

Université de Montréal

**Modulation de la transmission sensorielle par la région locomotrice
mésencéphalique**

Par

Tanguy Boutin

Département de Physiologie

Faculté de Médecine

Mémoire présenté à la Faculté des études supérieures

En vue de l'obtention du grade de Maître ès Sciences (M.Sc.)

En sciences neurologiques

Août 2004

© Tanguy Boutin, 2004



W

4

U58

2004

v. 079

Direction des bibliothèques

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.

Identification du jury

Université de Montréal

Faculté des études supérieures

Ce mémoire intitulé :

**Modulation de la transmission sensorielle par la région locomotrice
mésencéphalique**

Présenté par :

Tanguy Boutin

A été évalué par un jury composé des personnes suivantes :

Dr Arlette Kolta

Présidente rapporteuse

Dr Réjean Dubuc

Directeur de recherche

Dr James Lund

Membre du jury

Résumé :

Les neurones réticulospinaux (RS) sont responsables de l'amorce et du contrôle de la locomotion chez la lamproie. Ils reçoivent des informations de plusieurs types de récepteurs sensoriels et des études récentes dans notre laboratoire ont montré que la transmission sensorielle aux cellules RS est modulée par des agonistes et antagonistes cholinergiques muscariniques dont il reste à identifier la source. Sachant que des neurones cholinergiques de la lamproie se situent dans la *région locomotrice mésencéphalique* (RLM), nous avons examiné un éventuel effet modulateur de l'input de la RLM sur la transmission sensorielle vers les cellules RS. Les potentiels postsynaptiques excitateurs (PPSEs), provoqués dans les cellules RS par une stimulation du nerf trigéminal ipsilatéral (1 choc chaque 10s, 5-10 μ A), ont été mesurés avant et après une stimulation répétée de la RLM (1-4 μ A, 5-10Hz, pendant 40s). Dans la plupart des cellules RS, une diminution significative de la moyenne de l'aire des PPSEs a été observée pendant plusieurs minutes après stimulation de la RLM. La physostigmine, un inhibiteur de l'acétylcholinestérase, a potentialisé l'effet de la RLM sur les PPSEs trigéminaux tandis que l'atropine, un antagoniste des récepteurs muscariniques, a prévenu cet effet. Ces résultats ont démontré l'implication des récepteurs muscariniques dans l'effet observé. De plus, des expériences d'immunohistochimie ont confirmé la présence de récepteurs muscariniques sur les cellules RS mais aussi sur les cellules de relais de la voie trigémino-réticulaire. Nous proposons donc qu'en activant la locomotion, la RLM réduit la transmission sensorielle aux cellules RS via l'activation des récepteurs muscariniques.

Mots clés : lamproie; intégration sensori-motrice; voies sensorielles; nerf trijumeau; formation réticulée; région locomotrice mésencéphalique; locomotion; récepteurs muscariniques; neurophysiologie; immunohistochimie.

Summary:

Reticulospinal cells (RS) are responsible for the initiation and control of locomotion in lampreys. These cells receive information from several types of sensory receptors and recent studies in our laboratory indicate that sensory transmission to the RS cells is modulated by muscarinic cholinergic agonists and antagonists. The source of this modulation is still unknown. Knowing that cholinergic cells are located in the mesencephalic locomotor region, we tested the hypothesis that these neurons modulate sensory transmission to RS cells. Excitatory post synaptic potentials (EPSPs) were elicited in RS cells of the middle rhombencephalic reticular nucleus (MRRN) by stimulation of the ipsilateral trigeminal nerve (single choc every 10s, 5-10 μ A), before and after a stimulation of the MLR (1-4 μ A, 5-10Hz, for 40s). In most cells, a significant reduction of mean EPSP area was observed for a few minutes after the MLR stimulation. Bath application of physostigmine, an acetylcholinesterase inhibitor, reduced even more the EPSPs while atropine, a muscarinic receptor antagonist, prevented the reduction of the responses. These results demonstrate the role of muscarinic receptors in this effect. Immunohistochemistry experiments were done to confirm the presence of muscarinic receptors on RS cells and also on trigeminal relay interneurons. We propose that the MLR reduces sensory transmission to RS cells by activating muscarinic receptors at the same time as it activates locomotion.

Key words: Lamprey; sensory-motor integration; sensory pathways; trigeminal nerve; reticular formation; mesencephalic locomotor region; locomotion; muscarinic receptors; neurophysiology; immunohistochemistry.

Table des matières :

Résumé.....	i
Summary.....	iii
Table des matières.....	v
Liste des figures.....	viii
Liste des abréviations.....	x
Remerciements.....	xii
Introduction générale.....	1
Introduction.....	1
I-La locomotion et les générateurs de patrons centraux (GPCs) de la moelle.....	3
II-L'anatomie du système réticulospinal (RS).....	6
III-Les projections du système RS sur les GPCs de la moelle épinière.....	7
IV-Le rôle du système réticulospinal.....	11
V-Les inputs des cellules RS.....	15
A-Input de la moelle épinière.....	15
B-Les inputs sensoriels.....	18
1-L'input optique.....	19
2-L'input vestibulaire.....	20
3-L'input de la ligne latérale.....	24
4-L'input trigéminal.....	26
C-Les centres supraréticulaires.....	32

1-La région locomotrice diencéphalique (RLD)	32
2-La région locomotrice mésencéphalique (RLM)	33
a-Le circuit supraréticulaire de la locomotion chez les vertébrés supérieurs.....	33
b-Le contrôle de la nage.....	35
c-Les cellules cholinergiques de la RLM.....	37
d-Le rôle des récepteurs muscariniques.....	39
Énoncé du problème	40
Matériel et Méthode	41
I-Électrophysiologie.....	42
A-Protocole de stimulation et analyse.....	42
B-Analyse statistique.....	44
II-Anatomie.....	44
A-Procédures.....	44
B-Analyse.....	46
Résultats	47
I-Les réponses synaptiques des cellules RS suite à une stimulation du nerf trijumeau.....	47
II-Effet de la stimulation de la RLM sur les PPSEs trigéminaux induits dans les cellules RS du noyau réticulé rhombencéphalique moyen (NRRM).....	50
III-Effet de l'atropine sur la dépression des PPSEs trigéminaux induite par la stimulation de la RLM.....	55

IV-Effet de la physostigmine sur la dépression des PPSEs trigéminaux induite par la stimulation de la RLM.....	57
V-L'immunohistochimie contre les récepteurs muscariniques.....	60
A-Les cellules RS.....	60
B-Les cellules du noyau sensoriel du faisceau descendant du trijumeau (dV).....	64
Discussion	68
I-L'effet de la stimulation de la RLM sur les PPSEs trigéminaux enregistrés dans les cellules RS du NRRM.....	69
A-Rôle des récepteurs muscariniques.....	69
B-Modulation de la transmission sensorielle par les cellules cholinergiques de la RLM.....	70
C-Les cellules RS possèdent des récepteurs muscariniques.....	71
D-La stimulation de la RLM affecte la composante hâtive et tardive des PPSEs trigéminaux.....	73
E-Variabilité de la durée et de la taille de l'effet.....	75
F-L'effet est-il pré ou post-synaptique sur les cellules RS?.....	76
G-Les cellules de relais et leur position.....	76
II-Le rôle fonctionnel de la RLM.....	78
Conclusion	81
Bibliographie	83

Liste des figures :

Figure 1 : Enregistrements des réponses synaptiques d'une cellule RS suite à des stimulations du nerf trijumeau ou de la RLM.....	49
Figure 2 : Effet de la stimulation de la RLM sur les PPSEs trigéminaux des cellules RS.....	51
Figure 3 : Effet de la stimulation de la RLM sur les PPSEs trigéminaux des cellules RS.....	53
Figure 4 : Durée de l'effet de la stimulation de la RLM sur les PPSEs trigéminaux des cellules RS.....	54
Figure 5 : Effet de la perfusion d'atropine sur la dépression des PPSEs trigéminaux observée dans les cellules RS suite à la stimulation de la RLM.....	56
Figure 6 : Effet de la perfusion de physostigmine sur la dépression des PPSEs trigéminaux observée dans les cellules RS suite à la stimulation de la RLM	59
Figure 7 : Immunoréactivité pour les récepteurs muscariniques dans diverses populations neuronales du tronc cérébral.....	61
Figure 8 : Immunoréactivité pour les récepteurs muscariniques des cellules RS du NRRM et du NRRP.....	63
Figure 9 : Immunoréactivité pour les récepteurs muscariniques de certaines cellules de relais trigéminales aux niveaux du NRRM (noyaux moteurs V et VIII) et du NRRP (noyaux moteurs X et IX).....	65

Figure 10 : Représentation schématique de la modulation muscarinique par la RLM de l'input trigéminal sur les cellules RS.....79

Liste des abréviations :

Ach : acétylcholine

AP5 : 2-amino-3-hydroxy-5-phosphonopentanoate

CNQX : 6-cyano-7-nitroquinoxaline-2,3-dione

dV : noyau sensoriel du faisceau descendant du trijumeau

GPC : générateur de patrons centraux

Ican : canaux cationiques non-sélectifs activés par le calcium

nV : nerf trijumeau

nVIII : nerf vestibulaire

NMDA : N-méthyl-D-aspartate

NOMA : noyau octavo-moteur antérieur

NOMI : noyau octavo-moteur intermédiaire

NOMP : noyau octavo-moteur postérieur

NPP : noyau pédonculopontique

NRM : noyau réticulé mésencéphalique

NRRA : noyau réticulé rhombencéphalique antérieur

NRRM : noyau réticulé rhombencéphalique moyen

NRRP : noyau réticulé rhombencéphalique postérieur

RLD : région locomotrice diencéphalique

RLM : région locomotrice mésencéphalique

RS : Réticulospinal

V : noyau moteur trigéminal

VII : noyau moteur facial

IX : noyau moteur glossopharyngien

X : noyau moteur du vague

Remerciements :

Je tiens d'abord à remercier mon directeur de recherche, le Pr. Réjean Dubuc, pour l'encadrement et le support scientifique apportés au cours de la réalisation de ce projet de recherche.

Je remercie également François Auclair pour son aide et ses nombreux conseils sur l'anatomie, de même que Danielle Veilleux, Céline Lucas-Bourcier et Caroline Picher pour leur aide technique grandement appréciée.

Je voudrais aussi remercier mes collègues de travail Frédéric Brocard, Myriam Antri, Johannie Gravel et Bruno Martel pour leur aide et leur contribution à un agréable climat de travail.

Merci à Frédéric Bernard pour sa contribution au schéma et à Joanne Payette pour ses conseils judicieux.

Introduction

Chez les mammifères et les autres vertébrés, la locomotion peut être induite en absence de cortex cérébral. Les chats sans cortex peuvent initier spontanément la locomotion, éviter des obstacles et chercher de la nourriture; ils ont en général un répertoire de mouvement complexe assez surprenant (Grillner 1985). Ainsi, l'aspect du comportement dirigé dans un but est maintenu tant que les ganglions de la base et les structures diencephaliques sont conservés intacts (Grillner et Dubuc 1988). Par contre, le cortex est important pour le contrôle fin et le positionnement volontaire des membres (Drew 1993; Drew et al., 1996; Rho et al. 1999; Armstrong et Drew 1984, 1985; Porter et Lemon 1993; Revue de littérature voir: Drew et al., 2002). Les structures diencephaliques sont importantes pour la génération de mouvements ayant un sens comportemental et elles ont un rôle prépondérant dans l'initiation de la locomotion bien contrôlée (Garcia-Rill 1986; Takakusaki et al., 2003). Sans ces structures, quand il ne reste que le mésencéphale et le bas du tronc cérébral intact, les mouvements sont stéréotypés et semblables à ceux d'une machine et donc plus du tout adaptés aux besoins de l'animal ou à son environnement (Orlovsky et Shik 1976). Une des régions supraspinales clef pour l'initiation de la locomotion chez les vertébrés est la région mésencéphalique locomotrice (RLM). Cette région a été identifiée chez toutes les espèces qui ont été examinées (Grillner et al., 1997) tant chez les mammifères (les primates, chats et rats) que chez les reptiles (Eidelberg et al., 1981; Shik et Orlovsky 1976) et même chez les vertébrés inférieurs (La salamandre : Cabelguen et al., 2003; La carpe : Kashin et al., 1974; La lamproie :

Sirota et al., 2000). Chez les vertébrés, la RLM est formée de deux régions principales : le noyau cunéiforme et le noyau pédonculopontique (Grillner et al., 1997; Jordan 1998, Shik et Orlovsky 1976, Garcia-Rill 1986). Cette région a été définie initialement chez le chat comme étant une petite région située dans le mésencéphale caudal là où une stimulation électrique tonique était capable d'activer le système postural du corps, d'initier l'activité locomotrice avec des paramètres cinématiques similaires à ceux des mouvements naturels et qui cessent lorsque la stimulation électrique arrête. De plus cette région est aussi capable de contrôler, dépendamment de la force de stimulation, la fréquence des mouvements locomoteurs et la force des contractions musculaires (Shik et al., 1966; Grillner, 1976; Shik et Orlovsky, 1976; Grillner et al., 1997). La démonstration par Shik et al. (1966) de la RLM fut un grand pas dans la recherche sur la locomotion. Avec une stimulation électrique répétitive à faible intensité chez un animal décérébré, ils ont induit une marche lente, avec un stimulus plus fort, le trot et encore plus fort, le galop. Ces mouvements étaient parfaitement synchronisés. Ainsi, le comportement locomoteur peut être contrôlé très simplement, un peu comme un interrupteur lié à un rhéostat.

Chez le chat, il y a quatre voies motrices descendantes à la moelle épinière: la voie corticospinale, la voie rubrospinale, la voie réticulospinale et la voie vestibulospinale qui modulent les différentes phases de l'output locomoteur produit par les réseaux locomoteurs spinaux (Grillner et al., 1997). Les neurones de la RLM projettent à la formation réticulée pontique et bulbaire en utilisant

l'acétylcholine comme neurotransmetteur (Garcia-Rill 1986; Garcia-Rill et al., 1986, Garcia-Rill et Skinner 1987). Ensuite, de la formation réticulée, les neurones réticulospinaux projettent, par les funiculi spinal ventral et ventrolatéral, aux circuits locomoteurs spinaux (Noga et al. 1991; Steeves et Jordan 1980). Ainsi, le système descendant du tronc cérébral peut activer et moduler les générateurs de patrons centraux (GPCs) dans la moelle épinière et donc initier et contrôler la locomotion (Grillner et al., 1997). L'organisation neuronale générale du système locomoteur est conservée des vertébrés inférieurs aux vertébrés supérieurs (Rovainen 1979). Ainsi, pour mieux comprendre comment les différentes structures supraspinales interagissent entre-elles pour contrôler le réseau locomoteur, l'utilisation d'un animal très simple, comme la lamproie peut être très utile.

Nous allons voir en détail le circuit locomoteur chez la lamproie. Pour ce faire, nous allons commencer par la moelle épinière pour ensuite nous attarder sur la formation réticulée en expliquant en détail le rôle de celle-ci dans le contrôle de la locomotion. De plus, nous exposerons les différents inputs (la moelle, les nerfs crâniens et les centres supraréticulaires) que reçoivent les cellules RS de la formation réticulée et leurs effets sur la locomotion.

I- La locomotion et les GPCs de la moelle épinière

Les lamproies ont un corps un peu comme l'anguille et leur patron locomoteur consiste en des ondulations latérales du corps qui se propagent de la tête vers la

queue (Rovainen 1982). Ainsi, dans un segment de moelle épinière, une activité alternée se produit dans les racines ventrales gauches et droites avec un intervalle de temps fixe entre l'activation des segments adjacents dans l'axe rostrocaudal de la moelle épinière (Grillner 1974; Grillner et al., 1976; Cohen et Wallén 1980). Cette activité rythmique est similaire au patron d'activité électromyographique enregistré dans des lamproies intactes (Wallén et Williams 1984). Ce patron moteur se nomme nage ou locomotion fictive (Cohen et Wallén 1980). Ces auteurs ont démontré que la nage de la lamproie est due à un GPC car la nage enregistrée sous forme de décharge dans les racines ventrales était présente dans une préparation moelle épinière /notochorde sans muscle ou mouvement. Ces résultats supportent l'idée que les GPCs pour la locomotion chez les vertébrés sont distribués dans la moelle épinière et produisent des patrons rythmiques de locomotion (Grillner 1981). La moelle épinière de la lamproie contient environ 100 segments possédant chacun environ 1000 cellules nerveuses (Rovainen 1979). Les différentes classes de neurones spinaux sont les motoneurones, les interneurones latéraux (grandes cellules inhibitrices avec des axones ipsilatéraux descendants), les interneurones CC (interneurones commissuraux), les interneurones excitateurs (petites cellules excitatrices avec des axones ipsilatéraux), les interneurones inhibiteurs (petites cellules inhibitrices avec des axones ipsilatéraux), les cellules en bordure (récepteurs intraspinaux sensibles à l'étirement), les interneurones géants (grandes cellules excitatrices avec des axones ascendants controlatéraux) et les cellules dorsales (neurones mécanosensoriels primaires) (Buchanan 2001). Chaque classe n'est pas

représentée dans les mêmes proportions (Buchanan 2001). Durant la nage fictive, les potentiels membranaires des motoneurones, des interneurones latéraux, des interneurones CC et des interneurones excitateurs et inhibiteurs oscillent de manière importante mais ceux des cellules de bordure, des interneurones géants et des cellules dorsales n'oscillent pas ou presque (Buchanan 1982; Buchanan et Cohen 1982; Buchanan et Grillner 1988; Buchanan et Kasicki 1995; Buchanan et al., 1989; Buchanan 2001; El Manira et al., 1996). Ainsi, le modèle d'unité oscillatoire pour le réseau locomoteur spinal comporte 3 classes d'interneurones en plus des motoneurones: les interneurones inhibiteurs CC, les interneurones latéraux et les interneurones excitateurs (Buchanan 1986, Buchanan et Grillner 1987). Chaque unité oscillatoire, formée de 1 à 3 segments, est à la base de l'activité alternée et le couplage entre ces différentes unités provoque la propagation rostro-caudale de l'activité (Cohen et al., 1992). Selon Buchanan (2001), pour induire une activité alternée rythmique, le cœur du circuit proposé est l'inhibition réciproque entre les interneurones CC de chaque côté de la moelle épinière. Une autre composante importante pour la génération du rythme est l'inhibition des interneurones CC ipsilatéraux par les interneurones latéraux (Buchanan 1982). Cette inhibition sert de mécanisme pour limiter la durée de l'activité des interneurones CC et ainsi empêcher le blocage de l'activité d'un côté du réseau. Durant le cycle de nage, les interneurones CC et les interneurones latéraux d'un côté de la moelle épinière se dépolarisent et déchargent des potentiels d'actions qui provoquent ensuite l'inhibition des cellules du côté opposé de la moelle épinière, ce qui favorise encore plus la décharge du côté actif

car l'inhibition provenant des interneurons CC controlatéraux est enlevée. En même temps, les interneurons latéraux actifs commencent à inhiber les interneurons CC ipsilatéraux qui éventuellement arrêtent de décharger. Les cellules opposées sont ainsi relâchées de leur inhibition et, les interneurons CC désinhibés se dépolarisent, déchargent et ensuite inhibent les cellules qui étaient actives du côté opposé et la séquence se répète. Les interneurons latéraux sont co-activés avec les interneurons excitateurs et les motoneurons du même côté ce qui induit l'activité rythmique alternée (Buchanan et Grillner 1987). Les motoneurons de la moelle épinière innervent soit les myotomes, motoneurons myotomaux, ou les nageoires, motoneurons des nageoires, en envoyant leurs axones à l'extérieur de la moelle par la racine ventrale la plus proche (Wallén et al., 1985). L'activation des GPCs fait décharger les motoneurons, ce qui provoque des contractions musculaires initiant ainsi la nage. Dans les conditions naturelles, une des régions qui contrôle le réseau de la moelle épinière est la formation réticulée. Cette région intègre les différents inputs sensoriels et module en conséquent l'activité de la moelle épinière.

II- L'anatomie du système RS

L'un des principaux centres de contrôle du tronc cérébral est la formation réticuléomédiane (Rovainen 1979; Brodin et al., 1988) qui s'étend de la partie caudale du rhombencéphale à la partie rostrale du mésencéphale. Ce système contient environ 2500 cellules réticulospinales (RS) réparties dans les 4 noyaux réticulés : le noyau réticulé mésencéphalique (NRM) et les noyaux réticulés

rhombencéphaliques antérieur (NRRA), moyen (NRRM) et postérieur (NRRP) (Bussièrès 1994). Le NRRM et le NRRP rassemblent à eux deux 85% des neurones RS (Bussièrès 1994). Les corps cellulaires des neurones RS sont situés près de la ligne médiane et près du fond du troisième et du quatrième ventricules. Elles forment deux colonnes, une de chaque côté du tronc cérébral avec une largeur de 200-300 μ m et avec une étendue de 5mm rostro-caudale chez la lamproie adulte. Le système réticulospinal contient de grosses cellules, les cellules de Müller et les cellules de Mauthner (Rovainen 1982). Il existe 3 paires de cellules de Müller dans le NRM, deux dans l'NRRA et 4 dans le NRRM (Rovainen 1967; Brodin et al. 1988; Buchanan 2001). Les cellules de Müller, visuellement identifiables, se nomment M1-M3 pour le NRM, I1 -I2 pour le NRRA et B1-B5 pour le NRRM (Kasicki et al. 1989). Il y a deux cellules de Mauthner de chaque côté du rhombencéphale, latérales aux cellules de Müller (Brodin et al., 1988) et près du nerf VIII (Rovainen 1967). Il existe d'autres grosses cellules RS dans le NRRP souvent nommées V (Vagal cells) (Rovainen 1967, Brodin et al., 1988). De plus, il y a de nombreux neurones RS autres que les cellules de Müller dans les différents noyaux mais, à cause de leur petite taille et de la variabilité de leur position, l'identification de ces cellules est moins certaine d'une préparation à l'autre (Buchanan 2001).

III- Les projections du système RS sur les GPCs de la moelle épinière

Les GPCs peuvent être activés mais aussi modulés par le système descendant du tronc cérébral. Les axones des cellules RS descendent dans les colonnes latérales

et ventrales à travers presque toute la longueur de la moelle épinière (Brodin et al., 1988). Plus spécifiquement, les axones des cellules de Müller sont situés dans la voie ventrale ipsilatérale projetant dans la moelle épinière et faisant des synapses électrochimiques en passant sur les neurones spinaux (Rovainen 1982). Ceux des cellules mésencéphaliques sont situés, le plus médian, dans la voie ventrale et ceux de l'NRRA et du NRRM sont plus latéraux (Rovainen 1982, Bussièrès 1994). Pour ce qui est des cellules de Mauthner, leurs axones croisent la ligne médiane dans le rhombencéphale et projettent dans la voie dorsolatérale de la moelle épinière (Rovainen 1982). Les axones des cellules du NRRP sont dans la partie dorsale des colonnes latérales (Brodin et al., 1988, Bussièrès 1994). À l'aide de différentes lésions dans la moelle épinière rostrale, il a été possible de déterminer que lorsque l'une des deux voies, dorsolatérale ou ventrolatérale, est intacte la nage volontaire peut être induite spontanément ou par les centres supraspinaux (McClellan 1988). La voie spinale latérale contient, ainsi, une partie significative des voies de commandes descendantes pour la locomotion chez la lamproie (McClellan 1988) mais aussi chez les vertébrés supérieurs (Singe : Eidelberg 1981; Chat : Steeves et Jordan 1980). McClellan (1988) suggère, en se basant sur les expériences de lésions, que les grosses cellules réticulospinales de Müller, qui projettent dans la voie médiane spinale, ne contribuent pas significativement à l'initiation de la locomotion. Par contre, des résultats plus récents de Brocard et Dubuc (2003) ont démontré que les cellules RS du NRRM et du NRRP sont impliquées dans l'initiation et le maintien de la nage à faible intensité. De plus, selon Bussièrès (1994), la présence de quelques cellules de

Müller marquées dans le NRRM suite à une injection de cobalt-lysine dans la voie latérale, met en évidence qu'il n'y a pas une somatotopie stricte, ce qui rend plus délicate l'interprétation des résultats de lésions. Certaines des petites jusqu'aux moyennes cellules RS du NRRM et du NRRP sont connues pour descendre dans les voies spinales ventrolatérales et dorsolatérales (Rovainen 1979; Bussières 1994; McClellan 1987) que l'on sait importantes pour l'initiation de la locomotion. Ainsi, tant les petites cellules (Bussières 1994, McClellan 1987) que les plus grosses (Brocard et Dubuc 2003) semblent jouer un rôle dans l'initiation de la locomotion. Il n'en demeure pas moins que l'effet principal des neurones RS est de produire une excitation des motoneurones et des interneurones dans la moelle épinière du côté ipsilatéral (Brodin et al., 1988; Ohta et Grillner 1989; Rovainen 1979; Wannier et al., 1995).

Les différents types de cellules nerveuses de la moelle épinière reçoivent des inputs provenant de différentes cellules RS (Rovainen 1974; Buchanan 1982). Les projections des cellules de Müller sur les différentes cellules nerveuses de la moelle épinière ont été décrites en premier par Rovainen (1974) et ensuite plus en détail par Buchanan (Buchanan 1982; Buchanan et Grillner 1987; Buchanan et al., 1987; review : Buchanan 2001). Les motoneurones des myotomes reçoivent des inputs monosynaptiques ipsilatéraux des cellules RS M1, M3, I1, B3 et B4 alors que les motoneurones des nageoires reçoivent des inputs polysynaptiques contralatéraux de M3 et I1 (Rovainen 1974). Les interneurones CC, pour leur part, reçoivent des inputs ipsilatéraux excitateurs des cellules B1 à B4 et

inhibiteurs de I1 (Buchanan 1982). Les interneurons excitateurs reçoivent eux aussi des inputs des cellules RS de Müller mais leur patron n'a pas encore été établi (Buchanan et Grillner 1987).

Les cellules RS exercent à la fois des actions excitatrices et inhibitrices sur différents types de neurones spinaux (Ohta et Grillner 1989; Buchanan et al., 1987; Moore et Buchanan 1993; Rovainen 1974; Wannier et al., 1995). Les grosses cellules RS des quatre noyaux réticulés utilisent comme neurotransmetteur des acides aminés excitateurs, le glutamate par exemple, qui agit sur la composante AMPA et NMDA (Dale et Grillner 1986; Ohta et Grillner 1989). Les PPSEs induits dans les cellules de la moelle épinière par le glutamate ont une phase hâtive liée aux récepteurs AMPA/ kainate et une phase tardive liée aux récepteurs NMDA (Buchanan et al 1987; Dale et Grillner 1986; Grillner et al., 1987; Moore et al 1987; review : Brodin et al., 1988). Des évidences suggèrent une action excitatrice glutamatergique et une action inhibitrice glycinergique des cellules RS sur la moelle épinière, provoquant une alternance d'excitations et d'inhibitions des cellules nerveuses de la moelle épinière reliées aux myotomes (Buchanan 2001) et une activation segmentaire des réseaux locomoteurs qui résulte en l'initiation de la locomotion (Buchanan et al., 1987; Grillner et al., 1995; Ohta et Grillner 1989, Wannier et al., 1995). Dans une préparation de moelle épinière isolée, la nage fictive peut être induite par la perfusion d'acides aminés excitateurs dans le bain (Cohen et Wallén 1980). De plus, la fréquence augmente en fonction de la concentration des acides aminés

excitateurs (Brodin et al 1985, Grillner et al., 1981). Le fait que les cellules RS soient en grande partie glutamatergiques et activées de manière alternée contribue à renforcer le rythme de la locomotion (Brodin et al., 1988). Récemment, Brocard et Dubuc (2003) ont démontré que les cellules RS des différents noyaux de la formation réticulée sont recrutées selon un patron spécifique durant la locomotion induite par la RLM.

IV- Le rôle du système réticulospinal

Les cellules RS reçoivent des nombreux inputs sensoriels (Rovainen 1967 et 1979). De plus, ces cellules reçoivent des inputs internes des centres supra-réticulaires, la RLM (Sirota et al. 2000; Le Ray et al. 2003) et la région locomotrice diencéphalique (RLD) (El Manira et al., 1997) qui sont les centres de contrôle de la locomotion avec un but. Il y a aussi les inputs internes de la moelle épinière (Dubuc et Grillner 1989; Vinay et Grillner 1993; Vinay et al., 1998). Lorsque l'on stimule les différents nerfs crâniens, prenons comme exemple le nerf trijumeau, des PPSEs sont induits dans les cellules de RS (Rovainen 1982; Viana Di Prisco et al., 1995). En fonction de l'intensité de stimulation ou de la fréquence, les cellules de Müller se dépolarisent (Kasicki et al., 1989) jusqu'à l'atteinte d'un niveau auquel un plateau calcique dépolarisant est induit, accompagné de nombreux potentiels d'actions (Viana Di Prisco et al., 1997, 2000). Ce plateau est associé avec le début de la nage (Viana Di Prisco et al., 1997). Le système RS en tant que « système de commande » peut servir de centre d'intégration sensorimoteur qui, lorsque activé, induit la locomotion. L'activité

dans le NRRP et le NRRM est très similaire à celle qui se produit dans les motoneurones (Kasicki et al., 1989). Les grosses cellules RS déchargent en phase avec les motoneurones ipsilatéraux dans la partie rostrale de la moelle épinière. Quant aux cellules de Mauthner, elles sont dépolarisées en phase avec les motoneurones contralatéraux. Ces oscillations ont été observées tant chez les neurones RS à conduction rapide situés surtout dans la partie médiane des noyaux que chez les cellules ayant une conduction moins rapide situées plus latéralement. L'idée que les cellules de Müller contrôlent les patrons de la moelle épinière durant la nage est supportée par le fait que les cellules de Müller elles-mêmes sont actives durant la locomotion fictive (Kasicki and Grillner 1986; Kasicki et al., 1989). Brocard et Dubuc (2003) ont démontré que les cellules RS sont recrutées selon un patron bien précis lors de la locomotion induite par la stimulation de la RLM. Les cellules RS du NRRM sont surtout impliquées dans l'initiation et le maintien de la nage à faible intensité. À des fréquences plus hautes du rythme locomoteur, les cellules RS du NRRM et du NRRP sont recrutées ensemble. L'éjection de CNQX et d'AP5, des antagonistes des récepteurs AMPA et NMDA respectivement, sur les cellules RS du NRRM augmente le seuil de stimulation pour induire la locomotion et résulte en une forte diminution de la fréquence de nage et de la force des contractions musculaires. (Brocard et Dubuc 1993).

L'initiation et le maintien de l'activité locomotrice est une fonction bien établie des cellules RS chez tous les vertébrés incluant la lamproie (Shik et al., 1969;

Drew 1991; Ohta et Grillner 1989). Wannier et al. (1998) ont démontré que la micro-stimulation de certains sites dans chacun des 4 noyaux réticulés résulte en une augmentation de la fréquence locomotrice générée par la moelle épinière. Certains sites de stimulation provoquent une diminution de la fréquence de locomotion. Ainsi, l'intensité de la locomotion n'est pas simplement déterminée par l'intensité de l'input exciteur sur le réseau spinal mais aussi par l'intensité de l'input inhibiteur. C'est une balance entre les inputs excitateurs et inhibiteurs provenant du système RS. La stimulation d'une cellule de Müller pendant la nage dans une préparation moelle épinière / tronc cérébral peut changer à la fois l'intensité des bouffées d'activités des racines ventrales et la durée du cycle du rythme de nage et donc évoquer des changements considérables dans le patron de locomotion fictive (Buchanan et Cohen 1982). Ainsi ces deux effets ne proviennent pas de deux populations de cellules RS complètement séparées. De même, Guertin et Dubuc (1997) ont démontré que lors de la stimulation électrique du NRRM pendant la nage fictive induite par la perfusion de NMDA, il se produit une re-synchronisation des décharges locomotrices avec une latence constante pour chaque racine ventrale du côté ipsilatéral. Ainsi, l'activité des cellules RS peut jouer un rôle significatif en ce qui concerne un changement de direction pendant la nage et donc implique un effet sur la locomotion.

L'initiation de la locomotion est associée à une activation bilatérale massive et symétrique des cellules RS alors qu'un virage dans différents plans est associé à une activation asymétrique des groupes de neurones RS correspondants (Wannier

et al. 1998, Deliagina et al., 2002). Tous les sites de stimulation ou presque dans la formation réticulée qui affectent la fréquence de la locomotion produisent aussi un effet asymétrique sur l'output segmentaire (Wannier et al., 1998). Une nage rectiligne semble nécessiter une activité symétrique des neurones RS des deux côtés, et le niveau de cette activité détermine la vigueur de la locomotion (Kozlov et al. 2002). Plusieurs modèles posturaux ont été établis avec différentes sous-populations de cellules RS pour différents comportements moteurs : rotation transversale (roulis) et sagittale (tangage) (Ullén et al., 1995ab; Orlovsky et al., 1992; Deliagina et al., 1992) et rotation horizontale (McClellan et Hagevik 1997; Fagerstedt et al., 2001). Dans ces modèles, les inputs vestibulaires et visuels sont essentiels. Les sous-populations de neurones RS à la source de différents comportements moteurs se chevauchent partiellement. Deliagina et al. (2002) suggèrent que la commande d'initiation de la locomotion et la régulation de sa vigueur, encodée en terme de valeur de l'activité RS bilatérale, serait décodée dans la moelle épinière par l'intégration de tous les signaux RS arrivant aux réseaux locomoteurs des segments. La commande pour un virage dans différents plans serait encodée sous la forme d'une asymétrie dans l'activité de groupes spécifiques de neurones RS. Une légère asymétrie descendante peut être amplifiée par l'inhibition réciproque des neurones de chaque côté de la moelle épinière (Fagerstedt et al., 2000) comme par exemple par les interneurones CC. Cette hypothèse a été démontrée à l'aide d'un modèle neuro-mécanique par Zelenin et al. (2001) où la différence entre l'activité du réseau RS gauche et droit a été utilisée pour contrôler un moteur faisant tourner l'animal dans un plan. Ils

en sont venus à la conclusion que la grande diversité des patrons des projections fonctionnelles des cellules RS permet au système reticulospinal d'induire des flexions du corps dans tous les plans surtout si des neurones RS ayant des projections différentes sont co-activés.

Ainsi, il est possible de dire que le système RS a un double rôle : activer les mécanismes locomoteurs spinaux (McClellan et Grillner 1984; Kasicki et Grillner 1986; Kasicki et al., 1989; Ohta et Grillner 1989; Brocard et Dubuc 2003) et moduler les patrons locomoteurs, ce qui est nécessaire pour le contrôle de la posture et de la direction (Deliagina et al., 1992, 1993). Le système RS est donc un « centre de contrôle » (Deliagina et al., 2002).

V- Les inputs des cellules RS

A- Input de la moelle épinière

La source de la modulation de l'activité des cellules RS a été étudiée par Dubuc et Grillner (1989) qui ont montré qu'une grande partie de cette modulation provient d'un feedback de la moelle épinière. Ces auteurs ont induit la locomotion pharmacologiquement en perfusant du NMDA dans un compartiment au niveau caudal de la moelle, lorsque des neurones du NRRP étaient enregistrés intracellulairement dans le compartiment rostral perfusé avec du Ringer. Dans ces conditions, le potentiel de membrane des neurones RS montre une oscillation claire corrélée à l'activité locomotrice dans le bain caudal de la moelle épinière, sans qu'il n'y ait de décharges dans les racines ventrales du bain rostral. Ces

résultats indiquent donc que les réseaux locomoteurs de la moelle contribuent aux oscillations rythmiques se produisant dans les neurones RS durant la locomotion fictive. La participation des segments rostraux semble sans aucun doute survenir durant une activation plus naturelle des réseaux locomoteurs, en contribuant et en augmentant la modulation des neurones RS. Vinay et Grillner (1993) ont étudié l'effet de l'interruption ou de l'augmentation du feedback de la moelle épinière sur le patron de locomotion fictive. Ces auteurs ont découvert qu'en bloquant la transmission synaptique dans le tronc cérébral, le rythme de la locomotion induite en perfusant la moelle épinière avec du NMDA est augmenté. Cet effet pourrait être dû au fait que les cellules de la moelle épinière ne reçoivent plus d'input des cellules serotonergiques ou des cellules inhibitrices des centres supérieurs. Une autre explication pourrait être le fait que les cellules de la moelle ne reçoivent plus d'input excitateur et donc que les cellules inhibitrices de la moelle ne sont plus activées.

D'un point de vue anatomique, il existe deux grandes voies ascendantes de la moelle épinière vers le tronc cérébral : la voie des colonnes dorsales (Dubuc et al., 1993) et une voie spinobulbaire (nommée « Lemnisque spinal » par Ronan et Northcutt 1990). La première est dorsomédiane et transporte surtout des informations somatosensorielles vers le tronc cérébral tandis que la seconde, se situe dans les colonnes latérales de la moelle épinière pour atteindre la partie ventrolatérale du rhombencéphale. La plupart des fibres de cette seconde voie terminent dans la formation réticulée alors que certaines atteignent des niveaux

plus rostraux (Ronan et Northcutt 1990). La voie spinobulbaire apparaît aussi chez tous les groupes de vertébrés tant chez les poissons cartilagineux et osseux (Hayle 1973; Ebbesson et Hodde 1981) que les amphibiens (Hayle 1973), les reptiles (Ebbesson 1967; Ebbesson et Goodman 1981; Künzle et Woodson 1982) et les mammifères (Mehler et al., 1960). Vinay et al. (1998) ont étudié, à l'aide de traceurs rétrogrades (le cobalt-lysine et l'HRP) injectés dans le tronc cérébral ou dans la partie rostrale de la moelle épinière *in vivo* ou *in vitro*, les neurones spinaux projetant au tronc cérébral et pouvant contribuer à la modulation des neurones s'y trouvant pendant la locomotion. Ils ont identifié plusieurs groupes de cellules marquées distribuées bilatéralement avec une prépondérance contralatérale; des petites cellules, des cellules allongées dorsales, des cellules allongées latérales, des cellules en bordure, des cellules latérales de la matière blanche, des cellules dorsales et des interneurones géants. Ainsi, selon l'étude de Vinay et al. (1998) les cellules à l'origine de la voie spinobulbaire, les cellules allongées latérales, sont distribuées bilatéralement dans la matière grise intermédiaire et latérale le long de l'axe rostrocaudal de la moelle épinière. De plus, ces cellules sont modulées rythmiquement durant la nage fictive. Ainsi, ils ont démontré qu'il y a au moins un groupe de cellules qui transporte l'information rythmique au tronc cérébral pendant la locomotion fictive (Dubuc et Grillner 1989; Kasicki et al., 1989).

En considérant la distribution bilatérale des inputs spinaux excitateurs et inhibiteurs, il est intéressant de noter que durant la nage fictive, les cellules RS

reçoivent à la fois des inputs phasiques excitateurs et inhibiteurs (Dubuc et Grillner 1989). Ainsi, ces auteurs proposent que l'excitation proviendrait surtout des réseaux locomoteurs ipsilatéraux et l'inhibition du côté contralatéral. De plus, la modulation provenant des réseaux locomoteurs pourrait garder les neurones RS synchrones avec l'activité locomotrice en cours. Les neurones RS du NRRP sont une composante intégratrice d'une boucle spino-reticulo-spinale qui prendrait part dans le contrôle de la locomotion. Cette boucle est une partie intégrale du réseau locomoteur, et son effet net dans les conditions expérimentales est de stabiliser les patrons spinaux (Vinay et Grillner 1993). Ce circuit de contrôle pourrait avoir plusieurs utilités car les cellules RS font aussi partie du système neuronal utilisé pour le contrôle de l'équilibre et de la direction.

B- Les inputs sensoriels

Les cellules RS reçoivent une grande variété d'inputs synaptiques de différentes sources qui peuvent moduler leur activité et donc influencer la locomotion. Les différents inputs sensoriels des cellules RS, à savoir l'input optique, trigéminal, vestibulaire, de la ligne latérale et des cordons dorsaux (Zompa et Dubuc 1996; Viana Di Prisco et al., 1997; Alford et al 1995; Bussièrès 1992; Deliagina 1995; Dubuc et al., 1993), ont été étudiés en détail tant au niveau électrophysiologique qu'anatomique. Ces différents inputs induisent des potentiels postsynaptiques excitateurs (PPSEs), des potentiels postsynaptiques inhibiteurs (PPSIs) ou une combinaison des deux dans presque toutes les cellules RS (Rovainen 1967; Viana

Di Prisco et al., 1995; Dubuc et Grillner 1989; Alford et Dubuc 1993; Alford et al., 1995). Nous allons voir en détail les différents inputs sensoriels des cellules RS et leurs effets sur celles-ci.

1- L'input optique

Un stimulus visuel, comme l'illumination d'un œil provoque chez la lamproie intacte une rotation à l'opposé de la source de lumière suivie de la locomotion (Ullén et al., 1993, 1995). Cette rotation, induite dans le plan horizontal, provient d'une vague mécanique asymétrique de forte amplitude qui se propage rostro-caudalement à travers le corps (Ullén et al., 1993) et peut même se produire pendant la nage lors d'une illumination (Ullén et al., 1995, Wallén 1994). Des potentiels évoqués, enregistrés de manière extracellulaire, peuvent être induits dans la formation réticulée rhombencéphalique de même que dans la moelle épinière suite à l'illumination de l'œil ou à une stimulation électrique du nerf optique (Karamian et al., 1966, Rovainen 1967). Ces inputs provoquent une excitation des neurones RS ipsilatéraux et une inhibition des neurones RS contralatéraux du NRRM (Ullén et al., 1996, Deliagina et al., 1993, Rovainen 1967). Le relais des inputs du nerf optique aux cellules RS du rhombencéphale a été identifié par Zompa et Dubuc (1996) à l'aide d'injections de cobalt-lysine dans le NRRM. Des populations de cellules ont été marquées bilatéralement au niveau du mésencéphale rostral près de la bordure diencéphalique plus précisément dans le tectum et le prétegmentum (tectum opticum, torus semicircularis, tegmentum mesencephali). De plus, à l'aide d'expériences d'électrophysiologie,

les auteurs ont démontré que les voies tectoréticulaires croisées sont impliquées dans le relais des inputs du nerf optique vers les cellules RS du NRRM et donc que les régions tectale et préteectale de chaque côté du mésencéphale projettent bien vers le NRRM. Les réponses évoquées par l'activation de la voie tectoréticulaire croisée suggèrent la présence de contacts monosynaptiques avec les cellules de Müller (Zompa et Dubuc 1996). De plus, les PPSEs induits dans les cellules RS par la stimulation du nerf optique sont identiques à ceux induits par la stimulation du tectum optique contralatéral. D'autre part, la réponse à l'illumination de l'œil est abolie par l'ablation préteectale contralatérale alors qu'elle est présente lors d'une ablation contralatérale (Ullén et al., 1997). Il est très probable que cette voie tectoréticulaire croisée influence les comportements moteurs associés aux stimuli visuels (Zompa et Dubuc 1996).

2- L'input vestibulaire

Le système vestibulaire de la lamproie est assez bien connu. La description des labyrinthes a été faite en microscopie électronique par Lowenstein et al. (1968). Chez la lamproie, le labyrinthe est formé de deux canaux semi-circulaires innervés par le nerf vestibulaire. Les deux branches centrales du nerf (rostrale et caudale) se terminent dans les noyaux vestibulaires de la plaque alaire du rhombencéphale (Koyama et al. 1989), les noyaux octavo-moteurs (Rubinson 1974, Northcutt 1979, Koyama et al. 1989, Bussièrès et Dubuc 1992, Bussièrès et al., 1999; Pflieger et Dubuc 2000). Ces noyaux sont scindés en trois groupes : un antérieur (NOMA), un intermédiaire (NOMI) et un postérieur (NOMP)

(Nieuwenhuys 1977, Bussières et al. 1999). Selon Pflieger et Dubuc (2000), le NOMI est surtout innervé par la branche antérieure du nerf vestibulaire alors que le NOMP est surtout innervé par la branche postérieure. Les noyaux octavomoteurs servent de relais vers les cellules RS ipsilatérales et contralatérales (Bussières 1991; Orlovsky et al., 1992; Pflieger et Dubuc 2000; Pombal et al., 1994; Gonzalez et al., 1997) et projettent vers des motoneurones extra-oculaires et des deux côtés de la moelle épinière (Rovainen 1979; Bussières 1991; Bussières et al., 1999; Alford et Dubuc 1993; Alford et al., 1995; Pflieger et Dubuc 2000). Bussières et al. (1999) ont  etudi e en détail les projections vers la moelle épinière des neurones vestibulospinaux des différents noyaux octavomoteurs et ont d emontr e que le système vestibulospinal de la lamproie est similaire à celui observ e chez d'autres vertèbres. Chez la lamproie, cette voie innerve les segments rostraux de la moelle épinière (Rovainen 1979; Bussières et al., 1999; Pflieger et Dubuc 2000) et la principale voie transférant l'influence vestibulaire aux circuits spinaux est celle du système RS (Nieuwenhuys 1972). L'input vestibulaire est transmis disynaptiquement aux cellules RS (Alford et Dubuc 1993; Alford et al., 1995) qui semblent toutes recevoir un input vestibulaire (Rovainen 1979). Lors de la stimulation électrique du nerf VIII, les cellules RS reçoivent à la fois des inputs excitateurs et des inputs inhibiteurs (Alford et Dubuc 1993; Alford et al., 1995; Wickelgren 1977; Rovainen 1979). Les synapses excitatrices sont glutamatergiques et comportent une composante hâtive liée aux récepteurs AMPA et une composante plus tardive liée aux récepteurs NMDA (Alford et Dubuc 1993).

Les réponses individuelles de neurones RS, dans chacun des 4 noyaux réticulés du tronc cérébral, ont été enregistrées lors de rotations transversales (roulis) ou sagittales (tangage) (Orlovsky et al., 1992; Deliagina et al., 1992). Dans une préparation avec le tronc cérébral isolé, la plupart des cellules RS répondaient à la fois à une orientation définie dans l'espace et à un changement de l'orientation. Orlovsky et al. (1992) ont démontré que la réponse des cellules RS aux inputs vestibulaires dépend non seulement du stimulus (direction du mouvement et position dans l'espace) mais aussi du type de préparation (avec ou sans moelle épinière). Les réponses sont plus spécifiques et stables en l'absence de moelle. Une partie de la différence pourrait être due à une boucle de feedback, décrite en détail précédemment, signalant des informations à propos de l'activité motrice spinale (Kasicki et Grillner 1986, Dubuc and Grillner 1989, Vinay et Grillner 1993, Vinay et al., 1998). Il est évident que des influences très spécifiques sur le système moteur sont nécessaires pour corriger des changements dans l'orientation désirée du corps qui, chez la lamproie, consiste en une orientation du dos de l'animal vers le haut (Deliagina et Fagerstedt 2000).

Différentes études ont été faites sur des animaux intacts, à l'aide d'enregistrement extracellulaire des cellules RS ou de leurs axones, pour étudier les différentes sous-populations de cellules RS qui répondent aux changements d'angles de l'animal dans différents axes : roulis (Deliagina et Fagerstedt 2000) et tangage (Pavlova et Deliagina 2002). Ces différentes études ont permis de mettre en

évidence un système de contrôle postural complexe qui se base sur un équilibre entre deux sous-populations de cellules antagonistes pour chaque plan. Ce système vestibulo-spinal est très important pour que la lamproie nage normalement. Le fait d'enlever le labyrinthe d'une capsule otique provoque une modification du comportement locomoteur, une nage en spirale vers le côté du site de la blessure (Rubinson 1974; Deliagina 1995, 1997), et une modification des réponses vestibulaires dans les neurones RS (Deliagina et Pavlova 2002; Pavlova et Deliagina 2003).

Les cellules réticulospinales peuvent intégrer des inputs provenant des labyrinthes avec ceux des autres modalités sensorielles et d'autres voies dans le cerveau. Par exemple, l'input visuel interagit avec l'input vestibulaire impliqué dans le contrôle de l'équilibre (Deliagina et al., 1993; Ullén et al., 1995, 1996; Deliagina et Fagerstedt 2000). Suite à l'ablation d'un labyrinthe, l'illumination de l'œil controlatéral à la lésion ou une stimulation électrique du nerf optique correspondant résulte en une restauration immédiate du contrôle de l'équilibre. Le système de contrôle du roulis, lorsqu'un seul labyrinthe est présent, est capable de maintenir l'équilibre lorsque l'input vestibulaire manquant est compensé par un input visuel tonique (Deliagina 1997). L'importance de l'input visuel, pour maintenir l'équilibre suite à la lésion, diminue avec le temps (Deliagina 1997). Deliagina et Pavlova (2002) ont étudié en détail, suite à la chirurgie, la modification du réseau de contrôle de l'équilibre au niveau des cellules RS et l'effet de l'illumination de l'œil contralatéral sur ce réseau. La perte d'équilibre,

due à une asymétrie dans l'activité bilatérale des neurones RS, peut être compensée grâce à une illumination de l'œil contralatéral qui aurait pour effet d'activer les neurones RS inactivés suite à la labyrinthectomie et également de diminuer la magnitude des réponses vestibulaires du côté de celle-ci.

3- La ligne latérale

Le système de la ligne latérale a trois fonctions chez la lamproie : l'électroréception, la mécanoréception et la photoréception (Bodznick et Northcutt 1981; Ronan et Bodznick 1986, Ronan 1988). La lamproie possède des électro-récepteurs dans l'épiderme au niveau de la tête et de la queue (Ronan et Bodznick 1986). L'apparition de potentiels évoqués et de réponses unitaires, dans le cerveau de lamproie en réponse à un faible champ électrique, démontre que les lamproies ont un système électrosensoriel aussi sensible que celui des autres poissons électroréceptifs (Bodznick et Northcutt 1981). Des enregistrements extracellulaires des fibres du nerf de la ligne latérale du tronc indiquent que les lamproies sont sensibles aux faibles champs électriques de basses fréquences (Ronan 1988).

Le système de la ligne latérale est innervé par le nerf de la ligne latérale antérieure et postérieure. Le nerf de la ligne latérale antérieure innerve les électrorécepteurs sur toute la surface du corps et les mécanorécepteurs de la tête de même que le nerf de la ligne latérale postérieure innerve les mécanorécepteurs du tronc (Koyama et al., 1990). Les afférences primaires des nerfs de la ligne

latérale, identifiées chez la lamproie par une technique de transport axonal de l'HRP et un marquage à l'argent (Gonzalez et Anadon 1992; Koyama et al., 1990), projettent aux noyaux octavolatéraux (Gonzalez et Anadon 1992). Chez la lamproie, l'aire octavolatérale reçoit des afférences primaires du nerf octaval et de la ligne latérale, et est impliquée dans l'organisation des mouvements de fuite grâce à de projections secondaires vers la formation réticulée. Il y a trois noyaux octavolatéraux (ventral, médian et dorsal) qui projettent aux noyaux NRRM et NRRP et ces projections ont été étudiées par Gonzalez et al. (1997) grâce à des injections de traceurs rétrogrades HRP dans les noyaux réticulés.

Les fibres photosensibles se situent dans le nerf de la ligne latérale du tronc (Ullén et al., 1993) et entrent dans le cerveau avec les afférences mécanoréceptives du corps par le nerf postérieur de la ligne latérale. Les afférences de ce nerf se terminent bilatéralement dans le noyau octavolatéral médian en traversant la ligne médiane (Ronan 1988). En réponse à une illumination unilatérale de la queue, l'animal nage vers l'avant de manière rectiligne et donc essaie de s'éloigner d'une région très illuminée où les risques de se faire découvrir sont grands (Ullén et al., 1993, 1995). Pour les larves, la sensibilité de la queue à la lumière permet de s'assurer que le mouvement d'enfouissement continue jusqu'à temps que le corps soit complètement recouvert de sable. En sachant que les neurones RS jouent un rôle crucial dans l'initiation de la locomotion chez la lamproie, Deliagina et al. (1995) ont voulu étudier, à l'aide d'enregistrements extracellulaires, la réponse des cellules RS à une

illumination unilatérale de la queue. Ces auteurs ont découvert que même si l'illumination est unilatérale, les neurones du NRRM et du NRRP sont activés bilatéralement. Cette activation bilatérale semble être responsable de l'activation des réseaux locomoteurs spinaux, sans aucune déviation vers la gauche ou la droite pour la nage rectiligne observée dans les expériences comportementales. La transformation d'un stimulus unilatéral en une activation bilatérale des cellules RS se ferait au niveau préréticulaire. Des projections contralatérales des neurones du noyau octavolatéral médian ont été marquées rétrogradement grâce à des injections d'HRP dans le NRRP et NRRM controlatéral. Deliagina et al. (1995) pensent que ces cellules seraient à la base de la transformation d'un input unilatéral en une activité bilatérale du système RS.

4- L'input trigéminal

Chez la lamproie, le nerf trijumeau possède une composante sensorielle et une composante motrice innervant la région de la tête (Koyama et al., 1987). Les afférences primaires du nerf trijumeau ont leur corps cellulaire non seulement dans les ganglions trijumeaux mais aussi dans le tronc cérébral et la moelle épinière rostrale chez la lamproie (Finger et Rovainen 1982, revue de littérature : Nieuwenhuys 1977, Rovainen 1982). Les motoneurones du trijumeau innervent la musculature orofaciale, regroupant ainsi les muscles de la ventouse, de l'apicalis, du pharynx et du velum. (Hardisty et Rovainen 1982, Petropoulos et al., 1999). Koyama et al. (1987) ont identifié le patron des projections primaires des cinq branches (ophtalmique, apicale, basilaire, suborbitale et mandibulaire) du nerf

trijumeau chez la lamproie *Lampetra japonica*. Le système trigéminal est constituée de deux parties. La première, composée du ganglion ophthalmique (GV1) et de son nerf majeur, le nerf ophthalmique, est exclusivement sensorielle (Rovainen 1982). La seconde, le ganglion maxillomandibulaire (GV2, GV3) reçoit le nerf mandibulaire qui est surtout moteur (Rovainen 1982), et le nerf suboptique divisé en trois branches : le nerf apical (moteur et sensoriel), basilaire et suborbital (sensoriel). Chacun des quatre nerfs occupe une région plus ou moins bien définie de GV2,3. Les fibres motrices du nerf trijumeau passent sous GV2,3 (Koyama et al., 1987). Les neurones sensoriels du trijumeau se retrouvant dans les ganglions du trijumeau (GV1 et GV2,3) ont été séparés en quatre classes de cellules: les cellules du toucher(T) qui répondent à une légère indentation ou à un effleurement de la peau, les cellules pour la pression (P) qui déchargent continuellement durant une légère indentation, les cellules nociceptives (N) qui requièrent une forte pression, piqûre ou pincement de la peau et des cellules qui répondent au toucher de la fosse nasale (Matthews et Wickelgren 1978).

L'organisation anatomique du nerf trigéminal a été étudiée à l'aide de marquage traditionnel, de dégénération et d'injections de traceurs rétrogrades et antérogrades (Northcutt, 1979; Koyama et al., 1987; Anadon et al., 1989). Koyama et al. (1987) ont identifié la position du faisceau descendant du nerf trijumeau dans le rhombencéphale le long de l'axe rostro-caudal. Ce faisceau clair et distinct projette ventralement et caudalement, englobant le noyau du faisceau descendant du trijumeau (dV) et atteignant la partie rostrale de la moelle

(Finger et Rovainen, 1982; Koyama et al., 1987). Chez la lamproie, la composante majeure des projections trigéminales est le faisceau descendant ipsilatéral (Rovainen 1982) alors que le faisceau trigéminal mésencéphalique est absent (Nieuwenhuys, 1977). Finger et Rovainen (1982) ont identifié la présence de corps cellulaires d'afférences primaires trigéminales dans la plaque alaire et dans la moelle épinière. Northcutt (1979) et Anadon et al. (1989) ont proposé que ces cellules pourraient être semblables au faisceau trigéminal mésencéphalique des vertébrés supérieurs.

En prenant pour compte que le ndV est situé à une certaine distance du corps cellulaire et des dendrites des cellules RS, des études précédentes ont suggéré que les inputs du trijumeau vers les neurones RS seraient transmis par une voie qui serait au moins disynaptique (Viana Di Prisco et al., 1995). Les neurones de relais trigéminaux sont situés, selon Northcutt (1979), au niveau de l'isthme, à l'entrée du faisceau sensoriel trigéminal ou sous la forme d'un ensemble de cellule dorsales au dV situées plus caudalement. Ces cellules auraient leur axone qui projetterait bilatéralement à travers les champs dendritiques des cellules RS (Rovainen, 1982; Koyama et al., 1987, Nieuwenhuys 1977). Récemment, Viana Di Prisco et al. (non publié) ont identifié les neurones qui relient les inputs sensoriels des afférences trigéminales vers les neurones RS chez la lamproie et ce à l'aide d'une technique de double marquage *in vivo*. Il a été possible d'établir que les cellules projetant au NRRM étaient surtout regroupées au niveau du pôle caudal du nerf vestibulaire dans le ndV, tandis que les cellules projetant au NRRP

étaient situées plus caudalement. De plus, le rôle de relais de ces cellules a été étudié à l'aide d'expériences électrophysiologiques. Les réponses intracellulaires provoquées par une stimulation du nerf trijumeau ont été enregistrées dans des cellules RS en condition de contrôle et après une injection locale, à l'aide d'une micropipette, d'un mélange d'antagonistes des récepteurs ionotropes glutamatergiques au niveau des cellules de relais dans de petites régions le long du sulcus limitans. Les réponses synaptiques induites dans les cellules RS du NRRM ont été le plus déprimées lorsque l'éjection a été faite au niveau du nerf vestibulaire alors que pour le NRRP, la dépression maximale survient lorsque l'éjection est légèrement plus caudale, ce qui est en accord avec les expériences anatomiques. Ces résultats suggèrent que les cellules dans le ndV projetant vers les noyaux réticulés seraient des relais sensoriels des inputs trigéminaux vers les neurones RS chez la lamproie (Viana Di Prisco et al., non publié).

La stimulation électrique du nerf trijumeau évoque des potentiels postsynaptiques excitateurs et inhibiteurs dans les cellules de Müller (Rovainen 1967, Wickelgren 1977), de même qu'une augmentation du calcium intracellulaire (McClellan et al., 1994). Viana Di Prisco et al. (1995) ont caractérisé les inputs du trijumeau vers les cellules RS de même que de les neurotransmetteurs impliqués. Les réponses synaptiques, enregistrées intracellulairement dans le NRRM et le NRRP, consistent en un mélange d'excitation et d'inhibition. Les PPSEs sont plus larges dans les cellules RS du NRRM comparativement à ceux du NRRP, où les PPSI sont plus fréquents. Il a été établi que les PPSEs sont induits par l'activation des

récepteurs AMPA/Kainate et NMDA alors que les PPSIs le sont par les récepteurs glycinergiques. Les récepteurs glutamatergiques de type AMPA, pour la phase hâtive, et NMDA, pour la phase tardive, contribuent aux transmissions synaptiques excitatrices (Viana Di Prisco et al., 1995).

Une stimulation mécanique de la peau de la tête de même qu'une stimulation électrique du nerf trijumeau peut induire une locomotion de fuite si l'intensité est suffisante. Viana Di Prisco et al. (1997) ont cherché à identifier le mécanisme impliqué dans cette transformation sensori-motrice. En stimulant mécaniquement la peau de la partie dorsale de la tête, ces auteurs ont remarqué que plus la force de stimulation est grande, plus l'amplitude des réponses enregistrées dans les cellules RS augmente, et ce linéairement jusqu'à l'atteinte d'un niveau auquel un plateau dépolarisant est induit avec des potentiels d'action et une forte augmentation de la concentration intracellulaire de calcium. Dans une préparation semi-intacte, ayant le tronc cérébral exposé mais toujours relié à la queue intacte, si l'intensité de stimulation est assez grande pour faire apparaître le plateau, et donc faire décharger les cellules RS, la locomotion est induite. Pour évaluer le rôle des récepteurs NMDA dans les plateaux induit par les stimulations sensorielles, les auteurs ont utilisé un antagoniste des récepteurs NMDA, l'AP5. Lorsque cette drogue est perfusée dans le bain, les potentiels de plateaux induits par une stimulation cutanée sont inhibés de même que la hausse de calcium intracellulaire (Viana Di Prisco et al., 1997). Les récepteurs NMDA jouent un

rôle clef pour les cellules RS dans le changement de mode de réception sensorielle à celui de commande motrice.

L'imagerie calcique a permis de démontrer que la hausse du calcium intracellulaire est toujours associée avec le développement d'un plateau dépolarisant dans les cellules RS enregistrées. D'autres études ont démontré que les récepteurs NMDA sont très perméables au calcium (Asher et Nowak 1988). L'entrée de calcium par les récepteurs NMDA pourrait servir de messenger second dans la cascade intracellulaire. Pour voir à quel point le calcium intracellulaire est important pour l'apparition d'un plateau dépolarisant, un chélateur du calcium, le BAPTA, a été utilisé. Viana Di Prisco et al. (2000) ont injecté du BAPTA dans une cellule RS, ce qui abolit complètement le plateau dépolarisant et implique qu'il est dépendant du calcium et des propriétés intrinsèques des cellules RS.

Il existe des canaux cationiques non-sélectifs activés par le calcium, les Ican, qui sont connus pour générer des dépolarisations de longue durée tant dans les neurones pyramidaux CA1 de l'hippocampe (Fraser et MacVicar, 1996; Congar et al., 1997; Partridge et Valenzuela 1999) que dans des neurones des cornes dorsales chez le rat (Morisset et Nagy, 1999). Viana Di Prisco et al. (2000) ont cherché à savoir si ces récepteurs pouvant être activés par le calcium intracellulaire étaient impliqués dans les plateaux dépolarisant des cellules RS. Pour ce faire, il ont éjecté sur les cellules RS ou perfusé dans le bain du FFA, un bloqueur des Ican, ce qui a eu pour effet d'abolir le plateau dépolarisant. Sous

cette drogue la stimulation du nerf trijumeau n'a induit qu'une petite réponse dépolarisante de courte durée. Dans les conditions normales, le courant I_{can} maintient la cellule dépolarisée, ce qui permet d'avoir un plateau dépolarisant de longue durée. Toutes ces études ont permis d'identifier la cascade intracellulaire des cellules RS à la base de la transformation d'un input sensoriel en une commande motrice. Brièvement, du glutamate provenant du neurone de relais, relâché au niveau de la synapse sur la cellule RS, active les récepteurs AMPA et NMDA présents à la surface de la cellule. Ensuite, le calcium entre dans la cellule par les récepteurs NMDA et vient activer les canaux I_{can} qui génèrent le plateau dépolarisant et induisent la locomotion. L'élément déclencheur de cette cascade est l'input sensoriel. En résumé, les neurones RS agissent comme des neurones de commande qui intègrent les signaux sensoriels pour induire, lorsque nécessaire, une activité locomotrice organisée, la locomotion de fuite (Viana Di Prisco et al., 2000).

C- Les centres supraréticulaires

1- La région locomotrice diencephalique (RLD)

Différents centres supraréticulaires sont impliqués dans le contrôle de la locomotion. Un de ces centres se retrouve au niveau du diencephale, la RLD. Chez la lamproie, la RLD correspond au thalamus ventral selon El Manira et al. (1997). Ces auteurs à l'aide de différentes techniques morphologiques ont identifié des projections axonales du thalamus ventral vers les noyaux réticulés.

En stimulant électriquement le thalamus ventral, des PPSEs monosynaptiques, polysynaptiques et des PPSIs sont induits dans les neurones du NRRM et du NRRP. La stimulation à haute fréquence du thalamus ventral produit des décharges rythmiques des neurones RS et des bouffées d'activités rythmiques dans les racines ventrales spinales que l'on peut interpréter comme étant de la nage fictive (El Manira et al., 1997). La RLD agirait sur le système locomoteur à l'aide d'inputs excitateurs glutamatergiques en projetant du thalamus ventral sur les neurones RS du NRRM et du NRRP qui eux, en retour, peuvent activer les circuits spinaux à la base de la locomotion. El Manira et al. (1997) proposent que cette région correspond à la zona incerta des mammifères (Schwanzel-Fukuda et al., 1984), qui est impliquée dans le système locomoteur (Parker et Sinnamon 1983, Milner et Mogenson 1988, Marciello et Sinnamon 1990, Sinnamon 1993). De plus, le thalamus ventral reçoit des projections axonales des ganglions de la base, du pallidum de même que des inputs olfactifs et visuels. Ainsi, le thalamus ventral reçoit des inputs de différentes régions du cerveau et contrôle le niveau d'excitabilité dans les neurones RS.

2- La RLM

a- Le circuit supraréculaires de la locomotion chez les vertébrés supérieurs

L'une des régions supraspinales clef pour l'initiation de la locomotion chez les vertébrés est la RLM. Cette région a été identifiée chez toutes les espèces qui ont été examinées (Grillner et al. 1997) tant chez les mammifères que chez les vertébrés inférieurs comme la lamproie (Sirota et al. 2000, Le Ray et al. 2003).

Brudzynski et Mogenson (1985) ont étudié les connections entre différentes régions supérieures projetant à la RLM. Le cortex de l'hippocampe, le noyau accumbens et le pallidum ventral projetant à la région locomotrice mésencéphalique (RLM) forment ensemble une cascade d'excitation et d'inhibition qui peut être bloquée à n'importe quel niveau par l'application d'anesthésiques locaux. La locomotion peut être induite via une stimulation directe de la RLM ou en bloquant l'inhibition induite par le neurotransmetteur GABA avec de la bicuculline administrée localement sur une des régions supérieures énumérées. Ainsi, il y aurait une inhibition GABAergique provenant des centres supérieurs sur la RLM (Garcia-Rill 1986, Garcia-Rill et al. 1986).

Chez les vertébrés, la RLM est formée de deux régions principales : le noyau cunéiforme et le noyau pédonculopontique (NPP) (Grillner et al., 1997; Jordan 1998, Shik et Orlovsky 1976, Garcia-Rill 1986). Il subsiste un débat quand à savoir quels noyaux font vraiment partie de la RLM. Selon Jordan (1998), la RLM serait composée de cellules se trouvant dans la matière grise périaqueducule, le noyau cunéiforme, le noyau pédonculopontique et le locus coeruleus. Différents sous-groupes de ces noyaux semblent être activés durant la locomotion produite dans divers contextes : la locomotion exploratrice, celle liée à l'appétit, et la locomotion défensive selon Sinnamon (1993). Ainsi, chaque sous-groupe de la RLM recevrait des inputs spécifiques de plusieurs structures du tronc cérébral pour un type de comportement locomoteur différent. Chacun des ces sous-groupes de la RLM projette sur les cellules RS. Pour la locomotion

exploratrice, qui a pour but de se diriger vers un stimulus lointain, les inputs proviennent du circuit des ganglions de la base. Pour la locomotion liée à l'appétit primaire, qui a pour but de rapprocher l'organisme avec des stimuli consommables, les inputs proviennent de la région locomotrice hypothalamique latérale et périfornicale. Finalement, pour la locomotion reliée aux comportement défensif, qui a pour but d'éloigner l'organisme de la source de danger ou de douleur, les inputs proviennent de l'hypothalamus médian et de la matière grise centrale. Jordan (1998) décrit les différentes régions de la RLM impliquées pour chacun des trois contextes comportementaux. Ces différentes études démontrent bien la complexité du réseau locomoteur au niveau des structures supérieures.

b- Le contrôle de la nage

Pour ce qui est de la lamproie, elle possède elle aussi une RLM qui joue le rôle d'initier et de contrôler la nage (Sirota et al., 2000; Le Ray et al., 2003). Sirota et al. (2000) ont décrit de manière très détaillée l'initiation et le contrôle de la force de la nage lors de la stimulation de la RLM chez la lamproie à l'aide de préparations semi-intactes de larves et d'adultes. La stimulation électrique de la RLM induit des mouvements locomoteurs bien coordonnés et symétriques qui commencent quelques secondes après le début de la stimulation et qui se terminent quelques secondes après la fin de la stimulation. Cette stimulation exerce une excitation sur le circuit tronc cérébral-moelle épinière impliqué dans la nage. Plus l'intensité de stimulation ou plus la fréquence de stimulation est élevée à une intensité donnée, plus la fréquence de nage est grande. Ainsi, il y a

un élément d'intégration dans la circuitrie tronc cérébral-moelle épinière qui s'active durant la stimulation électrique de la RLM jusqu'à l'atteinte du seuil nécessaire pour induire la locomotion par les GPCs de la moelle. Plus l'intensité du courant est grande, plus court sera le délai d'activation de la nage et plus long sera le délai entre la fin de la stimulation et la fin de la nage, la même chose est vraie pour la fréquence de stimulation. De plus, des microinjections d'AMPA, un agoniste des acides aminés excitateurs, sur la RLM initie la nage. Ce fait est très important car c'est la preuve que lors d'une stimulation électrique de la RLM, la locomotion induite n'est pas tributaire d'une activation des fibres de passage dans cette région mais bien de l'activation de neurones, qui possèdent des récepteurs pour l'AMPA. Des stimulations électriques de la RLM provoquent de larges PPSEs dans les neurones RS du NRRM qui démontrent eux aussi une activité rythmique durant la nage. Si la stimulation est appliquée longtemps sur la RLM, des signes d'habituation peuvent survenir. La stimulation de régions autres que la RLM dans le tronc provoque des déplacements latéraux ou une nage dont la force ne peut pas être contrôlée en variant l'intensité de stimulation. Lors de la stimulation électrique de la RLM, la force de la nage peut-être contrôlée en fonction de l'intensité de stimulation. Sirota et al. (2000) ont localisé les cellules de la RLM au niveau du tegmentum dorsal près du torus semicircularis à l'aide d'un traceur rétrograde, le cobalt-lysine, injecté dans le NRRM. Ce fait suggère qu'il y a des connections monosynaptiques entre la RLM et les neurones RS du NRRM (Sirota et al., 2000). Ainsi, cette étude a permis de dire que, comme chez d'autres vertébrés supérieurs, la lamproie possède une région mésencéphalique

spécifique pour le contrôle de la locomotion et l'effet sur la moelle épinière est relayé par les neurones RS du tronc cérébral.

c- les cellules cholinergiques de la RLM

Chez la lamproie, il existe des cellules cholinergiques qui ont été décrites dans la RLM par Pombal et al. (2001) et Le Ray et al. (2003). Ces derniers ont observé deux groupes de neurones immunoréactifs à la cholineacétyltransférase (Chat), l'enzyme de synthèse de l'acétylcholine, dans la région identifiée comme étant la RLM : l'un, dans le tegmentum au niveau de la bordure mésopontique, et l'autre, dans une aire qui inclut l'isthme et le mésencéphale caudal. Le premier groupe se situe à un niveau plus rostral et comprend moins de cellules qui sont distribuées de manière moins dense plus latéralement dans le tegmentum que le second groupe qui lui, est plus dense et qui se retrouve dans la matière grise périaqueducule. La comparaison avec les données immunohistochimiques d'autres espèces (chat : Mitani et al., 1988; rats : Jones 1990; amphibiens : Marin et al., 1997) suggère que les cellules regroupées médialement correspondent au noyau tegmental latérodorsal et les cellules plus latérales aux cellules du NPP. Comme expliqué précédemment, le NPP est traditionnellement associé à la RLM (revue de littérature voir Garcia-Rill 1986 et Jordan 1998) et contient des neurones cholinergiques qui projettent à la formation réticulée chez le chat et le rat (Mesulam et al., 1983; Garcia-Rill et Skinner, 1987a; Skinner et al., 1990; Lai et al., 1999). Le Ray et al. (2003) ont étudié le rôle des agonistes cholinergiques sur la locomotion contrôlée par la RLM. L'application d'acétylcholine ou de

nicotine excite directement, de manière dose-dépendante, les neurones RS de même qu'elle peut induire la nage active ou fictive comme c'est le cas chez les mammifères et les oiseaux (Garcia-Rill et Skinner, 1987a; Sholomenko et al., 1991). Cette application, chez la lamproie, accélère l'activité locomotrice induite par le NMDA. Un antagoniste nicotinique, la D-tubocurarine, déprime tandis que la physostigmine, un inhibiteur de l'acétylcholinestérase, augmente les PPSEs évoqués dans les cellules RS par une stimulation électrique de la RLM. Sous perfusion de D-tubocurarine, l'aire des PPSEs induits dans les cellules RS par la RLM dans une préparation semi-intacte est significativement diminuée de même que la pente. L'induction de la locomotion est elle aussi déprimée mais non pas empêchée. Avec une stimulation plus forte, la nage peut encore être induite même sous D-tubocurarine, ce qui indique que l'input de la RLM vers les cellules RS est partiellement cholinergique. La possibilité d'un input glutamatergique a été étudiée à l'aide de la perfusion d'un mélange d'antagonistes des récepteurs glutamatergiques NMDA et non-NMDA. Les réponses induites par la stimulation de la RLM sont fortement réduites mais il reste une dépolarisation substantielle. Selon Le Ray et al (2003), le fait que la composante insensible au CNQX et à l'AP5 reste constante après plusieurs stimulations sous haute concentration de calcium et de magnésium démontre que l'input cholinergique sur les cellules RS de la RLM serait monosynaptique. En plus de la composante cholinergique des inputs de la RLM vers les cellules RS, il existe une large composante glutamatergique. Ainsi, il semble possible que le glutamate et l'acétylcholine coopéreraient aux commandes de la RLM pour initier et contrôler la locomotion.

d- Le rôle des récepteurs muscariniques

Le contrôle moteur est basé sur une interaction entre les commandes générées centralement et les inputs sensoriels. Des études ont montré que les récepteurs muscariniques modulent la transmission sensorielle et ce tant dans le corps genouillé latéral, le cortex entorhinal et l'hippocampe de rat que dans le ganglion somato-gastrique du homard (McCormick 1992; Bal et al., 1994; Klink et Alonso 1997 a,b; Segal et Auerbach, 1997). De plus, l'activation des récepteurs muscariniques par l'acétylcholine dans les neurones géants réticulés pontiques semble être responsable de l'inhibition du « startle reflex » induit par des stimuli acoustiques, visuels ou tactiles (Fendt et al., 2001). La présence de neurones cholinergiques dans la RLM projetant sur les cellules réticulospinales chez la lamproie a donné l'idée à LeRay et al. (2004) d'examiner le rôle possible des récepteurs muscariniques de l'acétylcholine dans la modulation de l'entrée sensorielle vers les neurones RS. Chez de nombreux vertébrés, les récepteurs muscariniques ont été observés dans la formation réticulée (Barnes et al., 1987; Imon et al., 1996; Baghdoyan et Lydic, 1999). Plusieurs recherches ont été faites sur la modulation muscarinique des réponses glutamatergiques dans le système nerveux de différents vertébrés (Jiang et Dun 1986; Andre et al., 1995) et ont démontré une inhibition muscarinique des réponses glutamatergiques dans différentes régions du SNC (Marks et Roffwarg 1991; Metherate et Ashe 1995; Bellingham et Berger 1996; Sim et Griffith 1996, Lin et Phillips 1991). Chez la

lamproie, l'application d'agonistes muscariniques sur les cellules RS enregistrées intracellulairement déprime les réponses disynaptiques aux stimulations trigéminales (Le Ray et al., 2004). Une dépression survient aussi quand les agonistes muscariniques sont éjectés au-dessus de la région du tronc cérébral contenant les neurones de relais de la voie trigémino-réticulaire. Un antagoniste muscarinique, l'atropine, augmente les réponses induites par le nerf trijumeau, ce qui suggère une dépression appliquée toniquement par les récepteurs muscariniques des inputs sensoriels vers les neurones RS. Selon Le Ray et al. (2004), la modulation muscarinique affecte surtout la composante NMDA des réponses induites par le trijumeau.

Énoncé du problème

En sachant que les cellules RS reçoivent un input cholinergique de la RLM, et qu'il existe une modulation par les récepteurs de l'acétylcholine de type muscarinique de l'input glutamatergique trigéminal sur les cellules RS (Le Ray et al. 2004), nous avons cherché à savoir si la stimulation de la RLM, libérant de manière endogène de l'acétylcholine sur les cellules RS (Le Ray et al. 2003) déprimerait l'entrée de l'information sensorielle aux cellules RS. Pour corroborer ces expériences électrophysiologiques, nous avons tenté d'identifier les cellules possédant des récepteurs muscariniques dans le tronc cérébral chez la lamproie.

Matériel et méthode

Les expériences électrophysiologiques ont été faites sur des lamproies (*Petromyzon marinus*) de stade larvaire (n=62, longueur du corps de 13 à 17cm) et les expériences anatomiques sur des lamproies de stade reproducteur (n=11, longueur du corps de 34 à 56cm, poids de 91 à 225g). Toutes les procédures sont conformes aux lignes directrices des Instituts de Recherche en Santé du Canada et ont été approuvées par le Comité universitaire pour les soins et usages des animaux. Le protocole de dissection est le même tant pour les expériences électrophysiologiques qu'anatomiques. Les animaux ont été anesthésiés dans de l'eau d'aquarium contenant du tricaine methasulphonate (MS 222, 100mg/L ; Sigma-Adrich, Oakville, ON), décapités, et leur tête transférée dans du Ringer froid oxygéné (9°C, pH 7,4) composé de (en mM) : 130 NaCl, 2,1 KCl, 2,6 CaCl₂, 1,8 MgCl₂, 4 Hepes, 4 Dextrose, 1 NaHCO₃ ; pour être disséquée. Le tissu ventral à la notochorde a été enlevé de même que le tissu dorsal au SNC, incluant le cartilage dorsal et les plexus choroïdiens, donnant ainsi accès au 4ème ventricule. La dernière étape consiste à isoler le tronc cérébral à l'aide d'une section complète à la jonction entre le diencéphale et le mésencéphale et d'une autre au niveau des premiers segments de moelle.

I- Électrophysiologie

A-Protocole de stimulation et analyse

Pour ces expériences, la préparation a été transférée dans un bain réfrigéré et perfusé avec du Ringer (oxygéné, 9°C, pH 7,4) puis fixée à un substrat de polymère inerte (Sylgard) à l'aide de minuties. La RLM et le nerf trijumeau ont été stimulés électriquement avec une électrode de tungsten couverte de verre (5 M Ω avec 10 μ m de tungsten exposé à la pointe) à l'aide d'un stimulateur Grass S88 (Grass Instrument Co, Quincy, MA) (Fig.1A). Les neurones RS du NRRM (n=199) ont été empalés avec une micropipette de verre très effilée contenant de l'acétate de potassium (KAc 4M, \approx résistance de 100 M Ω). Dans tous les cas, les neurones empalés étaient les plus gros du NRRM, c'est-à-dire des cellules réticulospinales de Müller (voir Rovainen, 1982). Seulement les cellules ayant un potentiel de membrane de repos stable et inférieur à -70mV ont été considérées. L'expérience électrophysiologique consistait à enregistrer des PPSEs induits par la stimulation du nerf trijumeau dans les cellules du NRRM (un choc chaque 10s, 5-10 μ A) avant et après une stimulation de la RLM (1-4 μ A, 5-10 Hz, 40 s). Ce protocole de stimulation a été appliqué sur 199 cellules.

Les signaux intracellulaires ont été enregistrés en utilisant le logiciel Axotape (Axon Instruments, Inc.) en mode axoscope avec une fréquence d'acquisition de 2kHz et des balayages à chaque 10s d'une durée de 1,2 à 2,5 s . Le témoin de la

réponse trigéminal dure 5 minutes sauf pour les expériences sous atropine et physostigmine, pour lesquelles, dans certains cas, il faut plus de temps pour s'assurer d'avoir un contrôle bien stable avant la stimulation de la RLM. La récupération suite à la stimulation de la RLM à été enregistrée jusqu'au retour complet de l'aire sous la courbe des PPSEs trigéminaux. L'analyse des réponses des neurones RS a été faite grâce à Clampfit, un logiciel faisant partie de l'ensemble de programmes Pclamp9 (Axon Instruments, Inc.). Dû au retour très lent de la dernière phase de récupération des PPSEs (de 178 ms à 1485 ms), l'analyse de l'aire des PPSEs a été faite du début de la réponse suite à l'artéfact de stimulation jusqu'à la fin de la première moitié de la durée du PPSE (comme illustré à la figure 2A entre les deux barres verticales et entre la trace et la ligne pointillée).

Pour examiner la contribution des récepteurs muscariniques à la modulation des PPSEs trigéminaux par la RLM, l'expérience décrite ci-haut a été reprise cette fois-ci sous perfusion d'atropine ($10\mu\text{M}$) dans le bain, un antagoniste des récepteurs muscariniques. De plus, pour évaluer l'importance de la composante cholinergique dans l'effet obtenu sur les PPSEs trigéminaux par la stimulation de la RLM, l'expérience décrite ci-haut a été réalisée sous physostigmine ($100\mu\text{M}$), un inhibiteur de l'acetylcholinesterase. Toutes les drogues ont été achetées chez Sigma-Aldrich.

B- Analyse statistique

Les résultats sont exprimés sous la forme de moyenne \pm l'écart type. Pour évaluer la valeur statistique entre des moyennes, un test-t de Student a été utilisé. Toutes les analyses statistiques ont été faites en utilisant le logiciel Origin (OriginLab Corporation, Northampton, MA). La moyenne de l'aire sous la courbe des PPSEs trigéminaux avant la stimulation de la RLM est celle des 10 derniers PPSEs trigéminaux. Pour ce qui est de l'aire moyenne sous la courbe des PPSEs trigéminaux après la stimulation de la RLM, il s'agit de la moyenne de 10 PPSEs trigéminaux consécutifs au moment où la dépression de la réponse est la plus grande. Les deux groupes de PPSEs mesurés sont illustrés sur la figure 2B par deux rectangles gris. De plus, l'aire sous la courbe des PPSEs trigéminaux pour la composante hâtive des PPSEs trigéminaux a été calculée entre le début de la réponse et le sommet du PPSE (Fig. 1B, aire mesurée sous la courbe jusqu'à la barre verticale) alors que pour la composante tardive, elle a été calculée entre le sommet et le retour au potentiel de repos. L'amplitude des PPSEs trigéminaux a été mesurée entre le début de la réponse et le sommet du PPSE (Fig. 1B). * : $p < 0,05$; ** : $p < 0,01$; *** : $p < 0,001$

II- Anatomie :

A- Procédure :

Pour vérifier si les cellules RS et les cellules de relais de la voie trigémino-réticulaire possédaient des récepteurs muscariniques, nous avons fait une étude immunohistochimique contre les récepteurs muscariniques dans le tronc cérébral

de lamproies reproductrices (n=11). Les animaux ont été disséqués de la même manière que pour l'étude électrophysiologique. La préparation a été fixée par immersion dans une solution de paraformaldéhyde 2% / acide picrique 0.2 % vol/vol dans du tampon phosphate salin (PBS) 0.1 M pendant 6h à 4°C. Après une nuit de cryoprotection dans du sucrose 30%, le cerveau a été rapidement congelé à -55°C et coupé au cryostat (American Optical, Buffalo, NY). Des coupes transverses de 25µm d'épaisseur ont été montées sur des lames gélatinisées avant de procéder à la réaction immunohistochimique décrite ci-après. Après avoir rincé les lames au PBS, elles ont été traitées au peroxyde 0.3% / sodium azide 0.1% pendant 10 min à température de la pièce, afin de réduire l'activité des peroxydases endogènes. Ensuite, les sections ont été préincubées en présence de sérum de lapin normal (SLN) 5% et de Triton X-100 0.4% dans du PBS pendant 60 minutes à température ambiante. Puis l'anticorps primaire M35 dilué entre 1 :100 et 1 :200 dans du SLN 1% et du triton 0,1% / PBS a été appliqué pendant 20h à 4°C. L'anticorps monoclonal M35 reconnaît spécifiquement les 5 types de récepteurs muscariniques m1-m5 (Argene Inc., N. Massapequa, NY). Enfin, les sections ont été incubées en présence d'un anticorps biotinylé de lapin contre la souris dilué 1 :100 dans du SLN 1% et du triton 0,1% / PBS pendant 1 heure à température ambiante. Le kit ABC Elite Vectastain (Vector), dilué comme indiqué par le fabricant dans du PBS, a été appliqué pendant 1h à température de la pièce afin d'amplifier le signal. Le marquage immunohistochimique a été révélé en présence de tétrahydrochlorure de 3,3'-Diaminobenzidine (DAB) 0,05% dans du tampon Tris-HCl salin (0.9% NaCl) pH 7.6, pendant 5 et 8 minutes.

Entre chaque étape, les lames ont été rincées trois fois 10 minutes dans du PBS. Les coupes sur lames ont ensuite été déshydratées dans des concentrations croissantes d'alcool (de 50% à 100%) et clarifiées dans du xylène pour finalement être montées avec de l'Entellan.

B- Analyse

Les photomicrographies des coupes ont été prises à l'aide d'une caméra digitale Nikon (DXM1200) reliée à un microscope Nikon (Eclipse E600). Le traitement des images a été fait grâce au logiciel Nikon ACT-1 et à Corel Draw 11 (Corel Corp., Ottawa, ON).

Résultats

I- Les réponses synaptiques des cellules RS suite à une stimulation du nerf trijumeau ou de la RLM

La stimulation du nerf trijumeau à faible intensité produit une réponse synaptique excitatrice (PPSE) dans les cellules RS (figure 1B) qui a été observée dans les 199 cellules enregistrées. Les cellules qui ont servi à quantifier les PPSEs trigéminaux sont celles pour lesquelles la stimulation de la MLR a produit un effet, ce qui représente 15 cellules sur 199 comme expliqué ultérieurement. Cette réponse possède une courte latence ($4,4\text{ms} \pm 0,3\text{ms}$; $n=15$) tout en ayant une durée de plusieurs centaines de millisecondes ($763,4\text{ms} \pm 72,6\text{ms}$; $n=15$) et une amplitude qui varie de 4,3 à 16,8 mV (pour une moyenne de $7,7\text{ mV} \pm 0,8\text{ mV}$; $n=15$) (Fig. 1B). Les PPSEs induits par la stimulation du nerf trijumeau dans les cellules RS seront nommés PPSEs trigéminaux. Ces réponses ont une composante hâtive et une composante tardive. Pour les PPSEs trigéminaux enregistrés en condition témoin, la composante hâtive, mesurée entre le début de la réponse et le sommet du PPSE (voir fig. 1B), représente 12 % de l'aire totale des PPSEs trigéminaux ($11,8\% \pm 1,2\%$, $n=15$) et dure en moyenne 33 ms ($33,0 \pm 5,7\text{ms}$, $n=15$). La composante tardive, mesurée entre le sommet et le retour au potentiel de repos, représente 88 % de l'aire ($87,9\% \pm 1,1\%$, $n=15$) et dure en moyenne 737 ms ($736,9 \pm 71,6\text{ ms}$, $n=15$).

La stimulation de la RLM évoque des réponses synaptiques excitatrices dans les cellules RS, qui ont une très courte latence ($1,7 \pm 0,1$ ms, $n=3$). Lors d'une stimulation répétée de la RLM (5-10Hz, 1-4 μ A), l'amplitude des réponses augmente graduellement jusqu'à l'atteinte d'un plateau. Les expériences étant enregistrées en mode oscilloscope, il n'y a eu que 3 essais dans 3 cellules différentes pour lesquelles le balayage a commencé en même temps que le début de la stimulation de la RLM. Ainsi, pour la première cellule (figure 1C), il y a une augmentation de l'amplitude des PPSEs induits par la RLM de 79,8% entre le premier et le deuxième PPSE et de 63,4% entre le deuxième et le troisième PPSE. Pour la seconde cellule, il y a une augmentation de l'amplitude des PPSEs induits par la RLM de 27,9% entre le premier et le deuxième PPSE et de 43,1 % entre le deuxième et le troisième PPSE. Finalement, pour la troisième cellule, il y a une augmentation de l'amplitude des PPSEs induits par la RLM de 60,4% entre le premier et le deuxième PPSE, de 15,4% entre le deuxième et le troisième PPSE et de 16,2% entre le troisième et le quatrième PPSE. Lorsque le seuil est atteint, des bouffées de potentiels d'action ($47,8\text{Hz} \pm 3,9\text{Hz}$, $n=5$) apparaissent accompagnées d'une dépolarisation ($+16,9 \text{ mV} \pm 2,4\text{mV}$, $n=5$) sous-jacente de la cellule. Pour bien positionner l'électrode de stimulation dans la RLM, l'approche initiale vers le site s'est faite en s'appuyant sur les données anatomiques de Sirota et al. (2000) et de Le Ray et al. (2003). L'approche finale a été réalisée en fonction de l'effet dépolarisant de la stimulation répétée de la RLM, de l'augmentation progressive de l'amplitude des PPSEs et de l'apparition de bouffées de potentiels d'action.

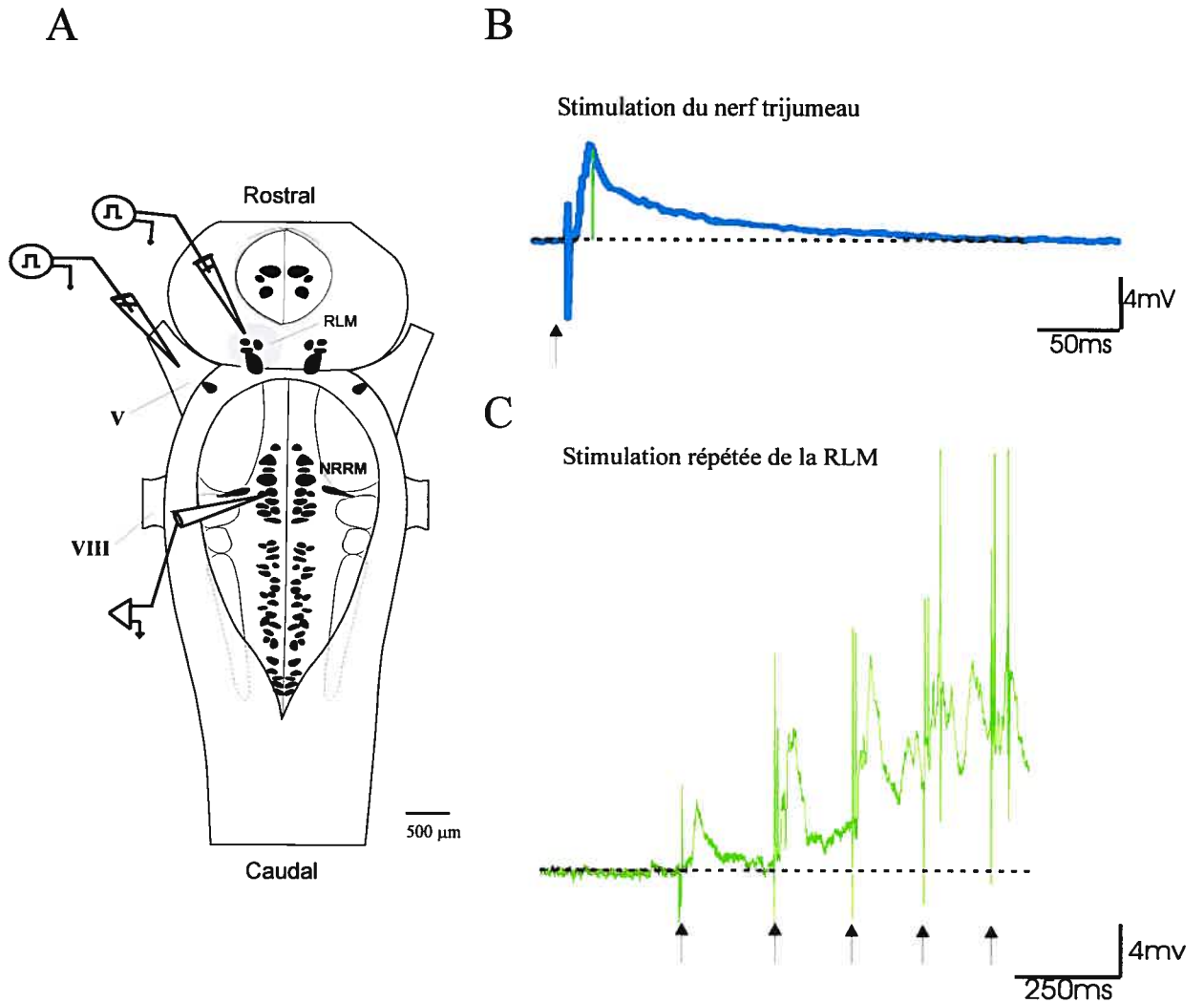


Fig 1: Enregistrements de réponses synaptiques d'une cellule RS suite à des stimulations du nerf trijumeau ou de la RLM

A: Vue dorsale du tronc cérébral montrant l'emplacement des électrodes de stimulation du nerf trijumeau et de la RLM ainsi que l'électrode d'enregistrement dans les cellules RS du RNNM. B,C : Traces brutes illustrant une réponse synaptique typique d'une cellule RS à une stimulation du trijumeau (PPSEs trigéminaux) et à une stimulation répétée de la RLM. \uparrow : stimulation V: nerf trijumeau VIII: nerf vestibulaire.

II- Effet de la stimulation de la RLM sur les PPSEs trigéminaux induits dans les cellules RS du NRRM

Pour voir l'effet de la stimulation de la RLM sur les PPSEs trigéminaux, le nerf trijumeau (Fig. 1A) a été stimulé chaque 10 s (5-10 μ A) pendant 5 minutes (condition témoin) avant de stimuler la RLM pendant 40 s (1-4 μ A, 5-10 Hz). Par la suite, le nerf trijumeau a été stimulé avec les mêmes paramètres que pour la condition témoin jusqu'à la récupération complète de l'aire des PPSEs trigéminaux. Sur 199 cellules qui ont été empalées, 158 n'ont pas pu être prises en compte car soit la stimulation n'était pas exactement dans la RLM (n=66), soit que leur potentiel membranaire n'est jamais revenu au potentiel de repos (n=45) ou que l'enregistrement a pris fin suite à la stimulation de la RLM (n= 47). Parmi les 41 cellules restantes, il a été possible d'observer une dépression des PPSEs trigéminaux suite à la stimulation de la RLM dans 15 de ces cellules (17 essais) tandis que pour les 26 dernières, il n'y a eu aucun effet.

Ces 17 essais peuvent être scindés en deux groupes : ceux pour lesquels il y a un délai entre la fin de la stimulation de la RLM et le début de la dépression des PPSEs trigéminaux (10 essais) et ceux pour lesquels il n'y a pas eu de délai (7 essais). Quand il y a eu un délai (d'une durée moyenne de $167,8 \pm 30,6$ s, n=10), dans la majorité des essais, il y a eu une diminution lente de la taille des PPSEs trigéminaux (6 essais, Fig. 2B), dans d'autres, la cellule était encore excitée

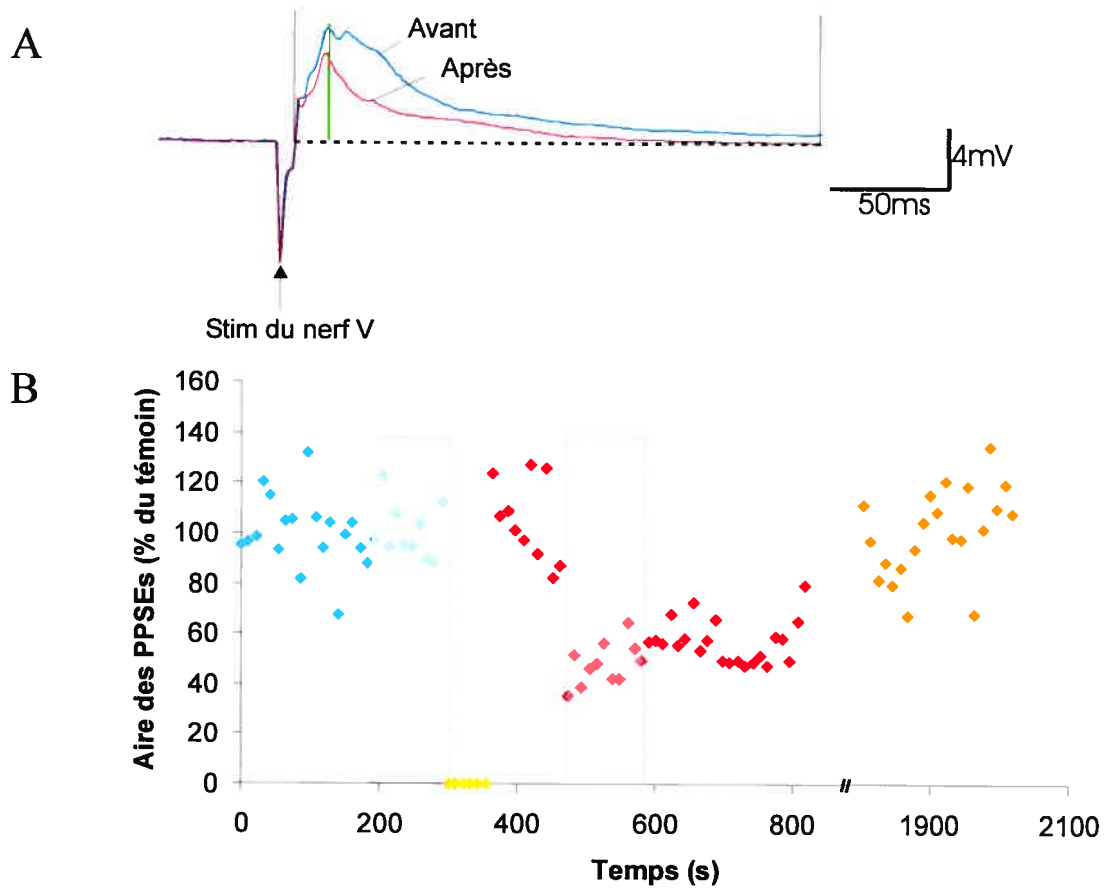


Figure 2: Effet de la stimulation de la RLM sur les PPSEs trigéminaux des cellules RS

A : Traces moyennes des PPSEs trigéminaux (n=10) d'une cellule RS avant (BLEU) et après (ROUGE) avoir stimulé la RLM. B : Décours temporel de l'aire des PPSEs trigéminaux avant et après la stimulation de la RLM. La période de stimulation de la RLM est indiquée en jaune sur l'axe des X. Il y a une coupure dans l'axe du temps d'une durée de 15 minutes. Les rectangles gris représentent les groupes de PPSEs trigéminaux mesurés pour faire les traces moyennes en A.

(alternance de petits et de grand PPSEs, Fig. 5A, 3 essais) et dans 1 essai, il s'est produit une légère augmentation de l'amplitude des PPSEs trigéminaux. De manière générale, immédiatement après la stimulation de la RLM (7 essais) ou après un certain délai (10 essais), il y a une diminution significative (t-test: $p < 0.001$, $n=17$) de l'aire sous la courbe des PPSEs trigéminaux de $31,8 \% \pm 3,7\%$ par rapport au témoin (Fig. 2B, 3A,B). La figure 3B illustre la répartition des réponses en fonction du pourcentage de réduction des PPSEs trigéminaux suite à la stimulation de la RLM. Dans 3 essais, il y a une diminution de la réponse de 11 à 20%, dans 8 essais, il y a une diminution de 21 à 30%, et dans 2 essais, il y a une diminution de 31 à 40%. De plus, il y a 1 essai pour lequel l'effet est de 41 à 50 %, 1 essai entre 51 et 60% et 2 essais entre 61 et 70 % (Fig. 3B).

La durée moyenne de la dépression des PPSEs trigéminaux suite à la stimulation de la RLM est de $9,4 \pm 1,8$ min ($n=17$) (Fig. 4) ce qui correspond au temps nécessaire pour revenir aux valeurs moyennes de l'aire sous la courbe des PPSEs trigéminaux du témoin. Pour 6 essais sur 17, l'effet dure de 3 à 6 minutes. De même que pour 5 essais, l'effet dure de 6 à 9 minutes, pour 1 essai de 9 à 12 minutes, pour deux autres essais de 12 à 15 minutes et finalement, pour 3 essais plus de 18 minutes (Fig. 4). La stimulation de la RLM provoque aussi une diminution significative (t-test : $p < 0,001$; $n=17$) de l'amplitude des PPSEs trigéminaux de $19,5 \pm 4,1\%$ par rapport au témoin.

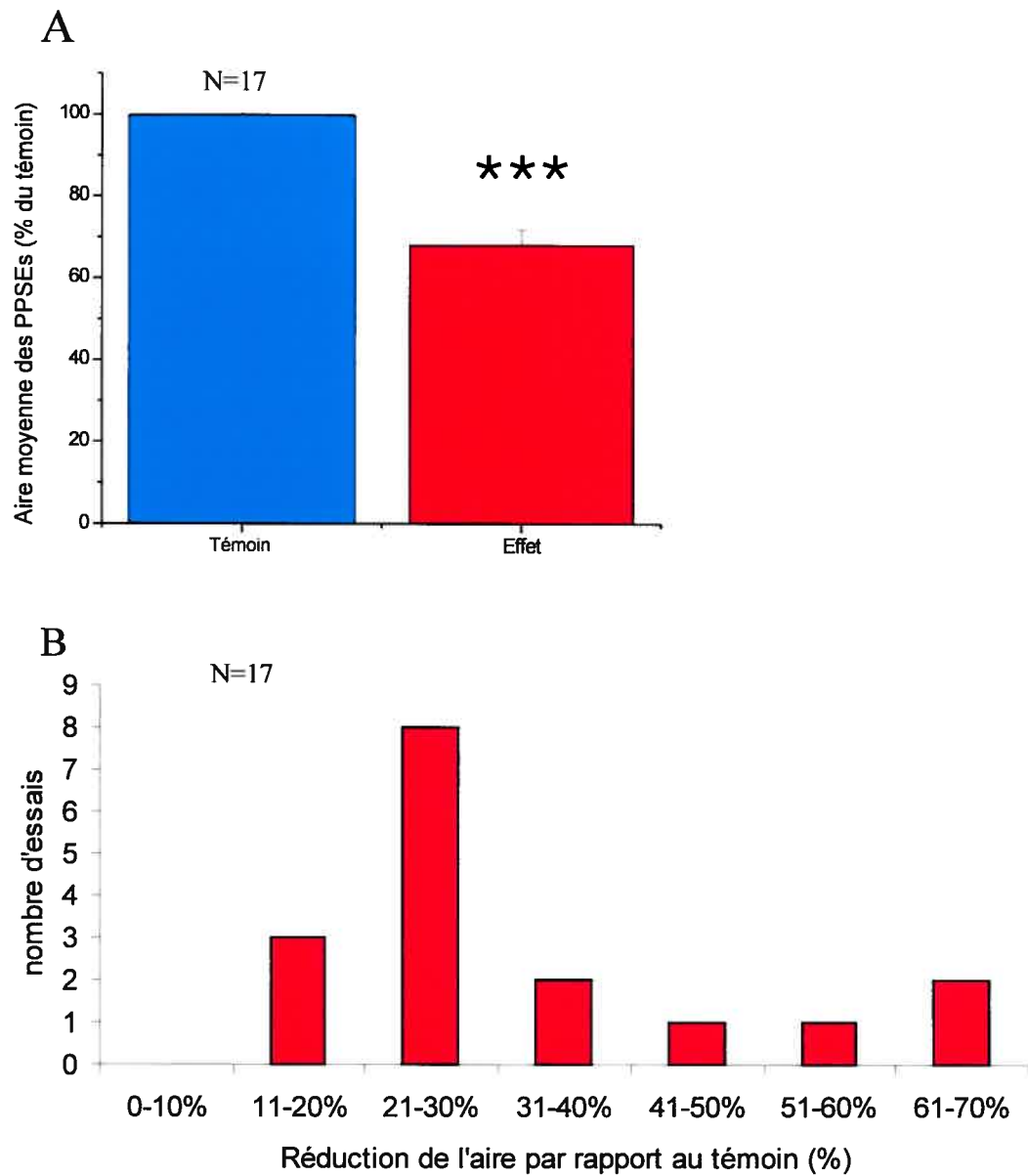


Fig 3: Effet de la stimulation de la RLM sur les PPSEs trigéminaux des cellules RS

A : Histogrammes illustrant l'aire moyenne des PPSEs trigéminaux dans les cellules RS du MRRN avant (Témoin) et après (Effet) la stimulation de la RLM (17 essais). Les aires avant la stimulation de la RLM ont été considérées comme 100% (valeurs normalisées pour chaque animal). B : Histogrammes illustrant la distribution des 17 essais selon l'importance de la réduction (en % par rapport au témoin) de la réponse synaptique suite à la stimulation de la RLM.

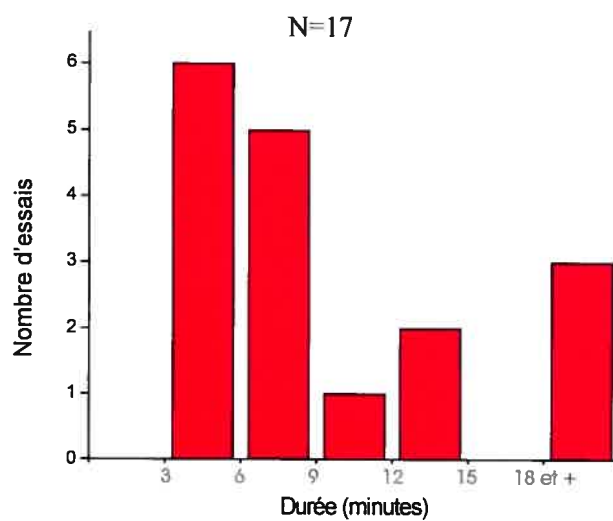


Fig 4: Durée de l'effet de la stimulation de la RLM sur les PPSEs trigéminaux des cellules RS

Histogramme illustrant la durée (min) de l'effet de la stimulation de la MLR sur les PPSEs trigéminaux dans les cellules RS pour les 17 essais.

Comme vu précédemment, les PPSEs trigéminaux induits dans les cellules RS ont une composante hâtive et une composante tardive. La stimulation de la RLM a un effet significatif sur les deux composantes de la réponse : la composante hâtive diminue de $19,2 \pm 2,9\%$ (t-test : $p < 0.001$, $n=15$, Fig. 2 A) et la composante tardive de $30,3 \pm 4,9\%$ (t-test : $p < 0.001$, $n=15$). L'effet est plus grand sur la composante tardive que sur la composante rapide (t-test : $p < 0.05$).

III- Effet de l'atropine sur la dépression des PPSEs trigéminaux induite par la stimulation de la RLM

Pour déterminer si l'effet de la RLM sur les PPSEs trigéminaux est lié aux récepteurs muscariniques, la même expérience a été réalisée sous perfusion d'atropine, un antagoniste des récepteurs muscariniques. Dans 3 des 17 essais, durant lesquels il y a eu une dépression des réponses synaptiques suite à la stimulation de la RLM et un retour à la normale, de l'atropine ($10\mu\text{M}$) a été perfusée dans le bain. La figure 5A montre la trace moyenne des PPSEs trigéminaux dans une cellule RS du NRRM avant et après la stimulation de la RLM, lorsque la préparation est perfusée avec du Ringer. Dans ces conditions témoin, il y a une dépression significative (t-test : $p < 0.01$, $n=3$) de l'aire des PPSEs trigéminaux de $34,2\% \pm 4,4\%$ par rapport au témoin (Fig. 5A1,2).

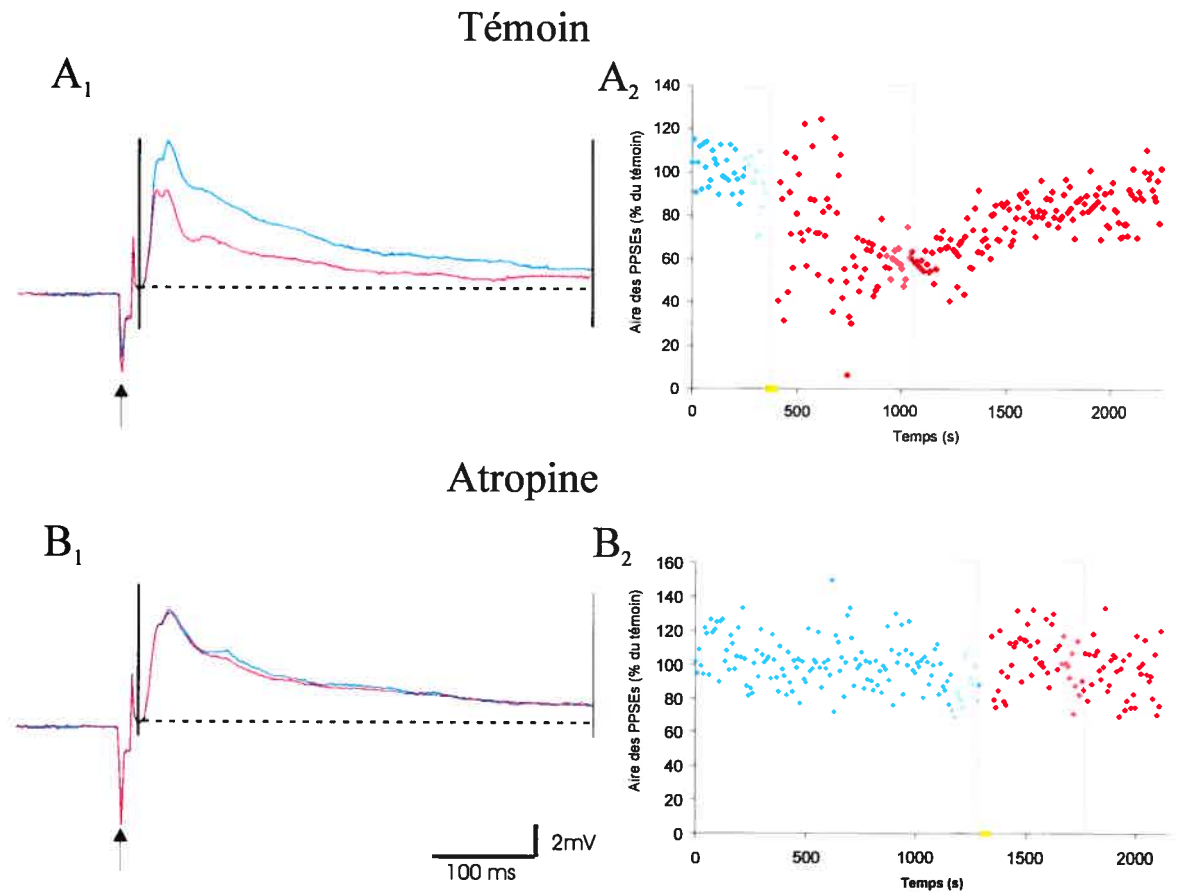


Figure 5: Effet de la perfusion d'atropine sur la dépression des PPSEs trigéminaux observée dans les cellules RS suite à la stimulation de la RLM

A₁ : Traces moyennes des PPSEs trigéminaux (n=10) dans une cellule RS avant (BLEU) et après (ROUGE) la stimulation de la RLM en condition témoin c'est à dire avant l'application d'atropine. A₂ : décours temporel de l'aire des PPSEs avant et après la stimulation de la RLM. B : Comme pour A mais après perfusion d'atropine dans le bain. L'atropine prévient la dépression des PPSEs suite à la stimulation de la RLM.

D'autre part, la comparaison de la taille des PPSEs trigéminaux avant la stimulation de la RLM, sous perfusion de Ringer et sous atropine, a permis de mettre en évidence une augmentation significative (t-test : $p < 0,001$) de l'aire sous la courbe des PPSEs trigéminaux sous atropine de $31,9\% \pm 2,2\%$ dans une des trois cellules enregistrées. Pour les deux autres cellules, l'effet n'est pas significatif (t-test : $p > 0,05$).

Sous perfusion de cette drogue (Figure 5B1,2), la réduction des PPSEs trigéminaux par la RLM est abolie (t-test : $p > 0,05$, donc non significatif, il y a une diminution de $11,6\% \pm 5,54\%$ de l'aire des PPSEs sous atropine comparativement au conditions témoin, $n=3$). En bloquant les récepteurs muscariniques avec l'atropine, il n'y a plus de dépression des PPSEs trigéminaux par la RLM. Ainsi, les récepteurs muscariniques seraient impliqués dans l'effet de la RLM sur les PPSEs trigéminaux dans les cellules RS.

IV- Effet de la physostigmine sur la dépression des PPSEs trigéminaux induite par la stimulation de la RLM

Afin d'évaluer l'importance de la composante cholinergique dans la dépression des PPSEs trigéminaux par la RLM, la physostigmine, un inhibiteur de l'acétylcholinestérase, a été utilisée. Les effets de cette drogue n'ont pu être testés que dans deux cellules sur deux animaux différents. Lors de la perfusion de physostigmine, les enregistrements deviennent assez instables. Ainsi, pour 4

cellules, les enregistrements ont pris fin aussitôt après la stimulation de la RLM, avant même de pouvoir voir l'effet de cette dernière sur les réponses, et 3 cellules sont restées dépolarisées. Pour la première cellule (Figure 6A1,2), dans les conditions témoin sous perfusion de Ringer, il y a eu une légère dépression (t-test : $p < 0,01$) des réponses synaptiques de $15,3 \pm 3,6\%$ suite à la stimulation de la RLM et pour la seconde, il n'y a eu aucun effet suite à la stimulation de la RLM (t-test : $p > 0,05$, donc non significatif; hausse de $1,8\% \pm 0,8\%$).

En comparant l'aire sous la courbe des PPSEs trigéminaux du témoin avant la perfusion de physostigmine et sous physostigmine ($100\mu\text{M}$), une augmentation significativement (t-test : $p < 0,001$) de l'aire des PPSEs trigéminaux est mesurée pour la première cellule qui est de $95,7 \pm 4,8\%$ entre ces deux conditions. Ce n'est pas cependant le cas pour la deuxième cellule. Sous perfusion de physostigmine ($100\mu\text{M}$), pour la première cellule (Figure 6B1,2), la dépression des PPSEs trigéminaux induite par la RLM est significativement plus grande (t-test : $p < 0,001$). Il y a donc une diminution de $36,2\% \pm 4,4\%$ de l'aire des PPSEs trigéminaux sous physostigmine comparativement au témoin. De même, pour la deuxième cellule, il y a eu apparition d'une dépression significative (t-test : $p < 0,001$) des PPSEs trigéminaux de $26,0\% \pm 1,8\%$ sous physostigmine comparativement au témoin. Les deux cellules n'ont pas pu être enregistrées assez longtemps pour voir disparaître l'effet car l'enregistrement s'est terminé abruptement quelques minutes suite à la stimulation de la RLM. Ces résultats

préliminaires indiquent que la physostigmine pourrait potentialiser et même induire la dépression des PPSEs trigéminaux suite à la stimulation de la RLM.

V- L'immunohistochimie contre les récepteurs muscariniques

En stimulant la RLM, une dépression des PPSEs trigéminaux a été obtenue. Ensuite, grâce à la perfusion d'atropine, il a été possible de montrer que l'effet induit par la stimulation de la RLM était relié aux récepteurs muscariniques. Pour déterminer si de tels récepteurs étaient présents sur les cellules RS ou sur les cellules du dV qui servent de relais pour l'input trigéminal vers les cellules RS (Viana Di Prisco et al. non publié), une technique immunohistochimique s'est révélée nécessaire. Cette technique a été utilisée sur des lamproies adultes, *Petromyzon marinus* (n=11). Sur 6 de ces animaux, nous avons obtenu un marquage dense et spécifique. Les descriptions qui suivent portent spécifiquement sur les cellules RS elles-mêmes, ainsi que sur les neurones présents dans le dV. Il est à noter que d'autres populations neuronales au sein du tronc cérébral sont marquées.

A- Les cellules RS

Des cellules ont été marquées à différents niveaux du mésencéphale et du rhombencéphale et sont illustrées ici sur des photomicrographies de coupes transversales de tronc cérébral dont l'emplacement rostro-caudal est représenté sur le schéma de la figure 7A. Des cellules RS de chacun des noyaux de la

A

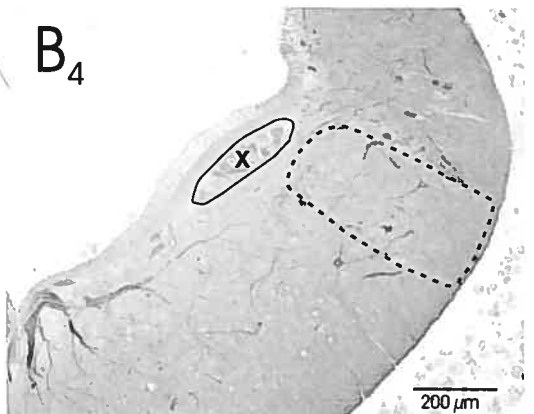
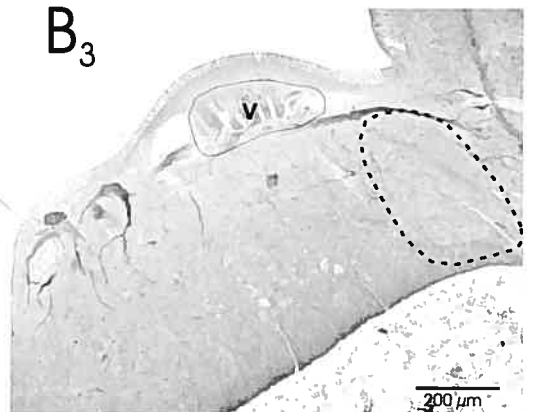
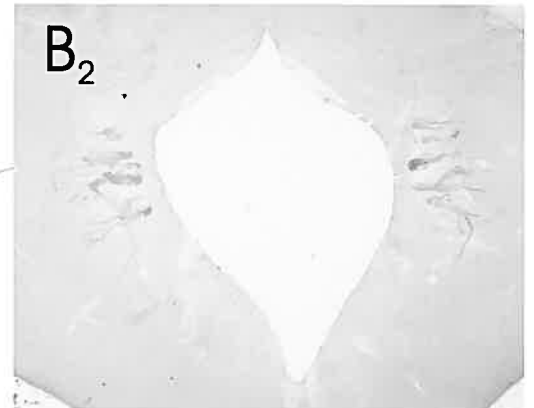
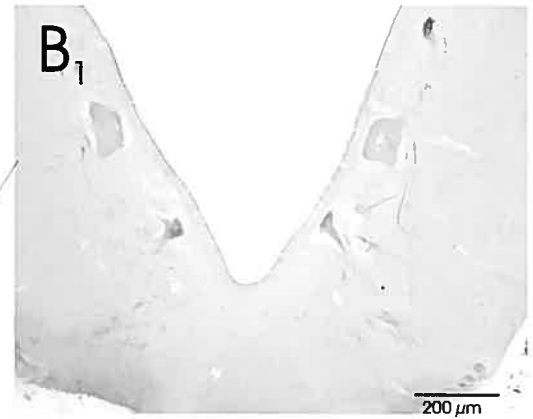
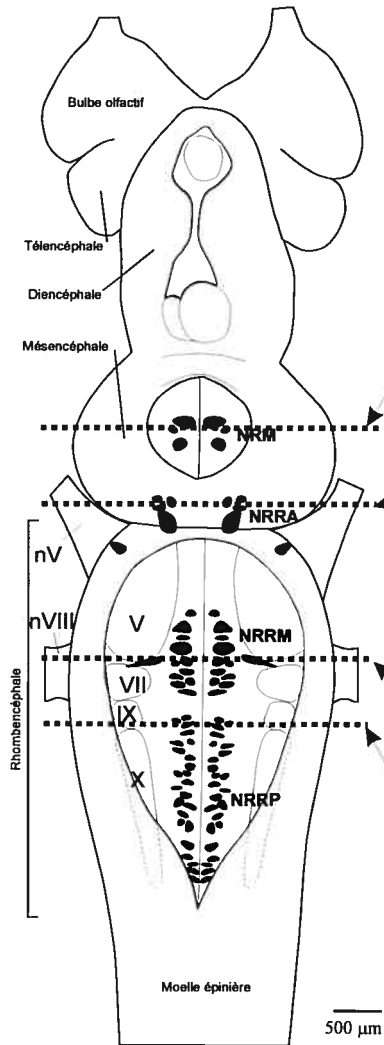


Figure 7: Immunoréactivité pour les récepteurs muscariniques dans diverses populations neuronales du tronc cérébral

A: Schéma du cerveau de lamproie qui indique la position des coupes histologiques. À titre de points de repères, les nerfs crâniens (nV et nVIII) et les noyaux moteurs (V, VII, IX et X) y sont représentés. B: Photomicrographies de coupes transverse au niveau du NRM(B₁), du NRRR(B₂), du NRRM(B₃) et du NRRP(B₄) sur lesquelles des cellules RS montrent une immunoréactivité pour les récepteurs muscariniques. Le dV est entouré de pointillés.

formation réticulée sont marquées (Fig. 7B1 : le NRM; Fig. 7B2 : l'NRRA; Fig. 7B3 : le NRRM et Fig. 7B4 : le NRRP) comme il est possible de voir sur les photomicrographies de faible grossissement de coupes transversales, dont certaines sont photographiées à plus fort grossissement dans d'autres figures (Fig. 7B3 : Fig. 8A1; Fig. 7B4 : Fig.9 B1).

Au niveau du NRRM (Fig. 8 A1 et A2), les grosses cellules RS, incluant les cellules de Mauthner, et leurs dendrites proximaux sont très bien marquées (Fig. 7B3, 8A1,2). De plus petites cellules situées plus dorsalement et latéralement comparativement aux cellules RS sont aussi bien marquées. Dans un animal, une évaluation sommaire de la taille des cellules a été faite en mesurant le diamètre le plus long des cellules marquées pour les différents noyaux de la formation réticulée. Des cellules aussi petites que $10\mu\text{m}$ allant jusqu'à de grosses cellules de $175\mu\text{m}$ sont marquées dans le NRRM. Dans ce noyau, la grande majorité des cellules RS sont marquées et ce, de la partie la plus rostrale du NRRM jusqu'à la partie la plus caudale dans 6 animaux. Ces résultats démontrent bien la présence de récepteurs muscariniques sur les cellules RS du NRRM.

De même, au niveau du NRRP, de nombreuses cellules RS sont marquées au niveau du noyau moteur du X et du IX et ce, aussi bien les grosses cellules multipolaires que les petites bipolaires (Fig. 7B4, 8A1,2). Leurs dendrites proximaux sont très bien marqués tant dans le tegmentum ventral que latéral (Fig. 8A1,2). Certaines des cellules marquées du NRRP ont une diamètre aussi petit

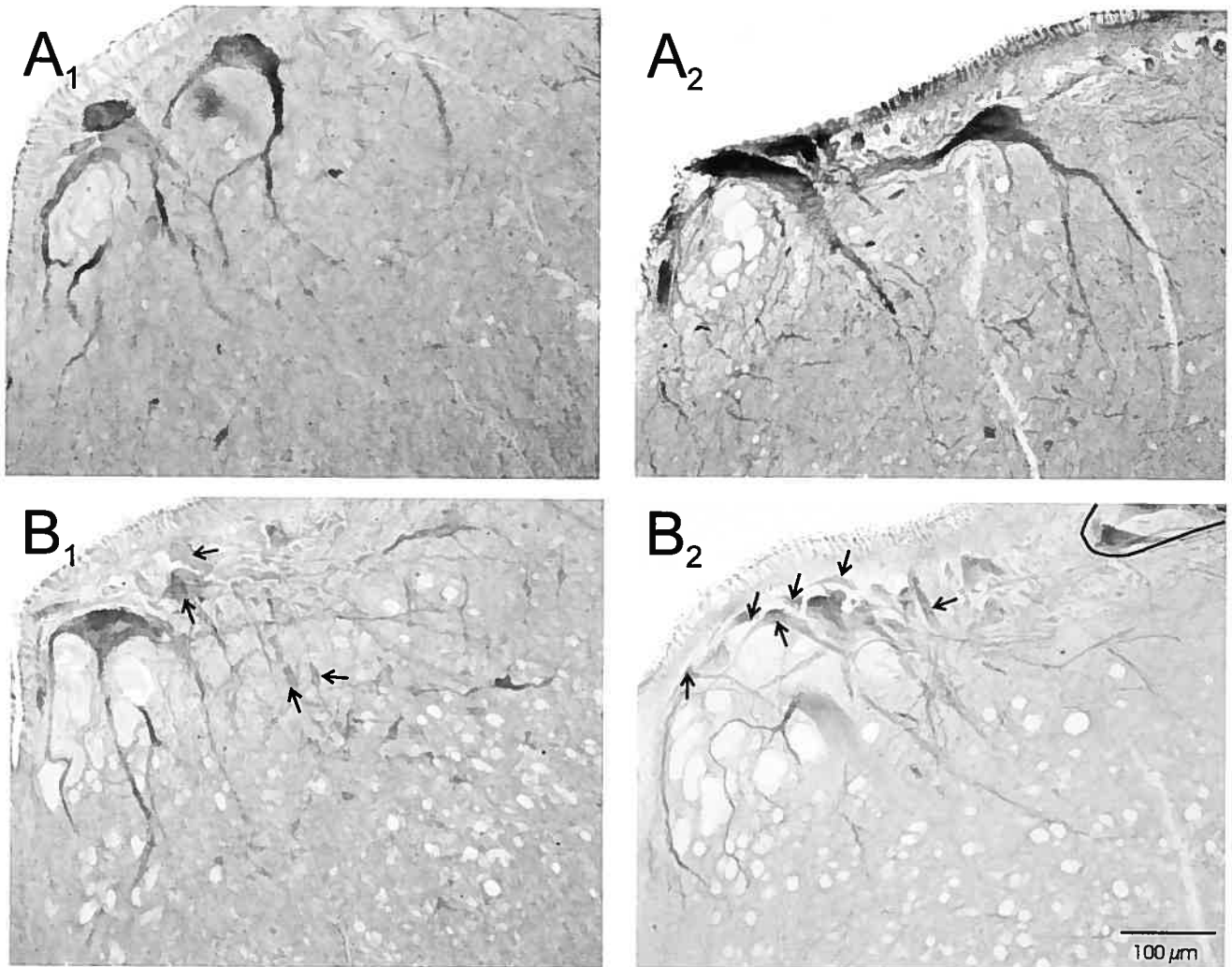
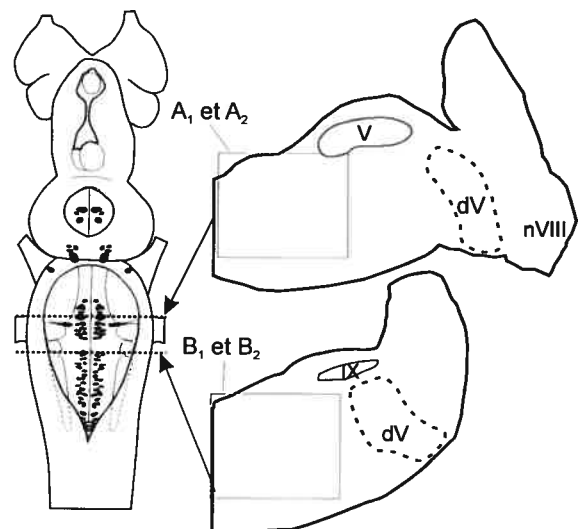


FIGURE 8: Immunoréactivité pour les récepteurs muscariniques des cellules RS du NRRM et du NRRP

A: Photomicrographies de coupes transverses au niveau du noyau moteur V montrant en A₁ et A₂ de grosses cellules du NRRM et leurs dendrites proximaux. Voir schéma pour localisation dans le tronc cérébral.

B: Photomicrographies de coupes transverses au niveau du noyau moteur IX montrant en B₁, une grosse cellule du NRRP et ses dendrites proximaux, de même que des petites cellules RS (flèches) et en B₂, de petites cellules du NRRP (flèches).



que 12 μm alors que les plus grosses atteignent 120 μm . La majorité des cellules RS du NRRP sont marquées et ce dans les 6 animaux où nous avons obtenu un beau marquage.

Comme on peut le voir sur la figure 7B2, au niveau de l'NRRA, à la frontière entre le mésencéphale et le rhombencéphale, la grande majorité des cellules RS, tant les grosses cellules que les plus petites sont très bien marquées avec leurs dendrites proximaux. Au niveau du NRM (Fig. 7B1), dans le mésencéphale, les cellules RS sont marquées de même que leurs dendrites proximaux qui s'étendent latéralement et ventralement.

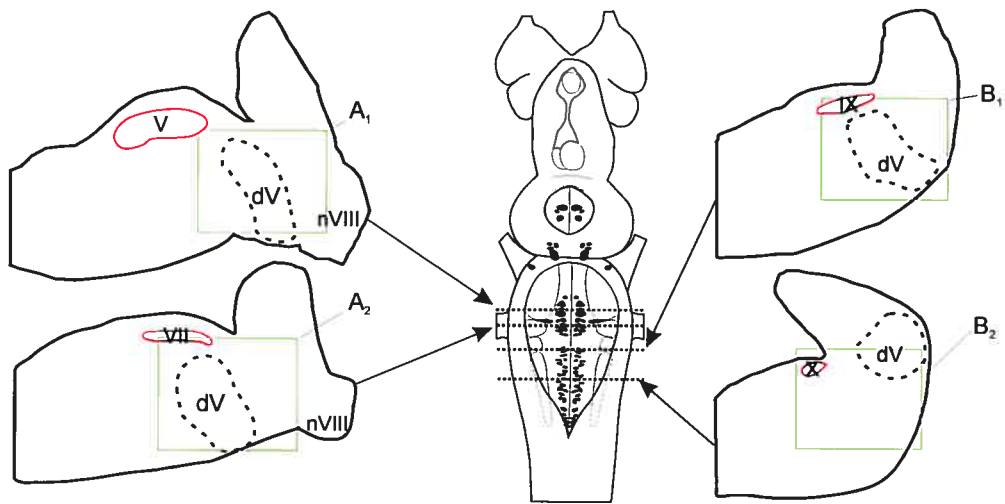
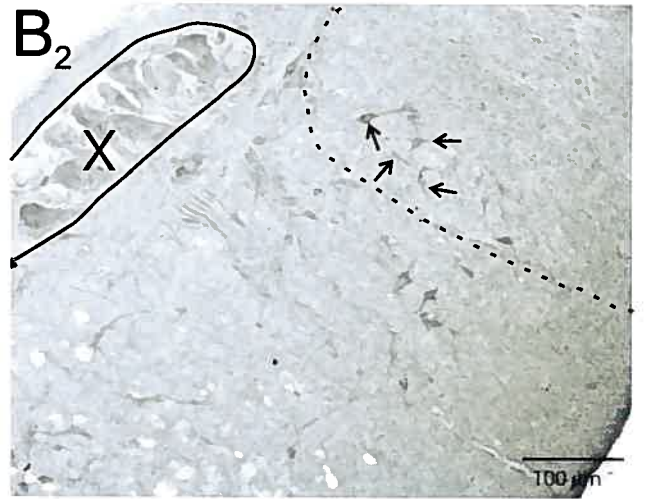
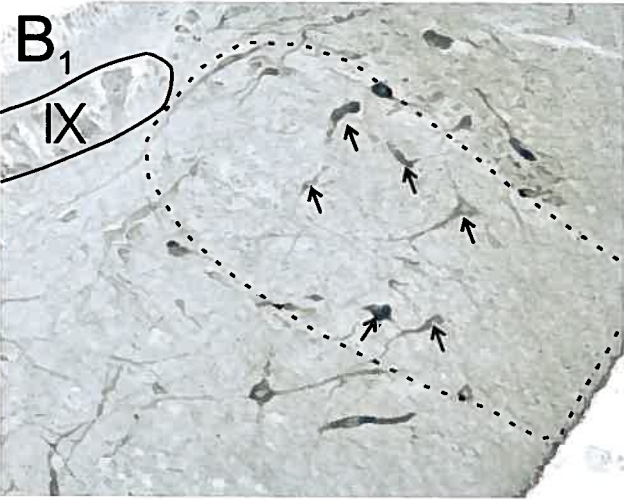
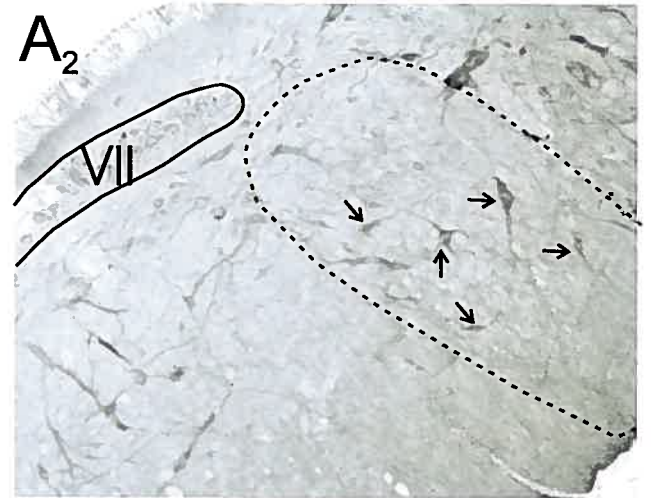
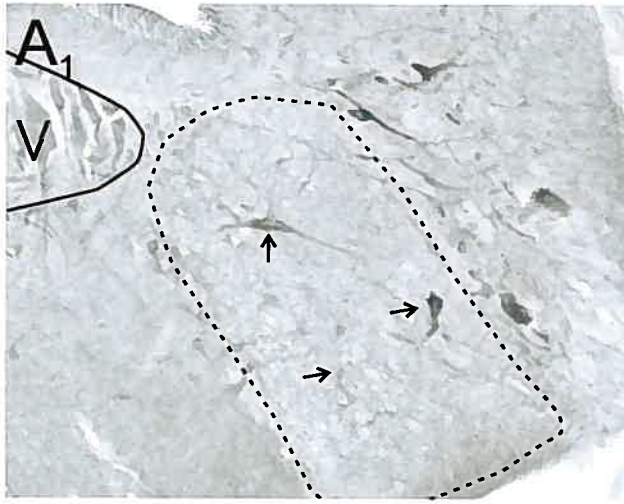
B- Les cellules du dV

Dans le dV (en pointillé sur les coupes; Figs 7, 8 et 9), des cellules sont marquées à différents niveaux rostro-caudaux le long du rhombencéphale. Comme points de repères additionnels, les noyaux moteurs ont été identifiés sur les coupes transversales (entourés d'une ligne pleine; Figs 7, 8 et 9) et la ligne médiane est toujours située à gauche sur les photomicrographies.

À des niveaux rostro-caudaux recoupant le NRRM, le dV compte de nombreuses cellules (flèches, Fig. 9) de différentes morphologies et de différentes tailles. Il y a des cellules bipolaires et multipolaires avec des diamètres allant de 7 μm à 40 μm . Ces dernières se retrouvent tant au niveau du noyau moteur du V

FIGURE 9: Immunoréactivité pour les récepteurs muscariniques de certaines cellules de relais trigéminales aux niveaux du NRRM (noyaux moteurs V et VII) et du NRRP (noyaux moteurs X et IX)

A: Photomicrographies de coupes transverses au niveau du NRRM montrant en A_1 , des cellules marquées (flèches) dans le dV (en pointillés) au niveau du noyau moteur V et en A_2 , des cellules marquées (flèches) dans le dV (en pointillés) au niveau du noyau moteur VII. **B:** Photomicrographies d'une coupe transverse au niveau du NRRP montrant en B_1 , des cellules marquées (flèches) dans le dV (en pointillés) au niveau du noyau moteur IX et en B_2 , des cellules marquées (flèches) dans le dV (en pointillés) au niveau du noyau moteur X. Dans tous les cas, se référer aux schémas en bas de la page pour la localisation dans le tronc cérébral.



(Fig. 9A1) que du noyau moteur du VII (Fig. 9A2). La majorité des cellules marquées dans le dV se situent à des niveaux rostro-caudaux correspondant à l'entrée du nVIII. Les premières observations permettent d'émettre l'hypothèse qu'il y a deux groupes de cellules dans le dV, de petites cellules qui ont un diamètre entre 10 et 15 μm et un second groupe de cellules qui ont des diamètres entre 20 et 25 μm . Dans ces deux groupes, des cellules bipolaires et multipolaires sont observées. Dans 6 animaux différents, une forte densité de cellules marquées se retrouvent dans le dV au niveau du nVIII.

Au niveau du NRRP (Fig. 9B), il y a une grande variété de petites cellules marquées dans le dV qui peuvent être multipolaires ou bipolaires allant de 8 μm à 17 μm de diamètre. Au niveau de ce noyau réticulé, de nombreuses cellules sont marquées dans le dV (flèches) (Fig. 9B1,2) avec une plus forte concentration au niveau du noyau moteur du IX (Fig.9B1).

Ces résultats préliminaires permettent de dire que les cellules RS du NRRM et du NRRP ainsi que des cellules dans le dV aux mêmes niveaux rostro-caudaux que ces deux noyaux de la formation réticulée pouvant servir d'interneurones de relais du trijumeau, possèdent des récepteurs muscariniques.

Discussion

L'objectif général de ce projet était d'étudier la modulation de la transmission sensorielle aux cellules RS de la lamproie par la RLM. Notre attention s'est portée sur l'input trigéminal qui, comme les autres inputs sensoriels de la lamproie connus à ce jour, atteint les cellules RS par une voie disynaptique (Rovainen 1979; Le Ray et al., 2004, Viana Di Prisco et al., non publié). Nous avons pu observer que suite à la stimulation de la RLM, il y eu une dépression significative des PPSEs trigéminaux, que se soit la partie hâtive ou tardive de chaque réponse synaptique et ce pendant plusieurs minutes. La perfusion d'un antagoniste muscarinique bloque l'effet de la RLM sur les PPSEs trigéminaux. Ainsi, les récepteurs muscariniques pourraient être impliqués dans cet effet. Des résultats préliminaires montrent que la perfusion d'un inhibiteur de l'acétylcholinestérase provoque une amplification de la dépression des PPSEs trigéminaux par la RLM et donc suggèrent que notre effet pourrait être lié à l'acétylcholine libéré de manière endogène par la RLM. D'autre part, des expériences anatomiques préliminaires ont révélé la présence de récepteurs muscariniques sur les cellules RS de même que sur de petites cellules dans le dV que l'on croit être des interneurons de relais de la voie trigémino-réticulaire. Il s'agit maintenant de voir comment les résultats que nous avons obtenus se situent par rapport à ceux des auteurs qui ont abordé cette problématique.

I- L'effet de la stimulation de la RLM sur les PPSEs trigéminaux enregistrés dans les cellules RS du NRRM

A- Rôle des récepteurs muscariniques

La stimulation répétée de la RLM provoque une diminution de l'aire des PPSEs trigéminaux de même qu'une légère baisse de leur l'amplitude. Dans les trois cellules étudiées, cette dépression des réponses synaptiques n'est pas présente lorsque l'expérience se déroule sous perfusion d'atropine. Ainsi, les récepteurs muscariniques pourraient être impliqués dans cet effet de la RLM sur les PPSEs trigéminaux. Le rôle possible des récepteurs muscariniques dans la modulation des inputs sensoriels glutamatergiques a déjà été mis en évidence, par exemple, chez le rat dans la modulation des réponses sensorielles des motoneurones (Jiang et Dun 1986, Bellingham et Berger 1996) et des cellules réticulées thalamiques (Marks et Roffwarg 1991). Nos résultats sont donc en accord avec ceux de l'étude de Le Ray et al. (2004), qui a servi de base à notre investigation. Ces auteurs ont stimulé le nerf du trijumeau et enregistré des PPSEs trigéminaux dans les cellules RS du NRRM. Lorsque de l'acétylcholine est éjectée sur la cellule enregistrée, ils ont observé une diminution significative de l'aire sous la courbe des PPSEs et une légère diminution de l'amplitude des réponses sans changer pour autant les propriétés membranaires, donc un effet très semblable à celui que nous avons obtenu par la stimulation de la RLM. De même en éjectant de la pilocarpine, un agoniste muscarinique, le même effet s'est produit, ce qui suggère aussi que les récepteurs muscariniques sont impliqués dans cet effet (Le Ray et

al., 2004). De plus, sous perfusion d'atropine, ils n'ont pas obtenu de dépression des PPSEs trigéminaux mais plutôt une augmentation significative des réponses synaptiques. Pour notre part, nous n'avons observé une augmentation significative de l'aire des PPSEs trigéminaux sous atropine que dans une cellule. Étant donné le nombre insuffisant d'expériences pour pouvoir conclure, nos résultats ne font qu'appuyer ceux de Le Ray et al. (2004) dans le fait qu'il y a une modulation muscarinique de la voie trigémino-réticulaire.

B- Modulation de la transmission sensorielle par les cellules cholinergiques de la RLM

Une des régions du tronc cérébral qui contient des cellules cholinergiques est la RLM qui a été identifiée chez la lamproie par Sirota et al. (2000) et sa composante cholinergique a été étudiée par Le Ray et al. (2003) et Pombal et al. (2001). Selon Le Ray et al. (2003) et Brocard et Dubuc (2004), la RLM projette directement sur les cellules RS donc par une voie monosynaptique. Cette voie est impliquée dans l'initiation de la locomotion en agissant sur les récepteurs nicotiques des cellules RS en plus des récepteurs glutamatergiques (Le Ray et al. 2003, Brocard et Dubuc 2004). Ainsi, les cellules RS reçoivent bien un input cholinergique de la RLM. De plus, Brocard et Dubuc (2004) ont identifié le patron d'activation des cellules du NRRM et NRRP par la RLM et ont établi que, lors de la stimulation de la RLM, les cellules du NRRM sont recrutées avant celles du NRRP. Les cellules du NRRM seraient impliquées dans l'initiation de la locomotion et le maintien de la nage de faible intensité alors qu'à des fréquences

plus grandes, le NRRM et le NRRP seraient coactivés. Le Ray et al. (2004) ont prouvé à l'aide de différentes expériences électrophysiologiques que les cellules RS possèdent des récepteurs muscariniques qui, s'ils sont activés par l'acétylcholine, dépriment la réponse trigéminal. La dépression des PPSEs trigéminaux que nous avons obtenue, suite à la stimulation de la RLM dans les cellules RS, semble donc parfaitement concorder avec les résultats de Le Ray et al. (2004). Au lieu d'éjecter de l'acétylcholine sur les cellules RS pour avoir un effet (Le Ray et al., 2004), nous avons activé les cellules de la RLM ce qui devrait permettre de libérer de manière endogène de l'acétylcholine sur les cellules RS par la RLM. Nous obtenons un effet très similaire, une réduction de la taille des PPSEs trigéminaux enregistrés dans les cellules RS. De plus, en perfusant de la physostigmine, un inhibiteur de l'acétylcholinestérase, donc en inhibant la destruction de l'acétylcholine dans la fente synaptique, l'effet de la stimulation de la RLM sur les PPSEs trigéminaux dans les cellules RS semble être amplifié. À l'aide de deux cellules RS pour lesquelles nous avons obtenu un effet négligeable de la RLM, une dépression significative des PPSEs trigéminaux a été induit grâce à la physostigmine. Ces résultats préliminaires nous permettent de croire que la dépression des PPSEs trigéminaux, suite à la stimulation de la RLM, serait donc bien liée à l'acétylcholine provenant de la RLM. Pour en être certain, d'autres expériences doivent être faites pour augmenter le nombre de cellules étudiées.

C- Les cellules RS possèdent des récepteurs muscariniques

En voyant que notre effet pourrait être lié aux récepteurs muscariniques, nous avons fait une immunohistochimie contre ceux-ci à l'aide de l'anticorps M35. Cet anticorps a déjà permis, dans de nombreuses études, d'identifier la position de cellules possédant des récepteurs muscariniques dans le système nerveux central. La grande majorité des études ont été faites chez le rat et ont révélé du marquage avec M35 au niveau de l'hippocampe, du néocortex, du cortex pariétal, du thalamus et de l'amygdale (Van der Zee et Luiten 1999; Buwalda et al., 1995; Amadeo et al., 1995; Van der Zee et al., 1991, 1993, 1995; Woolf 1993). Cet anticorps a été utilisé dans des expériences immunohistochimiques sur de nombreuses espèces animales et a révélé la présence de récepteurs muscariniques tant dans le cerveau d'insecte, de grenouille que dans celui de chat ou de l'homme (revue voir : Carsi-Gabrenas et al., 1997). Cette expérience a révélé la présence de nombreuses cellules marquées du mésencéphale jusqu'à la moelle rostrale chez plusieurs lamproies adultes. De plus, des cellules RS des différents noyaux réticulés sont marquées et ce tant les petites cellules que les grosses cellules de Müller et de Mauthner avec leurs dendrites proximaux. La majorité des cellules RS du NRRM et du NRRP semblent être marquées. Ainsi, ces résultats confirment anatomiquement la présence de récepteurs muscariniques sur les cellules RS, et donc appuient les résultats électrophysiologiques de Le Ray et al. (2004). D'autre part, de nombreuses recherches ont identifié la présence de récepteurs muscariniques dans la formation réticulée chez d'autres animaux, tant chez les félins (Barnes et al., 1987; Imon et al., 1996; Baghdoyan et Lydic, 1999) que chez les souris (Coleman et al., 2004) et les rats (Ishizawa 2000). De manière

globale, la RLM pourrait provoquer une dépression des PPSEs trigéminaux en agissant sur les récepteurs muscariniques des cellules RS à l'aide de ses projections cholinergiques.

D- La stimulation de la RLM affecte la composante hâtive et tardive des PPSEs trigéminaux

Comme établi précédemment par Viana Di Prisco et al. (1995), les PPSEs trigéminaux sont glutamatergiques et possèdent une composante hâtive liée aux récepteurs AMPA/Kainate et une composante tardive liée aux récepteurs NMDA. Selon Le Ray et al. (2004), la perfusion d'atropine augmente préférentiellement la partie tardive des PPSEs trigéminaux. En bloquant cette partie, avec de l'AP5, un antagoniste des récepteurs NMDA, les PPSEs sont réduits significativement (Viana Di Prisco et al., 1995). De plus, sous perfusion d'AP5, en ajoutant de l'atropine, il n'y a pas d'augmentation de l'aire des PPSEs trigéminaux (Le Ray et al., 2004). Ainsi, ces auteurs suggèrent que la composante médiée par les récepteurs NMDA des PPSEs trigéminaux est la principale cible de la modulation muscarinique. L'effet que nous avons observé de la RLM sur les PPSEs trigéminaux affecte significativement les deux composantes : la composante hâtive et tardive. La dépression est significativement plus grande sur la composante tardive. Comparativement à Le Ray et al. (2004), nous ne pouvons pas conclure que l'effet porte surtout sur la composante NMDA des PPSEs trigéminaux car nous n'avons pas séparé la composante NMDA de la composante AMPA. Nous pouvons simplement dire que nos résultats supportent ceux de Le

Ray et al. (2004) en démontrant que, dans notre effet, la phase tardive est aussi affectée.

La stimulation de la RLM agit à la fois sur les composantes AMPA et NMDA des PPSEs trigémimaux. Une inhibition muscarinique des réponses glutamatergiques NMDA a aussi été rapportée dans d'autres régions du SNC (Marks et Roffwarg 1991; Metherate et Ashe 1995; Bellingham et Berger 1996; Sim et Griffith 1996, Lin et Phillis 1991). Un effet inhibiteur des récepteurs muscariniques M1, M3 et M4 sur les récepteurs NMDA a été démontré dans de nombreuses études (Auerbach et Segal 1996; Zheng et Johnson 2003; Zhang et Warren 2002; Sugita et al., 1991; Courtney et Nicholls 1992; Hsu et al., 1995; Fernandez de Sevilla et al., 2003; Fernandez de Sevilla et Buno 2003). Dans les cultures de cellules granulaires de cervelet de rat, Courtney et Nicholls (1992) ont démontré que les récepteurs NMDA sont inhibés par les récepteurs muscariniques M3 couplés à la phospholipase C tandis que les récepteurs AMPA/Kainate ne le sont pas. Les auteurs ont identifié la voie par laquelle les récepteurs muscariniques inhibent les récepteurs NMDA. Les récepteurs muscariniques activent la phospholipase C liée au récepteur. Celle-ci agit sur deux seconds messagers : le diacylglycerol (DAG) et l'inositol 1,4,5-trisphosphate (IP3). Le premier active la protéine kinase C (PKC) et le second libère les réserves intracellulaires de calcium. La voie qui semble être impliquée dans l'inhibition des récepteurs NMDA est celle des PKC, car selon des résultats préliminaires de Smetena, Dubuc et Alford (communication personnelle), il n'y pas d'effet en imagerie calcique de la

muscarine sur les cellules RS. Ainsi le calcium ne ferait pas partie de la cascade entre les récepteurs muscariniques et les récepteurs NMDA. Un mécanisme intracellulaire similaire pourrait être impliqué dans notre effet et ce tant pour la composante NMDA que la composante AMPA.

E- Variabilité de la durée et de la taille de l'effet

La dépression des PPSEs trigéminaux par la RLM affecte les composantes AMPA et NMDA et peut durer trois minutes dans certains cas mais elle peut également atteindre trois-quart d'heure dans d'autres essais. Il arrive fréquemment qu'une dépression liée à une cascade intracellulaire dure plusieurs dizaines de minutes (Kirkwood et al., 1999; Warburton et al., 2003). Pour ce qui est de la variabilité de la durée, elle dépend peut-être du positionnement de l'électrode de stimulation dans la RLM, donc du nombre de cellules cholinergiques de la RLM recrutées, du nombre d'essais nécessaires pour trouver la RLM donc, de l'intégrité de la RLM, de même que du nombre de fois qu'elle a été stimulée antérieurement à l'essai enregistré. La variance de la taille de la dépression dépend des mêmes facteurs. Dans plusieurs cellules nous avons pu reproduire successivement une dépression des PPSEs trigéminaux par la RLM en espaçant les essais d'une demi-heure. Ces expériences démontrent que l'effet n'est pas dû à des modifications cellulaires permanentes.

F- L'effet est-il pré ou post-synaptique sur les cellules RS?

Il existe une modulation muscarinique des cellules RS par la RLM mais aucune étude n'a encore déterminé précisément si l'effet est pré ou post synaptique sur les cellules RS. Selon Le Ray et al. (2004), le fait que la réponse dépolarisante induite par l'éjection de NMDA sur les cellules RS soit grandement augmentée en présence d'atropine, suggère qu'au moins une part de la modulation muscarinique est exercée postsynaptiquement sur la composante NMDA de la réponse excitatrice des cellules RS cibles. Par contre, sur d'autres espèces animales, de nombreuses études démontrent que l'effet dépressif des récepteurs muscariniques sur les récepteurs NMDA est surtout présynaptique (Zheng et Johnson 2003; Zhang et Warren 2002; Hsu et al., 1995; de Sevilla et Buno 2003). Ainsi, la question reste en suspend pour le moment.

G- L'importance des cellules de relais et leur position

Le rôle possible des interneurons de relais comme cible de la modulation muscarinique de la voie trigémino-réticulaire a été étudié par Le Ray et al. (2004). Ces auteurs ont injecté diverses drogues localement au niveau des cellules de relais trigéminales dans le dV du rhombencéphale (Northcutt 1979; Viana Di Prisco et al., non publié). L'éjection d'acétylcholine, de pilocarpine ou de muscarine au-dessus de ces cellules provoque une dépression des PPSEs trigéminaux enregistrés dans les cellules RS, surtout sur la partie tardive. Ce qui suggère que les récepteurs muscariniques sont impliqués. Par contre, l'éjection d'atropine augmente grandement l'aire des PPSEs jusqu'au point de générer de

multiples potentiels d'action (Le Ray et al., 2004). Il y aurait une dépression tonique des inputs trigéminaux vers les cellules RS par l'activation des récepteurs muscariniques à la fois au site de relais et au niveau des cellules RS. Nos expériences d'immunohistochimie nous ont permis de détecter la présence de cellules possédant des récepteurs muscariniques dans le dV. Les cellules de relais du nerf trijumeau identifiées par Viana Di Prisco et al. (non publié) se retrouvent dans le faisceau descendant du trijumeau à différents niveaux rostro-caudaux. Pour ce qui est des cellules de relais projetant vers le NRRM, elles se situent principalement au niveau de la limite caudale du nerf vestibulaire (nVIII) et leurs corps cellulaires prennent des formes et tailles très variées, passant des cellules multipolaires aux cellules bipolaires. Pour ce qui est du NRRP, les cellules de relais trigéminales sont plus caudales que celles du NRRM et se situent surtout au niveau du nerf glossopharyngien (nIX). Les grosses cellules sont allongées et bipolaires tandis que les plus petites sont ovoïdes avec peu de dendrites. Nos expériences d'immunohistochimie nous ont permis d'observer des cellules marquées au niveau du NRRM dans le dV surtout au niveau du nVIII qui avaient des corps cellulaires très variés comme les cellules marquées en fluorescence par Viana Di Prisco et al. (2004). De la même manière, pour le NRRP, les cellules marquées étaient distribuées rostro-caudalement mais avec une forte concentration au niveau du nerf IX et étaient de différentes formes et tailles, ce qui concorde très bien avec les cellules de relais identifiées par Viana Di Prisco et al. (non publié). Ainsi, l'immunohistochimie pour M35, nous a permis de mettre en évidence que les cellules de relais identifiées par Viana Di Prisco et al. (non

publié) semblent bien posséder des récepteurs muscariniques. De plus, ces cellules de relais modulent les PPSEs trigéminaux enregistrés dans les cellules RS lorsque mises en présence d'agonistes ou d'antagonistes muscariniques (Le Ray et al., 2004) Tous ces résultats montrent que la RLM pourrait moduler les inputs sensoriels en agissant sur les récepteurs muscariniques des cellules RS et des cellules de relais du trijumeau par le biais de projections cholinergiques car ces deux populations sont marquées (Figure 10). Des marqueurs rétrogrades injectés dans les cellules RS (Sirota et al., 2000) ont révélé que des cellules de la RLM projettent sur les cellules RS. Pour voir s'il y a des projections de la RLM vers les cellules de relais, il faudrait faire des injections de marqueur rétrograde dans les cellules de relais ou des injections de marqueur antérograde dans la RLM. L'existence d'une voie partant de la RLM vers les cellules de relais n'est pas à négliger surtout du fait que Le Ray et al. (2004) ont obtenu un plus grand effet dépressif sur les cellules de relais que sur les cellules RS.

II- Le rôle fonctionnel de la RLM

Il a été proposé par Le Ray et al. (2004) que la RLM pourrait envoyer une double commande cholinergique agissant sur les cellules RS. La première commande est excitatrice et médiée par les récepteurs nicotiques qui activent précisément le système RS et induit l'initiation de la locomotion. La deuxième est inhibitrice et médiée par les récepteurs muscariniques et envoyée en parallèle pour réduire l'input sensoriel à la fois sur le relais et sur les cellules RS, pour minimiser les perturbations sensorielles de la commande motrice. Nos résultats appuient cette

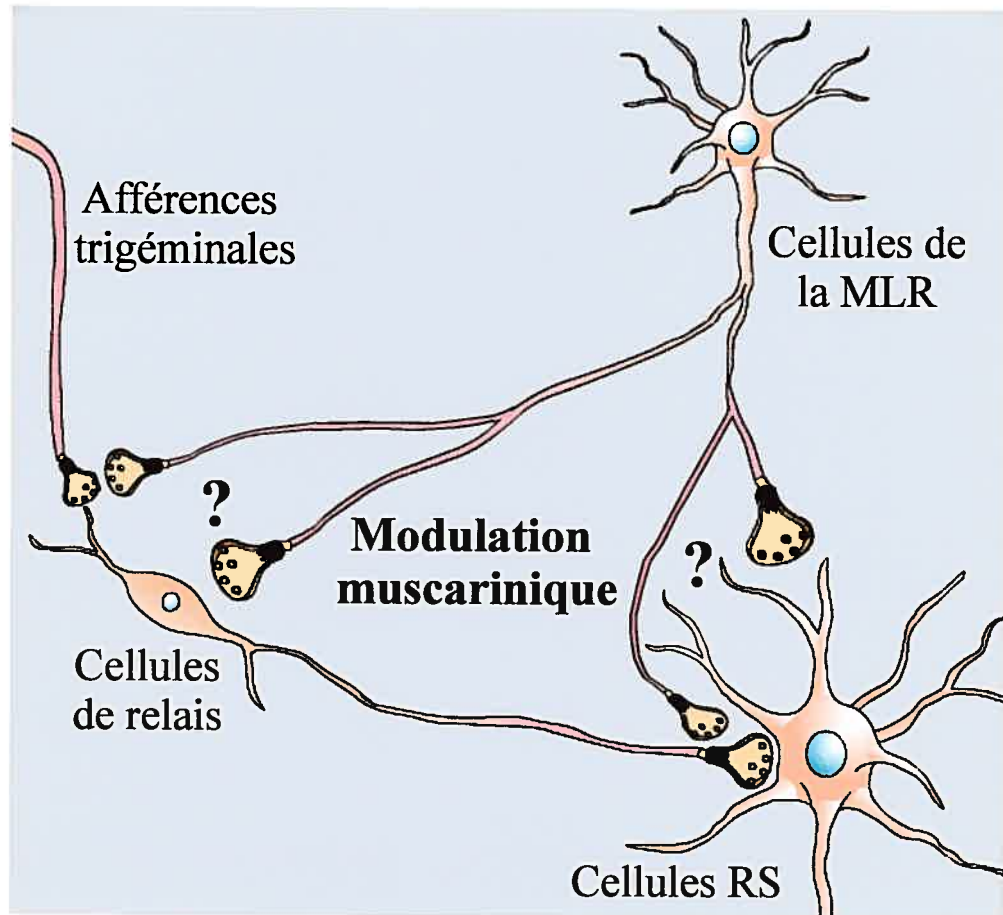


Figure 10: Représentation schématique de la modulation muscarinique par la MLR de l'input trigéminal sur les cellules RS

hypothèse en mettant en évidence que l'input cholinergique de la RLM déprime les inputs sensoriels des cellules RS lors de la locomotion induite par une stimulation de la RLM. Selon Le Ray et al. (2004), l'input cholinergique serait à la base du passage des neurones RS de l'état de « commande locomotrice réflexe » à l'état de « commande locomotrice avec un but ».

Ainsi la RLM, en plus d'être impliquée dans la locomotion avec un but (Jordan 1998), pourrait, grâce à cette double voie, moduler plus finement l'input sensoriel arrivant à la formation réticulée. De plus, Fendt et al. (2001) ont démontré une modulation muscarinique du réflexe de sursaut. Cette modulation proviendrait du noyau pédunculo pontique et du tegmentum latérodorsal, deux régions décrites récemment comme faisant partie de la RLM chez la lamproie et qui contiennent des cellules cholinergiques (Pombal et al., 2001; Le Ray et al., 2003).

Conclusion

Nos résultats démontrent bien la présence d'une modulation de la voie trigémino-réticulaire par la RLM. Les résultats préliminaires sous atropine et physostigmine, nous indiquent que cette modulation par la RLM des inputs sensoriels sur les cellules RS serait liée à l'acétylcholine endogène libéré lors de la stimulation de la RLM et que les récepteurs muscariniques seraient impliqués dans la dépression des PPSEs trigéminaux. De plus, l'immunohistochimie a révélé la présence de récepteurs muscariniques sur les cellules RS des différents noyaux de même que sur les cellules de relais du trijumeau. Ainsi, ces résultats ne réfutent pas l'idée qu'une seconde voie partant de la RLM allant sur les cellules de relais pourrait exister. D'autres expériences sous atropine et physostigmine sont nécessaires pour confirmer nos résultats préliminaires. Pour confirmer que la composante nicotinique n'est pas impliquée dans la modulation de la voie trigémino-réticulaire par la RLM, nous pourrions faire cette expérience sous perfusion de D-tubocurarine. De plus, pour isoler l'effet, des injections locales d'atropine pourraient être faites sur les cellules RS ou sur les cellules de relais. Les mêmes expériences électrophysiologiques devraient être faites sur les cellules du NRRP car nous avons observé que ces cellules possèdent des récepteurs muscariniques grâce à l'immunohistochimie. Ces cellules sont aussi impliquées dans la locomotion (Dubuc et Grillner 1989; Kasicki et al., 1989) et elles reçoivent des projections de la RLM (Brocard et Dubuc 2003). Nous avons démontré qu'il y a bien une modulation des inputs sensoriels par la RLM.

Maintenant, il reste à étudier cette modulation en détail. Peut-être que les autres voies sensorielles comme l'input vestibulaire, par exemple, pourraient être modulé par la RLM au niveau de la formation réticulée ou de leurs cellules de relais.

Bibliographie

Alford, S., and Dubuc, R. Glutamate metabotropic receptor mediated depression of synaptic inputs to lamprey reticulospinal neurones. *Brain Res.* 605: 175-179, 1993.

Alford, S., Zompa, I., and Dubuc, R. Long-term potentiation of glutamatergic pathways in the lamprey brainstem. *J. Neurosci.* 15: 7528-7538, 1995.

Amadeo, A., Arcelli, P., Spreafico, R., and De Biasi, S. Ultrastructural immunolocalization of muscarinic acetylcholine receptor in the dorsal thalamus of rat. *Neurosci. Lett.* 184: 161-164, 1995.

Anadon, R., De Miguel, E., Gonzalez-Fuentes, M. J., and Rodicio, C. HRP study of the central components of the trigeminal nerve in the larval sea lamprey: organization and homology of the primary medullary and spinal nucleus of the trigeminus. *J. Comp. Neurol.* 283: 602-610, 1989.

Andre, P., Pompeiano, O., and White, S. R. Role of muscarinic receptors in the cerebellar control of the vestibulospinal reflex gain: cellular mechanisms. *Acta Otolaryngol. Suppl.* 520 Pt 1: 87-91, 1995.

Armstrong, D. M., and Drew, T. Discharges of pyramidal tract and other motor cortical neurones during locomotion in the cat. *J. Physiol.* 346: 471-495, 1984.

Armstrong, D. M., and Drew, T. Forelimb electromyographic responses to motor cortex stimulation during locomotion in the cat. *J. Physiol.* 367: 327-351, 1985.

Asher, P., Nowak, L. The role of divalent cations in the N-methyl-D-aspartate responses of mouse central neurones in culture. *J. Physiol. (London)* 399 : 247-266, 1988.

Auerbach, J. M., and Segal, M. Muscarinic receptors mediating depression and long-term potentiation in rat hippocampus. *J. Physiol.* 492 (Pt 2): 479-493, 1996.

Baghdoyan, H. A., and Lydic, R. M2 muscarinic receptor subtype in the feline medial pontine reticular formation modulates the amount of rapid eye movement sleep. *Sleep* 22: 835-847, 1999.

Bal, T., Nagy, F., and Moulins, M. Muscarinic modulation of a pattern-generator network : control of neuronal properties. *J. Neurosci.* 14 : 3019-3035, 1994.

Barnes, C. D., D'Ascanio, P., Pompeiano, O. and Stampacchia, G. Effects of microinjection of cholinergic agonists into the pontine reticular formation on the gain of vestibulospinal reflexes in decerebrate cats. *Arch. Ital. Biol.* 125: 71-105, 1987.

Bellingham, M. C., and Berger, A. J. Presynaptic depression of excitatory synaptic inputs to rat hypoglossal motoneurons by muscarinic M2 receptors. *J. Neurophysiol.* 76: 3758-3770, 1996.

Bodznick, D., and Northcutt, R. G. Electroreception in lampreys: evidence that the earliest vertebrates were electroreceptive. *Science* 212: 465-467, 1981.

Brocard, F., and Dubuc, R. Differential contribution of reticulospinal cells to the control of locomotion induced by the mesencephalic locomotor region. *J. Neurophysiol.* 90: 1714-1727, 2003.

Brodin, L., Grillner, S., Dubuc, R., Ohta, Y., Kasicki, S., and Hokfelt, T. Reticulospinal neurons in lamprey: transmitters, synaptic interactions and their role during locomotion. *Arch. Ital. Biol.* 126: 317-345, 1988.

Brodin, L., Grillner, S., and Rovainen, C. M. N-Methyl-D-aspartate (NMDA), kainate and quisqualate receptors and the generation of fictive locomotion in the lamprey spinal cord. *Brain Res.* 325: 302-306, 1985.

Brudzynski, S. M., and Mogenson, G. J. Association of the mesencephalic locomotor region with locomotor activity induced by injections of amphetamine into the nucleus accumbens. *Brain Res.* 334: 77-84, 1985.

Buchanan, J. T. Identification of interneurons with contralateral, caudal axons in the lamprey spinal cord: synaptic interactions and morphology. *J. Neurophysiol.* 47: 961-975, 1982.

Buchanan, J. T. Premotor interneurons in the lamprey spinal cord : Morphology, synaptic interactions and activities during fictive swimming. 321-333. In : *Neurobiology of vertebrate locomotion*, Grillner, S., Stein, P.S.G., Stuart, D.G., Forssberg, H., Herman, R.M. Eds. Hong Kong McMillan : Hong Kong, 1986.

Buchanan, J. T. Contributions of identifiable neurons and neuron classes to lamprey vertebrate neurobiology. *Prog. Neurobiol.* 63: 441-466, 2001.

Buchanan, J. T., and Cohen, A. H. Activities of identified interneurons, motoneurons, and muscle fibers during fictive swimming in the lamprey and effects of reticulospinal and dorsal cell stimulation. *J. Neurophysiol.* 47: 948-960, 1982.

Buchanan, J. T., Brodin, L., Dale, N., and Grillner, S. Reticulospinal neurones activate excitatory amino acid receptors. *Brain Res.* 408: 321-325, 1987.

Buchanan, J. T., and Grillner, S. Newly identified 'glutamate interneurons' and their role in locomotion in the lamprey spinal cord. *Science* 236: 312-314, 1987.

Buchanan, J. T., and Grillner, S. A new class of small inhibitory interneurons in the lamprey spinal cord. *Brain Res.* 438: 404-407, 1988.

Buchanan, J. T., Grillner, S., Cullheim, S., and Risling, M. Identification of excitatory interneurons contributing to generation of locomotion in lamprey: structure, pharmacology, and function. *J. Neurophysiol.* 62: 59-69, 1989.

Buchanan, J. T., and Kasicki, S. Activities of spinal neurons during brain stem-dependent fictive swimming in lamprey. *J. Neurophysiol.* 73: 80-87, 1995.

Bussières, N. L'influence des réseaux locomoteurs sur la transmission de l'information sensorielle au niveau des cellules réticulospinales de la lamproie. Mémoire de maîtrise. Université du Québec à Montréal, département de kinanthropologie, 107 pages. Mai 1991.

Bussières, N. Les systèmes descendants chez la lamproie.  tude anatomique et fonctionnelle. Thèse. Université de Montréal, département de physiologie, faculté de médecine. 226 pages. D ecembre 1994.

Bussieres, N., and Dubuc, R. Phasic modulation of transmission from vestibular inputs to reticulospinal neurons during fictive locomotion in lampreys. *Brain Res.* 582: 147-153, 1992.

Bussieres, N., and Dubuc, R. Phasic modulation of vestibulospinal neuron activity during fictive locomotion in lampreys. *Brain Res.* 575: 174-179, 1992.

Bussieres, N., Pflieger, J. F., and Dubuc, R. Anatomical study of vestibulospinal neurons in lampreys. *J. Comp. Neurol.* 407: 512-526, 1999.

Buwalda, B., de Groote, L., Van der Zee, E. A., Matsuyama, T., and Luiten, P. G. Immunocytochemical demonstration of developmental distribution of muscarinic

acetylcholine receptors in rat parietal cortex. *Brain Res. Dev. Brain Res.* 84: 185-191, 1995.

Cabelguen, J. M., Bourcier-Lucas, C., and Dubuc, R. Bimodal locomotion elicited by electrical stimulation of the midbrain in the salamander *Notophthalmus viridescens*. *J. Neurosci.* 23: 2434-2439, 2003.

Carsi-Gabrenas, J. M., Van der Zee, E. A., Luiten, P. G., and Potter, L. T. Non-selectivity of the monoclonal antibody M35 for subtypes of muscarinic acetylcholine receptors. *Brain Res. Bull.* 44: 25-31, 1997.

Cohen, A. H., Ermentrout, G. B., Kiemel, T., Kopell, N., Sigvardt, K. A., and Williams, T. L. Modelling of intersegmental coordination in the lamprey central pattern generator for locomotion. *Trends Neurosci.* 15: 434-438, 1992.

Cohen, A. H., and Wallen, P. The neuronal correlate of locomotion in fish. "Fictive swimming" induced in an in vitro preparation of the lamprey spinal cord. *Exp. Brain Res.* 41: 11-18, 1980.

Coleman, C. G., Lydic, R., and Baghdoyan, H. A. M2 muscarinic receptors in pontine reticular formation of C57BL/6J mouse contribute to rapid eye movement sleep generation. *Neuroscience* 126: 821-830, 2004.

Congar, P., Leinekugel, X., Ben-Ari, Y., and Crepel, V. A long-lasting calcium-activated nonselective cationic current is generated by synaptic stimulation or exogenous activation of group I metabotropic glutamate receptors in CA1 pyramidal neurons. *J. Neurosci.* 17: 5366-5379, 1997.

Courtney, M. J., and Nicholls, D. G. Interactions between phospholipase C-coupled and N-methyl-D-aspartate receptors in cultured cerebellar granule cells:

protein kinase C mediated inhibition of N-methyl-D-aspartate responses. *J. Neurochem.* 59: 983-992, 1992.

de Sevilla, D. F., and Buno, W. Presynaptic inhibition of Schaffer collateral synapses by stimulation of hippocampal cholinergic afferent fibres. *Eur. J. Neurosci.* 17: 555-558, 2003.

de Sevilla, D. F., Cabezas, C., de Prada, A. N. Sanchez-Jimenez, A., and Buno, W. Selective muscarinic regulation of functional glutamatergic Schaffer collateral synapses in rat CA1 pyramidal neurons. *J. Physiol.* 545: 51-63, 2002.

Dale, N., and Grillner, S. Dual component synaptic potentials in the lamprey mediated by excitatory by excitatory amino acid receptors. *J. Neurosci.* 69 : 2653-2661, 1986.

Deliagina, T. Vestibular compensation in lampreys: impairment and recovery of equilibrium control during locomotion. *J. Exp. Biol.* 200: 1459-1471, 1997.

Deliagina, T. Vestibular compensation in lampreys: role of vision at different stages of recovery of equilibrium control. *J. Exp. Biol.* 200 (Pt 23): 2957-2967, 1997.

Deliagina, T. G. Vestibular compensation in the lamprey. *Neuroreport* 6: 2599-2603, 1995.

Deliagina, T. G., and Fagerstedt, P. Responses of reticulospinal neurons in intact lamprey to vestibular and visual inputs. *J. Neurophysiol.* 83: 864-878, 2000.

Deliagina, T. G., Grillner, S., Orlovsky, G. N., and Ullen, F. Visual input affects the response to roll in reticulospinal neurons of the lamprey. *Exp. Brain Res.* 95: 421-428, 1993.

Deliagina, T. G., Orlovsky, G. N., Grillner, S., and Wallen, P. Vestibular control of swimming in lamprey. II. Characteristics of spatial sensitivity of reticulospinal neurons. *Exp. Brain Res.* 90: 489-498, 1992.

Deliagina, T. G., Orlovsky, G. N., Grillner, S., and Wallen, P. Vestibular control of swimming in lamprey. II. Characteristics of spatial sensitivity of reticulospinal neurons. *Exp. Brain Res.* 90: 489-498, 1992.

Deliagina, T. G., and Pavlova, E. L. Modifications of vestibular responses of individual reticulospinal neurons in lamprey caused by unilateral labyrinthectomy. *J. Neurophysiol.* 87: 1-14, 2002.

Deliagina, T., Ullén, F., Eacute, F., Gonzalez, M., Ehrsson, H., Orlovsky, G., and Grillner, S. Initiation of locomotion by lateral line photoreceptors in lamprey: behavioural and neurophysiological studies. *J. Exp. Biol.* 198: 2581-2591, 1995.

Deliagina, T. G., Zelenin, P. V., and Orlovsky, G. N. Encoding and decoding of reticulospinal commands. *Brain Res. Brain Res. Rev.* 40: 166-177, 2002.

Drew, T. Functional organization within the medullary reticular formation of the intact unanesthetized cat. III. Microstimulation during locomotion. *J. Neurophysiol.* 66: 919-938, 1991.

Drew, T. Motor cortical activity during voluntary gait modifications in the cat. I. Cells related to the forelimbs. *J. Neurophysiol.* 70: 179-199, 1993.

Drew, T., Jiang, W., Kably, B., and Lavoie, S. Role of the motor cortex in the control of visually triggered gait modifications. *Can. J. Physiol. Pharmacol.* 74: 426-442, 1996.

Drew, T., Jiang, W., and Widajewicz, W. Contributions of the motor cortex to the control of the hindlimbs during locomotion in the cat. *Brain Res. Brain Res. Rev.* 40: 178-191, 2002.

Dubuc, R., Bongianni, F., Ohta, Y., and Grillner, S. Anatomical and physiological study of brainstem nuclei relaying dorsal column inputs in lampreys. *J. Comp. Neurol.* 327: 260-270, 1993.

Dubuc, R., Bongianni, F., Ohta, Y., and Grillner, S. Dorsal root and dorsal column mediated synaptic inputs to reticulospinal neurons in lampreys: involvement of glutamatergic, glycinergic, and GABAergic transmission. *J. Comp. Neurol.* 327: 251-259, 1993.

Dubuc, R., and Grillner, S. The role of spinal cord inputs in modulating the activity of reticulospinal neurons during fictive locomotion in the lamprey. *Brain Res.* 483: 196-200, 1989.

Ebbesson, S. O. Ascending axon degeneration following hemisection of the spinal cord in the Tegu lizard (*Tupinambis nigropunctatus*). *Brain Res.* 5: 178-206, 1967.

Ebbesson, S. O., and Goodman, D. C. Organization of ascending spinal projections in *Caiman crocodilus*. *Cell Tissue Res.* 215: 383-395, 1981.

Ebbesson, S. O., and Hodde, K. C. Ascending spinal systems in the nurse shark, *Ginglymostoma cirratum*. *Cell Tissue Res.* 216: 313-331, 1981.

Eidelberg, E. Consequences of spinal cord lesions upon motor function, with special reference to locomotor activity. *Prog. Neurobiol.* 17: 185-202, 1981.

Eidelberg, E., Walden, J. G., and Nguyen, L. H. Locomotor control in macaque monkeys. *Brain* 104: 647-663, 1981.

El Manira, A., Pombal, M. A., and Grillner, S. Diencephalic projection to reticulospinal neurons involved in the initiation of locomotion in adult lampreys *Lampetra fluviatilis*. *J. Comp. Neurol.* 389: 603-616, 1997.

El Manira, A., Shupliakov, O., Fagerstedt, P., and Grillner, S. Monosynaptic input from cutaneous sensory afferents to fin motoneurons in lamprey. *J. Comp. Neurol.* 369: 533-542, 1996.

Fagerstedt, P., Orlovsky, G. N., Deliagina, T. G., Grillner, S., and Ullen, F. Lateral turns in the Lamprey. II. Activity of reticulospinal neurons during the generation of fictive turns. *J. Neurophysiol.* 86: 2257-2265, 2001.

Fagerstedt, P., Zelenin, P. V., Deliagina, T. G., Orlovsky, G. N., and Grillner, S. Crossed reciprocal inhibition evoked by electrical stimulation of the lamprey spinal cord. *Exp. Brain Res.* 134: 147-154, 2000.

Fendt, M., Li, L., and Yeomans, J. S. Brain stem circuits mediating prepulse inhibition of the startle reflex. *Psychopharmacology (Berl.)* 156: 216-24, 2001.

Finger, T. E., and Rovainen, C. M. Spinal and medullary dorsal cell axons in the trigeminal nerve in lampreys. *Brain Res.* 240: 331-333, 1982.

Fraser, D. D., and MacVicar, B. A. Cholinergic-dependent plateau potential in hippocampal CA1 pyramidal neurons. *J. Neurosci.* 16: 4113-4128, 1996.

Garcia-Rill, E. The basal ganglia and the locomotor regions. *Brain Res.* 396: 47-63, 1986.

Garcia-Rill, E., Skinner, R. D., Conrad, C., Mosley, D., and Campbell, C. Projections of the mesencephalic locomotor region in the rat. *Brain Res. Bull.* 17: 33-40, 1986.

Garcia-Rill, E., and Skinner, R. D. The mesencephalic locomotor region. I. Activation of a medullary projection site. *Brain Res.* 411: 1-12, 1987.

Garcia-Rill, E., and Skinner, R.D. The mesencephalic locomotor region. II. Projections to reticulospinal neurons. *Brain Res.* 411 : 13-20, 1987.

Gonzalez, M. J., and Anadon, R. Primary projections of the lateral line nerves in larval sea lamprey, *Petromyzon marinus* L. An HRP study. *J. Hirnforsch* 33: 185-194, 1992.

Gonzalez, M. J., Manso, M. J., and Anadon, R. Octavolateral neurons projecting to the middle and posterior rhombencephalic reticular nuclei of larval lamprey: a retrograde horseradish peroxidase labeling study. *J. Comp. Neurol.* 384: 396-408, 1997.

Grillner, S. On the generation of locomotion in the spinal dogfish. *Exp. Brain Res.* 20: 459-470, 1974.

Grillner, S. Some aspects on the descending control of the spinal circuits generating locomotor movements. In : *Neural control of locomotion.* 351-375. Herman, R.M., Grillner, S., Stein, P.S.G., Stuart, D.G. Eds. Plenum Publishing Corporation : New York, 1976.

Grillner, S. Neurobiological bases of rhythmic motor acts in vertebrates. *Science* 228: 143-149, 1985.

Grillner, S., Deliagina, T., Ekeberg, O., el Manira, A., Hill, R. H., Lansner, A., Orlovsky, G. N., and Wallen, P. Neural networks that co-ordinate locomotion and body orientation in lamprey. *Trends Neurosci.* 18: 270-279, 1995.

Grillner, S., and Dubuc, R. Control of locomotion in vertebrates: spinal and supraspinal mechanisms. *Adv. Neurol.* 47: 425-453, 1988.

Grillner, S. Georgopoulos, A.P., Jordan, L.M. Selection and Initiation of Motor Behavior. In : *Neurons, Networks, and Motor Behavior.* 3-19. Stein, P.S.G., Grillner, S., Selverston, A.I. and Stuart, D.G. Eds. Bradford Book : Cambridge, Massachusetts; London, England, 1997.

Grillner, S., McClellan, A., Sigvardt, K., Wallen, P., and Wilen, M. Activation of NMDA-receptors elicits "fictive locomotion" in lamprey spinal cord in vitro. *Acta Physiol. Scand.* 113: 549-551, 1981.

Grillner, S., Perret, C., and Zangger, P. Central generation of locomotion in the spinal dogfish. *Brain Res.* 109: 255-269, 1976.

Guertin, P., and Dubuc, R. Effects of stimulating the reticular formation during fictive locomotion in lampreys. *Brain Res.* 753: 328-334, 1997.

Hayle, T. H. A comparative study of spinal projections to the brain (except cerebellum) in three classes of poikilothermic vertebrates. *J. Comp. Neurol.* 149: 463-476, 1973.

Hsu, K. S., Huang, C. C., and Gean, P. W. Muscarinic depression of excitatory synaptic transmission mediated by the presynaptic M3 receptors in the rat neostriatum. *Neurosci. Lett.* 197: 141-144, 1995.

Imon, H., Ito, K., Dauphin, L., and McCarley, R. W. Electrical stimulation of the cholinergic laterodorsal tegmental nucleus elicits scopolamine-sensitive excitatory postsynaptic potentials in medial pontine reticular formation neurons. *Neuroscience* 74: 393-401, 1996.

Ishizawa, Y. Selective blockade of muscarinic receptor subtypes in the brain stem reticular formation in rats: effects on anesthetic requirements. *Brain Res.* 873: 124-126, 2000.

Jiang, Z. G., and Dun, N. J. Presynaptic suppression of excitatory postsynaptic potentials in rat ventral horn neurons by muscarinic agonists. *Brain Res.* 381: 182-186, 1986.

Jones, B. E. Immunohistochemical study of choline acetyltransferase-immunoreactive processes and cells innervating the pontomedullary reticular formation in the rat. *J. Comp. Neurol.* 295: 485-514, 1990.

Jordan, L. M. Initiation of locomotion in mammals. *Ann. N.Y. Acad. Sci.* 860: 83-93, 1998.

Karamian, A. I., Vesselkin, N. P., Belekova, M. G., and Zagorulko, T. M. Electrophysiological characteristics of tectal and thalamo-cortical divisions of the visual system in lower vertebrates. *J. Comp. Neurol.* 127: 559-576, 1966.

Kashin, S. M., Feldman, A. G., and Orlovsky, G. N. Locomotion of fish evoked by electrical stimulation of the brain. *Brain Res.* 82: 41-47, 1974.

Kasicki, S., and Grillner, S. Muller cells and other reticulospinal neurones are phasically active during fictive locomotion in the isolated nervous system of the lamprey. *Neurosci. Lett.* 69: 239-243, 1986.

Kasicki, S., Grillner, S., Ohta, Y., Dubuc, R., and Brodin, L. Phasic modulation of reticulospinal neurones during fictive locomotion and other types of spinal motor activity in lamprey. *Brain Res.* 484: 203-16, 1989.

Kirkwood, A., Rozas, C., Kirkwood, J., Perez, F., and Bear, M.F. Modulation of long-term synaptic depression in visual cortex by acetylcholine and norepinephrine. *J. Neurosci.* 19: 1599-1609, 1999.

Klink, R., and Alonso, A. Ionic mechanisms of muscarinic depolarization in entorhinal cortex layer II neurons. *J. Neurophysiol.* 77: 1829-1843, 1997.

Klink, R., and Alonso, A. Muscarinic modulation of the oscillatory and repetitive firing properties of entorhinal cortex layer II neurons. *J. Neurophysiol.* 77: 1813-1828, 1997.

Koyama, H., Kishida, R., Goris, R. C., and Kusunoki, T. Organization of sensory and motor nuclei of the trigeminal nerve in lampreys. *J. Comp. Neurol.* 264: 437-448, 1987.

Koyama, H., Kishida, R., Goris, R. C., and Kusunoki, T. Afferent and efferent projections of the VIIIth cranial nerve in the lamprey *Lampetra japonica*. *J. Comp. Neurol.* 280: 663-671, 1989.

Koyama, H., Kishida, R., Goris, R. C., and Kusunoki, T. Organization of the primary projections of the lateral line nerves in the lamprey *Lampetra japonica*. *J. Comp. Neurol.* 295: 277-289, 1990.

Kozlov, A. K., Ullen, F., Fagerstedt, P., Aurell, E., Lansner, A., and Grillner, S. Mechanisms for lateral turns in lamprey in response to descending unilateral commands: a modeling study. *Biol. Cybern.* 86: 1-14, 2002.

Künzle, H., and Woodson, W. Mesodiencephalic and other target regions of ascending spinal projections in the turtle, *Pseudemys scripta elegans*. *J. Comp. Neurol.* 212: 349-64, 1982.

Lai, Y. Y., Clements, J. R., Wu, X. Y., Shalita, T., Wu, J. P., Kuo, J. S., and Siegel, J. M. Brainstem projections to the ventromedial medulla in cat: retrograde transport horseradish peroxidase and immunohistochemical studies. *J. Comp. Neurol.* 408: 419-436, 1999.

Le Ray, D., Brocard, F., Bourcier-Lucas, C., Auclair, F., Lafaille, P., and Dubuc, R. Nicotinic activation of reticulospinal cells involved in the control of swimming in lampreys. *Eur. J. Neurosci.* 17: 137-148, 2003.

Le Ray, D., Brocard, F., and Dubuc, R. Muscarinic modulation of the trigemino-reticular pathway in lampreys. *J. Neurophysiol.* 92: 926-938, 2004.

Lin, Y., and Phillis, J. W. Muscarinic agonist oxotremorine-M-induced long-term depression in rat cerebral cortex. *Brain Res. Bull.* 27: 115-117, 1991.

Lowenstein, O., Osborne, M. P., and Thornhill, R. A. The anatomy and ultrastructure of the labyrinth of the lamprey (*Lampetra fluviatilis* L.). *Proc. R. Soc. Lond. B. Biol. Sci.* 170: 113-134, 1968.

Marciello, M., and Sinnamon, H. M. Locomotor stepping initiated by glutamate injections into the hypothalamus of the anesthetized rat. *Behav. Neurosci.* 104: 980-990, 1990.

Marin, O., Smeets, W. J., and Gonzalez, A. Distribution of choline acetyltransferase immunoreactivity in the brain of anuran (*Rana perezi*, *Xenopus*

laevis) and urodele (Pleurodeles waltl) amphibians. *J. Comp. Neurol.* 382: 499-534, 1997.

Marks, G. A., and Roffwarg, H. P. Cholinergic modulation of responses to glutamate in the thalamic reticular nucleus of the anesthetized rat. *Brain Res.* 557: 48-56, 1991.

Matthews, G., Wickelgren, W.O. Trigeminal sensory neurons of the sea lamprey. *J. Comp. Physiol.* 123 : 329-333, 1978.

McClellan, A. D. In vitro CNS preparations: unique approaches to the study of command and pattern generation systems in motor control. *J. Neurosci. Methods* 21: 251-264, 1987.

McClellan, A. D. Brainstem command systems for locomotion in the lamprey: localization of descending pathways in the spinal cord. *Brain Res.* 457: 338-349, 1988.

McClellan, A. D., and Grillner, S. Activation of fictive swimming by electrical microstimulation of brainstem locomotor regions in an in vitro preparation of the lamprey central nervous system. *Brain Res.* 300: 357-361, 1984.

McClellan, A. D., and Hagevik, A. Descending control of turning locomotor activity in larval lamprey: neurophysiology and computer modeling. *J. Neurophysiol.* 78: 214-228, 1997.

McClellan, A. D., McPherson, D., and O'Donovan, M. J. Combined retrograde labeling and calcium imaging in spinal cord and brainstem neurons of the lamprey. *Brain Res.* 663: 61-68, 1994.

McCormick, D. A. Cellular mechanisms underlying cholinergic and noradrenergic modulation of neuronal firing mode in the cat and guinea pig dorsal lateral geniculate nucleus. *J. Neurosci.* 12: 278-289, 1992.

Mehler, W. R., Feferman, M. E., and Nauta, W. J. Ascending axon degeneration following anterolateral cordotomy. An experimental study in the monkey. *Brain* 83: 718-750, 1960.

Mesulam, M. M., Mufson, E. J., Wainer, B. H., and Levey, A. I. Central cholinergic pathways in the rat: an overview based on an alternative nomenclature (Ch1-Ch6). *Neuroscience* 10: 1185-1201, 1983.

Metherate, R., and Ashe, J. H. Synaptic interactions involving acetylcholine, glutamate, and GABA in rat auditory cortex. *Exp. Brain Res.* 107: 59-72, 1995.

Milner, K. L., and Mogenson, G. J. Electrical and chemical activation of the mesencephalic and subthalamic locomotor regions in freely moving rats. *Brain Res.* 452: 273-285, 1988.

Mitani, A., Ito, K., Hallanger, A. E., Wainer, B. H., Kataoka, K., and McCarley, R. W. Cholinergic projections from the laterodorsal and pedunculopontine tegmental nuclei to the pontine gigantocellular tegmental field in the cat. *Brain Res.* 451: 397-402, 1988.

Moore, L. E., and Buchanan, J. T. The effects of neurotransmitters on the integrative properties of spinal neurons in the lamprey. *J. Exp. Biol.* 175: 89-114, 1993.

Moore, L. E., Hill, R. H., and Grillner, S. Voltage clamp analysis of lamprey neurons--role of N-methyl-D-aspartate receptors in fictive locomotion. *Brain Res.* 419: 397-402, 1987.

Morrisset, V., and Nagy, F. Ionic basis for plateau potentials in deep dorsal horn neurons of the rat spinal cord. *J. Neurosci.* 19: 7309-7316, 1999.

Nieuwenhuys, R. Topological analysis of the brain stem of the lamprey *Lampetra fluviatilis*. *J. Comp. Neurol.* 145: 165-177, 1972.

Nieuwenhuys, R. The brain of the lamprey in a comparative perspective. *Ann. N. Y. Acad. Sci.* 299: 97-145, 1977.

Noga, B. R., Kriellaars, D. J., and Jordan, L. M. The effect of selective brainstem or spinal cord lesions on treadmill locomotion evoked by stimulation of the mesencephalic or pontomedullary locomotor regions. *J. Neurosci.* 11: 1691-1700, 1991.

Northcutt, R. G. Central projections of the eighth cranial nerve in lampreys. *Brain Res.* 167: 163-167, 1979.

Northcutt, R. G. Experimental determination of the primary trigeminal projections in lampreys. *Brain Res.* 163: 323-327, 1979.

Ohta, Y., and Grillner, S. Monosynaptic excitatory amino acid transmission from the posterior rhombencephalic reticular nucleus to spinal neurons involved in the control of locomotion in lamprey. *J. Neurophysiol.* 62: 1079-1089, 1989.

Orlovsky, G. N., and Shik, M. L. Control of locomotion : A Neurophysiological analysis of the cat locomotor system. *Int. Rev. Physiol.* 10 :281-317, 1976.

Orlovsky, G. N., Deliagina, T. G., and Wallen, P. Vestibular control of swimming in lamprey. I. Responses of reticulospinal neurons to roll and pitch. *Exp. Brain Res.* 90: 479-488, 1992.

Parker, S. M., and Sinnamon, H. M. Forward locomotion elicited by electrical stimulation in the diencephalon and mesencephalon of the awake rat. *Physiol. Behav.* 31: 581-587, 1983.

Partridge, L. D., and Valenzuela, C. F. Ca^{2+} store-dependent potentiation of Ca^{2+} -activated non-selective cation channels in rat hippocampal neurones in vitro. *J. Physiol.* 521 Pt 3: 617-627, 1999.

Pavlova, E. L., and Deliagina, T. G. Responses of reticulospinal neurons in intact lamprey to pitch tilt. *J. Neurophysiol.* 88: 1136-1146, 2002.

Pavlova, E. L., and Deliagina, T. G. Asymmetry in the pitch control system of the lamprey caused by a unilateral labyrinthectomy. *J. Neurophysiol.* 89: 2370-2379, 2003.

Petropoulos, D., Lund, J. P., and Dubuc, R. A physiological study of brainstem and peripheral inputs to trigeminal motoneurons in lampreys. *Neuroscience* 91: 379-389, 1999.

Pflieger, J. F., and Dubuc, R. Relationship between vestibular primary afferents and vestibulospinal neurons in lampreys. *J. Comp. Neurol.* 427: 255-273, 2000.

Pombal, M. A., Marin, O., and Gonzalez, A. Distribution of choline acetyltransferase-immunoreactive structures in the lamprey brain. *J. Comp. Neurol.* 431: 105-126, 2001.

Pombal, M. A., Rodicio, M. C., and Anadon, R. Development and organization of the ocular motor nuclei in the larval sea lamprey, *Petromyzon marinus* L.: an HRP study. *J. Comp. Neurol.* 341: 393-406, 1994.

Porter, R. and Lemon, R. Corticospinal Function and voluntary Movement. Clarendon Press : Oxford, 1993.

Rho, M. J., Lavoie, S., and Drew, T. Effects of red nucleus microstimulation on the locomotor pattern and timing in the intact cat: a comparison with the motor cortex. *J. Neurophysiol.* 81: 2297-2315, 1999.

Ronan, M. Anatomical and physiological evidence for electroreception in larval lampreys. *Brain Res.* 448: 173-177, 1988.

Ronan, M., and Northcutt, R. G. Projections ascending from the spinal cord to the brain in petromyzontid and myxinoid agnathans. *J. Comp. Neurol.* 291: 491-508, 1990.

Ronan, M. C., and Bodznick, D. End buds: non-ampullary electroreceptors in adult lampreys. *J. Comp. Physiol. [A]* 158: 9-15, 1986.

Rovainen, C. M. Physiological and anatomical studies on large neurons of central nervous system of the sea lamprey (*Petromyzon marinus*). II. Dorsal cells and giant interneurons. *J. Neurophysiol.* 30: 1024-1042, 1967.

Rovainen, C. M. Physiological and anatomical studies on large neurons of central nervous system of the sea lamprey (*Petromyzon marinus*). I. Muller and Mauthner cells. *J. Neurophysiol.* 30: 1000-1023, 1967.

Rovainen, C. M. Synaptic interactions of reticulospinal neurons and nerve cells in the spinal cord of the sea lamprey. *J. Comp. Neurol.* 154: 207-223, 1974.

Rovainen, C. M. Neurobiology of lampreys. *Physiol. Rev.* 59: 1007-1077, 1979.

Rovainen, C. M. Neurophysiology. Volume 4a, 1er Ed., In : The Biology of Lampreys.

1-136. In : Hardisty, M.W., Potter, I.C. Eds. Academic Press : New York, 1982.

Rovainen, C. M. Effects of groups of propriospinal interneurons on fictive swimming in the isolated spinal cord of the lamprey. *J. Neurophysiol.* 54: 959-977, 1985.

Rubinson, K. The central distribution of VIII nerve afferents in larval *Petromyzon marinus*. *Brain Behav. Evol.* 10: 121-129, 1974.

Schwanzel-Fukuda, M., Morrell, J. I., and Pfaff, D. W. Localization of forebrain neurons which project directly to the medulla and spinal cord of the rat by retrograde tracing with wheat germ agglutinin. *J. Comp. Neurol.* 226: 1-20, 1984.

Segal, M., and Auerbach, J. M. Muscarinic receptors involved in hippocampal plasticity. *Life Sci.* 60: 1085-1091, 1997.

Shik, M. L., Orlovsky, G. N., and Severin, F.V. Organisation of locomotor synergism *Biofizika* 11 : 1011-1019, 1966.

Shik, M. L., Severin, F. V., and Orlovsky, G.N. Control of walking and running by means of electrical stimulation of the midbrain. *Biofizika* 11 :659-666, 1966.

Shik, M. L., Severin, F. V., and Orlovsky, G. N. Control of walking and running by means of electrical stimulation of the mesencephalon. *Electroencephalogr Clin. Neurophysiol.* 26: 549, 1969.

Shik, M. L., and Orlovsky, G. N. Neurophysiology of locomotor automatism. *Physiol. Rev.* 56: 465-501, 1976.

Sholomenko, G. N., Funk, G. D. and Steeves, J. D. Avian locomotion activated by brainstem infusion of neurotransmitter agonists and antagonists. II. gamma-Aminobutyric acid. *Exp. Brain Res.* 85: 674-681, 1991.

Sim, J. A., and Griffith, W. H. Muscarinic inhibition of glutamatergic transmissions onto rat magnocellular basal forebrain neurons in a thin-slice preparation. *Eur. J. Neurosci.* 8: 880-891, 1996.

Sinnamon, H. M. Preoptic and hypothalamic neurons and the initiation of locomotion in the anesthetized rat. *Prog. Neurobiol.* 41: 323-344, 1993.

Sirota, M. G., Di Prisco, G. V., and Dubuc, R. Stimulation of the mesencephalic locomotor region elicits controlled swimming in semi-intact lampreys. *Eur. J. Neurosci.* 12: 4081-4092, 2000.

Skinner, R. D., Kinjo, N., Henderson, V., and Garcia-Rill, E. Locomotor projections from the pedunculopontine nucleus to the spinal cord. *Neuroreport* 1: 183-186, 1990.

Steeves, J. D., and Jordan, L. M. Localization of a descending pathway in the spinal cord which is necessary for controlled treadmill locomotion. *Neurosci. Lett.* 20: 283-288, 1980.

Sugita, S., Uchimura, N., Jiang, Z. G., and North, R. A. Distinct muscarinic receptors inhibit release of gamma-aminobutyric acid and excitatory amino acids in mammalian brain. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 88: 2608-2611, 1991.

Takakusaki, K., Habaguchi, T., Ohtinata-Sugimoto, J., Saitoh, K., and Sakamoto, T. Basal ganglia efferents to the brainstem centers controlling postural muscle tone and locomotion: a new concept for understanding motor disorders in basal ganglia dysfunction. *Neuroscience* 119: 293-308, 2003.

Ullén, F., Deliagina, T. G., Orlovsky, G. N., and Grillner, S. Visual pathways for postural control and negative phototaxis in lamprey. *J. Neurophysiol.* 78: 960-976, 1997.

Ullén, F., Deliagina, T. G., Orlovsky, G. N., and Grillner, S. Visual potentiation of vestibular responses in lamprey reticulospinal neurons. *Eur. J. Neurosci.* 8: 2298-307, 1996.

Ullén, F., Eacute, F., Deliagina, T., Orlovsky, G., and Grillner, S. Spatial orientation in the lamprey. I. Control of pitch and roll. *J. Exp. Biol.* 198: 665-73, 1995.

Ullén, F., Eacute, F., Deliagina, T., Orlovsky, G., and Grillner, S. Spatial orientation in the lamprey. II. Visual influence on orientation during locomotion and in the attached state. *J. Exp. Biol.* 198: 675-681, 1995.

Ullén, F., Orlovsky, G. N., Deliagina, T. G., and Grillner, S. Role of dermal photoreceptors and lateral eyes in initiation and orientation of locomotion in lamprey. *Behav. Brain Res.* 54: 107-110, 1993.

Van der Zee, E. A., Compaan, J. C., Bohus, B., and Luiten, P. G. Alterations in the immunoreactivity for muscarinic acetylcholine receptors and colocalized PKC gamma in mouse hippocampus induced by spatial discrimination learning. *Hippocampus* 5: 349-62, 1995.

Van der Zee, E. A., de Jong, G. I., Strosberg, A. D., and Luiten, P. G. Parvalbumin-positive neurons in rat dorsal hippocampus contain muscarinic acetylcholine receptors. *Brain Res. Bull.* 27: 697-700, 1991.

Van der Zee, E. A., and Luiten, P. G. Muscarinic acetylcholine receptors in the hippocampus, neocortex and amygdala: a review of immunocytochemical localization in relation to learning and memory. *Prog. Neurobiol.* 58: 409-471, 1999.

Van der Zee, E. A., Strosberg, A. D., Bohus, B., and Luiten, P. G. Colocalization of muscarinic acetylcholine receptors and protein kinase C gamma in rat parietal cortex. *Brain Res. Mol. Brain Res.* 18: 152-162, 1993.

Viana Di Prisco, G., Ohta, Y., Bongiani, F., Grillner, S., and Dubuc, R. Trigeminal inputs to reticulospinal neurones in lampreys are mediated by excitatory and inhibitory amino acids. *Brain Res.* 695: 76-80, 1995.

Viana Di Prisco, G., Pearlstein, E., Le Ray, D., Robitaille, R., and Dubuc, R. A cellular mechanism for the transformation of a sensory input into a motor command. *J. Neurosci.* 20: 8169-8176, 2000.

Viana Di Prisco, G., Pearlstein, E., Robitaille, R., and Dubuc, R. Role of sensory-evoked NMDA plateau potentials in the initiation of locomotion. *Science* 278: 1122-1125, 1997.

Vinay, L., Bussières, N., Shupliakov, O., Dubuc, R., and Grillner, S. Anatomical study of spinobulbar neurons in lampreys. *J. Comp. Neurol.* 397: 475-492, 1998.

Vinay, L., and Grillner, S. The spino-reticulo-spinal loop can slow down the NMDA-activated spinal locomotor network in lamprey. *Neuroreport* 4: 609-612, 1993.

Waburton, E.C., Koder, T., Cho, K., Massey, P.V., Duguid, G., Barker, G.R., Aggleton, J.P., Bashir, Z.I. and Brown, M.W. Cholinergic neurotransmission is

essential for perirhinal cortical plasticity and recognition memory. *Neuron* 38: 987-996, 2003.

Wallén, P. Sensorimotor integration in the lamprey locomotor system. *Eur. J. Morphol.* 32: 168-175, 1994.

Wallén, P., Grillner, S., Feldman, J. L., and Bergelt, S. Dorsal and ventral myotome motoneurons and their input during fictive locomotion in lamprey. *J. Neurosci.* 5: 654-661, 1985.

Wallén, P., and Williams, T. L. Fictive locomotion in the lamprey spinal cord in vitro compared with swimming in the intact and spinal animal. *J. Physiol.* 347: 225-239, 1984.

Wannier, T., Deliagina, T. G., Orlovsky, G. N., and Grillner, S. Differential effects of the reticulospinal system on locomotion in lamprey. *J. Neurophysiol.* 80: 103-112, 1998.

Wannier, T., Orlovsky, G., and Grillner, S. Reticulospinal neurones provide monosynaptic glycinergic inhibition of spinal neurones in lamprey. *Neuroreport* 6: 1597-1600, 1995.

Wickelgren, W. O. Physiological and anatomical characteristics of reticulospinal neurones in lamprey. *J. Physiol.* 270: 89-114, 1977.

Woolf, N. J. Cholinceptive cells in rat cerebral cortex: somatodendritic immunoreactivity for muscarinic receptor and cytoskeletal proteins. *J. Chem. Neuroanat.* 6: 375-390, 1993.

Zelenin, P. V., Grillner, S., Orlovsky, G. N., and Deliagina, T. G. Heterogeneity of the population of command neurons in the lamprey. *J. Neurosci.* 21: 7793-7803, 2001.

Zhang, L., and Warren, R. A. Muscarinic and nicotinic presynaptic modulation of EPSCs in the nucleus accumbens during postnatal development. *J. Neurophysiol.* 88: 3315-3330, 2002.

Zheng, F., and Johnson, S. W. Metabotropic glutamate and muscarinic cholinergic receptor-mediated preferential inhibition of N-methyl-D-aspartate component of transmissions in rat ventral tegmental area. *Neuroscience* 116: 1013-1020, 2003.

Zompa, I. C., and Dubuc, R. A mesencephalic relay for visual inputs to reticulospinal neurones in lampreys. *Brain Res.* 718: 221-227, 1996.