fonctions des sous-régions de la main de M1 permettrait possiblement au réseau sensorimoteur cortical de fractionner certains aspects du mouvement en spécialisant des sous-régions de M1. Ceci encouragerait et favoriserait alors un dialogue préférentiel entre certaines sous-régions de M1 avec des aires corticales précises ayant une spécialisation similaire ou complémentaire, formant ainsi un sous-réseau.

Des travaux utilisant une stimulation intracorticale de longue durée (Graziano et al., 2002) suggèrent une subdivision de M1 et des aires pariétales selon des répertoires de mouvements distincts (*i.e.* mouvements de défense, d'atteinte ou de préhension) (Gharbawie et al., 2011a). Il y est notamment suggéré, selon leurs résultats anatomiques, que ses régions qui commandent des répertoires de mouvements bien précis sont interconnectées les unes avec les autres. Cependant, la disponibilité des données électrophysiologiques demeure insuffisante, que ce soit chez l'animal anesthésié ou éveillé. L'ensemble des travaux proposés dans cette discussion permettrait de confirmer nos hypothèses et d'identifier des réseaux fonctionnels distincts entre les aires prémotrices, pariétales et M1. Nous considérons donc que nos travaux

Conclusion générale

ouvrent la voie à de plus amples investigations du réseau sensorimoteur, qui permettraient de mieux comprendre celui-ci dans sa grande complexité.

Bibliographie

- Asanuma H, Rosen I (1972) Topographical organization of cortical efferent zones projecting to distal forelimb muscles in the monkey. *Experimental brain research* 14:243-256.
- Bortoff GA, Strick PL (1993) Corticospinal terminations in two new-world primates: further evidence that corticomotoneuronal connections provide part of the neural substrate for manual dexterity. *The Journal of neuroscience : the official journal of the Society for Neuroscience* 13:5105-5118.
- Brodmann K (1909) *Vergleichende Lokalisationslehre der Grosshirnrinde in ihren Prinzipien dargestellt auf Grund des Zellenbaues*: Barth.
- Brodmann K, Garey LJ (2007) *Brodmann's: Localisation in the Cerebral Cortex*: Springer.
- Cerri G, Shimazu H, Maier MA, Lemon RN (2003) Facilitation from ventral premotor cortex of primary motor cortex outputs to macaque hand muscles. *Journal of neurophysiology* 90:832-842.
- Chang HT, Ruch TC, Ward AA, Jr. (1947) Topographical representation of muscles in motor cortex of monkeys. *Journal of neurophysiology* 10:39-56.
- Chouinard PA, Paus T (2006) The primary motor and premotor areas of the human cerebral cortex. *Neuroscientist* 12:143-152.
- Christel M, Fragaszy D (2000) Manual Function in *Cebus apella*. Digital Mobility, Preshaping, and Endurance in Repetitive Grasping. *International Journal of Primatology* 21:697-719.
- Dancause N (2013) Plasticity in the motor network following primary motor cortex lesion. *Advances in experimental medicine and biology* 782:61-86.
- Dancause N, Barbay S, Frost SB, Mahnken JD, Nudo RJ (2007) Interhemispheric connections of the ventral premotor cortex in a new world primate. *The Journal of comparative neurology* 505:701-715.
- Dancause N, Barbay S, Frost SB, Plautz EJ, Chen D, Zoubina EV, Stowe AM, Nudo RJ (2005) Extensive cortical rewiring after brain injury. *J Neurosci* 25:10167-10179.
- Dancause N, Barbay S, Frost SB, Plautz EJ, Popescu M, Dixon PM, Stowe AM, Friel KM, Nudo RJ (2006a) Topographically divergent and convergent connectivity between premotor and primary motor cortex. *Cereb Cortex* 16:1057-1068.
- Dancause N, Barbay S, Frost SB, Plautz EJ, Stowe AM, Friel KM, Nudo RJ (2006b) Ipsilateral connections of the ventral premotor cortex in a new world primate. *The Journal of comparative neurology* 495:374-390.
- Dancause N, Barbay S, Frost SB, Zoubina EV, Plautz EJ, Mahnken JD, Nudo RJ (2006c) Effects of small ischemic lesions in the primary motor cortex on neurophysiological organization in ventral premotor cortex. *J Neurophysiol* 96:3506-3511.
- Davare M, Lemon R, Olivier E (2008) Selective modulation of interactions between ventral premotor cortex and primary motor cortex during precision grasping in humans. *The Journal of physiology* 586:2735-2742.
- Donoghue JP, Leibovic S, Sanes JN (1992) Organization of the forelimb area in squirrel monkey motor cortex: representation of digit, wrist, and elbow muscles. *Experimental brain research* 89:1-19.

- Dum RP, Strick PL (1991) The origin of corticospinal projections from the premotor areas in the frontal lobe. *The Journal of neuroscience : the official journal of the Society for Neuroscience* 11:667-689.
- Dum RP, Strick PL (2002) Motor areas in the frontal lobe of the primate. *Physiol Behav* 77:677-682.
- Dum RP, Strick PL (2005) Frontal lobe inputs to the digit representations of the motor areas on the lateral surface of the hemisphere. *The Journal of neuroscience : the official journal of the Society for Neuroscience* 25:1375-1386.
- Eisner-Janowicz I, Barbay S, Hoover E, Stowe AM, Frost SB, Plautz EJ, Nudo RJ (2008) Early and late changes in the distal forelimb representation of the supplementary motor area after injury to frontal motor areas in the squirrel monkey. *J Neurophysiol* 100:1498-1512.
- Evans TA, Westergaard GC (2006) Self-control and tool use in tufted capuchin monkeys (*Cebus apella*). *Journal of comparative psychology* 120:163-166.
- Evarts EV, Tanji J (1976) Reflex and intended responses in motor cortex pyramidal tract neurons of monkey. *J Neurophysiol* 39:1069-1080.
- Felleman DJ, Nelson RJ, Sur M, Kaas JH (1983) Representations of the body surface in areas 3b and 1 of postcentral parietal cortex of *Cebus* monkeys. *Brain research* 268:15-26.
- Flanagan JR, Beltzner MA (2000) Independence of perceptual and sensorimotor predictions in the size-weight illusion. *Nature neuroscience* 3:737-741.
- Friel KM, Barbay S, Frost SB, Plautz EJ, Hutchinson DM, Stowe AM, Dancause N, Zoubina EV, Quaney BM, Nudo RJ (2005) Dissociation of sensorimotor deficits after rostral versus caudal lesions in the primary motor cortex hand representation. *Journal of neurophysiology* 94:1312-1324.
- Geyer S, Ledberg A, Schleicher A, Kinomura S, Schormann T, Burgel U, Klingberg T, Larsson J, Zilles K, Roland PE (1996) Two different areas within the primary motor cortex of man. *Nature* 382:805-807.
- Gharbawie OA, Stepniewska I, Kaas JH (2011a) Cortical connections of functional zones in posterior parietal cortex and frontal cortex motor regions in new world monkeys. *Cerebral cortex* 21:1981-2002.
- Gharbawie OA, Stepniewska I, Qi H, Kaas JH (2011b) Multiple parietal-frontal pathways mediate grasping in macaque monkeys. *J Neurosci* 31:11660-11677.
- Ghosh S, Brinkman C, Porter R (1987) A quantitative study of the distribution of neurons projecting to the precentral motor cortex in the monkey (*M. fascicularis*). *The Journal of comparative neurology* 259:424-444.
- Godschalk M, Lemon RN, Kuypers HG, Ronday HK (1984) Cortical afferents and efferents of monkey postarcuate area: an anatomical and electrophysiological study. *Experimental brain research* 56:410-424.
- Gould HJ, 3rd, Cusick CG, Pons TP, Kaas JH (1986) The relationship of corpus callosum connections to electrical stimulation maps of motor, supplementary motor, and the frontal eye fields in owl monkeys. *The Journal of comparative neurology* 247:297-325.
- Gould HJ, 3rd, Kaas JH (1981) The distribution of commissural terminations in somatosensory areas I and II of the grey squirrel. *The Journal of comparative neurology* 196:489-504.
- Graziano MS, Hu XT, Gross CG (1997) Visuospatial properties of ventral premotor cortex. *Journal of neurophysiology* 77:2268-2292.

- Graziano MS, Taylor CS, Moore T (2002) Complex movements evoked by microstimulation of precentral cortex. *Neuron* 34:841-851.
- He SQ, Dum RP, Strick PL (1993) Topographic organization of corticospinal projections from the frontal lobe: motor areas on the lateral surface of the hemisphere. *The Journal of neuroscience : the official journal of the Society for Neuroscience* 13:952-980.
- Heffner RS, Masterton RB (1983) The role of the corticospinal tract in the evolution of human digital dexterity. *Brain, behavior and evolution* 23:165-183.
- Herter TM, Korbel T, Scott SH (2009) Comparison of neural responses in primary motor cortex to transient and continuous loads during posture. *J Neurophysiol* 101:150-163.
- Humphrey DR, Reed DJ (1983) Separate cortical systems for control of joint movement and joint stiffness: reciprocal activation and coactivation of antagonist muscles. *Adv Neurol* 39:347-372.
- Huntley GW, Jones EG (1991) Relationship of intrinsic connections to forelimb movement representations in monkey motor cortex: a correlative anatomic and physiological study. *Journal of neurophysiology* 66:390-413.
- Jones EG, Coulter JD, Hendry SH (1978) Intracortical connectivity of architectonic fields in the somatic sensory, motor and parietal cortex of monkeys. *The Journal of comparative neurology* 181:291-347.
- Kaas JH (2004) Evolution of somatosensory and motor cortex in primates. *Anat Rec A Discov Mol Cell Evol Biol* 281:1148-1156.
- Killackey HP, Gould HJ, 3rd, Cusick CG, Pons TP, Kaas JH (1983) The relation of corpus callosum connections to architectonic fields and body surface maps in sensorimotor cortex of new and old world monkeys. *J Comp Neurol* 219:384-419.
- Krubitzer LA, Kaas JH (1990) The organization and connections of somatosensory cortex in marmosets. *The Journal of neuroscience : the official journal of the Society for Neuroscience* 10:952-974.
- Kurata K (1993) Premotor cortex of monkeys: set- and movement-related activity reflecting amplitude and direction of wrist movements. *J Neurophysiol* 69:187-200.
- Kurata K, Hoffman DS (1994) Differential effects of muscimol microinjection into dorsal and ventral aspects of the premotor cortex of monkeys. *Journal of neurophysiology* 71:1151-1164.
- Kuypers HGJM, Brinkman J (1970) Precentral projections to different parts of the spinal intermediate zone in the rhesus monkey. *Brain research* 24:29-48.
- Kwan HC, MacKay WA, Murphy JT, Wong YC (1978) Spatial organization of precentral cortex in awake primates. II. Motor outputs. *Journal of neurophysiology* 41:1120-1131.
- Lee JH, van Donkelaar P (2006) The human dorsal premotor cortex generates on-line error corrections during sensorimotor adaptation. *J Neurosci* 26:3330-3334.
- Leichnetz GR (1986) Afferent and efferent connections of the dorsolateral precentral gyrus (area 4, hand/arm region) in the macaque monkey, with comparisons to area 8. *The Journal of comparative neurology* 254:460-492.
- Lemon RN (1993) The G. L. Brown Prize Lecture. Cortical control of the primate hand. *Experimental physiology* 78:263-301.
- Lemon RN (2008) Descending pathways in motor control. *Annual review of neuroscience* 31:195-218.

- Lemon RN, Griffiths J (2005) Comparing the function of the corticospinal system in different species: organizational differences for motor specialization? *Muscle & nerve* 32:261-279.
- Maier MA, Armand J, Kirkwood PA, Yang HW, Davis JN, Lemon RN (2002) Differences in the corticospinal projection from primary motor cortex and supplementary motor area to macaque upper limb motoneurons: an anatomical and electrophysiological study. *Cerebral cortex* 12:281-296.
- Mansoori BK, Jean-Charles L, Touvykine B, Liu A, Quessy S, Dancause N (2014) Acute inactivation of the contralesional hemisphere for longer durations improves recovery after cortical injury. *Experimental neurology* 254:18-28.
- Matsumura M, Kubota K (1979) Cortical projection to hand-arm motor area from post-arcuate area in macaque monkeys: a histological study of retrograde transport of horseradish peroxidase. *Neurosci Lett* 11:241-246.
- Merzenich MM, Kaas JH, Sur M, Lin CS (1978) Double representation of the body surface within cytoarchitectonic areas 3b and 1 in "SI" in the owl monkey (*Aotus trivirgatus*). *J Comp Neurol* 181:41-73.
- Moura AC, Lee PC (2004) Capuchin stone tool use in Caatinga dry forest. *Science* 306:1909.
- Nudo RJ, Jenkins WM, Merzenich MM, Prejean T, Grenda R (1992) Neurophysiological correlates of hand preference in primary motor cortex of adult squirrel monkeys. *J Neurosci* 12:2918-2947.
- Nudo RJ, Milliken GW (1996) Reorganization of movement representations in primary motor cortex following focal ischemic infarcts in adult squirrel monkeys. *Journal of neurophysiology* 75:2144-2149.
- Nudo RJ, Milliken GW, Jenkins WM, Merzenich MM (1996a) Use-dependent alterations of movement representations in primary motor cortex of adult squirrel monkeys. *J Neurosci* 16:785-807.
- Nudo RJ, Wise BM, SiFuentes F, Milliken GW (1996b) Neural substrates for the effects of rehabilitative training on motor recovery after ischemic infarct. *Science* 272:1791-1794.
- Padberg J, Disbrow E, Krubitzer L (2005) The organization and connections of anterior and posterior parietal cortex in titi monkeys: do New World monkeys have an area 2? *Cerebral cortex* 15:1938-1963.
- Padberg J, Franca JG, Cooke DF, Soares JG, Rosa MG, Fiorani M, Jr., Gattass R, Krubitzer L (2007) Parallel evolution of cortical areas involved in skilled hand use. *The Journal of neuroscience : the official journal of the Society for Neuroscience* 27:10106-10115.
- Padberg J, Recanzone G, Engle J, Cooke D, Goldring A, Krubitzer L (2010) Lesions in posterior parietal area 5 in monkeys result in rapid behavioral and cortical plasticity. *The Journal of neuroscience : the official journal of the Society for Neuroscience* 30:12918-12935.
- Park MC, Belhaj-Saif A, Cheney PD (2004) Properties of primary motor cortex output to forelimb muscles in rhesus macaques. *Journal of neurophysiology* 92:2968-2984.
- Park MC, Belhaj-Saif A, Gordon M, Cheney PD (2001) Consistent features in the forelimb representation of primary motor cortex in rhesus macaques. *The Journal of neuroscience : the official journal of the Society for Neuroscience* 21:2784-2792.
- Penfield W, Boldrey E (1937) Somatic motor and sensory representation in the cerebral cortex of man as studied by electrical stimulation. *Brain : a journal of neurology* 60:389-443.

- Pesaran B, Nelson MJ, Andersen RA (2006) Dorsal premotor neurons encode the relative position of the hand, eye, and goal during reach planning. *Neuron* 51:125-134.
- Pons TP, Kaas JH (1986) Corticocortical connections of area 2 of somatosensory cortex in macaque monkeys: a correlative anatomical and electrophysiological study. *The Journal of comparative neurology* 248:313-335.
- Porter R, Lemon R (1993) *Corticospinal function and voluntary movement*: Clarendon Press.
- Prabhu G, Shimazu H, Cerri G, Brochier T, Spinks RL, Maier MA, Lemon RN (2009) Modulation of primary motor cortex outputs from ventral premotor cortex during visually guided grasp in the macaque monkey. *The Journal of physiology* 587:1057-1069.
- Preuss TM, Stepniewska I, Kaas JH (1996) Movement representation in the dorsal and ventral premotor areas of owl monkeys: a microstimulation study. *The Journal of comparative neurology* 371:649-676.
- Pruszynski JA, Kurtzer I, Nashed JY, Omrani M, Brouwer B, Scott SH (2011) Primary motor cortex underlies multi-joint integration for fast feedback control. *Nature* 478:387-390.
- Rathelot JA, Strick PL (2006) Muscle representation in the macaque motor cortex: an anatomical perspective. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 103:8257-8262.
- Rathelot JA, Strick PL (2009) Subdivisions of primary motor cortex based on cortico-motoneuronal cells. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 106:918-923.
- Rizzolatti G, Luppino G, Matelli M (1998) The organization of the cortical motor system: new concepts. *Electroencephalogr Clin Neurophysiol* 106:283-296.
- Schieber MH (2001) Constraints on somatotopic organization in the primary motor cortex. *Journal of neurophysiology* 86:2125-2143.
- Schieber MH, Hibbard LS (1993) How somatotopic is the motor cortex hand area? *Science* 261:489-492.
- Schieber MH, Poliakov AV (1998) Partial inactivation of the primary motor cortex hand area: effects on individuated finger movements. *The Journal of neuroscience : the official journal of the Society for Neuroscience* 18:9038-9054.
- Schmidlin E, Brochier T, Maier MA, Kirkwood PA, Lemon RN (2008) Pronounced reduction of digit motor responses evoked from macaque ventral premotor cortex after reversible inactivation of the primary motor cortex hand area. *The Journal of neuroscience : the official journal of the Society for Neuroscience* 28:5772-5783.
- Sessle BJ, Wiesendanger M (1982) Structural and functional definition of the motor cortex in the monkey (*Macaca fascicularis*). *The Journal of physiology* 323:245-265.
- Shimazu H, Maier MA, Cerri G, Kirkwood PA, Lemon RN (2004) Macaque ventral premotor cortex exerts powerful facilitation of motor cortex outputs to upper limb motoneurons. *The Journal of neuroscience : the official journal of the Society for Neuroscience* 24:1200-1211.
- Spruston N (2008) Pyramidal neurons: dendritic structure and synaptic integration. *Nature reviews Neuroscience* 9:206-221.
- Stepniewska I, Cerkevich CM, Fang PC, Kaas JH (2009) Organization of the posterior parietal cortex in galagos: II. Ipsilateral cortical connections of physiologically identified zones within anterior sensorimotor region. *J Comp Neurol* 517:783-807.

- Stepniewska I, Preuss TM, Kaas JH (1993) Architectonics, somatotopic organization, and ipsilateral cortical connections of the primary motor area (M1) of owl monkeys. *The Journal of comparative neurology* 330:238-271.
- Stepniewska I, Preuss TM, Kaas JH (2006) Ipsilateral cortical connections of dorsal and ventral premotor areas in New World owl monkeys. *The Journal of comparative neurology* 495:691-708.
- Strick PL, Preston JB (1982a) Two representations of the hand in area 4 of a primate. I. Motor output organization. *Journal of neurophysiology* 48:139-149.
- Strick PL, Preston JB (1982b) Two representations of the hand in area 4 of a primate. II. Somatosensory input organization. *Journal of neurophysiology* 48:150-159.
- Sur M, Nelson RJ, Kaas JH (1982) Representations of the body surface in cortical areas 3b and 1 of squirrel monkeys: comparisons with other primates. *J Comp Neurol* 211:177-192.
- Tokuno H, Nambu A (2000) Organization of nonprimary motor cortical inputs on pyramidal and nonpyramidal tract neurons of primary motor cortex: An electrophysiological study in the macaque monkey. *Cerebral cortex* 10:58-68.
- Tokuno H, Takada M, Nambu A, Inase M (1997) Reevaluation of ipsilateral corticocortical inputs to the orofacial region of the primary motor cortex in the macaque monkey. *The Journal of comparative neurology* 389:34-48.
- Tokuno H, Tanji J (1993) Input organization of distal and proximal forelimb areas in the monkey primary motor cortex: a retrograde double labeling study. *The Journal of comparative neurology* 333:199-209.
- Touvykine B, Mansoori BK, Jean-Charles L, Deffeyes J, Quessy S, Dancause N (2015) The Effect of Lesion Size on the Organization of the Ipsilesional and Contralesional Motor Cortex. *Neurorehabilitation and neural repair*.
- Visalberghi E, Fragaszy DM, Savage-Rumbaugh S (1995) Performance in a tool-using task by common chimpanzees (*Pan troglodytes*), bonobos (*Pan paniscus*), an orangutan (*Pongo pygmaeus*), and capuchin monkeys (*Cebus apella*). *Journal of comparative psychology* 109:52-60.
- Woolsey CN, Settlage PH, Meyer DR, Sencer W, Pinto Hamuy T, Travis AM (1952) Patterns of localization in precentral and "supplementary" motor areas and their relation to the concept of a premotor area. *Research publications - Association for Research in Nervous and Mental Disease* 30:238-264.
- Xiao Y, Felleman DJ (2004) Projections from primary visual cortex to cytochrome oxidase thin stripes and interstripes of macaque visual area 2. *Proc Natl Acad Sci U S A* 101:7147-7151.
- Ziluk A, Premji A, Nelson AJ (2010) Functional connectivity from area 5 to primary motor cortex via paired-pulse transcranial magnetic stimulation. *Neurosci Lett* 484:81-85.