

Université de Montréal

**L'effet d'une variation du niveau d'activité physique sur les propriétés
électrophysiologiques des motoneurones du nerf tibial chez le rat**

Par

Eric Beaumont

Département de Kinésiologie

Thèse présentée à la Faculté des études supérieures

en vue de l'obtention du grade de

Philosophia Doctor (Ph.D)

en Science de l'activité physique

Janvier, 2003

© Eric Beaumont, 2003



GV

201

U54

2003

v.009



AVIS

L'auteur a autorisé l'Université de Montréal à reproduire et diffuser, en totalité ou en partie, par quelque moyen que ce soit et sur quelque support que ce soit, et exclusivement à des fins non lucratives d'enseignement et de recherche, des copies de ce mémoire ou de cette thèse.

L'auteur et les coauteurs le cas échéant conservent la propriété du droit d'auteur et des droits moraux qui protègent ce document. Ni la thèse ou le mémoire, ni des extraits substantiels de ce document, ne doivent être imprimés ou autrement reproduits sans l'autorisation de l'auteur.

Afin de se conformer à la Loi canadienne sur la protection des renseignements personnels, quelques formulaires secondaires, coordonnées ou signatures intégrées au texte ont pu être enlevés de ce document. Bien que cela ait pu affecter la pagination, il n'y a aucun contenu manquant.

NOTICE

The author of this thesis or dissertation has granted a nonexclusive license allowing Université de Montréal to reproduce and publish the document, in part or in whole, and in any format, solely for noncommercial educational and research purposes.

The author and co-authors if applicable retain copyright ownership and moral rights in this document. Neither the whole thesis or dissertation, nor substantial extracts from it, may be printed or otherwise reproduced without the author's permission.

In compliance with the Canadian Privacy Act some supporting forms, contact information or signatures may have been removed from the document. While this may affect the document page count, it does not represent any loss of content from the document.

Université de Montréal
Faculté des études supérieures

Cette thèse intitulée :

**L'effet d'une variation du niveau d'activité physique sur les propriétés
électrophysiologiques des motoneurons du nerf tibial chez le rat**

présenté par :

Eric Beaumont

a été évaluée par un jury composé des personnes suivantes :

Dr Jean-Marc Lavoie - Président rapporteur

Dr Phillip Gardiner - Directeur de recherche

Dr Louise Béliveau – Membre du jury

Dr Jacques Duchateau – Évaluateur externe

Dr Richard Robitaille – Représentant de la FES

Résumé

Afin de comprendre l'adaptation des unités motrices suivant une modification du niveau d'utilisation du système neuromusculaire, les propriétés électrophysiologiques des motoneurones alpha appartenant au nerf tibial ont été étudiées. Afin de satisfaire cette exigence, nous avons fait trois études. Pour commencer, nous avons comparé les propriétés électrophysiologiques des motoneurones entre un groupe de rats confiné à rester dans une cage de plastique en comparaison avec un groupe de rats qui ont couru de façon volontaire durant 12 semaines, à raison d'une moyenne de 13 km par jour de course dans une cage roue. En utilisant une technique d'enregistrement intra cellulaire in-vivo, nous avons constaté que les motoneurones lents (demi-temps de l'AHP > 20 ms) subissaient une hyperpolarisation significative ($p < 0.05$) de leur potentiel membranaire de repos et du seuil pour déclencher un potentiel d'action d'environ 7 mV. Ces motoneurones entraînés ont également une hauteur de leur potentiel d'action plus élevée que les motoneurones des rats contrôles.

Par la suite, nous avons soumis 9 rats à un entraînement sur tapis roulant à raison de 2 heures de course par jour, 5 jours par semaine pendant 16 semaines. La vitesse de course était de 30 m/min avec 10 degrés de pente. Ce protocole d'entraînement, qui représente une distance de course moins importante que l'entraînement volontaire (3,6 km au lieu de 13 km par jour) est par contre plus intense, étant donné que les animaux n'ont pas la possibilité de se reposer durant leur entraînement. Après 16 semaines, les propriétés électrophysiologiques des motoneurones ont été investiguées et il s'est produit également une hyperpolarisation significative ($p < 0.05$) du potentiel membranaire de repos ainsi que du seuil pour déclencher un potentiel d'action d'environ 7 mV en plus

d'une diminution du temps pour atteindre le sommet du potentiel d'action. Or, ce phénomène s'est produit autant pour les motoneurones lents (demi-temps de l'AHP > 20 ms) que les rapides (demi-temps de l'AHP < 20 ms). De plus, pour le groupe entraîné, une augmentation significative de la capacitance membranaire sans changement dans les indices d'excitabilité comme la rhéobase et la résistance d'entrée s'est produite pour les motoneurones rapides. Alors, les adaptations sont seulement présentes pour les motoneurones qui ont été utilisés de manière plus intense durant l'entraînement (les motoneurones lents pour l'entraînement volontaire et les motoneurones rapides et lents pour l'entraînement en endurance sur le tapis roulant).

Finalement, nous avons comparé nos animaux contrôles à un groupe de rats qui ont subi une section complète de la moelle épinière au niveau thoracique (T10) 4 semaines avant l'expérience terminale et ont été regroupés selon : 1) aucun autre traitement (Tx), 2) exercice passif sur bicyclette ergométrique (TxEx), 3) transplantation de tissu fœtal dans le site de la lésion (TxTp). Des enregistrements intracellulaires ont été faits 4 semaines plus tard pour tous les groupes. Les animaux qui ont été transectés uniquement (Tx) ont un potentiel membranaire de repos ($p < 0.01$) et un seuil du déclenchement du potentiel d'action ($p < 0.05$) dépolarisés d'environ 6 mV en comparaison avec le groupe contrôle, TxEx et TxTp. De plus, en utilisant seulement les motoneurones rapides, les animaux transectés uniquement (Tx) ont une valeur de pente inférieure ($p < 0.05$) concernant la relation courant-fréquence, en comparaison avec les autres groupes. Nous pouvons donc conclure que les deux traitements (exercice passif et greffe de tissu nerveux fœtal) sont bénéfiques pour conserver les propriétés

électrophysiologiques des motoneurones alpha, ce qui coïncide avec la conservation des propriétés musculaires suivant ces traitements.

En considérant toutes ces études, il est évident que les propriétés électrophysiologiques des motoneurones se modifient suivant une variation de l'utilisation du système locomoteur. Les modifications seraient causées par une modulation des conductances sodiques et/ou potassiques. En ce qui concerne les propriétés de base et les propriétés rythmiques, les différences entre les groupes pourraient être causées par un changement de la conductance du courant sodique entrant rapide et/ou une modification de la conductance du courant sortant potassique rapide qui rectifie le voltage sous le seuil du déclenchement du potentiel d'action. Il pourrait également y avoir un déplacement de la sensibilité au voltage des canaux situés près ou directement sur le segment initial. Ces changements auraient un effet cumulatif de modifier le courant net entrant sous le seuil du déclenchement du potentiel d'action, et alors, modifier la valeur absolue du seuil de déclenchement du potentiel d'action.

Summary

As a way to understand how motor units change following variation in neuromuscular activity level, the tibial motoneuronal electrophysiological properties have been investigated. To satisfy that purpose, we did three studies. First of all, we compared motoneurone electrophysiological properties between a control group confined in standard plastic cages with a spontaneous running group who averaged 13 km per day of wheel activity for 12 weeks. Using an in-vivo intracellular technique, we found that slow motoneurons (AHP half-decay > 20 ms) in trained rats had a significantly ($p < 0.05$) hyperpolarized resting membrane potential (RMP) and spike trigger level (STL) of about 7 mV compared to control.

Secondly, 9 rats were trained on a treadmill for 2 hours per day, 5 days a week for 16 weeks. The running speed was 30 m/min with a 10° inclination. This training protocol, which represents a lower running distance compared to spontaneous runners (3,6 km instead of 13 km per day) was more intense, because rats were not allowed to rest during the running period. After the training period, motoneuronal properties were investigated and a significant ($p < 0.05$) hyperpolarisation of the RMP and STL by about 7 mV were found, with a decrease in spike rise time. This hyperpolarisation happened for slow (AHP half-decay > 20 ms) as well as fast (AHP half-decay < 20 ms) motoneurons. In addition, for the treadmill-trained group, a significant increase ($p < 0.05$) of membrane capacitance without any changes in indices of excitability (input resistance and rheobase) were found for fast motoneurons only. Thus, the adaptation was restricted to those motoneurons that one would expect to be most extensively recruited during running

(slow motoneurons for spontaneous running and fast and slow motoneurons for treadmill training).

Finally, we compared rats receiving a complete thoracic spinal cord transection (T10) that were grouped as 1) no further treatment (Tx), 2) passive cycling exercise for 5 days/week (TxEx), or 3) acute transplantation of fetal spinal cord tissue (TxTp). Intracellular recording of motoneurons was carried out 4-5 weeks following spinal cord injury. A transection injury leads to a significant decrease ($p < 0.05$) in the slope of the frequency-current relationship that governs rhythmic firing pattern of motoneurons. In addition, a significant ($p < 0.05$) depolarization of the resting membrane potential and spike trigger level by 6 mV. Separately, cycling exercise and transplants of fetal tissue re-established near normal motoneurone properties, coinciding with the reported maintenance of structural and biochemical features of hind limb muscles.

By considering all those studies, it is evident that any modification of the neuromuscular activity level can change motoneuronal electrophysiological properties. The results suggest that adaptations occur in the density, localization, and/or modulation of ionic membrane channels that control these properties. The most likely candidates for producing a change in STL and RMP are a change in the maximum fast sodium conductance and/or an increase in the maximum delayed rectifier potassium conductance, and possibly a slight shift in the voltage dependency of these channels, all of these localized at or near the initial segment. All of these would have a cumulative effect to change the net inward current at subthreshold membrane potentials.

Mots clés

Mots clés : rats, électrophysiologie, motoneurone, transection, tissu fœtal, exercice passif, entraînement volontaire, entraînement en endurance, intracellulaire, décharge rythmique.

Key words: rats, electrophysiology, motoneurone, transection, fetal tissue, passive exercise, spontaneous running, endurance training, intracellular, firing frequency.

Table des matières

Résumé.....	III
Summary.....	VI
Mots clés.....	VIII
Table des matières.....	IX
Liste des tables.....	XIII
Liste des figures.....	XIV
Annexe.....	XVIII
Liste des abréviations.....	XIX
Remerciements.....	XXI
Chapitre 1. Introduction générale.....	1
Chapitre 2. Revue de la littérature.....	9
2.1 Co-variation entre les motoneurones et ses fibres musculaires correspondantes.....	9
2.2 Propriétés électrophysiologiques des motoneurones alpha.....	12
2.2.1 Potentiel membranaire de repos (RMP).....	12
2.2.2 La résistance d'entrée.....	13
2.2.3 Rhéobase et le seuil de déclenchement d'un potentiel d'action	14
2.2.4 L'après hyperpolarisation (AHP).....	16
2.2.5 Constante de temps et capacitance membranaire	20
2.2.6 Fréquence de décharge.....	23
2.2.7 Adaptation tardive.....	25
2.3 Plasticité des unités motrices en fonction de l'utilisation.....	26

2.3.1	Effet d'une transection sur la plasticité des unités motrices.....	27
2.3.2	Effet du blocage de l'axone par un manchon de TTX sur les propriétés des unités motrices.....	28
2.3.3	L'effet d'une immobilisation des membres postérieurs sur les unités motrices...	29
2.3.4	L'effet d'une augmentation de l'activité physique volontaire.....	29
2.3.5	L'effet de l'entraînement en endurance sur les unités motrices.....	30
2.3.6	L'effet d'une stimulation chronique des axones sur les unités motrices.....	31
2.3.7	Effet rétrograde et antérograde au niveau des unités motrices.....	33
2.4	Les effets d'un changement d'activité au niveau neuro-musculaire sur les propriétés des motoneurones.....	36
2.4.1	Variation biochimique.....	36
2.4.2	Propriétés électrophysiologiques.....	37
2.5	Les effets d'une augmentation de l'activité nerveuse sur les propriétés des neurones.....	39
2.6	Transection de la moelle épinière au niveau T 10 et exercice passif des membres inférieurs sur les propriétés des motoneurones.....	41
2.7	Transplantation de tissu nerveux fœtal dans le site de la lésion sur les propriétés des motoneurones.....	44
2.8	Hypothèses expérimentales et objectifs de recherche.....	47
	Chapitre 3 Matériels et Méthodes.....	49
3.1	Introduction : aperçu général des études.....	49

3.2 Protocoles d'entraînement des trois études.....	49
3.2.1 Entraînement volontaire dans les roues.....	49
3.2.2 Entraînement en endurance sur tapis roulant.....	52
3.2.3 Projet sur la transection de la moelle épinière.....	53
3.3 Matériel et méthodes qui sont communs pour toutes les études.....	55
3.3.1 Préparation pour les enregistrements intracellulaires.....	55
3.3.2 Enregistrement des motoneurones.....	57
3.3.3 Propriétés des motoneurones.....	73
Chapitre 4. Résultats et discussion du projet 1.....	70
4.1 Résultats	
4.1.1 Description des groupes et du programme d'entraînement.....	84
4.1.2 Séparation des motoneurones selon une caractéristique lente ou rapide.....	84
4.1.3 Différences électrophysiologiques entre les motoneurones lents et rapides.....	85
4.1.4 Les effets de l'activité sur les différents types de motoneurones.....	86
4.1.5 Corrélation entre les différents paramètres électrophysiologiques.....	88
4.2 Discussion.....	96
Chapitre 5. Résultats et discussion du projet 2.....	105
5.1 Résultats	
5.1.1 Activité du cytochrome oxydase du muscle plantaire.....	105
5.1.2 Description des groupes et du programme d'entraînement.....	105
5.1.3 Différence entre les motoneurones lents et rapides.....	106

5.1.4 L'effet de l'entraînement en endurance.....	107
5.1.5 Reproductibilité de la mesure du seuil de déclenchement du potentiel d'action.....	108
5.2 Discussion.....	118
Chapitre 6. Résultats et discussion du projet 3.....	124
6.1.1 Description des groupes.....	124
6.1.2 Différence entre les groupes pour les propriétés de base des motoneurones.....	125
6.1.3 Propriétés des fréquences de décharge.....	126
6.2 Discussion.....	136
Chapitre 7. Discussion générale, conclusions et perspectives de recherche future	
7.1 Discussion générale.....	141
7.2 Résumé et conclusions.....	146
7.3 Perspectives de recherches futures.....	148
Bibliographie.....	150
Annexe A. Article sur l'entraînement volontaire (projet 1).....	178
Annexe B. Article sur l'entraînement en endurance (projet 2).....	188

Liste des tables**Chapitre 2.**

TABLE 2.1 Propriété des motoneurones du gastrocnémien chez le chat en fonction des différents types d'unités motrices.....	19
--	----

Chapitre 3.

TABLE 3.1 Distance de course volontaire pour les 18 animaux utilisés durant pour expériences terminales.....	51
--	----

Chapitre 4.

TABLE 4.1 Propriétés des motoneurones pour les rats contrôles et entraînés.....	94
TABLE 4.2 Corrélation entre l'amplitude de potentiel d'action antidromique, le RMP, le STL et l'amplitude de l'AHP pour tous les motoneurones combinés.....	95

Chapitre 5.

TABLE 5.1 Propriétés des motoneurones pour les rats contrôles et entraînés.....	116
---	-----

Chapitre 6.

TABLE 6.1 Propriétés passives des motoneurones.....	134
TABLE 6.2. Propriété rythmique des motoneurones rapides (AHP < 20 ms).....	135

Liste des figures

Chapitre 2.

- Figure 2.1 Graphique en trois dimensions résumant le profil physiologique de 81 unités motrices dans le gastrocnémien médial du chat.....11
- Figure 2.2 Réponse en voltage d'un motoneurone (courbe du haut) suite à une injection de courant dépolarisant (courbe du bas).....22

Chapitre 3.

- Figure 3.1 Un potentiel d'action antidromique précédé par une calibration de 50 mV durant 1 ms.....59
- Figure 3.2 Représentation d'un potentiel d'action induit par un courant rhéobasique, précédés par une calibration de 50 mV durant 1 ms.....60
- Figure 3.3 Représentation d'un potentiel d'action résultant d'un courant dépolarisant supra maximal.....61
- Figure 3.4 Illustration de la méthode pour calculer le voltage seuil.....62
- Figure 3.5 Représentation de la moyenne de 40 après hyperpolarisation (AHP) suivant un potentiel d'action orthodromique.....63
- Figure 3.6 Représentation d'un potentiel d'action antidromique durant une injection soutenue d'un courant dépolarisant de 1 nA.....64
- Figure 3.7 Représentation d'un potentiel d'action antidromique sans l'injection de courant dans le corps cellulaire.....65
- Figure 3.8 Une moyenne de 100 variations en voltage suite à une injection de courant de -1 nA pendant 150 ms.....66

Figure 3.9 Exemple de l'épluchement d'une courbe afin de déterminer la constante de temps membranaire, L et la capacitance d'un motoneurone.....	67
Figure 3.10 Fréquence de décharge pour les cinq premiers intervalles et le dernier intervalle à l'intérieur d'une période d'injection de courant de 500 ms.....	68
Figure 3.11 Exemple illustrant les valeurs de fréquence calculée en fonction de l'intensité de courant injecté par la micro-électrode.....	70
Figure 3.12 Le schéma suivant représente la variation du potentiel membranaire au cours d'un enregistrement intracellulaire complet.....	72
Figure 3.13 Entraînement volontaire dans les roues pendant 12 semaines.....	75
Figure 3.14 Entraînement en endurance sur tapis roulant à 30 mètres par minute.....	76
Figure 3.15 Rats dans les cages de plastiques.....	77
Figure 3.16 Entraînement passif sur bicyclette ergométrique avec 45 révolutions du pédalier par minute, une heure par jour, 5 jours par semaine.....	78
Figure 3.17 Expérience terminale pour tous les animaux.....	79
Figure 3.18 Système complet nécessaire pour maintenir l'homéostasie de l'animal et pour procéder à l'expérience terminale.....	80
Figure 3.19 Système "Neurolog" en plus d'un oscilloscope, d'un ordinateur et d'un micro manipulateur pour pouvoir procéder aux enregistrements des données.....	81
Figure 3.20 Voici différentes formes de micro-électrodes en verre permettant de procéder à l'empalement des motoneurones.....	82
Figure 3.21 Illustration des appareils servant à fabriquer (à droite) et à affûter (à gauche) les micro-électrodes en verre.....	83

Chapitre 4.

Figure 4.1 Propriétés des motoneurones lents (demi-temps de l'AHP > 20 ms) et rapides (demi-temps de l'AHP < 20 ms).....	90
Figure 4.2 Les effets de l'entraînement volontaire sur les motoneurones lents et rapides.....	91
Figure 4.3 Une distribution en percentile pour le potentiel d'action rhéobasique et l'amplitude de l'AHP.....	92
Figure 4.4 Une distribution en percentile pour le potentiel membranaire de repos et le seuil du déclenchement du potentiel d'action.....	93

Chapitre 5.

Figure 5.1 Propriété des motoneurones lents (demi-temps de l'AHP > 20 ms) et rapides (demi-temps de l'AHP < 20 ms).....	110
Figure 5.2 L'effet de l'activité sur les motoneurones. Les données (moyenne \pm 1 écart-type) sont combinées pour démontrer un effet significatif de l'activité.....	111
Figure 5.3 Représentation schématique des effets de l'activité physique (ligne pointillée) sur le potentiel membranaire de repos et sur le potentiel d'action antidromique en comparaison avec le groupe contrôle (ligne pleine).....	112
Figure 5.4 Les effets de l'activité physique sur les motoneurones lents et rapides. Le nombre de motoneurones est indiqué dans chacune des barres.....	113
Figure 5.5 La relation entre la résistance d'entrée et la capacitance de la cellule pour les cellules rapides seulement (durée du demi-temps de l'AHP < 20 ms).....	114
Figure 5.6 Relation entre la variations du potentiel membranaire de repos et le seuil du déclenchement du potentiel d'action (n=24 motoneurones).....	115

Chapitre 6.

Figure 6.1 Effet des traitements sur le potentiel membranaire de repos (RMP) et du seuil du déclenchement du potentiel d'action.....	128
Figure 6.2 Distribution en percentile pour le potentiel membranaire de repos (RMP) entre les groupes.....	129
Figure 6.3 Distribution en percentile pour le seuil du déclenchement du potentiel d'action (STL) entre les groupes.....	130
Figure 6.4 Exemple de la relation fréquence courant (f-I) pour le premier intervalle et le dernier intervalle pour les groupes.....	131
Figure 6.5 Deux exemples de fréquence de décharge.....	132
Figure 6.6 Relation entre le seuil du déclenchement du potentiel d'action et de la fréquence de décharge pour le premier intervalle pour toutes les cellules.....	133

Annexes

Annexe A. Article sur l'entraînement volontaire publié dans la revue *Journal of Physiology (London)*. 2002.

Annexe B. Article sur l'entraînement sur tapis roulant publié dans la revue *Muscle and Nerve*. 2003.

Liste des abréviations

Ach- acétylcholine

AHP- après hyperpolarisation

ANOVA- Analyse de la variance

ANCOVA- Analyse de la variance en tenant compte de la covariance

BDNF- Brain derived neurothrophic factor

CGRP- Calcitonin gene-related peptide

CNTF- Ciliary neurothrophic factor

G-6-PD- glucose 6 phosphate dehydrogenate

GM- gastrocnémien médial

IP- intra péritonéale

IR- résistance d'entrée (input resistance)

kD- Kilo Dalton

L- constante de longueur

M- molaire

M Ω - mega Ohm(s)

MANOVA- Analyse de variance multiple

MANCOVA- Analyse de variance multiple en tenant compte de la covariance

mV- Milivolt

ml-millilitre(s)

mm- millimètre(s)

nA- nano Ampère(s)

NGF- nerve growth factor(s)

NMJ- neuromuscular junction(s) (*jonction neuromusculaire*)

NT 3/4/5 - neurotrophine(s)

RMP- potentiel membranaire de repos (resting membrane potential)

SD- Déviation standard de la moyenne

STL – seuil du déclenchement du potentiel d'action (spike trigger level)

T_m - constante de temps membranaire

TTX- tetrodotoxine

Tx- groupe transecté seulement

TxEx- Groupe transecté avec entraînement passif

TxTp- Groupe transecté avec transplant de tissu nerveux fœtal

ul- microlitre(s)

um- micromètre(s)

V_{th} - Différence en voltage entre RMP et SLT (threshold voltage)

Remerciements

Je voudrais remercier principalement mon directeur de thèse, le Dr Phillip Gardiner pour son aide et ses conseils durant l'acquisition des données au laboratoire et pour ses commentaires constructifs tout au long de la rédaction des articles et de cette thèse.

De plus, j'ai grandement apprécié l'aide et le dévouement du personnel au laboratoire qui m'a permis de procéder à l'acquisition et l'analyse des données. J'aimerais remercier spécialement Marcel Beaulieu, Gérard Ouellette, Paul Martin, Pierre Corriveau et Simon Doucet pour leur aide. De plus, j'aimerais remercier deux étudiantes du Baccalauréat en kinésiologie, Mariannick Marcil et Amélie Boisclair qui ont participé à l'analyse des données.

J'aimerais également souligner l'encouragement que ma famille m'a donné et spécialement celui de mes parents, me permettant de poursuivre mes études durant ces années.

Finalement, je voudrais remercier le Dr John Houlé et le Dr Phillip Gardiner, qui m'ont permis de collaborer avec eux, me permettant de recevoir une bourse du NIH "National Institutes of Health" durant mes études.

Chapitre 1. Introduction générale

Il est maintenant bien établi que le système neuromusculaire est un système dynamique qui se modifie en fonction des besoins et des stimuli qui lui sont imposés. Le système neuromusculaire est composé essentiellement d'un ensemble d'unités motrices. Chacune d'elles comporte un motoneurone innervant un groupe de fibres musculaires. Le corps cellulaire des motoneurones est situé dans la moelle épinière pour former un groupement fonctionnel permettant aux différentes sources d'afférence (neurones supra-spinaux, fuseaux neuromusculaires, proprioception des récepteurs cutanés) d'établir des contacts synaptiques (Hochachka, 1994; Mendell, Collins et al., 1994). Les unités motrices sont dynamiques et semblent avoir un grand degré de plasticité lorsqu'elles sont soumises à différents stimuli extérieurs (Mendell, Collins et al., 1994; Munson, Foehring et al., 1986; Roy, Baldwin et al., 1991)

Étant donné que les unités motrices sont organisées d'une manière hiérarchique (fibres musculaires, jonction neuromusculaire, motoneurone), elles peuvent se modifier de plusieurs façons selon le type de stimulus. Par exemple, il est bien établi qu'une altération du niveau d'activité des muscles matures change l'expression des gènes et la production des nouvelles protéines (Booth et Tseng, 1993; Booth et Kirby, 1992), les capacités métaboliques (Holloszy et Booth, 1976), l'activité enzymatique (Chalmers, Roy et al., 1992) et la mécanique musculaire (Fitts, 1994).

La jonction neuromusculaire (JNM) des muscles des mammifères, quant à elle, est une structure qui établit la connexion entre le motoneurone et ses fibres musculaires correspondantes. Les signaux électriques provenant des motoneurones sont donc transmis aux muscles par cette JNM, ce qui provoque une contraction musculaire.

Comme les muscles, la morphologie et la physiologie de la JNM ainsi que ses caractéristiques fonctionnelles se modifient de manière significative suite à une variation du niveau d'activité physique (Andonian et Fahim, 1988; Appell, 1984; Tomas, Fenoll et al., 1989) (Brenner et Rudin, 1989; Desaulniers, Lavoie et al., 2001; Fischbach et Robbins, 1971; Robbins et Fischbach, 1971).

Présentement, peu de choses sont connues sur l'adaptation des motoneurones suite à un changement dans le niveau d'activité physique. Les changements connus sont principalement de nature biochimique. Par exemple, les motoneurones des rats qui ont été entraînés en endurance subissent une augmentation dans le transport rapide des protéines vers la terminaison nerveuse (Gharakhanlou, Chadan et al., 1999; Jasmin, Lavoie et al., 1987, 1988; Kang, Lavoie et al., 1995), dans le contenu des enzymes oxydatives (Suzuki, Tsuzimoto et al., 1991), dans la quantité de facteur trophique comme le ``calcitonin gene related peptide`` (CGRP) (Gharakhanlou, Chadan et al., 1999) et le ``brain derived neurotrophic factor`` (BDNF) (Gomez-Pinilla, Ying et al., 2001). Il peut également se produire des changements dans leur structure morphologique (Edds, 1950).

Les propriétés des motoneurones sont en étroite relation avec les propriétés contractiles et histochimiques de leurs fibres musculaires correspondantes (Gardiner, 1993; Zengel, Reid et al., 1985). Chez des animaux contrôles, les fibres musculaires lentes sont innervées par des petits motoneurones, alors que les fibres musculaires rapides sont innervées par des plus gros motoneurones. Étant donné que les plus petits motoneurones sont plus excitables, selon le principe de taille de Henneman (Henneman, Somjen et al., 1965), ils sont donc plus facilement utilisables lors d'une contraction musculaire volontaire. Or, de façon générale, surtout lors des contractions musculaires faibles, les unités motrices ayant des petits motoneurones (lents) sont le plus souvent

utilisées (Hennig et Lomo, 1985). Les unités motrices lentes sont également plus résistantes à la fatigue. Elles sont donc utilisées pour des contractions musculaires faibles, mais de longue durée. Les unités motrices rapides, quant à elles, vont être recrutées seulement lors d'un effort plus intense et pour une courte période. Ces unités motrices rapides sont peu résistantes à la fatigue et ne peuvent contribuer longtemps à un effort soutenu. Pour cette raison, les motoneurones et les fibres musculaires qu'ils innervent sont en étroite relation. De manière plus détaillée, les propriétés électrophysiologiques des petits motoneurones sont différentes de celles des gros motoneurones, pour ainsi arriver à optimiser la synchronisation avec les fibres musculaires. En fait, les petits motoneurones ont une résistance d'entrée plus élevée, nécessitant un plus faible courant afin de produire des trains de potentiels d'action qui sont nécessaires à la génération des mouvements volontaires. Donc, pour les plus petits motoneurones, la résistance d'entrée, la constante de temps membranaire, la durée ainsi que l'amplitude de l'AHP sont plus élevées que pour les motoneurones rapides. Une description de chacun de ces paramètres électrophysiologiques sera présentée en détail au chapitre 2. En ce qui concerne les fibres musculaires lentes, elles sont plus résistantes à la fatigue et obtiennent une tension tétranique plus facilement que les fibres rapides. Il est donc intéressant de vérifier si le fait de changer le niveau de stimulation neuromusculaire de manière chronique, en comparaison avec les animaux contrôles, peut altérer la relation entre les fibres musculaires et les motoneurones pour les différents types d'unités motrices.

Suivant une axotomie au niveau du nerf tibial, certains paramètres électrophysiologiques des motoneurones innervant le gastrocnémien médial se modifient : augmentation de la résistance d'entrée et de la constante de temps membranaire, mais sans changement significatif de la durée du demi-temps de l'AHP

(Foehring, Sybert et al., 1986; Gustafsson, 1979; Kuno, Miyata et al., 1974). Or, suivant une suture entre les deux bouts du nerf, aucun changement au niveau des motoneurones ne survient suivant une période de 5-6 semaines; par contre, les propriétés électriques des motoneurones ainsi que la relation normale entre ces paramètres reviennent à des valeurs normales suivant une période d'environ 9 mois (Foehring, Sybert et al., 1986, 1987). Suivant une transection de la moelle épinière au niveau thoracique, les changements dans les types de fibres musculaires sont alors reliés aux modifications électrophysiologiques des motoneurones et ce, dans le but de conserver une co-variation entre les motoneurones et les fibres musculaires (Cope, Bodine et al., 1986; Munson, Foehring et al., 1986). Il est difficile pour l'instant de déterminer la source responsable de ces changements, mais il semble que l'effet rétrograde des substances trophiques provenant des muscles est important pour maintenir les propriétés électriques des motoneurones.

Plusieurs modèles ont été utilisés, dont l'exercice physique ou la stimulation chronique des axones des motoneurones, pour déceler les modifications et essayer de repérer l'endroit et la nature des adaptations des unités motrices. L'idée est de comprendre de quelles manières les changements sont induits. Il semblerait qu'une augmentation de l'activité synaptique sur les motoneurones provenant de différentes sources, telles que les fuseaux neuromusculaires, les centres supra-spinaux, les neurones intermédiaires ou les récepteurs cutanés, soit partiellement responsable de ces modifications. En second lieu, il semblerait également qu'un effet rétrograde des substances trophiques des muscles vers le corps cellulaire des motoneurones soit partiellement responsable des adaptations nerveuses (Czeh, Gallego et al., 1978; Gonzalez et Collins, 1997; Mendell, Collins et al., 1994; Munson, Foehring et al., 1997; Wolpaw et Carp, 1993). Il est difficile pour l'instant de prouver si les contacts

synaptiques et/ou l'effet rétrograde peuvent être impliqués dans les changements physiologiques des neurones moteurs. Un des problèmes actuels en sciences neurologiques provient du fait que nous ne savons pas de quelles manières les facteurs trophiques affectent le fonctionnement du système neuromusculaire. Récemment, la production de facteurs trophiques en relation avec le niveau d'activité a été étudiée, et il a été observé que quelques facteurs trophiques qui font partie de la structure intégrante des polypeptides responsables de la différenciation, de la survie et du maintien des neurones dépendent de ce niveau d'activité physique. Lorsqu'un tampon imbibé de facteur trophique (BDNF) est placé sur le muscle gastrocnémien pour une période de 5 jours, il se produit une diminution du courant rhéobasique et de la capacitance membranaire totale des motoneurones, se traduisant sommairement par une augmentation de leur excitabilité (Gonzalez et Collins, 1997). Il est établi aussi que les facteurs trophiques NT-4 dans les muscles des rats dépendent également du niveau d'activité physique, mais les mécanismes exacts des modifications fonctionnelles suite à une augmentation des facteurs trophiques sont présentement inconnus (Funakoshi, Belluardo et al., 1995).

Le but de cette thèse est donc de soumettre des rats à différentes conditions de stimulation neuromusculaire, afin de déterminer s'il se produit des changements électrophysiologiques au niveau des motoneurones alpha contenus dans le nerf tibial. Plusieurs études ont déjà montré des changements dans les propriétés de base des motoneurones suite à une diminution du niveau d'activité neuromusculaire de façon chronique; par exemple, suivant une transection de la moelle épinière (Hochman et McCrea, 1994; Munson, Foehring et al., 1986) ou suivant un blocage axonal des motoneurones avec une solution pharmacologique de TTX délivrée par une mini-pompe osmotique autour du nerf (Cormery, Marini et al., 2000; Czeh, Gallego et al., 1978). Par

contre, aucune étude jusqu'à présent n'a été faite sur les effets d'une supplémentation d'activité locomotrice sur les modifications des propriétés électrophysiologiques des neurones moteurs chez les mammifères. La partie expérimentale de la thèse est donc présentée en format de trois études distinctes.

Première étude : Ce projet consistait à soumettre un groupe de rats à l'entraînement volontaire pendant une période 12 semaines. Les animaux ont été placés dans des cages d'entraînement volontaire où ils pouvaient courir spontanément sans aucune restriction. Au bout de quelques semaines, les rats couraient une distance moyenne d'environ 13 km par jour. Suite à cette période d'entraînement, les propriétés électrophysiologiques des motoneurones appartenant au nerf tibial ont été investiguées *in-vivo* lors d'une expérience terminale à l'aide d'une technique d'enregistrement intracellulaire.

Deuxième étude : Suite aux changements survenus au niveau des motoneurones lents (demi-temps de l'AHP > 20 ms) des animaux ayant subi un entraînement volontaire, un entraînement en endurance sur le tapis roulant, à raison de deux heures par jour à 30m/min pendant 16 semaines, a été effectué chez un autre groupe de rats et ce, dans le but de vérifier si les changements survenus chez ces animaux sont semblables à ceux ayant subi un entraînement volontaire. De plus, nous voulions vérifier s'il se produisait d'autres modifications sur l'ensemble des motoneurones du nerf tibial. Des résultats qui diffèreraient de ceux de la première étude pourraient signifier que les modifications électrophysiologiques sont dépendantes du type d'entraînement. De bonnes évidences suggèrent que l'utilisation d'une partie des unités motrices rapides (demi-temps de l'AHP < 20 ms) seraient nécessaires pour accomplir ce type

d'entraînement (Holloszy et Booth, 1976). Nous pouvons donc supposer que les motoneurones lents, ainsi qu'une partie des motoneurones rapides, pourraient subir des changements électrophysiologiques suite à un entraînement en endurance sur tapis roulant.

Troisième étude : Dans le cadre de ce projet, nous avons examiné les effets d'une transection complète de la moelle épinière au niveau de T10 sur les propriétés électrophysiologiques des motoneurones caudal à la lésion. Chez le chat, la transection à un niveau rostral des motoneurones cause des changements électrophysiologiques significatifs pour ces derniers (Cope, Bodine et al., 1986; Hochman et McCrea, 1994). Suite à la transection, une partie de ces animaux ont été soumis à un entraînement physique passif sur une bicyclette dont le pédalier était actionné par un moteur électrique (TxEx). Le but de cette étude était de vérifier si l'étirement passif des muscles des jambes pouvait modifier les propriétés des motoneurones, soit par une activation des afférences provenant des fuseaux neuromusculaires, soit par un effet rétrograde des muscles vers le corps cellulaire des motoneurones. De plus, cette étude comprend un autre groupe ayant reçu une greffe de tissu embryonnaire dans la cavité causée par la lésion suivant immédiatement la transection (TxTp). La greffe de tissu fœtal, tel que démontré dans plusieurs études, pourrait favoriser la croissance axonale et permettre une récupération fonctionnelle du système locomoteur. Cet effet proviendrait du rétablissement des contacts nerveux entre les centres supra-spinaux et les motoneurones (Bregman, 1987; Miya, Giszter et al., 1997). De plus, des études précédentes réalisées dans le laboratoire d'où proviennent les rats transectés, ont trouvé des changements au niveau musculaire suite à une greffe de tissu fœtal et/ou de l'exercice passif (Houle, Morris et al., 1999; Murphy, Dupont-Versteegden et al., 1999). Ces deux types de

traitement sont comparés à un groupe d'animaux ayant subi une transection seulement, ainsi qu'à un groupe contrôle (sans transection), pour déterminer si les traitements (greffe de tissu fœtal et exercice passif) permettent d'atténuer les changements des propriétés électrophysiologiques retrouvées chez les motoneurones des rats transectés.

Le chapitre 2 est une revue de littérature permettant de comprendre les particularités et les adaptations du système neuromusculaire suivant différents protocoles permettant une variation au niveau du volume d'activité physique. A la fin de ce chapitre, les hypothèses de recherche ainsi que les objectifs sont présentés. Le chapitre 3, quant à lui, consiste en une description du matériel et des méthodes employés dans les différents projets. Une description commune y est présentée, ainsi qu'une description spécifique à chacune des études. Le chapitre 4 est une présentation des résultats et de la discussion relative à la première étude portant sur l'entraînement volontaire, comme présenté dans l'article publié dans *Journal of Physiology* (London) en 2002. Dans le chapitre 5, ce sont les résultats et la discussion de l'étude 2 sur les effets de l'entraînement en endurance qui y sont présentés, suivant toujours la description de l'article publié dans le journal (*Muscle and Nerve*, 2002). Les résultats de l'étude 3 sur les effets de la transection, de l'exercice passif et de la greffe de tissu fœtal sont, quant à eux, expliqués dans le chapitre 6. La discussion générale, les conclusions et les perspectives de recherches futures se retrouvent pour leur part au chapitre 7. Finalement, l'article sur l'entraînement volontaire et l'article sur l'entraînement en endurance sont présentés en annexe.

Chapitre 2. Revue de la littérature

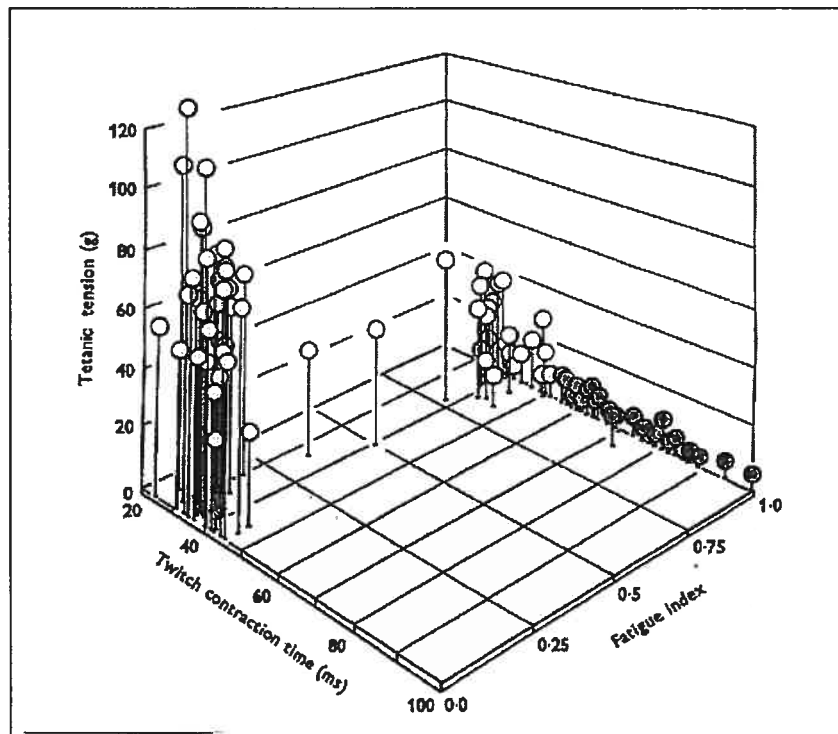
2.1 Co-variation entre les motoneurones et les fibres musculaires correspondantes.

Une unité motrice est composée d'un motoneurone alpha et des fibres musculaires qu'il innerve (Kandel, Schwartz et al., 2000). Les motoneurones alpha sont stimulés par différentes sources d'afférence (cutanées, supra-spinales, fuseaux neuromusculaires et neurones intermédiaires) au niveau des dendrites et du corps cellulaire. Ces connexions permettent éventuellement de stimuler les nerfs moteurs pour générer des trains de potentiels d'action. Ces potentiels d'action répétés sont interprétés par les fibres musculaires comme un codage en fréquence servant à diriger une contraction plus ou moins intense et ce, dans le but ultime de pouvoir produire des mouvements volontaires. Dans cette section, le but est de démontrer qu'il existe différentes sortes d'unités motrices et que les motoneurones sont étroitement reliés dans leurs fonctions physiologiques aux propriétés contractiles de leurs fibres musculaires correspondantes. Chez le chat, les unités motrices peuvent être divisées en quatre groupes en fonction de leur réponse mécanique. Ces groupes sont divisés de la manière suivante : contraction rapide et fatigue rapide (type FF), contraction rapide et fatigue intermédiaire (type FI), contraction rapide et résistante à la fatigue (type FR) et contraction lente et résistante à la fatigue (type S) (Burke, Levine et al., 1973). Les critères de classification des différents types d'unités motrices sont basés sur le temps requis par les fibres musculaires de l'unité motrice pour produire une secousse, les unités motrices lentes ayant un temps de contraction plus élevé que les rapides. On note

aussi que la force de la tension tétanique est plus élevée pour les unités motrices rapides. Un autre paramètre important qui différencie les types d'unités motrices est la diminution de la force en fonction du temps lors d'une contraction tétanique imparfaite, appelée le SAG. Les unités motrices rapides subissent cet effet de SAG, contrairement aux unités motrices lentes. Pour terminer, les unités motrices rapides sont beaucoup moins résistantes à la fatigue. La figure 2.1, tirée de Burke et al. 1973, donne un résumé du profil physiologique trouvé dans 81 unités motrices dans le muscle gastrocnémien chez le chat. Les unités motrices qui présentent un SAG ont des cercles ouverts (type FF et FR); les unités motrices ne démontrant pas de SAG sont illustrées par des cercles pleins (type S). Ce profil physiologique est également présent chez d'autres mammifères comme les rats (Gardiner, 1993; Kernell, 1986), les singes (Carp, 1992) et les cochons d'Inde (al-Amood et Lewis, 1989; Guttmann et Melichna, 1979).

Pour corroborer ceci, les propriétés des motoneurones sont en étroite relation avec les propriétés des fibres musculaires qu'ils innervent. Selon plusieurs auteurs (Burke et Edgerton, 1975; Fleshman, Munson et al., 1981; Kernell, 1986; Zengel, Reid et al., 1985), les propriétés électrophysiologiques des motoneurones (constante de temps membranaire, l'après hyperpolarisation d'un potentiel d'action (AHP), le rhéobase, la résistance d'entrée et la vitesse de conduction de l'axone) sont de bons indices qui peuvent être associés aux propriétés contractiles des fibres musculaires comme présenté à la table 2.1.

Figure 2.1 Graphique en trois dimensions résumant le profil physiologique de 81 unités motrices dans le gastrocnémien médial du chat. Les unités montrant du "SAG" ont des cercles ouverts (type FF et FR); les unités motrices avec absence de "SAG" ont des cercles fermés (type S). (Burke et al. 1973)



2.2 Propriétés électrophysiologiques des motoneurones alpha

2.2.1 Potentiel membranaire de repos (RMP)

Le potentiel membranaire de repos est déterminé principalement par la conductance du potassium ($G_{K_{rest}}$) qui est activé à une valeur plus négative que la valeur du potentiel membranaire de repos (Forsythe et Redman, 1988). En général, l'équilibre du potentiel potassique est situé autour de -80 à -100 mV dans les motoneurones (Barrett, Barrett et al., 1980; Forsythe et Redman, 1988; Zhang et Krnjevic, 1986) De plus, une partie de la conductance du potassium est modifiée par la concentration de calcium intracellulaire ($G_{K_{ca}}$). Une entrée de calcium dans le motoneurone a comme effet d'augmenter la conductance du potassium, causant ainsi une augmentation du courant ionique sortant, ce qui tend à hyperpolariser la valeur du potentiel membranaire de repos. Par contre, les potentiels membranaires enregistrés habituellement chez le chat à l'aide d'une électrode se situent autour de -65 à -75 mV. (Gustafsson et Pinter, 1984, 1984; Pinter, Curtis et al., 1983; Zengel, Reid et al., 1985). La différence entre le potentiel d'équilibre du potassium et le potentiel membranaire de repos est également dépendante de la conductance des ions sodiques (G_{Na}), ce qui cause un courant entrant responsable de dépolariser la cellule pour atteindre une valeur plus positive (-65 à -75 mV) (Forsythe et Redman, 1988). Un autre déterminant qui établit la valeur du potentiel membranaire de repos est l'activité des pompes Na^+-K^+ . Étant donné que cette pompe, ATP dépendante, fait sortir 3 ions Na^+ pour une entrée de 2 ions K^+ , l'activité de la pompe tend à hyperpolariser le RMP (Kandel, Schwartz et al., 2000). La combinaison

des courants ioniques entrant (sodique) et sortant (potassique) établit avec précision le potentiel membranaire de repos des motoneurones.

2.2.2 La résistance d'entrée

La résistance d'entrée (IR) mesurée est déterminée quand la cellule est à son potentiel membranaire de repos. Cette relation correspond à la loi d'Ohm que l'on peut énoncer ainsi: le courant de seuil (I_{seuil}) est en relation avec le voltage seuil (V_{seuil}):

$$V_{\text{seuil}} = I_{\text{seuil}} \times IR \quad (\text{Kandel, Schwartz et al., 2000})$$

La résistance d'entrée est mesurable en quantifiant la déflexion en voltage suite à une injection d'une faible quantité de courant dépolarisant ou hyperpolarisant dans la portion linéaire de la relation courant voltage (I-V). Il faut alors éviter d'injecter une quantité trop importante de courant dépolarisant, ce qui activerait les courants persistants entrant et sortant qui sont activés à une valeur entre 5 à 10 mV plus positif que le potentiel membranaire de repos. De plus, en injectant un courant hyperpolarisant, le courant (G_h) voltage dépendant est activé à une valeur d'environ 20-30 mV plus négatif que le potentiel membranaire de repos. (Barrett, Barrett et al., 1980; Takahashi, 1990) Il est donc essentiel d'injecter des courants faibles, pour avoir une approximation de la résistance d'entrée du motoneurone en considérant uniquement ses propriétés membranaires passives. La résistance d'entrée (IR), selon la loi de Ohm, est applicable en considérant que la cellule est sphérique avec des propriétés membranaires uniformes.

La résistance d'entrée (R_{in}) est équivalente au rapport de la résistivité membranaire (R_m) sur la surface de la cellule (A_N). La taille de la cellule constitue la base de la théorie du principe de taille (Henneman, Somjen et al., 1965; Rall, 1969).

Comme mentionné à la section précédente, principalement pour les motoneurones ayant une résistance d'entrée élevée, ces derniers possèdent des valeurs de rhéobase qui ne correspondent pas à la relation linéaire de courant-voltage ($I-V$) (Fleshman, Munson et al., 1981; Gustafsson et Pinter, 1984b). Cette relation non linéaire entre la rhéobase et la résistance d'entrée démontre que d'autres facteurs interviennent entre les valeurs du potentiel membranaire de repos et du seuil pour déclencher un potentiel d'action. Ces facteurs sont principalement les courants entrant activés par le voltage (G_{Na}) et la résistivité membranaire. En fait, ces paramètres interviennent dans l'excitabilité d'un motoneurone. Il faut toutefois se rappeler qu'une bonne partie (80%) de la variation du rhéobase est attribuée à celle de la résistance d'entrée (Gustafsson et Pinter, 1984a, 1984b).

2.2.3 Rhéobase et le seuil de déclenchement d'un potentiel d'action

La production d'un potentiel d'action à l'aide d'une microélectrode est déterminée par la plus faible amplitude de courant nécessaire à la production d'un potentiel d'action. En fait, il s'agit de dépolariser le potentiel membranaire de repos suffisamment pour atteindre le seuil de déclenchement d'un potentiel d'action. (Gustafsson et Pinter, 1984; Kernell, 1966). Cette propriété met en évidence que l'intensité de courant minimale pour obtenir un potentiel d'action est plus élevée pour les motoneurones rapides que pour les lents, et cette propriété est largement influencée par

la résistance d'entrée (Fleshman, Munson et al., 1981; Gustafsson et Pinter, 1984a; Kernell, 1966; Zengel, Reid et al., 1985). La génération d'un potentiel d'action se fait en deux étapes distinctes ; premièrement, une dépolarisation est produite au niveau du segment initial situé à la jonction de l'axone et du corps cellulaire. Tout de suite après, le potentiel d'action se propage au corps cellulaire, générant le véritable potentiel d'action. Ce dernier se propage alors le long de l'axone jusqu'à l'arborisation terminale. Le segment initial est responsable d'initier le potentiel d'action, car il est plus excitable que le corps cellulaire, dû à une plus grande densité des canaux sodiques (Catterall, 1981; Cooley et Dodge, 1966; Moore, Stockbridge et al., 1983).

De plus, les unités motrices lentes, produisant peu de force, sont innervées par des axones à conduction plus lente, alors que les unités motrices, présentant un profil contractile rapide, sont innervées par des axones à conduction rapide (Burke et Edgerton, 1975; Somjen, Carpenter et al., 1965). Ces travaux ont conduit à l'élaboration d'une théorie sur les principes de recrutement des unités motrices appelée "principe de taille". Cette théorie permet d'aborder le système qui contrôle un muscle en se référant à l'ordre de recrutement des motoneurones et des unités motrices qui le composent. La taille d'un motoneurone est représentée ici comme l'aire de la surface cumulée du soma et de ses dendrites. La signification fonctionnelle du principe de taille est importante pour comprendre comment le système nerveux central contrôle la production de force. (Henneman, Somjen et al., 1965; Somjen, Carpenter et al., 1965). Le recrutement des petits avant celui des plus gros motoneurones permet de produire des contractions faibles, mais avec une grande résistance à la fatigue.

Par contre, le phénomène de rectification sous le seuil du déclenchement du potentiel d'action modifie cette théorie du principe de taille des motoneurones. Le seuil

du déclenchement du potentiel d'action représente la valeur en voltage où les canaux sodiques s'ouvrent en même temps, augmentant subitement le courant entrant sodique. La conséquence est une dépolarisation du motoneurone, menant à la production d'un potentiel d'action. Or, le phénomène de rectification sous le seuil modifie la relation courant-voltage (I-V) et nécessite une injection de courant moindre (ou diminution de l'influence synaptique) pour atteindre le seuil du déclenchement du potentiel d'action. Normalement, le seuil calculé, qui est le produit de la résistance d'entrée (IR) et du courant rhéobasique (I) selon l'équation ($V = I \times IR$), a une valeur inférieure au seuil mesuré. Ce dernier étant la différence de voltage absolue entre le potentiel membranaire de repos et le seuil du déclenchement du potentiel d'action. La rectification sous le seuil du déclenchement du potentiel d'action permet alors d'augmenter la conductance du courant sodique persistant (Na_p), afin d'accentuer la pente de la courbe représentant la relation courant voltage (I-V), ayant comme conséquence de faciliter la dépolarisation du motoneurone (Mosfeldt Laursen et Rekling, 1989; Nishimura, Schwindt et al., 1989). Ce phénomène de rectification sous le seuil du déclenchement du potentiel d'action est particulièrement présent pour les motoneurones lents (Gustafsson et Pinter, 1984). Donc, la résistance d'entrée ainsi que la rectification sous le seuil plus élevées pour les motoneurones lents permettent de pouvoir les utiliser plus facilement lors d'une contraction musculaire volontaire.

2.2.4 L'après hyperpolarisation (AHP)

Généralement, le potentiel d'action somato-dendritique est suivi d'une période où le potentiel membranaire devient plus hyperpolarisé pendant une certaine période et retourne à son potentiel membranaire de repos. En fait, l'AHP est générée par une

activation des canaux potassiques lents activés par l'intermédiaire du calcium ($G_{K_{Ca}}$), ce qui cause une augmentation du courant sortant se traduisant par une sortie des ions potassiques positifs à l'extérieur du corps cellulaire suite au potentiel d'action (Binder, Heckman et al., 1996; Kudina et Alexeeva, 1992). Or, il existe des différences entre les cellules lentes et rapides concernant la densité, la localisation et la dynamique des canaux ($G_{K_{Ca}}$), ainsi que la quantité de calcium intra cellulaire. La capacité des cellules lentes à éliminer le calcium est différente des cellules rapides, ce qui pourrait expliquer partiellement la différence dans la durée et l'amplitude de l'AHP. Or, il a été démontré que le blocage des autres conductances calciques de type N et de type P n'avait aucun effet sur l'AHP. (Krnjevic, Puil et al., 1978; Viana, Bayliss et al., 1993; Zhang et Krnjevic, 1987).

Le meilleur critère pour pouvoir séparer les types d'unités motrices lentes et rapides s'établit selon un critère de demi-temps de l'après hyperpolarisation (AHP). Chez le rat, les unités motrices qui ont un demi-temps de l'AHP supérieur à 20 ms sont considérées comme lentes et celles ayant un demi-temps de l'AHP inférieur à 20 ms sont considérées rapides (Bakels et Kernell, 1993; Beaumont et Gardiner, 2002; Cormery, Marini et al., 2000; Gardiner, 1993). Cette valeur charnière est de 30 ms pour le chat (Zengel, Reid et al., 1985). L'AHP suite à un potentiel d'action est en fait une période réfractaire relative. Il devient donc plus difficile d'exciter le neurone pour produire un autre potentiel d'action, car la valeur en mV entre ce potentiel membranaire et le seuil de déclenchement du potentiel d'action augmente.

Il a été démontré que la fréquence minimale et maximale de décharge était bien corrélée avec la durée de l'AHP. En fait, la fréquence minimale de décharge, autant pour

les unités motrices lentes que rapides, est le seuil de la sommation temporelle musculaire. C'est à dire que les secousses musculaires commencent à se fusionner pour arriver à produire des contractions musculaires. Or, étant donné que les fibres lentes obtiennent leur fréquence de décharge minimale à une valeur plus basse que les fibres rapides, le fait d'avoir une durée de l'AHP plus élevée pour les fibres lentes permet alors une bon synchronisme de l'unité motrice (Kernell, 1965). Les valeurs moyennes de ces paramètres pour le chat entre les différents types d'unités motrices sont présentées à la table 2.1.

Table 2.1- Propriété des motoneurones du gastrocnémien chez le chat en fonction des différents types d'unités motrices *.

	S	FR	FF	Source
Diamètre du soma (micromètres)	49	53	53	1
Surface membranaire (micromètres)	249	323	369	1
Résistance d'entrée (megaOhms)	1.6-2.6	0.9-1	0.6	1,2
Rhéobase (nanoampères)	5	12	21.3	2
Seuil dépolarisant (millivolts)	14.4	18.5	20.1	3
Durée de l'AHP (millisecondes)	161	78	65	2
Adaptation tardive	+	+++	+++	5
Vitesse de conduction de l'axone (m/sec)	86	101	102	6
Constante de temps membranaire (ms)	10.4	8.0	5.9	2
Capacitance (nS)	4.7	6.0	6.4	3

Références : (1) (Burke, Dum et al., 1982); (2) (Zengel, Reid et al., 1985); (3) (Gustafsson et Pinter, 1984); (4) (Lee et Heckman, 1998, 1998); (5) (Spielmann, Laouris et al., 1993); (6) (Burke, Levine et al., 1973) * Adapté du livre de P.F. Gardiner 2001, p.49

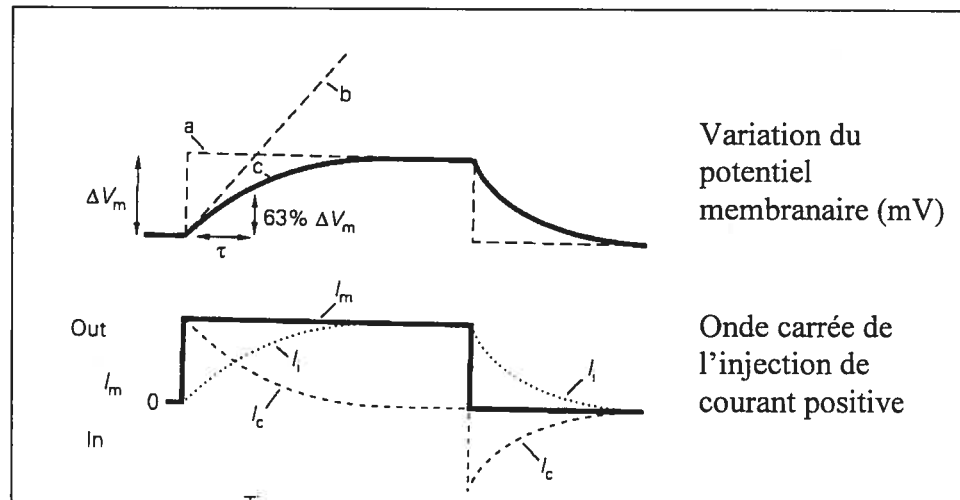
2.2.5 Constante de temps et capacitance membranaire

Un autre paramètre important qui distingue les unités motrices lentes des rapides est la constante de temps membranaire. Suite à une injection soutenue de courant dans le corps cellulaire des motoneurones, la montée en voltage ne suit pas directement l'onde carrée de l'injection de courant. La montée en voltage se fait donc plus lentement, car la cellule, selon un point de vue physique, est l'équivalent d'une résistance (par les canaux ioniques membranaires) et d'un condensateur (causé par la membrane de phospholipide) en parallèle. Or, pour pouvoir modifier le voltage de la cellule, il faut tout d'abord charger le condensateur qui est représenté ici par la membrane cellulaire. Une fois la membrane chargée, la cellule se comporte comme une simple résistance. Le même phénomène se produit lors de la cessation de l'injection de courant; la cellule retourne alors à son voltage de base suivant un certain délai, car le condensateur doit se vider de l'accumulation de ses charges (Kandel, Schwartz et al., 2000). En fait, les petits motoneurones ont une résistance d'entrée par unité de membrane plus élevée que les gros motoneurones, ce qui cause une résistance membranaire qui n'est pas proportionnelle à la taille du motoneurone. Alors, selon l'équation τ_m (constante de temps membranaire) = C_m (capacitance membranaire) * R_m (résistance membranaire), les petits motoneurones ont une résistance membranaire anormalement plus élevée par rapport aux gros motoneurones. Alors, la constante de temps membranaire (τ_m) est plus élevée pour les petits motoneurones. Concrètement, ce phénomène se traduit par une augmentation du temps nécessaire pour faire varier le potentiel membranaire des motoneurones lents par rapport aux rapides. Il est donc important de déterminer ces

paramètres électrophysiologiques, afin de vérifier s'il se produit des changements dans les propriétés membranaires des motoneurones, suivant une modification du niveau d'activité physique.

Pour pouvoir déterminer la constante de temps membranaire il s'agit d'utiliser la portion linéaire de la courbe de voltage suite à une faible amplitude de courant injecté. Par la suite, il faut prendre l'antilog de la différence entre les données réelles sur la courbe et la ligne qui ont été extrapolées afin de les reporter sur un graphique (voir figure 2.2, 3.8 et 3.9). Cette méthode est appelée l'épluchement d'une courbe exponentielle (Burke et Bruggencate, 1971; Gustafsson et Pinter, 1984; Rall, 1969). La capacitance, quant à elle, est mesurée en utilisant le deuxième et le troisième épluchement de la courbe de voltage. En fait, une grande capacitance membranaire pourrait être représentée comme une augmentation de la grosseur des plaques d'un condensateur, ce qui permet d'accumuler plus de charge. Ce phénomène est donc plus important pour les gros neurones (Kandel, Schwartz et al., 2000). La figure 2.2 illustre bien la variation en voltage en fonction du courant injecté.

Figure 2.2 Réponse en voltage d'un motoneurone (courbe du haut) suite à une injection de courant dépolarisant (courbe du bas). La courbe du haut représente le positionnement de l'axe b en fonction de la courbe, permettant l'épluchement de la courbe selon la méthode de Rall (Rall, 1969). La constante de temps membranaire (τ_m) représente le temps nécessaire afin d'effectuer 63% de la montée en voltage suite au début de l'injection de courant.



(Kandel, Schwartz et al., 2000)

2.2.6 Fréquence de décharge

Pour corrélérer les changements dans les propriétés de base des motoneurones, il est intéressant de discuter de la relation fréquence-courant (F-I) suite à différentes conditions expérimentales. Cette relation entre la quantité de courant injecté dans le corps cellulaire des motoneurones et la réponse en fréquence donne un meilleur aperçu du fonctionnement des nerfs moteurs; étant donné que cette variation en fréquence a directement une influence sur la force de la contraction musculaire. Les motoneurones commencent habituellement à décharger en moyenne avec un courant dépolarisant d'environ 1,5 fois le courant rhéobasique (Kernell, 1965; Moore et Appenteng, 1990). En fait, l'activation des courants entrants persistants activés par un changement en voltage est augmentée pour deux raisons : premièrement, les variations du potentiel membranaire dans cette région de voltage, lors des trains de potentiels d'action, activent constamment ces courants entrants. En second lieu, il se produit une dépolarisation du seuil de déclenchement du potentiel d'action durant les décharges rythmiques, causée par une inactivation du segment initial, ce qui permet de maintenir une activation des courants entrants entre les potentiels d'action. Un autre phénomène se produit lors de l'injection des courants élevés dans le corps cellulaire des motoneurones. La pente de la courbe courant-fréquence augmente alors de 2 à 6 fois. La cause est une augmentation subite de la conductance des courants entrants et cette condition est le "secondary range firing" (Kernell, 1965). Il semble que les canaux sodiques rapides soient majoritairement responsables de la génération des premiers potentiels d'action et seraient ainsi responsables de la relation fréquence-courant (F-I) (Lee et Heckman, 2001; Matzner et Devor, 1992). De plus, les canaux potassiques calcium dépendants (G_{KCa}) pourraient

aussi influencer la relation fréquence-courant en modifiant les courants potassiques sortants (Hu, Shao et al., 2001; Shao, Halvorsrud et al., 1999).

Pour maintenir une dépolarisation constante pendant une longue période, la balance entre les courants ioniques entrants et sortants doit être gérée de manière très précise. En fait, les deux paramètres importants qui déterminent la fréquence de décharge sont (1) l'amplitude et la durée de l'AHP et (2) l'amplitude et la cinétique du courant entrant entre les potentiels d'action (Catterall, 1987). En fait, la conductance de l'AHP est un déterminant très important pour déterminer la fréquence de décharge, étant donné que la fréquence de décharge minimum est inversement proportionnelle à l'amplitude de l'AHP (Baldissera, Gustafsson et al., 1978) et sa durée (Barrett, Barrett et al., 1980; Kernell, 1965; Kernell et Sjöholm, 1973). C'est pour cette raison que les motoneurones lents (AHP > 20 ms pour le rat) ont une fréquence minimum de décharge plus basse que les motoneurones rapides (AHP < 20 ms pour le rat) (Kernell, 1979).

Par contre, la relation n'est pas constante avec le temps. Il se produit une phase d'adaptation initiale durant les premiers potentiels d'action "initial adaptation", suivie d'une phase d'adaptation intermédiaire qui se termine habituellement en deçà de 2 sec "early adaptation". Une troisième phase d'adaptation se produit après environ 2 sec de décharge rythmique et est appelée "late adaptation" (Sawczuk, Powers et al., 1995). L'adaptation initiale, qui est complétée suivant les premiers potentiels d'action, est une conséquence des changements de conductance des courants membranaires. Lors des premiers potentiels d'action, il se produit une augmentation de la quantité de calcium intra cellulaire à proximité des canaux G_{KCa} . Ceci cause une augmentation de la conductance de ces canaux et augmente le courant sortant potassique. Deuxièmement, la baisse de la fréquence de décharge, suite aux premiers potentiels d'action, est aussi

causée par une dépolarisation du seuil du déclenchement du potentiel d'action (STL), qui elle, est causée par une inactivation des canaux sodiques près du segment initial (Schwindt et Crill, 1982). Finalement, le courant I_h , qui est un courant entrant activé sous le seuil du potentiel membranaire de repos et qui aide à produire les premiers potentiels d'action, serait inactivé par une dépolarisation du potentiel membranaire et causerait également une diminution de la fréquence de décharge suite aux premiers potentiels d'action (Spain, Schwindt et al., 1991). La diminution de la fréquence de décharge au bout de 2 sec, qui est appelée l'adaptation tardive, est discutée dans la section suivante.

2.2.7 Adaptation tardive

Ce phénomène est en fait une diminution de la fréquence de décharge lors d'une excitation constante soutenue. Elle apparaît après plusieurs secondes ou même minutes. Les motoneurones rapides, suite à une stimulation continue, présentent une adaptation plus importante en comparaison avec les motoneurones lents (Spielmann, Laouris et al., 1993). Le mécanisme responsable, possiblement impliqué dans cette réaction, est une augmentation du courant sortant causé par une activation des canaux potassiques calcium dépendants (G_{KCa}). Lors des potentiels d'action répétés, il se produit une entrée de calcium dans la cellule et ceci augmente le courant sortant potassique. Dès lors, il devient plus difficile d'exciter la cellule pour atteindre le seuil de production d'un potentiel d'action, diminuant alors la fréquence de décharge du neurone. La différence systématique entre les motoneurones lents et rapides peut être causée par différentes raisons. Il est possible que les cellules rapides laissent entrer plus de calcium à chaque potentiel d'action, que le pouvoir tampon du calcium soit différent entre les types de neurones et/ou que la cinétique entre le calcium et les canaux membranaires diffère.

La baisse de la fréquence de décharge pour une même intensité de courant injecté provient d'une augmentation du courant sortant et d'une baisse du courant entrant. Une entrée progressive de calcium à proximité des canaux G_{KCa} cause une augmentation de la sortie des ions potassiques hors de la cellule, causant une hyperpolarisation du potentiel membranaire. De plus, une dépolarisation du potentiel membranaire entre les potentiels d'action causerait une inactivation des canaux sodiques membranaires au bout d'un certain temps, diminuant l'entrée des ions sodiques (Sawczuk, Powers et al., 1995). Cette combinaison diminue le courant entrant net (courant entrant – courant sortant) et cause une augmentation du délai entre chacun des potentiels d'action, menant à une diminution de la fréquence de décharge. Or, il semble que les pompes Na^+-K^+ , qui sont responsables de rétablir les gradients de concentration, ne soient pas responsables de la baisse de la fréquence de décharge avec le temps (Sawczuk, 1992).

2.3 Plasticité des unités motrices en fonction de l'utilisation

Il est intéressant de vérifier le degré de plasticité des unités motrices en fonction du niveau d'utilisation chronique en procédant à différentes conditions expérimentales. Il sera question premièrement de la suppression d'activité locomotrice volontaire en procédant à une transection de la moelle épinière au niveau thoracique, coupant tout contact entre les motoneurones et les centres supra-spinaux (Gallego, Huizar et al., 1978; Munson, Foehring et al., 1986). Ensuite, nous traiterons du blocage de la transmission électrique axonale induite par un manchon contenant une solution pharmacologique de TTX sur le nerf sciatique. Cette condition expérimentale conserve l'activité des afférences sur les motoneurones, sans toutefois qu'il y ait propagation des potentiels

d'action aux muscles (Cormery, Marini et al., 2000). Par la suite, il seront discutés de l'immobilisation des membres postérieurs de manière chronique (Mayer, Burke et al., 1981), l'activité physique volontaire (Seburn et Gardiner, 1995), l'entraînement en endurance (Jasmin, Lavoie et al., 1988; Kang, Lavoie et al., 1995) et la stimulation chronique des axones (Munson, Foehring et al., 1997).

2.3.1 Effet d'une transection sur la plasticité des unités motrices

Regardons tout d'abord les effets d'une transection de la moelle épinière au niveau thoracique sur la plasticité des unités motrices. Ce traitement correspond en fait au retrait de toute stimulation des nerfs provenant des centres supra-spinaux. Sommairement, dans l'étude de Munson, 1986, une diminution de l'activité électrique dans les unités motrices du muscle gastrocnémien médial a fait diminuer le nombre d'unités motrices FR et augmenter le nombre d'unités motrices FI et FF. Or, les unités motrices FR sont converties en unités motrices rapides moins oxydatives et moins résistantes à la fatigue. De plus, le fait de supprimer chroniquement la stimulation des fibres musculaires en coupant le contact entre les neurones provenant du cerveau et les motoneurones a causé une diminution de l'aire des fibres musculaires, entraînant une diminution de la force (Munson, Foehring et al., 1986). Une étude parallèle a été réalisée pour les unités motrices du soléaire, ce muscle étant principalement composé de fibres musculaires lentes (Cope, Bodine et al., 1986). Les unités motrices lentes sont donc converties pour ressembler davantage aux rapides. Par contre, la co-variation (synchronisme) entre les motoneurones et les fibres musculaires du soléaire, comme celle du gastrocnémien, reste intacte suite à une transection de la moelle épinière (Burke, Levine et al., 1973; Sybert et Munson, 1981).

2.3.2 Effet du blocage de l'axone par un manchon de TTX sur les propriétés des unités motrices.

Il est également possible de couper tout contact électrique entre le corps cellulaire et les muscles, sans toutefois faire l'ablation des axones. Il s'agit de bloquer pharmacologiquement la propagation du potentiel d'action le long du nerf sciatique en utilisant un manchon de TTX avec une mini pompe osmotique sur le nerf, ce qui a pour effet de bloquer les canaux sodiques et empêcher la propagation du potentiel d'action le long de l'axone (Cormery, Marini et al., 2000). Les changements chez le rat sont assez faibles et sont présents seulement dans les motoneurones lents (AHP > 20ms). Il se produit alors une diminution de la durée du demi-temps de l'AHP et une augmentation du rhéobase, qui est le courant minimum nécessaire pour déclencher un potentiel d'action. Il y a aussi une augmentation du seuil calculé qui est défini comme le produit du rhéobase et de la résistance d'entrée (IR). Ce dernier paramètre nous donne une approximation de la différence en voltage entre le potentiel membranaire de repos et le seuil pour déclencher un potentiel d'action, qui est en fait un indice d'excitabilité du motoneurone. Les changements induits sont probablement causés par une modification avec le temps du phénotype des muscles lents vers un phénotype rapide. Les motoneurones lents perdent alors l'influence rétrograde des muscles lents, ce qui est important pour conserver leurs propriétés électriques (Mendell, Collins et al., 1994).

2.3.3 L'effet d'une immobilisation des membres postérieurs sur les unités motrices.

Il est possible de diminuer la stimulation chronique des unités motrices en rapport avec une situation contrôle du muscle gastrocnémien en procédant à une immobilisation à long terme (jusqu'à 29 semaines) du membre postérieur (Mayer, Burke et al., 1981; Robinson, Enoka et al., 1991). Les muscles ne sont pas complètement inactifs, car l'activité électromyographique (EMG) est semblable à celle des chats contrôlés suivant un mouvement de posture ou de marche. Une atrophie musculaire, causant une perte importante de la force musculaire, modifie les propriétés rythmiques des motoneurones. Par exemple, chez l'humain, il se produit une baisse de la fréquence maximale de décharge des unités motrices suite à une immobilisation. Il a été démontré également que les unités motrices avec un seuil bas avaient une plus grande baisse de leur fréquence de décharge maximale (Duchateau et Hainaut, 1990). Ce phénomène pourrait donc être directement relié à la baisse de force musculaire maximale, étant donné que dans une situation normale, la fréquence maximale de décharge correspond à une contraction musculaire tétanique.

2.3.4 L'effet d'une augmentation de l'activité physique volontaire.

Il est maintenant intéressant de discuter des changements qui se produisent au niveau des unités motrices suivant une augmentation chronique du niveau d'activité physique en course volontaire sur une période de 12 semaines (Seburn et Gardiner, 1995). Un peu à l'image de l'immobilisation décrite précédemment, il ne se produit pas de changement dans les proportions des unités motrices. Par contre, il se produit, à l'inverse de l'immobilisation, une augmentation de la résistance à la fatigue des unités

motrices rapides (FF) et une augmentation de la force tétranique et ce, sans aucun changement au niveau des unités motrices lentes. Ce qui justifie l'utilisation des rats au lieu des chats dans cette étude, car il est impossible d'entraîner des félins; ces derniers ne courant pas de façon volontaire. Dans d'autres études, on utilise les muscles de la main dominante en comparaison avec ceux de la main controlatérale, en présumant alors que la main dominante est utilisée plus souvent lors des activités quotidiennes. En fait, du côté dominant, les unités motrices sont capables de générer une force plus faible, car leur seuil minimum ainsi que la moyenne de décharge rythmique sont plus bas. De plus, en exécutant de manière volontaire une force sous-maximale, il y a moins de fluctuation de la force du côté dominant. On peut donc assumer que le fait d'utiliser plus souvent la main dominante convertit les unités motrices vers un phénotype lent (Adam, De Luca et al., 1998).

2.3.5 L'effet de l'entraînement en endurance sur les unités motrices.

Discutons maintenant des changements qui surviennent au niveau des unités motrices lors d'un entraînement en endurance, qui est plus intense que l'entraînement volontaire. Chez le rat entraîné, le transport axonal antérograde rapide, l'amplitude et la moyenne de la vitesse du transport, ainsi que la quantité totale de protéines transportées par l'axone est augmentée (Jasmin, Lavoie et al., 1988; Kang, Lavoie et al., 1995). Le transport antérograde rapide implique le mouvement des protéines et lipides membranaires, en plus des neurotransmetteurs, à une vitesse variant entre 200 à 400 mm par jour. Cette réponse pourrait indiquer qu'il se produit soit une augmentation de la quantité de protéines produites par les motoneurones entraînés, soit une augmentation de la quantité de protéines dans le système de transport axonal ou une combinaison des

deux. Nous pouvons donc supposer que les motoneurones ont besoin de transporter plus de matériel vers leurs arborisations terminales. Le but serait de fournir des éléments essentiels aux modifications pré et post-synaptiques au niveau de la jonction neuromusculaire. Par exemple, une augmentation de la quantité de protéine SNAP-25 chez les rats entraînés en endurance pourrait être importante pour favoriser l'interaction entre les vésicules terminales et la membrane pré-synaptique, permettant ainsi la libération des neurotransmetteurs retrouvés dans les terminaisons nerveuses entraînées (Kang, Lavoie et al., 1995). De plus, il se produit une augmentation de la quantité du transport antérograde du calcitonine gene-related peptide (CGRP) (Gharakhanlou, Chadan et al., 1999). Le CGRP est produit par les motoneurones et est relâché au niveau des terminaisons nerveuses. Par contre, la variation de l'activité des enzymes métaboliques est, quant à elle, controversée. En fait, l'activité enzymatique est inversement proportionnelle à la grosseur du corps cellulaire et est plus élevée pour les motoneurones lents que ceux rapides (Ishihara, Naitoh et al., 1988; Suzuki, Tsuzimoto et al., 1991). En fait, il semble que l'activité de l'enzyme succinate déshydrogénase (SDH) est augmentée très légèrement dans les motoneurones des rats qui sont entraînés en endurance, même si les changements musculaires se font beaucoup plus importants (Nakano, Masuda et al., 1997; Seburn, Coicou et al., 1994; Suzuki, Tsuzimoto et al., 1991).

2.3.6 L'effet d'une stimulation chronique des axones sur les unités motrices.

Le fait de stimuler chroniquement les motoneurones à l'aide d'une électrode bipolaire, causant ainsi des changements musculaires importants comme un

ralentissement de la vitesse de contraction et une augmentation de l'activité enzymatique, ne provoque aucun changement de la taille et de l'activité enzymatique de la SDH dans les motoneurones (Donselaar, Kernell et al., 1986). Étant donné que la stimulation des axones produit un signal antidromique dans le corps cellulaire des motoneurones, ces résultats démontrent très clairement qu'une augmentation du nombre de potentiels d'action au niveau du corps cellulaire n'est absolument pas un stimulus favorisant une augmentation de l'activité enzymatique. La stimulation chronique des axones est une manière d'augmenter la stimulation neuromusculaire à un niveau supra-physiologique pour pouvoir vérifier quels changements se produisent lorsque ce système est poussé à sa limite. Lorsque les axones des motoneurones du muscle gastrocnémien médial sont stimulés à l'aide d'une électrode bipolaire, il se produit des changements dans le phénotype des unités motrices. En effet, les fibres rapides sont entièrement converties en fibres lentes (Gordon, Tyreman et al., 1997; Munson, Foehring et al., 1997). Il se produit alors une augmentation de la résistance à la fatigue et du temps de contraction, ainsi qu'une diminution de la force de contraction. Cependant, même si ce muscle a complètement changé le phénotype de ses fibres, une certaine proportion des motoneurones rapides ont quand même gardé leurs propriétés initiales. Malgré le fait qu'ils ont subi de légères modifications de leurs propriétés électrophysiologiques, les motoneurones démontrent une durée supérieure de l'AHP, une diminution du courant rhéobasique et une augmentation de la résistance d'entrée. Or, un certain pourcentage des motoneurones est converti en motoneurones lents, ce qui indique peut-être une hétérogénéité des unités motrices rapides dans le muscle gastrocnémien médial (Munson, Foehring et al., 1997). Il se pourrait aussi que ce soit les changements au niveau des motoneurones qui prennent plus de temps à se produire que les adaptations

musculaires. Il est bon de préciser ici que la stimulation chronique a été faite sur les axones des nerfs moteurs et sensitifs. Donc, les motoneurones, en plus de recevoir un signal antidromique au niveau de leur corps cellulaire au moment de la stimulation des nerfs moteurs, reçoivent une stimulation des afférences immédiatement après. Il est donc difficile de déterminer si les changements observés dans les propriétés électrophysiologiques des motoneurones se produisent de manière rétrograde sous l'influence du muscle ou sont simplement causés par une augmentation de l'activité synaptique au niveau du corps cellulaire et des dendrites (Czeh, Gallego et al., 1978; Gonzalez et Collins, 1997; Mendell, Collins et al., 1994; Munson, Foehring et al., 1997; Wolpaw et Carp, 1993)

2.3.7 Effet rétrograde et antérograde au niveau des unités motrices

Il est difficile pour l'instant de déterminer si l'effet rétrograde des muscles a une plus grande influence sur les motoneurones que l'effet antérograde des motoneurones sur ses fibres musculaires correspondantes: Le mécanisme responsable de l'effet rétrograde est un ensemble de microtubules-associés à l'ATPase. Le moteur permettant de véhiculer le matériel est un complexe protéique contenant 2 têtes globulaires qui sont attachées à la structure basale de l'axone. Voici quelques exemples démontrant une action directe des muscles sur les motoneurones correspondants (effet rétrograde). Premièrement, le fait de stimuler seulement le muscle sans les motoneurones cause des modifications dans les propriétés de base des motoneurones (Czeh, Gallego et al., 1978). De plus, Foehring et al. ont démontré qu'une innervation du soléaire avec le nerf mixte du gastrocnémien médial (GM) convertissait les propriétés de base des motoneurones de type F vers type S généralement au bout de 2-3 mois. Par contre, la coordination entre

les muscles et les nerfs moteurs était supérieure suivant une période de 9-11 mois, ce qui indique une action rétrograde importante des muscles initialement lents, comme le muscle soléaire, sur la conversion des motoneurones rapides (Foehring, Sypert et al., 1986, 1987). Par contre, le fait de transformer les fibres rapides du muscle GM en fibres lentes suite à une stimulation chronique d'une durée de 2-3 mois ne convertit pas la totalité des motoneurones rapides vers le phénotype lent (Munson, Foehring et al., 1997). Il est donc possible que la durée de la stimulation chronique n'ait pas été assez longue pour induire des changements complets. Aussi, il est possible qu'un muscle lent, dès la naissance, ait une influence différente sur ses motoneurones qu'un muscle lent créé artificiellement par stimulation chronique. Des facteurs présents dans les muscles lents à la naissance pourraient être responsables de la transformation complète des motoneurones vers un phénotype lent. Le processus expérimental mis en place pour étoffer l'hypothèse de la présence de facteurs trophiques, influençant la survie des motoneurones, est établi à partir d'extraits musculaires servant à améliorer la survie des motoneurones embryonnaires. Bien que cette hypothèse soit largement documentée dans la littérature, la nature exacte de la substance, autant que son mécanisme d'action, restent inconnus (Kuno, 1990; Lowrie et Vrbova, 1992; Oppenheim, 1991, 1996).

Concernant les mécanismes en jeu lors de l'effet rétrograde, il semble que la quantité de neurotrophine NT-4/5 dans le muscle soit importante. Par exemple, la quantité de mRNA de NT-4/5 est réduite suite à un blocage du nerf sciatique, ce qui indique que le niveau d'activité neuromusculaire est important pour maintenir un niveau de neurotrophine musculaire élevé (Funakoshi, Belluardo et al., 1995; Griesbeck, Parsadonian et al., 1995). Il est donc logique d'en avoir une quantité plus importante dans les fibres lentes, étant donné qu'elles sont beaucoup plus utilisées de façon

quotidienne que les fibres rapides (Hennig et Lomo, 1985). En ce qui concerne la stimulation chronique des axones moteurs, un changement vers le phénotype lent pour les fibres rapides est normal, étant donné que tous les nerfs moteurs sont stimulés électriquement. Contrairement à une situation de recrutement volontaire où les unités motrice FF sont très difficiles à stimuler, les axones des neurones rapides sont plus excitables lorsqu'ils sont stimulés par une électrode que les axones des motoneurones lents (Feiereisen, Duchateau et al., 1997). En fait, l'ensemble des unités motrices est recruté durant la stimulation chronique. De plus, il est intéressant de noter que le fait de greffer les axones des motoneurones avant la stimulation chronique sur la peau, au lieu du muscle GM lui-même, a provoqué les mêmes changements chez les motoneurones rapides. Ceci constitue donc une bonne preuve que les motoneurones peuvent même être modifiés sans la présence des muscles cibles. Il existe donc plusieurs évidences nous permettant de croire que le muscle exerce un effet rétrograde sur ses motoneurones, mais une variation du niveau d'activité a aussi une influence sur les motoneurones, même sans la présence des muscles cibles. Il est donc difficile présentement d'établir avec précision la cause des changements au niveau des motoneurones. Or, ces évidences nous portent à croire que les muscles lents ont une grande influence rétrograde sur leurs motoneurones, tandis que le niveau d'activité des motoneurones rapides modifie le phénotype des muscles qu'ils innervent de manière antérograde (Mendell, Collins et al., 1994).

2.4 Les effets d'un changement d'activité au niveau neuromusculaire sur les propriétés des motoneurones.

2.4.1 Variation Biochimique

Les adaptations biochimiques sont nombreuses dans les motoneurones suite à une variation du niveau d'activité. L'activité de l'enzyme G-6-PD, qui est importante dans la voie des pentoses phosphates, est diminuée chez les rats ayant subi un entraînement. Ce fait est bien corrélé avec une diminution de la quantité d'ARN messager (Gerchman, Edgerton et al., 1975). Or, il semble que l'activité de la succinate déshydrogénase (SDH) n'est pas modifiée, même en utilisant une technique d'hypertrophie compensatoire du muscle plantaire. Suivant ce traitement, le muscle a doublé en grosseur sans augmentation de la quantité de SDH musculaire. L'activité de la SDH musculaire a donc diminué de moitié, mais sans aucun changement de son activité dans les motoneurones (Chalmers, Roy et al., 1991). Par contre, il semble qu'une diminution de l'activité locomotrice induite de manière fonctionnelle, provoquée par un manchon contenant une substance pharmacologique de TTX sur le nerf périphérique ou par axotomie, entraîne une diminution enzymatique du cytochrome oxydase (COX), de l'acide phosphatase (AP) et de NAPDPH phosphatase (NDP) dans les nerfs moteurs et sensitifs (Carr, Haftel et al., 1998). Les transports antérogrades et rétrogrades sont également modifiés avec une augmentation du niveau d'activité nerveuse. Chez les rats ayant subi un entraînement en endurance, une augmentation de leur transport axonal rapide vers les terminaisons nerveuses est observée et ce, (Gharakhanlou, Chadan et al., 1999; Jasmin, Lavoie et al., 1988; Kang, Lavoie et al., 1995) en plus d'une augmentation

du contenu enzymatique des mitochondries (Suzuki, Tsuzimoto et al., 1991), de la quantité de facteurs trophiques comme le calcitonine gene-related peptide (CGRP) (Gharakhanlou, Chadan et al., 1999) et le brain-derived neurotrophic factor (BDNF) (Gomez-Pinilla, Ying et al., 2001). Il est donc établi qu'il se produit des changements biochimiques au niveau des motoneurones suite à une variation du niveau d'activité locomotrice chez ces animaux. Par contre, le lien entre ces modifications biochimiques et les propriétés fonctionnelles de la cellule n'a pas encore été établi. Il est alors difficile pour l'instant de déterminer si ces changements produisent des modifications au niveau de l'excitabilité et du fonctionnement des motoneurones.

2.4.2 Propriétés électrophysiologiques

Les enregistrements électrophysiologiques intracellulaires dans une situation *in vivo* sont importants, car ils donnent une idée plus fonctionnelle des propriétés de base des neurones moteurs. Des enregistrements chez le chat ont été faits 6 semaines suivant une transection au niveau de (L1-L2). Contrairement aux muscles, peu de changements sont survenus au niveau des motoneurones par rapport à une situation contrôle, même si ces derniers étaient privés de leur source d'afférence provenant des centres supra-spinaux (Cope, Bodine et al., 1986; Gustafsson, Katz et al., 1982; Hochman et McCrea, 1994; Munson, Foehring et al., 1986). Les changements survenus dans les motoneurones chez les chats spinalisés se situent principalement au niveau de la différence en voltage entre le potentiel membranaire de repos (RMP) et le seuil pour déclencher un potentiel d'action (STL). Chez les animaux contrôles, le produit du courant rhéobasique (nA) et de la résistance d'entrée (MOhms), qui est appelé le seuil calculé, n'est pas significativement différent en comparaison avec le seuil mesuré. Le seuil mesuré est la

différence de hauteur entre le potentiel d'action induit par un courant rhéobasique (un courant minimal pour induire un potentiel d'action) et le potentiel d'action produit par une injection de courant brève et intense (20 nA pendant 0.5 ms). Chez les chats spinalisés, le seuil mesuré est supérieur au seuil calculé, indiquant qu'il se produit une rectification sous le seuil plus importante que pour les animaux contrôles et ce, en incluant tous les types de motoneurones. La conséquence est une production d'un potentiel d'action avec la même quantité de courant, même si la différence en voltage entre le potentiel membranaire au repos et le seuil de déclenchement du potentiel d'action est plus élevé (Hochman et McCrea, 1994; Nelson et Frank, 1967). Suivant le modèle de l'axotomie des motoneurones chez le chat en empêchant la réinnervation des bouts qui ont été coupés, plusieurs propriétés de base des motoneurones sont modifiées, dont une diminution du courant rhéobasique et de la vitesse de conduction de l'axone. De plus, il se produit une augmentation de la résistance d'entrée, de la durée de l'AHP et de la constante de temps membranaire par rapport à une situation contrôle pour une période d'environ 20 jours (Pinter et Vanden Noven, 1989). Par la suite, au bout de 40 jours environ, plusieurs de ces paramètres dont la résistance d'entrée, la constante de temps membranaire et la durée de l'AHP reviennent près des valeurs contrôles. Les motoneurones retrouvent donc une partie de leurs propriétés de base au bout d'un certain temps, mais le fait de permettre la réinnervation des axones aux muscles entraîne un rétablissement plus complet des neurones moteurs (Foehring, Sybert et al., 1986, 1986). Nous pouvons donc supposer qu'un effet rétrograde des muscles vers les motoneurones est important pour pouvoir maintenir leurs propriétés électrophysiologiques près des valeurs retrouvées pour les motoneurones des animaux contrôles.

2.5 Les effets d'une augmentation de l'activité nerveuse sur les propriétés des neurones

Étant donné que les effets d'une augmentation du niveau d'activité sur les propriétés électrophysiologiques des motoneurones chez les mammifères n'ont jamais été démontrés, voici quelques exemples permettant de déceler une adaptation suite à une variation en activité. Nous savons que la mémoire et l'apprentissage proviennent des modifications des circuits nerveux dépendants du niveau d'utilisation chronique (Kandel, Schwartz et al., 2000). Les modifications peuvent se produire au niveau des synapses, mais peu d'études ont démontré des adaptations au niveau des propriétés électriques des neurones. Comme premier exemple, les nerfs d'un ganglion stomatogastrique d'un homard produisent normalement des fréquences de décharge en bouffées en condition normale, c'est à dire lorsqu'ils sont stimulés par ses propres afférences. Or, suite à une suppression de ses afférences, il perd cette propriété et se met à décharger de manière constante. Le fait de remettre le ganglion dans son milieu de culture normal lui redonne la possibilité de décharger en bouffées à nouveau. Les neurones peuvent donc adapter leurs propriétés électriques en fonction du niveau de stimulation qu'ils reçoivent chroniquement. En fait, le mécanisme responsable de cette modification est une augmentation du niveau de calcium intracellulaire (Turrigiano, Abbott et al., 1994). Un autre exemple concerne des modifications électrophysiologiques dans les motoneurones de l'aplasie de Californie suivant une sensibilisation à long terme du ``tail-siphon withdrawal reflex``. Il se produit une hyperpolarisation du potentiel membranaire de repos et du seuil pour produire un potentiel d'action avec une tendance vers une diminution de la résistance d'entrée (Cleary, Lee et al., 1998). Le fait de

conserver sensiblement la même différence en voltage entre le potentiel membranaire de repos (RMP) et le seuil pour déclencher un potentiel d'action (STL) conserve l'excitabilité des motoneurones et démontre qu'une modification de l'utilisation des nerfs moteurs cause des modifications qui durent jusqu'à 14 jours. Ceci constitue donc une bonne preuve de la plasticité du système nerveux en fonction de son degré d'utilisation sur une longue période. Cet effet nécessite donc quelques temps avant de se manifester, car des changements dans la structure des canaux impliquent des modifications dans la transcription de nouvelles protéines (Emptage et Carew, 1993). Pour terminer, des études sur les cellules pyramidales mises en culture montrent que leurs propriétés électrophysiologiques sont modifiées suite à une variation du niveau d'activité. Il semble que ces cellules se modifient en fonction du niveau de stimulation de leurs afférences. Le fait d'accroître le nombre ou la proximité des contacts synaptiques sur les dendrites des motoneurones augmente alors l'entrée de courant. Or, le fait de pouvoir modifier les courants entrants et sortants par les différents canaux ioniques permet de changer l'excitabilité du motoneurone et du même coup sa réponse en fréquence de décharge. Il semble que les canaux sodiques, qui permettent principalement la régulation de la fréquence de décharge, subissent une modification de leur structure biochimique et leur sensibilité au voltage suite à un changement en activité (Dai, Jones et al., 2002; Dai, Jones et al., 1998; Desai, Rutherford et al., 1999)

Ces exemples, concernant les changements des neurones en fonction de leur niveau d'utilisation, sont importants pour contrôler leur excitabilité en plus de leur fréquence de décharge. Ceci constitue donc une bonne piste nous permettant de croire que les motoneurones chez les mammifères se modifient probablement de la même manière; ce qui n'a jamais été démontré antérieurement. La première étude constitue

donc un bon moyen de vérifier ceci, en soumettant les rats à un entraînement volontaire de 12 semaines en comparaison à un groupe contrôle. Cette procédure expérimentale nous permet alors de voir si une augmentation du niveau d'activité de la part des animaux entraînés ou une diminution de l'utilisation du système neuromusculaire, induite par une immobilisation partielle dans les cages de plastique chez les animaux contrôles, pourraient causer des changements au niveau des motoneurones innervant les muscles extenseurs du pied. Cette expérience faite dans une situation in-vivo est un moyen optimal permettant également de démontrer ce phénomène chez les mammifères.

2.6 Transection de la moelle épinière au niveau T 10 et exercice passif des membres inférieurs sur les propriétés des motoneurones

Une transection complète de la moelle au niveau T 10 cause un bris physique entre le cerveau et les muscles squelettiques, causant une altération de l'activité neuromusculaire normale et une atrophie sévère des muscles du triceps sura (Dupont-Versteegden, Houle et al., 1998; Munson, Foehring et al., 1986). Or, une partie des animaux transectés ont subi un entraînement passif consistant à attacher les pattes postérieures du rat sur les pédales d'une mini-bicyclette. Par la suite, le pédalier de la bicyclette est actionné par un moteur électrique. Le protocole d'entraînement est de 45 révolutions par minute à raison de 60 minutes d'entraînement par jour. Le but de cet entraînement passif est de provoquer des étirements successifs des muscles qui ne reçoivent plus de stimulation des afférences provenant des centres supra spinaux.

Des recherches précédentes ont montré que le fait d'entraîner les rats à marcher ou à se tenir debout suivant une transection à T12-13 préserve les caractéristiques histochimiques et les propriétés mécaniques des muscles ischio-jambiers près des valeurs retrouvées chez les rats contrôles (Roy, Talmadge et al., 1998). De plus, le fait d'étirer les muscles de manière passive et cyclique pouvait diminuer la perte de leur fonction mécanique (Roy, Pierotti et al., 1998) ainsi qu'une diminution de l'ARNm des chaînes lourdes de myosine pour les types de fibres I et IIa (Loughna et Morgan, 1999). Ces effets bénéfiques sont provoqués entre autre lors d'une activité réflexe induite par les racines dorsales. Le fait de bloquer les racines dorsales avec un manchon contenant une solution pharmacologique de tétrodotoxine (TTX) a diminué les effets de l'exercice, car la tétrodotoxine cause un blocage des canaux sodiques et empêche la propagation du potentiel d'action le long de l'axone (Roy, Pierotti et al., 1998). Il a été démontré dans le laboratoire de l'université d'Arkansas, avec qui nous collaborons, qu'un entraînement passif de quatre semaines sur bicyclette avec des rats adultes transectés (TxEx) pouvait réduire l'atrophie musculaire de tous les types de fibres musculaires. Cependant, les types de fibres rapides semblent être plus influencés par ce type d'entraînement que les fibres lentes, car l'atrophie musculaire est moins importante dans le muscle plantaire que soléaire (Dupont-Versteegden, Houle et al., 1998; Dupont-Versteegden, Murphy et al., 2000; Houle, Morris et al., 1999; Murphy, Dupont-Versteegden et al., 1999; Peterson, Murphy et al., 2000).

Conjointement, les propriétés des motoneurones changent également suivant une transection de la moelle épinière. En ce qui concerne les motoneurones du chat, suivant une transection de la moelle épinière rostrale aux motoneurones, le seuil pour déclencher

un potentiel d'action (STL) est dépolarisé d'environ 3 mV en comparaison avec les animaux contrôles. La conséquence est une augmentation du voltage entre le potentiel membranaire de repos et le seuil de déclenchement du potentiel d'action (Cope, Bodine et al., 1986; Hochman et McCrea, 1994). Or, il n'est pas connu présentement si l'effet de l'exercice passif, qui a pour effet de prévenir les changements phénotypiques musculaires, a des répercussions sur leurs motoneurones correspondant. Quelques évidences nous portent à croire qu'un effet rétrograde des muscles vers les motoneurones se produit. Les changements dans les propriétés des motoneurones, suite à une transection de la moelle, sont diminués si les axones sont stimulés entre un manchon de tétrodoxtin (TTX) et le muscle, causant ainsi des contractions musculaires. Or, la même stimulation électrique entre le manchon de TTX et les corps cellulaires des motoneurones, ne causant pas de contraction musculaire, n'a pas d'effet pour rétablir les propriétés des motoneurones. La stimulation musculaire semble donc nécessaire pour induire des changements sur les motoneurones par action rétrograde (Czeh, Gallego et al., 1978).

De plus, suivant une transection de la moelle épinière, le réflexe-H montre une diminution de la modulation négative suivant une stimulation à haute fréquence pour les animaux transectés en comparaison avec les animaux contrôles. Suite à un programme d'entraînement passif suivant la transection, le réflexe-H montre une augmentation de la modulation négative, se rapprochant des animaux contrôles (Skinner, Houle et al., 1996). Donc, les mécanismes présents chez les animaux, suivant un entraînement passif, permettent d'atténuer les conséquences de la transection concernant le rôle des afférences sur les motoneurones et/ou sur les propriétés des motoneurones eux-mêmes.

2.7 Transplantation de tissu nerveux fœtal dans le site de la lésion sur les propriétés des motoneurones.

La greffe de tissu nerveux fœtal dans le site de la lésion, tout de suite après la transection complète de la moelle épinière, est favorable pour conserver les paramètres musculaires du côté caudal à la lésion. Il a été démontré que le transplant est bénéfique pour atténuer l'atrophie musculaire (Houle, Morris et al., 1999; Murphy, Dupont-Versteegden et al., 1999). Ceci est probablement causé par une production de facteurs trophiques sécrétés par les cellules vivantes contenues dans le transplant comme le BDNF, NGF, CNTF et NT-3 (Maisonpierre, Belluscio et al., 1990). Les changements musculaires seraient alors causés par un effet des neurothrophines sur le muscle directement et/ou par un effet intermédiaire sur les motoneurones innervant les muscles des jambes.

Il est également possible qu'il se produise un effet à plus long terme, qui consiste à permettre une intégration entre le transplant et la moelle épinière du rat adulte. Par exemple, le meilleur rétablissement de la masse musculaire est observé après une période plus longue (90 jours au lieu de 30 jours) (Murphy, Dupont-Versteegden et al., 1999). Pour essayer de comprendre les mécanismes responsables de ces changements, il a été prouvé que le transplant de cellules fœtales avait un effet pour maintenir les caractéristiques des fibres musculaires de type IIb en comparaison avec les rats transectés uniquement (Houle, Morris et al., 1999). Le tissu nerveux fœtal, qui est composé principalement de neurones monoaminergiques, semble diminuer la transition des fibres contenant des chaînes lourdes de myosine de type I vers les type II; ce qui arrive normalement suite à une transection de la moelle épinière (Cooper, Feraboli-

Lohnherr et al., 1996). Le mécanisme principalement responsable de ces changements est attribuable aux neurones monoaminergiques qui ont formé des contacts synaptiques avec les motoneurones directement, provoquant des changements au niveau de leur excitabilité. En fait, une décharge rythmique continue des neurones monoaminergiques, causant une activité synaptique chronique sur les motoneurones, permet à ces derniers de conserver leurs propriétés électrophysiologiques plus près de celles retrouvées chez les rats contrôles (Rajaofetra, König et al., 1992; Yakovleff, Cabelguen et al., 1995). Ceci pourrait également avoir un effet indirect pour conserver la masse musculaire ou pour toute modification du phénotype musculaire.

En fait, une partie des axones qui partent du transplant ont la capacité de croître dans la moelle adulte aussi loin que 5 mm de la bordure entre la greffe et la moelle épinière de l'hôte. Cependant, il semble que la majorité de ces fibres efférentes sont confinées près de la bordure. De plus, il semble que les neurones appartenant au rat adulte aient de la difficulté à croître de plus de 1 mm à l'intérieur du transplant. Nous pouvons donc conclure que les neurones provenant du transplant auraient plus de facilité à croître vers la moelle épinière que les neurones de l'hôte vers l'intérieur du transplant. La plus grande capacité de croissance des neurones provenant de la greffe est probablement causée par une plus grande capacité métabolique des cellules en développement (Commissiong, 1983; Das, 1983; Jakeman et Reier, 1991; Reier, Bregman et al., 1986). Des observations similaires ont été faites dans d'autres modèles de transplantation, notamment pour les transplantations dans le système nerveux central adulte (McLoon et Lund, 1983; Oblinger et Das, 1982).

De plus, le transplant inséré dans la moelle épinière lésée est utile pour fournir un milieu de culture favorable pour la croissance axonale, étant donné que cet environnement n'est pas favorable suivant une transection de la moelle (Bregman, 1987; Bregman, McAtee et al., 1997; Houle et Reier, 1988, 1989). Or, plusieurs études ont démontré qu'il y avait des connexions axonales entre la moelle épinière de l'hôte et la greffe de tissu fœtal (Nornes, Bjorklund et al., 1983; Privat, Mansour et al., 1986; Reier, Bregman et al., 1986). En effet, il se produit une croissance des axones sérotoninergiques (5-HT) au travers de la greffe de tissu fœtal chez le rat néonatal, permettant une récupération fonctionnelle du système locomoteur (Bregman, 1987; Bregman et Reier, 1986; Miya, Giszter et al., 1997). Dans le cas où des rats adultes sont utilisés, cette possibilité doit être exclue, car les axones des neurones sérotoninergiques n'arrivent pas à traverser le transplant de tissu fœtal (Bregman, McAtee et al., 1997). La conséquence est d'empêcher la formation de contacts synaptiques fonctionnels directement avec les interneurones et/ou les motoneurones du côté caudal à la greffe.

De plus, la formation d'une cicatrice entre la greffe et la moelle épinière peut aussi empêcher la projection axonale (Reier, Bregman et al., 1986; Reier, Houle et al., 1988). En effet, il semble inadéquat de penser que les changements dans les propriétés neuromusculaires caudales à la lésion sont seulement causés par une intégration anatomique entre la moelle épinière adulte et le transplant. La régénérescence de la moelle épinière est en fait un relais nerveux entre la partie rostrale et caudale du transplant, ainsi qu'une réinnervation fonctionnelle des motoneurones; ces derniers étant responsables de l'activation des muscles locomoteurs (Das, 1989).

2.8 Hypothèses expérimentales et objectifs de recherche.

Les propriétés électrophysiologiques des motoneurones alpha appartenant au nerf tibial suite à un entraînement volontaire de 12 semaines. (étude 1)

L'objectif de cette étude est :

- i) De comparer les propriétés électrophysiologiques des motoneurones alpha contenus dans le nerf tibial entre les rats contrôles et les rats qui ont couru de façon volontaire dans des cages roues.

L'hypothèse de recherche est :

- i) Les motoneurones des rats entraînés auront des propriétés électriques différentes de celles des rats contrôles.

Les propriétés électrophysiologiques des motoneurones alpha appartenant au nerf tibial suite à un entraînement en endurance sur tapis roulant pendant une période de 16 semaines. (étude 2)

L'objectif de cette étude est :

- i) De comparer les propriétés électrophysiologiques des motoneurones alpha contenus dans le nerf tibial entre les rats contrôles et les rats qui ont subi un entraînement en endurance sur tapis roulant.

Les hypothèses de recherches sont :

- i) Les motoneurones des rats entraînés auront des propriétés électriques différentes de celles des rats contrôles.

- ii) Les changements seront plus importants pour ce type d'entraînement en comparaison avec l'entraînement volontaire, car l'intensité de l'exercice est plus élevée.

Les propriétés électrophysiologiques des motoneurones alpha appartenant au nerf tibial suivant une transection au niveau T10 et suivant deux traitements (exercice passif sur bicyclette ergométrique et greffe de tissu nerveux fœtal). (étude 3)

L'objectif de recherche est :

- i) De comparer les propriétés électrophysiologiques des motoneurones alpha contenus dans le nerf tibial entre quatre groupes : des rats transectés uniquement, des animaux transectés ayant fait un exercice passif sur bicyclette ergométrique, un groupe de rats transectés ayant reçu une greffe de tissu nerveux fœtal et un groupe contrôle non transecté.

Les hypothèses de recherche sont :

- i) Les propriétés électrophysiologiques des motoneurones des rats transectés seulement seront différentes de celles des rats contrôles.
- ii) Les propriétés électrophysiologiques des motoneurones appartenant aux animaux ayant fait de l'exercice passif ou ayant reçu une greffe de tissu nerveux fœtal ne sont pas différentes de celles des rats contrôles.

Chapitre 3. Matériels et Méthodes

3.1 Introduction : aperçu général des études

Ce chapitre est une description du protocole expérimental, des soins des animaux, des protocoles d'entraînement et des enregistrements intracellulaires. La section suivante est une description du protocole d'entraînement qui diffère selon chacune des études. Par la suite, étant donné que les trois études ont été faites avec la même technique d'enregistrement intracellulaire, une description commune de cette technique sera présentée. En résumé, le but de ces recherches est d'investiguer les changements électrophysiologiques des motoneurones alpha suite à une variation du niveau d'activité neuromusculaire.

3.2 Protocole d'entraînement

3.2.1 Entraînement volontaire dans les roues.

Lors de cette première étude, les expériences ont été faites avec des rats femelles Sprague-Dawley (150 grammes à leur arrivée au laboratoire), obtenues de Charles River (St-Constant, Québec, Canada). Les rats sont donc assignés soit à un groupe contrôle (n=28), ou à un groupe à exercice volontaire (n=18). Le groupe contrôle a été confiné dans des cages de plastique (21 cm x 25 cm x 47 cm), trois rats par cage, jusqu'à l'expérience terminale, 12 semaines plus tard. Les rats soumis à l'entraînement volontaire ont été placés dans une cage avec roue de métal (dimension 21 cm de largeur, 46 cm de diamètre, avec une surface de course d'acier inoxydable de 4 mm d'épaisseur illustrée à la figure 3.13 (Gisiger, Belisle et al., 1994), où le nombre de révolutions est comptabilisé à l'aide d'un ordinateur. Si l'on établit une moyenne de course sur 12

semaines, les 18 rats ont parcouru une distance de 13 km par jour. Or, durant les 2 premières semaines d'acclimatation à leur nouvel environnement, les animaux ont couru moins que 13 km en moyenne par jour. En considérant chacun des animaux séparément, les 18 animaux ont couru une distance moyenne entre 6.8 et 18.5 km par jour (voir table 3.1) Pour les deux groupes, la nourriture (Purina rat chow) et l'eau ont été disponibles à volonté et la température de l'environnement à été contrôlée, en plus d'un éclairage sur un cycle de 12 heures. Toutes les procédures ont été recommandées par le comité canadien de soins pour les animaux et approuvées par le comité d'éthique de l'Université de Montréal.

Table 3.1 Distance de course volontaire pour les 18 animaux utilisés durant les expériences terminales.

Course volontaire pour les 18 rats	Distance parcourue durant la dernière semaine (km)	Distance parcourue pour les 12 semaines (km)
1	16,5	12,9
2	11,4	10,6
3	10,1	10,7
4	10,6	10,7
5	18,5	14,9
6	16,9	11,6
7	10,4	14,9
8	17,4	16,2
9	11,65	8,12
10	6,8	6,5
11	18,4	14,9
12	17	11,5
13	11,5	8,1
14	12	15,5
15	12	14,1
16	15,6	15,2
17	12.0	10.3
18	15.2	14.3
Moyenne	13.6	12.3

3.2.2 Entraînement en endurance sur tapis roulant.

Pour cette deuxième étude, les expériences ont été faites avec des rats femelles Sprague-Dawley (150 grammes à leur arrivée au laboratoire), obtenues de Charles River (St-Constant, Québec, Canada). Les rats sont donc assignés soit à un groupe contrôle (n=13), ou à un groupe soumis à l'entraînement en endurance (n=9), illustré à la figure 3.14. Le groupe contrôle a été confiné dans des cages de plastique (21 cm x 25 cm x 47 cm), trois par cage, jusqu'à l'expérience terminale, 16 semaines plus tard (voir figure 3.15). L'entraînement en endurance s'est fait sur un tapis roulant assisté par un moteur électrique (Quinton instruments, Seattle, Washington, USA) illustré à la figure 3.14. Les séances d'entraînement avaient lieu le matin et le soir approximativement à la même heure. L'entraînement s'est fait de manière progressive pour se terminer à une vitesse de 30 m/min à 10° de pente et ce, pour un total de 1 heure de course le matin et 1 heure le soir en raison de 5 jours par semaine pendant 16 semaines. Les techniques utilisées pour encourager les rats à courir sont habituellement des petites bouffées d'air comprimé ou un signal sonore. Le groupe de départ était composé de 11 rats. Par contre, 2 de ces animaux n'étaient pas capables de terminer les séances d'entraînement. Ils ont donc été éliminés de l'étude, et c'est pour cette raison que le groupe final est composé de 9 rats.

De plus, ce projet inclus l'analyse de l'activité musculaire de l'enzyme mitochondriale cytochrome oxydase à l'aide des homogénats du muscle plantaire entre le groupe contrôle et entraîné. Tout de suite après l'expérience terminale, le muscle plantaire de la jambe droite pour chacun des animaux a été prélevé et déposé sur un bout de liège couvert avec un mélange d'OCT. Le tout est congelé dans une solution

d'isopentane refroidie à l'aide d'un bain d'azote liquide. Le muscle est par la suite conservé dans un congélateur à -80 degrés Celsius en attendant l'analyse ultérieure de l'activité enzymatique. Le jour de l'analyse enzymatique, le muscle plantaire de chacun des animaux a été homogénéisé à l'aide d'une éprouvette contenant 50 volumes d'un tampon de 0.1 M KH_2PO_4 - NaH_2PO_4 avec un pH de 7,4. L'homogénéisation des muscles s'est faite avec un Polytron, en utilisant une vitesse de 16 000 révolutions par minutes, à raison de 2 ou 3 séquences de 5 secondes. Les éprouvettes étaient entourées de glace pour prévenir l'excès de chaleur aux muscles. L'homogénat a été utilisé directement avec les enzymes en présence de cytochrome c sodique dithionite réduit (12.77 μM) et 0.1 M du tampon de potassium phosphate à pH 7,4. La réaction commence lors de l'ajout de l'homogénat ($0,4$ mg/ml) et le calcul de l'activité enzymatique maximale s'est fait en suivant la cinétique de la réaction comme décrit par Smith (Smith, 1955).

3.2.3 Projet sur la transection de la moelle épinière

Les rats Sprague-Dawley (250-300 grammes) ont été anesthésiés avec de la kétamine/xylazine (80/10 mg/kg, IP). Les vertèbres thoraciques au niveau de T9 à T11 ont été isolées et une laminectomie a été faite pour exposer la moelle épinière au niveau de T10. La dure-mère a été enlevée et une cavité de 1 mm de largeur a été faite par aspiration de la moelle épinière à l'aide d'une petite pipette en verre. De la mousse en gel, aidant à la coagulation du sang, a été placée dans la cavité pour promouvoir l'hémostase. Cette mousse a été enlevée juste avant la suture de la dure-mère, qui elle a été faite avec un fil de soie 10-0. Les muscles postérieurs à la colonne vertébrale et la peau ont été brochés. Suite à cette opération, les animaux sont placés sur une couverture

chauffante jusqu'à ce qu'ils se remettent de l'anesthésie. Tous les animaux ont reçu de la pénicilline-procaine G (5000 Unités par jour pour 3 jours), de la saline contenant du dextrose (3 ml IP pour 3 jours) et de la buprénorphine en tant qu'analgésique. La vessie est vidée manuellement, 3 fois par jour pendant 2 semaines, jusqu'à ce que les animaux retrouvent le réflexe normal d'uriner.

Les animaux dans le groupe transecté uniquement (Tx, n=19 rats) n'ont pas reçu d'autres manipulations. Le deuxième groupe a subi également une transection au niveau T10, mais ces animaux ont reçu une greffe de tissu fœtal provenant de la moelle épinière des fœtus issus des rats femelles ayant complété 14 semaines de gestation (TxTp, n= 13 animaux). Le transplant est dissocié dans une solution saline balancée de Hank's en permettant au liquide de passer au travers de plusieurs grandeurs de seringue. Par la suite, la dure-mère est suturée partiellement et le mélange, qui est un composé épais, est déposé à l'endroit de la lésion à l'aide d'une petite pipette. La dure-mère est ensuite complètement suturée. Concernant le troisième groupe, les animaux sont soumis à un entraînement sur bicyclette ergométrique (TxEx, n = 10 rats) 5 jours suivant la transection, à raison d'une période d'exercice d'une heure par jour 5 jours par semaine pendant 4 semaines. La vitesse de révolution du pédalier de la bicyclette, qui est assisté par un moteur électrique, est de 45 révolutions par minute. Afin d'illustrer le protocole d'entraînement, une photographie montrant l'entraînement sur la bicyclette ergométrique est présentée à la figure 3.16. Mentionnons également que ces manipulations (transection au niveau T10, greffe de tissu nerveux foetal ou exercice passif) ont déjà été utilisées lors d'études antérieures (Dupont-Versteegden, Murphy et al., 2000; Houle, Morris et al., 1999; Prewitt, Niesman et al., 1997; Ye et Houle, 1997) En fait, tous ces animaux étaient gardés dans le laboratoire du Dr Houle en Arkansas et nous ont été

envoyés par avion quelques jours avant la date prévue de l'expérience terminale dans notre laboratoire. Nous possédons également à Montréal une bicyclette ergométrique pour pouvoir continuer l'entraînement passif jusqu'à la veille de l'expérience terminale pour le groupe TxEx. Les animaux sont gardés dans des cages de plastique (3 par cages) illustrées à la figure 3.15 dans l'animalerie. Un animalier s'occupe de leur donner la nourriture, l'eau et les soins appropriés durant leur séjour à l'Université de Montréal. Le dernier groupe, étant le groupe contrôle (contrôle, n=13 rats), n'a pas subi de transection de la moelle épinière.

3.3 Matériels et méthodes qui sont communs pour toutes les études

3.3.1 Préparation pour les enregistrements intracellulaires

Les procédures utilisées dans ce laboratoire ont été décrites dans de nombreux articles (Cormery, Marini et al., 2000; Gardiner, 1993; Gardiner et Seburn, 1997). Le matin de l'expérimentation terminale, le rat est anesthésié avec une injection intra-péritonéale de kétamine/xylazine (80/10 mg kg⁻¹). Un cathéter dans la veine jugulaire est mis en place pour permettre à un mélange de kétamine/xylazine (8/1 mg kg⁻¹) de maintenir l'anesthésie et à un polymère neutre de glucose de 70 kD de conserver le volume plasmatique (Ficoll 70, Amersham Pharmacia, Uppsala, Sweden, 40 mg h⁻¹). Ce mélange est dilué dans une solution saline physiologique pour ensuite être infusé de manière continue tout au long de l'expérience terminale. Le but d'injecter le Ficoll 70 est d'augmenter le volume sanguin, permettant de maintenir une pression artérielle adéquate tout au long de l'expérience terminale. Une injection intra-péritonéale de 2 ml

de saline contenant 0.05 mg kg^{-1} d'atropine et 100 mg de dextrose a été administrée tout de suite après l'anesthésie initiale. L'atropine est un bloqueur cholinergique qui a comme conséquence de diminuer la production de mucus par les voies respiratoires, empêchant de bloquer l'air au niveau du tube trachéal. Par la suite, un tube trachéal a été installé et l'animal a été ventilé avec un mélange d'air ambiant et d'oxygène pur (2 respirations par seconde, environ 2 ml de volume courant). Le triceps sura de la patte gauche a été exposé et seulement l'innervation de ces muscles est conservée. Les autres nerfs innervant les autres muscles de la patte sont coupés. Le tendon du triceps sura a été séparé du pied et attaché à un fil de soie pour éventuellement être attaché à une jauge de contrainte. Le nerf sciatique a été délicatement exposé et dégagé. Par la suite, les nerfs péronéal et sural ont été dégagés et coupés pour exposer seulement le nerf tibial. Par la suite, une incision au-dessus de la colonne vertébrale a été faite et les muscles du dos ont été enlevés pour permettre l'accès aux vertèbres de T11 à S2.

Le rat a été transféré dans un système stéréotaxique qui nous permet de stabiliser la tête, les vertèbres de la partie thoracique à lombaire, les hanches, le genou gauche et le pied gauche avec l'animal étendu sur le ventre. Une laminectomie a été faite pour exposer la moelle épinière de la partie thoracique et lombaire. Un bain d'huile minérale a été construit en utilisant les coins de la peau du dos. La dure-mère a été enlevée et les plus larges racines dorsales ont été coupées et déposées sur le côté droit de la moelle pour avoir accès aux motoneurons du côté gauche. Les coins de la peau de la patte ont été utilisés également pour faire un bain d'huile minérale autour des muscles et du nerf sciatique. La ligature de soie autour des tendons des muscles du triceps sura est attachée à une jauge de contrainte (Ft-03) et une électrode bipolaire en argent est placée sur le nerf tibial. Ensuite, à l'aide d'un stimulateur S88, le voltage de stimulation ainsi que sa

durée sont déterminés. La figure 3.17 est une photographie de l'animal durant l'expérience terminale. La température du corps est maintenue à 37 degrés Celsius à l'aide d'une couverture chauffante en contact avec le ventre de l'animal. Le bain pour le muscle est maintenu également à 37 degrés Celsius à l'aide d'une pompe péristaltique permettant la recirculation de l'huile minérale. Le volume respiratoire est ajusté pour maintenir un pourcentage de CO₂ expiré de 3 à 4 %, (voir figure 3.18).

3.3.2 Enregistrement des motoneurones

L'enregistrement intracellulaire a été fait avec une micro-électrode en verre (diamètre extérieur de 1 mm) avec une pointe au bout de l'électrode d'environ 1 µm (voir figure 3.20). Les électrodes sont faites avec un appareil servant à chauffer le centre d'un capillaire en verre afin de le faire fondre. Par la suite, l'appareil tire sur un des bouts du capillaire pour produire deux électrodes identiques. L'appareil de marque Koph est illustré à la droite de la figure 3.21. Par la suite, les électrodes sont remplies avec une solution de potassium citrate 2 M et leur résistance est vérifiée pour qu'elle soit inférieure à 20 MOhms. Si la résistance est supérieure à 20 MOhms, il est possible d'utiliser un appareil qui affûte les électrodes, illustrée à la gauche de la figure 3.21. Cette manipulation permet de rendre plus pointues les électrodes, facilitant la pénétration dans le corps cellulaire des motoneurones et du même coup, ceci permet de diminuer leur résistance en augmentant la taille du trou au bout de l'électrode. Lors de l'expérience terminale, les motoneurones du nerf tibial ont été identifiés à l'aide d'un signal antidromique, induit en stimulant le nerf tibial au niveau du genou à l'aide d'une électrode bipolaire à toutes les 2 secondes. La pénétration d'un motoneurone alpha appartenant au nerf tibial est évidente lorsque le potentiel membranaire passe de zéro et

devient plus négatif que -50mV . De plus, le délai entre la stimulation du nerf tibial par l'électrode bipolaire et la récupération du signal antidromique au niveau du corps cellulaire ne doit pas dépasser une période de 3 ms. La représentation du système qui permet d'enregistrer les paramètres intracellulaires est illustrée à la figure 3.19. Le critère final avant le début des enregistrements intracellulaires consiste à avoir une amplitude du potentiel d'action antidromique plus élevée que la valeur absolue du potentiel membranaire de repos, ce qui signifie que le potentiel d'action s'élève à une valeur au-dessus de 0 mV "positive overshoot". Ensuite, les propriétés de base de la cellule sont investiguées et les figures suivantes décrivent chacun de ces paramètres électrophysiologiques avec un exemple visuel pour chacun.

Figure 3.1 Un potentiel d'action antidromique précédé par une calibration de 50 mV durant 1 ms. La latence est la durée en ms entre la stimulation du nerf sciatique par l'électrode bipolaire, visualisée par une petite déflexion positive en voltage, et le début du potentiel d'action antidromique.

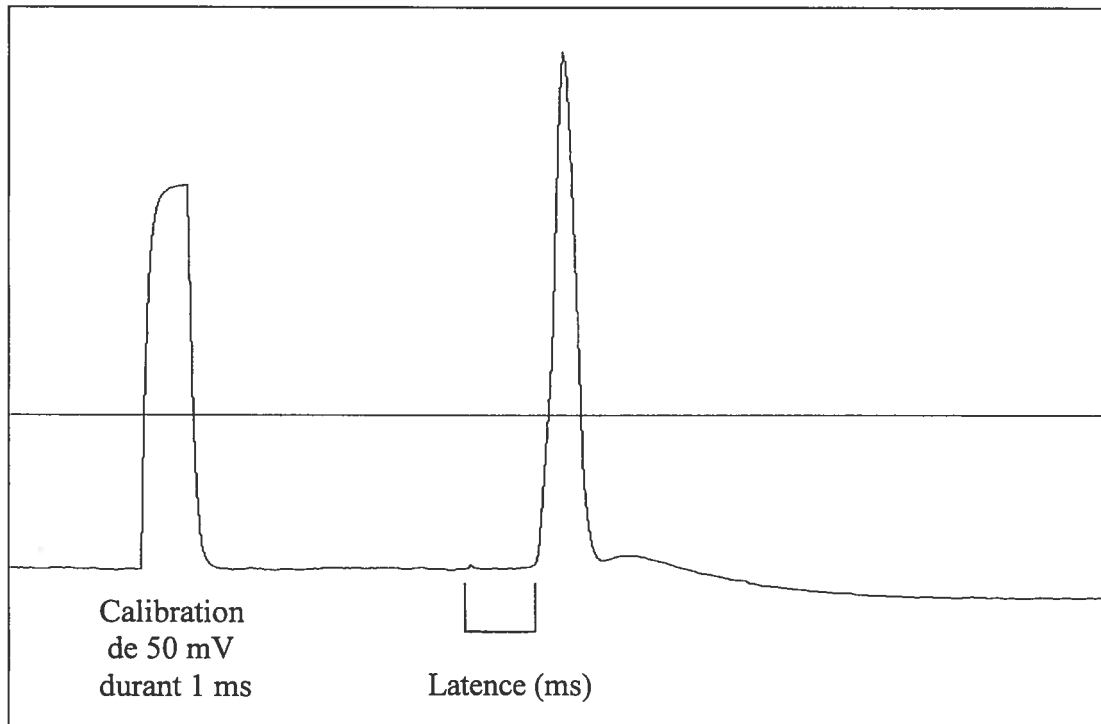


Figure 3.2 Représentation d'un potentiel d'action induit par un courant rhéobasique, précédé par une calibration de 50 mV durant 1 ms. Un potentiel d'action rhéobasique est défini comme l'amplitude d'un potentiel d'action induit par un courant dépolarisant ayant la plus faible amplitude possible, afin que le potentiel d'action survienne une fois sur deux.

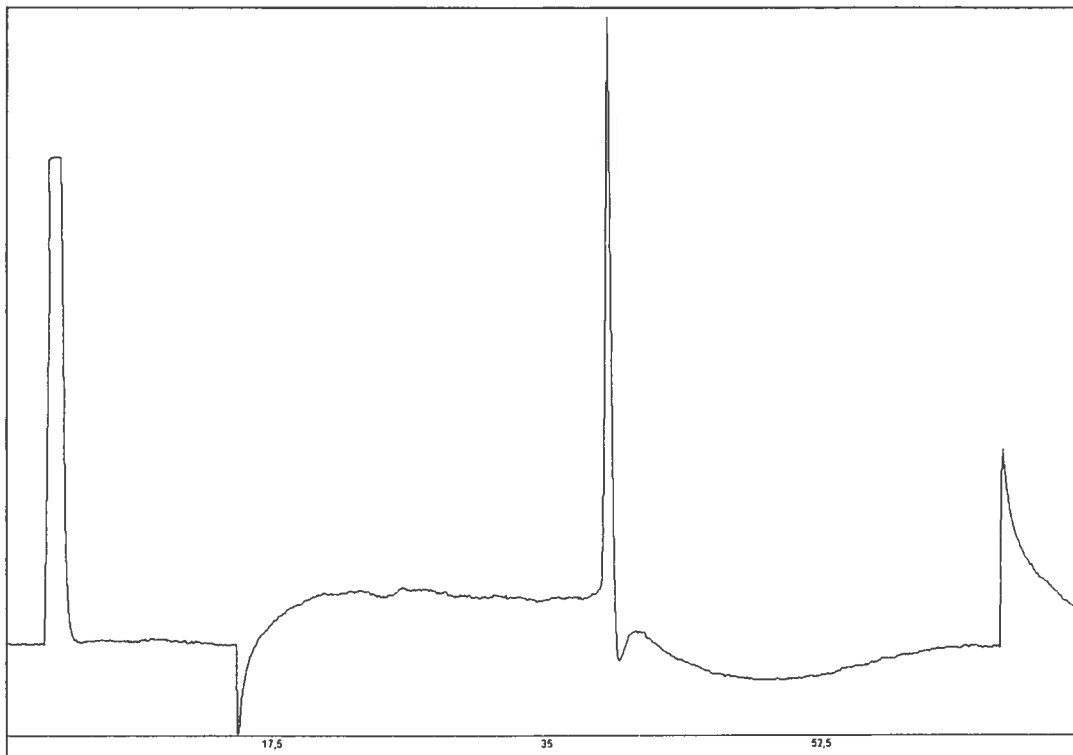


Figure 3.3 Représentation d'un potentiel d'action résultant d'un courant dépolarisant supra-maximal d'une durée de (0.1 à 0.8 ms) précédé par une calibration de 50 mV durant 1 ms. Le fait d'injecter un courant de faible durée permet d'éviter les variations en voltage induites par les changements dans la résistance de l'électrode lors du passage du courant, nous permettant de mesurer l'amplitude du potentiel d'action à partir de son potentiel membranaire de repos.

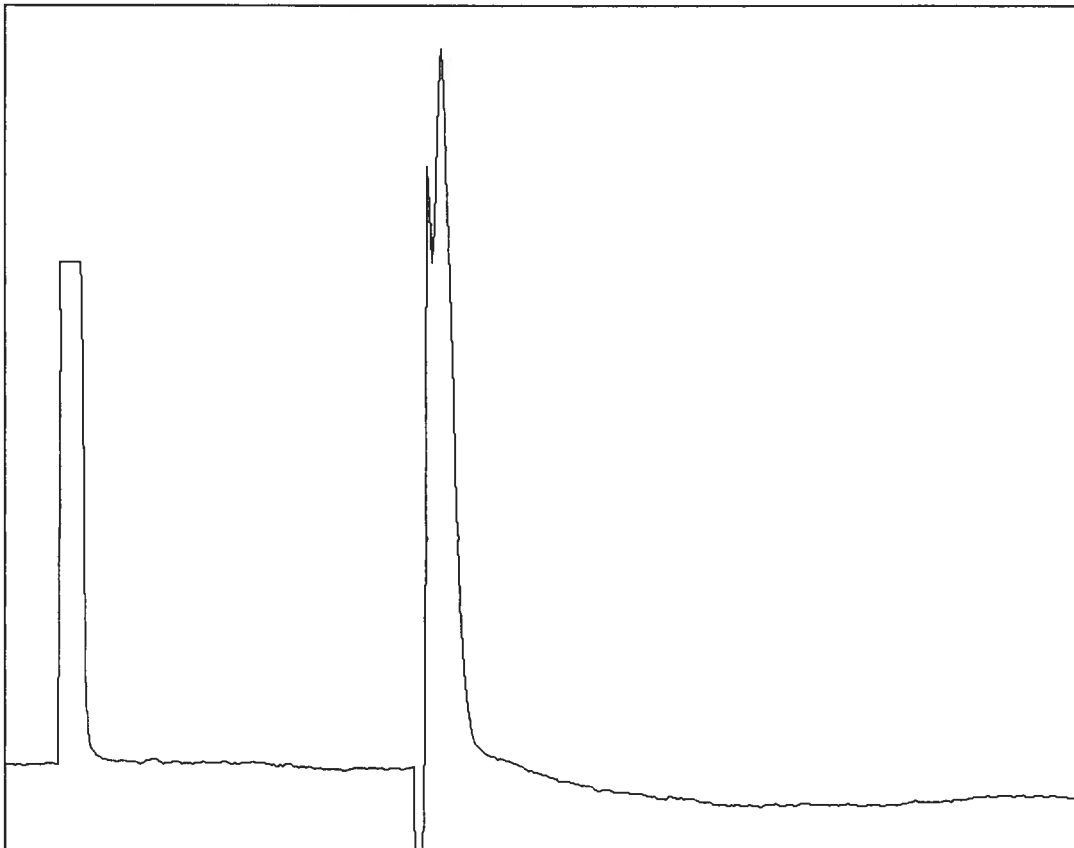


Figure 3.4 Illustration de la méthode pour calculer le voltage seuil. Une calibration de 50 mV est suivie d'un potentiel d'action induit par un courant rhéobasique (voir figure 3.2) et le deuxième potentiel d'action est induit par un courant supra-maximal (voir figure 3.3). La différence de voltage entre les deux est le seuil calculé.

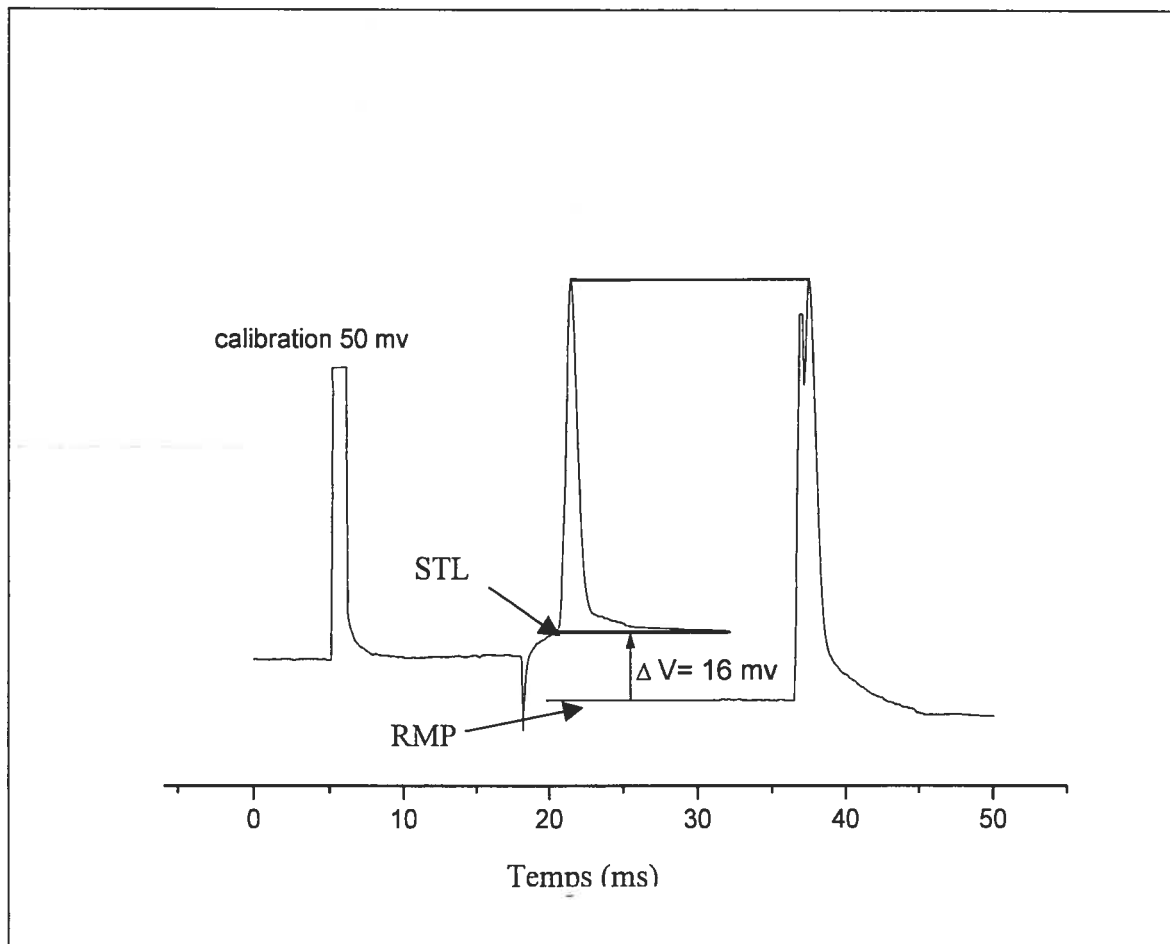


Figure 3.5 Représentation de la moyenne de 40 après hyperpolarisations (AHP) suivant un potentiel d'action orthodromique produit par un courant supra-maximal de 1 ms précédé par une calibration de 1 mV d'une durée de 10 ms.

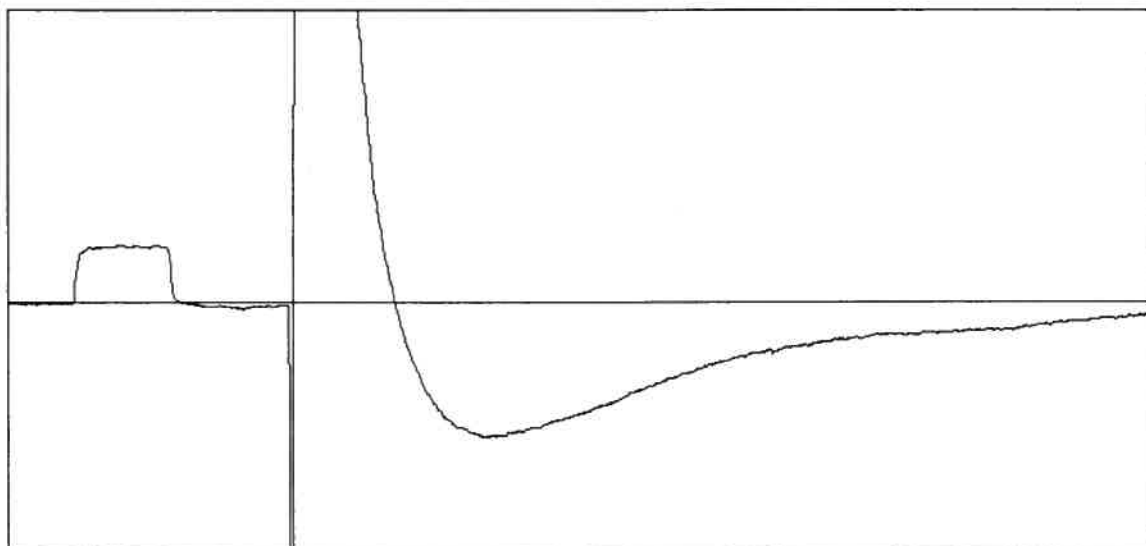


Figure 3.6 Représentation d'un potentiel d'action antidromique durant une injection soutenue d'un courant dépolarisant de 1 nA pendant une période de 150 ms (pour déterminer la résistance d'entrée utilisant la méthode de (Frank et Fuortes, 1956))

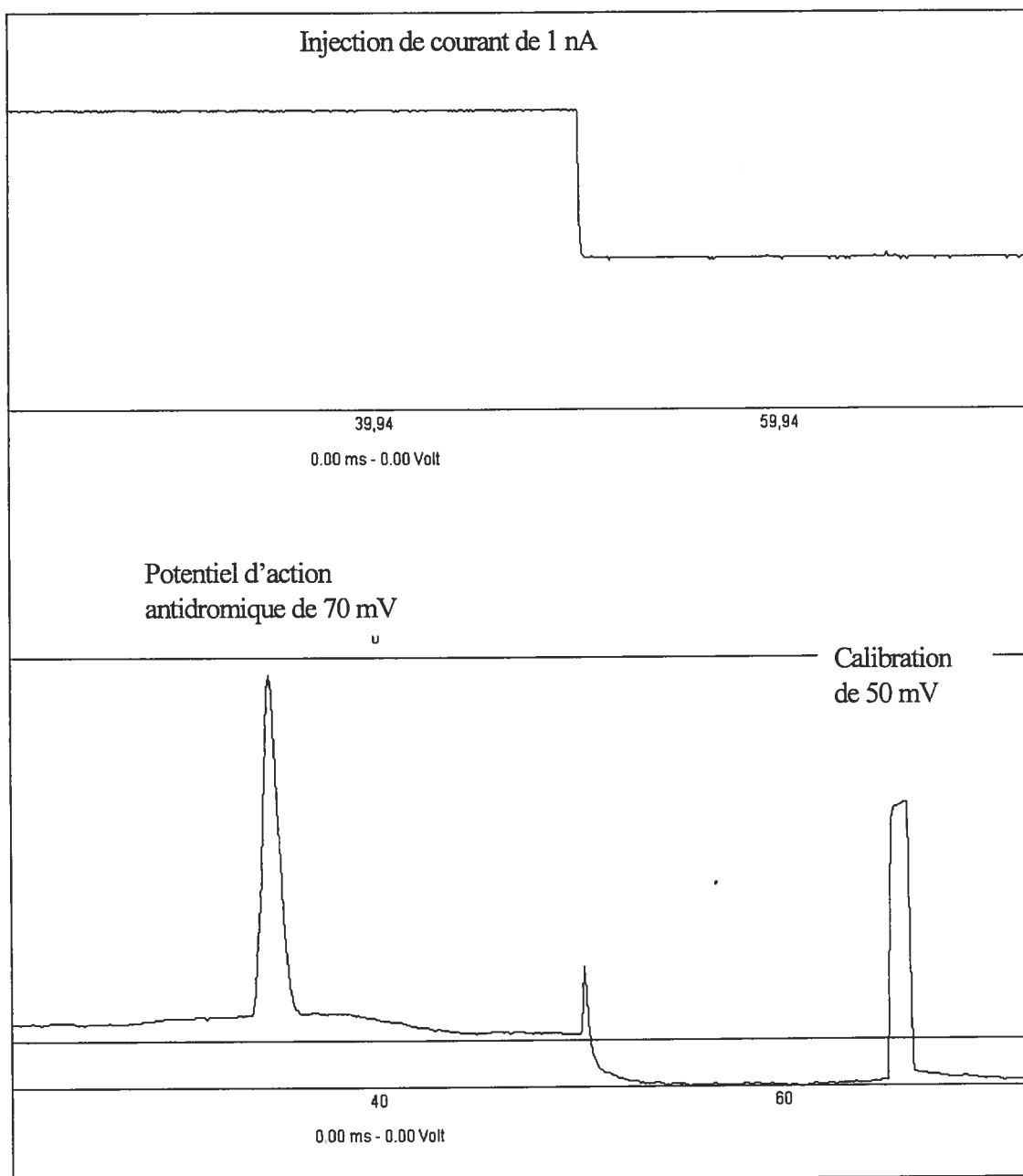


Figure 3.7 Représentation d'un potentiel d'action antidromique sans l'injection de courant dans le corps cellulaire. La différence en voltage du potentiel d'action antidromique entre la figure 3.6 et 3.7 est la valeur exacte de la résistance d'entrée selon la loi de Ohm. ($V = I \times IR$) (Frank et Fuortes, 1956)

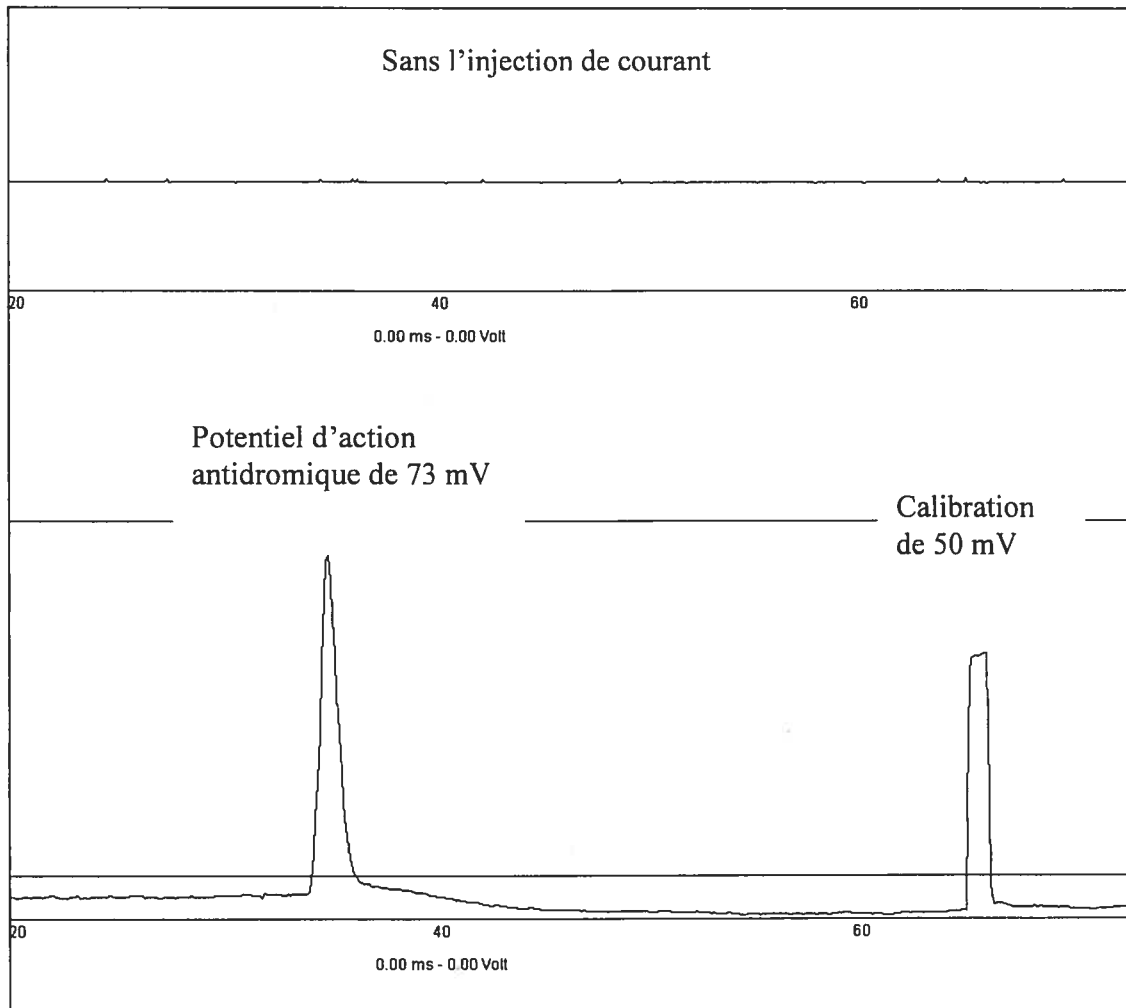


Figure 3.8 Une moyenne de 100 variations en voltage suite à une injection de courant de -1 nA pendant 150 ms précédée par une calibration de 1 mV durant 10 ms.

L'épluchement de la courbe suite à l'arrêt de l'injection de courant nous donne la constante de temps membranaire (τ_m) (Ito et Oshima, 1965; Zengel, Reid et al., 1985). (L) a été calculé avec la formule de Rall (1969) $L = \pi / \sqrt{(\tau_m / \tau_1 - 1)}$. La capacitance membranaire (C_{cell}) a été calculée avec $C_{\text{cell}} = (\tau_m * L) / (R_N * \tanh(L))$ et sert à estimer la surface membranaire du motoneurone.

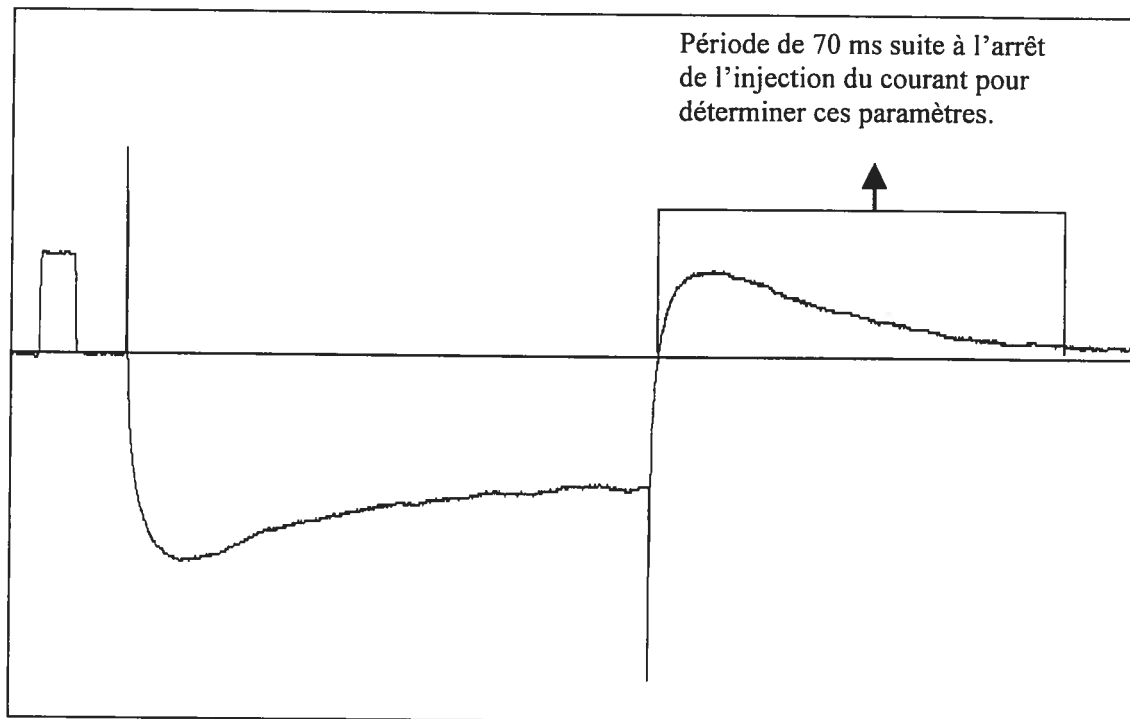


Figure 3.9 Exemple de l'épluchement d'une courbe afin de déterminer la constante de temps membranaire, L et la capacitance d'un motoneurone.

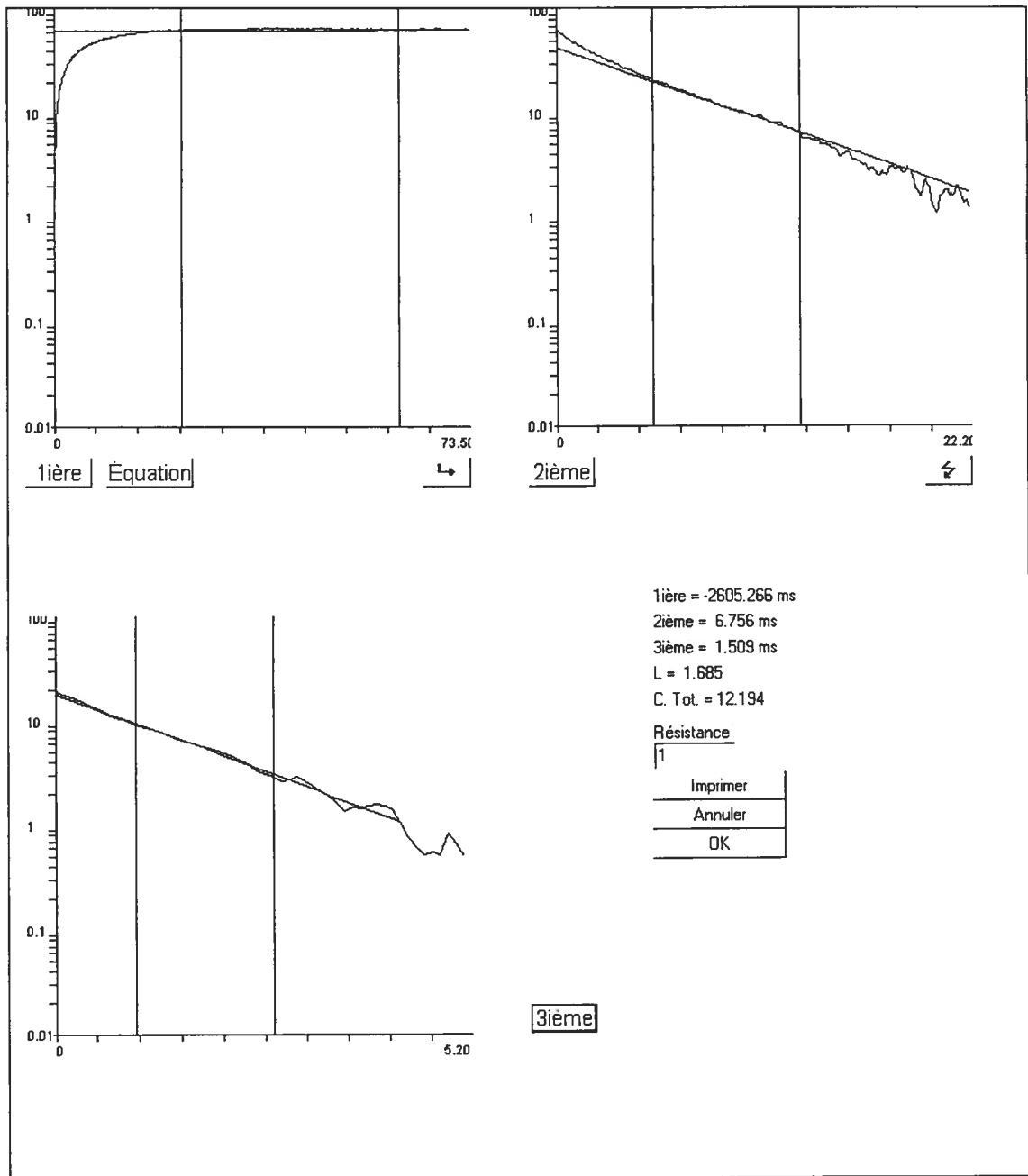
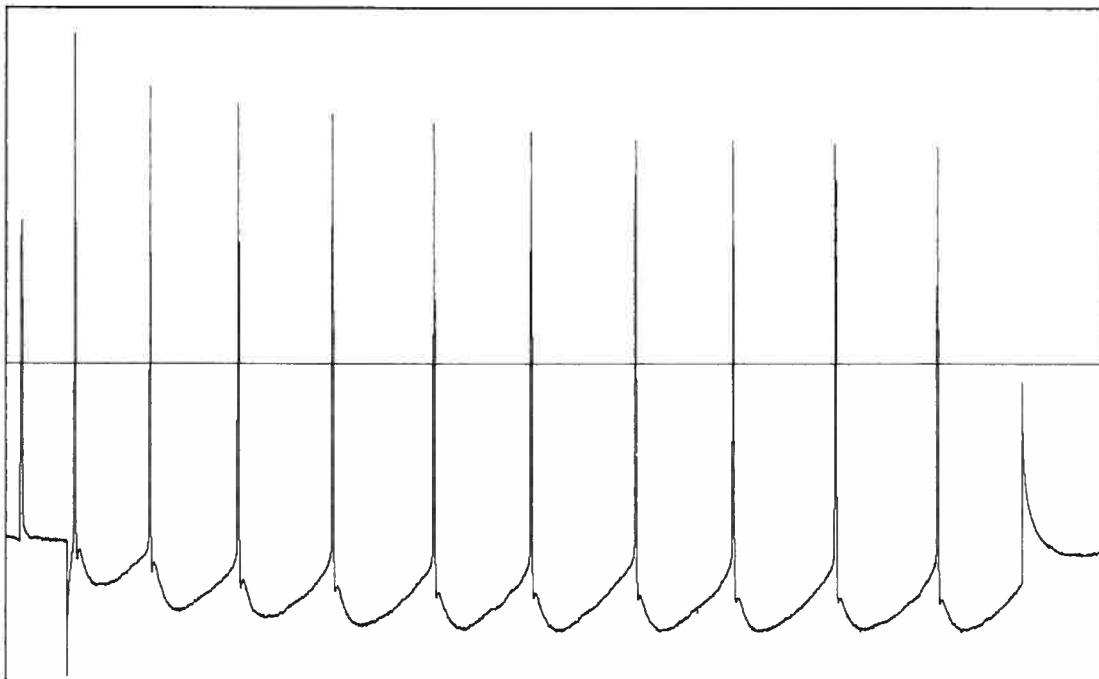
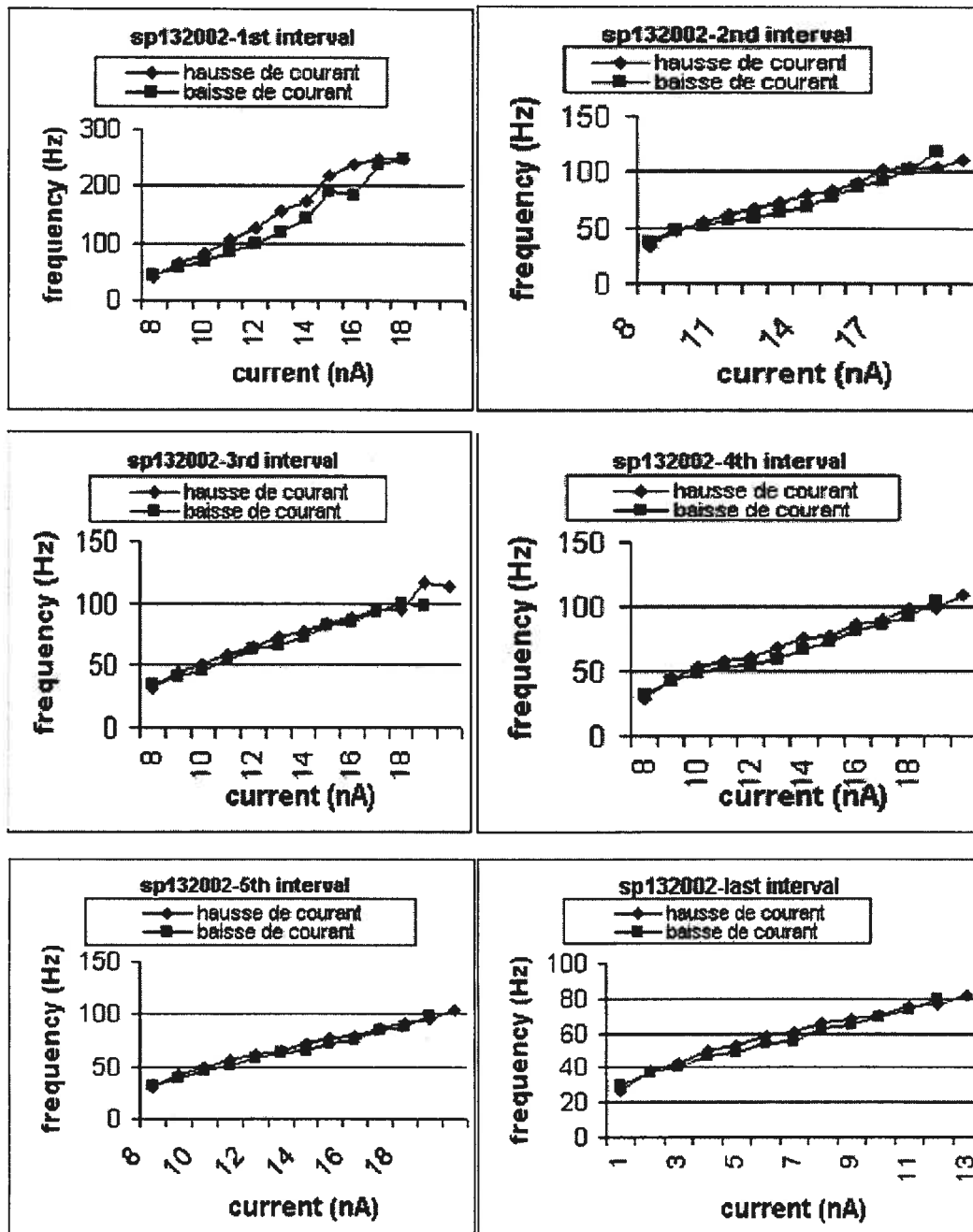


Figure 3.10 Fréquence de décharge pour les cinq premiers intervalles et le dernier intervalle à l'intérieur d'une période d'injection de courant de 500 ms précédé d'une calibration de 50 mV d'une durée de 1 ms. Les pentes qui permettent d'interpréter la relation fréquence-courant (F-I) pour ces six intervalles ont été calculées par la suite.



Pour visualiser un peu mieux les calculs faits concernant la relation courant-fréquence, l'exemple qui suit montre un motoneurone du groupe contrôle et sert à illustrer graphiquement le résultat final de la relation entre le courant et la fréquence de décharge. Ceci nous permet d'évaluer la pente des droites. Dans cet exemple, le motoneurone commence à décharger en fréquence à partir de 8 nA jusqu'à 20 nA. La hausse de courant est représentée par les losanges noirs. Cet exercice consiste à injecter un courant dépolarisant de 8 nA pendant 500 ms, suivi d'une injection de courant de 9 nA pendant 500 ms, jusqu'à 20 nA. Ensuite, la baisse de courant représente une amplitude de courant injecté de 20 nA jusqu'à 8 nA. Les enregistrements de la hausse et de la baisse de courant nous permettent de vérifier si l'intégrité du motoneurone est conservée. La relation entre le courant et la fréquence est établie en déterminant l'écart en (ms) entre chacun des potentiels d'actions lors d'un train de potentiels d'action comme illustré à la figure 3.10. Donc, pour chaque valeur de courant injecté, les cinq premiers intervalles en plus du dernier sont calculés. En fait, dans une situation normale qui représente une pénétration intra-cellulaire stable (sans variation du potentiel membranaire de repos), les deux lignes devraient être pratiquement superposées comme dans l'exemple de la figure 3.11.

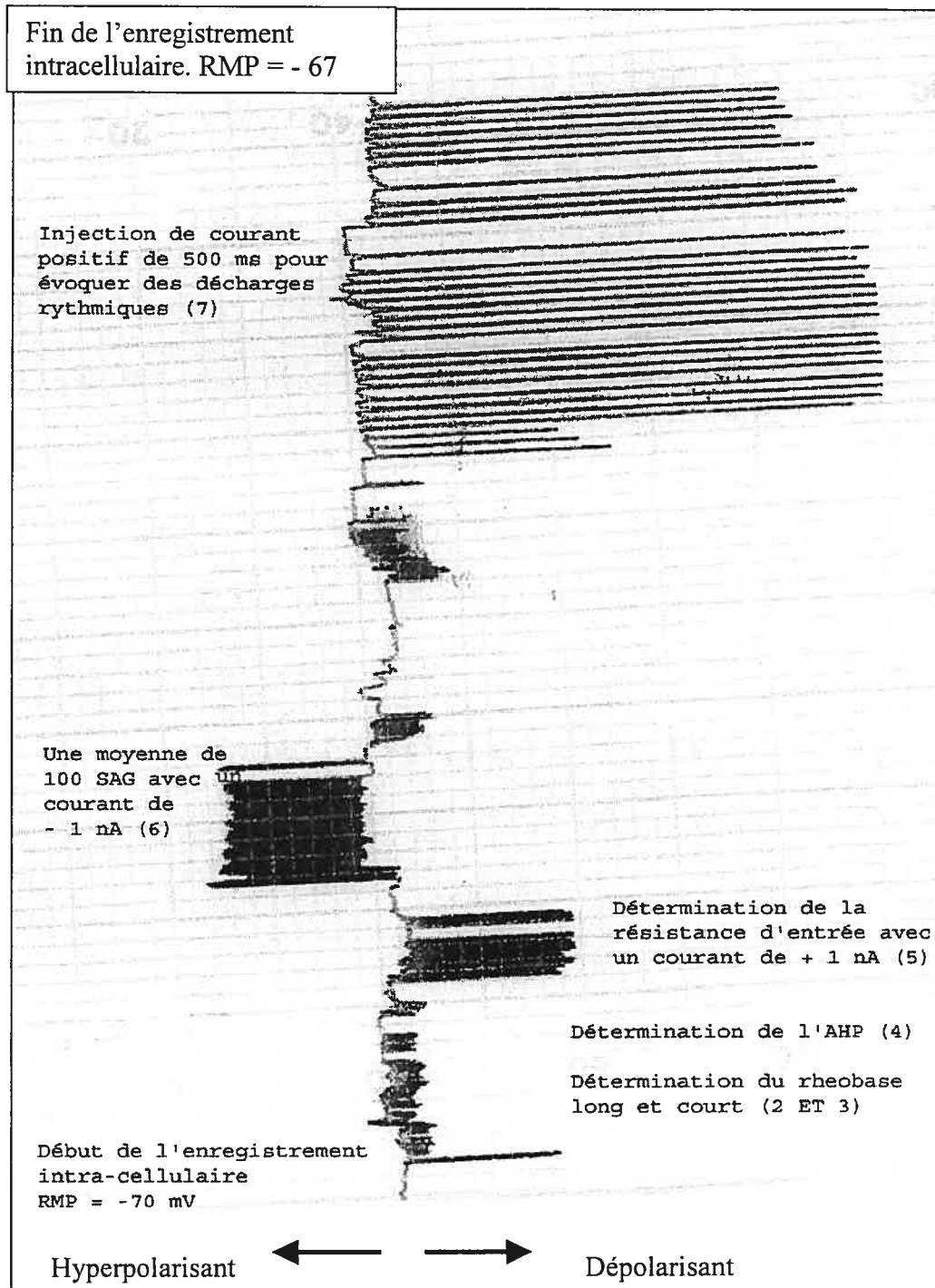
Figure 3.11 Exemple illustrant les valeurs de fréquence calculées en fonction de l'intensité de courant injecté par la micro-électrode. L'absence d'hystérésis entre les courants ascendants et descendants montre une bonne qualité de pénétration intracellulaire durant l'enregistrement.



Il est important de mentionner ici que le paramètre concernant les fréquences de décharge a été fait pour chacun des groupes, mais étant donné que peu de cellules ont été enregistrées pour les groupes appartenant à l'entraînement volontaire (étude 1) et l'entraînement en endurance (étude 2), les résultats ne seront pas présentés dans cette thèse. Le fait de posséder peu de cellules dans ces deux groupes ne nous permet pas de procéder à des analyses statistiques adéquates. La fréquence de décharge est seulement comparée pour les groupes de la troisième étude, soit les animaux transectés uniquement (Tx), ceux ayant reçu une greffe de tissu fœtal pendant 4 semaines (TxTp), ceux ayant procédé à un entraînement passif sur bicyclette ergométrique (TxEx), ainsi que les rats contrôles.

Par la suite, après l'enregistrement de chacun des paramètres, les données sont gardées en mémoire dans un ordinateur utilisant une plate forme Windows et un logiciel maison. Durant l'enregistrement de chacun des motoneurones, le potentiel membranaire de repos est enregistré continuellement à l'aide d'un enregistreur de courant continu (DC) (voir figure 3.12) et les potentiels membranaires sont indiqués dans un cahier de laboratoire après l'enregistrement de chacune des propriétés. A la fin de l'enregistrement de chaque motoneurone, l'électrode est reculée avec des étapes de 5 μm pour pouvoir sortir de la cellule et vérifier avec exactitude le voltage à l'extérieur de la cellule. La différence entre le voltage intracellulaire enregistré lors de la détermination du courant rhéobasique et le voltage extra-cellulaire est considérée ici comme le potentiel membranaire de repos (RMP).

Figure 3.12 Le schéma suivant représente la variation du potentiel membranaire au cours d'un enregistrement intracellulaire complet. En ce qui concerne l'axe longitudinal, chaque petit carré représente une période de 20 secondes, pour un total d'environ 20 minutes pour la totalité de l'enregistrement.



Par la suite, nous retirons l'électrode de la moelle épinière à l'aide du micro-manipulateur et l'électrode est repositionnée à un autre endroit dans la moelle afin d'empaler d'autres motoneurones. Cet exercice se continue pendant 6 à 8 heures suivant la pénétration de la première électrode dans la moelle épinière. De plus, lors de la période d'enregistrement intracellulaire, si la génération d'un potentiel d'action produit également une secousse musculaire de l'unité motrice correspondante au triceps sura, plusieurs propriétés des fibres musculaires correspondant à cette unité motrice ont alors été enregistrées. Or, étant donné que peu d'enregistrements de ce type ont été faits, les résultats ne sont pas présentés ici. A la fin de l'expérience terminale, le rat est tué à l'aide d'une surdose d'anesthésiant dans la veine jugulaire. L'animal est ensuite emballé dans un papier étanche pour ensuite être conservé dans un congélateur à -20 degrés Celsius pour pouvoir être incinéré ultérieurement.

3.3.3 Propriétés des motoneurones

Les propriétés suivantes ont été déterminées : (1) la hauteur du pic antidromique (en mV) (figure 3.1); (2) la latence du potentiel d'action, qui est le temps nécessaire entre la stimulation du nerf sciatique avec l'électrode bipolaire et le début du potentiel d'action antidromique dans le corps cellulaire (figure 3.1); (3) le seuil du déclenchement du potentiel d'action (en mV), qui est déterminé en soustrayant la hauteur du pic durant la détermination du courant rhéobasique de celui évoqué par un courant bref et supra-maximal et en ajoutant cette valeur au potentiel membranaire de repos (RMP) (figures 3.2, 3.3 et 3.4); (4) l'amplitude de l'AHP (en mV) et le demi-temps de relaxation (en ms) (figure 3.5); (5) la résistance d'entrée de la cellule par la méthode de Frank et Fuortes (1956) (figures 3.6 et 3.7); (6) la constante de temps

membranaire, induite par une injection de courant hyperpolarisant de 150 ms de 1 nA, en utilisant la méthode d'épluchement de la courbe (Ito et Oshima, 1965; Zengel, Reid et al., 1985) (figures 3.8 et 3.9); (7) la fréquence de décharge pour les cinq premiers intervalles et le dernier intervalle à l'intérieur d'une période d'injection de courant de 500 ms. Les pentes qui permettent le calcul de la relation courant-fréquence (F-I) pour ces six intervalles ont été calculées dans la troisième étude seulement (figure 3.10 et 3.11). Par la suite, une analyse statistique incluant les 4 groupes (contrôle, Tx, TxEx et TxTp) a été faite en utilisant un MANCOVA avec une analyse post-hoc de Tukey. Le but était de déterminer s'il y avait des différences significatives pour les 5 premiers intervalles et le dernier intervalle d'une injection de courant de 500 ms entre les groupes.

Figure 3.13 Entraînement volontaire dans les roues pendant 12 semaines.

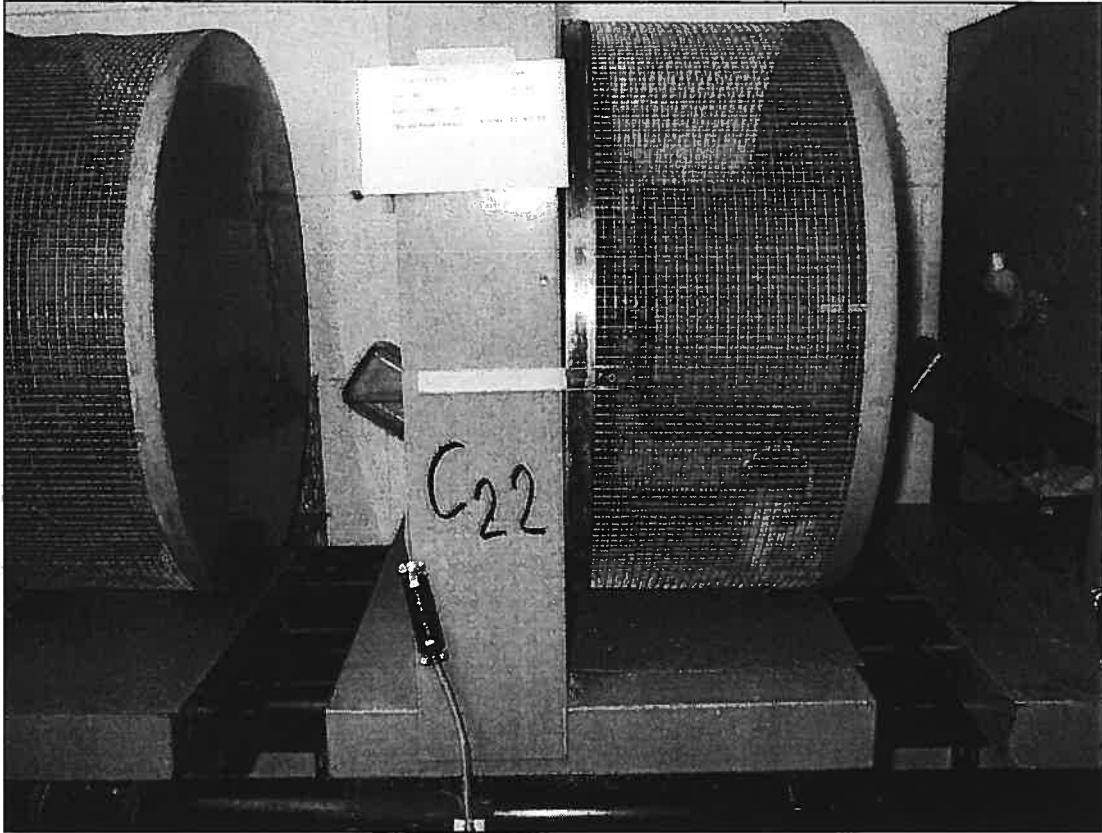


Figure 3.14 Entraînement en endurance sur tapis roulant à 30 mètres par minute avec 10 degrés de pente.

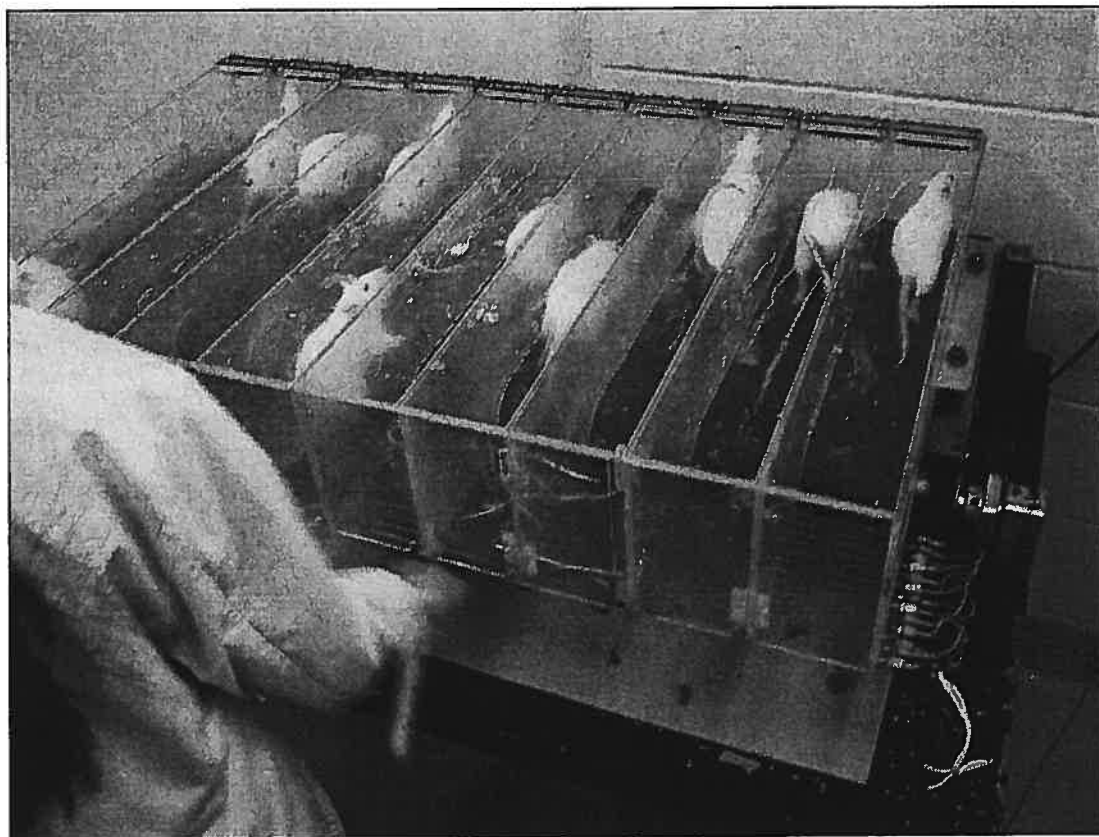


Figure 3.15 Rats dans les cages de plastique



Figure 3.16 Entraînement passif sur bicyclette ergométrique avec 45 révolutions du pédalier par minute, une heure par jour, 5 jours par semaine.

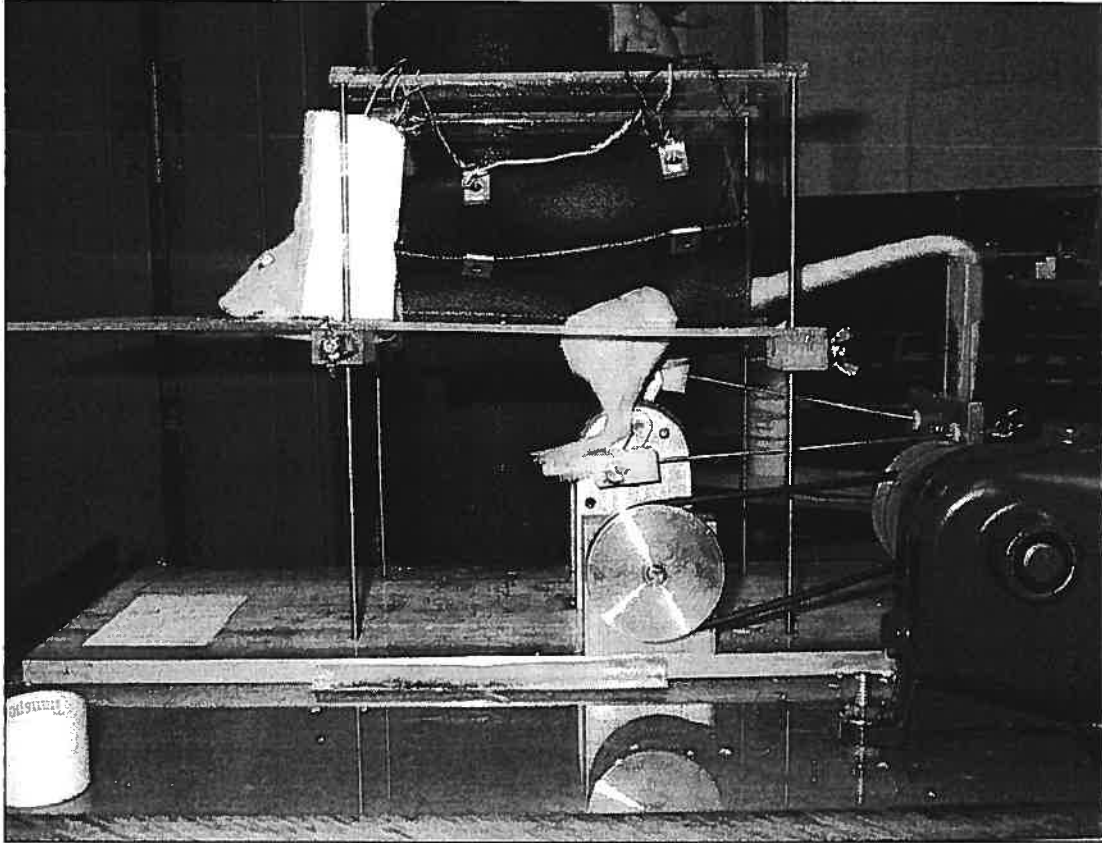


Figure 3.17 Expérience terminale pour tous les animaux.

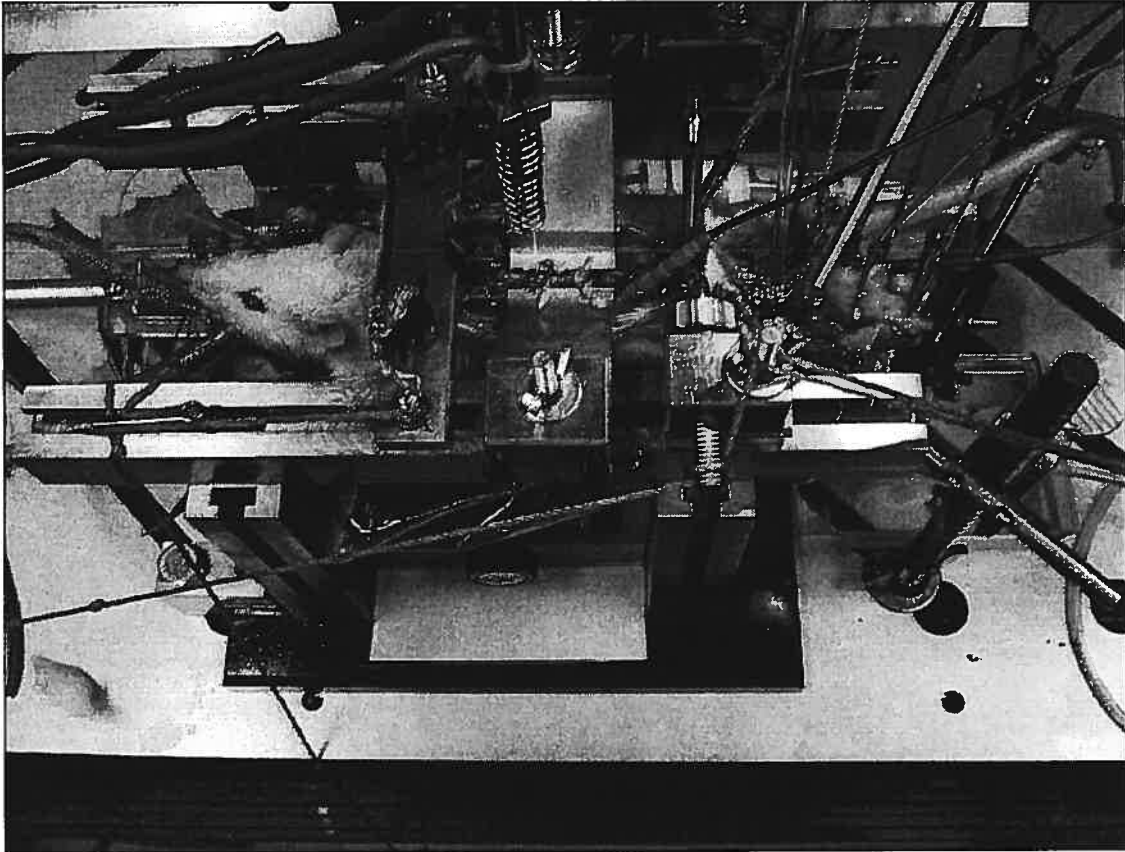


Figure 3.18 Système complet nécessaire pour maintenir l'homéostasie de l'animal et pour procéder à l'expérience terminale.

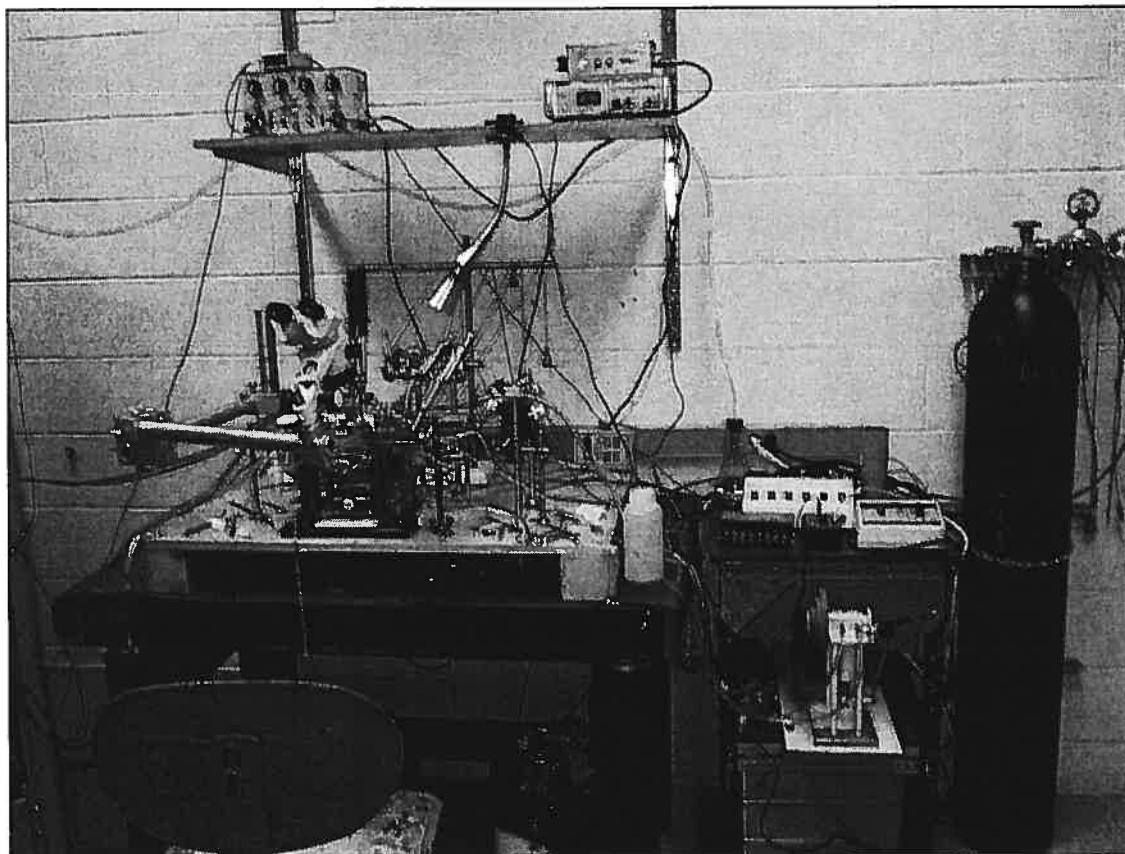


Figure 3.19 Système "Neurolog" en plus d'un oscilloscope, d'un ordinateur et d'un micro-manipulateur pour pouvoir procéder aux enregistrements des données électrophysiologiques lors des expériences terminales.

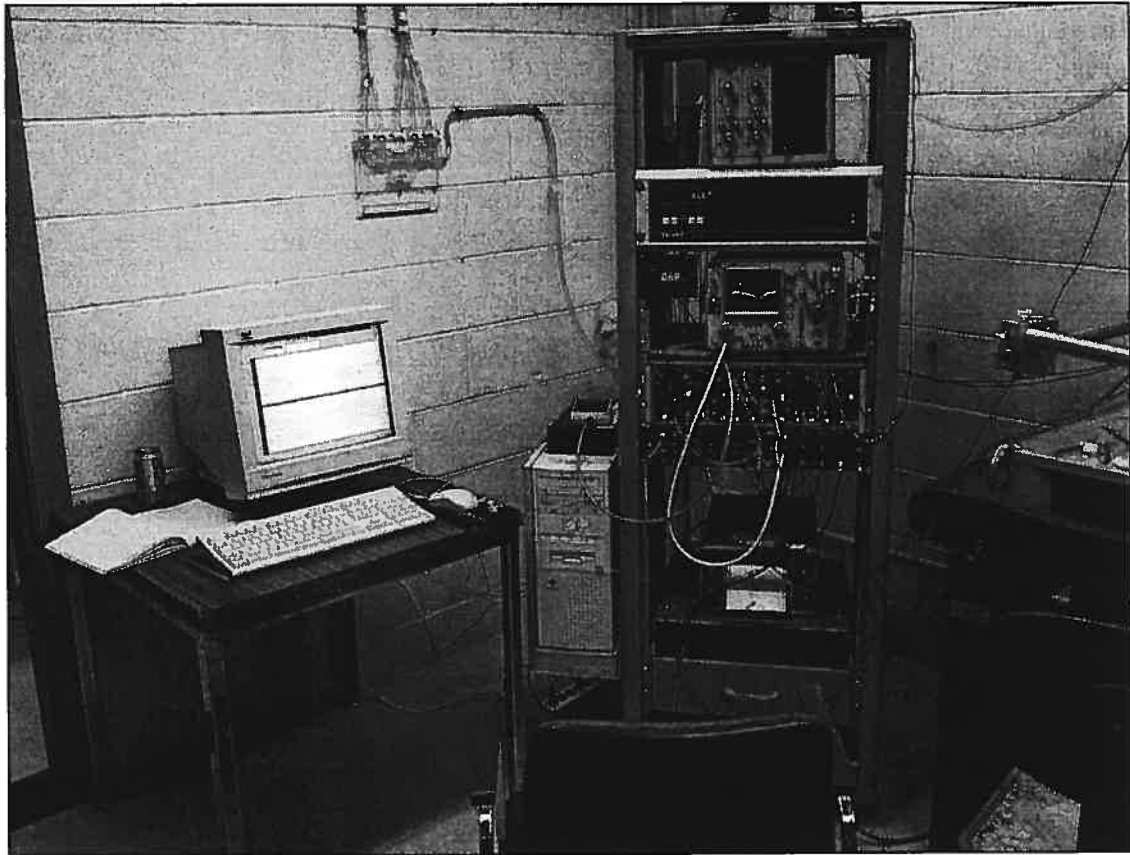


Figure 3.20 Voici différentes formes de micro-électrodes en verre permettant de procéder à l'empalement des motoneurones.

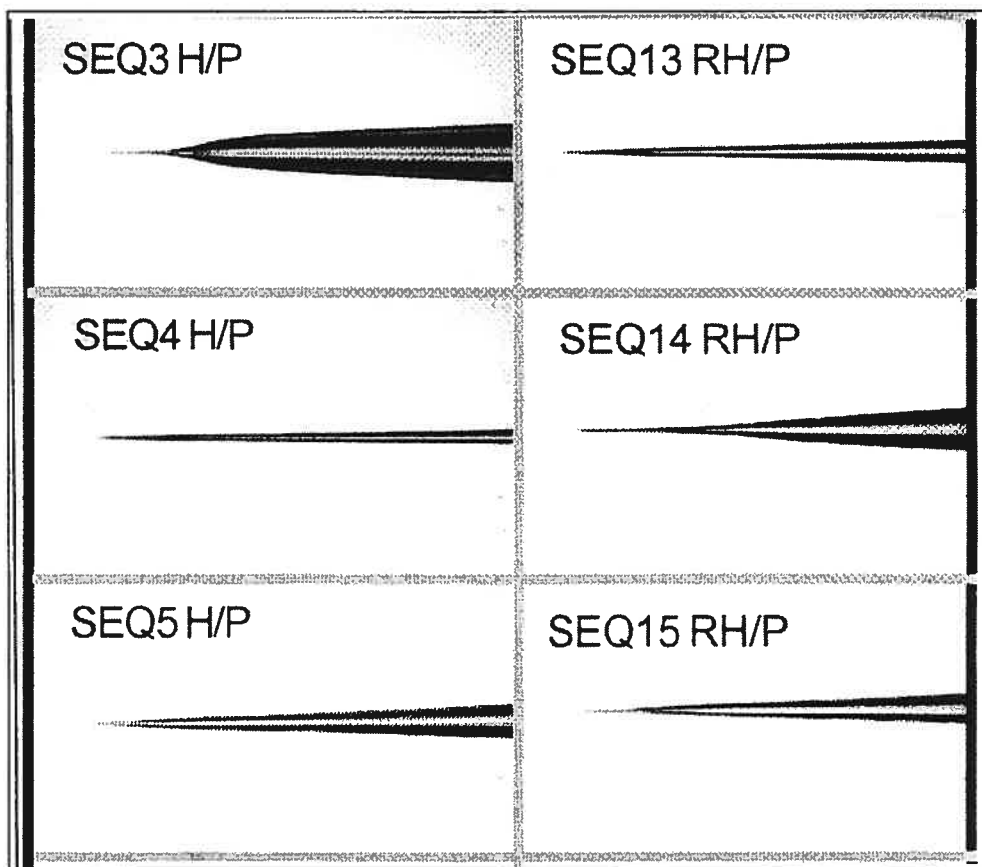
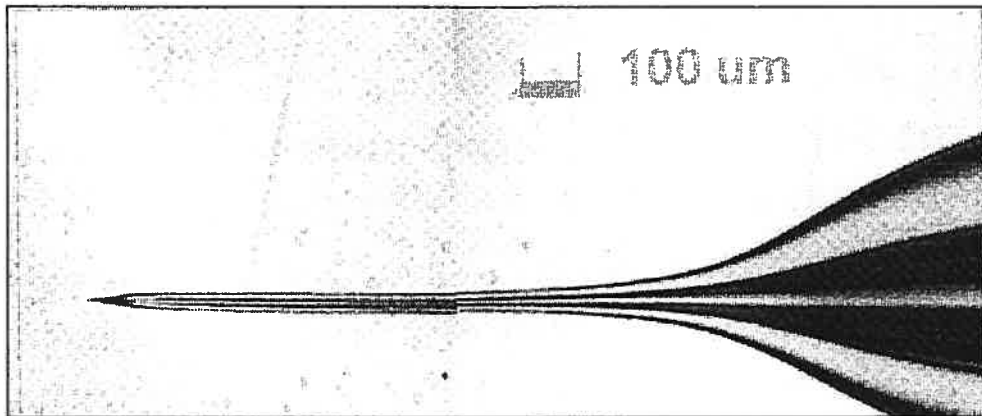
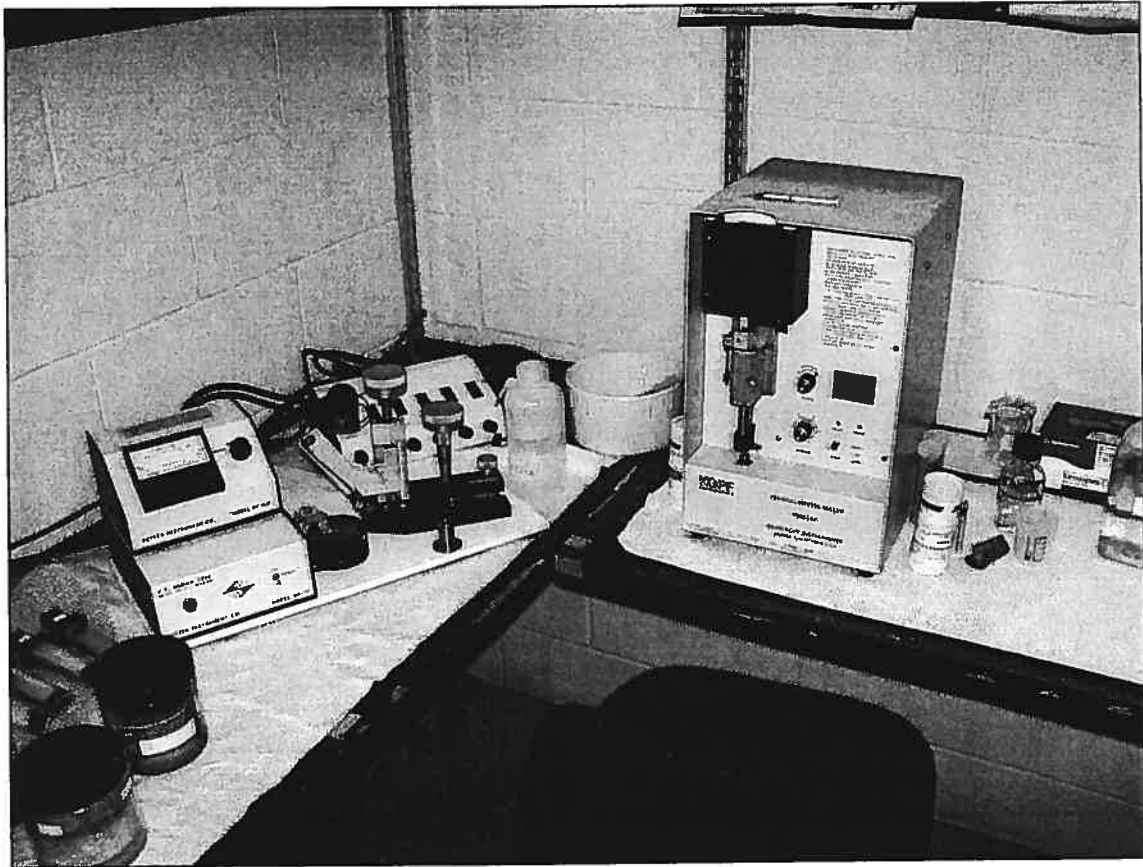


Figure 3.21 Illustration des appareils servant à fabriquer (à droite) et à affûter (à gauche) les micro-électrodes en verre.



Chapitre 4. Résultats et discussion de l'étude 1.

Les effets de l'entraînement volontaire sur les propriétés électrophysiologiques des motoneurones innervant le triceps sura chez le rat.

4.1.1 Description des groupes et du programme d'entraînement.

Les résultats de cette étude sont résumés dans la table 4.1. Ces résultats font référence aux 74 motoneurones des 18 rats ayant accès à l'entraînement volontaire dans une roue pendant 12 semaines et aux 122 motoneurones provenant des 28 rats confinés dans des cages de plastique durant cette période de temps. Les rats dans les cages d'entraînement volontaire ont couru en moyenne 13.6 km par jour durant la dernière semaine d'entraînement avant l'expérience terminale. Un écart variant entre 6.8 et 18.5 km de course par jour a été observé entre les animaux. Pour toutes les expériences terminales, le nombre de motoneurones enregistrés variait entre 4 et 8. Or, le nombre de motoneurones qui produisaient une secousse musculaire du triceps n'était pas suffisamment élevé pour nous permettre de procéder à une analyse statistique adéquate. Pour cette raison, les motoneurones sont simplement identifiés comme appartenant au nerf tibial.

4.1.2 Séparation des motoneurones selon une caractéristique lente ou rapide.

Pour nous permettre de déterminer si des effets étaient présents pour les motoneurones lents et rapides, nous avons catégorisé les motoneurones selon leur

propriété 'lente' ou 'rapide' en utilisant le demi-temps de l'AHP. Cette procédure a été utilisée dans quelques études précédentes (Cormery, Marini et al., 2000; Gardiner, 1993) où les motoneurones lents qui avaient un demi-temps de l'AHP supérieur à 20 ms innervent les fibres musculaires lentes. Une analyse statistique utilisant le chi-carré (χ^2) nous montre qu'il n'y a pas de différence significative ($p < 0.05$) dans les proportions des motoneurones lents et rapides entre le groupe contrôle (58% rapide, 42% lent) et le groupe entraîné (65% rapide, 35% lent); suggérant ainsi que le niveau d'entraînement n'était pas suffisant pour provoquer des changements dans le type des motoneurones. Ces changements sont, par contre, présents suite à une stimulation chronique du muscle gastrocnémien chez le chat (Gordon, Tyreman et al., 1997) ou bien suivant un entraînement très intense sur tapis roulant chez le rat (Green, Klug et al., 1984).

4.1.3 Différences électrophysiologiques entre les motoneurones lents et rapides.

Une analyse statistique ANOVA à deux voies permet de distinguer les différences entre les motoneurones lents et rapides. Ces différences peuvent être causées par l'entraînement volontaire et l'interaction entre l'entraînement et le type de motoneurones. Autrement dit, ceci nous permet de déterminer si les motoneurones lents ou rapides sont influencés différemment par ce programme d'entraînement. Les propriétés électrophysiologiques qui démontrent une différence significative entre les motoneurones lents et rapides sont présentées à la figure 4.1, où les données des groupes contrôles et entraînés ont été combinées. En fait, il existait des différences significatives

entre plusieurs paramètres électrophysiologiques; ces dernières n'ayant aucun effet d'interaction avec l'entraînement. En utilisant les données combinées des deux groupes, il existait une différence entre les motoneurones lents et rapides pour la résistance d'entrée ($1.8 \pm 1.1 \text{ M}\Omega$ et $2.6 \pm 1.6 \text{ M}\Omega$ pour les rapides et lents, respectivement) et la rhéobase ($7.5 \pm 3.9 \text{ nA}$ et $5.7 \pm 3.5 \text{ nA}$ pour les rapides et lents, respectivement). La latence du potentiel d'action antidromique, qui représente l'inverse de la vitesse de conduction de l'axone, était significativement plus élevée pour les motoneurone lents ($1.7 \pm .4 \text{ ms}$ et $2.6 \pm .3 \text{ ms}$ pour les rapides et lents, respectivement). La constante de temps membranaire était significativement plus longue pour les motoneurones lents que les rapides ($6.5 \pm 1.7 \text{ ms}$ et $5.6 \pm 2.1 \text{ ms}$ pour les lents et rapides, respectivement). La hauteur du potentiel d'action antidromique démontrait également un effet du type de motoneurone, car les neurones lents montraient une petite augmentation significative de la hauteur du potentiel d'action antidromique ($74 \pm 13 \text{ mV}$ et $81 \pm 10 \text{ mV}$ pour les rapides et lents, respectivement). L'ensemble de ces données est présenté à la figure 4.1 sous forme d'histogrammes.

4.1.4 Les effets de l'activité sur les différents types de motoneurones.

L'entraînement avait un effet global, indépendant du type de motoneurones (lent ou rapide), sur la hauteur du potentiel d'action antidromique qui était significativement plus élevée d'environ 3 à 4 mV pour les motoneurones des rats entraînés en comparaison avec les rats contrôles. Tous les autres paramètres électrophysiologiques ont montré un effet d'interaction significatif, indiquant que l'entraînement a un effet particulier sur tel ou tel type de motoneurones (lent ou rapide). Ces interactions sont présentées à la figure 4.2 et démontrent clairement que l'entraînement a un effet plus important sur les

motoneurones lents que sur les rapides. La figure 4.2 montre la moyenne et l'écart-type, tandis que les figures 4.3 et 4.4 illustrent ces données selon une distribution en percentile. Dans le cas du potentiel membranaire de repos (RMP) et du seuil pour déclencher un potentiel d'action (STL), les motoneurones lents des rats entraînés montrent une hyperpolarisation de 6 à 7 mV en comparaison avec les motoneurones rapides des rats entraînés et des motoneurones lents et rapides des rats contrôles. Concernant l'amplitude de l'AHP, l'analyse statistique montre que les motoneurones lents des rats entraînés ont l'amplitude la plus élevée. Suivent ensuite les motoneurones lents des rats contrôles et, finalement, les motoneurones rapides des deux groupes combinés, qui eux ne démontrent pas de différence en ce qui concerne l'amplitude de l'AHP. Dans tous les cas, la distribution des données pour les motoneurones rapides était vraiment similaire entre les groupes contrôles et entraînés. Ces résultats sont illustrés aux figures 4.3 et 4.4.

Pour mesurer le seuil du déclenchement du potentiel d'action, nous avons ajouté la différence en voltage entre les potentiels d'action orthodromiques induits par une injection de courant très intense (20 nA) et brève, en comparaison avec une injection de courant rhéobasique au potentiel membranaire de repos. Étant donné que la valeur absolue du STL dépend directement de la valeur du potentiel membranaire de repos, nous pouvons regarder l'effet de l'entraînement simplement en comparant la différence en voltage entre les deux différents types de potentiels d'action orthodromiques. Cette différence en voltage est indépendante de la mesure du potentiel membranaire de repos. Les différences trouvées en utilisant cette propriété électrophysiologique sont indépendantes des différences entre les motoneurones en ce qui concerne la hauteur du potentiel d'action antidromique ou du potentiel membranaire de repos. En fait, la

hauteur du potentiel d'action orthodromique induite par un courant rhéobasique, incluse dans la table 4.1, montre une différence significativement plus élevée pour les motoneurones lents du groupe entraîné. Le même effet est présent pour les motoneurones lents du groupe entraîné : une hyperpolarisation du potentiel membranaire de repos et du seuil pour déclencher un potentiel d'action, en plus d'une augmentation de l'amplitude de l'AHP. Ces résultats sont présentés à la figure 4.2.

4.1.5 Corrélation entre les différents paramètres électrophysiologiques.

Un résumé des corrélations entre les différentes propriétés électrophysiologiques est présenté dans la table 4.2. En considérant tout l'échantillon de motoneurones, la hauteur du potentiel d'action antidromique était légèrement, mais significativement, corrélée avec le potentiel membranaire de repos. Cependant, elle ne l'était pas avec le seuil du déclenchement du potentiel d'action ou avec l'amplitude de l'AHP. Parallèlement, la relation entre le potentiel membranaire de repos, le seuil du déclenchement du potentiel d'action et de l'amplitude de l'AHP était faible. Alors, les différences significatives des propriétés électrophysiologiques entre les groupes ne peuvent pas être expliquées par une variation de la hauteur du potentiel d'action antidromique ou du potentiel membranaire de repos. Une analyse de covariance a été faite pour déterminer si la hauteur du potentiel d'action antidromique utilisée comme covariable avait une influence sur le degré de signification des différences entre les groupes en ce qui concerne le potentiel membranaire de repos, la hauteur du potentiel d'action rhéobasique, le seuil du déclenchement du potentiel d'action et l'amplitude de l'AHP. Ces différences ont continué d'être présentes suite à cette procédure, indiquant que l'effet de l'activité sur ces trois propriétés n'était pas relié à la qualité de la

pénétration intracellulaire avec la micro-électrode. De manière similaire, les effets de l'activité sur la hauteur du potentiel d'action rhéobasique, le seuil du déclenchement du potentiel d'action et l'amplitude de l'AHP restent significatifs quand le potentiel membranaire de repos est utilisé comme covariable.

Figure 4.1 Propriétés des motoneurones lents (demi-temps de l'AHP > 20 ms) et rapides (demi-temps de l'AHP < 20 ms). Les données du groupe contrôle et entraîné sont combinées. Toutes les propriétés montrent une différence significative (* $p < 0.01$).

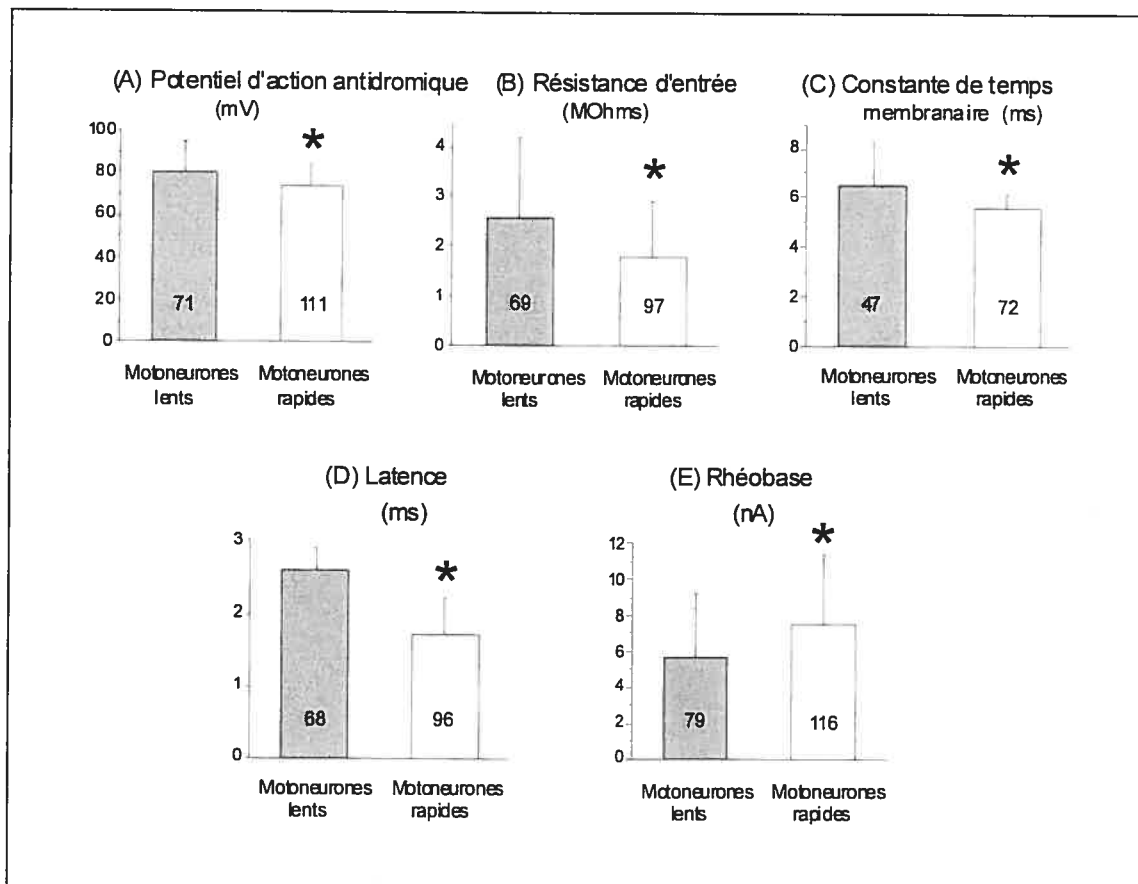


Figure 4.2 Les effets de l'entraînement volontaire sur les motoneurones lents et rapides. Les astérisques indiquent que cette moyenne est différente de toutes les autres moyennes. (* $p < 0.025$, ** $p < 0.01$)

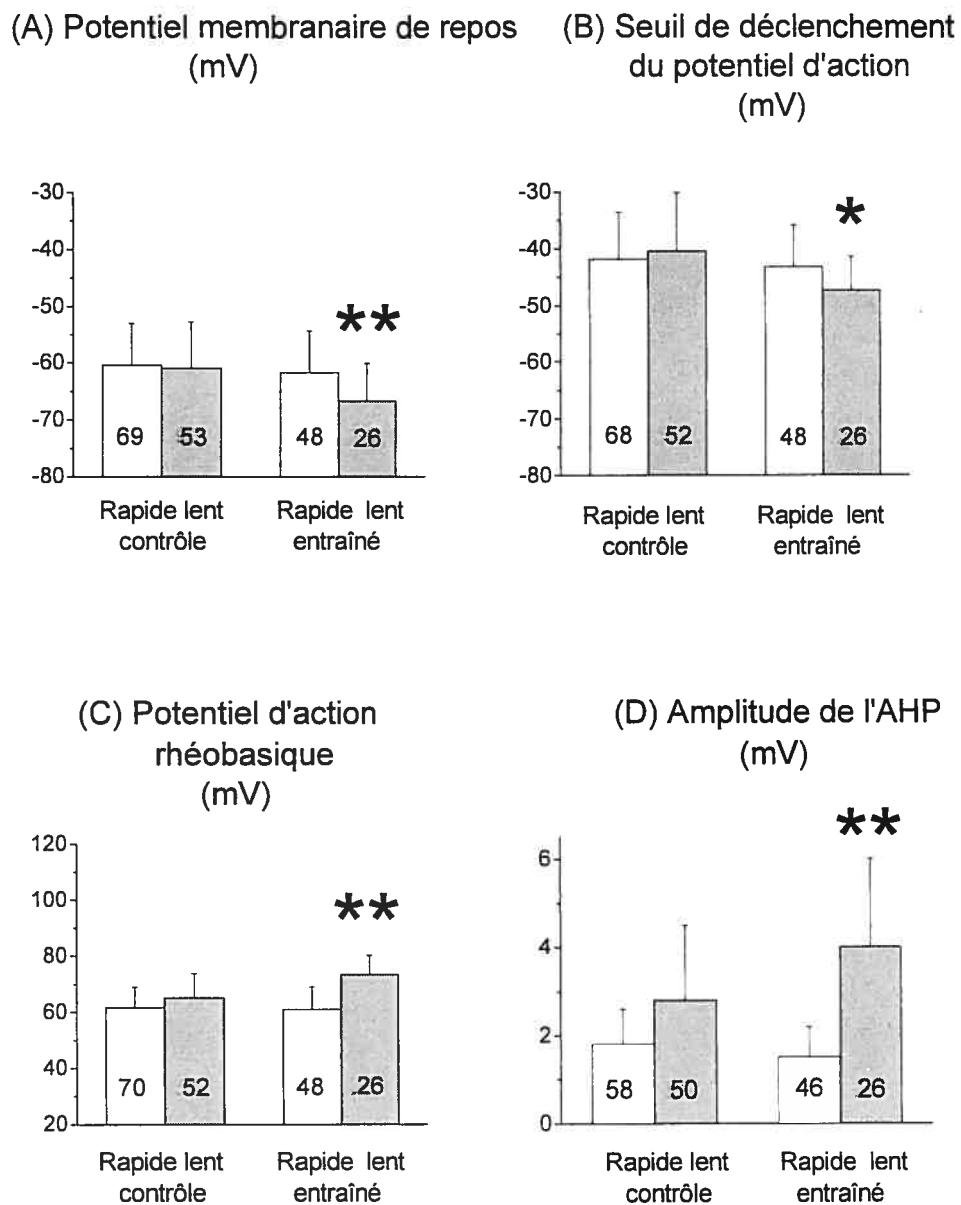


Figure 4.3 Une distribution en percentile pour le potentiel d'action rhéobasique ``rheobasic spike``(A et B) et l'amplitude de l'AHP "AHP amplitude"(C et D), pour les motoneurones lents et rapides (A, C et B,D respectivement). Les flèches indiquent les valeurs moyennes. Les valeurs du groupe contrôle et entraîné sont indiquées avec des carrés ouverts et fermés respectivement.

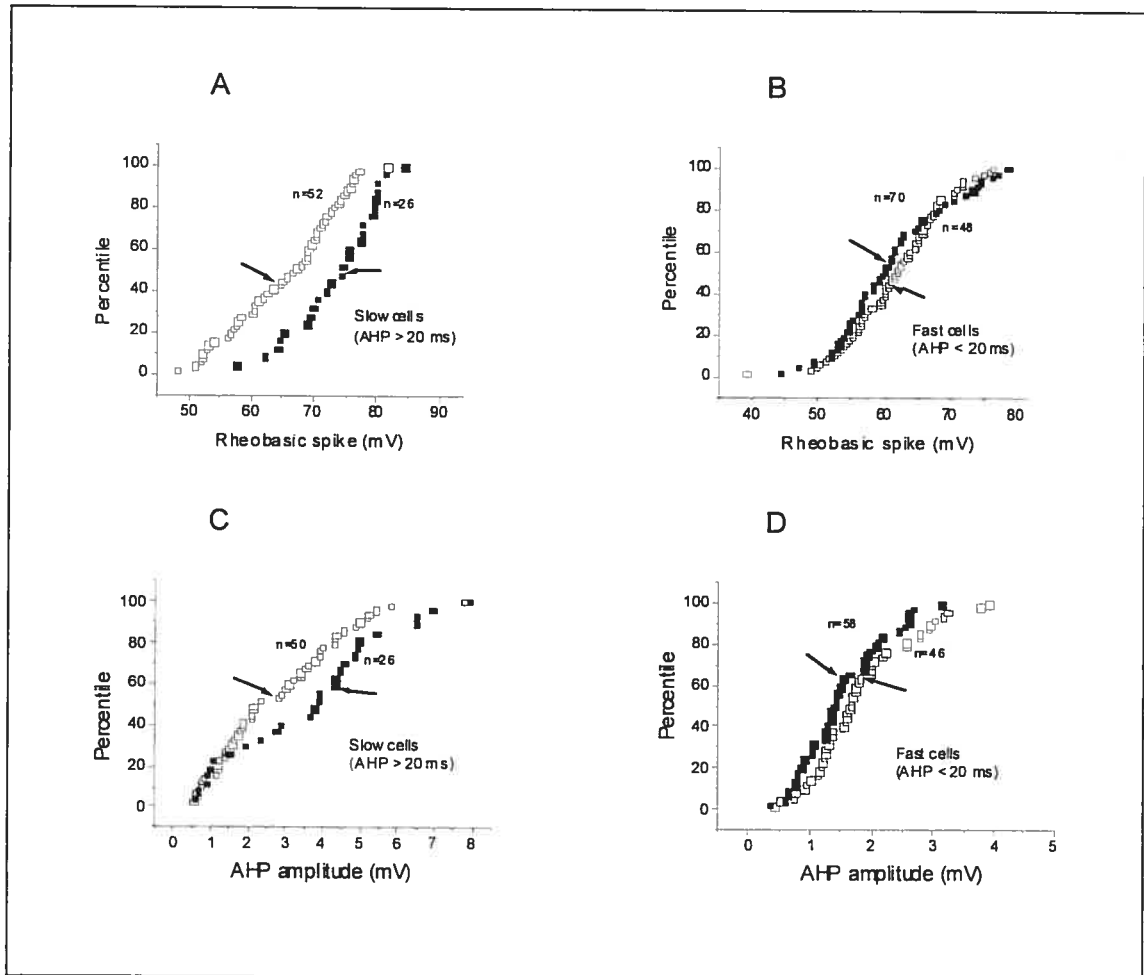


Figure 4.4 Une distribution en percentile pour le potentiel membranaire de repos "rest membrane potential" (A et B) et le seuil du déclenchement du potentiel d'action "spike trigger level" (C et D), pour les motoneurones lents et rapides (A, C et B, D respectivement). Les flèches indiquent les valeurs moyennes. Les valeurs du groupe contrôle et entraîné sont indiquées avec des carrés ouverts et fermés respectivement.

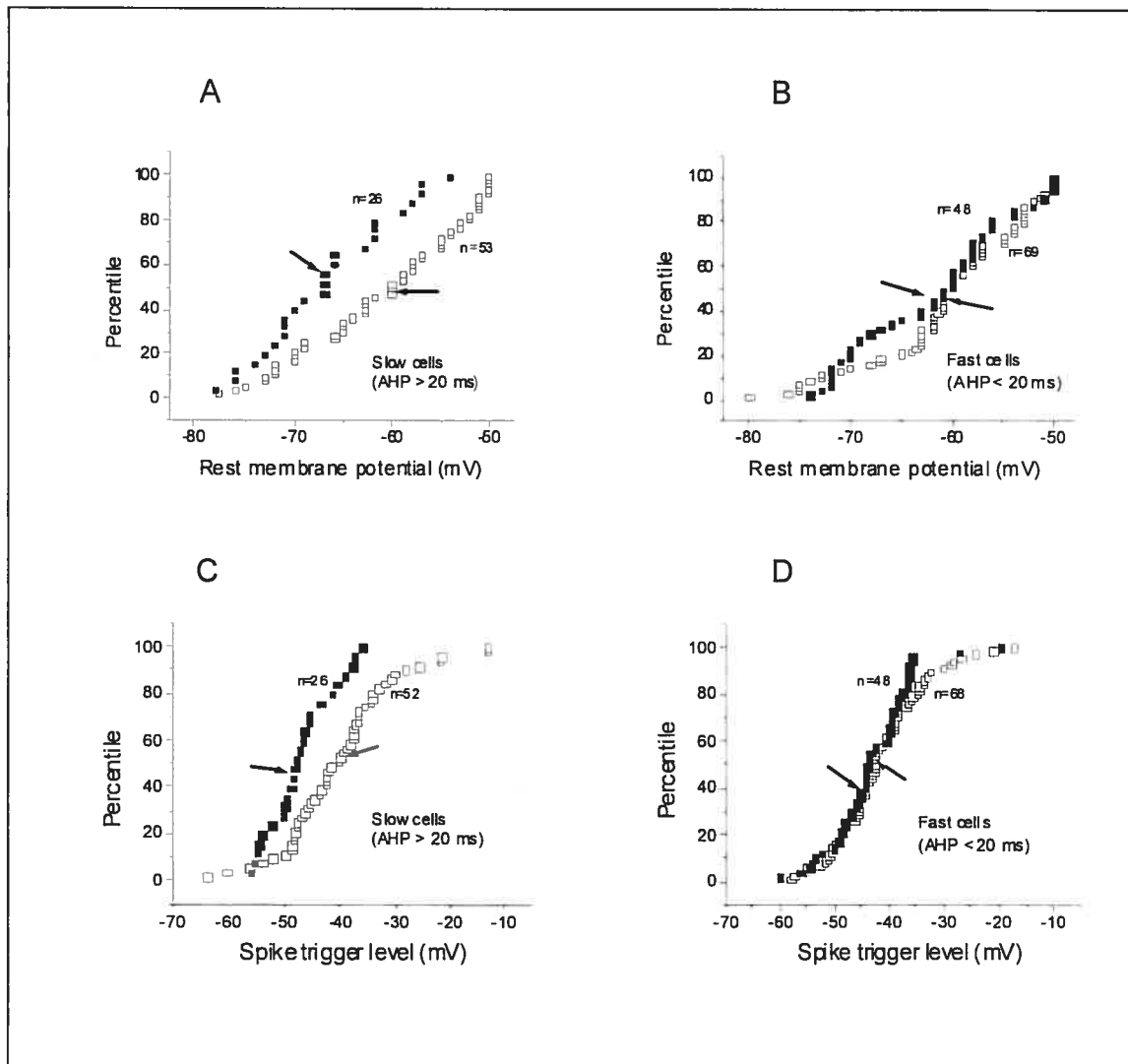


TABLE 4.1 Propriétés des motoneurones pour les rats contrôles et entraînés.

Propriétés	motoneurones "rapides"		motoneurones "lents"	
	contrôles	entraînés	contrôles	entraînés
Amplitude du potentiel d'action antidromique (mV)	73.5 ± 8.9 (66)	74.9 ± 11.1 (45)	78.8 ± 14.0 (47)	85.5 ± 10.3 ^a (24)
Résistance d'entrée (MΩ)	2.0 ± 1.2 (55)	1.6 ± 1.0 (42)	2.6 ± 1.7 (48)	2.5 ± 1.4 ^a (21)
Rhéobase (nA)	7.3 ± 3.9 (68)	7.7 ± 3.9 (48)	5.6 ± 3.6 (53)	5.2 ± 3.3 ^a (26)
Amplitude du potentiel d'action rhéobasique (mV)	61.7 ± 7.3 (70)	61.0 ± 8.2 (48)	65.3 ± 8.5 (52)	73.4 ± 6.8 ^b (26)
Constante de temps membranaire (τ _m , ms)	6.2 ± 2.2 (38)	4.9 ± 1.8 (34)	6.4 ± 1.9 (25)	6.5 ± 1.5 ^a (22)
Potentiel membranaire de repos (mV)	-60.4 ± 7.4 (69)	-61.7 ± 7.4 (48)	-60.9 ± 8.2 (53)	-66.7 ± 6.6 ^b (26)
Seuil de déclenchement du potentiel d'action (mV)	-41.8 ± 8.3 (68)	-43.2 ± 7.3 (48)	-40.4 ± 10.3 (52)	-47.3 ± 5.9 ^b (26)
Voltage seuil mesuré (mV)	18.4 ± 9.7 (70)	18.5 ± 9.2 (48)	21.0 ± 10.1 (52)	19.8 ± 7.3 (26)
Demi-temps de l'AHP (ms)	14.2 ± 4.2 (58)	15.6 ± 3.6 (46)	29.5 ± 5.5 (53)	29.2 ± 6.5 (26)
Amplitude de l'AHP (mV)	1.8 ± 0.8 (58)	1.5 ± 0.7 (46)	2.8 ± 1.7 (50)	4.0 ± 2.0 ^b (26)
Latence du potentiel d'action antidromique (ms)	1.6 ± 0.4 (58)	1.9 ± 0.3 (46)	2.5 ± 0.3 (50)	2.8 ± 0.2 ^a (26)

Les valeurs moyennes sont présentées avec ± l'écart-type, avec le nombre de motoneurones entre parenthèse. Un effet significatif ($p < 0.01$) du type de motoneurone (^a) ou une interaction significative du type de motoneurone et de l'activité (^b) sont indiqués.

Table 4.2 Corrélation entre l'amplitude du potentiel d'action antidromique, le potentiel membranaire de repos, le seuil de déclenchement du potentiel d'action et l'amplitude de l'AHP pour tous les motoneurones combinés. L'astérisque montre une corrélation significative ($p < 0.01$)

	1	2	3	4
<hr/>				
1. Amplitude du				
potentiel d'action	-----	$r^2 = 0.17^*$	$r^2 = 0.01$	$r^2 = 0.08$
antidromique (mV)				
2. Potentiel membranaire				
de repos (mV)	-----	-----	$r^2 = 0.09^*$	$r^2 = 0.01$
3. Seuil de				
déclenchement du				
potentiel d'action (mV)	-----	-----	-----	$r^2 = 0.02$
4. Amplitude de l'AHP				
(mV)	-----	-----	-----	-----
<hr/>				

4.2 Discussion

La découverte la plus intéressante de cette étude provient du fait que les propriétés électrophysiologiques de base des motoneurones, qui influencent leurs caractéristiques fonctionnelles, sont modifiées suite à une augmentation physiologique du niveau d'activité physique volontaire. Donc, les motoneurones font partie des structures anatomiques qui se modifient suite à une variation du niveau d'activité physique volontaire. Les effets les plus importants dans cette étude, suite à une augmentation du niveau d'activité, sont une hyperpolarisation du seuil de déclenchement du potentiel d'action et du potentiel membranaire de repos, en plus d'une augmentation de l'amplitude de l'AHP et ce, chez les rats entraînés. Or, ces effets sont restreints à une sous-population de motoneurones qui sont normalement recrutés lors d'une activité physique volontaire de faible intensité. Il s'agit en fait des motoneurones lents (AHP > 20 ms).

Les changements au niveau des motoneurones lents, en regard au potentiel membranaire de repos, au seuil de déclenchement du potentiel d'action et à l'amplitude de l'AHP, pourraient être causés par une différence au niveau de la qualité de la pénétration intracellulaire. Or, cet argument ne semble pas valide pour plusieurs raisons. Premièrement, il n'est pas logique de penser que les meilleures pénétrations intracellulaires se produisent seulement pour les motoneurones lents du groupe entraîné, car ces petits motoneurones ont une valeur de résistance d'entrée plus élevée que les motoneurones rapides des deux autres groupes. De plus, ces effets significatifs restent présents même quand l'analyse se fait en utilisant la hauteur de potentiel d'action

antidromique et le potentiel membranaire de repos comme covariable. Cette procédure permet en fait de corriger l'influence de ces paramètres électrophysiologiques entre eux. Finalement, pour nous permettre de justifier un peu plus cet argument, les corrélations entre le seuil de déclenchement d'un potentiel d'action, le potentiel membranaire de repos, la hauteur du potentiel d'action rhéobasique et l'amplitude de l'AHP étaient faibles (table 4.2).

Il y a des évidences démontrant que les propriétés membranaires des motoneurones sont modifiables avec différentes interventions. En plus des changements qui se produisent durant le développement chez les nouveaux nés (Cameron, Nunez-Abades et al., 2000; Ziskind-Conhaim, 1988), les effets les plus documentés sont les adaptations qui se produisent suite à une axotomie (Eccles, Libet et al., 1958; Foehring, Sybert et al., 1986) ou suivant une suppression des afférences supra-spinales suite à une transection à un niveau rostral des motoneurones (Hochman et McCrea, 1994; Munson, Foehring et al., 1986). Très peu d'évidences sont présentement disponibles nous permettant de croire qu'une simple augmentation du niveau d'activité physique volontaire permet de modifier les propriétés électrophysiologiques des motoneurones. Chez le chat, une stimulation chronique du nerf médial du gastrocnémien pendant une période de 6 mois change le phénotype musculaire pour transformer les fibres musculaires en fibres lentes. Pour ces animaux, les propriétés des motoneurones qui innervent ces fibres musculaires se modifient également pour ressembler aux motoneurones lents. Il se produit une baisse du courant rhéobasique, une augmentation de la résistance d'entrée et une augmentation de la durée de l'AHP (Munson, Foehring et al., 1986). Par contre, il est difficile pour l'instant de déterminer si ces modifications au niveau des motoneurones proviennent des potentiels d'action antidromiques au niveau

du corps cellulaire, de la stimulation des afférences ou d'une influence des substances trophiques provenant des muscles. Par exemple, chez les sujets humains, les muscles de la main dominante ont une force minimale plus basse, une fréquence minimale et maximale de décharge plus basses, en plus d'une plus faible variabilité de la fréquence de décharge et ce, en comparaison avec les muscles de la main non-dominante. Ces différences sont possiblement attribuables au fait que la main dominante est composée d'un plus grand pourcentage de fibres lentes, étant donné qu'elle est plus entraînée. Cependant, ceci ne peut être vrai qu'en assumant que la différence entre les deux mains provient du fait que la main dominante est plus souvent utilisée (Adam, De Luca et al., 1998).

La différence entre les motoneurones du groupe contrôle et entraîné dans cette étude est plus subtile, et probablement différente des résultats suivant un entraînement en endurance traditionnel plus intense. Suite à un entraînement en endurance, il se produit une augmentation de la transcription et de la translation des types de fibres musculaires I et IIa, au détriment des fibres IIx ou IIb dans les muscles entraînés chez le rat (Demirel, Powers et al., 1999; Green, Klug et al., 1984). Étant donné que les propriétés des motoneurones et des muscles semblent varier systématiquement suivant plusieurs conditions expérimentales, il serait logique de s'attendre à voir une diminution du courant rhéobasique, une augmentation de la durée de l'AHP et une augmentation de la résistance d'entrée pour les motoneurones des rats entraînés de façon volontaire. Or, dans cette étude, la proportion entre les motoneurones lents et rapides n'était pas différente entre les deux groupes. En fait, même s'il se produit une absence de conversion des motoneurones rapides vers un phénotype lent, il serait logique de penser qu'il pourrait se produire une légère augmentation de la résistance d'entrée, une légère

diminution du rhéobase et une légère augmentation de la durée de l'AHP pour les motoneurones rapides du groupe entraîné. Concrètement, une augmentation de l'activité physique provoque un changement vers une augmentation dans la proportion des fibres musculaires IIa, sans aucun changement dans la proportion des fibres de type I (Ishihara, Inoue et al., 1991), en plus d'une augmentation de l'activité des enzymes mitochondriales (Rodnick, Reaven et al., 1989). Cependant, aucune de ces propriétés n'a été significativement altérée pour les motoneurones rapides. En fait, la résistance d'entrée tend à diminuer et le courant rhéobasique tend à augmenter pour les motoneurones rapides du groupe entraîné, comme démontré par la table 4.1.

L'importance des adaptations musculaires, pouvant induire des modifications au niveau des motoneurones par un effet rétrograde, n'est pas bien connue présentement. Suivant une innervation du muscle soléaire par les motoneurones du gastrocnémien médial chez le chat, une proportion des motoneurones rapides se convertissent vers un phénotype lent. Or, ces mêmes motoneurones reprennent leur phénotype rapide lorsqu'ils réinnervent leur muscle original (Foehring, Sypert et al., 1986). De plus, le fait de stimuler les axones du gastrocnémien médial chroniquement en utilisant des basses fréquences convertit les fibres musculaires rapides en lentes et convertit également une proportion des motoneurones afin que leurs propriétés électriques ressemblent à celles des motoneurones lents (Munson, Foehring et al., 1997). De plus, une paralysie musculaire chronique induite de manière pharmacologique causant un arrêt de la transmission électrique axonale diminue la durée de l'AHP et produit une augmentation de la rhéobase des motoneurones lents (Cormery, Pons et al., 2000). Finalement, une infusion chronique de BDNF dans le muscle gastrocnémien chez le rat diminue le courant rhéobasique au bout de 5 jours (Gonzalez et Collins, 1997). L'ensemble de ces

résultats suggère que l'adaptation des motoneurones est probablement provoquée par des substances trophiques qui sont produites par les muscles actifs et qui sont captées par les terminaisons nerveuses. En utilisant notre modèle d'entraînement volontaire dans les roues, les adaptations musculaires classiques normalement observées suite à un programme d'entraînement en endurance ne sont pas présentes, comme une augmentation de la proportion des fibres de type I et une augmentation des enzymes mitochondriales. Ces adaptations surviennent seulement pour les rats qui ont couru plus de 11 km/jour de façon volontaire (Rodnick, Reaven et al., 1989). Cette distance de course était présente seulement pour moins de la moitié de notre groupe soumis à l'entraînement. Or, il faut considérer que les substances trophiques sécrétées par les muscles actifs (ou par les muscles inactifs dans le cas des rats contrôles) sont captées par les terminaisons nerveuses des motoneurones et provoquent des adaptations au niveau du corps cellulaire des motoneurones présents dans cette étude.

Un fait intéressant provient des modifications électrophysiologiques qui surviennent dans les motoneurones de l'aplasie de Californie suivant une sensibilisation à long terme du "tail-siphon withdrawal reflex". Il se produit une hyperpolarisation du potentiel membranaire de repos et du seuil pour produire un potentiel d'action avec une tendance vers une diminution de la résistance d'entrée (Cleary, Lee et al., 1998). D'autres évidences concernant l'effet d'une diminution du niveau d'activité sur les propriétés des conductances ioniques nerveuses sont présentes dans la littérature. En fait, les nerfs d'un ganglion stomatogastrique de homard produisent des fréquences de décharge en bouffées en condition normale, c'est-à-dire lorsqu'ils sont stimulés par ses propres afférences. Or, suite à une suppression de ces afférences, il perd cette propriété et se met à décharger de manière constante. Le fait de remettre le ganglion dans son

milieu de culture normale, rétablissant ses contacts synaptiques, lui fait perdre sa capacité de produire des potentiels d'action de manière constante et lui redonne la possibilité de décharger en bouffées à nouveau. Les neurones peuvent donc adapter leurs propriétés électriques en fonction du niveau de stimulation qu'ils reçoivent chroniquement. En fait, le mécanisme responsable de cette modification est une augmentation du niveau de calcium intracellulaire (Turrigiano, Abbott et al., 1994). De plus, des études sur les cellules pyramidales mises en culture montrent que leurs propriétés électrophysiologiques sont modifiées suite à une variation du niveau d'activité. Il semble que les canaux sodiques subissent des modifications de leur structure biochimique et de leur sensibilité au voltage suite à un changement en activité (Desai, Rutherford et al., 1999) En fait, la meilleure explication concernant les changements qui surviennent dans le STL et RMP serait une augmentation de la conductance du courant sodique entrant rapide et/ou une diminution de la conductance du courant potassique rapide qui rectifie le voltage sous le seuil du déclenchement du potentiel d'action. Il pourrait également y avoir un petit déplacement de la sensibilité au voltage dans la direction hyperpolarisante des canaux situés près ou directement sur le segment initial (Dai, Jones et al., 2002; Dai, Jones et al., 1998). Ces changements auraient un effet cumulatif d'augmenter le courant net entrant sous le seuil du déclenchement du potentiel d'action, et alors dépolariser le STL.

Or, il est possible de croire que la différence dans les propriétés électrophysiologiques des motoneurones entre les rats contrôles et entraînés pourrait être causée par une réduction de l'activité volontaire de la part des rats contrôles confinés dans leurs cages. Par exemple, les motoneurones des rats qui ont subi une transection à un niveau rostral aux motoneurones sont moins excitables et subissent une réduction de

la durée de l'AHP (Hochman et McCrea, 1994). Ceci indique que les rats soumis à un entraînement volontaire dans les roues sont peut-être les vrais rats contrôles et que les rats qui sont placés dans les cages de plastique sont dans une situation d'activité réduite forcée; ce qui modifie les propriétés électriques de leurs motoneurones de manière plus ou moins sévère en fonction de leur capacité intrinsèque à courir de façon volontaire. Il faut, par ailleurs, mentionner que nous n'avons aucune mesure du niveau d'activité physique des rats qui ont été dans les cages de plastique, et il est possible que les animaux qui ont cohabité trois par cage aient un niveau d'activité physique plus élevé durant ces 12 semaines que les rats qui ont été placés individuellement. De toute manière, il semble que l'entraînement dans les roues, qui est une forme d'activité physique intermittente chronique (Seburn et Gardiner, 1995), est suffisante pour induire un stimulus assez puissant pour produire des adaptations qui sont quantifiables dans cette étude et dans plusieurs études antérieures (Dluzen, Liu et al., 1995; Neeper, Gomez-Pinilla et al., 1995; Rodnick, Reaven et al., 1989).

Les mécanismes responsables de la modification du potentiel membranaire de repos et du seuil pour déclencher un potentiel d'action proviennent d'un changement dans la modulation et/ou de la densité des canaux potassiques à courant entrant qui rectifie le voltage sous le seuil du déclenchement du potentiel d'action. Ces changements sont actuellement connus pour influencer ces propriétés (Cameron, Nunez-Abades et al., 2000; Oliver, Baukowitz et al., 2000) et se modifient durant le développement (Cameron, Nunez-Abades et al., 2000). La participation des canaux potassiques est aussi impliquée dans la modification de l'amplitude de l'AHP. D'autres mécanismes possibles proviennent de la modification dans la conductance maximale et le seuil de la sensibilité au voltage des canaux sodiques par la phosphorylation de ces canaux par les protéines

kinase A et C et la glycosylation des sous-unités (Marban, Yamagishi et al., 1998). Par exemple, durant l'induction d'une potentiation à long terme des cellules hippocampales des rats mis en culture, la demi-activation en voltage des canaux sodiques a changé de 5 mV dans la direction hyperpolarisante; un effet qui dépend de l'activation des protéines kinases C induites par un entrée de calcium dans la cellule (Ganguly, Kiss et al., 2000).

Les implications de ces changements au niveau du système neuromusculaire sont présentement inconnues. Les changements observés, par contre, vont dans le sens d'une diminution de la vitesse de contraction musculaire et d'une augmentation de la résistance à la fatigue suite à une augmentation du niveau d'activité. Par exemple, les changements observés (hyperpolarisation du potentiel membranaire de repos et du seuil pour déclencher un potentiel d'action en plus d'une augmentation de l'amplitude de l'AHP) sont sûrement impliqués pour retarder le processus de l'accommodation de la membrane, en plus de l'adaptation tardive qui se produit durant les bouffées de potentiels d'actions (Granit, Kernell et al., 1963; Schwindt et Crill, 1982).

En conclusion, une augmentation de l'activité physique volontaire chez les rats produit une hyperpolarisation du potentiel membranaire de repos et du seuil pour déclencher un potentiel d'action, en plus d'une augmentation de l'amplitude de l'AHP dans les motoneurones lents (AHP > 20 ms). Par contre, les motoneurones rapides n'ont subi aucun changement significatif. Alors, les adaptations sont restreintes aux motoneurones qui sont supposés être recrutés de manière plus exclusive durant cette activité de course volontaire. Les adaptations dans la conductance des canaux, qui pourraient expliquer ces changements dans les propriétés de base des motoneurones, en

plus de leur signification fonctionnelle, devront être investiguées et clarifiées lors d'études futures.

Chapitre 5. Résultats et discussion de l'étude 2.

L'entraînement en endurance altère les propriétés biophysiques des motoneurones innervant le triceps sura chez le rat.

5.1.1 Activité du cytochrome oxydase du muscle plantaire

Une augmentation significative de 40% (13.37 ± 2.00 U/min*mg) de l'activité du cytochrome oxydase a été observée en comparaison avec le groupe contrôle (9.56 ± 1.43 U/min*mg) dans le muscle plantaire. Cette différence a été observée après 16 semaines d'entraînement, ce qui démontre l'efficacité du programme d'entraînement.

5.1.2 Description des groupes et du programme d'entraînement.

Les données sont résumées dans la table 5.1, qui inclut 51 motoneurones provenant de 9 rats qui ont couru 2 heures par jour sur un tapis roulant et 75 motoneurones provenant de 13 rats qui ont été confinés dans des cages de plastique standard pour la même période de temps. Seulement les expériences nous permettant de recueillir entre 4 et 9 motoneurones ont été conservées pour procéder à l'analyse statistique. Le nombre d'unités motrices identifiées à l'aide des muscles était trop faible pour procéder à une analyse statistique adéquate, alors les motoneurones sont identifiés comme appartenant au nerf tibial. Cependant, le pourcentage des motoneurones dont nous avons pu visualiser la contraction des fibres musculaires à l'aide d'une injection de courant supra-maximal n'était pas différent entre les deux groupes et se situait autour de 20%.

Pour nous permettre de déterminer si les effets de l'entraînement étaient présents pour tous les motoneurones, nous avons catégorisé les motoneurones selon leur propriété 'lente' ou 'rapide' en utilisant le demi-temps de l'AHP. Cette procédure a été utilisée dans notre étude antérieure (Beaumont et Gardiner, 2002) ainsi que dans quelques études faites précédemment (Cormery, Marini et al., 2000; Gardiner, 1993), où les motoneurones lents qui avaient un demi-temps de l'AHP supérieur à 20 ms innervent les fibres musculaires lentes. Une analyse statistique utilisant le chi-carré (χ^2) nous montre qu'il n'y a pas de différence significative ($p < 0.05$) dans les proportions des motoneurones lents et rapides entre le groupe contrôle (54% rapide, 46% lent) et le groupe entraîné (69% rapide, 31% lent); suggérant ainsi que le niveau d'entraînement ne soit pas suffisant pour provoquer des changements dans le type des motoneurones ou des unités motrices.

5.1.3 Différence entre les motoneurones lents et rapides

Une analyse statistique utilisant une ANOVA à deux voies montre qu'il existe des différences entre les motoneurones lents et rapides; des différences causées par l'entraînement sur le tapis roulant et l'interaction entre le type de motoneurone et l'effet de l'entraînement. Les différences significatives concernant les types de motoneurones sont résumées à la figure 5.1, où les données du groupe contrôle et entraîné sont combinées. En fait, un effet principal, sans interaction entre les motoneurones lents et rapides, a été trouvé pour le rhéobase (6.2 ± 3.6 nA et 8.3 ± 4.0 nA pour les lents et rapides, respectivement). La résistance d'entrée était significativement plus élevée pour les motoneurones lents (2.7 ± 1.9 M Ω et 1.6 ± 0.9 M Ω pour les lents et rapides,

respectivement). La latence du potentiel d'action antidromique, ce qui reflète l'inverse de la vitesse de conduction, était significativement plus élevée pour les motoneurones lents (2.4 ± 0.4 ms et 1.6 ± 0.4 ms pour les lents et rapides, respectivement). Finalement, l'amplitude de l'AHP était plus élevée pour les motoneurones lents (2.7 ± 1.5 mV et 1.6 ± 0.7 mV pour les lents et rapides, respectivement).

5.1.4 L'effet de l'entraînement en endurance

Le niveau d'activité a un effet global (indépendant du type de motoneurone) sur plusieurs propriétés électrophysiologiques. En fait, pour le potentiel membranaire de repos et le seuil de déclenchement du potentiel d'action, les motoneurones des rats entraînés montraient une hyperpolarisation de 6 à 7 mV en comparaison avec les rats contrôles. Les motoneurones du groupe entraîné montrent également une diminution du temps de montée du potentiel d'action en comparaison avec le groupe contrôle (0.7 ± 0.2 ms et 1.0 ± 0.3 ms pour les motoneurones des rats entraînés et contrôles, respectivement). Ces résultats sont illustrés à la figure 5.2, et une représentation schématique est illustrée à la figure 5.3.

La capacitance membranaire totale était la seule propriété qui a montré une adaptation seulement pour un type de motoneurone. En fait, les motoneurones rapides des rats entraînés ont une plus grande capacitance cellulaire, en comparaison avec les motoneurones rapides des rats contrôles et des motoneurones lents du groupe contrôle et entraîné (figure 5.4). Cependant, cette augmentation significative de la capacitance pour les motoneurones rapides du groupe entraîné n'a pas changé l'excitabilité des cellules

(table 5.1). Cette modification des cellules rapides est démontrée à la figure 5.5, où la capacitance membranaire totale est présentée en fonction de la résistance d'entrée pour les motoneurones rapides du groupe entraîné. En fait, une proportion des motoneurones rapides du groupe entraîné était clairement en dehors de la relation normale concernant la capacitance et la résistance d'entrée en fonction de l'équation de Rall. Ceci en assumant qu'il ne se produit aucun changement dans la distance électrotonique (L) et la résistivité membranaire spécifique (R_m).

5.1.5 Reproductibilité de la mesure du seuil de déclenchement du potentiel d'action

A la lumière de nos résultats concernant l'effet sur le seuil du déclenchement du potentiel d'action, nous avons décidé de poursuivre notre analyse pour nous permettre de vérifier si cette valeur était constante suite à certaines situations où il se produisait une variation du potentiel membranaire de repos. Nous avons alors mesuré la valeur du STL lorsque la cellule subissait des changements de son potentiel membranaire de repos durant la séance d'enregistrement intracellulaire (et plusieurs de ces cellules n'ont pas été incluses avec les données de l'analyse finale concernant les effets de l'entraînement). Un résumé des résultats est présenté à la figure 5.6 ($n=24$ motoneurones). Sommairement, notre analyse montre qu'une variation du potentiel membranaire de repos a une faible influence sur la valeur absolue du seuil du déclenchement du potentiel d'action. Durant nos expériences, la variation du potentiel membranaire de repos (environ 20 minutes d'enregistrement intracellulaire par motoneurone, $n=126$)

représentait seulement une petite dépolarisation de $(1.5 \pm 3.9 \text{ mV}$ et $2.6 \pm 2.2 \text{ mV}$ pour le groupe contrôle et entraîné, respectivement).

Figure 5.1 Propriété des motoneurones lents (demi-temps de l'AHP > 20 ms) et rapides (demi-temps de l'AHP < 20 ms). Les données sont combinées pour démontrer un effet significatif du type de motoneurone et les données sont exprimées selon les moyennes \pm 1 écart-type. Le nombre de motoneurones est indiqué dans chacune des barres. Toutes les propriétés montrent un effet significatif (indiqué par des astérisques, $p < 0.01$).

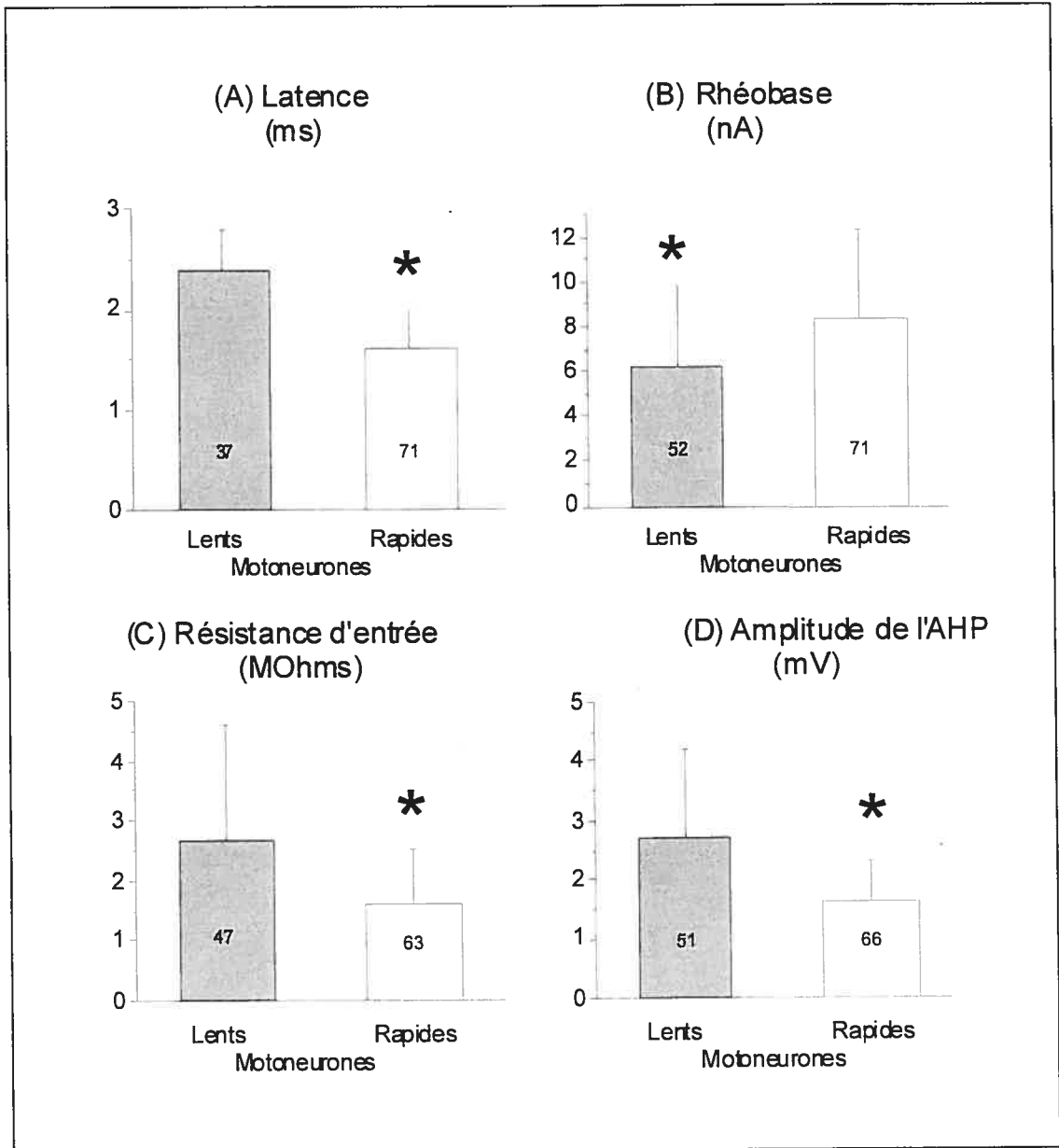


Figure 5.2 L'effet de l'activité sur les motoneurones. Les données (moyenne \pm 1 écart-type) sont combinées pour démontrer un effet significatif de l'activité. (A) comparaison du potentiel membranaire de repos (RMP) et du seuil du déclenchement du potentiel d'action (STL) entre les groupes. (B) Comparaison de la montée en voltage du potentiel d'action entre les groupes. Les différences significatives sont indiquées par des astérisques ($p < 0.01$).

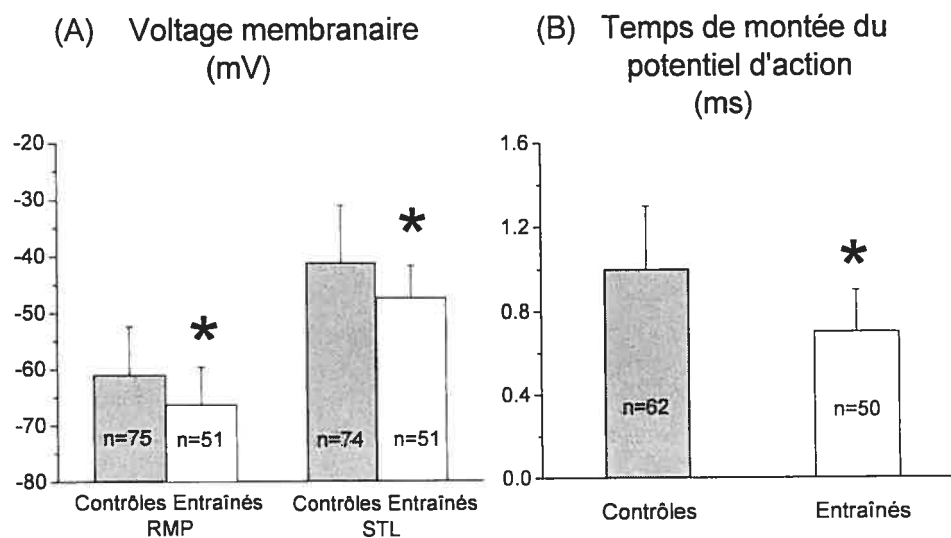


Figure 5.3 Représentation schématique des effets de l'activité physique (ligne pointillée) sur le potentiel membranaire de repos et sur le potentiel d'action antidromique en comparaison avec le groupe contrôle (ligne pleine). La durée de la calibration de 50 mV est de 1 ms.

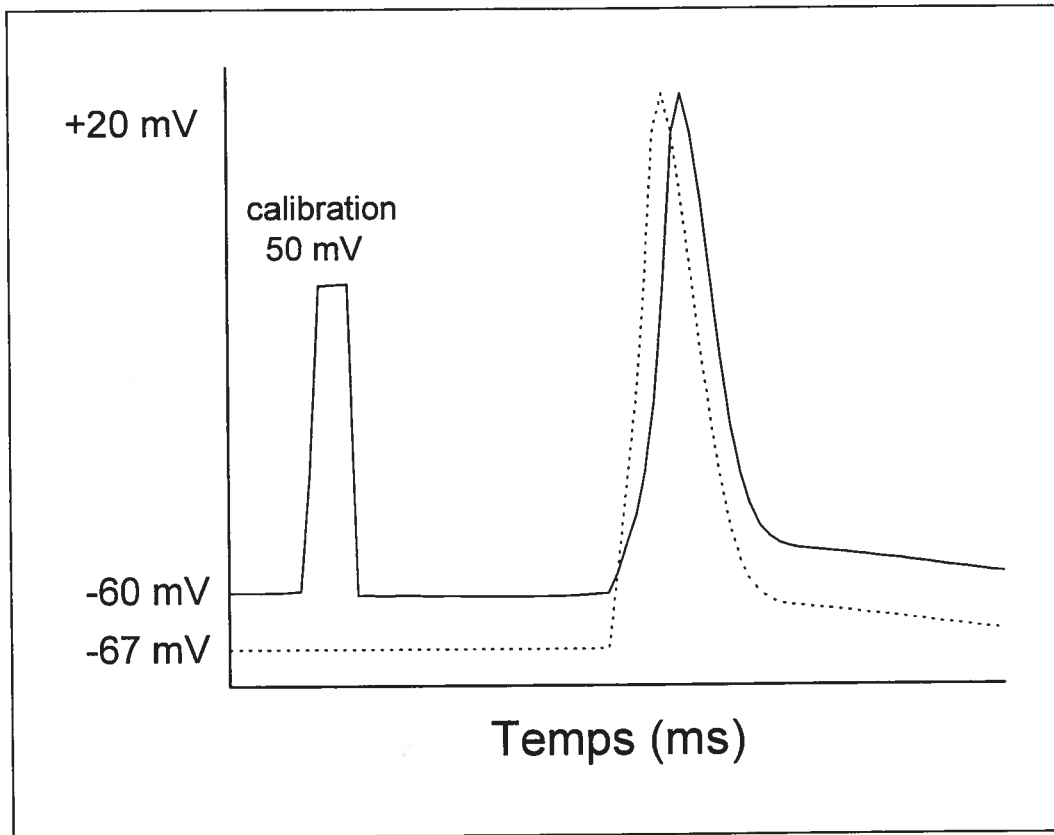


Figure 5.4 Les effets de l'activité physique sur les motoneurones lents et rapides. Le nombre de motoneurones est indiqué dans chacune des barres. Les astérisques indiquent un effet significatif par rapport aux autres moyennes (*, $p < 0.01$).

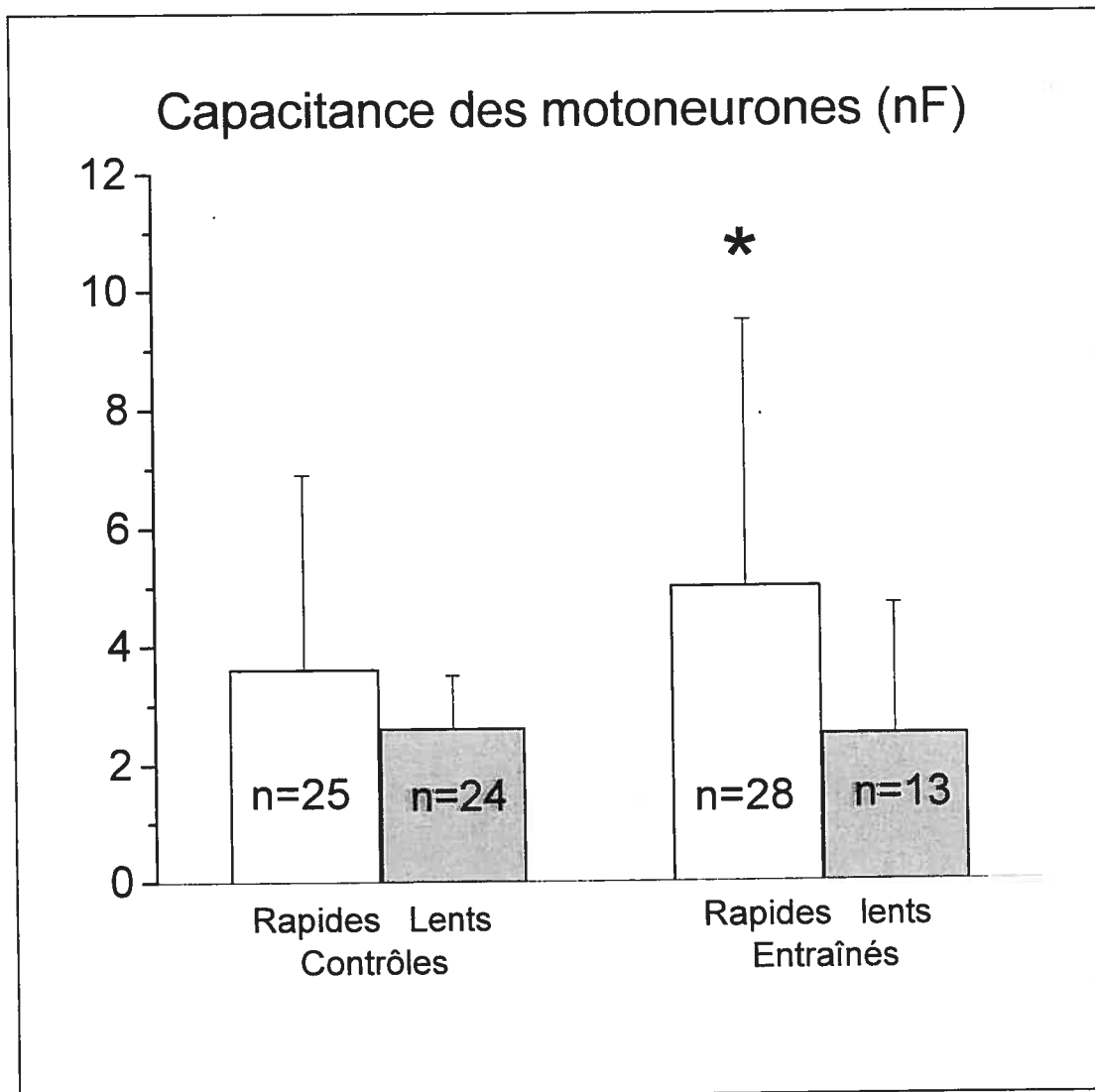


Figure 5.5 La relation entre la résistance d'entrée et la capacitance de la cellule pour les cellules rapides seulement (durée du demi-temps de l'AHP < 20 ms) Une courbe linéaire théorique pour les cellules contrôles est illustrée (Rall, 1969), en assumant une distance électrotonique de 1,4 et une résistance membranaire spécifique (R_m) de $2900 \Omega \cdot \text{cm}^2$. Les symboles pleins et ouverts sont pour le groupe contrôle et entraîné, respectivement.

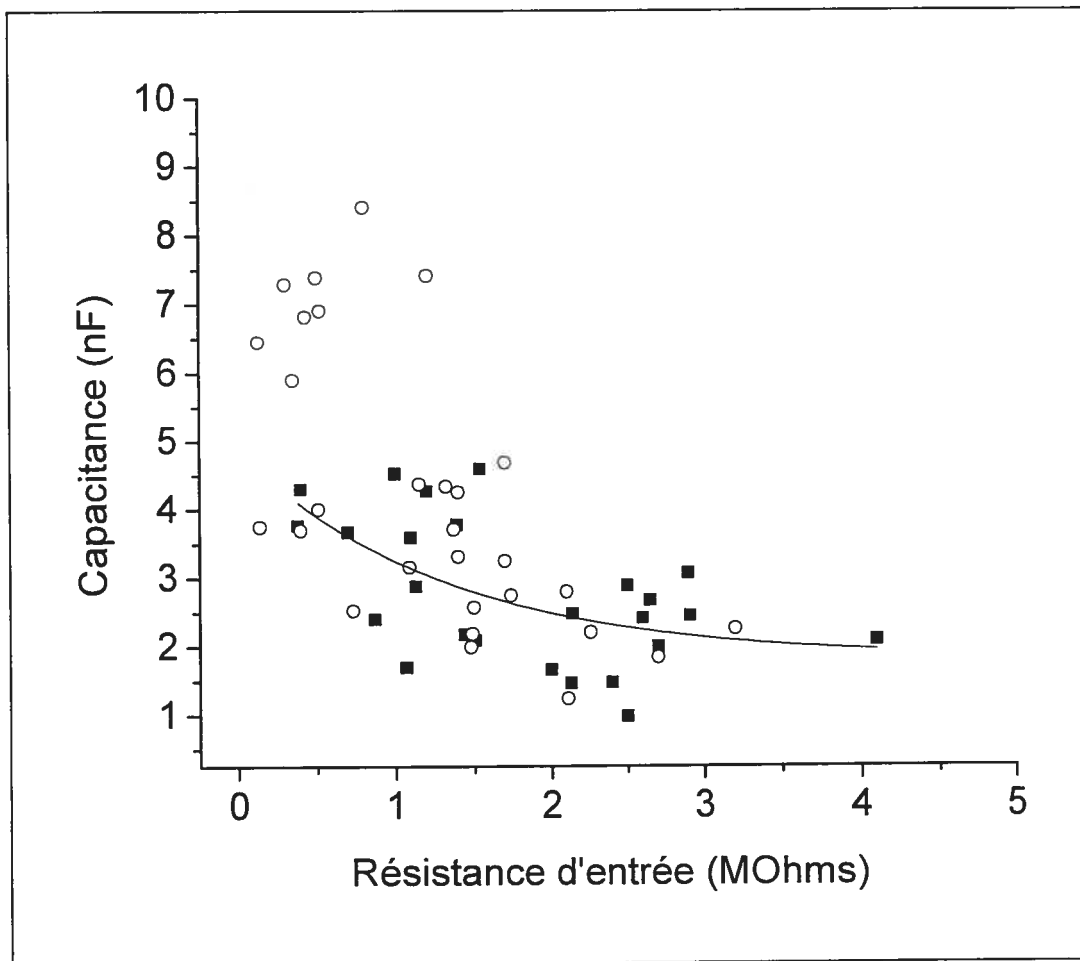


Figure 5.6 Relation entre la variation du potentiel membranaire de repos et le seuil du déclenchement du potentiel d'action (n=24 motoneurones). La ligne pleine représente la meilleur relation linéaire ($p < 0.01$, $R = 0.52$).

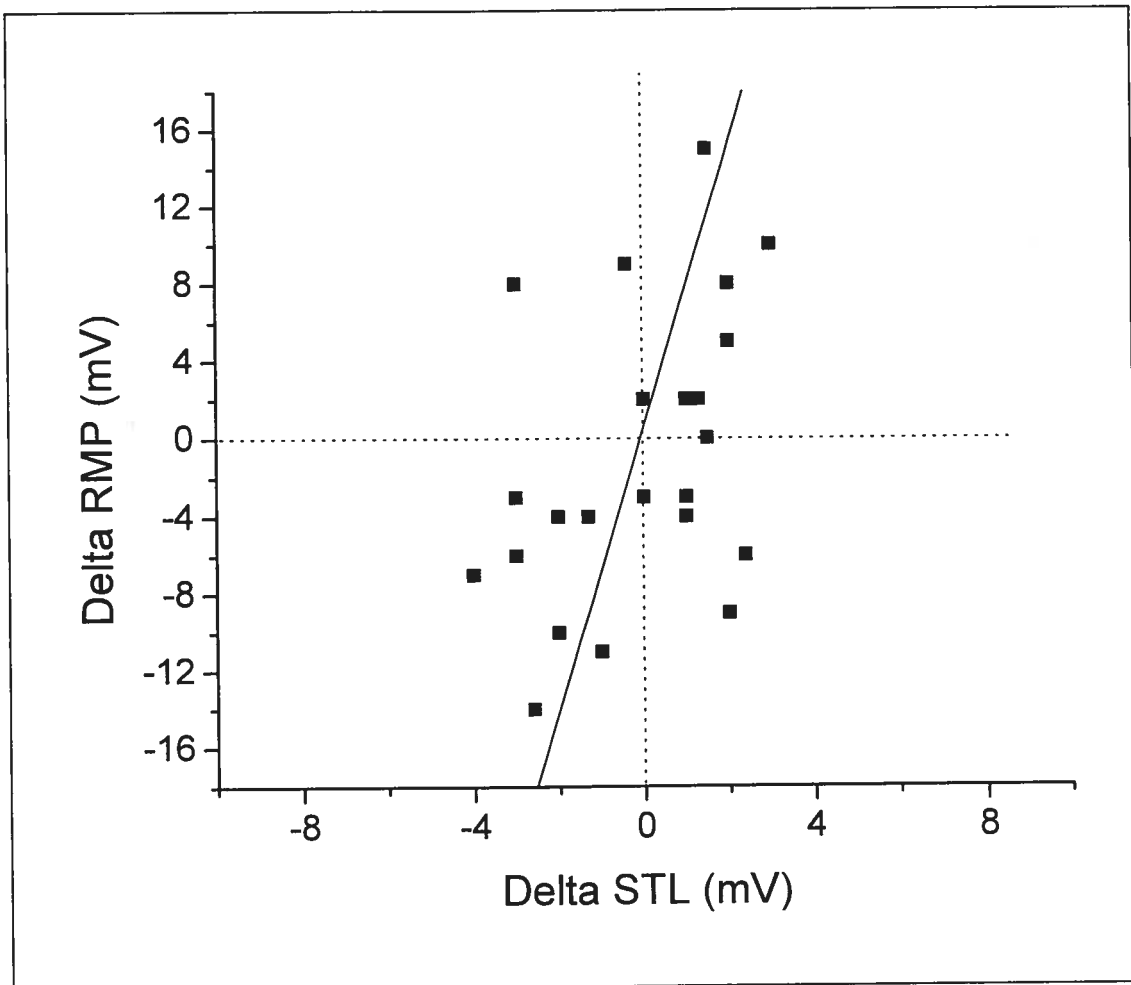


TABLE 5.1 Propriétés des motoneurones pour les rats contrôles et entraînés.

Propriétés	Motoneurones rapides		Motoneurones lents	
	Contrôles	Entraînés	Contrôles	Entraînés
Amplitude du potentiel d'action antidromique (mV)	73.6 ± 9.1 (37)	68.9 ± 8.1 (32)	79.8 ± 12.0 (30)	71.8 ± 6.6 (15)
Résistance d'entrée (MΩ)	1.9 ± 0.7 (31)	1.3 ± 1.0 (32)	2.6 ± 1.6 (32)	2.8 ± 2.4 * (15)
Rhéobase (nA)	8.3 ± 4.1 (36)	8.2 ± 3.9 (35)	6.6 ± 3.8 (36)	5.3 ± 3.1 * (16)
RMP (mV)	-59.3 ± 7.8 (39)	-66.0 ± 6.9 (35)	-61.9 ± 8.8 (36)	-67.4 ± 6.6 † (16)
STL (mV)	-41.0 ± 8.6 (39)	-46.7 ± 5.9 (35)	-40.6 ± 12.2 (35)	-48.9 ± 5.2 † (16)
V _{th} mesuré (mV)	18.3 ± 10.4 (39)	19.4 ± 7.9 (35)	21.5 ± 9.7 (35)	18.4 ± 6.6 (16)
AHP demi temps (ms)	14.4 ± 3.9 (39)	15.0 ± 2.9 (33)	29.0 ± 5.6 (36)	26.2 ± 4.3 * (16)
AHP amplitude (mV)	1.8 ± 0.7 (33)	1.4 ± 0.7 (33)	2.8 ± 1.5 (35)	2.6 ± 1.4 * (16)
Temps de montée du potentiel d'action (ms)	1.0 ± 0.2 (38)	0.7 ± 0.2 (35)	1.0 ± 0.3 (24)	0.8 ± 0.1 † (15)
Latence du potentiel d'action (ms)	1.8 ± 0.4 (36)	1.4 ± 0.3 (35)	2.5 ± 0.4 (22)	2.2 ± 0.5 * (15)
Constante de temps membranaire (τ _m , ms)	3.1 ± 1.2 (32)	3.5 ± 1.3 (30)	3.6 ± 0.9 (25)	3.6 ± 0.8 (13)
L (mm)	1.4 ± 0.6 (32)	1.4 ± 0.9 (30)	1.6 ± 0.5 (25)	1.4 ± 0.5 (13)
Capacitance (nF)	3.6 ± 3.3 (25)	5.0 ± 4.5 ‡ (28)	2.6 ± 0.9 (24)	2.5 ± 2.2 (13)

Les valeurs moyennes sont présentées avec \pm l'écart-type, avec le nombre de motoneurones entre parenthèse. Un effet significatif ($p < 0.01$) du type de motoneurone (*), de l'activité (†) ou une interaction significative du type de motoneurone et de l'activité (‡) est indiquée à côté des moyennes qui sont différentes des autres moyennes.

5.2 Discussion

La découverte la plus intéressante de cette étude est qu'une augmentation du niveau d'activité physique sous la forme d'un entraînement en endurance sur tapis roulant change les propriétés biophysiques des motoneurones; ce qui a comme conséquence de modifier leur excitabilité, ainsi que leurs propriétés fonctionnelles une fois qu'ils sont excités. Les changements sont similaires à ceux des rats qui ont été exposés à une augmentation de l'activité volontaire lors d'une étude antérieure (Beaumont et Gardiner, 2002). De plus, il semblerait que plusieurs de ces changements se produisent également avec les motoneurones qui sont habituellement plus difficiles à recruter de manière volontaire; il s'agit des motoneurones rapides. Ce type d'exercice physique semble donc suffisamment intense pour recruter l'ensemble des motoneurones responsables d'activer les muscles locomoteurs.

Dans une étude antérieure, nous avons mentionné que les rats qui couraient de manière volontaire et qui parcouraient en moyenne 13 km par jour pendant 12 semaines possédaient des motoneurones lents (demi-temps de l'AHP > 20 ms) avec des propriétés électrophysiologiques différentes des rats contrôles. Plus spécifiquement, ces différences étaient une hyperpolarisation du potentiel membranaire de repos et le seuil du déclenchement du potentiel d'action (les deux avec environ 6 mV), en plus d'une augmentation de l'amplitude de l'AHP. Or, suivant un entraînement en endurance de 16 semaines, l'amplitude des changements du RMP ainsi que du STL étaient similaires à notre étude antérieure et se produisaient pour les deux types de motoneurones (lents et rapides). Nous pouvons alors penser qu'une augmentation de l'intensité neuromusculaire qui se produit durant la course sur le tapis roulant à 30 m/min, en comparaison avec les

rats ayant couru de façon volontaire, augmente la proportion des motoneurones qui ont subi des changements provoqués par cet entraînement. Cette proposition est supportée par des études antérieures qui ont trouvé des changements plus importants en ce qui concerne l'activité des enzymes mitochondriales dans les muscles rapides, en comparaison avec l'entraînement volontaire (Rodnick, Reaven et al., 1989).

Les adaptations des motoneurones dans ces deux modèles d'augmentation du niveau d'activité physique ne sont pas seulement quantitativement différentes, c'est-à-dire que plus de motoneurones sont modifiés. De plus, des différences qualitatives sont également évidentes concernant la manière dont les motoneurones lents sont influencés suivant ces deux types d'augmentation du niveau d'activité physique. Les rats qui ont couru de manière volontaire ont subi des changements : une augmentation de l'amplitude de l'AHP et de la hauteur du potentiel d'action orthodromique. Ce qui ne se produit pas suivant un entraînement en endurance sur tapis roulant. De plus, le temps de montée du potentiel d'action était diminué suivant un entraînement en endurance, mais sans changement suite à un entraînement volontaire. Il semble donc que les différents changements qui se produisent suivant une augmentation du niveau d'activité neuromusculaire soient une hyperpolarisation du RMP et STL, une augmentation de l'amplitude de l'AHP, une augmentation de la hauteur du potentiel d'action orthodromique et une diminution du temps requis pour la montée du potentiel d'action. Ces changements peuvent se produire indépendamment et ne sont donc pas reliés aux changements de conductance des mêmes canaux ioniques membranaires. Étant donné que l'entraînement en endurance est une activité physique plus intense mais de plus courte durée (Rodnick, Reaven et al., 1989), il semble que certains de ces changements (AHP et l'amplitude du potentiel d'action) observés pour les animaux qui ont couru de

façon volontaire requièrent une période de course plus longue pour se modifier, (13 km au lieu de 3,6 km) en comparaison avec le potentiel membranaire de repos, le seuil de déclenchement du potentiel d'action et la durée de montée du potentiel d'action.

Les mécanismes qui sont responsables de ces changements dans les propriétés des motoneurones sont actuellement inconnus, mais pourraient nécessiter une augmentation de l'activité des neurotrophines. Lors d'études antérieures, les changements dans les motoneurones suivant un entraînement en endurance étaient une augmentation des enzymes oxydatives (Suzuki, Tsuzimoto et al., 1991), du transport axonal rapide (Kang, Lavoie et al., 1995) et de la dynamique de la transmission neuromusculaire (Desaulniers, Lavoie et al., 2001; Dorlochter, Irintchev et al., 1991). Récemment, des évidences ont démontré qu'une séance d'exercice quotidienne pendant une période de 7 jours provoquait une augmentation de l'expression des neurotrophines 3 dans la moelle épinière (NT-3), du "Brain-derived neurothrophic factor "(BDNF), des récepteurs trkB et de la synapsin I (Gomez-Pinilla, Ying et al., 2001; Gomez-Pinilla, Ying et al., 2002; Opazo, Ying et al., 2001). Ces changements dans la quantité de facteurs trophiques suivant une augmentation du niveau d'activité physique, seraient responsables d'une modification de l'excitabilité, de l'optimisation de la décharge rythmique induite par les courants ioniques membranaires et d'une amélioration de la réponse métabolique.

Conjointement, les adaptations sont similaires à celles qui se produisent suivant une période d'apprentissage. Par exemple, une sensibilisation à long terme du "tail-siphon withdrawal reflex", en utilisant l'aplasie de Californie, produit une hyperpolarisation du RMP et STL au niveau des motoneurones impliqués (Cleary, Lee et al., 1998). L'évidence d'une augmentation de l'activation chronique de cet organe

terminal serait responsable de ces changements. Par exemple, Nick et Ribera ont démontré que les motoneurones qui ont perdu l'aspect fonctionnel de leur jonction neuromusculaire démontraient une dépolarisation du potentiel membranaire de repos, une diminution de la capacitance membranaire, une diminution de la densité des canaux potassiques et une prolongation de la durée du potentiel d'action. Ces changements sont de moindre importance lorsqu'on administre une solution de NT-3. Dans cette étude, il est possible que les changements observés soient l'inverse des changements survenus lors des expériences de Nick et Ribera, 2000. Concrètement, il se produit une hyperpolarisation du potentiel membranaire de repos, une diminution du temps nécessaire à l'exécution du potentiel d'action et une augmentation de la capacitance membranaire. Dès lors, un effet de l'organe terminal sur les motoneurones par un mécanisme impliquant un effet rétrograde pourrait expliquer pourquoi la stimulation électrique chronique des muscles (Gordon, Tyreman et al., 1997), le blocage chronique des nerfs (Czeh, Gallego et al., 1978) et l'administration chronique des substances neurotrophiques dans les muscles (Gonzalez et Collins, 1997) pourraient être responsables des changements observés dans les propriétés des motoneurones.

De plus, en procédant à une modélisation des motoneurones chez le chat, la meilleure explication des changements qui surviennent dans le STL et RMP serait une augmentation de la conductance du courant sodique entrant rapide et/ou une diminution de la conductance du courant potassique rapide qui rectifie le voltage sous le seuil du déclenchement du potentiel d'action. Il pourrait également y avoir un petit déplacement de la sensibilité au voltage dans la direction hyperpolarisante des canaux situés près ou directement sur le segment initial (Dai, Jones et al., 2002; Dai, Jones et al., 1998). Ces changements auraient un effet cumulatif d'augmenter le courant net entrant sous le seuil

du déclenchement du potentiel d'action, et alors hyperpolariser le STL. Une adaptation des motoneurones rapides dans notre étude était accompagnée d'une augmentation de la capacitance membranaire, ce qui suggère une augmentation du volume cellulaire. Des études antérieures sur les propriétés physiques des motoneurones ont démontré qu'il ne se produisait aucun changement dans la taille des motoneurones (Nakano, Masuda et al., 1997; Samorajski et Rolsten, 1975; Seburn, Coicou et al., 1994) ni même une diminution du volume cellulaire (Finkelstein, Lang et al., 1991) et ce, en procédant à une analyse histochimique suivant une augmentation chronique du niveau d'activité. Cependant, dans notre étude, la résistance d'entrée et le courant rhéobasique n'ont pas été influencés par l'activité, même s'il s'est produit une augmentation de la capacitance membranaire pour les motoneurones rapides (table 5.1, figure 5.4 et 5.5). Ces observations suggèrent qu'une augmentation du niveau d'activité augmente la résistance membranaire spécifique et/ou la complexité de l'arborisation dendritique des motoneurones rapides. En fait, les dendrites représentent approximativement 95% du volume cellulaire (Geinisman, Berry et al., 2001) et ont une résistivité membranaire supérieure en comparaison avec le corps cellulaire (100 à 300 fois) (Clements et Redman, 1989; Rose et Dagum, 1988; Rose et Vanner, 1988). Ces changements qui surviennent dans les motoneurones rapides entraînés sont exactement l'inverse de ce qui se produit avec les motoneurones des chats suivant une axotomie. C'est-à-dire une diminution de la capacitance membranaire qui n'est pas parallèle à l'augmentation de la résistance d'entrée (Hochman et McCrea, 1994).

Ces adaptations physiologiques sont causées par une altération des propriétés des canaux ioniques. Ces modifications, qui ne sont pas encore identifiés précisément, pourraient inclure n'importe quelle combinaison produisant un changement dans la

composition des sous-unités, de la modulation, de la densité, du nombre et de la localisation des nombreux canaux ioniques (Hille, 2001). Prochainement, nous pensons diriger nos recherches sur les propriétés rythmiques des motoneurones entraînés et utiliser l'iontophorèse de certains bloqueurs spécifiques dans le but d'identifier les conductances qui sont altérées pour produire ces modifications. Il serait également intéressant de déterminer les signaux métaboliques qui sont impliqués dans les changements des propriétés biophysiques des motoneurones suivant une augmentation du niveau d'activité physique.

En conclusion, l'entraînement en endurance sur le tapis roulant à raison de 2 heures par jour a causé une hyperpolarisation du potentiel membranaire de repos et du seuil du déclenchement du potentiel d'action dans les motoneurones innervant le triceps sura. Ces changements sont également présents pour les rats qui ont couru de façon volontaire pour une période de 12 semaines. Or, l'entraînement en endurance a provoqué ces changements dans les motoneurones rapides également (demi-temps de l'AHP < 20 ms), en plus d'une augmentation de la capacitance membranaire de ces derniers. Cependant, les changements survenus suite à un entraînement en endurance au niveau des motoneurones lents sont qualitativement différents de ce qui se produit suivant une période d'entraînement physique volontaire (diminution du temps de montée du potentiel d'action). Ces adaptations, qui impliquent des changements dans la conductance des canaux ioniques, pourraient avoir des implications permettant de modifier l'excitabilité des motoneurones suivant la production des bouffées de potentiels d'action. D'autres travaux seront nécessaires pour pouvoir trouver le stimulus et les changements moléculaires précis causant les modifications biophysiques des motoneurones.

Chapitre 6. Résultats et discussion de l'étude 3.

La transplantation de cellules embryonnaires et l'exercice passif sur bicyclette ergométriques aident à rétablir les propriétés électrophysiologiques des motoneurones suite à une lésion complète de la moelle épinière au niveau T10.

6.1.1 Description des groupes.

Les données sont résumées dans les tables 1 et 2 et incluent 75 motoneurones provenant de 13 rats confinés dans des cages de plastique standard pour le groupe contrôle. Le groupe transecté uniquement (Tx) inclut 77 motoneurones provenant de 19 rats. Le groupe transecté qui a reçu une greffe de tissu fœtal embryonnaire au moment de la chirurgie (TxTp) inclut 73 motoneurones de 13 rats. Finalement, le groupe ayant fait de l'exercice passif suite à la transection au niveau T10 (TxEx) inclut 62 motoneurones provenant de 10 rats.

Les propriétés passives des motoneurones sont comparées dans la table 1 pour la totalité des motoneurones et ce, sans distinction entre les rapides (AHP demi-temps < 20 ms) et les lents (AHP demi-temps > 20 ms), comme nous avons fait lors d'études antérieures (Beaumont et Gardiner, 2002; Cormery, Marini et al., 2000; Gardiner, 1993). Le but était alors de vérifier l'effet global de la transection sur les motoneurones du nerf tibial. Or, seulement les motoneurones rapides ont été utilisés pour comparer les propriétés rythmiques, étant donné que le nombre de cellules lentes (AHP demi-temps > 20 ms) était trop limité pour pouvoir procéder à une analyse statistique adéquate.

6.1.2 Différence entre les groupes pour les propriétés de base des motoneurones.

Une analyse statistique utilisant un MANCOVA suivie d'un test post-hoc de Tuckey permet de déceler les différences entre les groupes pour tous les motoneurones. Le potentiel membranaire de repos (RMP) était significativement ($p < 0.001$) plus dépolarisé pour le groupe Tx (-54.1 ± 5.6 mV) en comparaison avec les autres groupes (-61.0 ± 8.6 mV, contrôles, -58.4 ± 7.7 mV, TxTp et -61.5 ± 6.0 mV, TxEx). Ces différences persistent même quand l'amplitude de l'AHP et la hauteur du potentiel d'action orthodromique sont utilisées comme covariables. Quand le seuil du déclenchement du potentiel d'action (STL) est utilisé comme covariable, une différence supplémentaire entre les groupes TxEx et TxTp a été trouvée ($p < 0.03$) (Table 6.1, Figure 6.1). Ces résultats nous montrent que l'exercice passif et la transplantation de cellules embryonnaires maintiennent le potentiel membranaire près des valeurs retrouvées chez les animaux contrôles et que l'exercice passif a un effet supérieur au transplant. Une distribution en percentile du potentiel membranaire de repos, illustrée à la figure 6.2, nous montre exactement où la différence entre les groupes se trouve.

De plus, un effet significatif a été trouvé pour le seuil du déclenchement du potentiel d'action (STL) entre les groupes Tx (-37.3 ± 7.9) en comparaison avec les autres groupes (-41.2 ± 10.2 , contrôles, -42.1 ± 8.6 , TxTp et -44.6 ± 7.7 , TxEx) tel que démontré à la table 6.1 et la figure 6.1. Ces différences persistent même quand le RMP, l'amplitude de l'AHP et la hauteur du potentiel d'action antidromique sont utilisés comme covariables, indiquant que les effets liés aux différents traitements ne sont pas

causés par une variation dans la qualité des enregistrements intracellulaires. Une distribution en percentile du STL est illustrée à la figure 6.3.

Pour vérifier si les changements dans le STL et le RMP entre les groupes étaient plus évidents pour les petits que pour les gros motoneurones, nous avons décidé de les séparer en utilisant la résistance d'entrée, qui est un indice de taille de la cellule (Henneman, Somjen et al., 1965). Les changements dans le STL et le RMP entre les groupes étaient aussi importants pour les petits que pour les gros motoneurones et aucune interaction, en utilisant une analyse MANCOVA à 2-voies, a été trouvée en séparant les motoneurones selon leur taille. Ceci nous montre bien que les deux traitements (transplant de tissu nerveux fœtal et exercice passif) aident à rétablir les propriétés électrophysiologiques des motoneurones alpha, sans aucune discrimination des motoneurones qui sont différents en terme de taille et d'excitabilité.

6.1.3 Propriétés des fréquences de décharge.

Nous avons étudié les propriétés rythmiques de 32 motoneurones qui produisaient des trains de potentiels d'action suite à une injection de courant dépolarisant d'une durée de 500 ms. Ces motoneurones démontraient une constance concernant la fréquence de décharge avec une intensité de courant ascendante ou descendante. Ce qui nous permettait de déterminer les pentes de la relation fréquence-courant (f/I) entre les groupes. Les motoneurones qui ne déchargeaient pas suite à une injection de courant dépolarisant ont été exclus de l'analyse. Les moyennes des paramètres électrophysiologiques de base de ces 32 motoneurones, qui ont servi à évaluer la fréquence de décharge, sont similaires aux résultats des groupes plus complets (table 6.1). Une analyse statistique utilisant un MANOVA, suivie d'un test post-hoc de

Tuckey, révèle que les cinq premiers intervalles, en plus du dernier intervalle d'une période d'injection de courant de 500 ms, avaient des pentes plus élevées (f/I) ($p < 0.01$) pour les animaux contrôles en comparaison avec les animaux transectés (Tx) (voir table 6.2). De plus, pour le premier intervalle, les motoneurons des groupes TxEx (27.6 ± 7.7 Hz/nA) et TxTp (26.5 ± 9.6 Hz/nA) avaient des pentes (f/I) plus élevées que les animaux appartenant au groupe Tx (11.2 ± 5.0 Hz/nA). La figure 6.4 représente 2 exemples typiques de la relation fréquence-courant pour le premier intervalle, ainsi que pour le dernier intervalle d'une période de 500 ms pour chacun des groupes. Pour le deuxième intervalle, les groupes TxTp (6.9 ± 3.8 Hz/nA) et TxEx (6.3 ± 3.0 Hz/nA) démontraient des valeurs de pente significativement plus basses que les animaux contrôles, mais avec une tendance à être supérieures au groupe (Tx) (table 6.2). Deux exemples typiques d'un train de potentiel d'action suite à une injection continue de courant dépolarisant de 500 ms pour le groupe contrôle et Tx sont montrés à la figure 6.5. L'augmentation de la durée nécessaire pour produire le deuxième potentiel d'action pour le groupe Tx (haut de la figure) pour une intensité de courant inférieure à 14 nA était la plus grande modification de la fréquence de décharge suite à une transection de la moelle épinière. De plus, une relation linéaire ($R = 0,51$) significative a été trouvée entre les STL et la pente de la fréquence de décharge pour le premier intervalle, illustré à la figure 6.6. Ce résultat nous indique qu'une hyperpolarisation du STL tend à augmenter la pente de la fréquence de décharge pour le premier intervalle.

Figure 6.1 Effet des traitements sur le potentiel membranaire de repos (RMP) et du seuil du déclenchement du potentiel d'action (STL). L'astérisque indique une différence significative par rapport aux autres moyennes ($p < 0.01$) et la croix indique une différence significative par rapport aux autres moyennes ($p < 0.05$). La double croix indique une différence significative par rapport au groupe TxEx ($p < 0.03$) quand STL est utilisé comme covariable.

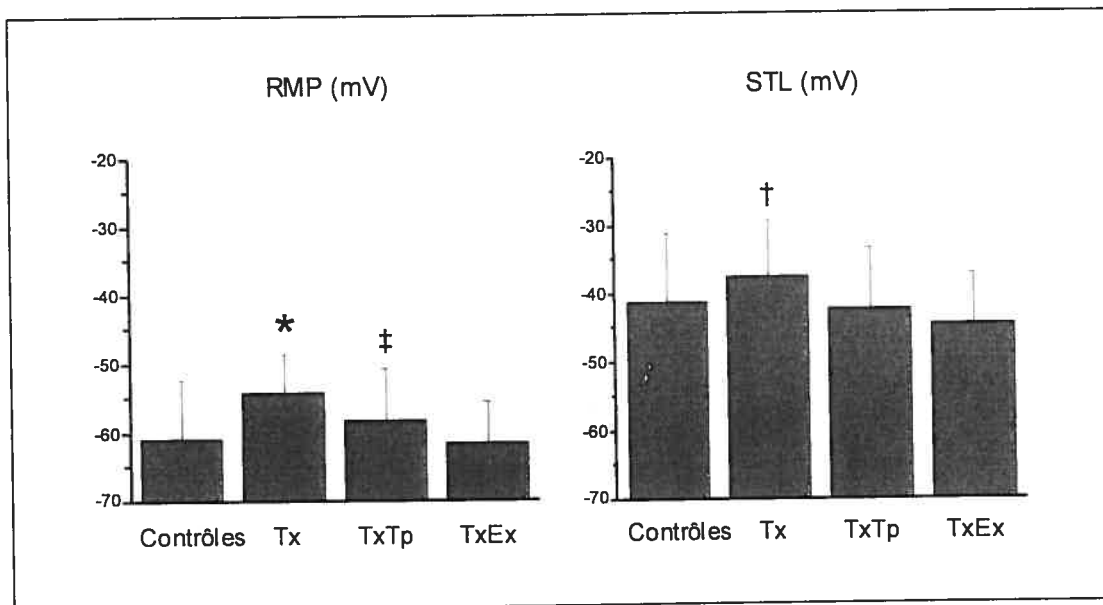


Figure 6.2 Distribution en percentile pour le potentiel membranaire de repos (RMP) entre le groupe contrôle (carré plein), transecté seulement (Tx, cercle ouvert), transecté plus transplant (TxTp, triangle ouvert vers le haut) et transecté plus exercice (TxEx, triangle plein vers le bas). Les flèches indiquent les moyennes.

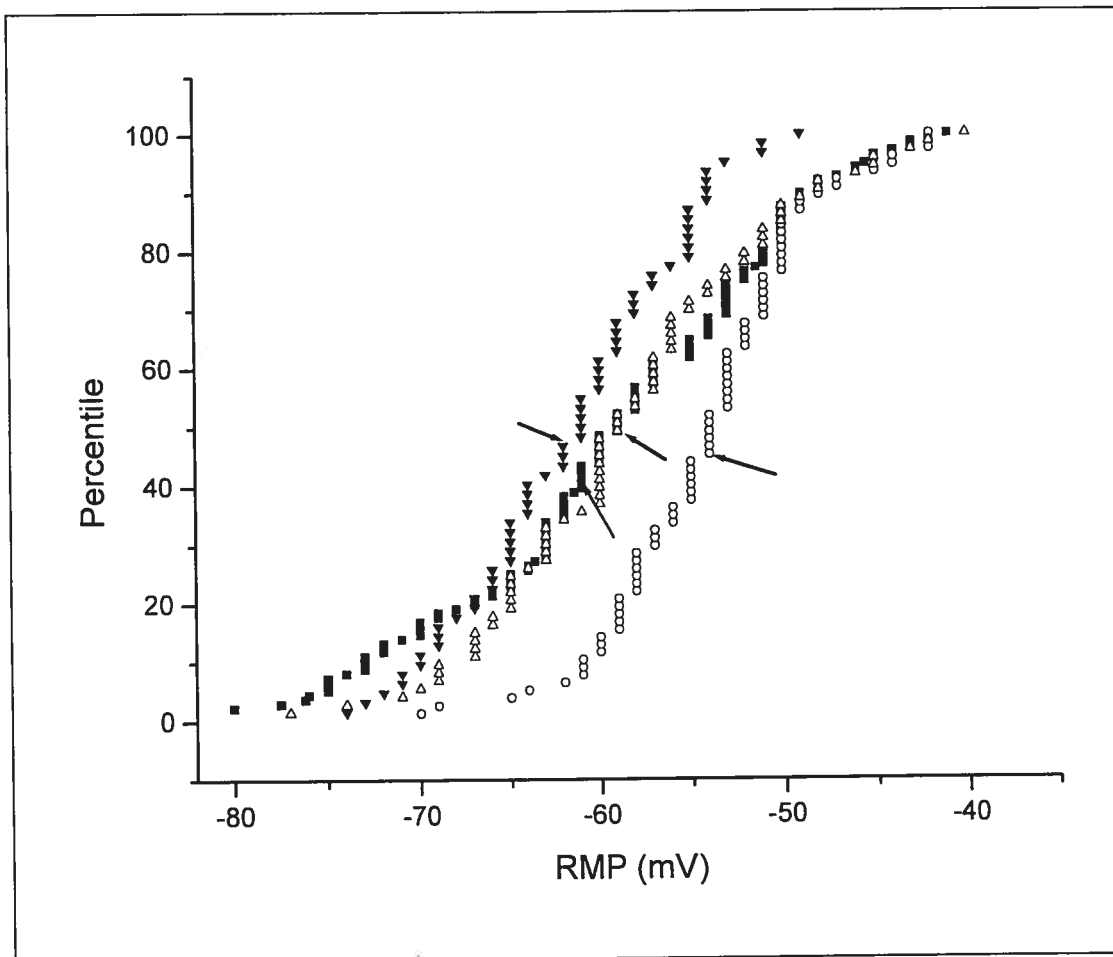


Figure 6.3 Distribution en percentile pour le seuil du déclenchement du potentiel d'action (STL) entre le groupe contrôle (carré plein), transecté seulement (Tx, cercle ouvert), transecté plus transplant (TxTp, triangle ouvert vers le haut) et transecté plus exercice (TxEx, triangle plein vers le bas). Les flèches indiquent les moyennes.

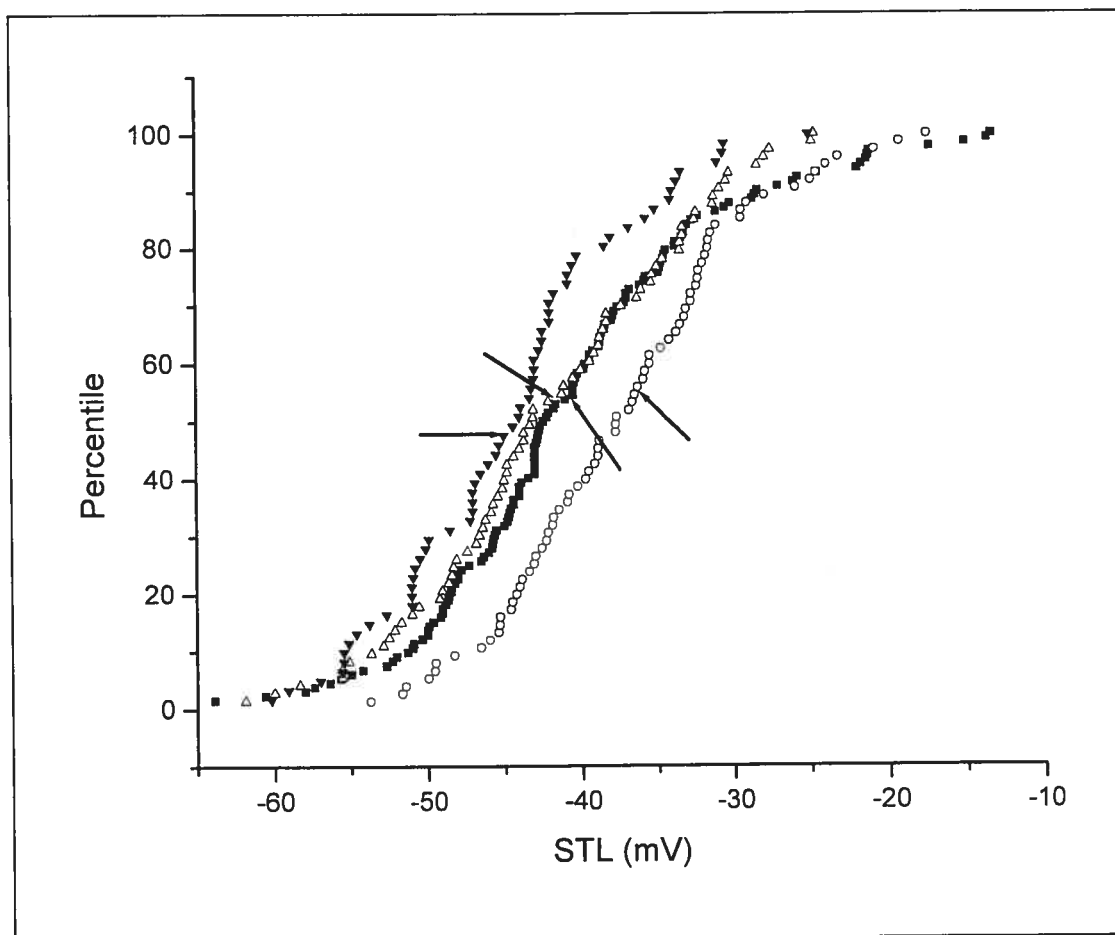


Figure 6.4 Exemple de la relation fréquence courant (f-I) pour le premier intervalle et le dernier intervalle pour les groupes contrôles (con) (35.2 ± 1.6 , carré plein), transecté seulement (Tx) (11.8 ± 0.5 , cercle ouvert), transecté plus transplant (TxTp) (26.2 ± 1.5 , triangle ouvert vers le haut) transecté plus exercice (TxEx) (26.3 ± 0.9 , triangle plein vers le bas).

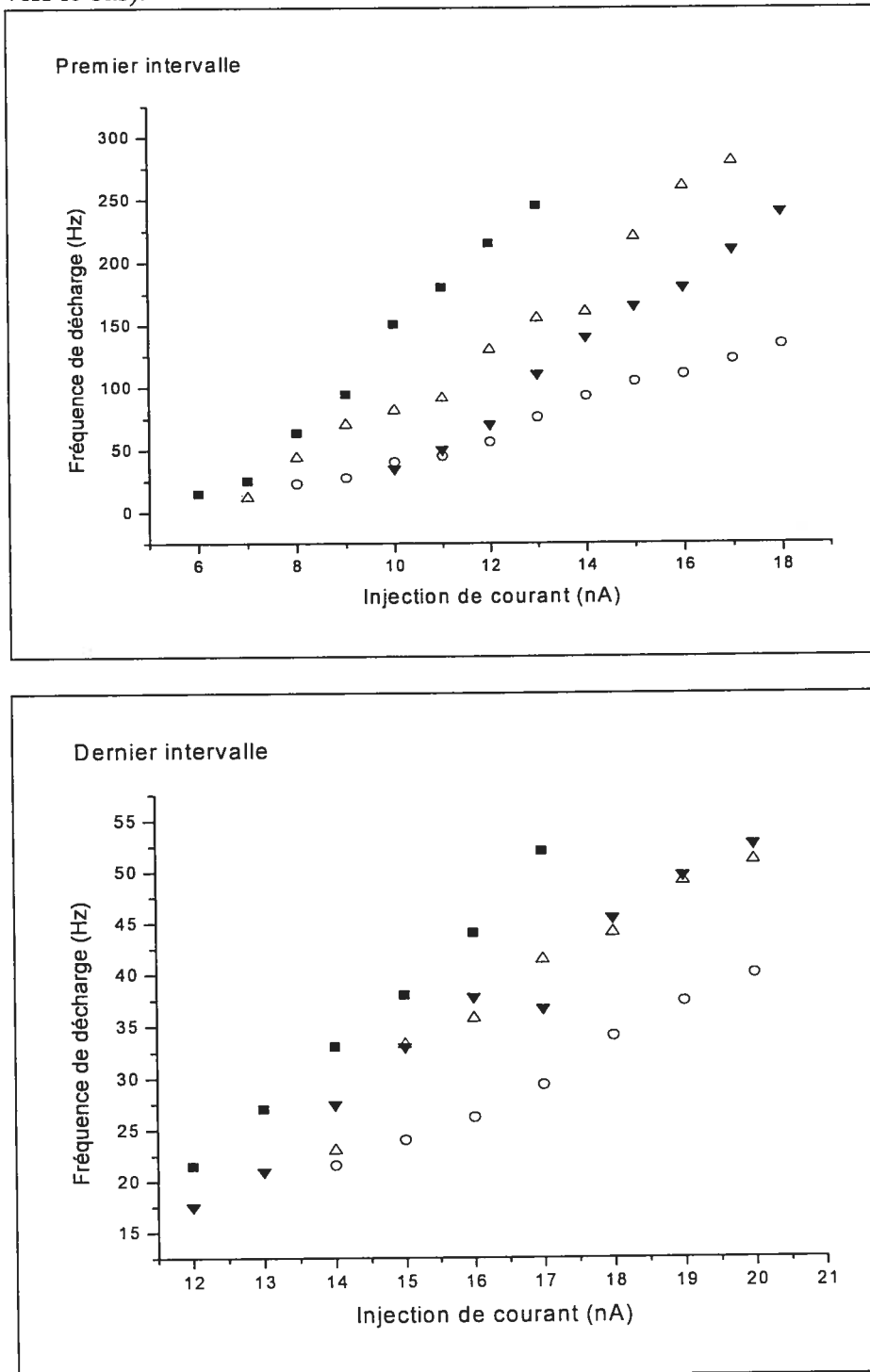


Figure 6.5 Deux exemples de fréquence de décharge. Le premier exemple en haut représente une situation pour les animaux transectés seulement (Tx). Le deuxième exemple en bas représente un exemple du groupe contrôle.

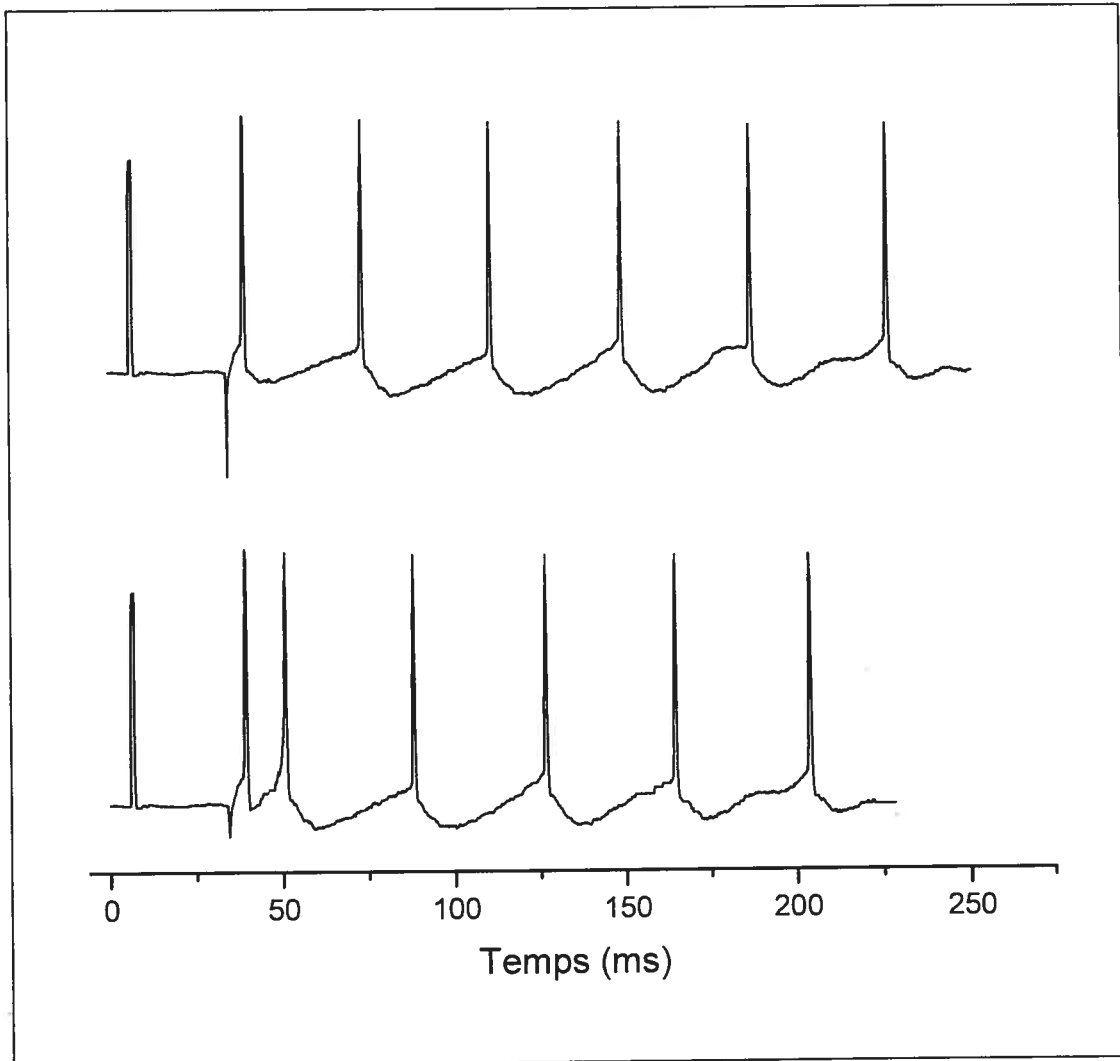


Figure 6.6 Relation entre le seuil du déclenchement du potentiel d'action et de la fréquence de décharge pour le premier intervalle pour toutes les cellules. La relation est significative avec ($R = 0.51$)

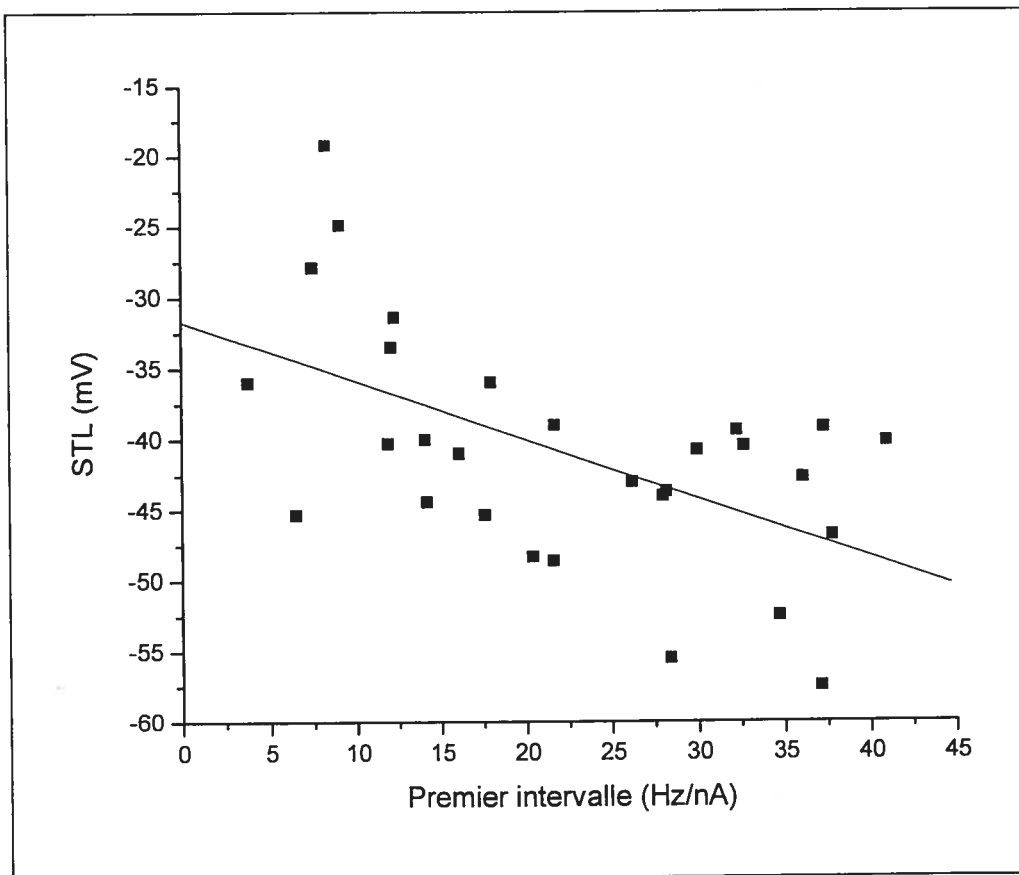


TABLE 6.1 Propriétés passives des motoneurones

	Contrôle	Tx	TxTp	TxEx
RMP (mV)	-61.0 ± 8.6 (75)	-54.1 ± 5.6 * (77)	-58.4 ± 7.7 (73)	-61.5 ± 6.0 ‡ (62)
STL (mV)	-41.2 ± 10.2 (74)	-37.3 ± 7.9 † (75)	-42.1 ± 8.6 (73)	-44.6 ± 7.7 (61)
Résistance d'entrée (MΩ)	2.2 ± 1.5 (62)	2.0 ± 1.3 (64)	1.9 ± 1.2 (52)	1.5 ± 1.4 (45)
Rhéobase (nA)	7.5 ± 4.0 (72)	6.4 ± 3.6 (76)	6.2 ± 3.7 (73)	7.0 ± 4.0 (62)
Hauteur du potentiel d'action rhéobasique (mV)	63.3 ± 8.3 (75)	59.7 ± 6.4 (75)	56.3 ± 6.5 (73)	56.0 ± 6.4 (61)
Hauteur du potentiel d'action (mV)	83.2 ± 13.2 (74)	76.6 ± 10.3 (75)	72.7 ± 9.8 (73)	73.1 ± 10.0 (61)
V _{th} mesuré (mV)	19.8 ± 10.1 (74)	16.9 ± 8.6 (75)	16.3 ± 7.8 (73)	17.1 ± 8.6 (61)
Demi-temps de l'AHP (ms)	21.4 ± 8.8 (75)	19.7 ± 6.4 (77)	18.1 ± 6.3 (71)	17.0 ± 5.0 (58)
Amplitude de l'AHP (mV) (motoneurones rapides, AHP < 20 ms)	1.7 ± 0.8 (56)	2.1 ± 0.8 (48)	2.2 ± 1.4 (54)	1.6 ± 0.8 (48)
Constante de temps membranaire (ms)	3.8 ± 1.5 (28)	3.2 ± 1.9 (27)	3.2 ± 1.0 (26)	2.7 ± 0.9 (28)
Capacitance (nF)	3.1 ± 2.6 (28)	2.2 ± 2.9 (27)	3.5 ± 3.3 (26)	4.7 ± 5.4 (28)

Les valeurs sont les moyennes ± l'écart type, avec le nombre de motoneurones entre parenthèse.

* Significativement différent par rapport au groupe contrôle, TxTp et TxEx à $p < 0.01$.

† Significativement différent par rapport au groupe contrôle, TxTp et TxEx à $p < 0.05$.

‡ Significativement différent par rapport au groupe TxTp à $p < 0.03$.

TABLE 6.2. Propriétés rythmiques des motoneurones rapides (AHP < 20 ms)

Pente en impulsion/(sec*nA)	Contrôle	Tx	TxTp	TxEx
Premier intervalle (n)	34.6 ± 4.3 (8)	11.2 ± 5.0 * (11)	27.6 ± 7.7 † (7)	26.5 ± 9.6 † (6)
Second intervalle (n)	13.4 ± 6.3 (8)	5.4 ± 1.1 * (11)	6.9 ± 3.8 * (7)	6.3 ± 3.0 * (6)
Troisième intervalle (n)	8.2 ± 1.8 (8)	5.1 ± 1.0 * (11)	6.2 ± 2.4 (7)	6.1 ± 2.8 (6)
Quatrième intervalle (n)	7.9 ± 2.1 (8)	4.8 ± 0.8 * (11)	5.8 ± 2.2 (7)	5.9 ± 1.8 (6)
Cinquième intervalle (n)	7.2 ± 1.5 (8)	4.5 ± 0.8 * (11)	5.3 ± 1.5 (7)	5.3 ± 1.4 (6)
Dernier intervalle (n)	6.0 ± 1.3 (8)	3.4 ± 1.5 * (11)	4.5 ± 1.3 (7)	4.3 ± 0.8 (6)

Les valeurs sont les moyennes ± l'écart type, avec le nombre de motoneurones entre parenthèse.

* Significativement différent par rapport au groupe contrôle à $p < 0.01$.

† Significativement différent par rapport au groupe Tx à $p < 0.01$.

6.2 Discussion

Ces données confirment que les propriétés électriques des motoneurones qui sont situés dans la région lombaire, incluant les propriétés rythmiques, sont modifiées suivant une transection de la moelle au niveau thoracique (T10). Plusieurs études ont montré ces changements (Baker et Chandler, 1987; Cope, Bodine et al., 1986; Czeh, Gallego et al., 1978; Hochman et McCrea, 1994; Munson, Foehring et al., 1986). Donc, les motoneurones sont une cible de plasticité neuromusculaire, en réponse à une baisse de l'activité associée à une perte des afférences supra-spinales. L'effet le plus important suivant une transection de la moelle épinière est une dépolarisation du potentiel membranaire de repos et du seuil pour déclencher un potentiel d'action d'environ 7 mV. Des changements similaires ont également été reportés chez les chats transectés (Cope, Bodine et al., 1986; Hochman et McCrea, 1994).

Concernant les effets de l'exercice passif, une des spécificités de cette étude est la démonstration que l'exercice passif exécuté suivant une transection modère les changements au niveau des motoneurones. L'importance de l'adaptation musculaire pour promouvoir ces changements n'est pas bien connue présentement. Par exemple, suivant une réinnervation du muscle soléaire avec des motoneurones appartenant au muscle gastrocnémien, une proportion de ces nerfs originalement rapides se transforment en nerfs lents (Foehring, Sybert et al., 1986). De plus, l'infusion chronique de BDNF dans le muscle gastrocnémien des rats entraîne une diminution du courant rhéobasique des motoneurones qui innervent ce muscle au bout de 5 jours (Gonzalez et Collins, 1997). Cette évidence suggère que les substances trophiques sécrétées par les muscles soient captées par les nerfs et influencent les propriétés des motoneurones. Une

telle influence rétrograde pourrait expliquer partiellement les adaptations des motoneurones suivant un entraînement passif sur une bicyclette ergométrique, car un étirement passif des muscles après une transection tend à préserver le poids des muscles, la tension téanique et l'activité de l'ATPase près des valeur retrouvées chez les animaux contrôles (Roy, Pierotti et al., 1998).

Une autre spécificité de cette étude est que la transplantation de tissu foetal tout de suite après la transection, comme l'exercice passif, cause une diminution des effets de la transection sur les propriétés des motoneurones. Il a également été démontré que les effets du transplant étaient bénéfiques pour diminuer l'atrophie musculaire suivant une transection (Houle, Morris et al., 1999; Murphy, Dupont-Versteegden et al., 1999), probablement causée par une production de facteurs trophiques par les cellules du transplant qui sont restées vivantes, comme le BDNF, NGF, CNTF et NT-3. Une partie des ces facteurs trophiques pourrait avoir une influence sur les motoneurones directement.

Quelques différences entre les groupes sont également présentes concernant les propriétés rythmiques des motoneurones. La pente de la relation courant-fréquence (f/I) des motoneurones est déterminée par deux mécanismes; 1) la durée et l'amplitude de l'AHP, et 2) l'amplitude et la cinétique des courants entrants entre les potentiels d'action (Catterall, 1987). Dans notre étude, une modification de la pente concernant la relation fréquence-courant (f/I) pour le groupe transecté n'est pas accompagnée de changements significatifs de l'AHP (table 6.1). Alors, nous devons présumer que les courants entrants sont altérés dans les motoneurones suivant une transection. En fait, les changements qui ont été trouvés, en ce qui concerne le RMP et STL, sont eux aussi influencés par les courants ioniques des motoneurones. En effet, la meilleure explication face aux

changements qui surviennent dans le STL et RMP serait une diminution de la conductance du courant sodique entrant rapide et/ou une augmentation de la conductance du courant potassique rapide qui rectifie le voltage sous le seuil du déclenchement du potentiel d'action. Il pourrait également y avoir un petit déplacement de la sensibilité au voltage dans la direction dépolarisante des canaux situés près ou directement sur le segment initial (Dai, Jones et al., 2002; Dai, Jones et al., 1998). Ces changements auraient un effet cumulatif de diminuer le courant net entrant sous le seuil du déclenchement du potentiel d'action, et alors dépolariser le STL. Cette dépolarisation du STL causerait également une modification fonctionnelle en diminuant la pente de la relation (f/I) pour les animaux transectés, comme illustré à la figure 6.6.

Nous avons démontré récemment (Beaumont et Gardiner, 2002) que les rats qui couraient de manière volontaire durant 12 semaines avaient un RMP et STL hyperpolarisés d'environ 7 mV par rapport aux rats contrôles. Il semble alors que les conductances qui gouvernent ces propriétés, particulièrement la conductance sodique rapide et la conductance potassique rapide ayant un délai de rectification sous le seuil, sont sensibles au changement en activité. Ceci supporte que les résultats de cette étude sont ; 1) le RMP et STL sont modifiés dans les motoneurones des rats ayant été transectés dans une direction opposée en comparaison avec les rats ayant couru de façon volontaire pendant 12 semaines (Beaumont et Gardiner, 2002); et 2) que l'exercice passif dans cette étude diminue les effets que la transection induit sur ces propriétés. Les mécanismes exacts qui expliquent cette plasticité seront investigués ultérieurement. De plus, les mécanismes qui sont responsables de l'atténuation des effets de la transection avec un transplant de cellules embryonnaires sont peut-être différents de ceux de l'exercice passif et seront certainement la cible de nos prochaines investigations.

Notre groupe a trouvé que l'exercice passif sur bicyclette ergométrique, ainsi que le transplant de tissu nerveux fœtal préservait la modulation négative suivant une stimulation à haute fréquence du réflexe-H. Cette particularité est un indice de l'excitabilité des réflexes au niveau de la moelle (Skinner, Houle et al., 1996). En considérant nos résultats, une diminution de la pente de la fréquence de décharge (f/I) pour le groupe (Tx) pourrait compromettre la relation normale entre les nerfs et les muscles par un phénomène de sommation temporelle. La moyenne de la montée en force (pente de la force) produite par la pente de la montée en fréquence de décharge (f/I) est directement proportionnelle à la rampe d'injection de courant jusqu'à la force maximale (Baldissera, Campadelli et al., 1987). La pente qui relie la fonction de la force en fonction de la quantité de courant injecté dans le corps cellulaire est appelée le gain (dF/DI) des unités motrices sous des conditions dynamiques (Baldissera, 1984; Baldissera, Campadelli et al., 1982) Alors, la conservation partielle de la pente de la relation fréquence-courant pour les animaux appartenant au groupe TxTp ou TxEx, en comparaison avec les animaux transectés seulement (Tx), aide à préserver le gain (dF/DI) près des valeurs retrouvées chez les rats contrôles. Cet effet, en plus d'une conservation de la masse musculaire pour les groupes TxTp et TxEx, permet de garder l'intégrité des unités motrices, en comparaison avec les animaux ayant été transectés seulement.

En conclusion, l'exercice passif et la transplantation de tissu nerveux fœtal aident à rétablir les propriétés motoneuronales en plus des propriétés des décharges rythmiques dans les motoneurones. Les propriétés qui sont touchées par la transection et les traitements semblent être associées aux conductances ioniques impliquées lors des décharges rythmiques en réponse à une excitation nerveuse soutenue. Il est intéressant

de constater que même un entraînement passif ayant une faible intensité est un stimulus important pour rétablir les propriétés des motoneurones, et ceci pourrait servir de traitement chez les humains ayant eu un traumatisme au niveau de la moelle épinière.

Chapitre 7. Discussion générale, conclusions et perspectives de recherche future.

7.1 Discussion générale

En ce qui concerne la discussion générale de ces trois projets, je crois qu'il faut particulièrement mettre l'emphase sur les différentes conditions d'activité neuromusculaire chronique et de voir l'effet sur les propriétés électrophysiologiques des motoneurones alpha. En fait, les deux premiers projets consistaient à augmenter chroniquement, et de manière physiologique, l'utilisation du système locomoteur et de voir quels motoneurones pouvaient subir des changements. En fait, pour l'entraînement volontaire (projet 1), les motoneurones lents (demi-temps de l'AHP > 20 ms) étaient modifiés au bout de 12 semaines de course dans les roues. Or, le fait d'augmenter l'intensité de la course en procédant à un entraînement sur le tapis roulant (projet 2) a causé des modifications pour tous les motoneurones (lents et rapides). Même si la distance totale de course par jour était beaucoup moins importante pour l'entraînement sur le tapis roulant (3,6 km au lieu de 13 km), il semble que l'intensité et la durée de l'entraînement soient importantes pour déterminer quelles unités motrices seront utilisées pour induire des mouvements volontaires. Pour l'entraînement en endurance, les motoneurones lents, ainsi que les rapides sont nécessaires pour permettre à l'animal de pouvoir compléter sa période de course imposée. Par contre, les animaux qui ont couru de façon volontaire peuvent varier la vitesse et la durée de leur course comme ils le désirent. Alors, étant donné que l'intensité et la durée de l'entraînement diffèrent entre les deux protocoles, les modifications induites au niveau des motoneurones sont

différentes. Concrètement, les motoneurones qui doivent être utilisés de manière chronique durant l'un ou l'autre des protocoles d'entraînement subiront des changements dans leurs propriétés électrophysiologiques. Il est alors logique de conclure que les motoneurones lents sont majoritairement utilisés pour pouvoir courir 13 km par jour de manière volontaire. Par contre, étant donné que le patron de course est différent pour l'entraînement sur le tapis roulant, les unités motrices rapides doivent également être utilisées pour pouvoir conserver la même vitesse de course pendant l'exercice. Il semble donc que la distance de course, ainsi que l'intensité seraient importantes pour déterminer la nature et l'amplitude des changements au niveau des motoneurones.

Concernant le projet sur la transection, il est intéressant de voir que les changements dans les propriétés électrophysiologiques des motoneurones des animaux transectés uniquement (Tx) vont généralement dans une direction opposée aux changements observés suite à un programme d'entraînement. Le RMP et le STL deviennent plus positifs avec une dépolarisation d'environ 7 mV par rapport aux animaux contrôles. Par contre, le fait de procéder à un exercice passif sur bicyclette ergométrique pendant 4 semaines pour le groupe (TxEx) a permis de conserver le RMP et STL près des valeurs retrouvées chez les animaux contrôles. Il est évident que l'entraînement passif ne requiert pas l'utilisation des neurones supra-spinaux comme l'entraînement volontaire, mais il semble que l'étirement passif des muscles, causé par le mouvement des pattes sur la bicyclette ergométrique, est suffisant pour conserver leurs propriétés musculaires (Murphy, Dupont-Versteegden et al., 1999; Peterson, Murphy et al., 2000). En considérant toutes les conditions décrites précédemment (entraînement volontaire, entraînement en endurance, transection, exercice passif), l'influence rétrograde des muscles vers le corps cellulaire et/ou l'activation des motoneurones par

ses afférences synaptiques sont les deux facteurs pouvant induire des modifications sur les propriétés électrophysiologiques des motoneurones alpha. Concernant la transplantation de tissu nerveux fœtal, il est difficile pour l'instant de déterminer si l'effet est permanent ou temporaire. L'effet au niveau des motoneurones est possiblement causé par une libération des facteurs trophiques à partir de la greffe, qui pourraient avoir une influence sur les propriétés électrophysiologiques des motoneurones. L'investigation des propriétés des motoneurones, suivant la transplantation des cellules fœtales pour une période de 16 semaines, pourrait nous renseigner davantage sur ce sujet. En effet, nous continuons la collaboration avec le Dr John Houlé pour pouvoir répondre à cette question ultérieurement.

Afin d'expliquer les mécanismes responsables des changements qui se produisent au niveau des motoneurones, il est intéressant de discuter des courants qui sont modifiés pour obtenir ces changements. En procédant à une modélisation des motoneurones chez le chat, toutes les conductances des motoneurones ont été étudiées. En fait, suite à cette étude, la meilleure explication des changements qui surviennent dans le STL et RMP serait un changement de la conductance du courant sodique entrant rapide et/ou de la conductance du courant potassique rapide qui rectifie le voltage sous le seuil du déclenchement du potentiel d'action. Il pourrait également y avoir un petit déplacement de la sensibilité au voltage des canaux situés près ou directement sur le segment initial (Dai, Jones et al., 2002). Suivant une modélisation de la locomotion fictive, le fait d'augmenter le courant sodique ou de diminuer le courant potassique situé sur le segment initial, provoquait une hyperpolarisation d'environ 6.5 mV du STL (Dai, Jones et al., 1998). Ces changements auraient un effet cumulatif d'augmenter le courant net entrant sous le seuil du déclenchement du potentiel d'action, et alors hyperpolariser le

STL. Nous pouvons donc penser que les changements sont inversés suivant une transection au niveau thoracique.

Finalement, il est intéressant de constater qu'une variation du niveau d'activité physique de manière chronique modifie non seulement les propriétés des muscles (Chalmers, Roy et al., 1992; Fitts, 1994; Holloszy et Booth, 1976) et de la jonction neuromusculaire (Brenner et Rudin, 1989; Desaulniers, Lavoie et al., 2001; Fischbach et Robbins, 1971; Robbins et Fischbach, 1971), mais aussi les propriétés électrophysiologiques des motoneurones alpha. En ce qui concerne les programmes d'entraînement faits pour les deux premiers projets, les modifications des motoneurones pourraient avoir un effet sur la résistance à la fatigue et sur l'amélioration de la synergie entre les motoneurones et les fibres musculaires qu'ils innervent. De plus, concernant le projet sur la transection (projet 3), le fait de voir des changements dans les motoneurones suivant l'exercice passif ou le transplant de cellules embryonnaires nous montre que les motoneurones qui sont caudaux au site de la lésion sont modifiables. Ceci permet alors de conserver l'intégrité du système locomoteur périphérique, afin de faciliter une récupération fonctionnelle en permettant éventuellement aux neurones supra-spinaux d'établir des contacts synaptiques fonctionnels avec les motoneurones.

Étant donné que les changements électrophysiologiques au niveau des motoneurones sont directement responsables de l'excitabilité et du fonctionnement des unités motrices, il est évident que les changements observés pour tous les groupes vont avoir des répercussions sur les propriétés fonctionnelles de ceux-ci. Ces modifications pourraient améliorer la performance du système locomoteur, lors de l'entraînement ou diminuer les performances, suite à une transection au niveau thoracique. De plus, les propriétés des motoneurones influencent également la manière dont les unités motrices

vont être utilisées durant les mouvements volontaires. L'effet pourrait alors se répercuter sur l'effort que demande une contraction musculaire ou sur la sensation de fatigue lors des activités physiques soutenues.

7.2 Résumé et Conclusions

1. Pour les rats femelles adultes, les propriétés des motoneurones lents (AHP >20 ms) se modifient suivant un entraînement en course volontaire de 12 semaines dans les cages roues en comparaison avec des rats qui sont confinés dans des cages de plastique.
2. Ces modifications électrophysiologiques suivant l'entraînement, qui n'ont jamais été démontrées antérieurement, auraient possiblement comme conséquence de modifier le processus de fatigue en retardant le phénomène d'accommodation de la membrane et de l'adaptation tardive.
3. Pour les rats femelles adultes, les propriétés des motoneurones lents (AHP >20 ms) et rapides (AHP < 20 ms) se modifient suivant un entraînement en endurance sur le tapis roulant.
4. Par contre, les motoneurones lents n'ont pas subi les mêmes changements suivant un entraînement en endurance sur tapis roulant en comparaison avec un entraînement volontaire dans les roues.
5. Les motoneurones qui ont été utilisés chroniquement durant l'entraînement : motoneurones lents pour l'entraînement volontaire et les motoneurones lents et rapides pour l'entraînement en endurance ont subi une hyperpolarisation du RMP et STL d'environ 7 mV.
6. En ce qui concerne les rats transectés au niveau T10, les propriétés des motoneurones changent (dépolariation du STL et RMP). Mais les deux traitements (exercice passif et greffe de tissu nerveux fœtal) ont permis de

rétablir les propriétés électrophysiologiques des motoneurones près des valeurs retrouvées chez les animaux contrôles.

7. Il est donc intéressant de constater que ces deux traitements (exercice passif et greffe de tissu foetal) pourraient éventuellement être utilisés suite à un traumatisme au niveau de la moelle épinière chez l'humain pour favoriser une récupération fonctionnelle.

7.3 Perspectives de recherche future

Pour nous permettre d'étendre nos connaissances sur les modifications des propriétés électrophysiologiques des motoneurones en fonction du niveau d'utilisation, plusieurs études seront nécessaires. Alors, quelques suggestions seront présentées ici en fonction des résultats trouvés dans cette thèse en combinaison avec la littérature existante.

1. Il serait intéressant de vérifier les propriétés électrophysiologiques des motoneurones avec des rats décérébrés, au lieu de procéder à une anesthésie avec de la kétamine/xylazine. Il serait alors possible de déterminer s'il se produit des changements en ce qui concerne la bistabilité, qui est inhibée par l'anesthésiant.
2. Nous voyons une tendance concernant une augmentation de la pente de la relation fréquence-courant (f/I) pour les groupes entraînés sur tapis roulant et dans les cages d'entraînement volontaire par rapport au groupe contrôle. Il est donc nécessaire de compléter les données pour déterminer l'amplitude des changements.
3. Étant donné que plusieurs courants sont activés dans les motoneurones pour produire des potentiels d'action, il serait intéressant de bloquer certains canaux pour déterminer quelles conductances se modifient suite à un changement en activité. Par exemple, il est possible de bloquer la conductance potassique stimulée par le calcium (G_{KCa}) en traitant les motoneurones avec de l'apamine provenant du venin des abeilles.
4. Concernant le troisième projet sur la transection, il serait important de regarder les changements au niveau des motoneurones pour des groupes ayant

subi une transection (Tx) et pour un groupe ayant eu une transection avec l'ajout de tissu fœtal dans le site de la lésion durant une période de 16 semaines au lieu de 4 semaines. Ceci afin de déterminer si les changements au niveau des motoneurones sont causés par les facteurs trophiques ou par de nouvelles connections synaptiques avec les neurones provenant soit du transplant et/ou de la région située à un niveau rostral à la lésion.

5. Il sera aussi nécessaire de combiner les deux traitements (exercice passif et greffe de tissu nerveux fœtal) pour déterminer les changements au niveau des propriétés électrophysiologiques des motoneurones, et particulièrement en ce qui concerne la fréquence de décharge.

Bibliographie

Adam, A., De Luca, C.J. et Erim, Z. Hand dominance and motor unit firing behavior. *J Neurophysiol* 80(3): 1373-1382, 1998.

al-Amood, W.S. et Lewis, D.M. A comparison of the effects of denervation on the mechanical properties of rat and guinea-pig skeletal muscle. *J Physiol* 414: 1-16, 1989.

Andonian, M.H. et Fahim, M.A. Endurance exercise alters the morphology of fast- and slow-twitch rat neuromuscular junctions. *Int J Sports Med* 9(3): 218-223, 1988.

Appell, H.J. Proliferation of motor end-plates induced by increased muscular activity. *Int J Sports Med* 5(3): 125-129, 1984.

Bakels, R. et Kernell, D. Matching between motoneurone and muscle unit properties in rat medial gastrocnemius. *J Physiol* 463: 307-324, 1993.

Baker, L.L. et Chandler, S.H. Characterization of hindlimb motoneuron membrane properties in acute and chronic spinal cats. *Brain Res* 420(2): 333-339, 1987.

Baldissera, F. Impulse frequency encoding of the dynamic aspects of excitation. *Arch Ital Biol* 122(1): 43-58, 1984.

Baldissera, F., Campadelli, P. et Piccinelli, L. Neural encoding of input transients investigated by intracellular injection of ramp currents in cat alpha-motoneurones. *J Physiol* 328: 73-86, 1982.

Baldissera, F., Campadelli, P. et Piccinelli, L. The dynamic response of cat gastrocnemius motor units investigated by ramp-current injection into their motoneurones. *J Physiol* 387: 317-330, 1987.

Baldissera, F., Gustafsson, B. et Parmiggiani, F. Saturating summation of the afterhyperpolarization conductance in spinal motoneurones: a mechanism for 'secondary range' repetitive firing. *Brain Res* 146(1): 69-82, 1978.

Barrett, E.F., Barrett, J.N. et Crill, W.E. Voltage-sensitive outward currents in cat motoneurones. *J Physiol* 304: 251-276, 1980.

Beaumont, E. et Gardiner, P. Effects of daily spontaneous running on the electrophysiological properties of hindlimb motoneurones in rats. *J Physiol* 540(Pt 1): 129-138, 2002.

Binder, M.D., Heckman, C.J. et Powers, R.K. (1996). The physiological control of motoneuron activity. New york, Oxford university press.

Booth, F. et Tseng, B. Olympic goal : molecular and cellular approaches to understanding muscle adaptation. *NIPS* 8: 165-169, 1993.

Booth, F.W. et Kirby, C.R. Changes in skeletal muscle gene expression consequent to altered weight bearing. *Am J Physiol* 262(3 Pt 2): R329-332, 1992.

Bregman, B.S. Spinal cord transplants permit the growth of serotonergic axons across the site of neonatal spinal cord transection. *Brain Res* 431(2): 265-279, 1987.

Bregman, B.S., McAtee, M., Dai, H.N. et Kuhn, P.L. Neurotrophic factors increase axonal growth after spinal cord injury and transplantation in the adult rat. *Exp Neurol* 148(2): 475-494, 1997.

Bregman, B.S. et Reier, P.J. Neural tissue transplants rescue axotomized rubrospinal cells from retrograde death. *J Comp Neurol* 244(1): 86-95, 1986.

Brenner, H.R. et Rudin, W. On the effect of muscle activity on the end-plate membrane in denervated mouse muscle. *J Physiol (Lond)* 410: 501-512, 1989.

Burke, R.B. et Edgerton, V.R. Motor unit properties and selective involvement in movement. *exercise and sport sciences reviews* 3, 1975.

Burke, R.E. et Bruggencate, G.t. Electrotonic characteristics of alpha motoneurons of varying size. *J Physiol (Lond)* 212(1): 120, 1971.

Burke, R.E., Dum, R.P., Fleshman, J.W., Glenn, L.L., Lev-Tov, A., O'Donovan, M.J. et Pinter, M.J. A HRP study of the relation between cell size and motor unit type in cat ankle extensor motoneurons. *J Comp Neurol* 209(1): 17-28, 1982.

Burke, R.E., Levine, D.N., Tsairis, P. et Zajac, F.E., 3rd. Physiological types and histochemical profiles in motor units of the cat gastrocnemius. *J Physiol* 234(3): 723-748, 1973.

Cameron, W.E., Nunez-Abades, P.A., Kerman, I.A. et Hodgson, T.M. Role of potassium conductances in determining input resistance of developing brain stem motoneurons. *J Neurophysiol* 84(5): 2330-2339, 2000.

Carp, J.S. Physiological properties of primate lumbar motoneurons. *J Neurophysiol* 68(4): 1121-1132, 1992.

Carr, P.A., Haftel, V., Alvarez, F.J., Cope, T.C. et Fyffe, R.E. Effect of sciatic nerve transection or TTX application on enzyme activity in rat spinal cord. *Neuroreport* 9(2): 357-361, 1998.

Catterall, W.A. Localization of sodium channels in cultured neural cells. *J Neurosci* 1(7): 777-783, 1981.

Catterall, W.A. Common modes of drugs action on Na⁺ channels: local anesthetics, antiarrhythmics and anticonvulsants. *Trends Pharmacol. Sci.* 8: 57-65, 1987.

Chalmers, G.R., Roy, R.R. et Edgerton, V.R. Motoneuron and muscle fiber succinate dehydrogenase activity in control and overloaded plantaris. *J Appl Physiol* 71(4): 1589-1592, 1991.

Chalmers, G.R., Roy, R.R. et Edgerton, V.R. Variation and limitations in fiber enzymatic and size responses in hypertrophied muscle. *J Appl Physiol* 73(2): 631-641, 1992.

Cleary, L.J., Lee, W.L. et Byrne, J.H. Cellular correlates of long-term sensitization in Aplysia. *J Neurosci* 18(15): 5988-5998, 1998.

Clements, J.D. et Redman, S.J. Cable properties of cat spinal motoneurons measured by combining voltage clamp, current clamp and intracellular staining. *J Physiol* 409: 63-87, 1989.

Commissiong, J.W. Fetal locus coeruleus transplanted into the transected spinal cord of the adult rat. *Brain Res* 271(1): 174-179, 1983.

Cooley, J.W. et Dodge, F.A., Jr. Digital computer solutions for excitation and propagation of the nerve impulse. *Biophys J* 6(5): 583-599, 1966.

Cooper, R.N., Feraboli-Lohnherr, D., Butler-Browne, G., Orsal, D., Gimenez y Ribotta, M. et Privat, A. Intraspinal injection of embryonic neurons maintains muscle phenotype in adult chronic spinal rats. *J Neurosci Res* 46(3): 324-329, 1996.

Cope, T.C., Bodine, S.C., Fournier, M. et Edgerton, V.R. Soleus motor units in chronic spinal transected cats: physiological and morphological alterations. *J Neurophysiol* 55(6): 1202-1220, 1986.

Cormery, B., Marini, F.J. et Gardiner, P.F. Changes in electrophysiological properties of tibial motoneurons in the rat following 4 weeks of tetrodotoxin-induced paralysis. *Neurosci Lett* 287(1): 21-24, 2000.

Cormery, B., Pons, F., Marini, J.F. et Gardiner, P.F. Myosin heavy chains in fibers of TTX-paralyzed rat soleus and medial gastrocnemius muscles. *J Appl Physiol* 88(1): 66-76, 2000.

Czeh, G., Gallego, R., Kudo, N. et Kuno, M. Evidence for the maintenance of motoneurone properties by muscle activity. *J Physiol* 281: 239-252, 1978.

Dai, Y., Jones, K.E., Fedirchuk, B., McCrea, D.A. et Jordan, L.M. A modelling study of locomotion-induced hyperpolarization of voltage threshold in cat lumbar motoneurons. *J Physiol* 544(Pt 2): 521-536, 2002.

Dai, Y., Jones, K.E., Fedirchuk, B.B., McCrea, D.A. et Jordan, L.M. Modelling the lowering of motoneurone voltage threshold during fictive locomotion. *NYAS*, 1998.

Das, G.D. Neural transplantation in the spinal cord of adult rats. Conditions, survival, cytology and connectivity of the transplants. *J Neurol Sci* 62(1-3): 191-210, 1983.

Das, G.D. Perspectives in anatomy and pathology of paraplegia in experimental animals. *Brain Res Bull* 22(1): 7-32, 1989.

Demirel, H.A., Powers, S.K., Naito, H., Hughes, M. et Coombes, J.S. Exercise-induced alterations in skeletal muscle myosin heavy chain phenotype: dose-response relationship. *J Appl Physiol* 86(3): 1002-1008, 1999.

Desai, N.S., Rutherford, L.C. et Turrigiano, G.G. Plasticity in the intrinsic excitability of cortical pyramidal neurons [see comments]. *Nat Neurosci* 2(6): 515-520, 1999.

Desaulniers, P., Lavoie, P.A. et Gardiner, P.F. Habitual exercise enhances neuromuscular transmission efficacy of rat soleus muscle in situ. *J Appl Physiol* 90(3): 1041-1048, 2001.

Dluzen, D.E., Liu, B., Chen, C.Y. et DiCarlo, S.E. Daily spontaneous running alters behavioral and neurochemical indexes of nigrostriatal function. *J Appl Physiol* 78(4): 1219-1224, 1995.

Donselaar, Y., Kernell, D. et Eerbeek, O. Soma size and oxidative enzyme activity in normal and chronically stimulated motoneurons of the cat's spinal cord. *Brain Res* 385(1): 22-29, 1986.

Dorlochter, M., Irintchev, A., Brinkers, M. et Wernig, A. Effects of enhanced activity on synaptic transmission in mouse extensor digitorum longus muscle. *J Physiol* 436: 283-292, 1991.

Duchateau, J. et Hainaut, K. Effects of immobilization on contractile properties, recruitment and firing rates of human motor units. *J Physiol* 422: 55-65, 1990.

Dupont-Versteegden, E.E., Houle, J.D., Gurley, C.M. et Peterson, C.A. Early changes in muscle fiber size and gene expression in response to spinal cord transection and exercise. *Am J Physiol* 275(4 Pt 1): C1124-1133, 1998.

Dupont-Versteegden, E.E., Murphy, R.J., Houle, J.D., Gurley, C.M. et Peterson, C.A. Mechanisms leading to restoration of muscle size with exercise and transplantation after spinal cord injury. *Am J Physiol Cell Physiol* 279(6): C1677-1684, 2000.

Eccles, J.C., Libet, B. et Young, R.R. The behaviour of chromatolysed motoneurons studied by intracellular recording. *J Physiol (Lond)* 143: 11-40, 1958.

Edds, M.V. Hypertrophy of nerve fibers to functionally overloaded muscles. *J Comp Neurol* 93: 259-275, 1950.

Emptage, N.J. et Carew, T.J. Long-term synaptic facilitation in the absence of short-term facilitation in *Aplysia* neurons. *Science* 262(5131): 253-256, 1993.

Feiereisen, P., Duchateau, J. et Hainaut, K. Motor unit recruitment order during voluntary and electrically induced contractions in the tibialis anterior. *Exp Brain Res* 114(1): 117-123, 1997.

Finkelstein, D.I., Lang, J.G. et Luff, A.R. Functional and structural changes of rat plantaris motoneurons following compensatory hypertrophy of the muscle. *Anat Rec* 229(1): 129-137, 1991.

Fischbach, G.D. et Robbins, N. Effect of chronic disuse of rat soleus neuromuscular junctions on postsynaptic membrane. *J Neurophysiol* 34(4): 562-569, 1971.

Fitts, R.H. Cellular mechanisms of muscle fatigue. *Physiol Rev* 74(1): 49-94, 1994.

Fleshman, J.W., Munson, J.B., Sypert, G.W. et Friedman, W.A. Rheobase, input resistance, and motor-unit type in medial gastrocnemius motoneurons in the cat. *J Neurophysiol* 46(6): 1326-1338, 1981.

Foehring, R.C., Sypert, G.W. et Munson, J.B. Properties of self-reinnervated motor units of medial gastrocnemius of cat. I. Long-term reinnervation. *J Neurophysiol* 55(5): 931-946, 1986.

Foehring, R.C., Sypert, G.W. et Munson, J.B. Properties of self-reinnervated motor units of medial gastrocnemius of cat. II. Axotomized motoneurons and time course of recovery. *J Neurophysiol* 55(5): 947-965, 1986.

Foehring, R.C., Sypert, G.W. et Munson, J.B. Motor-unit properties following cross-reinnervation of cat lateral gastrocnemius and soleus muscles with medial gastrocnemius nerve. II. Influence of muscle on motoneurons. *J Neurophysiol* 57(4): 1227-1245, 1987.

Forsythe, I.D. et Redman, S.J. The dependence of motoneurone membrane potential on extracellular ion concentrations studied in isolated rat spinal cord. *J Physiol (Lond)* 404: 83-99, 1988.

Frank, K. et Fuortes, M.G.F. Stimulation of spinal motoneurons with intracellular electrodes. *J Physiol (Lond)* 134: 451-470, 1956.

Funakoshi, H., Belluardo, N., Arenas, E., Yamamoto, Y., Casabona, A., Persson, H. et Ibanez, C.F. Muscle-derived neurotrophin-4 as an activity-dependent trophic signal for adult motor neurons. *Science* 268(5216): 1495-1499, 1995.

Gallego, R., Huizar, P., Kudo, N. et Kuno, M. Disparity of motoneurone and muscle differentiation following spinal transection in the kitten. *J Physiol (Lond)* 281: 253-265, 1978.

Ganguly, K., Kiss, L. et Poo, M. Enhancement of presynaptic neuronal excitability by correlated presynaptic and postsynaptic spiking. *Nat Neurosci* 3(10): 1018-1026, 2000.

Gardiner, P.F. Physiological properties of motoneurons innervating different muscle unit types in rat gastrocnemius. *J Neurophysiol* 69(4): 1160-1170, 1993.

Gardiner, P.F. et Seburn, K.L. The effects of tetrodotoxin-induced muscle paralysis on the physiological properties of muscle units and their innervating motoneurons in rat. *J Physiol* 499(Pt 1): 207-216, 1997.

Geinisman, Y., Berry, R.W., Disterhoft, J.F., Power, J.M. et Van der Zee, E.A. Associative learning elicits the formation of multiple-synapse boutons. *J Neurosci* 21(15): 5568-5573, 2001.

Gerchman, L.B., Edgerton, V.R. et Carrow, R.E. Effects of physical training on the histochemistry and morphology of ventral motor neurons. *Exp Neurol* 49(3): 790-801, 1975.

Gharakhanlou, R., Chadan, S. et Gardiner, P. Increased activity in the form of endurance training increases calcitonin gene-related peptide content in lumbar motoneuron cell bodies and in sciatic nerve in the rat. *Neuroscience* 89(4): 1229-1239, 1999.

Gisiger, V., Belisle, M. et Gardiner, P.F. Acetylcholinesterase adaptation to voluntary wheel running is proportional to the volume of activity in fast, but not slow, rat hindlimb muscles. *Eur J Neurosci* 6(5): 673-680, 1994.

Gomez-Pinilla, F., Ying, Z., Opazo, P. et Roy, R.R. (2002). Exercise promotes synaptic plasticity associated to the action of neurotrophins in the spinal cord and muscle, Soc. Neurosci. Abstr., Vol 27, Program No. 221.5.

Gomez-Pinilla, F., Ying, Z., Opazo, P., Roy, R.R. et Edgerton, V.R. Differential regulation by exercise of BDNF and NT-3 in rat spinal cord and skeletal muscle. *Eur J Neurosci* 13(6): 1078-1084, 2001.

Gonzalez, M. et Collins, W.F., 3rd. Modulation of motoneuron excitability by brain-derived neurotrophic factor. *J Neurophysiol* 77(1): 502-506, 1997.

Gordon, T., Tyreman, N., Rafuse, V.F. et Munson, J.B. Fast-to-slow conversion following chronic low-frequency activation of medial gastrocnemius muscle in cats. I. Muscle and motor unit properties. *J Neurophysiol* 77(5): 2585-2604, 1997.

Granit, R., Kernell, D. et Shortess, G.K. Quantitative aspects of repetitive firing of mammalian motoneurons, caused by injected currents. *J. Physiol.* 168: 911-931, 1963.

Green, H.J., Klug, G.A., Reichmann, H., Seedorf, U., Wiehrer, W. et Pette, D. Exercise-induced fibre type transitions with regard to myosin, parvalbumin, and sarcoplasmic reticulum in muscles of the rat. *Pflugers Arch* 400(4): 432-438, 1984.

Griesbeck, O., Parsadanian, A.S., Sendtner, M. et Thoenen, H. Expression of neurotrophins in skeletal muscle: quantitative comparison and significance for motoneuron survival and maintenance of function. *J Neurosci Res* 42(1): 21-33, 1995.

Gustafsson, B. Changes in motoneurone electrical properties following axotomy. *J Physiol (Lond)* 293: 197-215, 1979.

Gustafsson, B., Katz, R. et Malmsten, J. Effects of chronic partial deafferentation on the electrical properties of lumbar alpha-motoneurons in the cat. *Brain Res* 246(1): 23-33, 1982.

Gustafsson, B. et Pinter, M.J. An investigation of threshold properties among cat spinal alpha-motoneurons. *J Physiol (Lond)* 357: 453-483, 1984a.

Gustafsson, B. et Pinter, M.J. Relations among passive electrical properties of lumbar alpha-motoneurons of the cat. *J Physiol (Lond)* 356: 401-431, 1984b.

Guttman, E. et Melichna, J.A. Contractile and histochemical properties of denervated and reinnervated fast and slow skeletal muscles of new-born and adult guinea-pigs. *Physiol Bohemoslov* 28(1): 35-42, 1979.

Henneman, E., Somjen, G. et Carpenter, D.O. Excitability and inhibitability of motoneurons of different sizes. *J Neurophysiol* 28(3): 599-620, 1965.

Hennig, R. et Lomo, T. Firing patterns of motor units in normal rats. *Nature* 314(6007): 164-166, 1985.

Hille, B. (2001). Ion channels of excitable membrane. Sunderland, Sinauer.

Hochachka, P.W. (1994). Muscles as molecular and metabolic machines. Florida, CRC Press Inc.

Hochman, S. et McCrea, D.A. Effects of chronic spinalization on ankle extensor motoneurons. II. Motoneuron electrical properties. *J Neurophysiol* 71(4): 1468-1479, 1994.

Holloszy, J.O. et Booth, F.W. Biochemical adaptations to endurance exercise in muscle. *Annu Rev Physiol* 38: 273-291, 1976.

Houle, J.D., Morris, K., Skinner, R.D., Garcia-Rill, E. et Peterson, C.A. Effects of fetal spinal cord tissue transplants and cycling exercise on the soleus muscle in spinalized rats. *Muscle Nerve* 22(7): 846-856, 1999.

Houle, J.D. et Reier, P.J. Transplantation of fetal spinal cord tissue into the chronically injured adult rat spinal cord. *J Comp Neurol* 269(4): 535-547, 1988.

- Houle, J.D. et Reier, P.J. Regrowth of calcitonin gene-related peptide (CGRP) immunoreactive axons from the chronically injured rat spinal cord into fetal spinal cord tissue transplants. *Neurosci Lett* 103(3): 253-258, 1989.
- Hu, H., Shao, L.R., Chavoshy, S., Gu, N., Trieb, M., Behrens, R., Laake, P., Pongs, O., Knaus, H.G., Ottersen, O.P. et Storm, J.F. Presynaptic Ca²⁺-activated K⁺ channels in glutamatergic hippocampal terminals and their role in spike repolarization and regulation of transmitter release. *J Neurosci* 21(24): 9585-9597, 2001.
- Ishihara, A., Inoue, N. et Katsuta, S. The relationship of voluntary running to fibre type composition, fibre area and capillary supply in rat soleus and plantaris muscles. *Eur J Appl Physiol Occup Physiol* 62(3): 211-215, 1991.
- Ishihara, A., Naitoh, H., Araki, H. et Nishihira, Y. Soma size and oxidative enzyme activity of motoneurons supplying the fast twitch and slow twitch muscles in the rat. *Brain Res* 446(1): 195-198, 1988.
- Ito, M. et Oshima, T. Electrical behaviour of the motoneurone membrane during intracellularly applied current steps. *J Physiol (Lond)* 180(3): 607-635, 1965.
- Jakeman, L.B. et Reier, P.J. Axonal projections between fetal spinal cord transplants and the adult rat spinal cord: a neuroanatomical tracing study of local interactions. *J Comp Neurol* 307(2): 311-334, 1991.

Jasmin, B.J., Lavoie, P.A. et Gardiner, P.F. Fast axonal transport of acetylcholinesterase in rat sciatic motoneurons is enhanced following prolonged daily running, but not following swimming. *Neurosci Lett* 78(2): 156-160, 1987.

Jasmin, B.J., Lavoie, P.A. et Gardiner, P.F. Fast axonal transport of labeled proteins in motoneurons of exercise-trained rats. *Am J Physiol* 255(6 Pt 1): C731-736, 1988.

Kandel, E.R., Schwartz, J.H. et Jessell, T.M. (2000). Principles of neural science.

Kang, C.M., Lavoie, P.A. et Gardiner, P.F. Chronic exercise increases SNAP-25 abundance in fast-transported proteins of rat motoneurons. *Neuroreport* 6(3): 549-553, 1995.

Kernell, D. High-Frequency repetitive firing of cat lumbosacral motoneurons stimulated by long-lasting injected currents. *Acta Physiol Scand* 65(1): 74-86, 1965.

Kernell, D. The limits of firing frequency in cat lumbosacral motoneurons possessing different time course of afterhyperpolarization. *Acta Physiol Scand* 65: 74-86, 1965.

Kernell, D. Input resistance, electrical excitability, and size of ventral horn cells in cat spinal cord. *Science* 152(729): 1637-1640, 1966.

Kernell, D. Rhythmic properties of motoneurons innervating muscle fibres of different speed in m. gastrocnemius medialis of the cat. *Brain Res* 160(1): 159-162, 1979.

Kernell, D. Organization and properties of spinal motoneurons and motor units. *Prog Brain Res* 64: 21-30, 1986.

Kernell, D. et Sjöholm, H. Repetitive impulse firing: comparisons between neurone models based on 'voltage clamp equations' and spinal motoneurons. *Acta Physiol Scand* 87(1): 40-56, 1973.

Krnjevic, K., Puil, E. et Werman, R. EGTA and motoneuronal after-potentials. *J Physiol* 275: 199-223, 1978.

Kudina, L.P. et Alexeeva, N.L. After-potentials and control of repetitive firing in human motoneurons. *Electroencephalogr Clin Neurophysiol* 85(5): 345-353, 1992.

Kuno, M. Target dependence of motoneuronal survival: the current status. *Neurosci Res* 9(3): 155-172, 1990.

Kuno, M., Miyata, Y. et Munoz-Martinez, E.J. Differential reaction of fast and slow alpha-motoneurons to axotomy. *J Physiol* 240(3): 725-739, 1974.

Lee, R.H. et Heckman, C.J. Bistability in spinal motoneurons in vivo: systematic variations in persistent inward currents. *J Neurophysiol* 80(2): 583-593, 1998.

Lee, R.H. et Heckman, C.J. Bistability in spinal motoneurons in vivo: systematic variations in rhythmic firing patterns. *J Neurophysiol* 80(2): 572-582, 1998.

Lee, R.H. et Heckman, C.J. Essential role of a fast persistent inward current in action potential initiation and control of rhythmic firing. *J Neurophysiol* 85(1): 472-475, 2001.

Loughna, P.T. et Morgan, M.J. Passive stretch modulates denervation induced alterations in skeletal muscle myosin heavy chain mRNA levels. *Pflugers Arch* 439(1-2): 52-55, 1999.

Lowrie, M.B. et Vrbova, G. Dependence of postnatal motoneurons on their targets: review and hypothesis. *Trends Neurosci* 15(3): 80-84, 1992.

Maisonpierre, P.C., Belluscio, L., Friedman, B., Alderson, R.F., Wiegand, S.J., Furth, M.E., Lindsay, R.M. et Yancopoulos, G.D. NT-3, BDNF, and NGF in the developing rat nervous system: parallel as well as reciprocal patterns of expression. *Neuron* 5(4): 501-509, 1990.

Marban, E., Yamagishi, T. et Tomaselli, G.F. Structure and function of voltage-gated sodium channels. *J Physiol* 508(Pt 3): 647-657, 1998.

Matzner, O. et Devor, M. Na⁺ conductance and the threshold for repetitive neuronal firing. *Brain Res* 597(1): 92-98, 1992.

Mayer, R.F., Burke, R.E., Toop, J., Hodgson, J.A., Kanda, K. et Walmsley, B.W. The effect of long-term immobilization on the motor unit population of the cat medial gastrocnemius muscle. *Neuroscience* 6(4): 725-739, 1981.

McLoon, S.C. et Lund, R.D. Development of fetal retina, tectum, and cortex transplanted to the superior colliculus of adult rats. *J Comp Neurol* 217(4): 376-389, 1983.

Mendell, L.M., Collins, W.F.r. et Munson, J.B. Retrograde determination of motoneuron properties and their synaptic input. *J Neurobiol* 25(6): 707-721, 1994.

Miya, D., Giszter, S., Mori, F., Adipudi, V., Tessler, A. et Murray, M. Fetal transplants alter the development of function after spinal cord transection in newborn rats. *J Neurosci* 17(12): 4856-4872, 1997.

Moore, J. et Appenteng, K. The membrane properties and firing characteristics of rat jaw-elevator motoneurons. *J Physiol (Lond)* 423: 137-153, 1990.

Moore, J.W., Stockbridge, N. et Westerfield, M. On the site of impulse initiation in a neurone. *J Physiol (Lond)* 336: 301-311, 1983.

Mosfeldt Laursen, A. et Rekling, J.C. Electrophysiological properties of hypoglossal motoneurons of guinea-pigs studied in vitro. *Neuroscience* 30(3): 619-637, 1989.

Munson, J.B., Foehring, R.C., Lofton, S.A., Zengel, J.E. et Sypert, G.W. Plasticity of medial gastrocnemius motor units following cordotomy in the cat. *J Neurophysiol* 55(4): 619-634, 1986.

Munson, J.B., Foehring, R.C., Mendell, L.M. et Gordon, T. Fast-to-slow conversion following chronic low-frequency activation of medial gastrocnemius muscle in cats. II. Motoneuron properties. *J Neurophysiol* 77(5): 2605-2615, 1997.

Murphy, R.J., Dupont-Versteegden, E.E., Peterson, C.A. et Houle, J.D. Two experimental strategies to restore muscle mass in adult rats following spinal cord injury. *Neurorehab neural repair* 13: 125-134, 1999.

Nakano, H., Masuda, K., Sasaki, S. et Katsuta, S. Oxidative enzyme activity and soma size in motoneurons innervating the rat slow-twitch and fast-twitch muscles after chronic activity. *Brain Res Bull* 43(2): 149-154, 1997.

Neeper, S.A., Gomez-Pinilla, F., Choi, J. et Cotman, C. Exercise and brain neurotrophins. *Nature* 373(6510): 109, 1995.

Nelson, P.G. et Frank, K. Anomalous rectification in cat spinal motoneurons and effect of polarizing currents on excitatory postsynaptic potential. *J Neurophysiol* 30(5): 1097-1113, 1967.

Nick, T.A. et Ribera, A.B. Synaptic activity modulates presynaptic excitability. *Nat Neurosci* 3(2): 142-149, 2000.

Nishimura, Y., Schwindt, P.C. et Crill, W.E. Electrical properties of facial motoneurons in brainstem slices from guinea pig. *Brain Res* 502(1): 127-142, 1989.

Nornes, H., Bjorklund, A. et Stenevi, U. Reinnervation of the denervated adult spinal cord of rats by intraspinal transplants of embryonic brain stem neurons. *Cell Tissue Res* 230(1): 15-35, 1983.

Oblinger, M.M. et Das, G.D. Connectivity of neural transplants in adult rats: analysis of afferents and efferents of neocortical transplants in the cerebellar hemisphere. *Brain Res* 249(1): 31-49, 1982.

Oliver, D., Baukrowitz, T. et Fakler, B. Polyamines as gating molecules of inward-rectifier K⁺ channels. *Eur J Biochem* 267(19): 5824-5829, 2000.

Opazo, P., Ying, Z., Roy, R.R., Edgerton, V.R. et Gomez-Pinilla, F. (2001).

Neuromuscular activity upregulates neurotrophin-3 expression in the spinal cord, Soc. Neurosci. Abstr., Vol 27, Program No. 224.1.

Oppenheim, R.W. Cell death during development of the nervous system. *Annu Rev Neurosci* 14: 453-501, 1991.

Oppenheim, R.W. The concept of uptake and retrograde transport of neurotrophic molecules during development: history and present status. *Neurochem Res* 21(7): 769-777, 1996.

Peterson, C.A., Murphy, R.J., Dupont-Versteegden, E.E. et Houle, J.D. Cycling exercise and fetal spinal cord transplantation act synergistically on atrophied muscle following chronic spinal cord injury in rats. *Neurorehab neural repair* 14: 85-91, 2000.

Pinter, M.J., Curtis, R.L. et Hosko, M.J. Voltage threshold and excitability among variously sized cat hindlimb motoneurons. *J Neurophysiol* 50(3): 644-657, 1983.

Pinter, M.J. et Vanden Noven, S. Effects of preventing reinnervation on axotomized spinal motoneurons in the cat. I. Motoneuron electrical properties. *J Neurophysiol* 62(2): 311-324, 1989.

Prewitt, C.M., Niesman, I.R., Kane, C.J. et Houle, J.D. Activated macrophage/microglial cells can promote the regeneration of sensory axons into the injured spinal cord. *Exp Neurol* 148(2): 433-443, 1997.

Privat, A., Mansour, H., Pavy, A., Geffard, M. et Sandillon, F. Transplantation of dissociated foetal serotonin neurons into the transected spinal cord of adult rats. *Neurosci Lett* 66(1): 61-66, 1986.

Rajaofetra, N., Konig, N., Poulat, P., Marlier, L., Sandillon, F., Drian, M.J., Geffard, M. et Privat, A. Fate of B1-B2 and B3 rhombencephalic cells transplanted into the transected spinal cord of adult rats: light and electron microscopic studies. *Exp Neurol* 117(1): 59-70, 1992.

Rall, W. Time constants and electrotonic length of membrane cylinders and neurons. *Biophys J* 9(12): 1483-1508, 1969.

Reier, P.J., Bregman, B.S. et Wujek, J.R. Intraspinal transplantation of embryonic spinal cord tissue in neonatal and adult rats. *J Comp Neurol* 247(3): 275-296, 1986.

Reier, P.J., Houle, J.D., Jakeman, L., Winialski, D. et Tessler, A. Transplantation of fetal spinal cord tissue into acute and chronic hemisection and contusion lesions of the adult rat spinal cord. *Prog Brain Res* 78: 173-179, 1988.

Robbins, N. et Fischbach, G.D. Effect of chronic disuse of rat soleus neuromuscular junctions on presynaptic function. *J Neurophysiol* 34(4): 570-578, 1971.

Robinson, G.A., Enoka, R.M. et Stuart, D.G. Immobilization-induced changes in motor unit force and fatigability in the cat. *Muscle Nerve* 14(6): 563-573, 1991.

Rodnick, K.J., Reaven, G.M., Haskell, W.L., Sims, C.R. et Mondon, C.E. Variations in running activity and enzymatic adaptations in voluntary running rats. *J Appl Physiol* 66(3): 1250-1257, 1989.

Rose, P.K. et Dagum, A. Nonequivalent cylinder models of neurons: interpretation of voltage transients generated by somatic current injection. *J Neurophysiol* 60(1): 125-148, 1988.

Rose, P.K. et Vanner, S.J. Differences in somatic and dendritic specific membrane resistivity of spinal motoneurons: an electrophysiological study of neck and shoulder motoneurons in the cat. *J Neurophysiol* 60(1): 149-166, 1988.

Roy, R.R., Baldwin, K.M. et Edgerton, V.R. The plasticity of skeletal muscle: effects of neuromuscular activity. *Exerc Sport Sci Rev* 19: 269-312, 1991.

Roy, R.R., Pierotti, D.J., Baldwin, K.M., Zhong, H., Hodgson, J.A. et Edgerton, V.R. Cyclical passive stretch influences the mechanical properties of the inactive cat soleus. *Exp Physiol* 83(3): 377-385, 1998.

Roy, R.R., Talmadge, R.J., Hodgson, J.A., Zhong, H., Baldwin, K.M. et Edgerton, V.R. Training effects on soleus of cats spinal cord transected (T12-13) as adults. *Muscle Nerve* 21(1): 63-71, 1998.

Samorajski, T. et Rolsten, C. Nerve fiber hypertrophy in posterior tibial nerves of mice in response to voluntary running activity during aging. *J Comp Neurol* 159(4): 553-558, 1975.

- Sawczuk, A. Reduction of Na⁺- K⁺ activity does not reduce the late adaptation of motoneuron discharge. *Soc. Neurosci. Abstr.* 18: 512, 1992.
- Sawczuk, A., Powers, R.K. et Binder, M.D. Spike frequency adaptation studied in hypoglossal motoneurons of the rat. *J Neurophysiol* 73(5): 1799-1810, 1995.
- Schwindt, P.C. et Crill, W.E. Factors influencing motoneuron rhythmic firing: results from a voltage-clamp study. *J Neurophysiol* 48(4): 875-890, 1982.
- Seburn, K., Coicou, C. et Gardiner, P. Effects of altered muscle activation on oxidative enzyme activity in rat alpha-motoneurons. *J Appl Physiol* 77(5): 2269-2274, 1994.
- Seburn, K.L. et Gardiner, P. Adaptations of rat lateral gastrocnemius motor units in response to voluntary running. *J Appl Physiol* 78(5): 1673-1678, 1995.
- Shao, L.R., Halvorsrud, R., Borg-Graham, L. et Storm, J.F. The role of BK-type Ca²⁺-dependent K⁺ channels in spike broadening during repetitive firing in rat hippocampal pyramidal cells. *J Physiol* 521(Pt 1): 135-146, 1999.
- Skinner, R.D., Houle, J.D., Reese, N.B., Berry, C.L. et Garcia-Rill, E. Effects of exercise and fetal spinal cord implants on the H-reflex in chronically spinalized adult rats. *Brain Res* 729(1): 127-131, 1996.

Smith, L. Spectrophotometric assay of cytochrome c oxidase. *Methods of Biochemical Analysis*, 1955.

Somjen, G., Carpenter, D.O. et Henneman, E. Responses of motoneurons of different sizes to graded stimulation of supraspinal centers of the brain. *J Neurophysiol* 28(5): 958-965, 1965.

Spain, W.J., Schwindt, P.C. et Crill, W.E. Post-inhibitory excitation and inhibition in layer V pyramidal neurones from cat sensorimotor cortex. *J Physiol* 434: 609-626, 1991.

Spielmann, J.M., Laouris, Y., Nordstrom, M.A., Robinson, G.A., Reinking, R.M. et Stuart, D.G. Adaptation of cat motoneurons to sustained and intermittent extracellular activation. *J Physiol* 464: 75-120, 1993.

Suzuki, H., Tsuzimoto, H., Ishiko, T., Kasuga, N., Taguchi, S. et Ishihara, A. Effect of endurance training on the oxidative enzyme activity of soleus motoneurons in rats. *Acta Physiol Scand* 143(1): 127-128, 1991.

Sypert, G.W. et Munson, J.B. Basis of segmental motor control: motoneuron size or motor unit type? *Neurosurgery* 8(5): 608-621, 1981.

Takahashi, T. Inward rectification in neonatal rat spinal motoneurons. *J Physiol* 423: 47-62, 1990.

Tomas, J., Fenoll, R., Santafe, M., Batlle, J. et Mayayo, E. Motor nerve terminal morphologic plasticity induced by small changes in the locomotor activity of the adult rat. *Neurosci Lett* 106(1-2): 137-140, 1989.

Turrigiano, G., Abbott, L.F. et Marder, E. Activity-dependent changes in the intrinsic properties of cultured neurons. *Science* 264(5161): 974-977, 1994.

Viana, F., Bayliss, D.A. et Berger, A.J. Multiple potassium conductances and their role in action potential repolarization and repetitive firing behavior of neonatal rat hypoglossal motoneurons. *J Neurophysiol* 69(6): 2150-2163, 1993.

Wolpaw, J.R. et Carp, J.S. Adaptive plasticity in spinal cord. *Adv Neurol* 59: 163-174, 1993.

Yakovleff, A., Cabelguen, J.M., Orsal, D., Gimenez y Ribotta, M., Rajaofetra, N., Drian, M.J., Bussel, B. et Privat, A. Fictive motor activities in adult chronic spinal rats transplanted with embryonic brainstem neurons. *Exp Brain Res* 106(1): 69-78, 1995.

Ye, J.H. et Houle, J.D. Treatment of the chronically injured spinal cord with neurotrophic factors can promote axonal regeneration from supraspinal neurons. *Exp Neurol* 143(1): 70-81, 1997.

Zengel, J.E., Reid, S.A., Sypert, G.W. et Munson, J.B. Membrane electrical properties and prediction of motor-unit type of medial gastrocnemius motoneurons in the cat. *J Neurophysiol* 53(5): 1323-1344, 1985.

Zhang, L. et Krnjevic, K. Effects of 4-aminopyridine on the action potential and the after-hyperpolarization of cat spinal motoneurons. *Can J Physiol Pharmacol* 64(11): 1402-1406, 1986.

Zhang, L. et Krnjevic, K. Effects of intracellular injections of phorbol ester and protein kinase C on cat spinal motoneurons in vivo. *Neurosci Lett* 77(3): 287-292, 1987.

Ziskind-Conhaim, L. Electrical properties of motoneurons in the spinal cord of rat embryos. *Dev Biol* 128(1): 21-29, 1988.

Effects of daily spontaneous running on the electrophysiological properties of hindlimb motoneurons in rats

Eric Beaumont and Phillip Gardiner

Département de kinésiologie, Université de Montréal, Québec, Canada H3C 3J7

No evidence currently exists that motoneurone adaptations in electrophysiological properties can result from changes in the chronic level of neuromuscular activity. We examined, in anaesthetized (ketamine/xylazine) rats, the properties of motoneurons with axons in the tibial nerve, from rats performing daily spontaneous running exercise for 12 weeks in exercise wheels ('runners') and from rats confined to plastic cages ('controls'). Motoneurons innervating the hindlimb via the tibial nerve were impaled with sharp glass microelectrodes, and the properties of resting membrane potential, spike threshold, rheobase, input resistance, and the amplitude and time-course of the afterhyperpolarization (AHP) were measured. AHP half-decay time was used to separate motoneurons into 'fast' (AHP half-decay time < 20 ms) and 'slow' (AHP half-decay time \geq 20 ms), the proportions of which were not significantly different between controls (58% fast) and runners (65% fast). Two-way ANOVA and ANCOVA revealed differences between motoneurons of runners and controls which were confined to the 'slow' motoneurons. Specifically, runners had slow motoneurons with more negative resting membrane potentials and spike thresholds, larger rheobasic spike amplitudes, and larger amplitude AHPs compared to slow motoneurons of controls. These adaptations were not evident in comparing fast motoneurons from runners and controls. This is the first demonstration that physiological modifications in neuromuscular activity can influence basic motoneurone biophysical properties. The results suggest that adaptations occur in the density, localization, and/or modulation of ionic membrane channels that control these properties. These changes might help offset the depolarization of spike threshold that occurs during rhythmic firing.

(Received 31 July 2001; accepted after revision 14 January 2002)

Corresponding author P. Gardiner: Département de kinésiologie, Université de Montréal, C.P. 6128, succursale Centre-ville, Montréal, Québec, Canada H3C 3J7. Email: [REDACTED]

Evidence is accumulating that α -motoneurons respond to chronic alterations in neuromuscular activity by changing their properties. The evidence to date is primarily biochemical. For example the motoneurons from endurance-trained rats exhibit an increase in fast axon transport of proteins towards the nerve terminals (Jasmin *et al.* 1988; Kang *et al.* 1995; Gharakhanlou *et al.* 1999), as well as an increased content of mitochondrial enzymes (Suzuki *et al.* 1991) and of trophic substances such as calcitonin gene-related peptide (CGRP) (Gharakhanlou *et al.* 1999) and brain-derived neurotrophic factor (BDNF) (Gómez-Pinilla *et al.* 2001). The functional correlates of these changes are currently unknown.

What is less clear is the extent, if any, to which motoneurons adapt in their physiological properties to chronic changes in neuromuscular activity. There are several bases upon which to propose such a change. For example since the electrophysiological properties of motoneurons and the contractile and histochemical

properties of their innervated muscle fibres show a high degree of co-variation (Zengel *et al.* 1985; Gardiner, 1993), it is reasonable to postulate that chronic changes in activity which result in muscle changes should also alter motoneurone properties, in order that this co-variation be maintained. Indeed, the re-establishment of the normal relationship of nerve–muscle properties appears to occur following reinnervation of muscles by regenerating motor axons (Foehring *et al.* 1986a, 1987), as well as following spinal cord transection (Cope *et al.* 1986; Munson *et al.* 1986). Such changes could result from altered synaptic activity at the motoneuronal soma or from the influence of altered amounts or types of 'trophic' factors secreted from the target muscle (Czeh *et al.* 1978; Wolpaw & Carp, 1993; Mendell *et al.* 1994; Munson *et al.* 1997; Gonzalez & Collins, 1997), as well as a combination of both of these factors.

Properties which distinguish motoneurone 'types' are dictated more by ionic conductance channels than by morphological characteristics (Zengel *et al.* 1985; Binder

et al. 1996). Although several examples of short-term (Brownstone *et al.* 1994; Krawitz *et al.* 2001) and long-term (Turrigiano *et al.* 1994; Halter *et al.* 1995; Desai *et al.* 1999) activity-dependent plasticity of neural conductances have been reported for several neurone types in response to various models of altered activity, no such evidence has been presented for motoneurons subjected to different levels of voluntary neuromuscular activity. The latter model, especially for rats, is of particular interest in light of the chronic changes in muscle properties (Rodnick *et al.* 1989; Lambert & Noakes, 1990; Seburn & Gardiner, 1995), and in specific central nervous system nuclei (Elam *et al.* 1987; Dluzen *et al.* 1995; Neeper *et al.* 1995), which can result from an increase in daily spontaneous locomotor activity. Our purpose, therefore, was to determine if rats allowed access to increased daily spontaneous running for 12 weeks would possess hindlimb motoneurons with different electrophysiological properties than their control counterparts, which would suggest activity-dependent plasticity of motoneurons never previously demonstrated.

METHODS

Animal care and treatment

Experiments were conducted on female Sprague-Dawley rats (150 g upon receipt), obtained from Charles River (St-Constant, Québec, Canada). Upon arrival, rats were assigned to either a control group ($n = 28$) or a daily spontaneous runner group ($n = 18$). Control group rats were confined to plastic cages (21 cm \times 25 cm \times 47 cm), three to a cage, until the terminal experiment 12 weeks later. Spontaneous runners were placed for 12 weeks in live-in voluntary exercise wheels (dimensions 21 cm wide, 46 cm in diameter, with a running surface of 4 mm stainless steel mesh (Gisiger *et al.* 1994)), in which the number of revolutions was monitored by computer. For both groups, food (Purina rat chow) and water were made freely available, and the housing facility was temperature-controlled, with a controlled 12 h light-dark cycle. All procedures were according to the recommendations of the Canadian Council for Animal Care, and were approved by the animal ethics committee of the Université de Montréal.

Preparations for motoneuron intracellular recordings

These procedures used in this laboratory have been described in previous reports (Gardiner, 1993; Gardiner & Seburn, 1997; Cormery *et al.* 2000). On the morning of the terminal experiment, the rat was anaesthetized with an intraperitoneal injection of ketamine/xylazine (80/10 mg kg⁻¹). A jugular vein catheter was put in place, through which a mixture of anaesthetic (8/1 mg h⁻¹) and 70 kD neutral polymer of sucrose used as plasma expander (Ficoll70, Amersham Pharmacia, 40 mg h⁻¹) in physiological saline, was infused continually throughout the remainder of the experiment. A bolus intraperitoneal injection of 2 ml saline containing 0.05 mg kg⁻¹ atropine and 100 mg dextrose was also given immediately following the onset of anaesthesia. A tracheal tube was installed, and the animal was ventilated with a mixture of room air and pure oxygen (2 strokes s⁻¹, approximately 2 ml tidal volume). The ankle extensor muscles of the left hindlimb were exposed, and all lower hindlimb extensors except the gastrocnemius were denervated. The calcaneus with the

gastrocnemius tendon attached was separated from the foot, and silk suture material (2-0) was tied to it for the purpose of later attachment to a force transducer. The sciatic nerve was gently exposed and cleared, and the peroneal and sural branches were separated from the tibial branch as rostral as possible, and cut. A mid-line dorsal incision was then performed, and back muscles removed to expose the vertebral column from T 11 to S2.

The rat was then transferred to a stereotaxic system which permitted stabilization of the head, thoracic to sacral vertebrae, hips, left knee, and left foot, with the animal lying prone. A laminectomy was performed to expose the spinal cord from low-thoracic to high-sacral areas. A mineral-oil bath was made using the skin edges of the back incision, and the bath filled with light mineral oil. The dura was removed, and the large lumbar dorsal roots at the lumbar enlargement were cut and reflected over the right side of the cord, exposing the cord surface. The edges of the hindlimb incision were also used to make a bath around the hindlimb muscles and sciatic nerve, which was filled with mineral oil. The silk ligature around the calcaneus was attached to a force transducer (Grass Pt-03). A bipolar silver electrode was placed on the tibial branch of the sciatic nerve, and the stimulation voltage, polarity and muscle optimum length were determined. Body temperature was maintained at 37 °C by a temperature-controlled heating blanket in contact with the ventral surface of the animal. The muscle bath was maintained at 36 to 37 °C by recirculating warmed mineral oil through the muscle bath via a peristaltic pump. Ventilatory volume was adjusted so that expired CO₂ was 3 to 4 %.

Motoneuron recording

Intracellular recordings were made using glass microelectrodes (o.d. 1 mm) with tip diameters of approximately 1 μ m containing 2 M potassium citrate (resistance 14 to 18 M Ω). Tibial motoneurons were sought using the antidromic field potential resulting from tibial nerve stimulation (once every 2 s). Successful penetration of a tibial α -motoneuron was evident by a change in potential from zero to resting membrane potential (at least -50 mV), an antidromic action potential of short (less than 3 ms) and reproducible latency from the stimulation artefact, and of an amplitude of at least 60 mV with a positive over-shoot.

The following were then recorded: (1) the average of two to three antidromic action potentials; (2) two to four spikes at rheobase current, the latter defined as the amplitude of a 50 ms depolarizing current pulse evoking an action potential 50 % of the time; (3) two to four spikes resulting from short (0.1 to 0.8 ms) supramaximal intensity current pulses; (4) the mean of 40 AHPs following a spike evoked by 1 ms supramaximal current pulses; (5) 15 to 20 antidromic spikes during sustained current injections of various small (less than 2 nA) intensities (for measurement of input resistance using the spike height method (Frank & Fuertes, 1956)); and (6) average of 100 responses to 150 ms current injections of +1 and -1 nA (for measurement of membrane time constant (Zengel *et al.* 1985)).

If spike generation via current injection also produced a muscle unit twitch response, specifying the motoneuron as innervating gastrocnemius, several muscle properties were also recorded. Since these were few in number, those data are not reported here.

During recording from each motoneuron, membrane potential was recorded continuously on a DC recorder, and was noted in the laboratory note-book during the recording of each property. At the end of recording from the motoneuron, the electrode was

Table 1. Properties of motoneurones of controls and runners

Property	'Fast' motoneurones		'Slow' motoneurones	
	Controls	Runners	Controls	Runners
Antidromic action potential amplitude (mV)	73.5 ± 8.9	74.9 ± 11.1	78.8 ± 14.0	85.5 ± 10.3*
<i>n</i>	66	45	47	24
Cell input resistance (MΩ)	2.0 ± 1.2	1.6 ± 1.0	2.6 ± 1.7	2.5 ± 1.4*
<i>n</i>	55	42	48	21
Rheobase (nA)	7.3 ± 3.9	7.7 ± 3.9	5.6 ± 3.6	5.2 ± 3.3*
<i>n</i>	68	48	53	26
Rheobasic action potential amplitude (mV)	61.7 ± 7.3	61.0 ± 8.2	65.3 ± 8.5	73.4 ± 6.8 †
<i>n</i>	70	48	52	26
Membrane time constant, τ_m (ms)	6.2 ± 2.2	4.9 ± 1.8	6.4 ± 1.9	6.5 ± 1.5*
<i>n</i>	38	34	25	22
Resting membrane potential (mV)	-60.4 ± 7.4	-61.7 ± 7.4	-60.9 ± 8.2	-66.7 ± 6.6 †
<i>n</i>	69	48	53	26
Spike trigger level (mV)	-41.8 ± 8.3	-43.2 ± 7.3	-40.4 ± 10.3	-47.3 ± 5.9 †
<i>n</i>	68	48	52	26
V_{th} measured (mV)	18.4 ± 9.7	18.5 ± 9.2	21.0 ± 10.1	19.8 ± 7.3
<i>n</i>	70	48	52	26
AHP half decay time (ms)	14.2 ± 4.2	15.6 ± 3.6	29.5 ± 5.5	29.2 ± 6.5
<i>n</i>	58	46	53	26
AHP amplitude (mV)	1.8 ± 0.8	1.5 ± 0.7	2.8 ± 1.7	4.0 ± 2.0 †
<i>n</i>	58	46	50	26
Antidromic spike latency (ms)	1.6 ± 0.4	1.9 ± 0.3	2.5 ± 0.3	2.8 ± 0.2*
<i>n</i>	58	46	50	26

Values are means ± s.d., with numbers of motoneurones below. * Significant main effects of motoneurone 'type' or † significant interaction effects of motoneurone 'type' and activity ($P < 0.01$).

backed out of the cell in 5 μ m steps, and the stabilized 'zero' was recorded. Searching for cells continued until 6 to 8 h following the introduction of the first electrode into the spinal cord. All data were recorded onto PC-based computer using custom-made software. At the end of the experiment, the rat was killed with an overdose of anaesthetic.

Motoneurone properties

The following properties were determined from the recorded data: (1) antidromic spike height (in mV); (2) spike latency, measured as the time difference in ms between the stimulation artefact and the beginning of the antidromic spike; (3) spike trigger level (in mV), which was determined by subtracting the spike height during rheobasic current injection from that during a short, supramaximal current pulse, and adding this value to the resting membrane potential; (3) AHP amplitude (in mV) and half-decay time (in ms); (4) cell input resistance, using the spike height method of Frank & Fuortes (1956); and, (5) membrane time constant, from a 150 ms hyperpolarizing current pulse of 1 nA, using the curve-peeling method (Ito & Oshima, 1965; Zengel *et al.* 1985).

Statistical analysis

The data were subjected to a two-way ANOVA procedure on the factors of activity level (controls *vs.* runners) and motoneurone 'type'. For the latter, motoneurones were designated as 'slow' or 'fast' motoneurones based on the half-decay time of the AHP (fast < 20 ms, slow \geq 20 ms, Gardiner, 1993). This was done in order to subgroup motoneurones on an intrinsic property which co-varies with muscle fibre type and excitability, and which remains relatively stable in a variety of conditions which evoke changes in other properties (Zengel *et al.* 1985; Gardiner, 1993; Gardiner & Seburn, 1997; Munson *et al.* 1997; Cormery *et al.*, 2000). Where a significant interaction term was present, data were subjected to

a Newman-Keuls post hoc comparisons test, to determine significant differences among individual means. All data are expressed as means ± 1 s.d.

RESULTS

The data set is summarized in Table 1, and includes 74 motoneurones from 18 rats given access to daily spontaneous wheel activity for 12 weeks, and 122 motoneurones from 28 rats confined to standard plastic cages for the same period of time. Rats in voluntary wheel cages performed an average of 13.6 km (range 6.8 to 18.5 km) of wheel activity per day during the last week before the terminal experiment. In all terminal experiments, records were taken from four to eight motoneurones. The number of muscle-identified motoneurones was too small to allow for adequate statistical analysis; for this reason, data are expressed simply as tibial motoneurones.

In an attempt to determine if significant effects were consistent across motoneurone 'types', we separated motoneurones into 'fast' and 'slow', using a half-decay time of the AHP. This is based on previous reports (Gardiner, 1993; Cormery *et al.* 2000) that rat hindlimb motoneurones with AHP half-decay times equal to or greater than 20 ms innervate slow-twitch muscle fibres. χ^2 analysis demonstrated no differences ($P > 0.05$) in the proportions of fast and slow motoneurones in the samples from controls (58% fast, 42% slow) and runners

(65% fast, 35% slow), suggesting that the difference in neuromuscular activity between these two groups was of insufficient intensity to result in changes in motoneurone or muscle unit types of the kind reported, for example, following chronic electrical stimulation of cat gastrocnemius (Gordon *et al.* 1997), or high-intensity endurance treadmill training in rats (Green *et al.* 1984).

Motoneurone 'type' differences

The two-way ANOVA procedure allowed the determination of differences between fast and slow motoneurones, differences due to spontaneous wheel activity, and interaction effects (i.e. whether fast and slow motoneurones were influenced differently by the wheel activity). The properties demonstrating significant motoneurone 'type' differences are summarized in Fig. 1 (where data from controls and runners are combined). As would be expected, significant main effects (with no interaction effect) of fast vs. slow were found for cell input resistance ($1.8 \pm 1.1 \text{ M}\Omega$ and $2.6 \pm 1.6 \text{ M}\Omega$ for fast and slow, respectively) and rheobase ($7.5 \pm 3.9 \text{ nA}$ and $5.7 \pm 3.5 \text{ nA}$ for fast and slow, respectively). Antidromic spike latency, which reflects (inversely) axonal conduction velocity, was also significantly larger in slow motoneurones ($1.7 \pm 0.4 \text{ ms}$ and $2.6 \pm 0.3 \text{ ms}$ for fast and slow, respectively). Membrane time constant was significantly longer for slow than for fast motoneurones ($5.6 \pm 2.1 \text{ ms}$ and $6.5 \pm 1.7 \text{ ms}$

for fast and slow, respectively). Antidromic spike height also showed a significant main effect of motoneurone type, with slow motoneurones being slightly but significantly larger than fast ($74 \pm 13 \text{ mV}$ and $81 \pm 10 \text{ mV}$ for fast and slow, respectively) (Fig. 1).

Effects of activity

Activity level had an overall effect (independent of motoneurone type) only on antidromic spike amplitude, in that runners had antidromic spikes which were slightly but significantly larger than those of controls (by 3 to 4 mV). All other properties showing a significant main effect of wheel activity level also demonstrated a significant interaction term, indicating that the treatment effect on that property depended on motoneurone type. These interactions are illustrated in Figs 2 to 4, and demonstrate quite clearly that activity effects were most evident on slow motoneurones. Figure 2 shows the mean and standard deviations, while Figs 3 and 4 show the cumulative percentiles. In the case of resting membrane potential and spike trigger level, slow motoneurones of runners showed significantly hyperpolarized values (by 6 to 7 mV) compared to fast motoneurones of runners, and to slow and fast motoneurones of controls. With regards to AHP amplitude, statistical analysis revealed that the slow motoneurones of runners had the highest amplitudes, followed by the slow motoneurones of controls, and finally

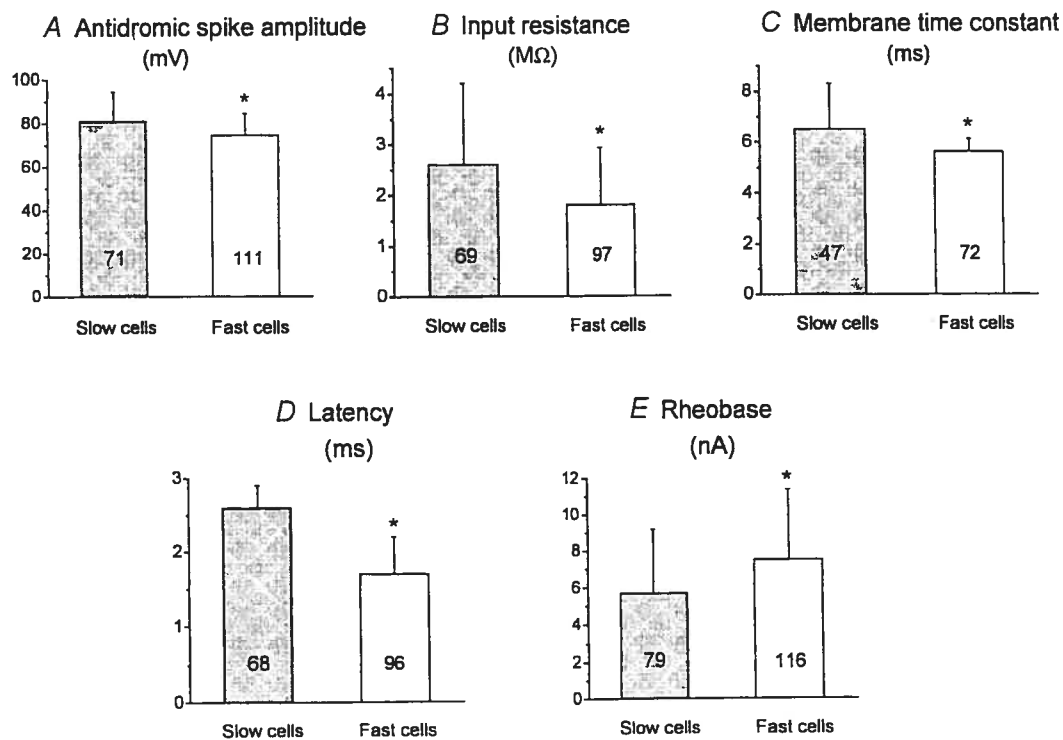


Figure 1. Properties of slow (AHP half-decay time $\geq 20 \text{ ms}$) and fast (AHP half-decay time $< 20 \text{ ms}$) motoneurones

Data from controls and runners are combined. All properties show significant differences (* $P < 0.01$).

the fast motoneurons, in which AHP amplitude was not different between controls and runners (Figs 2 and 3). In all cases, the distributions of data for fast motoneurons were very similar for controls and runners (Figs 3 and 4).

To measure spike trigger level, we added the difference in voltage between orthodromic spikes evoked by short intense vs. rheobasic currents to the resting membrane potential. While this absolute value is dependent upon an accurate measurement of resting membrane potential, an estimate of the activity effect on this property can be obtained, which is independent of resting membrane potential, by simply comparing the amplitudes of the rheobasic spikes. Differences found using this property are independent of differences among motoneurons in antidromic spike height or resting potential. For this property, also included in Table 1, the statistical results were the same as for spike trigger level, resting membrane potential, and AHP amplitude, in that slow motoneurons from runners showed a higher mean value than the other groups (Fig. 2). As was the case for other properties

described above, data distributions for the fast motoneurons were similar between controls and runners (Figs 3 and 4).

A summary of relationships among several properties is presented in Table 2. Across the entire sample, antidromic spike height was modestly, but significantly, correlated with resting membrane potential but not with spike trigger level or AHP amplitude (Table 2). Similarly, relationships of resting membrane potential with spike trigger level and AHP amplitude were poor. Thus, systematic differences in properties among groups could not be explained by corresponding variations in either antidromic spike height or resting membrane potential. Analysis of covariance was performed to determine if using antidromic spike height as a covariate would influence the degree of significant difference among the groups in resting membrane potential, rheobasic action potential, spike trigger level or AHP amplitude. In fact, these differences persisted following this procedure, indicating that the activity-related effects on these three properties were not related to

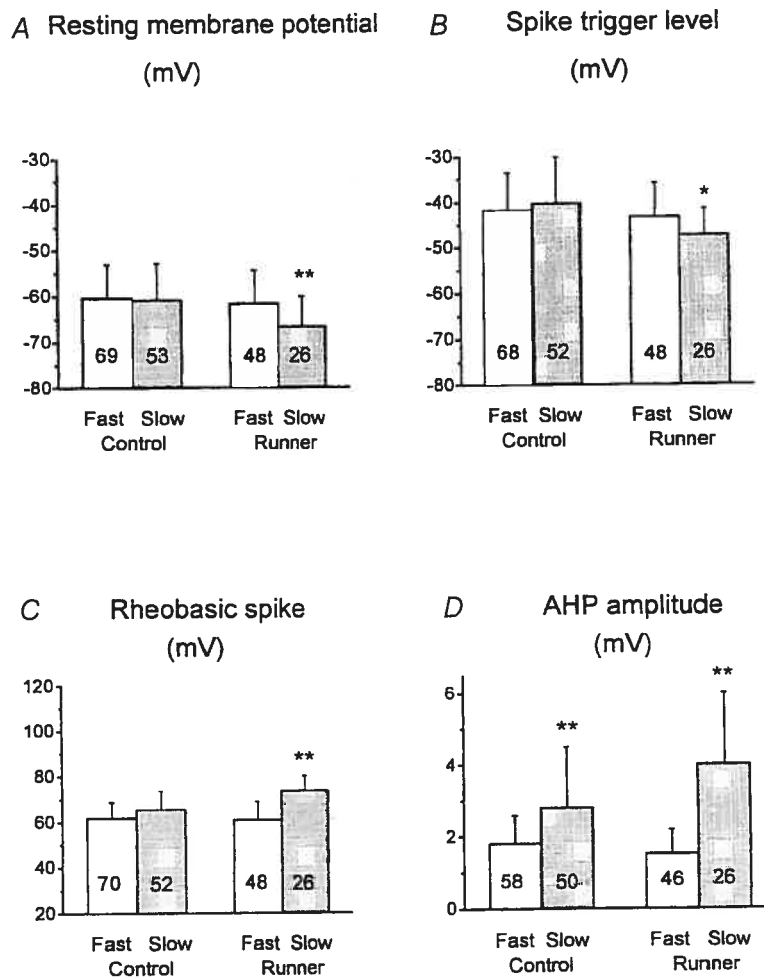


Figure 2. Activity effects on fast and slow motoneurons

Asterisks indicate significantly different from all other means (* $P < 0.025$, ** $P < 0.01$).

Table 2. Relationships (r^2 values) among antidromic spike amplitude (mV), resting membrane potential (mV), spike trigger level (mV) and AHP amplitude (mV), for all motoneurones combined

	Antidromic action potential amplitude	Resting membrane potential	Spike trigger level	AHP amplitude
Antidromic action potential amplitude	—	0.17*	0.01	0.08
Resting membrane potential	—	—	0.09*	0.01
Spike trigger level	—	—	—	0.02
AHP amplitude	—	—	—	—

* Significant relationship ($P < 0.01$).

a common index of the quality of cell penetration. Similarly, effects of activity on rheobasic action potential, spike trigger level and AHP amplitude persisted when resting membrane was used as a covariate

DISCUSSION

The most significant finding of this study is that basic motoneurone properties, which are important in determining their functional characteristics, are modified by physiological modifications in voluntary neuromuscular activity levels. Thus, the motoneurone is a target for increased spontaneous-activity-modulated neuromuscular plasticity. The most striking effects of increased

activity seen in the present study were in spike trigger level, resting membrane potential (both more hyperpolarized in runners) and AHP amplitude (larger in runners). Furthermore, these effects were restricted to the sub-population of motoneurones that one would expect to be recruited relatively more frequently during the voluntary activity (slow motoneurones).

It might be argued that the findings of alterations in resting membrane potential, spike trigger level and AHP amplitude could be explained by differences in the quality of motoneurone penetrations. This is highly unlikely for several reasons. First, it is not reasonable to expect that the best motoneurone penetrations would occur systematically for

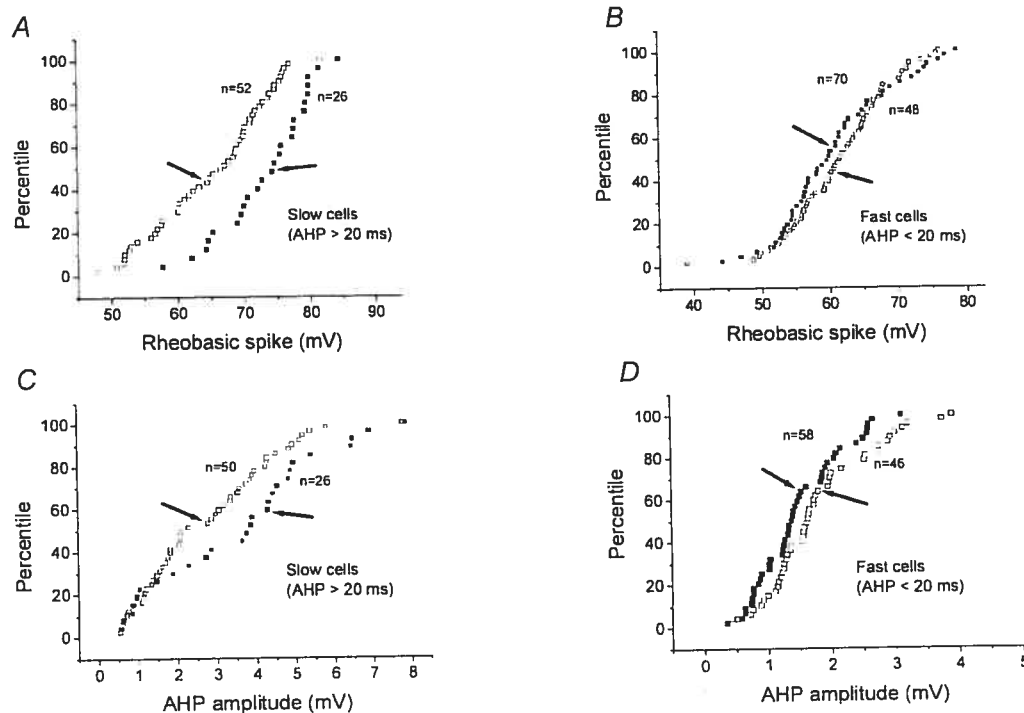


Figure 3. Percentile distributions for rheobasic spike (A and B) and AHP amplitude (C and D), in slow and fast motoneurones (A, C and B, D, respectively)

Arrows indicate mean values. □ controls and ■ runners.

the slow motoneurons of the runners, especially since these motoneurons are smaller (i.e. have larger input resistances) than the fast motoneurons of both groups. In addition, the significant activity effects persisted when the analysis of variance was conducted using antidromic spike height and resting membrane potential as covariates, a procedure which effectively 'corrects' for variations in these properties. Finally, and consistent with this, correlations among spike trigger level, resting membrane potential, action potential amplitude and AHP amplitude were poor (Table 2).

There is evidence that motoneurone membrane properties are mutable with various interventions. Besides the changes that occur in motoneurons with development (Ziskind-Conhaim, 1988; Cameron *et al.* 2000), the most documented are the adaptations that occur in the properties of motoneurons which are axotomized (Eccles *et al.* 1958; Foehring *et al.* 1986b) or deprived of supraspinal influence via spinal cord transection (Munson *et al.* 1986; Hochman & McCrea, 1994). Very little direct evidence is available, however, which suggests that altered chronic voluntary activity alone may change the properties of motoneurons. In the cat, chronic stimulation of the medial gastrocnemius nerve for 6 months to alter its muscle fibres to slow-twitch also causes subtle changes in

biophysical properties of the innervating motoneurons, such that they begin to resemble slow-twitch motoneurons (lower rheobase, higher input resistance, longer AHP) (Munson *et al.* 1986). Whether these changes are due to antidromic action potential generation, concurrent afferent stimulation, or the influence of muscle-derived trophic influences on nerve properties, is unknown. In muscles of the dominant hands of human subjects, motor units have lower force thresholds, lower initial and average firing rates and lower discharge variability than in non-dominant hands, all of which would be expected to occur if motoneurons became slightly more like slow motoneurons with increased chronic activity (assuming that handedness differences in motor unit recruitment behaviour are due to difference in chronic usage) (Adam *et al.* 1998).

The differences seen in motoneurons between controls and runners in the present study were more subtle, and perhaps different, than one might expect from a traditional, chronic, endurance-type training programme. In the latter, there is an increase in the transcription and translation of type I and IIa myosin heavy chains, at the expense of IIx (and in the rat, IIb) in the training muscles (Green *et al.* 1984; Demirel *et al.* 1999). Since motoneurone and muscle fibre properties

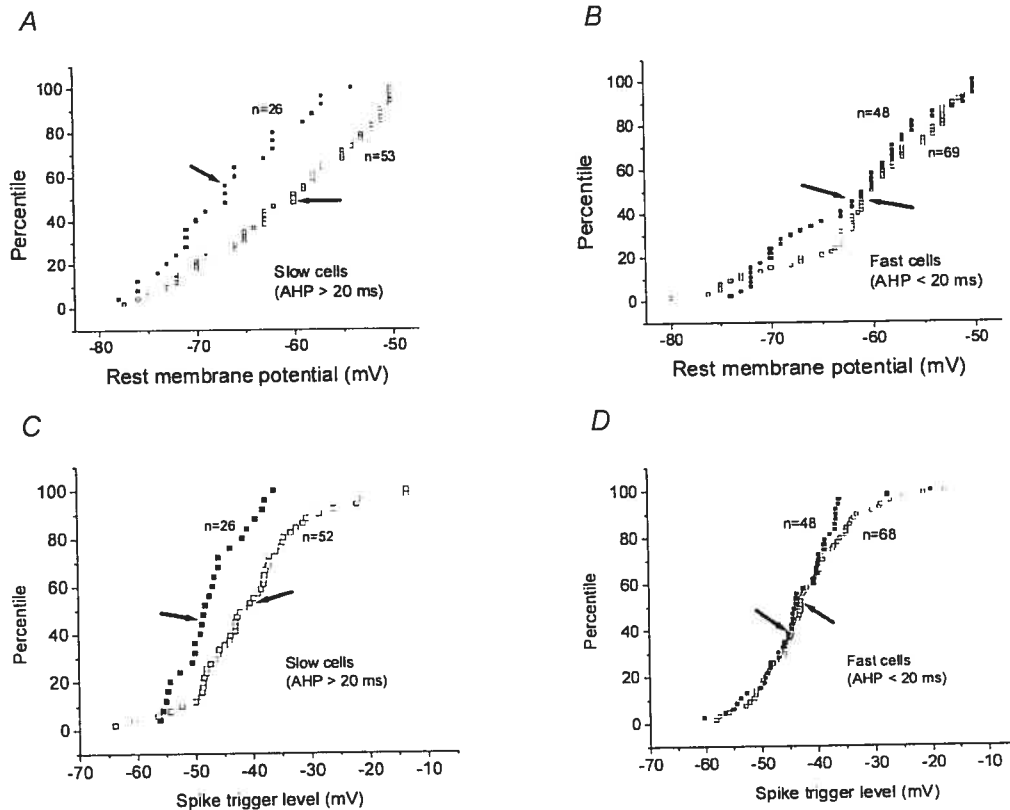


Figure 4. Percentile distributions for resting membrane potential (A and B) and spike trigger level (C and D), in slow and fast motoneurons (A, C and B, D, respectively)

Arrows indicate mean values. □ controls and ■ runners.

appear to covary systematically under a variety of conditions, one might expect to see motoneurons change in properties towards higher input resistance, lower rheobase and longer AHP values, as suggested by the results summarized in the previous paragraph. In fact, in the present study, the proportions of slow and fast motoneurons were almost identical in the two groups. Even in the absence of overt changes in motoneuron type from fast to slow, a tendency towards a change from fast to slow motoneurons might be expressed as a slightly higher mean input resistance, slightly lower mean rheobase or slightly longer AHP half-decay time, for the fast motoneurons of runners. For example increased running activity can result in changes in the fast fibre population towards higher proportions of IIA, without changes in type I (Ishihara *et al.* 1991), as well as an increase in mitochondrial enzyme activity (Rodnick *et al.* 1989). In spite of this, however, none of the properties was significantly altered in the fast motoneurons (in fact, input resistance and rheobase tended to decrease and increase, respectively, in the fast motoneurons, see Table 1).

The importance of muscle adaptations in promoting motoneuron changes in the present study is not known. During reinnervation of cat soleus muscles by medial gastrocnemius motoneurons, a proportion of the latter eventually become more like slow than the original fast motoneurons, although the same motoneurons innervating the original muscle resume their original fast properties (Foehring *et al.* 1986a). Low-frequency, chronic stimulation of cat medial gastrocnemius to convert its fibres to slow-twitch, also converts a proportion of its innervating motoneurons to those with more slow-like properties (Munson *et al.* 1997). In addition, muscle paralysis via pharmacological blockade of axon spike transmission shortens the duration of the AHP and increases the rheobase current of the most-affected, slow motoneurons (Cormery *et al.* 2000). Finally, chronic infusion of BDNF into the gastrocnemius in the rat decreases motoneuronal rheobase after 5 days (Gonzalez & Collins, 1997). These results, taken together, suggest that motoneuron adaptations might be evoked as a result of trophic substances secreted by active muscle fibres and taken up by nerve terminals. In our model of increased spontaneous running, classic adaptations normally seen in endurance-trained muscles, such as increase in the proportion of type I fibres and increased mitochondrial enzyme content, are not seen except in those rats running 15 km or more per day (Rodnick *et al.* 1989). This was the case for less than half of the rats in the present study. Nonetheless, it is conceivable that trophic substances from active muscle fibres (or by inactive muscle fibres, in the case of the control rats), are implicated in the motoneuronal adaptations found in this study.

Interestingly, several of the changes seen in motoneurons in this study are reminiscent of changes reported to occur in motoneurons of *Aplysia californica* following long-

term sensitization training of the tail-siphon withdrawal reflex. These include a significantly more hyperpolarized resting membrane potential and spike trigger level, and a tendency for a decreased cell input resistance (Cleary *et al.* 1998). Other evidence of activity-dependent regulation of neuronal ion conductances, but involving decreases in activity, has been presented in the research literature. For example when stomatogastric ganglion neurons of the lobster are isolated from synaptic drive (removed and put into culture), they gained the ability to fire bursts endogenously, and when rhythmic drive was restored, this ability was reduced or lost. An increase in intracellular calcium was necessary to produce these changes (Turrigiano *et al.* 1994). In addition, there is some suggestion from studies of inactive rat pyramidal cells in culture that activity-induced changes in neuronal sodium channel function occur (Desai *et al.* 1999).

It may be that the differences noted in motoneuron properties between controls and runners is an effect of reduced spontaneous locomotor activity, in the case of the cage-confined rats. For example spinal cord transection results in motoneurons below the lesion which are less excitable and have a slightly shorter AHP duration (Hochman & McCrea, 1994). This might indicate that the spontaneous running condition is the true 'control' condition, and that cage-confined rats are subjected to forced reduced activity which produces adaptations that are more or less severe depending on their original propensity for spontaneous locomotor activity. It should be pointed out that we have no measurement of the relative activity levels of the control rats, which might have been significantly higher when housed in groups of three than would be the case if, for example, they had been housed individually. Nonetheless, it appears that the daily, high-intensity, intermittent running activity which rats perform in these exercise wheels (Seburn & Gardiner, 1995) provides the stimulus that either evokes the adaptations noted in this as well as previous studies (Rodnick *et al.* 1989; Dluzen *et al.* 1995; Neeper *et al.* 1995; among others), or prevents decreased use-induced adaptations.

The mechanisms for the differences seen in resting membrane potential and the spike trigger level might include the density and/or modulation of the inward-rectifier potassium channels, which are known to influence these properties (Cameron *et al.* 2000; Oliver *et al.* 2000), and which change during development (Cameron *et al.* 2000). The involvement of potassium channels is also implied by the effect on the AHP amplitude. Other mechanisms might include alterations in the maximum conductance and gating of the neuronal sodium channels by a number of mechanisms which include phosphorylation of the channel via protein kinase A and C, and glycosylation of the subunits (Marban *et al.* 1998). For example during induction of long-

term potentiation rat hippocampal cultures, the half-activation voltage of sodium channels changed by 5 mV in the negative direction, an effect which depended upon protein kinase C activation via calcium entry into the cell (Ganguly *et al.* 2000).

The implications for these changes on the function of the neuromuscular system are not known. The changes noted, however, might be seen as consistent with a slowing of contractile speed and increased fatigue resistance of the muscles with increased activity. For example all of the changes noted (increased AHP amplitude, more hyperpolarized resting membrane potential and spike trigger level) might work together to delay the onset of membrane accommodation and late adaptation that would occur with repetitive firing (Granit *et al.* 1963; Schwindt & Crill, 1982).

In conclusion, increased daily spontaneous activity in rats results in a more hyperpolarized mean resting membrane potential and spike trigger level, and a larger mean amplitude of the AHP, in 'slow' (AHP \geq 20 ms) motoneurons, with no effects noted in 'fast' motoneurons. Thus, the adaptation was restricted to those motoneurons that one would expect to be most extensively recruited during this activity. The specific underlying conductance channel changes associated with and explaining these adaptations, as well as their functional significance, remain to be elucidated in future studies.

REFERENCES

- ADAM, A., DE LUCA, C. J. & ERIM, Z. (1998). Hand dominance and motor unit firing behavior. *Journal of Neurophysiology* **80**, 1373–1382.
- BINDER, M. D., HECKMAN, C. J. & POWERS, R. K. (1996). The physiological control of motoneuron activity. In *Handbook of Physiology 12: Exercise, Regulation and Integration of Multiple Systems*, ed. ROWELL, L. B. & SHEPHERD, J. T., pp. 3–53. Oxford University Press, New York.
- BROWNSTONE, R. M., GOSSARD, J.-P. & HULTBORN, H. (1994). Voltage-dependent excitation of motoneurons from spinal locomotor centres in the cat. *Experimental Brain Research* **102**, 34–44.
- CAMERON, W. E., NÚÑEZ-ABADES, P. A., KERMAN, I. A. & HODGSON, T. M. (2000). Role of potassium conductances in determining input resistance of developing brain stem motoneurons. *Journal of Neurophysiology* **84**, 2330–2339.
- CLEARY, L. J., LEE, W. L. & BYRNE, J. H. (1998). Cellular correlates of long-term sensitization in *Aplysia*. *Journal of Neuroscience* **18**, 5988–5998.
- COPE, T. C., BODINE, S. C., FOURNIER, M. & EDGERTON, V. R. (1986). Soleus motor units in chronic spinal transected cats: physiological and morphological alterations. *Journal of Neurophysiology* **55**, 1202–1220.
- CORMERY, B., MARINI, J. F. & GARDINER, P. F. (2000). Changes in electrophysiological properties of tibial motoneurons in the rat following 4 weeks of tetrodotoxin-induced paralysis. *Neuroscience Letters* **287**, 21–24.
- CZECH, G., GALLEGO, R., KUDO, N. & KUNO, M. (1978). Evidence for the maintenance of motoneurone properties by muscle activity. *Journal of Physiology* **281**, 239–252.
- DEMIREL, H. A., POWERS, S. K., NAITO, H., HUGHES, M. & COOMBES, J. S. (1999). Exercise-induced alterations in skeletal muscle myosin heavy chain phenotype: dose-response relationship. *Journal of Applied Physiology* **86**, 1002–1008.
- DESAI, N. S., RUTHERFORD, L. C. & TURRIGIANO, G. G. (1999). Plasticity in the intrinsic excitability of cortical pyramidal neurons. *Nature Neuroscience* **2**, 515–520.
- DLUZEN, D., LIU, B., CHEN, C. & DICARLO, S. (1995). Daily spontaneous running alters behavioral and neurochemical indexes of nigrostriatal function. *Journal of Applied Physiology* **78**, 1219–1224.
- ECCLES, J. C., LIBET, B. & YOUNG, R. R. (1958). The behaviour of chromatolysed motoneurons studied by intracellular recording. *Journal of Physiology* **143**, 11–40.
- ELAM, M., SVENSSON, T. & THOREN, P. (1987). Brain monoamine metabolism is altered in rats following spontaneous, long-distance running. *Acta Physiological Scandinavica* **130**, 313–316.
- FOEHRING, R., SYPERT, G. & MUNSON, J. (1986a). Properties of self-reinnervated motor units of medial gastrocnemius of cat. I. Long-term reinnervation. *Journal of Neurophysiology* **55**, 931–946.
- FOEHRING, R., SYPERT, G. & MUNSON, J. (1986b). Properties of self-reinnervated motor units of medial gastrocnemius of cat. II. Axotomized motoneurons and time course of recovery. *Journal of Neurophysiology* **55**, 947–965.
- FOEHRING, R., SYPERT, G. & MUNSON, J. (1987). Motor-unit properties following cross-reinnervation of cat lateral gastrocnemius and soleus muscles with medial gastrocnemius nerve. II. Influence of muscle on motoneurons. *Journal of Neurophysiology* **57**, 1227–1245.
- FRANK, K. & FUORTES, G. (1956). Stimulation of spinal motoneurons with intracellular electrodes. *Journal of Physiology* **134**, 451–470.
- GANGULY, K., KISS, L. & POO, M. M. (2000). Enhancement of presynaptic neuronal excitability by correlated presynaptic and postsynaptic spiking. *Nature Neuroscience* **3**, 1018–1026.
- GARDINER, P. (1993). Physiological properties of motoneurons innervating different muscle unit types in rat gastrocnemius. *Journal of Neurophysiology* **69**, 1160–1170.
- GARDINER, P. F. & SEBURN, K. L. (1997). The effects of tetrodotoxin-induced muscle paralysis on the physiological properties of muscle units and their innervating motoneurons in rat. *Journal of Physiology* **499**, 207–216.
- GHARAKHANLOU, R., CHADAN, S. & GARDINER, P. (1999). Increased activity in the form of endurance training increases calcitonin gene-related peptide content in lumbar motoneuron cell bodies and in sciatic nerve in the rat. *Neuroscience* **89**, 1229–1239.
- GISIGER, V., BÉLISLE, M. & GARDINER, P. F. (1994). Acetylcholinesterase adaptation to voluntary wheel running is proportional to the volume of activity in fast, but not slow, rat hindlimb muscles. *European Journal of Neuroscience* **6**, 673–680.
- GÓMEZ-PINILLA, F., YING, Z., OPAZO, P., ROY, R. R. & EDGERTON, V. R. (2001). Differential regulation by exercise of BDNF and NT-3 in rat spinal cord and skeletal muscle. *European Journal of Neuroscience* **13**, 1078–1084.
- GONZALEZ, M. & COLLINS, W. F., III (1997). Modulation of motoneuron excitability by brain-derived neurotrophic factor. *Journal of Neurophysiology* **77**, 502–506.

- GORDON, T., TYREMAN, N., RAFUSE, V. F. & MUNSON, J. B. (1997). Fast-to-slow conversion following chronic low-frequency activation of medial gastrocnemius muscle in cats. 1. Muscle and motor unit properties. *Journal of Neurophysiology* **77**, 2585–2604.
- GRANIT, R., KERNELL, D. & SHORTESS, G. K. (1963). Quantitative aspects of repetitive firing of mammalian motoneurons, caused by injected currents. *Journal of Physiology* **168**, 911–931.
- GREEN, H., KLUG, G., RICHMANN, H., SEEDORF, U., WIEHRER, W. & PETTE, D. (1984). Exercise-induced fibre type transitions with regard to myosin, parvalbumin, and sarcoplasmic reticulum in muscles of the rat. *Pflugers Archiv European Journal of Physiology* **400**, 432–438.
- HALTER, J. A., CARP, J. S. & WOLPAW, J. R. (1995). Operantly conditioned motoneuron plasticity: Possible role of sodium channels. *Journal of Neurophysiology* **73**, 867–871.
- HOCHMAN, S. & MCCREA, D. A. (1994). Effects of chronic spinalization on ankle extensor motoneurons. II. Motoneuron electrical properties. *Journal of Neurophysiology* **71**, 1468–1479.
- ISHIHARA, A., INOUE, N. & KATSUTA, S. (1991). The relationship of voluntary running to fibre type composition, fibre area and capillary supply in rat soleus and plantaris muscles. *European Journal of Applied Physiology* **62**, 211–215.
- ITO, M. & OSHIMA, T. (1965). Electrical behaviour of the motoneurone membrane during intracellularly applied current steps. *Journal of Physiology* **180**, 607–635.
- JASMIN, B., LAVOIE, P. & GARDINER, P. (1988). Fast axonal transport of labeled proteins in motoneurons of exercise-trained rats. *American Journal of Physiology: Cell Physiology* **255**, C731–736.
- KANG, C.-M., LAVOIE, P.-A. & GARDINER, P. F. (1995). Chronic exercise increases SNAP-25 abundance in fast-transported proteins of rat motoneurons. *NeuroReport* **6**, 549–553.
- KRAWITZ, S., FEDIRCHUK, B., DAI, Y., JORDAN, L. M. & MCCREA, D. A. (2001). State-dependent hyperpolarization of voltage threshold enhances motoneurone excitability during fictive locomotion in the cat. *Journal of Physiology* **532**, 271–278.
- LAMBERT, M. I. & NOAKES, T. D. (1990). Spontaneous running increases $\text{VO}_{2\text{max}}$ and running performance in rats. *Journal of Applied Physiology* **68**, 400–403.
- MARBAN, E., YAMAGISHI, T. & TOMASELLI, G. F. (1998). Structure and function of voltage-gated sodium channels. *Journal of Physiology* **508**, 647–657.
- MENDELL, L. M., COLLINS, III, W. F. & MUNSON, J. B. (1994). Retrograde determination of motoneuron properties and their synaptic input. *Journal of Neurobiology* **25**, 707–721.
- MUNSON, J. B., FOEHRING, R. C., LOFTON, S. A., ZENGEL, J. E. & SYPERT, G. W. (1986). Plasticity of medial gastrocnemius motor units following cordotomy in the cat. *Journal of Neurophysiology* **55**, 619–634.
- MUNSON, J. B., FOEHRING, R. C., MENDELL, L. M. & GORDON, T. (1997). Fast-to-slow conversion following chronic low-frequency activation of medial gastrocnemius muscle in cats. 2. Motoneuron properties. *Journal of Neurophysiology* **77**, 2605–2615.
- NEEPER, S., GÓMEZ-PINILLA, F., CHOI, J. & COTMAN, C. (1995). Exercise and brain neurotrophins. *Nature* **373**, 109.
- OLIVER, D., BAUKROWITZ, T. & FAKLER, B. (2000). Polyamines as gating molecules of inward-rectifier K^+ channels. *European Journal of Biochemistry* **267**, 5824–5829.
- RODNICK, K., REAVEN, G., HASKELL, W., SIMS, C. & MONDON, C. (1989). Variations in running activity and enzymatic adaptations in voluntary running rats. *Journal of Applied Physiology* **66**, 1250–1257.
- SCHWINDT, P. C. & CRILL, W. E. (1982). Factors influencing motoneuron rhythmic firing: results from a voltage-clamp study. *Journal of Neurophysiology* **4**, 875–890.
- SEBURN, K. L. & GARDINER, P. (1995). Adaptations of rat lateral gastrocnemius motor units in response to voluntary running. *Journal of Applied Physiology* **78**, 1673–1678.
- SUZUKI, H., TSUZIMOTO, H., ISHIKO, T., KASUGA, N., TAGUCHI, S. & ISHIHARA, A. (1991). Effect of endurance training on the oxidative enzyme activity of soleus motoneurons in rats. *Acta Physiologica Scandinavica* **143**, 127–128.
- TURRIGIANO, G., ABBOTT, L. F. & MARDER, E. (1994). Activity-dependent changes in the intrinsic properties of cultured neurons. *Science* **264**, 974–977.
- WOLPAW, J. & CARP, J. (1993). Adaptive plasticity in spinal cord. *Advances in Neurology* **59**, 163–174.
- ZENGEL, J., REID, S., SYPERT, G. & MUNSON, J. (1985). Membrane electrical properties and prediction of motor-unit type of medial gastrocnemius motoneurons in the cat. *Journal of Neurophysiology* **53**, 1323–1344.
- ZISKIND-CONHAIM, L. (1988). Electrical properties of motoneurons in the spinal cord of rat embryos. *Developmental Biology* **128**, 21–29.

Acknowledgements

This research was supported by a grant from the Natural Sciences and Engineering Research Council of Canada to P.G. The authors wish to thank Gérard Ouellet, Paul Martin, Simon Doucet, and Amélie Boisclair for their technical assistance.

ABSTRACT: The purpose of the study was to determine the effect of daily endurance treadmill training (2 h/day, 30 m/min) on motoneuron biophysical properties. Electrophysiological properties of tibial motoneurons were measured in situ in anesthetized (ketamine/xylazine) control and trained rats using sharp glass microelectrodes. Motoneurons from trained rats had significantly hyperpolarized resting membrane potentials and spike trigger levels, and faster antidromic spike rise-times. "Fast" motoneurons (after-hyperpolarization half-decay time <20 ms) in trained rats also had a significantly larger mean cell capacitance than those in control rats, suggesting that they were larger, although this had no effect on indices of excitability (rheobase, cell input resistance). Motoneurons are thus targets for activity-induced adaptations, which may have clinical significance for the role of physical activity as a therapeutic modality in cases of neurological deficit. The specific adaptations noted, which reflect alterations in ionic conductances, may serve to offset decreases in membrane excitability that occur during sustained excitation.

Muscle Nerve 27: 228–236, 2003

ENDURANCE TRAINING ALTERS THE BIOPHYSICAL PROPERTIES OF HINDLIMB MOTONEURONS IN RATS

ERIC BEAUMONT, MSc, and PHILLIP F. GARDINER, PhD

Département de Kinésiologie, Université de Montréal, Montréal, Québec, Canada

Accepted 9 October 2002

Although the effects of increased activity on mammalian skeletal muscle have been studied extensively,³ evidence that innervating motoneurons also adapt to increased activity is sparse and primarily biochemical. For example, there is some suggestion that motoneurons, like other neuron types, may show increased oxidative enzyme levels when subjected to increased activation.^{4,28,38,47,48} Increases also occur in the amount and rate of transport of proteins via fast axonal transport, in axons innervating the hindlimb muscles of endurance-trained rats.^{18,31,32}

Our recent work¹ has shown that increased spontaneous running in rats, achieved by housing them in wheel cages that allow the animals 24-h access to locomotor activity *ad libitum*, evokes biophysical changes in the properties of motoneurons, mea-

sured using standard microelectrode techniques. Specifically, motoneurons in ketamine/xylazine-anesthetized rats were found to possess more hyperpolarized resting membrane potentials (RMP) and "spike trigger levels" (STL; membrane potential at which an action potential is triggered), as well as increased amplitudes of the after-hyperpolarization (AHP) following the orthodromic spike. These changes were restricted to the "slow" motoneurons (i.e., those having an AHP half-decay time of >20 ms), and thus to those motoneurons one would expect to be most frequently recruited during spontaneous activity. The nature of the changes observed in that recent study suggested activity-induced modulation of ionic currents in the motoneuron membrane governing these properties. Similar changes in neural biophysical properties have been reported from learning experiments with *Aplysia*.^{5,11}

Rats can be endurance-trained to produce many of the muscle modifications, such as increased mitochondrial volume and increased proportions of type I muscle fibers, seen in endurance-trained humans.¹⁴ Although spontaneous runners often exercise for longer total time periods than the 2 h of hyperactivity experienced by the endurance runners, the muscle adaptations in the former are modest, and are significant only in those rats achieving the highest total running volume (>16 km/day).⁴⁰ This

Abbreviations: AHP, after-hyperpolarization; ANOVA, analysis of variance; BDNF, brain-derived neurotrophic factor; *L*, length constant; NT-3, neurotrophin-3; RMP, resting membrane potential; STL, spike trigger level; τ_m , membrane time constant

Key words: activity; electrophysiology; endurance training; motoneuron properties; recruitment

Correspondence to: P. Gardiner, HLHP Research Institute, University of Manitoba, Max Bell Center, Winnipeg, MB R3T 2N2, Canada; e-mail: [REDACTED]

© 2002 Wiley Periodicals, Inc.

is due to the relatively low intensity and intermittent nature of the exercise challenge. Thus, while increased spontaneous activity in exercise wheels is, on average, of insufficient intensity to evoke muscle adaptations, adaptations on the part of the innervating motoneurons that are most active are readily apparent.

The purpose of the present study was to determine whether motoneuron adaptations could be evoked in rats by subjecting them to a traditional endurance-training program shown in past reports to evoke adaptations in muscle properties, motoneuron biochemical properties, and neuromuscular junctions.^{9,18,19,30-32,37,45} Because endurance training involves a more intense recruitment of all motoneurons (as evidenced by more marked muscle fiber adaptations in fast muscles), but for a shorter total period of time, compared to spontaneous wheel-running, it may be possible to distinguish the importance of total time versus intensity of motor unit use on the previously noted biophysical adaptations in hindlimb motoneurons. In addition, involvement of fast as well as slow motoneurons may be found in these adaptations, which was not the case with spontaneous running, given the higher level of motor unit recruitment during treadmill endurance training. Finally, given the relatively strong covariation between motoneuron and muscle unit properties,^{15,49} we sought to determine whether endurance training would evoke changes in motoneuron properties related to type (fast versus slow) and excitability, which were not found in spontaneously active rats. Such changes would be consistent with the transition in motor units toward more slow-like properties, known to occur in endurance-trained muscle^{2,27} and the strong covariation between motoneurons and muscle unit properties.¹⁵

METHODS

Animals. Experiments were conducted on female Sprague-Dawley rats (150 g upon receipt), obtained from Charles River (St-Constant, Québec). Rats were assigned to either a control group ($n = 13$) or a treadmill-training program ($n = 9$). Control group rats were confined to plastic cages (21 cm \times 25 cm \times 47 cm), three to a cage, until the termination of the experiment 16 weeks later. For both groups, food and water were made freely available, and the housing facility was temperature-controlled, under a 12-hour light-dark cycle. All procedures were done according to the recommendations of the Canadian

Council for Animal Care, and were approved by the animal ethics committee of the Université de Montréal.

Exercise Training. The runner group was exercised on a motor-driven rodent treadmill for 16 weeks. The training program consisted of running 5 days/week, at a speed of 30 m/min, at a 10% grade. The program was progressive such that by week 4 the animals ran 60 min in the morning and another 60 min in the afternoon, representing a total distance of 3.6 km/day. Noisy but harmless blasts of compressed air to the rats' hindquarters were used during the initial 4 weeks to condition rats to the endurance training task.

Cytochrome Oxidase Measurement. We measured the activity of the mitochondrial enzyme cytochrome oxidase in plantaris muscle homogenates in order to assess the training effect. Tissues were homogenized in a test tube surrounded by ice containing 50 vol of 0.1 M KH_2PO_4 - NaH_2PO_4 buffer (pH 7.4), using a Polytron homogenizer. Homogenization was performed at a speed of 16,000 rpm, using two or three 5-s bursts. This homogenate was used directly in the enzyme assay in the presence of sodium dithionite-reduced cytochrome *c* (12.77 μM) and 0.1 M potassium phosphate buffer (pH 7.4). Reactions were started with the addition of homogenate (0.4 mg/ml), and calculations of maximal activity levels were obtained by monitoring the reaction kinetics spectrophotometrically as described by Smith.⁴⁶

Surgery. The recording procedures used in this laboratory have been described in previous reports.^{1,15,16} On the morning of the terminal experiment, the rat was anesthetized with an intraperitoneal injection of ketamine/xylazine (80/10 mg/kg). A jugular vein catheter was put in place, through which a mixture of anesthetic (8/1 mg/h) and a 70-kDa neutral polymer of sucrose, used as plasma expander (40 mg/h; Ficoll-70, Amersham Pharmacia, Uppsala, Sweden) in physiological saline, was infused continually until the end of the recording session (1.0 to 1.2 ml/h). Before the surgical preparation was initiated, the anesthetized rat was also given an intraperitoneal injection of 2 ml of Ringer solution containing 0.05 mg/kg atropine and 100 mg dextrose. A tracheal tube was installed, and the animal was ventilated with a mixture of room air and pure oxygen (120 strokes/min, approximately 1.5-ml tidal volume). The ankle extensor muscles of the left hindlimb were exposed. The medial and lateral gastrocnemius tendons were iso-

lated separately and silk suture material (2-0) was tied to each. Peroneal and sural branches of the sciatic nerve were separated from the tibial branch and cut, as well as the surrounding connective tissues, for the placement of the bipolar stimulating electrode on the tibial nerve.

Next, the spinal vertebrae were exposed and separated from the surrounding musculature and a spinal laminectomy from T-11 to S-2 was performed. The rat was then transferred to a stereotaxic system, which permitted stabilization of the animal. A mineral-oil bath was made using the skin edges of the back incision, and the bath filled with light mineral oil. The dura was removed, and the large lumbar dorsal roots at the lumbar enlargement were cut and reflected over the right side of the cord, exposing the cord surface. The edges of the hindlimb incision were also used to make a bath around the hindlimb muscles and sciatic nerve, which was filled with mineral oil. The silk ligature around the medial gastrocnemius was attached to a force transducer (FT-03, Grass Instruments, Quincy, MA), whereas the lateral gastrocnemius tendon was tied to a free weight, at a slightly different angle of pull from the medial gastrocnemius. This arrangement allowed us to distinguish contractions of motor units in medial from lateral gastrocnemius resulting from intracellular current injection. A bipolar platinum electrode was placed on the tibial branch of the sciatic nerve, and the stimulation voltage and the shortest length at which the highest twitch response was evoked for the medial gastrocnemius were determined. Body temperature was maintained at 37°C by a temperature-controlled heating blanket in contact with the ventral surface of the animal. The muscle bath was maintained at 36–37°C by recirculating warmed light mineral oil through the hindlimb bath via a peristaltic pump. Ventilatory volume was adjusted so that expired CO₂ was 2–3%.

Intracellular recordings from α -motoneurons were obtained using glass microelectrodes (outside diameter 1 mm) filled with 2 M potassium citrate. Electrodes had tip diameters around 1 μ m and a resistance below 15 M Ω . Tibial motoneurons were tracked and impaled using the antidromic field potential resulting from tibial nerve stimulation at 0.5 Hz. Successful penetration of a tibial α -motoneuron was evident by a sudden change in potential from zero to resting membrane potential (at least –50 mV), an antidromic action potential of short (less than 3 ms) and reproducible latency from the stimulation artifact, and a spike amplitude of at least 60 mV with a positive overshoot.

The following were then recorded: (1) 2 antidromic action potentials; (2) 2 spikes at rheobase current, the latter defined as a 50-ms depolarizing pulse having the minimum amount of current necessary to evoke an action potential; (3) 2 spikes resulting from short (0.1–0.8 ms) supramaximal intensity current pulses; (4) AHP response to a 1-ms current pulse (average of 40); (5) 20 antidromic spikes during sustained current injections of various small (less than 2 nA) intensities (for measurement of input resistance using the spike height method)¹³; and (6) average of 100 responses to 150-ms current injections of –1 nA for measurement of membrane time constant (τ_m), length constant (L), and total membrane capacitance.^{26,49}

During recording from each motoneuron, the membrane potential was recorded continuously with a pen recorder, and was noted in the laboratory notebook during the recording period of each cell. At the end of recording from the motoneuron, the electrode was withdrawn from the cell and the stabilized “zero” was recorded. Searching for cells continued until 7 h after the introduction of the first electrode into the spinal cord. All data were recorded onto a personal computer using custom-made software. At the end of the experiment, the rat was killed with an overdose of ketamine/xylazine into the jugular vein.

The following properties were determined from the recorded data: (1) antidromic spike height (in millivolts); (2) spike latency, measured as the time difference (in milliseconds) between the stimulation artifact and the beginning of the antidromic spike; (3) spike trigger level (in millivolts), determined by subtracting the spike height during rheobasic current injection from that during a short, supramaximal current pulse, and adding this value to the resting membrane potential; (4) AHP amplitude (in millivolts) and half-decay time (in milliseconds); (5) cell input resistance, using the spike height method of Frank and Fuortes¹³; and (6) membrane time constant, length constant, and total capacitance, from a 150-ms hyperpolarizing current pulse of 1 nA, using the curve-peeling method.^{29,49} L was calculated by³⁹:

$$L = \pi / \sqrt{(\tau_m / \tau_1 - 1)}$$

Total cell capacitance (C_{cell}) was calculated by:

$$C_{\text{cell}} = (\tau_m * L) / (R_N * \tanh(L))$$

and used as an estimate of cell surface area.²⁴

Statistical Analysis. The data were subjected to a two-way analysis of variance (ANOVA) procedure on the factors of activity level (controls versus runners) and motoneuron type. For the latter, motoneurons were designated as slow or fast motoneurons based on the half-decay time of the AHP (fast <20 ms, slow >20 ms).¹⁵ This was done to order to subgroup motoneurons on an intrinsic property that covaries highly with muscle fiber type and excitability, and which remains relatively stable in a variety of conditions that evoke changes in other properties.^{7,15,16,33,49} Where a significant interaction term was present, data were subjected to a Newman-Keuls post hoc comparisons test, to determine significant differences among individual means. Chi-square analysis was performed to determine whether significant differences were present in proportions of motor-unit type between groups. All data are expressed as mean \pm SD.

RESULTS

Plantaris Cytochrome Oxidase. A significant ($P < 0.05$) 40% increase ($13.37 \pm 2.00 \text{ U}\cdot\text{min}^{-1}\cdot\text{mg}^{-1}$)⁴⁶

in cytochrome oxidase activity over the control value ($9.56 \pm 1.43 \text{ U}\cdot\text{min}^{-1}\cdot\text{mg}^{-1}$) in the plantaris muscle was observed after 16 weeks of endurance training, thus attesting to the efficacy of the training program.

Motoneuron Data Set. The data set is summarized in Table 1 and includes 51 motoneurons from 9 rats who ran 2 h/day on a treadmill, and 75 motoneurons from 13 rats confined to standard plastic cages for the same period. Only experiments in which recordings were made from between 4 and 9 motoneurons were used in the statistical analysis. The number of muscle-identified motoneurons was too small for adequate statistical analysis; for this reason, data are expressed simply as tibial motoneurons. However, the percentage of motoneurons identified as innervating medial or lateral gastrocnemius by visualization of muscle contractions during supra-maximal current injection was not different between controls and runners, and was around 20%.

In order to determine whether any statistically significant effects of endurance training were consistent across motoneuron type, we separated mo-

Table 1. Properties of motoneurons of controls and runners.

Property	Fast motoneurons		Slow motoneurons	
	Controls	Runners	Controls	Runners
Antidromic action potential amplitude (mV)	73.6 \pm 9.1 (37)	68.9 \pm 8.1 (32)	79.8 \pm 12.0 (30)	71.8 \pm 6.6 (15)
Cell input resistance (M Ω)	1.9 \pm 0.7 (31)	1.3 \pm 1.0 (32)	2.6 \pm 1.6 (32)	2.8 \pm 2.4* (15)
Rheobase (nA)	8.3 \pm 4.1 (36)	8.2 \pm 3.9 (35)	6.6 \pm 3.8 (36)	5.3 \pm 3.1* (16)
Resting membrane potential (mV)	-59.3 \pm 7.8 (39)	-66.0 \pm 6.9 (35)	-61.9 \pm 8.8 (35)	-67.4 \pm 6.6 [†] (16)
Spike trigger level (mV)	-41.0 \pm 8.6 (39)	-46.7 \pm 5.9 (35)	-40.6 \pm 12.2 (35)	-48.9 \pm 5.2 [†] (16)
V _{th} measured (mV)	18.3 \pm 10.4 (39)	19.4 \pm 7.9 (35)	21.5 \pm 9.7 (35)	18.4 \pm 6.6 (16)
After-hyperpolarization half-decay time (ms)	14.4 \pm 3.9 (39)	15.0 \pm 2.9 (33)	29.0 \pm 5.6 (36)	26.2 \pm 4.3* (16)
After-hyperpolarization amplitude (mV)	1.8 \pm 0.7 (33)	1.4 \pm 0.7 (33)	2.8 \pm 1.5 (35)	2.6 \pm 1.4* (16)
Spike rise-time (ms)	1.0 \pm 0.2 (38)	0.7 \pm 0.2 (35)	1.0 \pm 0.3 (24)	0.8 \pm 0.1 [†] (15)
Antidromic spike latency (ms)	1.8 \pm 0.4 (36)	1.4 \pm 0.3 (35)	2.5 \pm 0.4 (22)	2.2 \pm 0.5* (15)
Membrane time constant (τ_m , ms)	3.1 \pm 1.2 (32)	3.5 \pm 1.3 (30)	3.6 \pm 0.9 (25)	3.6 \pm 0.8 (13)
L (mm)	1.4 \pm 0.6 (32)	1.4 \pm 0.9 (30)	1.6 \pm 0.5 (25)	1.4 \pm 0.5 (13)
Capacitance (nF)	3.6 \pm 3.3 (25)	5.0 \pm 4.5 [‡] (28)	2.6 \pm 0.9 (24)	2.5 \pm 2.2 (13)

Values expressed as mean \pm SD, with numbers of motoneurons in parentheses. Significant main effects ($P < 0.01$) of motoneuron type (*), and of activity ([†]) are shown in the right column. Significant interaction effects of motoneuron type and activity ([‡]) are indicated beside the mean that is different from all other means.

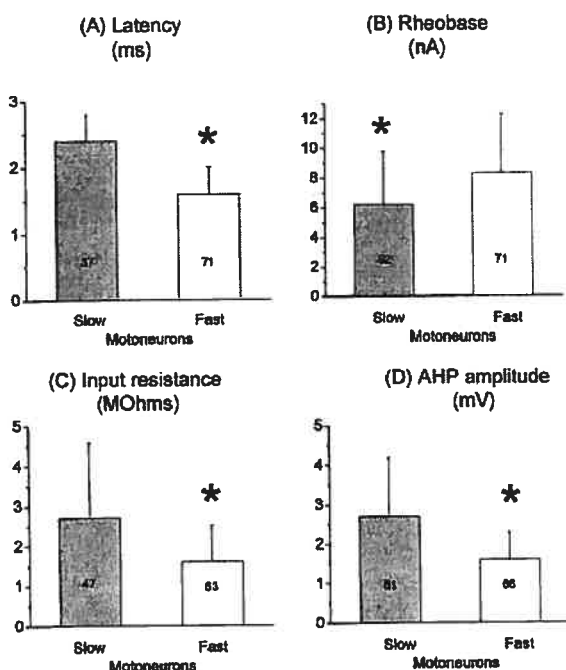


FIGURE 1. Properties of slow (AHP half-decay time >20 ms) and fast (AHP half-decay time <20 ms) motoneurons. Data are combined to demonstrate significant main effect of motoneuron type and are expressed as mean \pm SD. Number of motoneurons is shown within each bar. All properties show significant differences ($*P < 0.01$).

toneurons into fast and slow, using half-decay time of the AHP, as done in our recent study.¹ This is based on previous reports^{7,15} that rat hindlimb motoneurons with AHP half-decay times greater than 20 ms innervate slow-twitch muscle fibers, at least in control (i.e., not endurance-trained) rats. Chi-square analysis demonstrated no significant differences in the proportion of fast and slow motoneurons in the sample from controls (54% fast, 46% slow) and runners (69% fast, 31% slow), suggesting that the difference in neuromuscular activity between these two groups was of insufficient intensity to result in any systematic changes between fast and slow motoneuron types.

Motoneuron "Type" Differences. The two-way ANOVA procedure allowed the determination of differences between fast and slow motoneurons, differences due to treadmill training, and interaction effects. The properties demonstrating significant motoneuron "type" differences are summarized in Figure 1 (where data from controls and runners are combined). As expected, significant main effects (with no interaction effect) of fast versus slow were found for rheobase (6.2 ± 3.6 nA and 8.3 ± 4.0 nA

for slow and fast, respectively). Input resistance was significantly higher for the slow motoneurons (2.7 ± 1.9 M Ω and 1.6 ± 0.9 M Ω for slow and fast, respectively). Antidromic spike latency, which reflects (inversely) axonal conduction velocity, was also significantly greater in slow motoneurons (2.4 ± 0.4 ms and 1.6 ± 0.4 ms for slow and fast, respectively). Finally, the AHP amplitude was greater for slow motoneurons (2.7 ± 1.5 mV and 1.6 ± 0.7 mV for slow and fast, respectively).

Effects of Endurance Training. Activity level had an overall effect (independent of motoneuron type) on several properties. For both resting membrane potential and spike trigger level, motoneurons of runners showed significantly hyperpolarized values (by 6–7 mV) compared to controls. Motoneurons of the runner group also showed significantly lower values for spike rise-time when compared to controls (0.7 ± 0.2 and 1.0 ± 0.3 for runners and controls, respectively). These results are illustrated in Figure 2 and a schematic representation is shown in Figure 3.

Total cell capacitance was the only property to show a cell type-specific adaptation to endurance training. More specifically, fast motoneurons from endurance-trained rats had significantly higher mean cell capacitance than fast motoneurons in controls, and slow motoneurons from both endurance-trained and control rats. However, this effect of endurance training on the capacitance of fast motoneurons was not reflected in a corresponding change in the excitability of these cells (Table 1). This is demonstrated in Figure 4, where total membrane capacitance is presented as a function of cell input resistance for fast and slow motoneurons from the endurance-trained group. A significant proportion of the fast cells from endurance-trained rats were clearly outside of the relationship between capacitance and input resistance according to the Rall equation, assuming an unchanged electrotonic length (L) and specific membrane resistance (R_m).

Reproducibility of Spike Trigger Level Measurement.

In light of our finding of a significant effect on spike trigger level, we investigated the stability and reproducibility of this property, especially under conditions of varying RMP. We consequently measured spike trigger level in a number of cells in which resting membrane potential varied considerably during the recording session (and many of which were therefore not included in the final data analysis of the effects of training). A summary is presented in Figure 5 ($n = 24$ motoneurons). Basically, our analysis showed that drifts in the RMP had only a minor

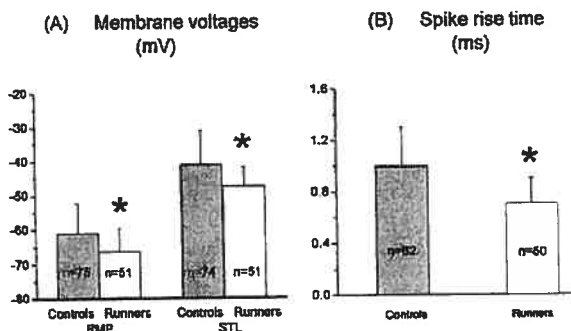


FIGURE 2. Activity effects on motoneurons. Data (mean \pm SD) are combined to demonstrate significant main effect of activity. **(A)** Comparison of the resting membrane potential (RMP) and the spike trigger level (STL) between groups. **(B)** Comparison of the spike rise-time between groups. Significant differences are indicated by asterisks ($*P < 0.01$).

impact on the absolute value of the spike trigger level. The actual drift in RMP during the recording sessions (around 20 min per motoneuron, $n = 126$ cells) consisted of a very slight mean depolarization of the RMP (1.5 ± 3.9 mV and 2.6 ± 2.2 mV for controls and runners, respectively).

DISCUSSION

The main finding of this study is that increased physical activity in the form of daily endurance running evokes changes in basic biophysical properties of motoneurons that will impact on their excitability and functional properties once excited. The changes are similar to those noted previously in slow hind-limb motoneurons of rats exposed to increased spontaneous activity.¹ Moreover, it appears that many of these changes extend to higher threshold,

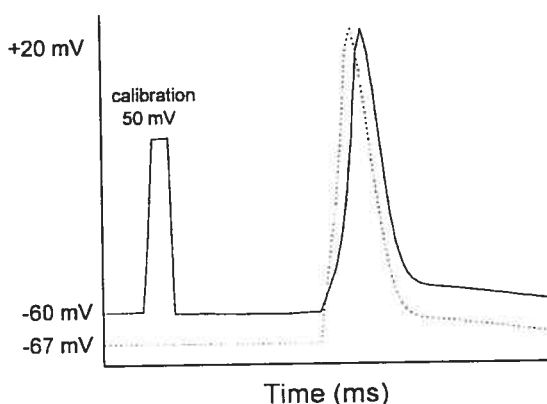


FIGURE 3. Schematic representation of the effects of activity (dashed line) on the resting membrane potential and antidromic action potential, compared to controls (solid line). Duration of the 50-mV calibration signal is 1 ms.

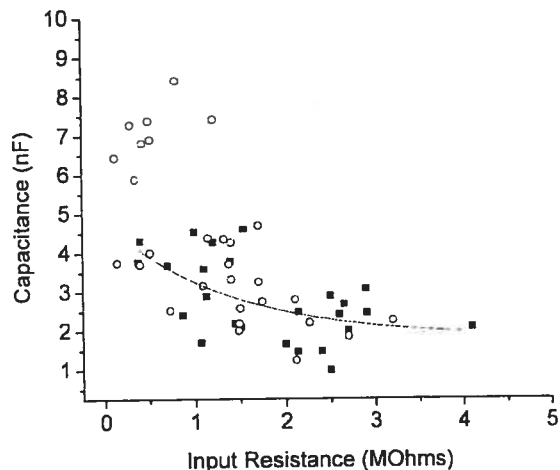


FIGURE 4. Relation between input resistance and cell capacitance for fast cells only (AHP < 20 ms). A theoretical curve for control cells only is shown,³⁹ assuming a length constant (L) of 1.4 and a specific membrane resistance (R_m) of $2900 \Omega \cdot \text{cm}^{-2}$. Filled squares: controls; open circles: runners.

fast motoneurons as well, when the intensity of overload is sufficiently high to recruit them.

In a previous study, we reported that rats performing spontaneous running of an average of 13 km/day for 16 weeks possessed slow motoneurons that were different from slow motoneurons of control rats. Specifically, these differences included a more hyperpolarized RMP and spike trigger level (both by about 6 mV), as well as a higher amplitude of the AHP. Interestingly, following endurance training for 16 weeks, changes in RMP and spike trigger

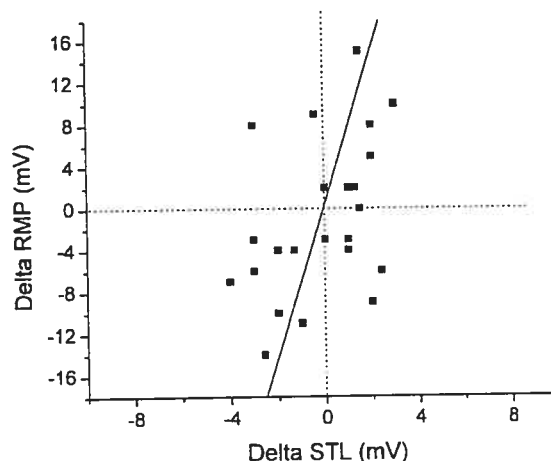


FIGURE 5. Relation between variations in the resting membrane potential and the spike trigger level ($n = 24$ motoneurons). The solid line represents a significant ($P < 0.01$) best-fit linear relationship ($R = 0.52$).

level were of similar magnitude and direction as in our previous study, and occurred in both motoneuron types (fast and slow). One can presume that the higher intensity of neuromuscular activation occurring during treadmill running at 30 m/min, compared to spontaneous wheel running, increased the proportion of motoneurons that were impacted by the overload. This assumption is supported by previous findings that treadmill training of this intensity evokes greater adaptations in mitochondrial enzymes in fast hindlimb muscles than does spontaneous running.¹⁰

The motoneuron adaptations in these two models of increased activity were not only quantitatively different (i.e., influencing more motoneurons), but also qualitatively different. For example, qualitative differences were evident in the pattern of adaptation in slow motoneurons to these two models of increased activation. Although spontaneous running evoked an increased amplitude of the AHP and of the orthodromic action potential, this did not occur following endurance training. In addition, the rise-time of the antidromic action potential was decreased with endurance training, but not with spontaneous running. It thus appears that all of the changes that we witnessed with increased activation — hyperpolarization of the RMP and spike trigger level, increased amplitude of the AHP, increased orthodromic spike amplitude, and decreased rise-time — can occur as independent adaptations, and are thus not attributable to changes in the same conductance channels. Because endurance training involves overload in activity, which is more intense but of shorter duration,⁴⁰ it appears that some of these changes (AHP and antidromic spike amplitudes) may require longer periods of activation to adapt when compared to RMP, spike trigger level, and spike rise-time.

The mechanisms that promote these changes in motoneuron properties are not known, but may involve upregulation of neurotrophins. Changes previously noted in motoneurons of rats subjected to endurance training include increased oxidative enzyme activity,⁴⁷ fast axon transport,³² and neuromuscular transmission dynamics.^{9,10} Recently, evidence has been presented suggesting that 7 days of daily exercise in rats results in increased expression in spinal cord of neurotrophin-3 (NT-3), brain-derived neurotrophic factor (BDNF), trkB receptors, and synapsin I.^{20,21,36} Thus, altered membrane properties such as those demonstrated in this study may constitute part of a global adaptation of motoneurons that results in enhanced excitability, optimization of fir-

ing characteristics during transynaptic current flow, and enhanced metabolic response to acutely increased activation.

Interestingly, adaptations similar to those reported in this study have been reported in models involving learning. For example, long-term sensitization training of the tail-siphon withdrawal reflex in *Aplysia californica* results in significant hyperpolarization of the RMP and spike trigger level in the involved motoneurons.⁵ In addition, there is some evidence that increased activation of the end-organ may play a role in these adaptations. For example, Nick and Ribera³⁵ showed that motoneurons that lost functional neuromuscular junctions underwent depolarization of the RMP, decreased membrane capacitance, decreased potassium channel density, and prolongation of the falling phase of the action potential. These changes were attenuated by administration of NT-3. In our experiment, perhaps an increased activation of neuromuscular junctions had an opposite effect, namely, a more negative RMP, faster action potential, and larger capacitance. An effect of the state of the end-organ on motoneuron properties via a retrograde mechanism may explain previous findings that chronic electrical stimulation of muscles,²³ chronic nerve blockade,⁸ and chronic administration of a neurotrophic substance to the muscle²² have evoked changes in motoneuron properties.

Adaptations on the part of the fast motoneurons were accompanied by an increased mean cell capacitance, suggesting an increase in soma volume. Previous investigations on motoneuron adaptations to increased activity have found either no change^{34,43,44} or a decrease¹² in histologically measured cell size. Nonetheless, in the present study, mean input resistance and rheobase were not influenced by activity, in spite of apparent changes in cell capacitance (Table 1 and Fig. 4). These findings may suggest that increased physical activity increases the specific membrane resistance or the complexity of the dendritic tree of high-threshold motoneurons. The dendrites represent approximately 95% of the motoneuron volume,¹⁷ and have a higher membrane resistivity than the soma (100–300 times).^{6,41,42} This change in endurance-trained fast motoneurons is the inverse of what occurs in cat motoneurons following axotomy; that is, a decrease in capacitance that is not paralleled by a corresponding increase in input resistance.²⁶

These physiological adaptations are clearly due to alterations in ionic channels, which govern these properties. These adaptations, which remain unidentified at the present time, may include any com-

bination of changes in the subunit composition, modulation, density, number, and location of various ionic channels.²⁵ Our future efforts will focus on the rhythmic firing properties of trained motoneurons, iontophoretic application of specific conductance blockers in an attempt to identify the specific conductances involved, and the metabolic signaling involved in the translation of increased activity to alter motoneuron biophysical properties.

This research was supported by a grant from Natural Sciences and Engineering Research Council of Canada to P.G. The authors thank Amélie Boclair, Mariannick Marcil, Marcel Beaulieu, Paul Martin, and Gérard Ouellet for their technical assistance.

REFERENCES

1. Beaumont E, Gardiner P. Effects of daily spontaneous running on the electrophysiological properties of hindlimb motoneurons in rats. *J Physiol (Lond)* 2002;540:129–138.
2. Booth FW. Perspectives on molecular and cellular exercise physiology. *J Appl Physiol* 1988;65:1461–1471.
3. Booth FW, Thomason DB. Molecular and cellular adaptation of muscle in response to exercise: perspectives of various models. *Physiol Rev* 1991;71:541–585.
4. Chalmers GR, Roy RR, Edgerton VR. Adaptability of the oxidative capacity of motoneurons. *Brain Res* 1992;570:1–10.
5. Cleary LJ, Lee WL, Byrne JH. Cellular correlates of long-term sensitization in *Aplysia*. *J Neurosci* 1998;18:5988–5998.
6. Clements JD, Redman SJ. Cable properties of cat spinal motoneurons measured by combining voltage clamp, current clamp and intracellular staining. *J Physiol (Lond)* 1989;409:63–87.
7. Cormery B, Marini JF, Gardiner PF. Changes in electrophysiological properties of tibial motoneurons in the rat following 4 weeks of tetrodotoxin-induced paralysis. *Neurosci Lett* 2000;287:21–24.
8. Czeh G, Gallego R, Kudo N, Kuno M. Evidence for the maintenance of motoneurone properties by muscle activity. *J Physiol (Lond)* 1978;281:239–252.
9. Desaulniers P, Lavoie PA, Gardiner PF. Habitual exercise enhances neuromuscular transmission efficacy of rat soleus muscle in situ. *J Appl Physiol* 2001;90:1041–1048.
10. Dorlochter M, Irintchev A, Brinkers M, Wernig A. Effects of enhanced activity on synaptic transmission in mouse extensor digitorum longus muscle. *J Physiol (Lond)* 1991;436:283–292.
11. Emptage NJ, Carew TJ. Long-term synaptic facilitation in the absence of short-term facilitation in *Aplysia* neurons. *Science* 1993;262:253–256.
12. Finkelstein DI, Lang JG, Luff AR. Functional and structural changes of rat plantaris motoneurons following compensatory hypertrophy of the muscle. *Anat Rec* 1991;229:129–137.
13. Frank K, Fuortes MGF. Stimulation of spinal motoneurons with intracellular electrodes. *J Physiol (Lond)* 1956;134:451–470.
14. Gardiner PF. *Neuromuscular aspects of physical activity*. Champaign, IL: Human Kinetics; 2001. p 112–128.
15. Gardiner PF. Physiological properties of motoneurons innervating different muscle unit types in rat gastrocnemius. *J Neurophysiol* 1993;69:1160–1170.
16. Gardiner PF, Seburn KL. The effects of tetrodotoxin-induced muscle paralysis on the physiological properties of muscle units and their innervating motoneurons in rat. *J Physiol (Lond)* 1997;499:207–216.
17. Geinisman Y, Berry RW, Disterhoft JF, Power JM, Van der Zee EA. Associative learning elicits the formation of multiple-napse boutons. *J Neurosci* 2001;21:5568–5573.
18. Gharakhanlou R, Chadan S, Gardiner P. Increased activity in the form of endurance training increases calcitonin gene-related peptide content in lumbar motoneuron cell bodies and in sciatic nerve in the rat. *Neuroscience* 1999;89:1229–1239.
19. Gisiger V, Belisle M, Gardiner PF. Acetylcholinesterase adaptation to voluntary wheel running is proportional to the volume of activity in fast, but not slow, rat hindlimb muscles. *Eur J Neurosci* 1994;6:673–680.
20. Gomez-Pinilla F, Ying Z, Opazo P, Roy RR. Exercise promotes synaptic plasticity associated to the action of neurotrophins in the spinal cord and muscle. *Soc Neurosci Abstr* 2001;27:221.5.
21. Gomez-Pinilla F, Ying Z, Opazo P, Roy RR, Edgerton VR. Differential regulation by exercise of BDNF and NT-3 in rat spinal cord and skeletal muscle. *Eur J Neurosci* 2001;13:1078–1084.
22. Gonzalez M, Collins WF III. Modulation of motoneuron excitability by brain-derived neurotrophic factor. *J Neurophysiol* 1997;77:502–506.
23. Gordon T, Tyreman N, Rafuse VF, Munson JB. Fast-to-slow conversion following chronic low-frequency activation of medial gastrocnemius muscle in cats. I. Muscle and motor unit properties. *J Neurophysiol* 1997;77:2585–2604.
24. Gustafsson B, Pinter MJ. Relations among passive electrical properties of lumbar alpha-motoneurons of the cat. *J Physiol (Lond)* 1984;356:401–431.
25. Hille B. *Ion channels of excitable membrane*. Sunderland, MA: Sinauer; 2001. 814 p.
26. Hochman S, McCrea DA. Effects of chronic spinalization on ankle extensor motoneurons. II. Motoneuron electrical properties. *J Neurophysiol* 1994;71:1468–1479.
27. Holloszy JO, Booth FW. Biochemical adaptations to endurance exercise in muscle. *Annu Rev Physiol* 1976;38:273–291.
28. Ishihara A, Naitoh H, Araki H, Nishihira Y. Soma size and oxidative enzyme activity of motoneurons supplying the fast twitch and slow twitch muscles in the rat. *Brain Res* 1988;446:195–198.
29. Ito M, Oshima T. Electrical behaviour of the motoneurone membrane during intracellularly applied current steps. *J Physiol (Lond)* 1965;180:607–635.
30. Jasmin BJ, Lavoie PA, Gardiner PF. Fast axonal transport of acetylcholinesterase in rat sciatic motoneurons is enhanced following prolonged daily running, but not following swimming. *Neurosci Lett* 1987;78:156–160.
31. Jasmin BJ, Lavoie PA, Gardiner PF. Fast axonal transport of labeled proteins in motoneurons of exercise-trained rats. *Am J Physiol* 1988;255:C731–C736.
32. Kang CM, Lavoie PA, Gardiner PF. Chronic exercise increases SNAP-25 abundance in fast-transported proteins of rat motoneurons. *Neuroreport* 1995;6:549–553.
33. Munson JB, Fochring RC, Mendell LM, Gordon T. Fast-to-slow conversion following chronic low-frequency activation of medial gastrocnemius muscle in cats. II. Motoneuron properties. *J Neurophysiol* 1997;77:2605–2615.
34. Nakano H, Masuda K, Sasaki S, Katsuta S. Oxidative enzyme activity and soma size in motoneurons innervating the rat slow-twitch and fast-twitch muscles after chronic activity. *Brain Res Bull* 1997;43:149–154.
35. Nick TA, Ribera AB. Synaptic activity modulates presynaptic excitability. *Nat Neurosci* 2000;3:142–149.
36. Opazo P, Ying Z, Roy RR, Edgerton VR, Gomez-Pinilla F. Neuromuscular activity upregulates neurotrophin-3 expression in the spinal cord. *Soc Neurosci Abstr* 2001;27:224.1.
37. Panenic R, Gardiner PF. The case for adaptability of the neuromuscular junction to endurance exercise training. *Can J Appl Physiol* 1998;23:339–360.
38. Pearson JK, Sickles DW. Enzyme activity changes in rat soleus motoneurons and muscle after synergist ablation. *J Appl Physiol* 1987;63:2301–2308.
39. Rall W. Time constants and electrotonic length of membrane cylinders and neurons. *Biophys J* 1969;9:1483–1508.

40. Rodnick KJ, Reaven GM, Haskell WL, Sims CR, Mondon CE. Variations in running activity and enzymatic adaptations in voluntary running rats. *J Appl Physiol* 1989;66:1250-1257.
41. Rose PK, Dagum A. Nonequivalent cylinder models of neurons: interpretation of voltage transients generated by somatic current injection. *J Neurophysiol* 1988;60:125-148.
42. Rose PK, Vanner SJ. Differences in somatic and dendritic specific membrane resistivity of spinal motoneurons: an electrophysiological study of neck and shoulder motoneurons in the cat. *J Neurophysiol* 1988;60:149-166.
43. Samorajski T, Rolsten C. Nerve fiber hypertrophy in posterior tibial nerves of mice in response to voluntary running activity during aging. *J Comp Neurol* 1975;159:553-558.
44. Seburn K, Coicou C, Gardiner P. Effects of altered muscle activation on oxidative enzyme activity in rat alpha-motoneurons. *J Appl Physiol* 1994;77:2269-2274.
45. Seburn KL, Gardiner P. Adaptations of rat lateral gastrocnemius motor units in response to voluntary running. *J Appl Physiol* 1995;78:1673-1678.
46. Smith L. Spectrophotometric assay of cytochrome c oxidase. *Methods Biochem Anal* 1955;2:427-434.
47. Suzuki H, Tsuzimoto H, Ishiko T, Kasuga N, Taguchi S, Ishihara A. Effect of endurance training on the oxidative enzyme activity of soleus motoneurons in rats. *Acta Physiol Scand* 1991;143:127-128.
48. Wong-Riley MT. Cytochrome oxidase: an endogenous metabolic marker for neuronal activity. *Trends Neurosci* 1989;12:94-101.
49. Zengel JE, Reid SA, Sybert GW, Munson JB. Membrane electrical properties and prediction of motor-unit type of medial gastrocnemius motoneurons in the cat. *J Neurophysiol* 1985;53:1323-1344.

