

Université de Montréal

Modulation de l'activité respiratoire par la locomotion chez la lamproie

Par
Johannie Gravel

Département de physiologie

Faculté de médecine

Mémoire présenté à la Faculté des études supérieures
en vue de l'obtention du grade de Maître es Sciences (M.Sc.)
en sciences neurologiques

décembre, 2005

©, Johannie Gravel, 2005



W

4

U58

2006

V.063

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.

Université de Montréal
Faculté des études supérieures

Ce mémoire intitulé :

Modulation de l'activité respiratoire par la locomotion chez la lamproie

présenté par :
Johannie Gravel

a été évalué par un jury composé des personnes suivantes :

Arlette Kolta
président-rapporteur

Réjean Dubuc
directeur de recherche

James P. Lund
Codirecteur

Serge Rossignol
membre du jury

Résumé en français

Chez les vertébrés, la locomotion est associée à des changements respiratoires. Les mécanismes par lesquels cela se produit sont encore mal connus. Afin d'étudier ces changements, nous avons utilisé la préparation semi-intacte de lamproie adulte *Petromyzon marinus*. Chez cet animal, les comportements respiratoires et locomoteurs peuvent être enregistrés simultanément. La respiration fictive spontanée a été enregistrée grâce à des électrodes de succion aux noyaux moteurs IX (glossopharyngien) ou X rostral (vague). Les épisodes locomoteurs, caractérisés par des mouvements oscillatoires symétriques de la queue (enregistrements électromyographiques) ont été induits par une stimulation mécanique de la peau de la queue ou de la tête de l'animal. La fréquence respiratoire ainsi que l'intégrale des décharges motrices augmentent significativement (respectivement $81.6 \pm 28.6 \%$ et $62.8 \pm 25.4 \%$) durant la locomotion ($P < 0.05$). Le rythme respiratoire revient à sa fréquence de base en une moyenne de 92.1 ± 51.4 s après la fin de l'épisode de nage. Une modification du rythme respiratoire a été observée précédant de 3.5 ± 2.6 s le début de la nage lors d'épisodes de locomotion spontanée. Ceci suggère que les premiers changements respiratoires seraient anticipatoires et non causés par la rétroaction due à la locomotion. De plus, l'augmentation de la fréquence respiratoire lors de la nage induite par stimulation cutanée persiste en l'absence des régions rostrales au rhombencéphale et dans le rhombencéphale isolé. Ces résultats suggèrent, quant à eux, que des mécanismes rhombencéphaliques seraient en jeu.

Mots-clés: Activité respiratoire, *Petromyzon marinus*, respiration fictive, épisodes locomoteurs spontanés, rhombencéphale.

Résumé en anglais

In vertebrates, locomotion is associated with changes in the respiratory rhythm, but the mechanisms by which this occurs are still unknown. To examine this, we have used a semi-intact preparation of young adult lampreys, *Petromyzon marinus*, in which respiratory and locomotor behaviours can be recorded simultaneously with the activity of the underlying neural control systems. Spontaneous fictive respiration was recorded with suction electrodes positioned over the IX (glossopharyngeal) or the rostral X (vagal) motor nucleus. Locomotor episodes, characterized by symmetrical tail movements (EMG recordings) in the semi-intact preparation, were evoked by mechanical stimulation of the skin of the tail or the head. The mean respiratory frequency and the mean area of motor bursts were significantly increased ($81.6 \pm 28.6 \%$ and $62.78\% \pm 25.4 \%$ respectively) during locomotion ($P < 0.05$). The mean respiratory frequency returned to normal 92.1 ± 51.4 s after the end of locomotion. It was found that a modification in respiratory activity preceded the onset of spontaneous locomotion by 3.5 ± 2.6 s. This suggests that the early respiratory changes are anticipatory, and are not caused by feedback generated by locomotion. Furthermore, the increase in respiratory frequency during locomotion induced by mechanical stimulation persisted after removal of the mesencephalon. The changes in the respiratory activity were also present in the isolated rhombencephalon. The results suggest that respiratory changes are pre-programmed in order to adjust ventilation prior to motor activity, and that a central rhombencephalic mechanism is involved.

Key words: respiratory pattern, *Petromyzon marinus*, fictive respiration, spontaneous locomoteur bout, rhombencephalon.

Table des matières

Page de titre.....	I
L'identification du jury.....	II
Résumé en français et mots-clés français.....	III
Résumé en anglais et mots-clés anglais.....	V
Table des matières.....	VII
Liste des figures.....	IX
Liste des abréviations.....	XII
Remerciements.....	XIII
Introduction.....	1
Revue de littérature.....	2
1. Respiration.....	2
1.1 L'origine de l'appareil respiratoire.....	2
1.2 Le contrôle nerveux de la respiration.....	5
1.3 Physiologie générale de la respiration chez la lamproie.....	17
1.4 Mécanismes nerveux de la respiration chez la lamproie.....	18
2. Locomotion chez la lamproie.....	25
2.1 Le contrôle locomoteur.....	25
2.2 La locomotion induite par stimulation cutanée.....	26
2.3 La locomotion dirigée vers un but.....	30
3. Relation respiration-locomotion : revue générale	32
3.1 Survol historique.....	32
3.2 Les facteurs humoraux.....	33

3.3 Les facteurs neurogéniques.....	35
3.3.1 Mécanismes de feedforward : le cortex.....	36
3.3.2 Mécanismes de feedforward : l'hypothalamus.....	38
3.3.3 Interaction directe entre les CPGs locomoteurs et les centres respiratoires.....	40
3.3.4 Influence des afférences périphériques.....	48
Conclusion.....	56
Article 1.....	58
List of abbreviations	62
Abstract.....	63
Introduction.....	65
Methods.....	68
Results.....	71
Discussion.....	78
References.....	86
Figures legends.....	92
Figures.....	97
Discussion.....	112
Conclusion.....	123
Bibliographie.....	124

Liste des figures

Figures de la revue de littérature

Figure 1 : Pompe buccale chez une larve de Tunicien (classe des Urocordés).....	3
Figure 2 : Évolution des mâchoires chez les vertébrés.....	4
Figure 3 : Modèle d'interactions entre les différents types neuronaux permettant la génése de la respiration.....	7
Figure 4 : Principales structures impliquées dans le contrôle de la respiration.....	10
Figure 5 : Représentations schématiques des principales structures impliquées dans la génése du rythme respiratoire chez les mammifères	12
Figure 6 : Influences nerveuses et chimiques s'exerçant sur les centres respiratoires du bulbe rachidien.....	15
Figure 7 : Principales structures impliquées dans la respiration chez la lamproie...	19
Figure 8 : Respiration uni ou bidirectionnelle observée chez la larve et chez l'adulte lamproie.....	20
Figure 9 : Schéma illustrant les noyaux moteurs VII, IX et X dans le tronc cérébral d'une lamproie adulte ainsi que le patron d'innervation des branchies 1 à 7 par les nerfs crâniens VII, IX et X.....	23
Figure 10 : Hypothèse des mécanismes impliqués dans la génése des plateaux de dépolarisation dans les cellules réticulospinales.....	29
Figure 11 : Principales structures impliquées dans le contrôle nerveux de la locomotion chez la lamproie.....	31
Figure 12 : Schéma illustrant une hypothèse des interactions centrales directes entre les différents CPGs impliqués dans la respiration et la locomotion.....	44

Figure 13 : Hypothèse du piston viscéral.....	54
---	----

Figures de l'article

Figure 1: Effect of sensory-evoked locomotion on the respiratory activity.....	97
Figure 2: Initial changes in the respiratory pattern occurring shortly after cutaneous stimulation that elicited a locomotor bout.....	98
Figure 3: Characteristics of respiratory changes elicited during sensory-evoked locomotion as compared to the rest state.....	99
Figure 4: Changes in the respiratory frequency illustrated for repeated locomotor trials in one preparation.....	100
Figure 5: Comparison of the instantaneous respiratory and locomotor frequencies in one locomotor bout.....	101
Figure 6: Comparison between the respiratory frequency before and during 21 locomotor trials in 11 preparations.	102
Figure 7: Comparison between the respiratory frequency during locomotion and the locomotor frequency during 21 locomotor trials in 11 preparations.....	103
Figure 8: Respiratory activity gradually returns to resting levels after a locomotor bout.....	104
Figure 9: Changes in the respiratory activity during spontaneous locomotion. ...	105
Figure 10: Distribution of the delays between the first signs of change in the respiratory pattern and the onset of locomotion (time = 0).....	106
Figure 11: Characteristics of respiratory changes during spontaneous locomotion bouts as compared to rest.....	107

Figure 12: After a spontaneous locomotor bout, the time required for the respiratory frequency to return to the resting levels depends on the duration of that locomotor bout.....108

Figure 13: Changes in respiratory activity induced by sensory-evoked locomotion, before and after the removal of the mesencephalon.....109

Figure 14: Changes in respiratory activity produced by sensory-evoked locomotion, before removal of the spinal cord compared to the changes produced by a stimulation that normally produces locomotion, after removal of the spinal cord.....110

Figure 15: Changes in respiratory activity seen after a cutaneous stimulation that normally produces locomotion, after removal of both the mesencephalon and spinal cord.....111

Liste des abréviations

5-HT : Sérotonine

ACh : Acétylcholine

AMPA : Acide α -amino-3-hydroxy-5-méthyl-4-isoxanole propionique

CPG : Central pattern generator (générateur central de rythme)

GABA : Acide gamma-aminobutyrique

MLR : Mesencephalic locomotor region (région locomotrice mésencéphalique)

MRRN : Middle rhombencephalic reticular nucleus (noyau réticulaire rhombencéphalique moyen)

NMDA : N-méthyl-D-aspartate

PRRN : Posterior rhombencephalic reticular nucleus (noyau réticulaire rhombencéphalique postérieur)

RS : Réticulospinal

Remerciements

Je tiens d'abord à remercier Dr Réjean Dubuc et Dr James P. Lund. pour la direction de mes recherches.

Je tiens également à remercier tous mes collègues de laboratoire qui m'ont apporté aide et soutien tout au long de ma maîtrise: Mme Danielle Veilleux, technicienne de laboratoire, Dr Frédéric Brocard, M. François Auclair, Dr Myriam Antri, Mme Karine Fénelon, M. Bruno Martel et Mme Céline Bourcier.

J'aimerais également remercier mes parents qui ont su me transmettre leur désir de connaissances nouvelles et qui m'ont encouragé tout au long de mes études. Je désire finalement remercier mon fiancé d'avoir été à mes côtés ces dernières années.

Introduction

La locomotion et la respiration sont deux importantes fonctions du vivant. La locomotion permet aux animaux de fuir face à un danger potentiel, de chercher de la nourriture ou encore un abri, d'entrer en relation avec d'autres animaux, etc. La respiration, quant à elle, est nécessaire à tout organisme vivant afin d'assurer à celui-ci un apport adéquat en oxygène, gaz essentiel à la vie. Elle permet également de se débarrasser du dioxyde de carbone, produit lors de la respiration cellulaire, et ainsi de maintenir l'homéostasie. Bien peu de chercheurs se sont aventurés à étudier au niveau du système nerveux la relation qui existe entre ces deux grandes fonctions et ce, malgré leur caractère essentiel à la vie. Les quelques chercheurs qui s'y sont intéressés ont notamment voulu savoir si le mouvement pouvait influencer le rythme respiratoire. Lorsqu'il s'est avéré que cela était le cas, ils ont voulu savoir par quels mécanismes cela se produisait et quelles étaient les structures impliquées. De nos jours encore, il reste bien des choses inconnues sur le phénomène de l'hyperpnée reliée à la locomotion. C'est afin de mieux comprendre celui-ci que j'ai tenté durant ma maîtrise d'étudier ce phénomène chez un vertébré au système nerveux simple, la lamproie.

Revue de littérature

1. La respiration

1.1 L'origine de l'appareil respiratoire des vertébrés

Les mécanismes respiratoires ainsi que les structures sous-jacentes à cette fonction ont évolué progressivement à travers le temps, permettant aux diverses espèces de mieux s'adapter à leur environnement. Chez les cordés les plus primitifs, comme par exemple chez les urocordés, l'eau, chargée de particules de nourriture en suspension, pénètre par la bouche pour être rejetée par des fentes pharyngées. Des cils facilitent la création de ce courant unidirectionnel ainsi que la capture de la nourriture. Ces éléments constituent une pompe buccale (figure 1). La respiration est alors principalement cutanée, c'est-à-dire que les gaz respiratoires diffusent librement à travers la peau de l'organisme.

Chez les vertébrés, certains éléments de la bouche se sont modifiés avec le temps afin de mieux s'adapter à l'environnement. Une pompe buccale musculaire est apparue, ce qui a permis une augmentation de la quantité d'eau chargée de nourriture par unité de temps qui entrainait par la bouche de l'animal. Les arcs branchiaux qui soutenaient les fentes pharyngées se sont progressivement changés en mâchoires articulées, permettant ainsi un nouveau mode de nutrition, la prédation (figure 2). Ce genre d'alimentation nécessitait une plus grande dépense énergétique puisque ces animaux devaient aller activement vers leurs proies. Il a donc fallu développer un système d'échanges gazeux plus efficace. Les fentes pharyngées se sont transformées en réelles branchies et la pompe buccale était

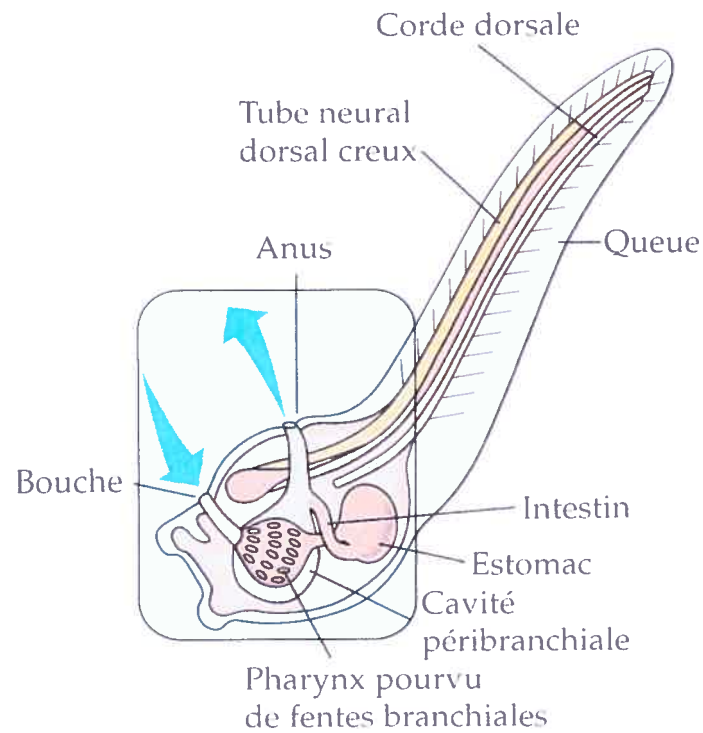


Figure 1. Pompe buccale chez une larve de Tunicien (classe des Urochordés). Cet animal, qui nage librement, se nourrit par filtration. L'eau pénètre par la bouche. En passant par le pharynx, les particules de nourriture sont filtrées par les fentes branchiales et acheminées vers les intestins. L'eau ainsi dépourvue de nourriture passe alors à la cavité péribranchiale puis est rejetée par l'anus ainsi que les déchets de la digestion (Adaptée de Campbell, 1995).

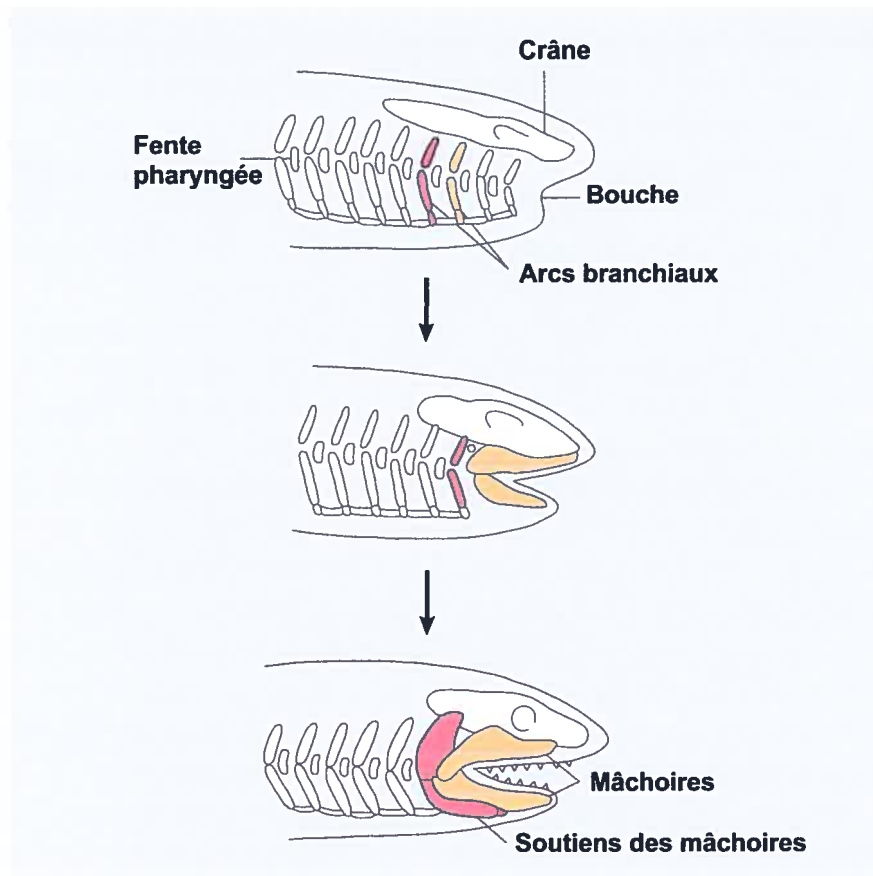


Figure 2. Évolution des mâchoires chez les vertébrés. La mâchoire provient de la transformation de deux paires d'arcs branchiaux situés entre les fentes branchiales (en jaune sur le graphique). Les arcs branchiaux situés antérieurement à cette paire se sont incorporés à la mâchoire. Une autre paire d'arcs (illustrée en rouge) s'est transformée et est devenue une structure de soutien pour la mâchoire (Adaptée de Campbell, 1995).

dorénavant activée par des muscles innervés par les nerfs trigéminal et facial. C'est ainsi que le passage de l'eau de la bouche vers les fentes pharyngées qui servait à l'origine à l'alimentation avait maintenant pour fonction de favoriser les échanges gazeux. Chez les vertébrés terrestres, cette pompe a été remplacée par une pompe aspiratoire impliquant divers muscles de la cage thoracique, de l'abdomen et pour certains le diaphragme. Ces muscles sont innervés par des nerfs spinaux (voir Milsom et al., 2004, pour une revue sur le sujet).

1.2 Le contrôle nerveux de la respiration

L'étude d'embryons de poulet nous a permis de mieux connaître l'ontogénèse des générateurs de rythme du tronc cérébral. On observe les premières décharges rythmiques dès la fin de la période de segmentation. Il s'agit alors de périodes de décharges récurrentes qui ont lieu simultanément dans tous les nerfs crâniens. Suite à des coupes transverses dont l'objectif est l'isolement des différents segments du tronc cérébral, un patron rythmique est toujours observable dans chaque tranche. Les rythmes varient d'une tranche à l'autre, probablement à cause des différences existant entre les propriétés intrinsèques des neurones des différents rhombomères. De façon générale, les segments les plus rostraux semblent posséder un rythme plus rapide. Chaque rhombomère de l'embryon posséderait donc une capacité intrinsèque à générer un rythme alors que chez l'adulte, seuls des sites bien précis possèdent cette capacité (Champagnat et Fortin, 1997).

Chez les mammifères, la région spécifique que l'on considère généralement comme le générateur primaire de rythme de la respiration est le complexe

preBötzinger (préBötC). Il a été identifié notamment grâce à des coupes successives du tronc cérébral de rats nouveaux-nés. Des coupes dans l'axe rostro-caudal n'affectent pas le rythme jusqu'au niveau de la partie caudale du noyau rétrofacial où le rythme est alors perturbé, voire aboli, tout dépendant du niveau rostro-caudal exact de la lésion. Il a été déduit de ces travaux que le préBötC est situé dans la partie ventrale du bulbe rachidien, caudale au noyau préfacial, rostral au groupe respiratoire ventral rostral (Smith et al., 1991). Les neurones du préBötC sont capables de générer un rythme en absence de toutes afférences et produisent un output moteur régulier. Ce rythme, issu d'une tranche contenant les neurones du complexe préBötzinger est comparable à celui obtenu sur un tronc cérébral isolé *in vitro*. Certains auteurs restent plus prudents et définissent une zone plus élargie comme pouvant contenir le générateur de la respiration. Celui-ci serait situé à l'intérieur des limites du bulbe rachidien ventrolatéral qui lui-même contient, soit partiellement, soit totalement, le complexe préBötzinger (Ballanyi et al., 1999). De plus, ces mêmes auteurs sont d'avis que le réseau respiratoire contient à la fois un générateur central de rythme (ou générateur de rythme respiratoire) et un générateur de patron de l'inspiration (figure 3).

D'un point de vue neurologique, le cycle respiratoire est divisé en 3 phases, soit l'inspiration, la post-inspiration et l'expiration. Des neurones ayant des patrons de décharges très différents ont été étudiés dans la partie ventrolatérale du bulbe rachidien (incluant le groupe respiratoire ventral et, au moins partiellement, le complexe préBötzinger) dans la préparation tronc cérébral-moelle épinière d'un rat

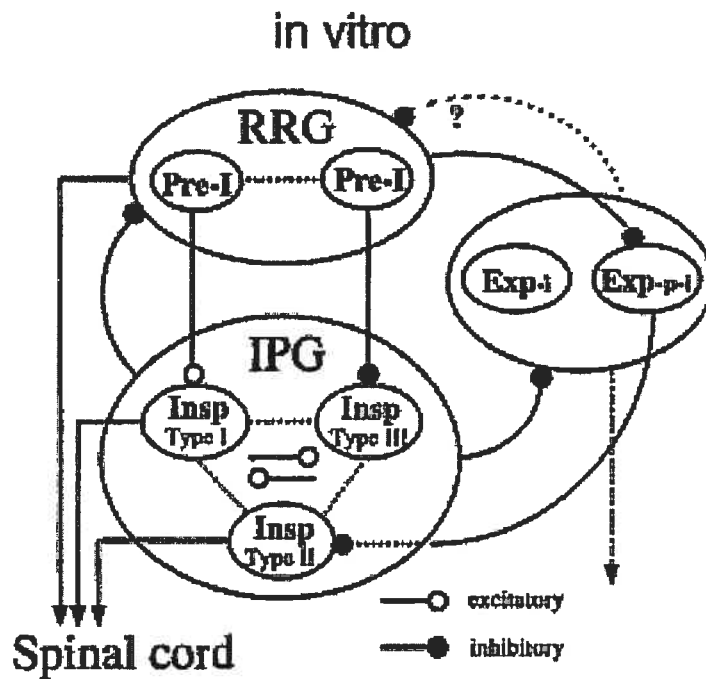


Figure 3. Modèle d'interactions entre les différents types neuronaux permettant la genèse de la respiration. Le générateur de rythme de la respiration (RRG) est situé dans la partie rostrale du bulbe rachidien ventrolatéral et est composé de neurones de type pré-inspiratoire. Le générateur du patron de l'inspiration (IPG), situé quant à lui au niveau de la partie caudale du bulbe rachidien ventrolatéral est constitué de neurones de type inspiratoire (Adapté de Onimaru et al., 1997).

nouveau-né. (Ballanyi et al., 1999). L'activité des neurones inspiratoires est caractérisé par un patron de décharges intense survenant en même temps que la bouffée respiratoire dont l'activité peut être monitorée grâce à un enregistrement d'un nerf spinal (niveau C4). On peut séparer ces cellules en trois classes : les neurones pré-inspiratoires (pré-I), les neurones inspiratoires (Insp) et les neurones expiratoires (Exp). Chacune de ces classes de neurones peut elle-même être divisée en plusieurs types de neurones ayant chacun un patron de décharge particulier. De façon générale, les neurones pré-inspiratoires commencent à décharger avant le début de l'inspiration et leur activité cesse après la fin de celle-ci. Finalement, les neurones expiratoires déchargent de façon continue mais sont hyperpolarisés pendant l'inspiration. Ils ne déchargent donc pas pendant cette partie du cycle respiratoire. Les interactions synaptiques mutuelles existant entre ces différents types et sous-types de neurones sont complexes et seraient à la base de la rythmogénèse de la respiration (figure 3). Des analyses de corrélations croisées ont démontré que les différentes phases du cycle respiratoire (l'inspiration, la post-inspiration et l'expiration) dépendent de ces interactions (Ezure, 1990; Bianchi et al., 1995).

Parmi les neurones inspiratoires du préBötC, on retrouve des neurones inspiratoires de type I et de type II (Rekling et al., 1996). Les neurones de type I pourraient jouer un rôle majeur dans la rythmogénèse de la respiration. D'abord, ce sont les premiers à montrer une activité au moment de la phase inspiratoire du cycle respiratoire. De plus, ces cellules possèdent des propriétés membranaires intrinsèques propres aux neurones rythmogéniques, notamment une

hyperpolarisation prolongée. Des enregistrements intracellulaires de motoneurones du nerf hypoglosse (XII, responsables des contractions de la langue liées à la respiration) et de neurones inspiratoires de type-1 du préBotC ont démontré que certains de ces neurones (motoneurones et inspiratoires de type-1) étaient couplés électriquement de façon bidirectionnelle. Ce couplage est possible grâce à des jonctions gap. Entre les neurones inspiratoires de type-1, on observe des synapses chimiques ne permettant qu'un influx unidirectionnel. Les auteurs ont proposé que le couplage chimique pouvait favoriser la genèse de la décharge inspiratoire alors que le couplage électrique pouvait, quant à lui, favoriser la synchronisation et l'amplification des oscillations respiratoires (Rekling et al., 2000). Ces neurones de type-I recevraient probablement des inputs synaptiques excitateurs provenant des cellules pré-inspiratoires (figure 3).

Chez les vertébrés, plusieurs régions de la formation réticulée du bulbe rachidien jouent un rôle important dans la genèse du rythme respiratoire (figure 4). Une première région est appelée groupe respiratoire dorsal (DRG). Ces neurones sont situés dans la portion dorsale de la formation réticulée à la racine du nerf crânien IX (glossopharyngien). La plupart de ces neurones font partie du noyau du tractus solitaire (NTS). Le DRG joue un rôle important dans le contrôle de l'inspiration. Des études anatomiques et électrophysiologiques ont démontré que les neurones de type inspiratoire du DRG projettent vers les interneurones inspiratoires et les motoneurones respiratoires de la moelle épinière. Certains neurones projettent également vers d'autres neurones du DRG ou encore du groupe respiratoire ventral (VRG) qui sera décrit au paragraphe suivant (Merrill, 1981; Bianchi et al., 1995).

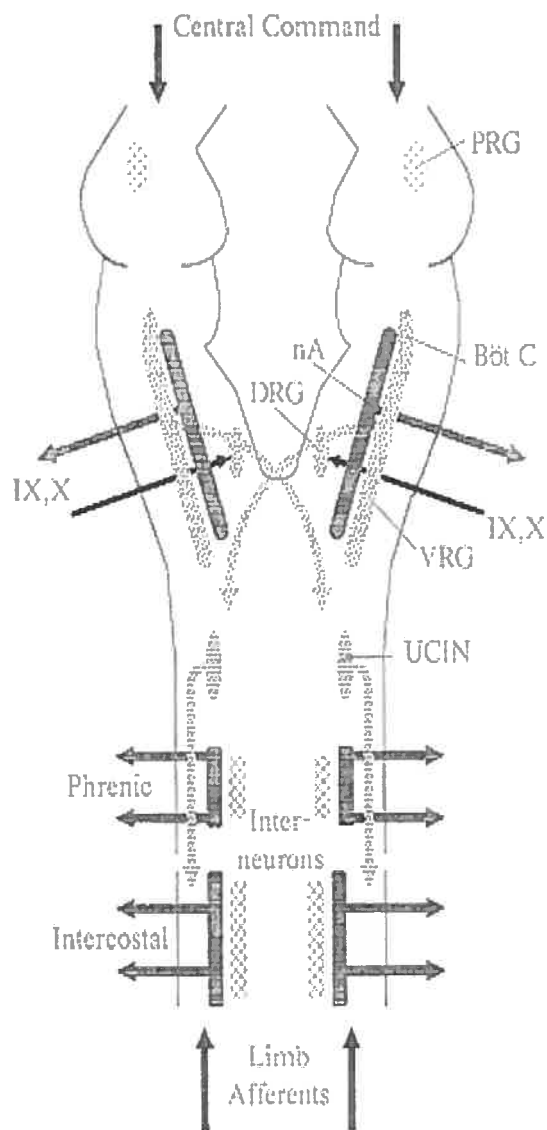


Figure 4. Principales structures impliquées dans le contrôle de la respiration. PRG, groupe respiratoire pontique; Böt C, Complexe Bötzingier; nA, noyau ambigu (contenant les motoneurones des nerfs IX et X); DRG, groupe respiratoire dorsal; IX, nerf glossopharyngien; X, nerf vague; VRG, groupe respiratoire ventral; UCIN, neurones inspiratoires cervicaux supérieurs (D'après Mateika et Duffin, 1995).

Une deuxième région impliquée dans la genèse du rythme respiratoire est le groupe respiratoire ventral (VRG) dans la portion ventrale du tronc cérébral. Cette région s'étend de la moelle épinière jusqu'à la jonction entre le bulbe rachidien et la protubérance. Le VRG est composé de trois types de neurones (pré-I, I et Exp) et leur emplacement coïncide avec le noyau ambigu (NA) et le noyau rétroambigu (Bianchi et al., 1995). Dans la partie rostrale du VRG, on retrouverait surtout des neurones pré-moteurs expiratoires (Shen et Duffin, 2002) qui projetteraient vers la moelle épinière thoracique et lombaire (Miller et al., 1985). Dans la partie rostrale du VRG, on retrouverait majoritairement des neurones pré-moteurs inspiratoires (Stornetta et al., 2003).

Certains groupes neuronaux situés dans la protubérance agissent sur les groupes respiratoires du bulbe rachidien pour moduler le rythme respiratoire. Le noyau parabrachial médian (NPBM) et le noyau Kölliker-Fuse forment le groupe respiratoire pontique, anciennement connu sous le nom de centre pneumotaxique (Bianchi et al., 1995). Ce groupe peut contribuer à mettre fin à la phase inspiratoire en transmettant des signaux vers les centres inspiratoires bulbaires et ce, en absence de rétroaction provenant des poumons. Ce groupe permettrait également d'ajuster la respiration suite à certains facteurs externes, tels la température, les odeurs ou une situation menaçante (Bianchi et al., 1995) (Figure 5).

Ces différents centres respiratoires projettent à la moelle épinière et aux noyaux moteurs des nerfs crâniens V (trijumeau), VII (facial), IX

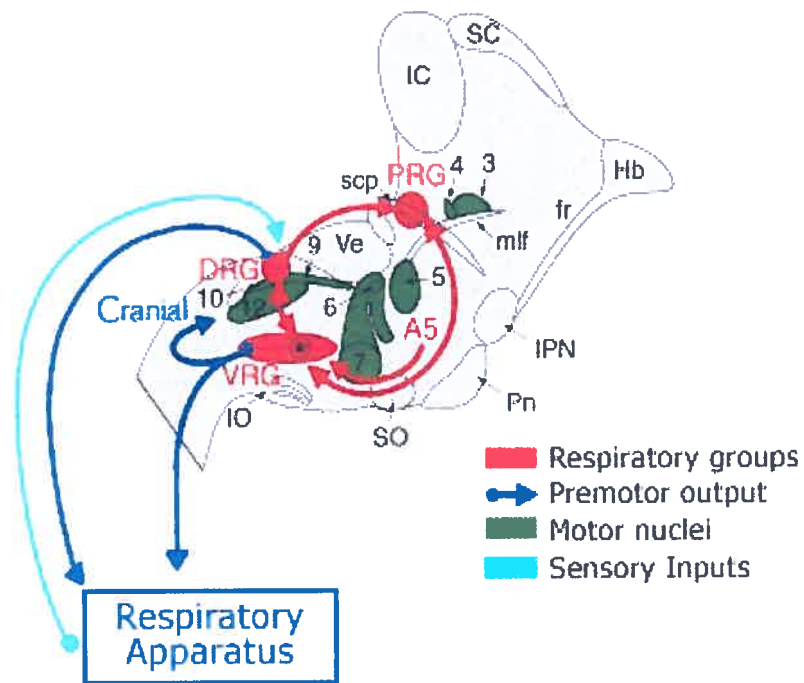


Figure 5 : Représentation schématique des principales structures impliquées dans la genèse du rythme respiratoire chez les mammifères. Les groupes respiratoires ventral (VRG), dorsal (DRG) et pontique (PRG) sont illustrés en rouge. Les efférences des neurones prémoteurs sont en bleu foncé. Les noyaux moteurs sont illustrés en vert et les afférences sensorielles en bleu pâle (adaptée de Champagnat et Fortin, 1997).

(glossopharyngien), X (vague) ou XII (grand hypoglosse), dépendamment de l'espèce (Milsom et al., 2004). Par exemple, chez la lamproie et de façon générale chez les amphibiens, ces centres projettent aux noyaux moteurs VII, IX et X (Milsom et al., 2004). Chez les mammifères, les muscles intercostaux externes et internes ainsi que le diaphragme sont innervés par des nerfs spinaux alors que les nerfs crâniens V, VII et XII innervent des structures également impliquées dans l'activité respiratoire comme les muscles de la mastication et la langue.

Le CPG respiratoire (générateur central de patron), aussi appelé CRG (générateur central de rythme), est défini différemment selon les auteurs. Smith et ses collaborateurs (1991) limitent le CPG respiratoire à la région du préBötzc, défini précédemment. D'autres auteurs élargissent la localisation du CPG à tout le réseau respiratoire du tronc cérébral (comprenant les VRG, DRG et PRG) (St-John, 1999; Bianchi et al., 1995). Dans les paragraphes qui suivront, nous utiliserons le terme CPG en faisant référence au réseau du tronc cérébral défini par St-John et Bianchi. Différents neurotransmetteurs sont impliqués dans la régulation du rythme respiratoire au niveau du CPG respiratoire. Trois acides aminés en font partie. On retrouve d'abord du glutamate qui agit à l'intérieur du CPG. Celui-ci active des récepteurs AMPA ainsi que des récepteurs NMDA. Le GABA et la glycine, quant à eux, sont impliqués dans l'inhibition que l'on retrouve entre les différents groupes de neurones à l'intérieur du CPG (Bianchi et al., 1995). Certains neurotransmetteurs, provenant de neurones qui ne font pas partie du CPG mais qui y projettent, modulent également le rythme respiratoire. C'est entre autre le cas de l'acétylcholine (ACh) qui régule, du moins en partie, la fréquence respiratoire au

niveau du préBötC. Les récepteurs cholinergiques principalement en jeu sont les récepteurs muscariniques de type-3, bien que les neurones respiratoires possèdent à la fois des récepteurs muscariniques et nicotiniques (Shao et Feldman, 2005). L'ACh jouerait également un rôle au niveau des noyaux moteurs où ce neurotransmetteur influencerait la durée et l'amplitude des bouffées inspiratoires. Cet effet serait davantage dépendant des récepteurs muscariniques que des récepteurs nicotiniques (Shao et Feldman, 2005). Au niveau des amines biogènes, la sérotonine (5-HT) influencerait indirectement la ventilation en interagissant avec d'autres neuromodulateurs, bien que ces interactions soient peu connues à ce jour (Bianchi et al., 1995). La dopamine a également un effet indirect sur la ventilation en activant les chimiorécepteurs présents dans les corpuscules carotidiens (Zapata et al. 1982). L'adrénaline et la noradrénaline stimulent la ventilation par leur effet sur le tronc cérébral (Denavit-Saubié et al., 1980). Finalement, les neuropeptides opioïdes ralentissent la ventilation en réduisant la transmission glutamatergique (Bianchi et al., 1995).

De nombreux facteurs peuvent moduler la respiration (figure 6). Par exemple, l'hypothalamus peut envoyer des signaux aux centres respiratoires afin de moduler la fréquence ou l'amplitude des bouffées respiratoires. C'est le cas, par exemple, lorsqu'un individu ressent des émotions fortes, de la douleur ou si son corps subit un refroidissement brutal. Le rythme respiratoire peut aussi être modulé volontairement par le sujet pour un court laps de temps, ce qui implique les centres corticaux. En périphérie, l'expansion des poumons lors de l'inspiration active des mécanorécepteurs qui envoient des signaux inhibiteurs au bulbe rachidien. Cela a

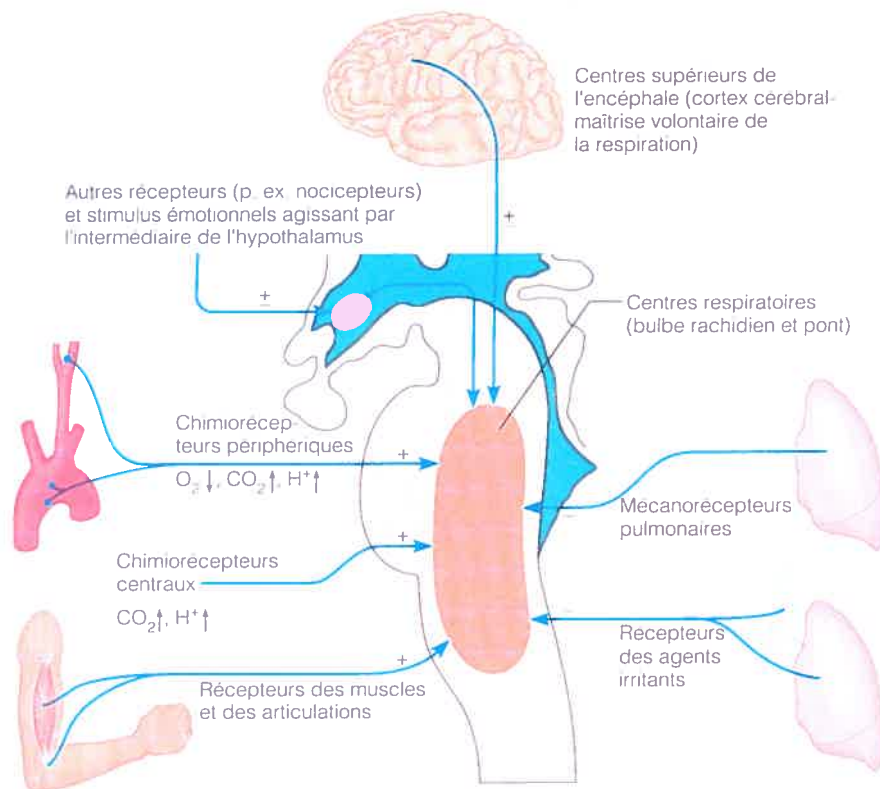


Figure 6. Influences nerveuses et chimiques s'exerçant sur les centres respiratoires du bulbe rachidien. Certains influx afférents provenant des mécanorécepteurs des muscles et des articulations ainsi que des chimiorécepteurs centraux et périphériques ont un effet excitateur sur les centres bulbaires de la respiration, celle-ci devient donc plus rapide et plus profonde. D'autres afférences ont l'effet inverse. C'est notamment le cas pour les mécanorécepteurs des poumons et pour les récepteurs sensibles aux agents irritants des voies respiratoires. Finalement, certaines afférences peuvent être excitatrices ou inhibitrices dépendamment de la situation, comme c'est le cas pour les inputs du cortex cérébral et de l'hypothalamus (D'après Marieb, 1999).

pour effet de mettre fin à l'inspiration et d'éviter ainsi un étirement excessif des poumons. Il s'agit du réflexe de distension pulmonaire, aussi connu sous le nom de réflexe de Hering-Breuer (Guyon et Hall, 2000). Certains facteurs chimiques modifient la respiration par l'entremise de chimiorécepteurs centraux et périphériques (Mateika et Duffin, 1995). Une augmentation de la concentration de CO_2 (transformé en HCO_3^- dans le liquide cérébro-spinal), des ions H^+ , K^+ et d'acide lactique, par exemple, peuvent augmenter la ventilation pulmonaire comme il sera démontré plus loin. D'autres substances chimiques comme l'adénosine, les prostaglandines et des neuropeptides, tels la substance P et la somatostatine, sont également reconnues comme modulateur de l'activité respiratoire *in vitro* (Ballanyi et al., 1999). Finalement, l'exercice (par exemple sous forme de locomotion) est un modulateur important de la respiration et est le sujet de ce travail, c'est pourquoi il sera décrit plus en détail dans les sections 2 et 3. Il ne faut pas perdre de vue non plus, que l'activité respiratoire se doit d'être coordonnée de façon harmonieuse avec d'autres activités rythmiques ou non partageant certaines structures, telles la déglutition, la mastication et la parole.

1.3 Physiologie générale de la respiration chez la lamproie

L'animal modèle qui a été le sujet des expériences de ces travaux de maîtrise est la lamproie. Cet animal est un vertébré primitif, de la famille des agnathes, qui a fait son apparition il y a environ 450 millions d'années. Il est probable que la lamproie, du moins à l'état larvaire, capte une partie de son oxygène grâce à la respiration transdermique (Potter et al., 1995). Néanmoins, la majeure partie des échanges gazeux chez ce vertébré s'effectue par les branchies. La lamproie possède 7 pores branchiaux situés de chaque côté de sa tête. Les échanges gazeux se font au niveau des branchies qui se trouvent à l'intérieur des paniers branchiaux (paniers cartilagineux entourant les cavités branchiales et la trachée). L'expiration résulte d'une compression périphérique des paniers branchiaux qui expulse l'eau des branchies. Cette compression est un phénomène actif. L'inspiration se produit passivement lorsque la compression des paniers branchiaux cesse et que ceux-ci reprennent leur forme normale. Il s'ensuit une entrée d'eau, par la bouche ou par les pores branchiaux, qui s'accumule dans les paniers branchiaux et baigne ainsi les branchies (Rovainen, 1996). La respiration chez la larve est unidirectionnelle, de la bouche vers les pores branchiaux. Le courant d'eau fournit à l'animal à la fois l'oxygène nécessaire à la respiration et les particules de nourriture en suspension dont il se nourrit par filtration. La lamproie à l'état de larve possède une structure particulière appelée vélum (semblable à l'épiglotte des mammifères) qui agit comme une pompe pour accentuer le courant d'eau qui circule dans ses branchies. Cette structure disparaît lors de la transformation qui marque le passage de l'état larvaire à celui d'adulte. La ventilation de la lamproie adulte, quant à elle, peut être

uni- ou bidirectionnelle selon la situation. En situation de prédation, la respiration est bidirectionnelle. L'eau pénètre et est éjectée par les pores branchiaux. Ce type de ventilation permet à la lamproie de respirer tout en adhérant par la ventouse à la proie qu'elle parasite. En dehors des périodes de nutrition, la lamproie adopte soit une ventilation bidirectionnelle ou encore unidirectionnelle, c'est-à-dire que l'eau pénètre par la bouche et est éjectée par les pores branchiaux (figure 7 et 8) (Hardisty et Potter, 1982).

1.4 Mécanismes nerveux de la respiration chez la lamproie

Dans la littérature, on discerne différents types d'activités respiratoires chez la lamproie. Le patron de base est caractérisé par un rythme rapide composé de bouffées d'une durée moyenne d'environ 50 ms. Ce rythme peut être associé à l'eupnée étudiée chez les mammifères. Un deuxième rythme est également présent chez la lamproie. Il s'agit de bouffées de très longue durée (variant généralement entre 0,5 s et 1 s). Ce rythme est aussi beaucoup plus lent et moins régulier que le rythme de base. C'est pour ces raisons que Rovainen (1985) a associé ce patron respiratoire à de la toux. Les contractions qui résultent de ces longues bouffées pourraient permettre à la lamproie d'expulser des particules irritantes qui se trouvent à l'entrée des pores branchiaux ou encore de faire circuler du sang accumulé dans les sinus des branchies. En plus de la respiration de base et de la toux, certains auteurs considèrent la respiration 'arousal' comme étant un troisième type distinct d'activité respiratoire issu d'un mécanisme particulier (Thompson, 1990). Ce type de respiration est caractérisé par des bouffées de longue durée (200-

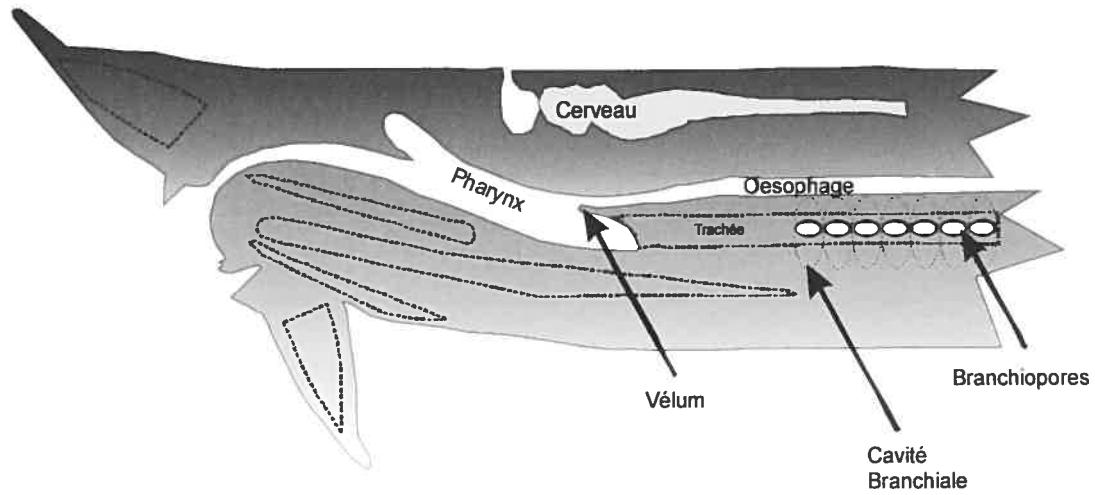


Figure 7. Principales structures impliquées dans la respiration chez la lamproie. Le vélum n'est présent qu'au stade développemental de la larve alors que la respiration est obligatoirement uni-directionnelle. Au stade adulte celle-ci est soit uni- ou bidirectionnelle dépendamment de la situation (voir texte).

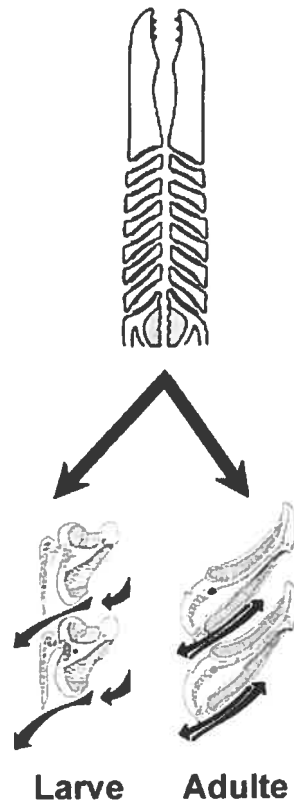


Figure 8. Respiration uni- ou bidirectionnelle observée chez la larve et chez la lamproie adulte. Les fentes pharyngées sont illustrées en haut alors que les arches pharyngées individuelles sont représentées en bas. La direction des mouvements de l'eau est indiquée par les flèches noires incurvées (Adaptée de Milsom et al., 2004).

300 ms) et par une fréquence plus rapide que la toux. Thompson a étudié les stimuli qui font basculer la respiration du mode normal à celui dit 'arousal'. Elle a démontré qu'une stimulation électrique du funicule dorsal de la moelle épinière de la lamproie, où passent les axones des cellules dorsales, induit ce type de respiration. La stimulation mécanique de la peau de l'animal provoque le même effet. Il arrive également que certains épisodes de respiration 'arousal' surviennent spontanément. Une transection complète ou une hémisection du côté de la stimulation caudale au noyau du trijumeau bloque cette réaction. Par contre, une hémisection du côté opposée à la stimulation est sans effet sur la respiration de type 'arousal' (Thompson, 1990). Elle a déduit de ses expériences qu'une perturbation tactile, transmise par les cellules dorsales de la moelle épinière de l'animal, activait la respiration de type 'arousal', que ce type de respiration faisait partie du comportement naturel de la lamproie et que cette réaction était peut-être anticipatoire à une fuite.

Les contractions des muscles branchiaux sont dues à l'activation des motoneurones de la respiration. Ceux-ci sont situés dans les noyaux moteurs VII (facial), IX (glossopharyngien) et majoritairement dans le noyau moteur X (vague) (Guimond et al., 2003). Chez la larve, il y a aussi quelques motoneurones trigéminaux qui sont responsables des mouvements du velum décrits plus haut (Rovainen, 1977). Des études de lésions anatomiques et des expériences électrophysiologiques ont démontré que les muscles de la première branchie sont innervés par le nerf VII et IX. Ceux de la deuxième branchie le sont par le nerf IX

et par la première branche du nerf X. Les muscles des autres branchies sont tous innervés par les différentes branches du nerf X. Dans le noyau moteur X, les pools de motoneurones sont organisés de façon branchiotopique mais présentent tout de même un certain chevauchement. Ces motoneurones sont activés par des générateurs de rythmes situés dans le rhombencéphale. Les contractions branchiales montrent un délai d'activation dans l'axe rostro-caudal alors qu'il semble que tous les noyaux moteurs soient activés en synchronie par le générateur de rythme. La vitesse de conduction de l'influx nerveux dans les axones des branchies 1 et 7 ne montre aucune différence significative. Les auteurs proposent que le délai de contraction dans la direction rostro-caudale serait peut-être dû à la longueur des axones, les axones des branchies caudales du nerf X étant considérablement plus longs que ceux du nerf VII (figure 9, Guimond et al., 2003).

Les mécanismes centraux de genèse et de contrôle de l'activité respiratoire chez la lamproie sont relativement peu connus. Une hypothèse actuelle propose que la respiration chez cet animal serait issue de l'activité combinée de deux paires de générateurs de rythme centraux, une rostrale, l'autre caudale (Thompson, 1985). La première paire de générateurs (un générateur de chaque côté de l'animal), située dans le bulbe rachidien et en partie dans la protubérance, serait responsable du rythme normal de la respiration (eupnée). Une préparation de cette région de la protubérance isolée *in vitro* présente spontanément une respiration fictive rythmique pouvant durer plusieurs heures. On retrouverait probablement un générateur de chaque côté de la ligne médiane agissant en parfaite synchronie. Une lésion longitudinale de la ligne médiane cause une dissociation des deux rythmes

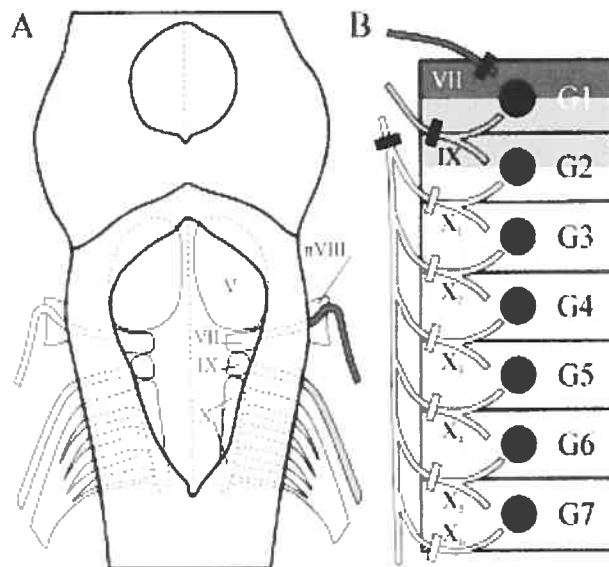


Figure 9. Schéma illustrant les noyaux moteurs VII, IX et X dans le tronc cérébral d'une lamproie adulte (A) ainsi que le patron d'innervation des branchies 1 à 7 par les nerfs crâniens VII, IX et X (B). (D'après Guimond et al., 2003).

respiratoires. Chaque CPG posséderait donc un rythme intrinsèque mais un des CPGs dominerait l'autre et lui imposerait son propre rythme chez l'animal intact (Kawasaki, 1984). Il a été suggéré qu'une seconde paire de générateurs serait située plus caudalement dans le rhombencéphale, dans la région des noyaux moteurs VII, IX et X (Thompson, 1985). Encore une fois, il y aurait un CPG de chaque côté de la ligne médiane. Ces générateurs produiraient un rythme beaucoup plus lent et moins régulier que le premier. Les bouffées produites étant de plus longue durée et de plus grande amplitude que les bouffées de base, Rovainen les a qualifiées de 'toux' comme il a été mentionné précédemment. Suite à une lésion transversale entre les deux paires de générateurs de rythme, seul un rythme rapide subsiste au niveau de la protubérance alors qu'au niveau du bulbe rachidien, on n'enregistre plus que des bouffées de toux (Thompson, 1985). Des données très récentes venant de notre laboratoire suggèrent que l'activité de ces deux générateurs de rythme serait coordonnée. L'animal semble en effet réagir à un épisode de bouffées lentes par une augmentation temporaire de fréquence du rythme de base (eupnée). Les épisodes de bouffées lentes, quant à eux, surviennent généralement suite à une diminution de la fréquence de l'eupnée (Martel et al., en préparation).

On sait que certains facteurs modulent le rythme respiratoire de la lamproie. Il a été démontré que la fréquence des contractions branchiales est souvent supérieure chez les préparations intactes comparativement à un cerveau isolé (Rovainen, 1982), ce qui suggère que les afférences périphériques influencent la respiration. Une hausse de la température (Rovainen, 1982) ainsi qu'une baisse du taux d'oxygène (Thompson, 1985) induisent une augmentation de la fréquence

respiratoire. D'autres facteurs de nature pharmacologique ont également un effet sur la fréquence respiratoire. Le réseau générateur est sensible au glutamate. Il possède des récepteurs ionotropes de type AMPA/kainate et de type NMDA. Il possède également des récepteurs métabotropes. L'ajout au bain d'enregistrement de différents antagonistes agissant sur ces récepteurs cause une diminution de la fréquence respiratoire (Bongianni et al., 1999).

2. Locomotion chez la lamproie

Comme nous l'avons mentionné précédemment, la locomotion est un des facteurs majeurs pouvant influencer le rythme respiratoire. Les mécanismes sous-jacents de cette importante fonction du vivant seront brièvement décrits ci-dessous.

2.1 Le contrôle locomoteur

La locomotion chez la lamproie peut être décrite comme des ondulations se propageant dans le corps de l'animal dans l'axe rostro-caudal (Grillner, 1985). Elle est contrôlée par des générateurs centraux de patron (CPGs) de la locomotion. Ceux-ci sont situés tout au long de la moelle épinière. Il est proposé qu'un générateur existe pour chaque segment de moelle épinière (nombre total = 100) (Buchanan et Grillner, 1987). Ces CPGs sont couplés les uns aux autres et produisent un rythme stable et stéréotypé. Un des avantages de la lamproie comme modèle animal est qu'il est possible d'enregistrer l'activité neuronale de la nage fictive sur les racines ventrales de la moelle épinière, en concordance avec un accès

facile aux réseaux de commande locomoteurs supraspinaux pour l'enregistrement et la stimulation, électrique ou chimique. L'activité enregistrée sur les racines spinales ventrales est très semblable à l'activité enregistrée durant la nage réelle chez l'animal intact.

Le rythme locomoteur peut être induit et modulé par de nombreux facteurs. Par exemple, la perfusion de NMDA, d'AMPA, de kainate ou de D-Glutamate, des agonistes des récepteurs glutamatergiques, induit une locomotion fictive dans une moelle épinière isolée. La perfusion de sérotonine (5-HT) stabilise cette 'nage' en diminuant sa fréquence et en augmentant la durée des bouffées locomotrices (Harris-Warrick et Cohen, 1985). Tout comme pour la respiration, une préparation *in vivo* ou semi-intacte a une fréquence d'activité motrice plus élevée qu'une préparation dont le système nerveux central est isolé. Le feedback sensoriel lors de la nage influence les CPGs, ce qui crée une boucle de rétroaction (Guan et al, 2001). Les informations sensorielles permettent l'adaptation face aux conditions environnementales et l'ajustement de la vitesse de nage de l'animal (Anderson et Grillner, 1983). Donc, même si les CPGs sont capables à eux seuls d'induire un rythme locomoteur, les afférences périphériques permettent la modulation de l'activité motrice en fonction du contexte environnemental (McClellan, 1987).

2.2 La locomotion de fuite

La locomotion dite de fuite peut être induite par une stimulation tactile de la peau de l'animal (Viana Di Prisco et al., 1997, 2000). Lorsqu'un faible stimulus est appliqué sur la queue ou la tête de la lamproie, les cellules réticulospinales (RS)

répondent en déclenchant des potentiels post-synaptiques excitateurs (PPSE) infraliminaires proportionnellement à l'intensité de stimulation jusqu'à ce qu'un seuil soit atteint. Lorsque la stimulation est suffisamment forte elle induit l'apparition de plateaux de dépolarisation. Un plateau peut être défini comme un état de dépolarisation soutenu dont la durée dépasse celle de la stimulation. À partir du moment où le seuil est atteint, la réponse des cellules RS cesse d'être proportionnelle à l'intensité du stimulus. Il s'agit alors d'une réaction de type 'tout ou rien'. L'apparition de ces plateaux coïncide avec le début de l'activité locomotrice. Viana di Prisco et al. (1997) ont voulu étudier l'implication des récepteurs NMDA sur les cellules RS dans ce phénomène. Le bloqueur 2-amino-3-hydroxy-5-phosphonopentonoate (AP5) a été éjecté localement à la surface des cellules RS. Les plateaux de dépolarisation ont alors été abolis. Ces résultats suggèrent donc que les récepteurs NMDA sont impliqués dans l'apparition des plateaux de dépolarisation. De plus, ces récepteurs NMDA sont largement perméables aux ions de calcium (Ca^{2+}). Le rôle de cet ion a donc été étudié plus en détail. Lorsqu'un chélateur d'ions Ca^{2+} (BAPTA) est injecté directement dans la cellule RS, il y a également abolition des plateaux de dépolarisation. Ainsi, les plateaux dépendraient d'un mécanisme impliquant le Ca^{2+} . Grâce à la technique d'imagerie calcique, une importante augmentation de la concentration de Ca^{2+} intracellulaire dans les cellules RS a pu être démontrée pendant la stimulation sensorielle. Les plateaux ainsi que l'élévation intracellulaire de Ca^{2+} sont abolis lorsque les récepteurs NMDA présents sur les cellules RS sont bloqués. Les récepteurs NMDA des cellules RS jouent donc un rôle majeur dans la

transformation d'une afférence de nature sensorielle en une réponse de type moteur. Enfin, il a été démontré que le courant cationique non-sélectif activé par le calcium (I_{CAN}) pouvait générer des plateaux de dépolarisation de longue durée dans plusieurs classes de neurones (Zhang et al., 1995). Pour vérifier si les plateaux des cellules RS sont dus, du moins en partie, à ce type de courant, un bloqueur de I_{CAN} , le FFA (acide flufénamique) est appliqué sur les cellules RS. Dans tous les cas, les plateaux de dépolarisation sont abolis. Une hypothèse des mécanismes cellulaires impliqués dans la transformation d'un stimulus sensoriel en une réponse motrice est décrite à la figure 10. Lors d'une stimulation sensorielle, le glutamate relâché à la synapse activerait des récepteurs AMPA qui dépolariseraient alors la cellule. Cette dépolarisation abolirait le blocage des récepteurs NMDA par les ions Mg^{2+} . Les récepteur-canaux NMDA présents sur la membrane d'une cellule RS s'ouvriraient alors, laissant entrer des ions Ca^{2+} dans la cellule. Le Ca^{2+} entrant permettrait la libération des réserves de Ca^{2+} contenu dans le réticulum endoplasmique rugueux, amplifiant ainsi le signal calcique intra-cellulaire. Ce Ca^{2+} intracellulaire activerait alors un courant I_{CAN} . Ce courant cationique non-sélectif permettrait de maintenir les cellules RS dans un état dépolarisé. Les cellules RS, grâce à leurs propriétés intrinsèques, seraient donc responsables de la transformation d'une stimulation sensorielle en un signal moteur de fuite. Ce signal active par la suite les CPGs de la nage situés dans la moelle épinière. Finalement, ces derniers envoient un signal aux muscles effecteurs et la nage apparaît (figure 10) (Viana di Prisco et al., 2000).

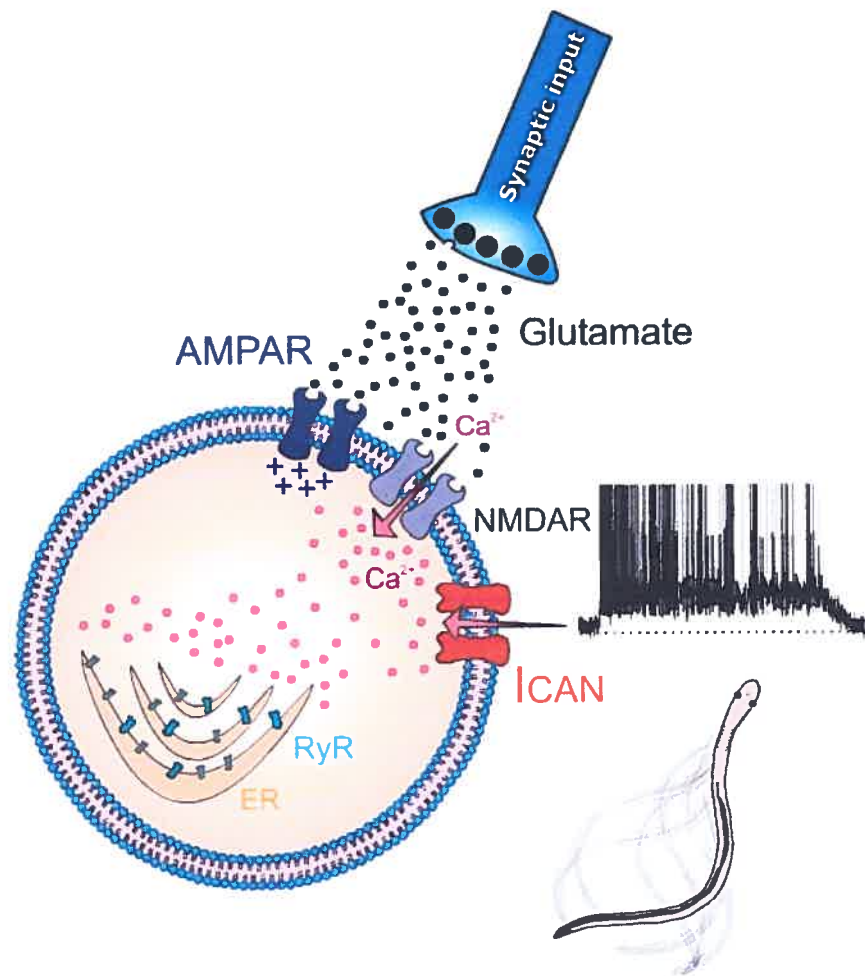


Figure 10. Hypothèse des mécanismes impliqués dans la genèse des plateaux de dépolarisation dans les cellules réticulospinales. Ces mécanismes pourraient être responsables de la transformation d'un input sensoriel en une réponse motrice (D'après Viana di Prisco et al., 2000).

2.3 La locomotion contrôlée

La nage dirigée vers un but est un mode de locomotion plus complexe qui se déclenche en fonction des besoins de l'organisme (appétit, reproduction, etc.). Ce type de locomotion implique une circuiterie un peu différente de celle impliquée lors de la locomotion de fuite. Grillner et al., (2000) ont démontré que la commande locomotrice serait issue des ganglions de la base qui transmettraient leurs inputs à la fois au thalamus ventral et à la région locomotrice mésencéphalique (MLR) qui se trouve à la limite méso-pontique. Ces deux régions projetteraient à leur tour à la formation réticulée qui elle-même contrôle les CPGs situés dans la moelle épinière (figure 11). Des données récentes suggèrent que la MLR est activée par la substance P. L'injection locale de ce neuropeptide au niveau de la MLR favorise la locomotion. Une stimulation électrique de la MLR de plus faible intensité suffit pour induire la locomotion après une exposition de cette région à la substance P (Brocard et al, 2005). Les neurotransmetteurs impliqués dans la transmission de la MLR vers les cellules de la formation réticulée sont principalement le glutamate mais également l'acétylcholine (LeRay et al., 2003). Cette connexion est monosynaptique. Des enregistrements intracellulaires des cellules réticulospinales ont permis de déterminer que, suite à une stimulation électrique de la MLR, les cellules du noyau réticulaire rhombencéphalique moyen (MRRN) étaient les premières à décharger (Brocard et Dubuc, 2003). Lorsque ces neurones atteignent leur fréquence de décharge maximale, les cellules du noyau réticulaire rhombencéphalique postérieur (PRRN) commencent à décharger à leur tour. La contribution relative de ces deux populations de cellules dans la nage contrôlée par

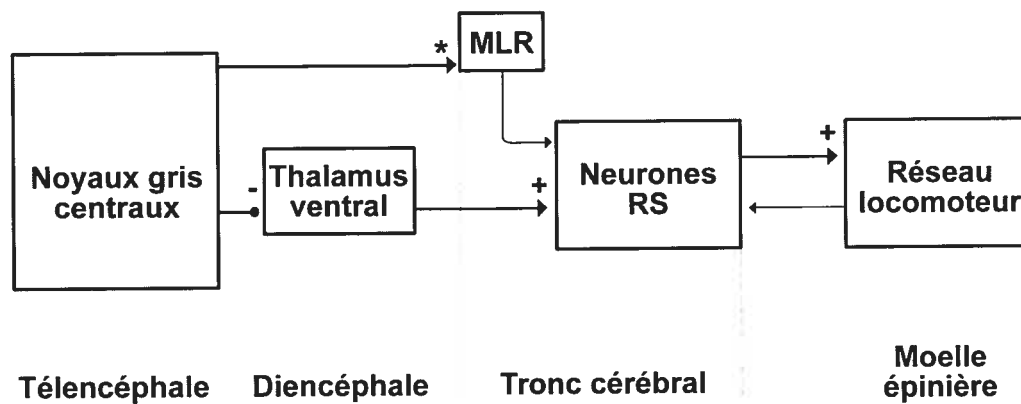


Figure 11. Principales structures impliquées dans le contrôle nerveux de la locomotion chez la lamproie. Les noyaux gris centraux (ou ganglions de la base) reçoivent eux-mêmes des afférences provenant du thalamus et d'autres régions du télencéphale (adaptée de Grillner et al., 2000).

* Ménard et al, en préparation

la MLR est donc différente. À basse intensité de locomotion, le MRRN est impliqué dans l'initiation et le maintien de la locomotion. Lorsque la nage devient plus intense, le PRRN est également recruté. Celui-ci n'est donc pas responsable de l'initiation de la nage mais permet la modulation de cette dernière.

3. Relation respiration-locomotion : revue générale

3.1 Survol historique

En 1789, Lavoisier et Séguin furent les premiers à réellement se pencher sur la relation qui existe entre les échanges gazeux et l'exercice musculaire :

« Se tient-il (l'Homme) dans un état d'inaction et de repos? La circulation est lente, ainsi que la respiration; il consomme moins d'air (vital); il exhale par le poumon moins de carbone et d'hydrogène, et conséquemment il a besoin de moins de nourriture. Est-il obligé de se livrer à des travaux pénibles? La respiration s'accélère; il consomme plus d'air, il perd plus d'hydrogène et de carbone, et, conséquemment, il a besoin de réparer plus souvent et davantage par la nutrition (Lavoisier et Séguin, 1789).»

Il faudra par la suite attendre plus d'un siècle avant l'arrivée des premières études quantitatives sur la relation locomotion-respiration.

Lors de l'exercice, les muscles ont besoin d'une très grande quantité d'oxygène pour fonctionner. Cet oxygène permet la respiration cellulaire qui a comme conséquence la production de beaucoup de gaz carbonique devant être éliminé par la fonction respiratoire. Il s'ensuit donc une importante augmentation de la ventilation pulmonaire. Cette respiration, rapide et profonde, est appelée hyperpnée. De façon générale, au début de l'exercice, on observe une augmentation immédiate de la ventilation qui vaut pour environ la moitié de l'effet maximal. Puis la ventilation continue d'augmenter graduellement, en autant que le stimulus est

maintenu, jusqu'à atteindre un plateau. À l'arrêt du stimulus, la ventilation diminue très rapidement de manière exponentielle mais demeure néanmoins au-dessus du niveau de base pour quelques minutes (Waldrop et al, 1996). De nombreuses hypothèses ont tenté d'expliquer ce décours temporel et l'hyperpnée en générale, et les principales seront exposées ci-dessous.

3.2 Les facteurs humoraux

Plusieurs hypothèses impliquant diverses substances ainsi que leurs récepteurs ont été émises pour expliquer l'augmentation de la respiration lors de l'exercice. On retrouve, par exemple, des chimiorécepteurs sensibles à la concentration d'ions H^+ à différents endroits dans le système nerveux central. Lorsque ces cellules détectent une diminution du pH (par augmentation de la pression partielle de dioxyde de carbone qui se lie à l'eau pour former de l'acide carbonique selon l'équation suivante : $H_2O + CO_2 \leftrightarrow H_2CO_3 \leftrightarrow HCO_3^- + H^+$), elles réagissent en induisant une augmentation de la fréquence et de l'amplitude respiratoire (Mateika et Duffin, 1995). Il existe également des récepteurs sensibles à l'oxygène, situés dans les principales artères, mais ceux-ci ne s'activent que lorsque la carence est très grande, soit à une pression partielle inférieure à 60 mm Hg, comme en haute altitude par exemple. Il est donc peu probable que ceux-ci soient sollicités dans le cas de l'exercice (Guyton et Hall, 2000).

Le potassium pourrait également jouer un rôle dans l'hyperpnée liée à l'exercice. Pendant celui-ci, les muscles qui se contractent libèrent des ions K^+ et

l'augmentation de la concentration de ces ions dans le sang est proportionnelle à l'intensité de l'exercice (Wilkerson et al., 1982). Ces ions activeraient des récepteurs périphériques, principalement situés dans les corpuscules carotidiens, ce qui enclencherait l'augmentation de la ventilation (Mateika et Duffin, 1995). Cependant, des études de stimulation des corps carotidiens par du potassium démontrent qu'en fait, celui-ci ne jouerait qu'un rôle mineur dans l'hyperpnée reliée à l'exercice (McLoughlin et al., 1994; Casaburi et al., 1993).

Une autre théorie veut qu'un exercice soutenu soit la cause d'une accumulation d'acide lactique qui engendrerait l'hyperpnée (Nagata et al., 1981; Viitasalo et al., 1985; Mateika et Duffin, 1994). Lorsque la quantité d'oxygène devient inadéquate pour générer l'ATP nécessaire à un exercice soutenu via la phosphorylation oxydative, celui-ci est produit anaérobiquement, produisant du lactate. Le taux d'acide lactique augmente alors dans le sang, entraînant une acidose métabolique qui serait détectée par des chimiorécepteurs périphériques. La ventilation serait alors augmentée afin de maintenir l'homéostasie (Mateika et Duffin, 1995). Par contre, des patients souffrant du syndrome de McArdle, c'est-à-dire qui ne peuvent pas produire d'acide lactique et développer une acidose lactique durant un exercice sévère, montrent quand même une augmentation de la ventilation pendant l'exercice semblable aux sujets normaux (Hagberg et al., 1990). Même si l'accumulation d'acide lactique peut être un facteur contribuant à l'hyperpnée reliée à l'exercice, elle n'en est certainement pas un facteur dominant.

Durant l'exercice, on observe également une augmentation dans le sang de la concentration de catécholamines (Flandrois et al., 1977) et d'adénosine (Costa et

Biaggioni, 1994). Au repos, une variation de la concentration de ces substances peut moduler la ventilation. Il est donc possible, bien que non formellement démontré, que ces facteurs contribuent également à l'augmentation de la ventilation lors de l'exercice (Mateika et Duffin, 1995).

Alors que certains chercheurs sont convaincus de l'importance des changements humoraux pour expliquer l'hyperpnée reliée à l'exercice, d'autres ont formulé la critique que les changements de concentration de substances dans le sang prennent toujours un certain temps avant de s'établir et d'être détectables alors que l'effet de la locomotion sur la respiration est immédiat, du moins en partie. Par conséquent, les théories humorales ne suffisent pas à expliquer pleinement cette augmentation de la ventilation suite à un exercice (Krogh et Lindhard, 1913).

3.3 Les facteurs neurogéniques

Dans la littérature, on retrouve plusieurs hypothèses neurogéniques qui tentent d'expliquer l'effet excitateur de l'activité motrice sur le rythme respiratoire. D'abord, une commande centrale issue d'une ou de plusieurs aires cérébrales rostrales à la région ponto-médullaire pourrait activer parallèlement et simultanément les structures de contrôle de la locomotion et de la respiration (Krogh et Lindhard, 1913; Ranson et Magoun, 1933; Eldridge et al, 1981; Waldrop et al., 1986; Millhorn et al., 1987; Thornton et al., 2001; Urban et al., 2002). Différentes régions ont été soupçonnées de jouer ce rôle. De plus, il pourrait y avoir une interaction directe entre les générateurs de rythme de la locomotion situés dans la moelle épinière et ceux de la respiration situés dans le tronc cérébral (Viala et

Freton, 1983; Viala, 1986; Dubayle et Viala, 1993; Perségol et Viala, 1994, Dubayle et Viala, 1996). Finalement, des afférences périphériques de différentes sources joueraient un rôle majeur sinon essentiel dans le phénomène d'hyperpnée (Iscoe et Polosa, 1976; Anderson et Grillner, 1983; Palisses et al., 1988; Roberts et Ballintjin, 1988; Funk et al., 1992). Dans un premier temps, nous verrons comment des mécanismes d'origine centrale peuvent moduler le rythme respiratoire pendant une activité motrice. Par la suite, nous verrons de quelles manières des afférences périphériques peuvent également contribuer à cette modulation.

3.3.1 Mécanisme de feedforward : le cortex

En 1913, Krogh et Lindhard ont étudié les changements qui survenaient au niveau de la ventilation, du débit sanguin, des échanges respiratoires et de la concentration alvéolaire en CO_2 chez l'humain pendant les premières minutes d'un exercice léger ou sévère (Krogh et Lindhard, 1913). Ils ont notamment observé une augmentation abrupte de la ventilation pulmonaire et de la fréquence cardiaque dès la première seconde d'un exercice sévère. Ils ont souligné qu'aucun facteur chimique ne pouvant intervenir en si peu de temps, cette augmentation devait être due à l'existence d'un influx nerveux. Selon eux, celui-ci proviendrait du cortex moteur et projetterait parallèlement vers les muscles effecteurs et vers les centres de la respiration.

Alors que l'hypothèse de l'importance du cortex moteur tombait peu à peu dans l'oubli, de nouvelles études, mettant en jeu des technologies de pointe, viennent la réintégrer au sein des mécanismes pouvant moduler l'interaction

locomotion-respiration. Chez l'humain, l'activation des muscles respiratoires à l'aide de stimulations magnétiques transcrâniennes du cortex moteur, accompagnés d'enregistrements bilatérales des racines spinales cervicales et thoraciques, ont démontré que les projections descendantes corticales-respiratoires sont situées à l'intérieur des voies pyramidales (Urban et al., 2002). De plus, la tomographie par émission de positrons a été utilisée pour étudier quels centres supérieurs étaient impliqués dans la réponse à l'exercice (Thornton et al., 2001). Dans une tâche (condition I) où les sujets sous hypnose s'imaginaient pédaler à vélo pour monter une pente, la fréquence cardiaque ainsi que la fréquence respiratoire ont toutes deux augmenté (respectivement 12% et 30% de la réponse à l'exercice réel). Dans une autre tâche (condition II), les sujets devaient volontairement ajuster leur fréquence respiratoire à celle obtenue dans la première condition. Dans une dernière condition (condition III), les sujets devaient simplement s'imaginer descendre une pente à vélo sans pédaler. La soustraction des aires corticales de cette dernière condition à la première (I - III) permet d'éliminer les zones impliquées dans la tâche d'imagination de l'exercice. La soustraction des aires activées dans la tâche 3 de celles activées dans la tâche 2 (II - III) permet d'éliminer les aires impliquées dans le contrôle volontaire de la respiration. Les zones restantes après la première soustraction étaient la partie dorso-latérale droite du cortex préfrontal, l'aire motrice supplémentaire, l'aire prémotrice droite, les aires sensorimotrices superolatérales, le thalamus et le cervelet. Après la deuxième soustraction, on observait une activation significative des aires motrices supplémentaires et dans les aires sensorimotrices latérales. Ces régions sont donc impliquées dans la réponse cardiorespiratoire et ce,

en absence de rétroaction due aux mouvements ou à une augmentation de la concentration sanguine de CO₂. À partir de ces résultats les auteurs ont émis la conclusion que certaines parties du cortex et d'autres centres supérieurs pourraient également être des modulateurs de l'activité respiratoire. Le fait que les sujets aient été sous hypnose est une limitation à l'interprétation de ces résultats. En effet, l'hypnose est un état dont on connaît très mal les mécanismes neurophysiologiques. De plus, il est difficile de déterminer la profondeur de l'état d'hypnose des différents sujets et il est possible que l'intensité de la réponse dépende de celle-ci.

3.3.2 Mécanisme de feedforward : l'hypothalamus

Chez le chat décortiqué, on observe des changements de rythme respiratoire lors de la stimulation électrique de l'hypothalamus, un centre participant à la régulation de la locomotion. Ainsi, il semble qu'au moins une partie de l'augmentation de la ventilation lors de l'exercice est indépendante du cortex moteur (Ranson et Magoun, 1933). Ces changements surviennent avant même le début de la locomotion. Plus tard, il a été démontré qu'une stimulation électrique de la région paraventriculaire de l'hypothalamus du chat induit une activation parallèle de la locomotion et de la respiration (Eldridge et al., 1981, Waldrop et al., 1986). Des stimulations pharmacologiques par microinjection de picrotoxine, un antagoniste du GABA, dans cette région de l'hypothalamus ont été réalisées pour être certain que la stimulation électrique n'activait pas seulement des fibres de passage. La stimulation électrique aurait en effet pu stimuler des axones traversant cette région mais dont le corps cellulaire se trouve dans une autre région du cerveau. C'est pourquoi un contrôle pharmacologique est alors nécessaire. L'effet

sur la locomotion et sur la respiration ont été les mêmes suite à l'injection de picrotoxine que suite à la stimulation électrique. Les auteurs ont souligné trois aspects importants de leurs résultats. D'abord, l'activation des corps cellulaires de cette région de l'hypothalamus suffit à induire les réponses locomotrice et respiratoire. Ensuite, cette réponse est obtenue via des récepteurs du GABA. Finalement, des mécanismes GABAergiques maintiennent une inhibition tonique des systèmes locomoteurs et respiratoires contrôlés par l'hypothalamus. Dans l'ensemble, ces travaux suggèrent donc une réelle implication de l'hypothalamus dans le phénomène de l'hyperpnée liée à l'exercice (Eldridge et al., 1985; Waldrop et al., 1988).

Au début des années 1980, Eldridge a étudié l'hyperpnée présente chez le chat décortiqué et non anesthésié (Eldridge et al., 1981). La locomotion sur tapis roulant était soit spontanée, soit induite par une stimulation électrique de la région locomotrice sous-thalamique (SLR). La réponse respiratoire précédait généralement la réponse locomotrice. Cette réponse était proportionnelle à l'intensité de l'activité locomotrice. Le patron respiratoire augmentait de façon similaire chez les animaux paralysés pendant la locomotion fictive enregistrée au niveau des nerfs moteurs des membres. Dans ce cas, il n'y avait donc pas de contraction musculaire ou de mouvement pouvant influencer le mécanisme de régulation du rythme respiratoire. Les auteurs ont donc suggéré, d'après les résultats obtenus, que le mécanisme impliqué dans l'hyperpnée liée à l'exercice est d'origine centrale et suit le principe du feedforward émis par Krogh et Lindhard (1913). La modulation de la respiration par l'activité locomotrice était également semblable,

peu importe que celle-ci soit d'origine spontanée ou la conséquence d'une stimulation électrique ou pharmacologique (Millhorn et al., 1987). Eldridge et Millhorn ont donc conclu de leurs travaux que les signaux de commande provenaient de la région locomotrice hypothalamique et influençaient en parallèle la locomotion et la respiration.

3.3.3 Interaction directe entre les CPGs locomoteurs et les centres respiratoires

Viala et Freton (1983) ont, quant à eux, voulu démontrer que l'interaction entre les rythmes locomoteurs et respiratoires était d'origine purement spinale. Sur des lapins décortiqués, non anesthésiés, curarisés et vagotomisés, ils ont obtenu, suite à l'ajout de DOPA (un précurseur de la dopamine et de la noradrénaline) et de nialamide (un inhibiteur de la monoamine oxydase qui optimise les effets de la DOPA) des décharges locomotrices dans les nerfs des membres (locomotion fictive) et des décharges rythmiques des nerfs phréniques (respiration fictive). Deux types de décharges respiratoires ont été observés, des décharges phréniques de courte période (SLPB) et des décharges phréniques de longue période (LLPB). Suite à une spinalisation au niveau des segments C2 ou C3 de la moelle épinière, les LLPB et les bouffées locomotrices sont toujours présentes mais les SLPB ont disparu. Les auteurs ont conclu que les décharges LLPB étaient de type respiratoire et issues d'un générateur de la respiration spinal (Viala et Freton, 1983). On est en droit ici de se demander s'il s'agit réellement de respiration. Est-ce que parce qu'on a écarté l'hypothèse de bouffées liées à la locomotion, il s'agit nécessairement de

bouffées respiratoires? De plus, aucune étude de physiologie comparée ne nous laisse soupçonner l'existence d'un générateur spinal de la respiration.

Les auteurs ont tout de même tenté de valider leur hypothèse dans les années qui ont suivi la découverte des LLPB. Ces bouffées lentes existent également chez le rat nouveau-né et peuvent être observées *in vivo* par pléthysmographie (mesure de différents paramètres de la ventilation) et *in vitro* sur une préparation tronc cérébral-moelle épinière (Dubayle et Viala, 1993). Un argument qui favorise l'hypothèse que les LLPB reflètent une activité du système respiratoire est le fait que ces bouffées, tout comme les bouffées respiratoires issues du tronc cérébral, montrent une activité synchrone bilatérale alors que les bouffées locomotrices sont alternées (Perségol et Viala, 1994). Cependant, il ne faut pas oublier que les CPGs locomoteurs deviennent matures progressivement. À E15 (15 jours embryonnaires) par exemple, l'activité rythmique enregistrée au niveau des racines ventrales sur une préparation tronc cérébral-moelle épinière isolée chez le rat nouveau-né montre une activité synchrone entre les fléchisseurs et les extenseurs et entre les côtés droit et gauche de l'animal. L'activité antiphasique locomotrice n'apparaît que quelques jours plus tard, soit vers E20 (20 jours embryonnaires) (Clarac et al., 2004). Il est donc risqué de conclure que des bouffées synchrones enregistrées sur la moelle d'un rat nouveau-né sont nécessairement respiratoire puisqu'une telle activité pourrait tout aussi bien être locomotrice, tout dépendant de la maturité du système nerveux de l'animal.

Des études visant à déterminer la chimiosensibilité de ce générateur spinal de la respiration ont été faites tant sur une préparation tronc cérébral-moelle

épineière que sur une préparation de moelle épinière isolée. Il en résulte que la fréquence des bouffées enregistrées au niveau des racines ventrales C2-C8 est augmentée lorsque ces différentes préparations sont exposées à une augmentation de la pression partielle de CO₂ ou à une diminution du pH du liquide cébrospinal artificiel dans lequel elles baignent. Le fait que le générateur soit sensible au CO₂ et à la concentration d'ion H⁺ est un autre indice en faveur d'une appartenance au système respiratoire. Ces études démontrent également la présence de récepteurs sensibles au CO₂ et à la concentration d'ion H⁺ au niveau de la moelle épinière (Dubayle et Viala, 1998_a).

Il semble que les différents générateurs de rythme présents dans la moelle épinière (locomoteur des membres postérieurs, pLG, locomoteur des membres antérieurs, aLP et respiratoire, RG) sont reliés les uns aux autres. En direction caudo-rostrale, les pLG influencent le rythme respiratoire via le aLP. En direction rostro-caudale, les LLPB causent une inhibition des décharges des 2 CPGs locomoteurs (Viala et Freton, 1983). L'analyse des chronométrages des activités des nerfs phréniques ainsi que des nerfs extenseurs (*gastrocnemius medialis*) et fléchisseurs (*tibialis anterior*) des membres postérieurs du lapin suggèrerait une interaction directe entre les deux générateurs de rythme. Un nouveau cycle locomoteur ne peut commencer avant la fin d'une décharge phrénique et une décharge phrénique ne peut avoir lieu qu'à un moment précis du cycle locomoteur (Viala, 1986). Les auteurs ont émis la conclusion suivante : chez le lapin spinalisé, l'interaction entre les rythmes locomoteurs et respiratoires pourrait déjà être programmée à un niveau purement spinal, ce qui pourrait jouer un rôle fonctionnel

chez l'animal intact. Le couplage permettrait de diminuer la quantité d'oxygène consommée et ainsi de retarder la fatigue de l'animal.

Les interactions existant entre les deux générateurs de la respiration ont été étudiées plus en détail par Dubayle et Viala (1996) chez la préparation de tronc cérébral-moelle épinière de rat nouveau-né. Ils ont conclu par l'étude des délais entre les bouffées des deux générateurs que le générateur bulbaire influence le générateur spinal. Une variation du pH ou de la pression partielle du CO₂ peut favoriser ou diminuer cette influence. À l'inverse, le générateur spinal peut également influencer le générateur bulbaire. Tout dépendant du moment où le générateur spinal décharge, le générateur bulbaire peut prolonger ou raccourcir la période de son cycle afin de permettre une corrélation stable entre les deux rythmes. Il y aurait donc une relation réciproque entre les deux générateurs de la respiration (Dubayle et Viala, 1996). L'hypothèse des auteurs est qu'au repos, le générateur bulbaire de la respiration entrainerait le générateur spinal de la respiration. Par contre, celui-ci serait entraîné par le pLG via le générateur spinal de la respiration lorsque les générateurs de locomotion deviennent dominants (figure 12).

Les mouvements passifs des membres postérieurs chez le lapin décortiqué provoquent une augmentation de la fréquence respiratoire mais l'observation de couplage entre les rythmes locomoteur et respiratoire est rare (Perségol et al, 1988). L'ajout de DOPA provoque un couplage absolu entre ces activités motrices. L'interaction entre les CPGs est mutuelle car le rythme locomoteur avait un effet exciteur sur le rythme respiratoire alors que ce dernier tendait à réduire la fréquence locomotrice. De cette façon, un équilibre était atteint et on observait une

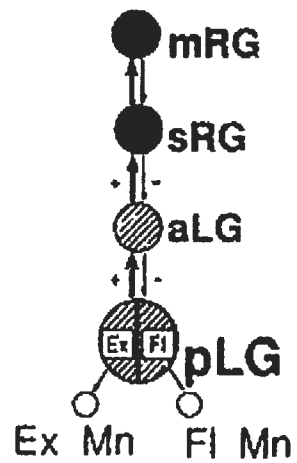


Figure 12. Schéma illustrant une hypothèse des interactions centrales directes entre les différents CPGs impliqués dans la respiration et la locomotion selon Perségol et al. mRG et sRG : générateurs de la respiration bulbaire et spinal; aLG et pLG : générateurs de la locomotion des membres antérieurs et postérieurs; Ex Mn et Fl Mn : motoneurones des extenseurs et des fléchisseurs (Adaptée de Perségol et al., 1988).

coordination de 1 pour 1 (un cycle locomoteur pour un cycle respiratoire). L'ajout de DOPA, en activant le CPG locomoteur et en déprimant un peu le CPG respiratoire, facilitait l'atteinte de cet équilibre. Des mouvements passifs des membres postérieurs pouvaient entraîner le CPG locomoteur qui lui-même permettait de moduler la fréquence respiratoire et ce, avant et après une spinalisation haute. Des mouvements d'une certaine fréquence favorisaient le couplage des activités respiratoires et locomotrices (Perségol et al, 1988).

La stimulation de la MLR d'un lapin paralysé produit une locomotion fictive qui induit une modulation de la fréquence respiratoire, mais où le couplage entre les deux rythmes est rare (Corio et al., 1993). L'ajout d'un antagoniste NMDA non-compétitif, le MK801, augmente la fréquence de couplage en augmentant l'activité des générateurs de la locomotion. Une transection de la moelle au niveau C6 ou C7 inhibe cet effet alors qu'une transection à L1, laissant le CPG locomoteur des membres antérieurs intact, n'empêche pas le couplage d'avoir lieu. Selon les auteurs, il semble que la présence d'un générateur de locomotion intact (postérieur ou antérieur) soit nécessaire à l'obtention du couplage entre la respiration et la locomotion.

La stimulation électrique de la partie ventrale de la matière grise de la moelle épinière au segment C5 permet de devancer ou encore de retarder l'occurrence de la prochaine bouffée respiratoire bulbaire, tout dépendant du moment dans le cycle respiratoire où la stimulation a lieu (Dubayle et Viala, 1998_b). Il est ainsi possible de produire un couplage parfait (1:1) entre la fréquence de la stimulation et celle de la respiration. Un tel couplage n'est possible qu'à l'intérieur

d'un certain intervalle de fréquence de stimulation et lorsqu'un certain seuil d'intensité est atteint. Les auteurs ont conclu de ces travaux, qu'il y aurait des connexions ascendantes entre le segment C5 et le générateur bulbaire de la respiration et que cette connexion pourrait être impliquée au niveau du couplage locomotion-respiration (Dubayle et Viala, 1998_b). Pour approfondir le rôle des afférences proprioceptives, Morin et Viala (2002) ont utilisé une préparation cerveau-moelle épinière de rat nouveau-né. L'activation pharmacologique de la locomotion fictive induit une augmentation de la fréquence respiratoire mais sans produire de couplage entre les deux rythmes. La stimulation électrique d'afférences proprioceptives lombaires peut, quant à elle, entraîner parfaitement le rythme de la respiration fictive. Ainsi, l'activation des CPGs locomoteurs permet de moduler le rythme respiratoire par des mécanismes purement spinaux. Le couplage entre la respiration et la locomotion, quant à lui, ne serait pas dû uniquement à l'activation de ces CPGs mais également au retour des afférences sensorielles vers le réseau de la respiration, incluant les centres bulbaires et les motoneurones phréniques (Morin et Viala, 2002).

Comme nous venons de le voir, la stimulation d'afférences sensorielles a comme effet, dans plusieurs cas, d'augmenter l'activité respiratoire. Par contre, il n'est pas clair que cette augmentation soit dû à un effet direct des afférences sensorielles sur les centres respiratoires ou encore à une activation ou un entraînement des CPGs locomoteurs qui eux-mêmes interagissent avec ces centres respiratoires pour produire l'hyperpnée.

Un troisième générateur a été étudié chez le chat paralysé, vagotomisé et décérébré. En plus des générateurs de rythme de la locomotion et de la respiration, Kawahara a étudié la genèse du rythme cardiaque (Kawahara et al., 1994). Il a étudié les variations survenant dans ces différents rythmes lors de la stimulation de la région locomotrice mésencéphalique (MLR). Il a utilisé la cohérence entre les variations de rythme cardiaque, les décharges efférentes du nerf vague et celles des nerfs du gastrocnemius latéral afin de déterminer la force du couplage existant entre les différents générateurs. Il a démontré que le rythme cardiaque semble être influencé par les générateurs de rythme de la respiration et de la locomotion. Le rythme respiratoire central est quant à lui influencé par celui de la locomotion fictive. Par contre, celui-ci ne semble pas influencé par le rythme respiratoire. Ni le rythme respiratoire ni celui de la locomotion fictive ne semble être influencé par le rythme cardiaque. L'auteur a donc émis l'hypothèse d'une hiérarchie unidirectionnelle existant entre ces trois générateurs de rythme centraux.

Rassler et Kohl (2000), quant à eux, ont émis l'hypothèse que non seulement la locomotion pouvait influencer le rythme respiratoire, mais que l'inverse pouvait également être vrai. Ainsi, le choix de la vitesse de marche chez l'humain serait inconsciemment influencé par le rythme respiratoire. Un rythme respiratoire excessivement modifié par la locomotion serait moins efficace et désavantageux pour l'organisme, d'un point de vue énergétique. Pour pallier ce désavantage, le rythme de la locomotion s'ajusterait afin que celui de la respiratoire soit efficace. Il y aurait donc une attraction mutuelle entre les deux rythmes visant une optimisation du rendement énergétique.

3.3.4 Influence des afférences périphériques

De toute évidence, l'augmentation du rythme respiratoire durant l'activité motrice est due en partie à des mécanismes nerveux centraux, bien que l'origine exacte des signaux de commande ne soit pas encore connue. Différentes sources de rétroaction afférente, transportant de l'information sur le rythme locomoteur vers les centres supérieurs peuvent également contribuer à la modulation du rythme respiratoire durant la locomotion. En voici quelques-unes.

Il a été démontré que le mouvement passif des ailes de l'oie blanche du Canada provoque une augmentation de la fréquence respiratoire, proportionnelle à la vitesse imposée, à la condition que celle-ci se rapproche des vitesses comportementales normales de l'animal (Funk et al., 1992). Cet effet persiste même après avoir inhibé toutes les afférences provenant des ailes. Selon les auteurs, les propriocepteurs contenus dans la cage thoracique et dans les poumons pourraient être suffisants pour générer l'entraînement du rythme respiratoire. Chez des lapins décérébrés et paralysés, des mouvements passifs d'une des pattes postérieures induisent également une augmentation de la fréquence respiratoire, mais cette fois, indépendamment de la fréquence du mouvement (Palisses et al, 1988).

Iscoe et Polosa (1976) ont étudié l'effet de la stimulation d'afférences nerveuses cutanées et musculaires sur le rythme respiratoire du chat anesthésié, vagotomisé et paralysé. L'activité respiratoire est étudiée grâce au nerf phrénique. Une stimulation électrique au milieu ou à la fin de la phase expiratoire du cycle respiratoire a pour effet de devancer le début de la prochaine inspiration. Une stimulation au début de l'inspiration a le même effet, alors que si la stimulation a

lieu vers la fin de l'inspiration, la prochaine inspiration se trouve retardée. Une stimulation répétée des afférences cutanées ou musculaires provoque une augmentation de la fréquence respiratoire chez tous les chats étudiés et certains présentent un couplage entre les fréquences de stimulation et celle de la respiration. Suite à cette étude, les auteurs ont postulé qu'il existe un mécanisme réflexe capable de synchroniser les inputs périodiques des afférences cutanées et musculaires et la fréquence respiratoire.

Waldrop et al. (1982) ont étudié plus en détail le rôle des afférences musculaires sur la respiration. Les préparations utilisées étaient semblables à celles d'Eldridge et al. (1985) : soit un chat avec un cerveau intact, soit un chat ayant subi une cérébellectomie ou une décortication, ou encore un chat non anesthésié décérébré. Tous les animaux ont été vagomisés, glomectomisés (ablation du glomus carotidien) et paralysés. Les auteurs ont stimulé, mécaniquement ou électriquement, les nerfs ou les muscles des membres postérieurs. Ils ont alors observé une augmentation de la respiration pendant la stimulation, suivie d'une chute de l'activité phrénique à la fin de la stimulation et finalement, un déclin graduel jusqu'à un niveau sous le seuil de la respiration normale au repos pendant les minutes qui ont suivi l'expérience. Cette dépression du rythme respiratoire s'est par la suite dissipée progressivement. Celle-ci a duré jusqu'à une heure et a affecté tant l'amplitude des bouffées respiratoires que la fréquence de la respiration. Cette dépression n'existe plus chez les animaux après une décérébration ou une section complète de la moelle épinière. De plus, elle est grandement réduite suite à une cérébellectomie ou à une décortication. Ils ont conclu de ces travaux qu'une

stimulation des muscles et des nerfs afférents des membres postérieurs active un mécanisme central qui cause une diminution prolongée de la respiration après l'arrêt de la stimulation (dépression post-stimulation). De plus, cet input afférent voyage obligatoirement par la moelle épinière. Finalement, le cervelet et les centres suprapontiques sont des structures nécessaires pour obtenir une réponse maximale. Ainsi, des retours sensoriels provenant des membres postérieurs pourraient avoir un impact sur le contrôle du rythme respiratoire, notamment au niveau de la récupération suivant l'exercice, via des structures centrales.

Plus tard, les mêmes auteurs ont tenté de caractériser cet effet de dépression de la respiration à la suite d'une stimulation des récepteurs des muscles des membres antérieurs d'un point de vue pharmacologique (Waldrop et al., 1983). Sachant que les opioïdes endogènes et le GABA peuvent déprimer la respiration, ils ont testé ces substances sur leur modèle. Ils ont découvert que la dépression est grandement diminuée lorsque les animaux sont préalablement traités avec un antagoniste d'opioïde (naxolone). Cette dépression n'a plus lieu lorsque les chats sont prétraités avec un antagoniste du GABA (bicuculline). Les antagonistes de la sérotonine (methysergide), de la dopamine et de la noradrénaline (α -methyltyrosine) ne peuvent pas bloquer cet effet. Le mécanisme induisant une dépression prolongée de la respiration pourrait donc mettre en jeu les opioïdes endogènes et le GABA. Par ailleurs, les auteurs ont également émis la possibilité que la dépression observée ne soit en fait qu'une conséquence d'une relâche endogène d'opioïdes suite à la douleur causée par la stimulation elle-même.

Roberts et Ballintjin (1988) ont démontré que la stimulation d'afférences sensorielles provenant des mécanorécepteurs situés dans les branchies du poisson chien de mer par l'intermédiaire du nerf vague, peut également affecter le rythme respiratoire. Cette stimulation mime l'effet d'étirement des poumons ou des branchies provoquant la fin du remplissage de cet organe. Selon les auteurs, l'effet sur le rythme respiratoire peut être expliqué de trois manières. Premièrement, il y aurait une excitation réflexe des motoneurones indépendante des générateurs de rythme. Ensuite, la stimulation pourrait agir par les circuits générateurs de rythme pour affecter la durée du cycle respiratoire et ce, dépendamment du moment dans le cycle où survient la stimulation. Finalement, lorsque la stimulation est répétée, il pourrait y avoir un couplage entre la fréquence de la stimulation électrique et celle de la respiration. Dans ce cas, la stimulation sensorielle prendrait en quelque sorte le contrôle du générateur de rythme et commanderait la fréquence de la sortie motrice. Ce n'est pas la première fois qu'on observe qu'un générateur de rythme peut être entraîné par une stimulation sensorielle. Dès le début des années 1980, Andersson et Grillner (1983) avaient observé que le feedback afférent issu du mouvement sinusoïdal de la hanche d'un chat curarisé pouvait entraîner le générateur central, responsable de la locomotion fictive enregistrée sur les nerfs des muscles effecteurs. Durant des mouvements passifs de flexion, des décharges efférentes des muscles fléchisseurs pouvaient être déclenchées et enregistrées. Lors des mouvements passifs d'extension, ce sont les nerfs des muscles extenseurs qui étaient actifs. À certaines fréquences du mouvement de la hanche, proches des fréquences de décharges au repos, la coordination avec les décharges efférentes

étaient de un pour un. Par la suite, d'autres chercheurs ont obtenu des résultats semblables (Kriellaars et al., 1994; Saltiel et Rossignol, 2004)

Très récemment, Potts et ses collaborateurs (2005) ont déterminé que le noyau parabrachial latéral, une structure impliquée dans le contrôle autonome et ayant une grande influence sur plusieurs fonctions respiratoires, joue un rôle majeur dans le phénomène de couplage entre le rythme de la respiration et celui de la locomotion. Chez de jeunes rats, âgés entre 6 et 8 semaines, l'inactivation pharmacologique de cette région par microinjection d'isoguvacine, un agoniste des récepteurs GABA_A, inhibe toute coordination entre les deux rythmes. Par contre, cette même injection n'affecte pas l'augmentation de la fréquence respiratoire observée suite à une stimulation électrique des afférences somatiques. Il y aurait donc possiblement une dissociation entre les mécanismes responsables du couplage et ceux responsables de l'augmentation de la fréquence respiratoire. Les auteurs proposent qu'une stimulation des afférences somatiques affecte le rythme respiratoire par deux voies indépendantes. D'abord, une voie spinopontobulbaire qui agit sur la phase inspiratoire et qui est impliquée dans le phénomène du couplage. Ensuite, par une autre voie inconnue qui est responsable de l'induction de l'hyperpnée.

Certaines théories attribuent le couplage aux facteurs mécaniques. C'est le cas, par exemple, de la théorie du piston viscéral, décrite par Bramble et Carrier (1987). Chez les mammifères quadrupèdes, les mouvements du galop créeraient un jeu de pression interne influençant le rythme de la respiration. D'abord, lorsque les membres de l'animal retombent au sol, il se créerait une compression du thorax qui

favoriserait l'expulsion de l'air contenu dans les poumons. Deuxièmement, les flexions du squelette axial associées aux contractions des muscles abdominaux favoriseraient l'expiration alors que l'extension du squelette et le mouvement caudal du pelvis favoriseraient l'inspiration. Finalement, l'accélération et le ralentissement lors du cycle locomoteur créeraient un mouvement inerte des viscères, plus spécialement du foie qui est l'organe le plus volumineux de l'abdomen. Les viscères exerceraient alors une pression périodique sur le diaphragme et modèleraient ainsi le rythme respiratoire (figure 13). Chez les mammifères quadrupèdes, ces mouvements passifs pourraient ainsi moduler la respiration et favoriser l'obtention du couplage. Chez l'humain, le couplage peut également être obtenu malgré une posture verticale. De plus, plusieurs animaux démontrent différents ratios de couplage possible (2:1, 3:2, 4:1, etc.). Le phénomène de couplage n'est donc pas simplement dépendant des mouvements passifs puisque dans ce cas, nous nous serions attendu à un ratio strict de 1 cycle respiratoire pour un cycle locomoteur.

Certains mécanismes par lesquels la locomotion influe sur la respiration semblent être propres à certaines classes ou sous-classes d'animaux. Par exemple, il existe, chez certains reptiles, une corrélation inverse entre la locomotion et la ventilation. Carrier (1987) a en effet observé une diminution de la ventilation/minute proportionnelle à une augmentation de la fréquence de la locomotion. Il a également observé des arrêts temporaires de la ventilation correspondant à des mouvements locomoteurs ainsi que de profondes respirations survenant lors de brèves pauses de l'activité locomotrice chez 4 espèces différentes

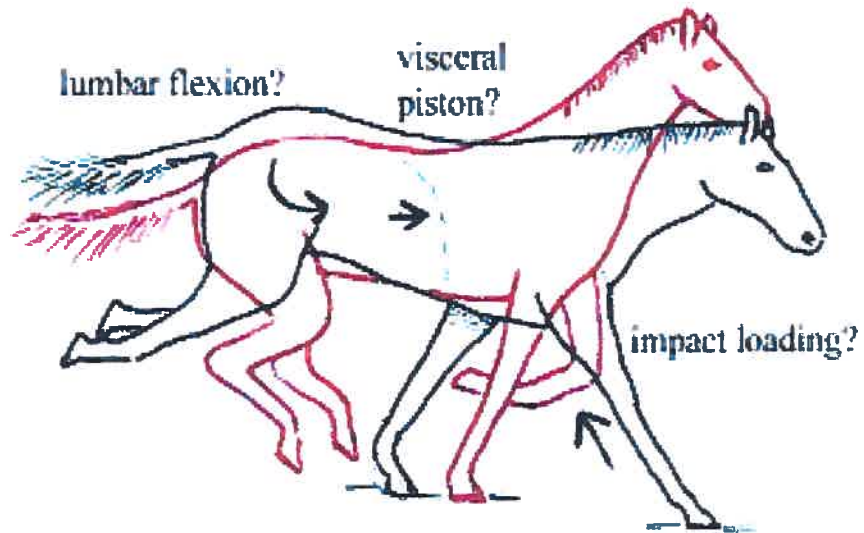


Figure 13. Schéma illustrant l'hypothèse du piston viscéral chez les quadrupèdes. L'impact dû aux mouvements locomoteurs sur les systèmes de pression de l'appareil respiratoire chez les mammifères quadrupèdes affecterait le rythme respiratoire (D'après Bramble, 1989).

de lézards (*Iguana iguana*, *Ctenosaura similis*, *Varanus exanthematicus* et *Varanus salvator*). Cet effet pourrait être dû à une contrainte mécanique à l'inspiration. Les muscles du thorax seraient à la fois sollicités lors de la ventilation et lors de la locomotion. Ainsi, les mouvements du tronc lors de la locomotion nuiraient à la capacité d'inspiration de l'animal. De plus, chez *Varanus exanthematicus* et *Iguana iguana*, il a été observé qu'à l'arrêt des épisodes locomoteurs, il y avait une augmentation des volumes respiratoires échangés. Sachant que les lézards font naturellement de nombreuses pauses lors de leurs déplacements, les auteurs ont supposé qu'il est possible que ces lézards profitent de ces arrêts pour ventiler leurs poumons et ainsi maintenir une composition adéquate des gaz respiratoires dans le sang (Wang et al., 1997).

Conclusion

Suite à cette revue de la littérature, nous devons conclure qu'on ne connaît pas un mécanisme unique qui est responsable de l'augmentation de l'activité respiratoire lors de l'exercice. Au contraire, tout un ensemble de structures, impliquées dans des mécanismes de feedforward et de rétroaction, travaillent de façon harmonieuse afin d'ajuster la respiration à la demande métabolique, augmentée par l'exercice. Il reste maintenant à déterminer quel est le rôle et l'impact de chacun de ces mécanismes et, plus encore, à déterminer la nature des interactions entre tous ces différents éléments. C'est dans cette perspective que ce projet de maîtrise a été abordé, tentant dans un premier temps de vérifier si ce phénomène d'hyperpnée relié à l'exercice existait bel et bien chez la lamproie dont le système nerveux est simple mais typique des vertébrés. Ensuite, il a fallu déterminer quelles sont les structures en jeu dans cette réponse de la fonction respiratoire à l'activité locomotrice. Des lésions successives chez la préparation semi-intacte de lamproie ont permis de déterminer que les structures suprarhombencéphaliques ne sont pas essentielles à l'obtention de l'hyperpnée liée à la locomotion. Par contre, la moelle épinière n'est pas nécessaire pour obtenir une augmentation de l'activité respiratoire suite à des stimulations qui normalement devraient induire de la nage. Ce phénomène possède donc vraisemblablement une composante d'origine centrale dont toutes les structures essentielles se retrouvent dans le rhombencéphale. De plus, puisque l'activité respiratoire est modifiée avant même le début de la locomotion, l'hyperpnée ne serait pas simplement une réponse à l'activité locomotrice mais serait plutôt anticipatoire à celle-ci. Le cerveau de

l'animal serait en quelque sorte pré-programmé pour que la ventilation anticipe l'activation de la locomotion. Puisque le système de contrôle est conservé chez les vertébrés, ces observations chez la lamproie pourraient permettre d'émettre des hypothèses viables quant aux interactions locomotion-respiration chez les mammifères.

Article 1:

Interactions between locomotion and respiration in lampreys

Apport des différents auteurs de l'article :

Interaction between locomotion and respiration in lampreys.

Johannie Gravel : J'ai effectué l'ensemble des expériences ayant permis l'acquisition des données traitées dans cet article. J'ai également effectué l'analyse de ces résultats. Finalement, j'ai participé à la rédaction de chacune des parties constituant cet article.

Dr Frédéric Brocard : Dr Brocard m'a aidé à établir le protocole expérimental à la base de ces travaux.

Dr James P. Lund : Dr Lund a participé à la supervision des travaux de recherche ayant mené à cet article.

Dr Réjean Dubuc : Dr Dubuc a assuré la supervision des travaux de recherche ayant mené à cet article. Il a également commenté le manuscrit et suggéré des améliorations.

Accord des coauteurs

Déclaration des coauteurs d'un article

Identification de l'étudiante :

Johannie Gravel
M.Sc. Sciences Neurologiques

Description de l'article :

Titre: Interactions between locomotion and respiration in lampreys
Liste des auteurs: Johannie Gravel, Frédéric Brocard, James P. Lund et Réjean Dubuc.
Revue à laquelle l'article est destiné : Neurosciences
État actuel de l'article : en préparation

Déclaration de tous les coauteurs autres que l'étudiant

À titre de coauteur de l'article identifié ci-dessus, je suis d'accord pour que Johannie Gravel inclue cet article dans son mémoire de maîtrise qui a pour titre Modulation de l'activité respiratoire par la locomotion chez la lamproie.

Dr Frédéric Brocard
Coauteur

Signature

13-12-05

Date

Dr James P. Lund
Coauteur

Signature

12/13/05

Date

Dr Réjean Dubuc
Coauteur

Signature

12-12-05

Date

Interactions between locomotion and respiration in lampreys

J. GRAVEL^a, F. BROCARD^b, J.P. LUND^{a,c} and R. DUBUC^{a,d}

^aCentre de Recherche en Sciences Neurologiques, Université de Montréal, Montréal, Québec, Canada.

^bCNRS, Laboratoire de Plasticité et Physio-Pathologie de la Motricité, Marseille, France

^cFaculty of Dentistry, McGill University, Montréal, Québec, Canada.

^dDépartement de Kinanthropologie, Université du Québec à Montréal, Montréal, Québec, Canada.

Corresponding author :

Dr Réjean Dubuc

Département de Kinanthropologie


Université du Québec à Montréal

C.P. 8888 Succ. Centre-ville

Montréal (Québec), Canada, H3C 3P8

Tel : +1-514-343-5729

Fax : +1-514-343-6611

Email address: 

List of abbreviations

CPG : Central pattern generator

EMG : Electromyogram

IX : Glossopharyngeal motor nucleus

X: Vagal motor nucleus

ABSTRACT

In vertebrates, locomotion is associated with changes in the respiratory rhythm, but the mechanisms by which this occurs are still unknown. To examine this, we have used a semi-intact preparation of young adult lampreys, *Petromyzon marinus*, in which respiratory and locomotor behaviours can be recorded simultaneously with the activity of the underlying neural control systems. Spontaneous fictive respiration was recorded with suction electrodes positioned over the IX (glossopharyngeal) or the rostral X (vagal) motor nucleus. Locomotor episodes, characterized by symmetrical tail movements (EMG recordings) in the semi-intact preparation, were evoked by mechanical skin stimulation of the tail or the head. The respiratory rhythm and the area of motor bursts were significantly increased (respectively $81.6 \pm 28.6 \%$ and $62.8 \pm 25.4 \%$) during locomotion ($P < 0.05$). The respiratory rhythm returned to normal 92.1 ± 51.4 s after the end of locomotion. It was found that a modification in respiratory activity preceded the onset of spontaneous locomotion by 3.5 ± 2.6 s. This suggests that the respiratory changes are anticipatory, and are not caused by feedback generated by locomotion. Furthermore, the increase in respiratory frequency during locomotion induced by mechanical stimulation persisted after removal of the mesencephalon. The changes in the respiratory activity were also present in the isolated rhombencephalon. Altogether, the results suggest that respiratory changes are pre-programmed in order to adjust ventilation prior to motor activity, and that a central rhombencephalic mechanism is involved.

Key words: respiratory pattern, *Petromyzon marinus*, fictive respiration, spontaneous locomotor bout, rhombencephalon.

INTRODUCTION

Locomotion and respiration are two important motor functions and the neural mechanisms underlying each of them have been extensively examined. The interactions between the two, however, have received far less attention. It is well known that exercise produces an increase in respiratory frequency, although the exact course of events leading to this remains to be elucidated.

Several non-exclusive neural mechanisms have been proposed to play a role, including central neural mechanisms as well as feedback from respiratory and non-respiratory related sources (see Waldrop et al., 1996 for review). For example, Krogh and Lindhard (1913) examined the respiratory rhythm at the onset of exercise in humans and found an increase. They concluded that the mechanism responsible for the increase originated from the motor cortex, which was thought to be responsible for generating the motor command for exercise. Several decades later, studies in decorticate cats showed that spontaneous as well as electrically or chemically induced locomotion (stimulation of an hypothalamic area) caused the respiratory rhythm to increase (Eldridge et al, 1981, Eldridge et al, 1985, Waldrop et al, 1986). The authors proposed that the hypothalamus was responsible for the increase in respiratory rhythm. Other authors have hypothesized that direct interactions between the central pattern generators for locomotion and that for respiration were involved in the coordination between both motor activities (Viala and Freton, 1983; Viala, 1986).

The importance of peripheral feedback on central nervous centers was also demonstrated. For example, electrical or mechanical stimulation of the hindlimb muscles or nerves of a paralysed cat elicits an increase in the respiratory frequency (Waldrop et al., 1982). Passive flapping of the wings of Canada geese is also sufficient to induce a ventilation increase (Funk et al, 1992). In addition to these peripheral and central mechanism, humoral factors and the mechanical pressure exerted by muscles and viscera were also proposed to play a role in the coordination between locomotion and respiration.

The lamprey model presents advantages for the study of the interactions between respiration and locomotion. First, a semi-intact preparation can be obtained by dissecting the head and gaining access to the whole brain, while the tail is left intact to freely swim behind, allowing for the study of cellular neuronal mechanisms during locomotor activity (Viana Di Prisco et al, 1997). Second, in such preparations, spontaneous respiration can easily be maintained *in vitro* for up to 24 hours (Guimond et al, 2003; Rovainen, 1996; Thompson, 1985). Third, the central pattern generators for locomotion in the spinal cord are well characterized (Buchanan and Grillner, 1987; Grillner et al., 2000) and the locomotor command centers in the brainstem are beginning to be understood at the cellular level (Viana Di Prisco et al., 1997, 2000; Sirota et al., 2000; El Manira et al., 1997; Le Ray et al, 2003; Brocard et al., 2005; Brocard and Dubuc, 2003). Finally, bouts of locomotion occur spontaneously or can be elicited by sensory or central stimulation.

The goal of this study was to examine the effects of spontaneous or sensory-evoked locomotion on the respiratory pattern in lampreys. The data show that

swimming induces a clear increase in the respiratory drive, and that changes in the respiratory pattern can appear before the onset of spontaneous locomotion. Structures rostral to the rhombencephalon are not involved in this effect and stimulation that normally induces locomotion still affects the respiratory drive, even after removing the spinal cord, suggesting that central rhombencephalic mechanisms are involved.

EXPERIMENTAL PROCEDURES

Experiments were performed on a total of 23 young adult sea lampreys (*Petromyzon marinus*) ranging between 12 and 16 cm in total body length. The animals were either collected from the Morpion Stream (Ste-Sabine, QC, Canada) or purchased from ACME Lamprey Co. (ME, USA). All experimental procedures were conformed to guidelines of the Canadian Institutes for Health Research and were approved by the University Animal Care and Use Committee. The CIHR guidelines are in accord with either the NIH (USA) or the Society for Neuroscience guidelines on the ethical use of animals. Care was taken to minimize the number of animals used and their suffering.

Semi-intact preparation

The animals were anesthetized by immersion in cold fresh water containing tricaine methanesulphonate (MS-222, 100mg/l, Sigma-Aldrich, St-Louis, MO, USA), then transferred in cold oxygen-saturated Ringer's of the following composition (in mM): 130 NaCl, 2.1 KCl, 2.6 CaCl₂, 1.8 MgCl₂, 4 HEPES, 4 dextrose, and 1 NaHCO₃, pH adjusted to 7.4 with NaOH.

The preparation was eviscerated and both the sucker disk and the gill apparatus down to the last gill pore were dissected out. The rostral spinal cord and brain were exposed, whereas a patch of skin around the nostril was left intact. The preparation consisted thus in a skin patch on the head, the brain and the first 10 rostral segments of spinal cord attached to the ventral cranium and notochord respectively with the tail left intact behind (Fig. 1A). A decerebration was

performed by removing the prosencephalon. This semi-intact preparation was then transferred to an experimental chamber where dissected rostral part of the preparation was firmly pinned down on a silicone elastomer bottom (Sylgard, Dow Corning Corporation, Midland, MI, USA), whereas the intact tail was left free to move. The recording chamber was continuously perfused with cold oxygen-saturated Ringer's at a rate of ~ 8 ml/min (total volume of the chamber: ~ 370 ml). The flow of Ringer's solution was oriented to reach the head first in order to optimize the oxygenation of the brainstem.

Stimulation and recordings

Locomotion was induced by applying mechanical pressure to the skin of the tail or the head with a fine metallic probe. Electromyographic (EMG) recordings were made using pairs of Teflon-coated stainless steel wires (50 μm diam; California Fine Wire, Grover Beach, USA), inserted bilaterally into the myotomes between segmental levels 20 and 25, with an inter-electrode distance on each side of ~ 4 mm. The EMG signals were amplified (X1000), filtered (bandwidth: 30Hz to 1 kHz) and recorded at a sampling rate of 3.33 kHz. Respiration was monitored using suction electrodes positioned over the glossopharyngeal (IX) or the vagal (X) motor nucleus.

Data analysis

Data acquisition was carried out using Clampex 9.2 Software (Axon Instruments, Union City, CA, USA). Off-line analysis was performed with Clamfit 9.2 software and homemade software. All statistical analysis was carried out using Origin software (Origin Lab, Nortampton, USA). The amplitude, the duration, the

integral, and the frequency of the EMG and respiratory bursts were measured by using a homemade peak and level detector software. This software was used to integrate the EMG or ENG signals. The onset of a burst was detected when the root mean square value exceeded a threshold value set just above the back-ground noise for more than 10 ms. Burst detection was validated by the experimenter and corrections were made when needed. Values of duration, maximal amplitude and integrated bursts were transferred in MS Office Excel format.

The respiratory or locomotor cycle durations (period) were measured as the time interval between the beginnings of two consecutive respiratory or locomotor bursts. Instantaneous frequency was the inverse of that cycle duration. For each testing session, the parameters were calculated by averaging ~ 20 consecutive cycles during a steady-state sequence of locomotion. Bilateral EMG recordings could not always be recorded, but the semi-intact preparation allows in addition, for direct visual monitoring of locomotor movements. An ANOVA was used for multiple group comparisons. A Tukey test was used for post hoc analysis to determine the significance of changes between the different groups. Differences were considered statistically significant with $P < 0.05$.

RESULTS

Under control conditions, the respiratory discharges consisted of short bursts of discharges, lasting from 40 to 80 ms and recurring rhythmically at frequencies ranging from 0.4 to 1.2 Hz (Fig. 1 B_{1a}).

Effects of sensory-evoked locomotion on respiratory activity

The effects of locomotion on respiratory activity were investigated in 11 preparations in which swimming was induced by mechanical pressure applied to the skin. Only locomotor bouts lasting at least 20 cycles were subjected to further analysis. Swimming activity was assessed visually in the semi-intact preparation and with EMG recordings in most cases (Fig. 1B₁). Locomotion began some 0.5 to 6 s after the stimulus and was accompanied by changes in the respiratory activity (Fig. 1B) that were similar whether swimming was induced by stimulation of the tail or the head. Therefore, the results from stimulation of either site were pooled together. Changes were quantified in 25 trials occurring in the 11 different preparations. As locomotion was elicited in response to mechanical stimulation of the skin, immediate changes occurred in the respiratory activity (Fig. 1B₁, B_{2a}). The stimulation was followed by the occurrence of 1 to 3 long respiratory bursts (150 to 400 ms duration, Figs. 1B₁ and 2A) in 20 out of the 25 trials. In 4 trials, the stimulation was followed by a short respiratory pause (between 0.5 and 5 s), and in one other trial, tonic discharges replaced the rhythmic respiratory activity (Fig. 2A). The initial changes lasted from 1 to 14 s with a median of 3.4 s. (Fig. 2B).

Later during the locomotor bout, respiratory activity became more intense (Fig. 1B₁ and B_{2b}, see also below) and the changes were subject to further quantification. There were significant increases (ANOVA $P < 0.01$) in the mean instantaneous frequency of respiration (average of 20 cycles per trial) of 81.6 ± 28.6 % as compared to the resting level. During the locomotor bout, there were significant increases in the duration of the bursts (34.6 ± 7.9 %), their peak to peak amplitude (40.0 ± 16.3 %) and their integrated value (62.8 ± 25.4 %) as compared to respiratory activity at rest (Fig. 3; compare left and middle columns). One minute after the locomotor bouts had ended (Fig. 3, right columns), there was a significant decrease in the instantaneous frequency (19.4 ± 6.4 %), the duration, (6.1 ± 0.7 %) and integrated respiratory bursts (18.5 ± 4.7 %), although the values were still higher than those at rest. On the other hand, the peak to peak amplitude was not reduced significantly one minute after a locomotor bout had ended (21.7 ± 7 %). Repeated trials in the same preparation showed that the frequency of the respiratory activity increased by a relatively similar value during each locomotor bout (Fig. 4). A two-way ANOVA for repeated measurements did not indicate any significant difference for the different trials ($P > 0.01$).

The time course of the respiratory instantaneous frequency was also examined before, during, and after locomotion. There was a clear increase in the instantaneous frequency that reached a plateau during each locomotor bout (Fig. 5A). Interestingly, there were also oscillations in the instantaneous frequency plots for both respiratory and locomotor activities and the oscillations. One oscillatory cycle lasted between 20 and 80 locomotor cycles and the oscillations were apparent

only for swimming bouts minimally lasting 25 s. This limited our observation to a total of 8 trials in 5 out of the 11 preparations. The oscillations occurring in the respiratory instantaneous frequency plots were antiphasic with those occurring in locomotion (Fig. 5B). The instantaneous frequency of respiratory activity reached a maximum when that of locomotion was minimal.

It was also found that the respiratory frequency reached a similar value during locomotion, irrespective of the initial respiratory frequency at rest. The mean value of respiratory frequencies during locomotion was 1.4 ± 0.2 Hz, with a relatively narrow range from 1 to 1.7 Hz, (Fig. 6A). This mean that preparations with a high respiratory frequency at rest displayed less of an increase in frequency than those with a lower respiratory frequency at rest (Fig. 6B). Moreover, this plateau that seemed to be reached by the respiratory frequencies during locomotion, showed no clear relationship with the frequency of locomotion (Fig. 7A,B). Because locomotion was induced by mechanical stimulation of the skin and that such stimulation was previously shown to elicit increases the respiratory drive in lampreys (Thompson 1990), it became important to establish whether locomotor activity *per se* evoked an increase in respiratory activity. We compared the increases in respiratory frequencies for stimuli that evoked locomotion to those that did not. Interestingly, cutaneous stimulation that did not generate locomotor activity only increased the respiratory frequency by 23.6 ± 4.4 % as compared to an increase of 64.2 ± 8.5 % when locomotion is elicited (Fig. 7C). These results suggest that the changes in respiratory drive resulted indeed from locomotion activity. It was also observed that when locomotion failed to occur, the previously

described oscillations in the time course of the instantaneous respiratory frequency plots (see Fig. 5) were not apparent.

At the end of the locomotor bouts, the respiratory frequency and the overall respiratory activity gradually returned to resting levels (Fig. 8A-C). The time necessary to return the rest level of respiratory frequency was correlated to the duration of the locomotor bout ($R^2=0.4$). The respiratory frequency took between 26 and 228 s to come back resting levels for locomotor bouts lasting between 8 and 181 s.

Effects of spontaneous locomotion on respiratory pattern

Spontaneous locomotor bouts occurred in 9 of the 23 preparations. In some preparations, they occurred as often as 8 times in one hour, whereas in others they occurred only once in 10 hours of recording. The majority of the spontaneous locomotor bouts (21 on 30) lasted only a few seconds (less than 20 locomotor cycles) and therefore, only the early changes in respiratory activity were analysed in those. The 9 others trials (in 9 preparation) lasted more than 20 locomotor cycles (between 17 s and 78 s, mean 42.7 ± 23.9 s) and the changes in respiratory activity that occurred during sustained locomotor activity were also analysed. It became clear that during spontaneous locomotion, respiratory changes occurred before the onset of swimming. In the vast majority of cases (26 out of 30) the spontaneous locomotor bouts were preceded with either a complete arrest of breathing that lasted a few seconds (Fig. 9A; $n = 13$ in 5 preparations) or by the occurrence of 1 to 3 long bursts of discharge, lasting in average 668 ± 239 ms ($n = 13$ in 6 preparations; Fig. 9B). The delay between the first sign of change in the respiratory activity and the

onset of a spontaneous locomotor episode ranged from 0.9 and 8.7 s (Fig 10). In the other 4 locomotor bouts examined in 3 of the preparations, there were no detectable changes in the respiratory pattern preceding locomotion although, the respiratory activity was increased during the locomotor bout as seen in the all other cases. Indeed, once locomotion was well organised, there was a significant increase in the respiratory frequency (54.1 ± 18.3 %), the burst durations (22.2 ± 4.0 %), the peak-to-peak amplitude of the bursts (35.7 ± 9.6 %), and the integration of respiratory bursts (41.1 ± 9.3 %, respectively; Fig. 11). The changes did not differ from those seen during sensory-evoked locomotion (one-way ANOVA, $P > 0.05$). The frequency gradually returned to resting levels after spontaneous locomotion had ended, much in the same way as seen after sensory-evoked locomotion. Once again, the time to return to the rest level was correlated to the duration of the locomotor bout ($R^2=0.4$; $n= 11$). The frequencies fell back to resting levels in less than 3 minutes in all the cases and in 8 of these cases, it required less than 2 minutes (Fig. 12).

Effects of lesions on the locomotion-respiration relationship

The effects of removing the spinal cord, the mesencephalon, or both, were investigated in 8 preparations as a first step to identify where the locomotion-respiration interactions could take place. In all these cases, locomotor activity was elicited by mechanical pressure applied to the skin over the head region, the sensory inputs being relayed to the brainstem the intact trigeminal nerves (Viana Di Prisco et al, 1997, 2000).

Removing the mesencephalon

In 3 preparations, the effects of sensory-evoked locomotion were first examined on respiratory activity prior to the lesion to confirm the results obtained in Fig. 1 (Fig. 13A, top panel). After removing the mesencephalon, sensory-evoked locomotion was accompanied by similar increases in respiratory frequency (42.4 ± 3.9 % before vs. 59.9 ± 16.9 % after) (Fig. 13B). The peak-to-peak amplitudes displayed an important increase during locomotion (62 ± 9.4 % before vs. 122.3 ± 20.9 % after).

Removing the spinal cord

In order to establish whether the spinal locomotor was essential for the changes in respiratory activity to occur, it was removed in 4 preparations. Prior to removing the spinal cord, sensory-evoked locomotion evoked increases in respiratory activity. The frequency increased by 91.5 ± 22.0 % and the integration of respiratory bursts by 53.9 ± 8.3 % (Fig. 14A). After removing the spinal cord, mechanical stimulation of the skin still evoked increases in the respiratory frequency (60 ± 12.7 %) and in the integration of respiratory bursts (73.5 ± 41.0 %). No locomotion was obviously occurring after removal of the spinal cord (Fig. 14A₂, top panel), but the stimulation was the same as used when the spinal cord was intact. Increases in respiratory frequency before and after the lesion were observed (Fig. 14B). Due to a larger variability in the relative increases between preparations, the changes in total respiratory activity were not significantly different before and after the spinal cord lesion (Fig. 14C). It is worth noting that after spinal cord removal, the oscillations were no longer visible ($n = 7$ on 4 preparations; not shown).

Removing both the spinal cord and mesencephalon

In one other preparation, the effects of removing both the mesencephalon and the spinal cord were investigated (Fig. 15A). The increases in respiratory frequency were still observed after the lesions isolating the rhombencephalon (respiratory frequency before 35 ± 12.5 %, after 50.5 ± 5.1 % (Fig. 15B) and integration of respiratory bursts, before 25.8 ± 3.2 %, after 95.2 ± 18.3 % (Fig. 15C).

DISCUSSION

The present results show that locomotion is accompanied with a marked increase in respiratory activity. The changes in respiratory activity occur before the onset of spontaneous bouts of locomotion, suggesting that anticipatory mechanisms are involved. The increase in respiratory activity is maintained after removal of the mesencephalon and the same sensory stimulation evokes an increase in respiratory drive after removal of the spinal cord.

Respiratory activity increases during locomotion

We described an overall increase in respiratory activity during sensory-evoked as well as spontaneous locomotion. The increase is, at least partly, due to the activation of the neural networks responsible for locomotion, as shown by comparing data in the presence and absence of locomotion when evoked by sensory stimulation. The increase could have solely resulted from the activation of skin receptors by the mechanical pressure. The lamprey skin is known to contain sensory receptors, which, in turn, activate dorsal cells, first studied by Sigmund Freud (Freud, 1877, 1878). Dorsal cells have a cell body within the spinal cord and their axon ascends within the dorsal columns, which project to relay cells located in the caudal brainstem (Dubuc et al, 1993a, 1993b). Direct activation of these cells or mechanical stimulation of the skin was previously shown to increase in respiratory drive, and this was termed “arousal breathing” by Thompson (1990). We now confirm that cutaneous stimulation increases respiratory drive in the absence of evoked locomotion. However, preparations that swam in response to cutaneous stimulation exhibited a significantly larger increase in respiratory activity than

preparations that did not swim. This suggests therefore that the activation of the locomotor networks adds up to the activation of sensory inputs to boost the respiratory response.

In many species of mammals including humans, humoral factors such as O_2 , CO_2 , K^+ as well as pH have been shown to modulate respiratory activity during motor behaviour (see Mateika and Duffin, 1995 for review). Some authors consider that gills of teleosts contain chemoreceptors to O_2 (Burlison and Milson, 1995; Sundin et al, 2000) or CO_2 (Milsom, 2002; Perry and Gilmour, 2002). Some neuroepithelial cells of the gills have been proposed to play a role in the detection of O_2 levels in many species of fish, such as zebrafish, goldfish and trout, and in *Xenopus laevis* larvae (Saltys et al, 2005). Because the circulatory system of the head and branchial apparatus were completely removed in the semi-intact preparations used in the present study, humoral factors did not contribute to the modulation of the respiratory drive during swimming. Moreover, the entire preparation was constantly perfused at high rate with freshly oxygenated Ringer's that reached the brain first with a flow oriented towards the tail and the oxygenation conditions were the same at rest and during swimming of the tail.

Our data showed that the frequency of the respiratory bursts was increased during the entire locomotor bouts. It is possible that the neural networks responsible for locomotion act at the level of the rhythm generator for respiration. The neural circuitry generating respiration in lampreys has not yet been identified. It has been proposed that a group of cells located lateral to the trigeminal motor nucleus in the rostral rhombencephalon may be involved in the neurogenesis of respiration

(Rovainen, 1985; Thompson, 1985, 1990; Russell, 1986; Rovainen, 1996; Martel et al, 2005). The neural circuitry generating respiration in lampreys appears therefore to be modulated directly or indirectly by brainstem neurons involved in the control of locomotion. In addition to effects on the respiratory rhythm-generating networks, direct effects on respiratory motoneurons could also be involved because both the amplitude and duration of respiratory bursts were increased. The effects on size of the respiratory bursts could result from an increased discharge of motoneurons already active during respiration. Both sensory and central inputs from the locomotor networks could contribute. Moreover, additional motoneurons could be recruited. Indeed, larger motoneurons with a lower input resistance could be quiet during normal breathing at rest, but could be recruited during locomotion.

Effect of locomotor activity on respiratory drive

One other interesting aspect of our data is the fact that, independent of the initial respiratory frequency of a given preparation, the increased frequency obtained during locomotion seemed to reach a relatively constant value, at least in this experimental preparation. It seems as though there is some kind of preset level of respiratory activity required for locomotor activity. That value could represent a maximal physiological limit that lampreys can reach. *In vivo* observations should be done to confirm that this value cannot be exceeded during swimming.

The way by which the intensity of locomotion affects the intensity of the respiratory response was also investigated. There was no clear correlation between the locomotor frequency and the respiratory response. At this stage it was not possible to observe a gradual increase in the respiratory drive in response to gradual

increases in motor output. Rather, the respiratory output seemed to reach stable levels such as during rest, arousal in response to sensory stimulation, and high output during locomotion. These states are perhaps programmed at a central level. The appearance of oscillations in the frequency plots for both locomotion and respiration support on the other hand interactions between the locomotor and respiratory drives. The antiphase coupling is counterintuitive and cannot be explained at this stage. Whether such coupling occurs directly between locomotor and respiratory networks at brainstem level, or whether it is only the result of ascending inputs from the spinal cord, or both, remains to be elucidated. Because the oscillations disappear after removal of the spinal cord in the semi-intact preparation suggests that ascending spinal inputs are involved (Dubuc and Grillner, 1989; Vinay et al., 1998; Einum and Buchanan, 2004). Fictive locomotion experiments could help to decide on the possible contribution of movement-related feedback. In mammals, interactions between respiratory and locomotor activities have been reported (Iscoe and Polosa, 1976; Viala, 1986; Potts et al., 2005). These interactions have been shown to arise from somatic sensory feedback as well as direct interconnections between the two rhythm generators.

Respiratory changes precede the onset of spontaneous locomotion

The semi-intact lamprey preparation is an experimental model that exhibits spontaneous locomotor activity. We used this at our advantage to show that the changes in respiratory activity preceded the onset of locomotion. Long respiratory bursts occur in about half of the spontaneous locomotor bouts. Similar long bursts (duration 500 to 1000 ms) have been described previously during normal breathing

by others (Rovainen, 1977; Thompson, 1985) and us (Martel et al, 2005). It was proposed that they consisted of cough-like contractions of gill muscles to help clear the gills from debris (Rovainen, 1974). During normal breathing, they usually have an excitatory effect on the respiratory frequency, until it slows back down again and additional long bursts appear (Martel et al, 2005 and personal observations). In our material, such bursts sometimes appear without being followed by locomotion. In other cases, they were rapidly followed by a locomotor episode associated with increased respiratory activity. It is possible that the role of long bursts before locomotion is to increase respiratory activity in order to generate an adequate response to the increase of metabolic demand. Another respiratory change that took place before spontaneous locomotion was a complete arrest of respiratory activity. Interestingly, the increase in respiratory activity still occurred during the subsequent locomotor bout even in absence of the long respiratory bursts, suggesting that the latter are not necessary for this increase. It is impossible to determine yet what signals trigger the spontaneous locomotor bouts. There could be cyclical changes in the excitability of locomotor centers in the brainstem of lampreys. One such locomotor center, the mesencephalic locomotor region was recently shown to display large increases in excitability in the presence of Substance P (Brocard et al, 2005). All external conditions being the same during the experiments, it is unlikely that the locomotor bouts be elicited by uncontrolled sensory stimuli such as external vibrations or effects of the circulating Ringer's around the preparation inside the bath. The changes in respiratory activity that precede the onset of locomotion are an example of anticipatory mechanism the respiratory changes in relation to motor

behaviour would be pre-programmed, at a neuronal level, to adjust breathing to metabolic demand.

In cats, modifications of the respiratory pattern have been reported before the onset of both centrally-elicited (from hypothalamus) and spontaneous locomotion (Eldridge et al, 1981). Moreover, low intensity stimulation also modified respiratory activity in the absence of locomotion. Progressively increasing this stimulating current led to the induction of locomotion. It is possible that the threshold to trigger respiratory changes is smaller than for inducing locomotion.

The respiratory responses to sensory-evoked locomotion and to spontaneous locomotion were similar. This suggests that some of the mechanisms involved are shared. Sensory-evoked locomotion is associated with an escape reaction and was shown to rely on the activation of rhombencephalic reticulospinal cells (Viana di Prisco et al. 1997, 2000). Spontaneous locomotion may involve different locomotor centers in the brainstem and forebrain such as in goal-directed locomotion. One such center is the mesencephalic locomotor region (MLR). It is possible that both the MLR and sensory inputs activate rhombencephalic regions directly or indirectly involved with the control of respiration (see below).

The rhombencephalon contains neural networks by which locomotor activity can modulate the respiratory activity

After isolating the rhombencephalon from the mesencephalon and the spinal cord, stimulation that evoked locomotion still elicited increases in respiratory drive, suggesting that the rhombencephalon contains at least part of the network capable

of increasing respiratory activity during locomotion. This does not exclude the fact that modulatory inputs could still come from areas caudal or rostral to the rhombencephalon. For instance, the oscillations in the instantaneous frequency plots disappeared after removing the spinal cord.

Respiratory motoneurons are located in the caudal rhombencephalon of lampreys (Rovainen, 1974; Kawasaki, 1984; Guimond et al., 2003). The rhythm generating area has not been identified yet but all evidence points to a rhombencephalic location (Rovainen, 1985; Thompson, 1985; Russel, 1986; Martel et al 2005). Reticulospinal cells constitute the final common descending pathway to activate the spinal locomotor networks (Brodin et al., 1988; Grillner et al. 1995; Viana Di Prisco et al., 2000). The proximity of all these respiratory and locomotor areas could favour their direct interconnection within the rhombencephalon.

In mammals, invasive lesion studies are difficult to carry out due to the poor survival capacity of *in vivo* preparations. The ablation of the cortex of cats did not affect hyperpnea induced by exercise (Ranson and Magoun, 1933, Eldridge et al., 1985; Millhorn et al., 1987). Eldridge et al. (1985) also removed the diencephalon of 5 cats and induced locomotion by a stimulation of the MLR. The respiratory frequency was still increased during locomotion. Despite the removal of the diencephalon in those experiments, the authors still proposed that the hypothalamus was the main locomotor center that influenced respiration during locomotion. We now provide clear evidence that interactions between locomotion and respiration occur after removal of all neural tissue rostral to the rhombencephalon.

In conclusion, this study provides clear evidence that the neural respiratory activity increases during locomotion in lampreys. The changes in respiratory activity precede the onset of spontaneous locomotion, suggesting that the respiratory changes are anticipatory, and are not caused by feedback generated by locomotion. The increase in respiratory frequency during sensory-evoked locomotion persisted after removal of the mesencephalon and spinal cord, supporting the hypothesis that neuronal interactions between the respiratory and the locomotor networks occur in the rhombencephalon. Experiments to elucidate the neuronal circuitry underlying these locomotion-respiration interactions are underway.

Acknowledgements- This work was supported by a grant to R.D. and by a studentship to J.G. from the Natural Sciences and Engineering Research Council of Canada (NSERC). The authors express their gratitude to D. Veilleux for assistance with experiments, C. Valiquette for expertise in computer programming and F. Bernard for his assistance with the figures. We are grateful to F. Auclair for critical review of this manuscript.

REFERENCES

- Brocard F, Dubuc R (2003) Differential contribution of reticulospinal cells to the control of locomotion induced by the mesencephalic locomotor region. *J Neurophysiol* 90:1714-1727.
- Brocard F, Bardy C, Dubuc R (2005) Modulatory effect of substance P to the brain stem locomotor command in lampreys. *J Neurophysiol* 93:2127-2141.
- Brodin L, Grillner S, Dubuc R, Ohta Y, Kasicki S, Hokfelt T (1988) Reticulospinal neurons in lamprey: transmitters, synaptic interactions and their role during locomotion. *Arch Ital Biol* 126:317-345.
- Buchanan JT, Grillner S. (1987) Newly identified 'glutamate interneurons' and their role in locomotion in the lamprey spinal cord. *Science* 236:312-314.
- Burleson ML, Milson WK (1995) Cardio-ventilatory control in rainbow trout: I. Pharmacology of branchial, oxygen-sensitive chemoreceptors. *Respir Physiol* 100:231-238.
- Dubuc R, Grillner S (1989) The role of spinal inputs in modulating the activity of reticulospinal neurons during fictive locomotion in the lamprey. *Brain Res* 483:196-200.
- Dubuc R, Bongianni F, Ohta Y, Grillner S (1993a) 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.

- Dubuc R, Bongianni F, Ohta Y, Grillner S (1993b) Anatomical and physiological study of brainstem nuclei relaying dorsal column inputs in lampreys. *J Comp Neurol* 327:260-70.
- Einum JF, Buchanan JT (2004) Reticulospinal neurons receive direct spinobulbar inputs during locomotor activity in lamprey. *J Neurophysiol* 92:1384-1390.
- Eldridge FL, Millhorn DE, Waldrop TG (1981) Exercise Hyperpnea and locomotion: parallel activation from the hypothalamus. *Science* 211: 844-846.
- Eldridge FL, Millhorn DE, Kiley JP, Waldrop TG (1985) Stimulation by central command of locomotion, respiration and circulation during exercise. *Respir Physiol* 59:313-337.
- El Manira A, Pombal MA, Grillner S (1997) Diencephalic projection to reticulospinal neurons involved in the initiation of locomotion in adult lampreys *Lampetra fluviatilis*. *Comp Neurol* 389:603-616.
- Freud S (1877) Über den Ursprung der teren Nervenwurzeln im Rückenmark von *Amocoetes (Petromyzon planeri)*. *SB Acad Wiss Wien* 75:15-30.
- Freud S (1878) Über Spinalganglien und Rückenmark des Petromyzon. *SB Akad Wiss Wien* 78:81-167.
- Funk GD, Milsom WK, Steeves JD (1992) Coordination of wingbeat and respiration in the Canada goose. I. Passive wing flapping. *J Appl Physiol* 73:1014-24.
- Grillner S, Deliagina T, Ekeberg O, El Manira A, Hill RH, Lansner A, Orlovsky GN, Wallen P (1995) Neural networks that co-ordinate locomotion and body orientation in lamprey. *Trends Neurosci* 18:270-279.

- Grillner S, Cangiano L, Hu G-Y, Thompson R, Hill R, Wallén P (2000) The intrinsic function of a motor system- from ion channels to networks and behavior. *Brain Res* 886:224-236.
- Guimond JC, Auclair F, Lund JP, Dubuc R (2003) Anatomical and physiological study of respiratory motor innervation in lampreys. *Neuroscience* 122:259-266.
- Iscoe S, Polosa C (1976) Synchronization of respiratory frequency by somatic afferent stimulation. *J Appl Physiol* 40:138-148
- Kawasaki R (1984) Breathing Rythm-generation Mechanism in the Adult Lamprey (*Lampetra japonica*). *Jpn J Physiol* 34:319-335.
- Krogh A, Lindhard J (1913) The regulation of respiration and circulation during the initial stages of muscular work. *J Physiol* 47:112-136.
- Le Ray D, Brocard F, Bourcier-Lucas C, Auclair F, Lafaille P, Dubuc R. (2003) Nicotinic activation of reticulospinal cells involved in the control of swimming in lampreys. *Eur J Neurosci* 17:137-48.
- Martel B, Guimond J, Kolta A, Dubuc R (2005) Respiratory generation in the lamprey rhombencephalon. *Soc Neurosci Abst Program No.* 866.3.
- Mateika JH, Duffin J (1995) A review of the control of breathing during exercise. *Eur J Appl Physiol* 71:1-27.
- Millhorn DE, Eldridge FL, Waldrop TG, Kiley JP (1987) Diencephalic regulation of respiration and arterial pressure during actual and fictive locomotion in cat. *Circ Res* 61(suppl I):I-53-I-59.
- Milsom WK (2002) Phylogeny of CO₂/H⁺ chemoreception in vertebrates. *Respir Physiol Neurobiol* 131:29-41.

- Perry SF, Gilmour KM (2002) Sensing and transfer of respiratory gases at the fish gill. *J Exp Zool* 293:249-263.
- Potts JT, Rybak IA, Paton JFR (2005) Respiratory rhythm entrainment by somatic afferent stimulation. *J Neurosci* 25: 1965-1978.
- Ranson SW, Magoun HW (1933) Respiratory and papillary reactions induced by electrical stimulation of the hypothalamus. *Arch Neurol Psychiatry* 29:1179-1193.
- Rovainen CM (1974) Respiratory motoneurons in lampreys. *J Comp Physiol* 94: 57-68.
- Rovainen CM (1977) Neural control of ventilation in the lamprey. *Fed Proc* 36:2386-2389.
- Rovainen CM (1985) Respiratory bursts at the midline of the rostral medulla of the lamprey *J Comp Physiol* 157:303-309.
- Rovainen CM (1996) Feeding and breathing in lampreys. *Brain Behav Evol* 48: 297-305.
- Russel DF (1986) Respiratory pattern generation in adult lampreys (*Lampetra fluviatilis*): interneurons and burst resetting. *J Comp Physiol A* 158:91-102.
- Saltys HA, Jonz MG, Nurse CA (2005) Comparative study of gill neuroepithelial cells and their innervation in teleosts and *Xenopus* tadpoles. *Cell Tissue Res* 15:1-10.
- Sirota MG, Viana Di Prisco G, Dubuc R (2000) Stimulation of the mesencephalic locomotor region elicits swimming in semi-intact lampreys. *Eur J Neurosci* 12:4081-4092.

- Sundin L, Reid SG, Rantin FT, Milsom WK (2000) Branchial receptors and cardiorespiratory reflexes in a neotropical fish, the tambaqui (*Colossoma macropomum*). *J Exp Biol* 203:1225-1239.
- Thompson KJ (1985) Organization of inputs to motoneurons during fictive respiration in the isolated lamprey brain. *J Comp Physiol A* 157:291-302.
- Thompson KJ (1990) Control of respiratory motor pattern by sensory neurons in spinal cord of lamprey. *J Comp Physiol A* 166:675-684.
- Viala D, Freton E (1983) Evidence for respiratory and locomotor pattern generators in the rabbit cervico-thoracic cord and for their interactions. *Exp Brain Res* 49:247-256.
- Viala D (1986) Evidence for direct reciprocal interactions between the central rhythm generators for spinal 'respiratory' and locomotor activities in the rabbit. *Exp Brain Res* 63:225-232.
- Viana Di Prisco G, Pearlstein E, Robitaille R, Dubuc R (1997) role of sensory-evoked NMDA plateau potentials in the initiation of locomotion. *Science* 278:1122-1125.
- Viana Di Prisco G, Pearlstein E, Le Ray D, Robitaille R, Dubuc R (2000) A cellular mechanism for the transformation of a sensory input into a motor command. *J Neurosci* 20:8169-8176.
- Vinay L, Bongianini F, Ohta Y, Grillner S, Dubuc R. (1998) Spinal inputs from lateral columns to reticulospinal neurons in lampreys. *Brain Res* 808:279-293.

Waldrop TG, Eldridge FL, Millhorn DE (1982) Prolonged post-stimulus inhibition of breathing following stimulation of afferents from muscle. *Respir Physiol* 50:239-524.

Waldrop TG, Mullins DC, Millhorn DE (1986) Control of respiration by the hypothalamus and by feedback from contracting muscles in cats. *Respir Physiol* 64:317-328.

Waldrop TG, Eldridge FL, Iwamoto GA, Mitchell JH (1996) Central neural control of respiration and circulation during exercise. In: Rowell, L.B., Shepherd, J.T. (Eds) *Handbook of physiology, section 12: exercise: regulation and integration of multiple systems*. American physiological society, New York, pp.333-380.

FIGURE LEGENDS

Figure 1: Effect of sensory-evoked locomotion on the respiratory activity. A: The semi-intact preparation and experimental paradigm. Locomotion was either induced by mechanical stimulation of the head or the tail. B₁: Respiratory frequency (upper panel) and raw traces (lower panel) of respiratory activity (nX) and locomotion, (ipsilateral (iEMG) and contralateral (cEMG) electromyograms recorded at \approx segment 20-25). B₂: Grey boxes in B₁ at a larger scale.

Figure 2: Initial changes in the respiratory pattern occurring shortly after a cutaneous stimulation that elicited a locomotor bout. A: Distribution of the types of early changes observed in the respiratory pattern between 0 and 14 seconds before the onset of locomotion. B: Distribution of the delays between the cutaneous stimulation and the end of the early changes (return to normal “accelerated” breathing).

Figure 3: Characteristics of respiratory changes elicited during sensory-evoked locomotion as compared to the rest state. The frequency (A), duration (B), peak to peak amplitude (C), and integrated values (D) of respiratory bursts all increased during locomotion. One minute after the end of locomotion, all measured characteristics had decreased significantly, except for the amplitude (C).

Figure 4: Changes in the respiratory frequency illustrated for repeated locomotor trials in one preparation. Increases in frequency were seen in all trials and they were not significantly different from one another ($P > 0.05$).

Figure 5: Comparison of the instantaneous respiratory and locomotor frequencies in one locomotor bout. A: During the increased respiratory activity occurring during a bout of locomotion, slow oscillations appear in the instantaneous respiratory frequency plot. B: Similar oscillations are also present in the locomotor instantaneous frequency plot. Dashed lines illustrate some of the peaks in the oscillations in the instantaneous respiratory frequency plot.

Figure 6: Comparison between the respiratory frequency before and during 21 locomotor trials in 11 preparations. A: Plot of the respiratory frequency reached during locomotion versus the initial respiratory frequency before locomotion. B: Plot of the increase in respiratory frequency during locomotion versus the initial respiratory frequency before locomotion.

Figure 7: Comparison between the respiratory frequency during locomotion and the locomotor frequency during 21 locomotor trials in 11 preparations. A: Plot of the respiratory frequency reached during locomotion versus the locomotor frequency reached during that trial. B: Plot of the increase in respiratory frequency during locomotion versus the locomotor frequency reached during that trial. C: Average

frequencies reached at rest (left column), after stimulation under locomotor threshold (center column) and during locomotion (right column).

Figure 8: Respiratory activity gradually returns to resting levels after a locomotor bout. A,B: Evolution in time of the instantaneous respiratory frequency (A) and integration of respiratory bursts (B) from the end of one locomotor bout. C: Raw recordings of respiratory bursts before locomotion started (control) and at different times after it ended. D: After a locomotor bout, the time required for the respiratory frequency to return to the resting levels depends on the duration of that locomotor bout.

Figure 9: Changes in the respiratory activity during spontaneous locomotion. A: One example in which the onset of locomotion was preceded by a short respiratory pause (gray area). B: Another example in which the onset of locomotion was preceded by a period exhibiting one long respiratory burst (gray area).

Figure 10: Distribution of the delays between the first signs of change in the respiratory pattern and the onset of locomotion (time = 0). In preparations that showed a respiratory pause, the first sign of change was considered the moment when a normal respiratory burst would have occurred but was not present. For preparations that showed long bursts, the first sign of change was when the first burst appeared.

Figure 11: Characteristics of respiratory changes during spontaneous locomotion bouts as compared to rest. The frequency (A), duration (B), peak to peak amplitude (C), and integrated values (D) of respiratory bursts all increased during locomotion. One minute after the end of locomotion, only the frequency had decreased significantly.

Figure 12: After a spontaneous locomotor bout, the time required for the respiratory frequency to return to the resting levels depends on the duration of that locomotor bout. Two trials of locomotion lasting less than 15 seconds were included in the analysis to get more variation in the duration of locomotor bouts.

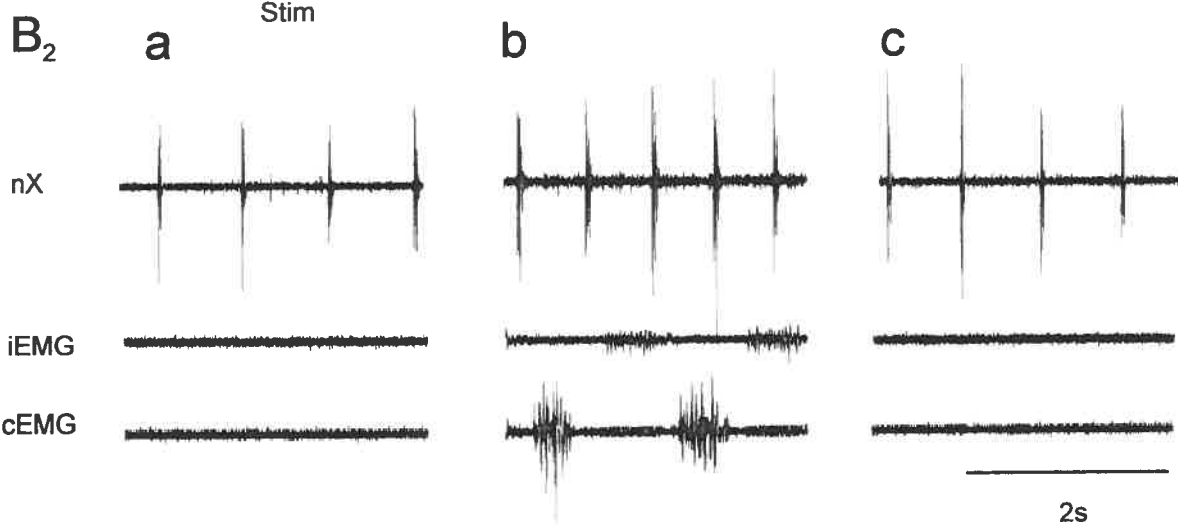
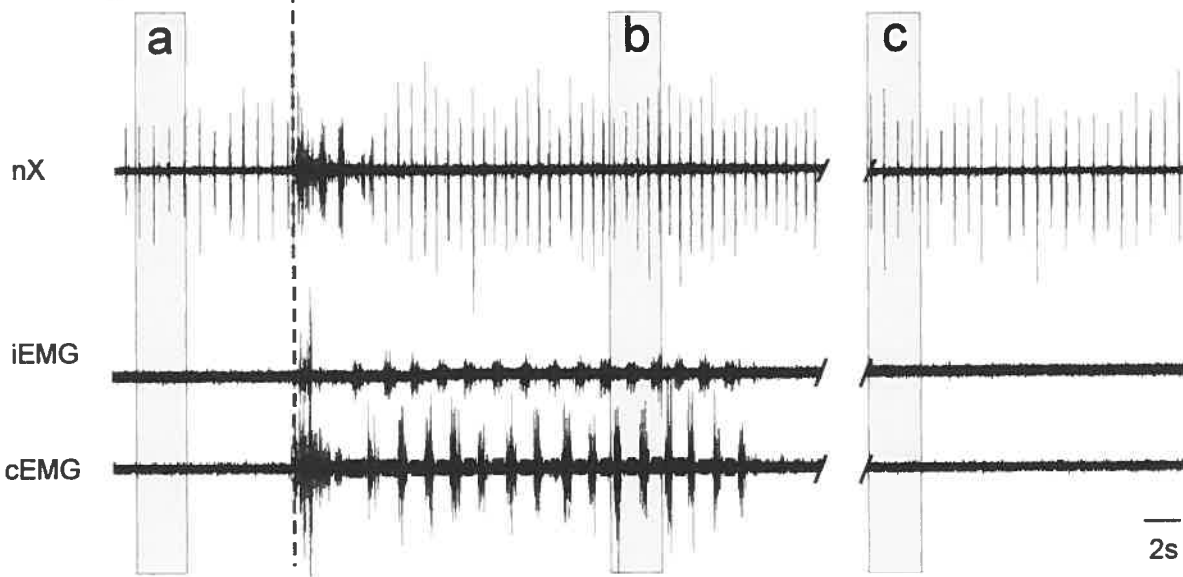
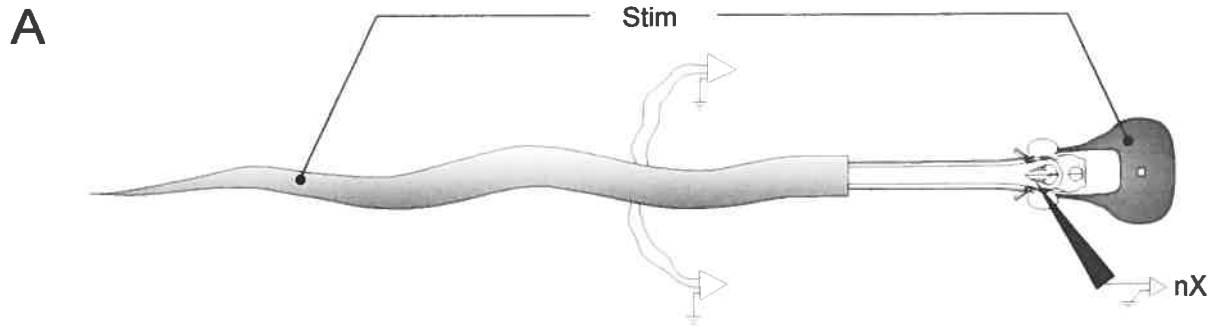
Figure 13: Changes in respiratory activity induced by sensory-evoked locomotion, before and after the removal of the mesencephalon. A: Recordings of respiratory and locomotor activities before (top panel) and after (bottom panel) the lesion. B,C: Histograms showing that removal of the mesencephalon did not prevent the increase in respiratory frequency (B) and integration of respiratory bursts (C).

Figure 14: Changes in respiratory activity produced by sensory-evoked locomotion, before removal of the spinal cord compared to the changes produced by a stimulation that normally produces locomotion, after removal of the spinal cord. A: Recordings of respiratory and locomotor activities before (top panel) and after (bottom panel) the lesion. B,C: Histograms showing that removal of the spinal cord

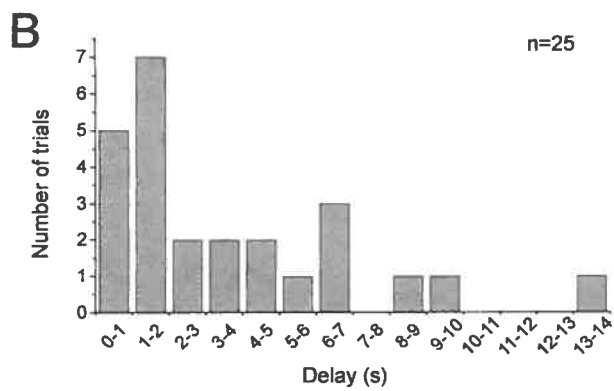
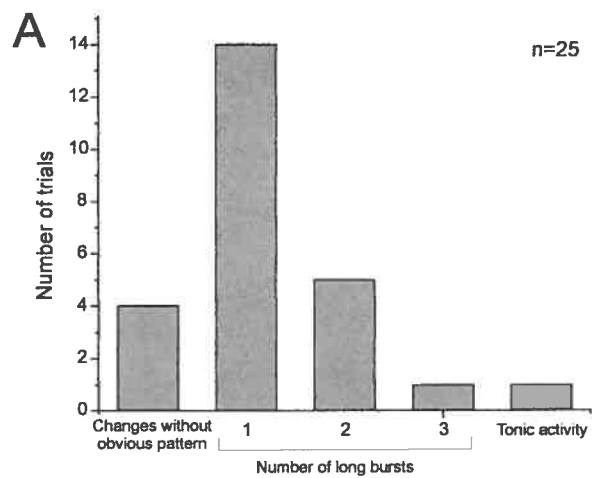
did not prevent the increase in respiratory frequency (B) and integration of respiratory bursts (C), measured between 9 and 24 seconds after the stimulation.

Figure 15: Changes in respiratory activity seen after a cutaneous stimulation that normally produces locomotion, after removal of both the mesencephalon and spinal cord. A: Recordings of respiratory activity produced by a stimulation after the lesions. B,C: Histograms showing that removal of the mesencephalon and spinal cord did not prevent the increase in respiratory frequency (B) and the integration of respiratory bursts (C), measured between 9 and 24 seconds after the stimulation.

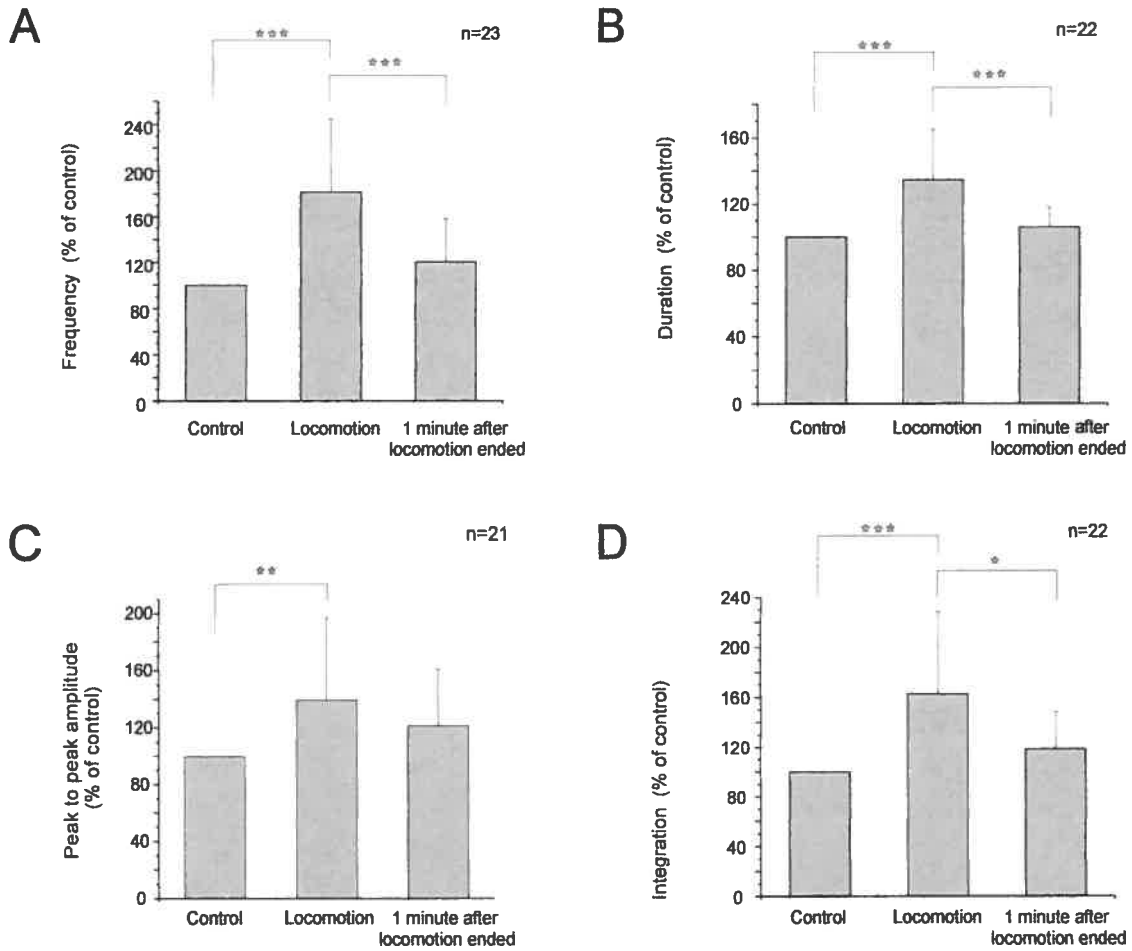
Interactions between locomotion and respiration in lampreys



Interactions between locomotion and respiration in lampreys



Interactions between locomotion and respiration in lampreys



Interactions between locomotion and respiration in lampreys

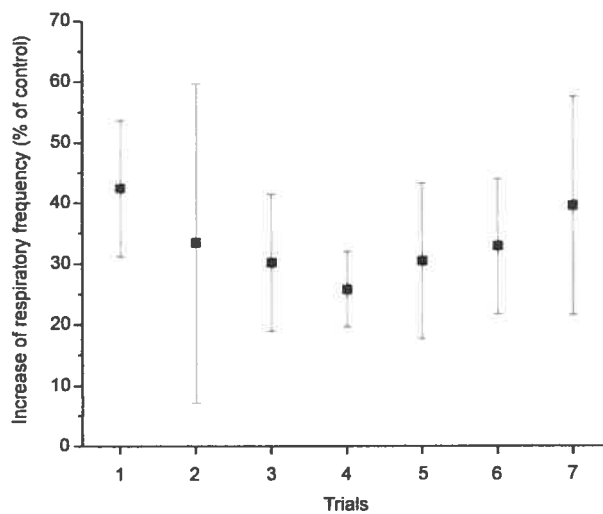
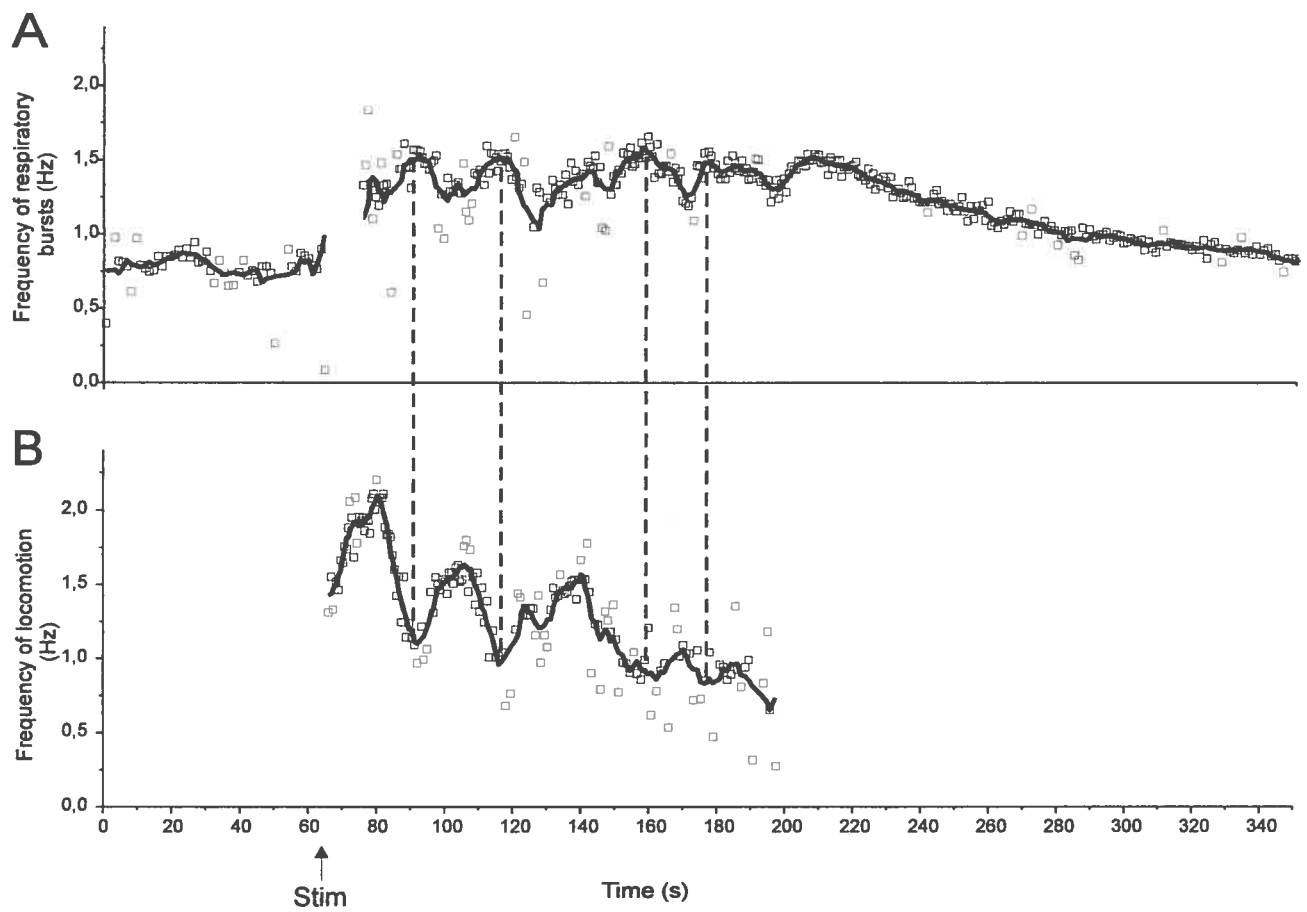


Figure 5
Gravel et al
Interactions between locomotion and respiration in lampreys



Interactions between locomotion and respiration in lampreys

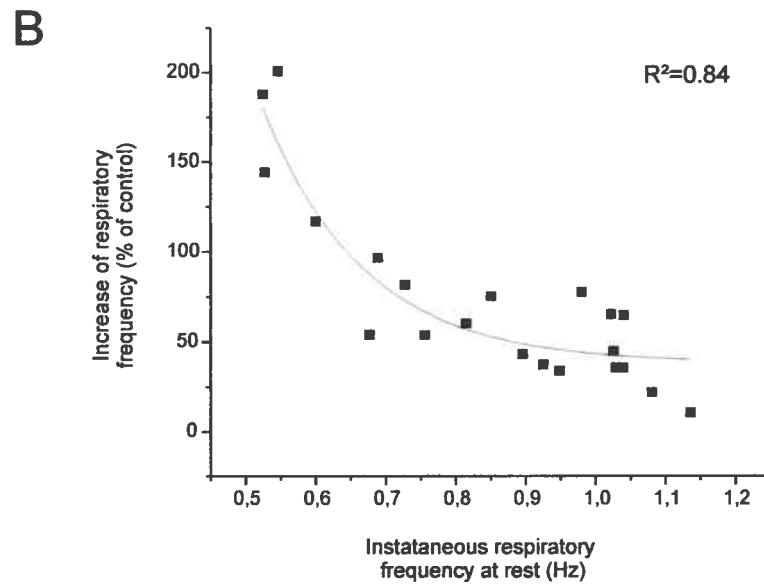
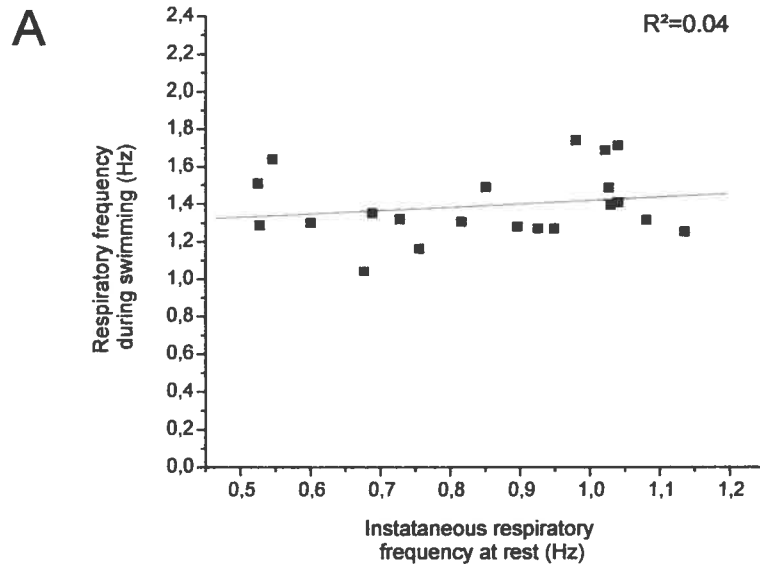
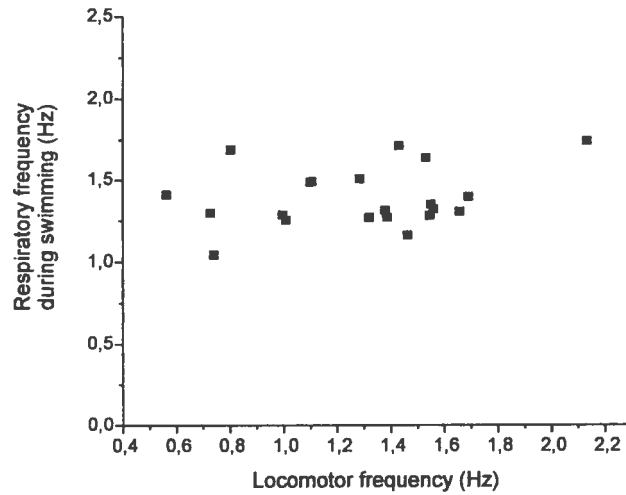


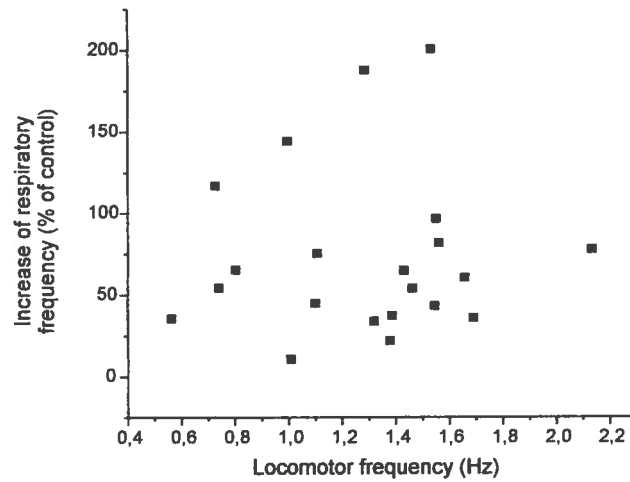
Figure 7
Gravel et al

Interactions between locomotion and respiration in lampreys

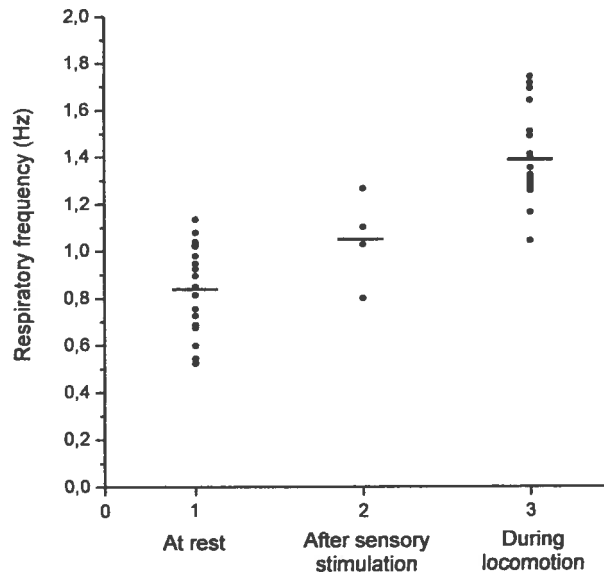
A



B

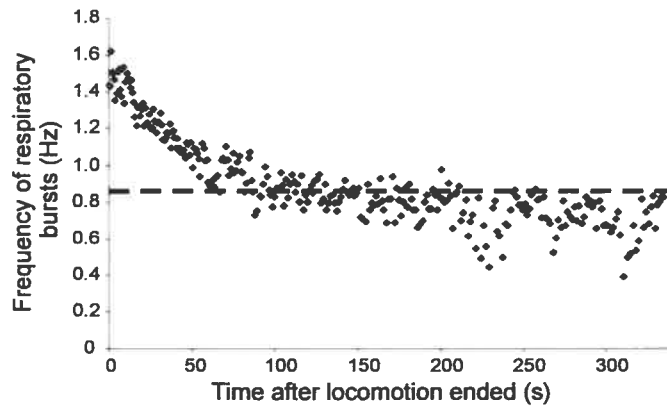


C

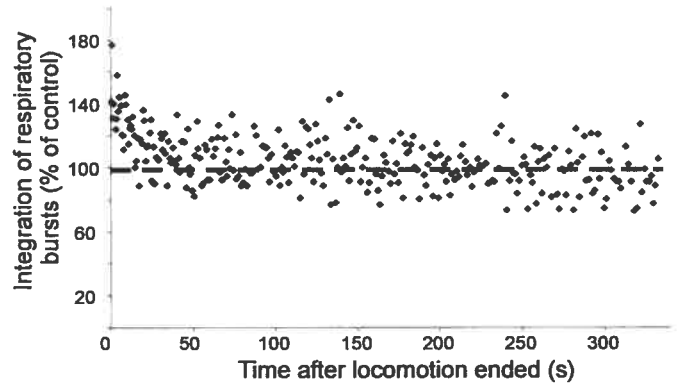


Interactions between locomotion and respiration in lampreys

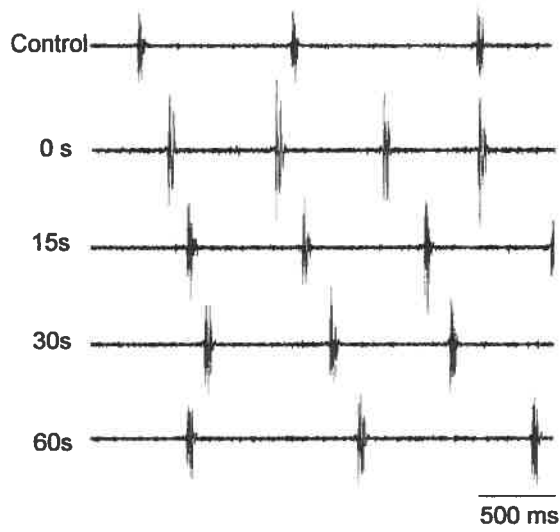
A



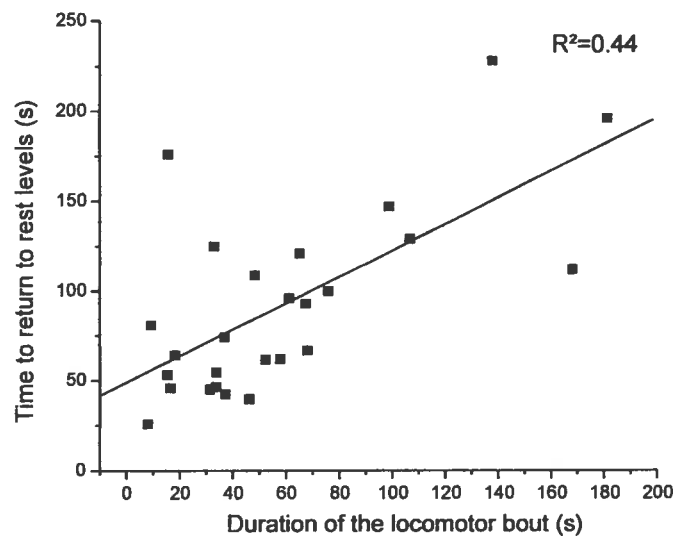
B



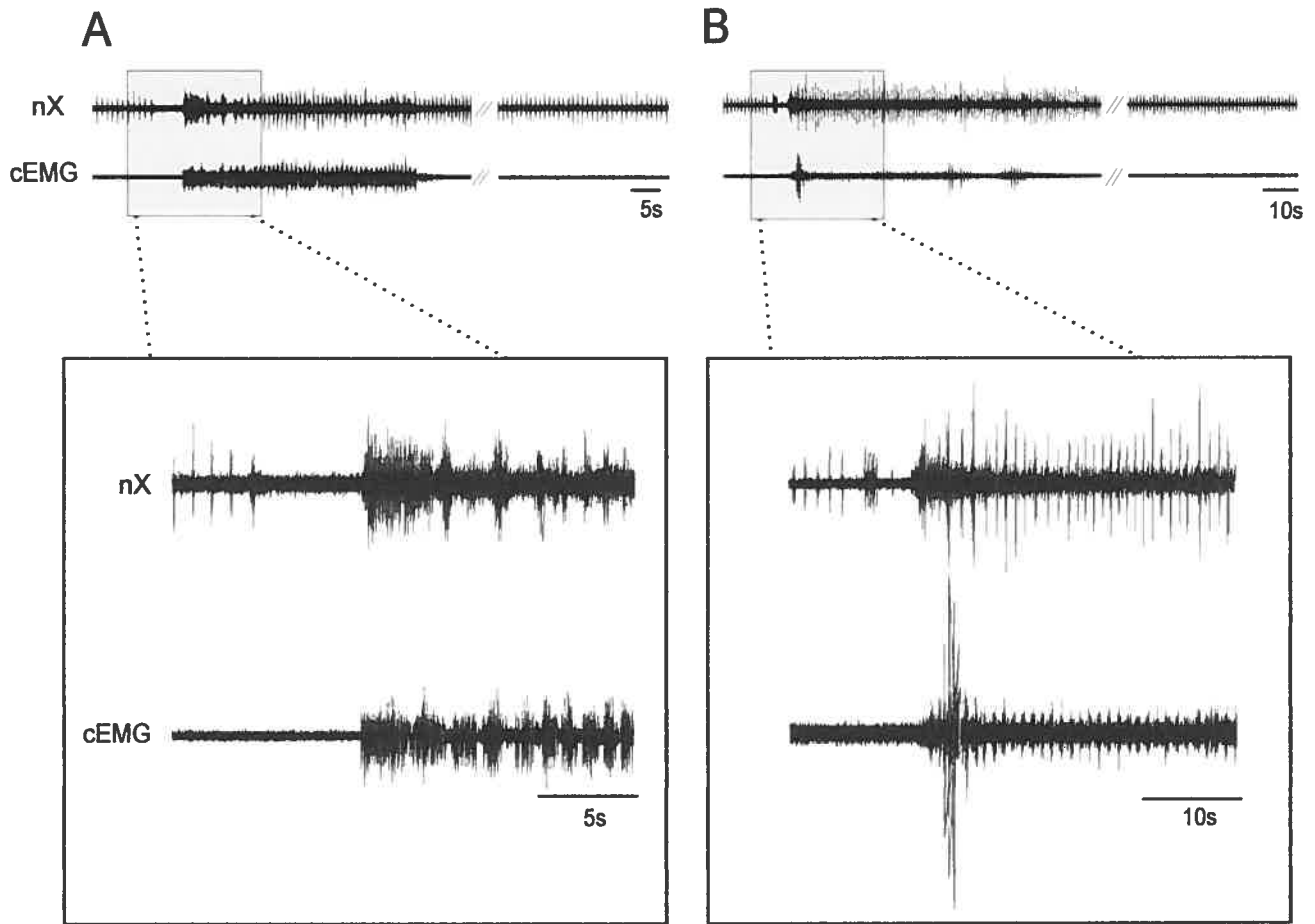
C



D



Interactions between locomotion and respiration in lampreys



Interactions between locomotion and respiration in lampreys

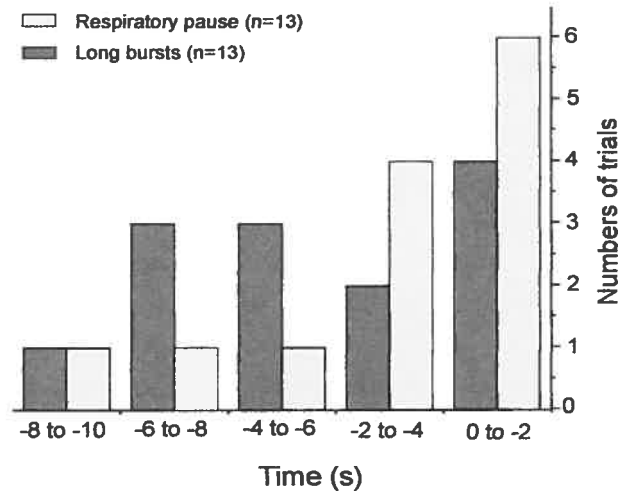


Figure 11
Gravel et al
Interactions between locomotion and respiration in lampreys

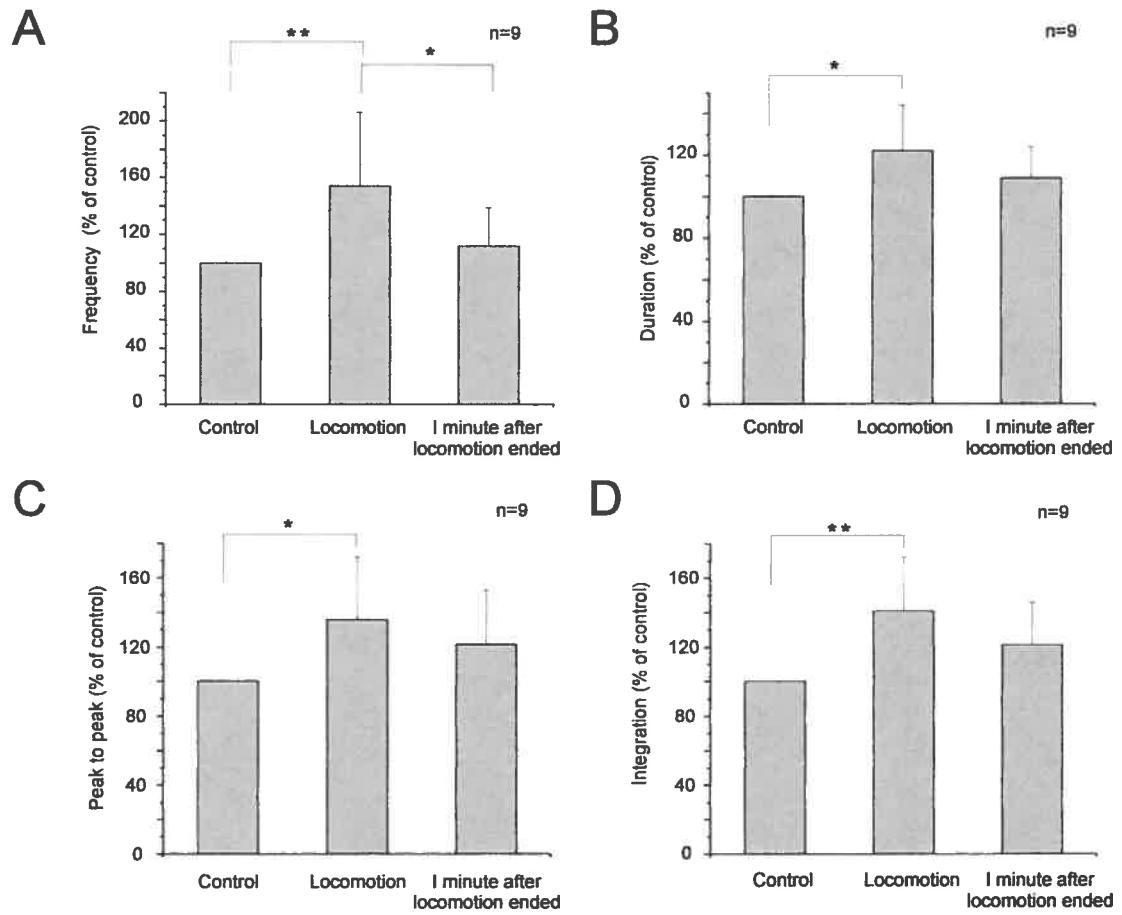


Figure 12
Gravel et al
Interactions between locomotion and respiration in lampreys

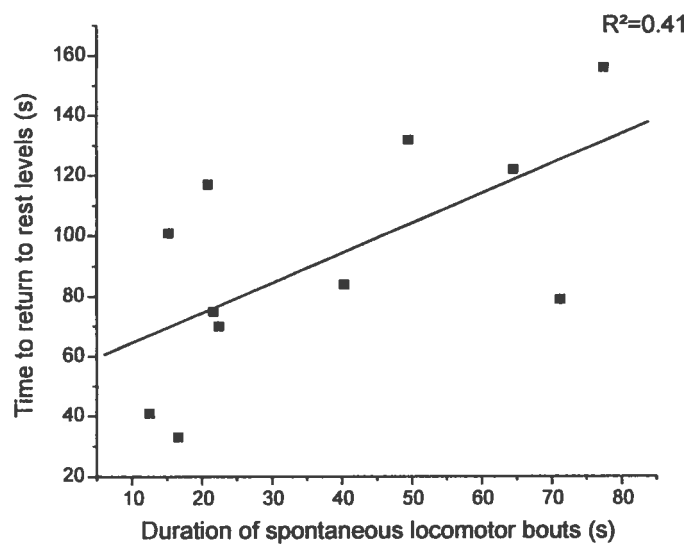
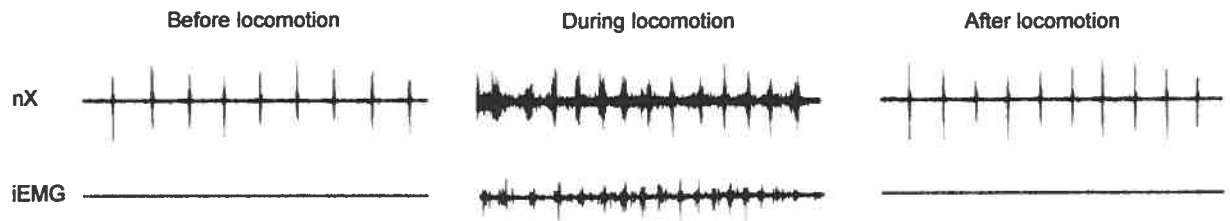
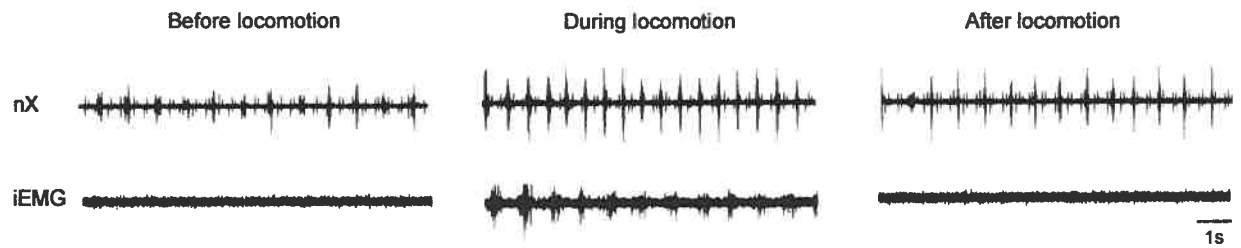


Figure 13
Gravel et al
Interactions between locomotion and respiration in lampreys

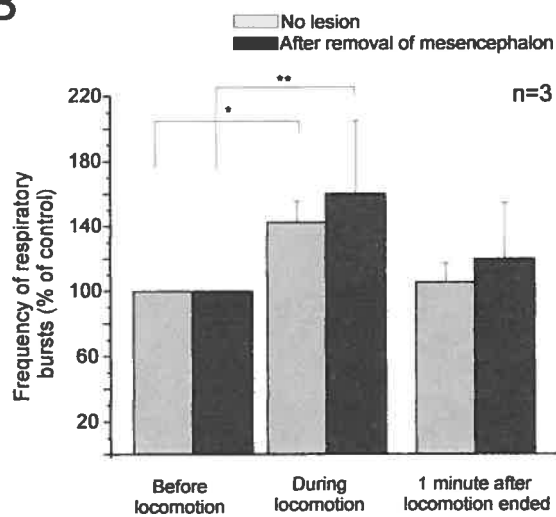
A₁ Control



A₂ After mesencephalon lesion



B



C

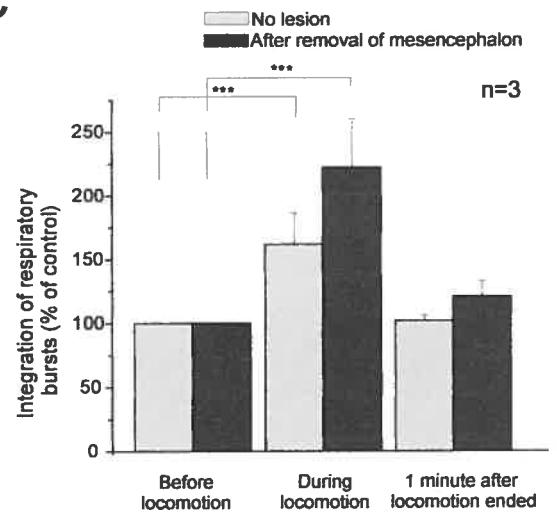
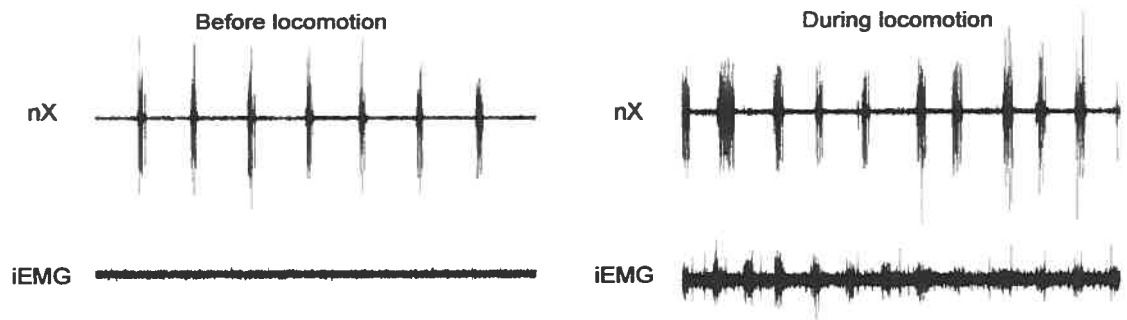


Figure 14
Gravel et al
Interactions between locomotion and respiration in lampreys

A₁ Control

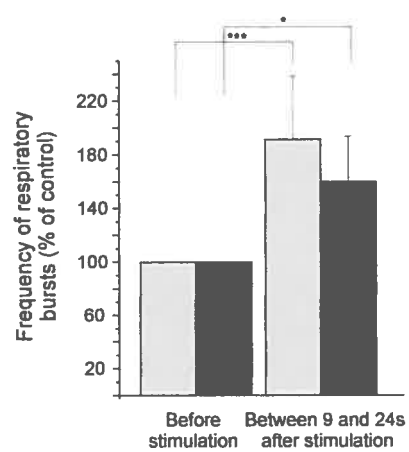


A₂ After spinal cord transection



B

No lesion
 After spinal cord transection



C

No lesion
 After spinal cord transection

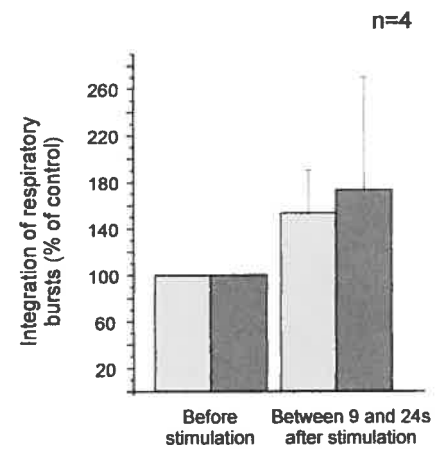
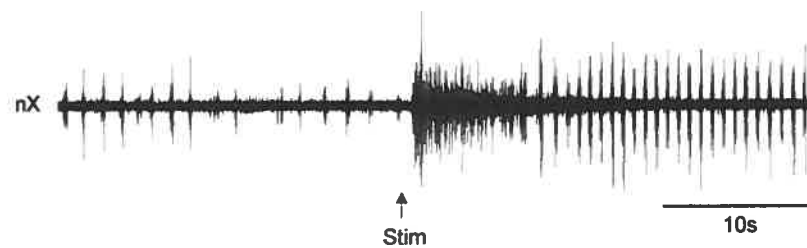
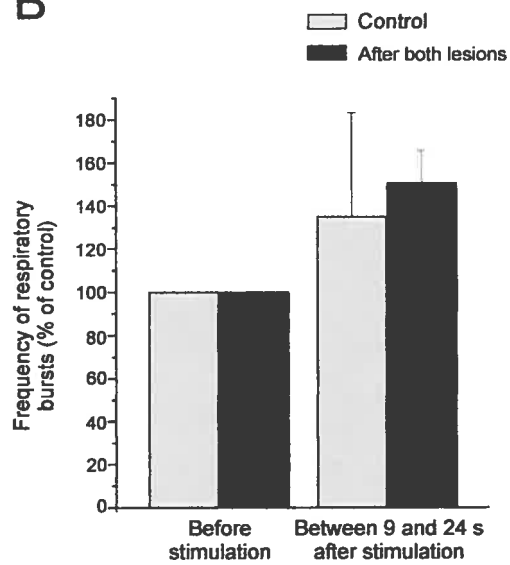


Figure 15
Gravel et al
Interactions between locomotion and respiration in lampreys

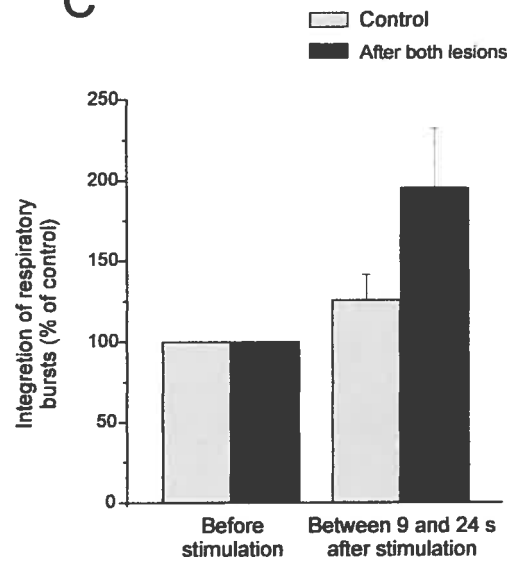
A



B



C



Discussion générale

Lors de ces expériences, nous avons observé que pendant un épisode de nage, la fréquence, l'amplitude, la durée des bouffées de décharges ainsi que l'intégrale de ces bouffées respiratoires étaient significativement augmentées. Ces modifications sont reliées à l'activité locomotrice, et non pas uniquement à l'entrée sensorielle causée par la stimulation. Lors d'un épisode spontané de nage, l'activité respiratoire est modifiée avant même le début de la locomotion. Une transection complète du SNC entre le rhombencéphale et le mésencéphale n'affecte pas la réponse obtenue après stimulation de la peau de la tête et celle-ci est même toujours possible dans un rhombencéphale isolé.

Influence des retours sensoriels

La réponse respiratoire observée est due, du moins partiellement, à l'activation des réseaux locomoteurs. En effet, des stimulations induisant la locomotion provoquent une augmentation beaucoup plus grande que des stimulations sous le seuil, ne déclenchant pas la nage. Cette vérification était nécessaire car la peau de la lamproie contient des récepteurs sensoriels réagissant au toucher, à la pression et à la douleur. Ces informations sensorielles activent les cellules dorsales. Ces cellules possèdent un corps cellulaire situé dans la moelle épinière et un axone ascendant à l'intérieur des colonnes dorsales. Elles projettent à des neurones de relais situés dans la partie caudale du tronc cérébral (Dubuc et al., 1993a, 1993b). Thompson (1990) a démontré qu'une stimulation électrique directe des cellules dorsales ou mécanique de la peau de la lamproie induit une augmentation de l'activité respiratoire chez la lamproie. Celle-ci passe du mode de

respiration normal à celui de type 'arousal', soit un rythme accéléré composé de bouffées respiratoires de plus longue durée (plus de 200 ms). Nos travaux confirment cet effet de la stimulation de la peau sur l'activité respiratoire. De plus, le fait que l'augmentation de la fréquence est plus importante lorsqu'il y a réellement de la nage suggère que l'activation des réseaux locomoteurs s'additionne à l'effet de la stimulation des voies sensorielles cutanées afin d'optimiser la réponse respiratoire.

L'effet sur la respiration est indépendant, du moins en partie, des facteurs humoraux.

Certains facteurs internes sont peuvent moduler la ventilation lors de l'exercice, notamment la concentration $[O_2]$, $[CO_2]$, $[K^+]$ et le pH (Mateika et Duffin, 1995). Plusieurs auteurs considèrent que les branchies des téléostéens contiennent des chimiorécepteurs sensibles à la concentration partielle d'oxygène (Burleson et Milsom, 1995; Sundin et al, 2000) ou encore sensible à la concentration partielle de dioxyde de carbone (Milsom, 2002; Perry et Gilmour, 2002). Il semble par ailleurs que les cellules neuroépithéliales des branchies jouent un important rôle de chimiorécepteurs sensibles à la concentration d'oxygène dans l'eau chez plusieurs espèces de poissons, soit le poisson zèbre, le poisson rouge et la truite, ainsi que chez un amphibien, la larve de *Xenopus laevis* (Saltys et al, 2005). Puisque la préparation semi-intacte utilisée dans le cadre des présentes expériences ne possède ni système circulatoire au niveau de la tête, ni branchies, ces facteurs humoraux n'ont probablement pas contribué aux résultats obtenus. De

plus, il est peu probable que ces facteurs aient varié de façon significative dans le bain d'enregistrement tout au long des expériences, étant donné l'importante vitesse de circulation du Ringer saturé en oxygène dans le bain. Néanmoins, des études supplémentaires devront être menées afin de confirmer si cette préparation est sensible à différentes concentrations de gaz dissouts dans le Ringer. Puisqu'une modification importante du patron respiratoire a été observée lors de la nage, l'hypothèse d'une interaction neuronale entre le réseau respiratoire et le réseau locomoteur a donc été privilégiée. De plus, le fait que les modifications du patron respiratoire surviennent avant même le début de la nage appuie également cette hypothèse.

Hypothèses sur le mécanisme à l'origine de l'augmentation de la durée, de l'amplitude et de la fréquence des bouffées respiratoires

Nos résultats ont démontré que la fréquence de la respiration était augmentée durant les épisodes locomoteurs. Il est possible que les réseaux neuronaux responsables de la locomotion agissent au niveau du générateur de rythme de la respiration. La circuiterie exacte sous-jacente à la genèse de la respiration n'est pas encore parfaitement connue. Plusieurs auteurs considèrent que la fréquence respiratoire est sous le contrôle d'un groupe de cellules spécialisées dans la genèse du rythme respiratoire et qui constituent un générateur de rythme. Ces cellules seraient situées dans la partie rostrale du rhombencéphale, latéral au noyau moteur du trijumeau (Rovainen, 1985; Thompson, 1985, 1990; Russell, 1986; Rovainen, 1996; Martel et al. 2005). Il est donc possible que lors de la nage,

ces cellules reçoivent des signaux modulateurs provenant des réseaux locomoteurs, ce qui permettrait alors d'adapter de façon efficace la réponse respiratoire en augmentant la fréquence des décharges.

L'augmentation de la durée et de l'amplitude des décharges respiratoires pourrait être le résultat, quant à elle, d'un effet direct sur les motoneurones plutôt que sur les cellules génératrices de rythme mentionnées plus haut. L'ajout d'influx nerveux (par exemple : retours sensoriels ou provenant des réseaux locomoteurs) pourrait être à l'origine d'une augmentation de la fréquence de décharge des motoneurones qui déchargeaient déjà avant l'apparition de la nage. Ensuite, selon le principe de taille, un plus grand nombre de neurones pourrait être recrutés (Henneman et al., 1965). En effet, les motoneurones plus petits ont un seuil de déclenchement des potentiels d'action plus bas et déchargent donc plus facilement que les motoneurones de plus grande taille, à seuil de déclenchement plus élevé. Ceux-ci pourraient être silencieux durant la respiration normale mais être recrutés au moment de la nage.

Relation entre la fréquence de la locomotion et celle de la respiration.

Aucune corrélation entre les fréquences de locomotion et de respiration n'a été observée, ce qui pourrait suggérer qu'il n'y a pas de feedback direct du CPG locomoteur. Par ailleurs, plusieurs études chez le chat ont fait mention d'une augmentation de l'activité respiratoire proportionnelle à la fréquence de la locomotion (Eldridge, 1981, 1985; Waldrop, 1986; Millhorn, 1987). De plus, peu

importe la fréquence de respiration des préparations semi-intactes au repos, celles-ci ont toutes atteint une même fréquence respiratoire durant la nage.

Dans les préparations étudiées, 3 niveaux de fréquences respiratoires ont été observés. Au repos, la respiration est lente. Suite à une activation des voies sensorielles, la fréquence de cette respiration augmente. Finalement, lors de la nage, la fréquence respiratoire fait un second saut et atteint une fréquence qui semble être maximale. Cette fréquence plafond semble être relativement stable entre les différents animaux observés. Il est possible qu'il existe une capacité physiologique maximale de l'activité respiratoire. Il importe de poursuivre des expériences pour vérifier ceci.

Malgré cette indépendance de la réponse respiratoire vis-à-vis de la locomotion, il est possible qu'il existe quand même un lien entre les réseaux locomoteurs et ceux de la respiration. En effet, des oscillations étaient observées dans le décours temporel de la fréquence respiratoire. Celles-ci étaient en antiphase avec des oscillations de même période présentes dans le décours temporel de la fréquence locomotrice. Il est possible que ce couplage entre les deux types d'activités soit dû à des interactions entre les réseaux locomoteurs et respiratoires au niveau du rhombencéphale, ou encore qu'il dépende des inputs spinaux ascendants. Après une section complète de la moelle épinière, les oscillations ne sont plus observées, favorisant donc l'hypothèse d'une implication importante du feedback de la moelle épinière dans ce phénomène (Dubuc et Grillner, 1989; Vinay et al. 1998; Einum et Buchanan, 2004). Chez les mammifères, une synchronisation des deux rythmes est souvent observée (Iscove et Polosa, 1976; Viala, 1986; Potts et

al., 2005). Cette synchronisation a été autant associée à un effet du feedback sensoriel somatique qu'à une interaction directe entre les générateurs de rythme de la locomotion et de la respiration.

L'effet sur la respiration serait anticipatoire et non réactif à l'activité locomotrice.

La lamproie est un bon modèle pour étudier ce phénomène car elle produit régulièrement des épisodes de nage spontanée. Lors de ces épisodes, la respiration est modifiée avant même le début de l'activité locomotrice. Quelques secondes avant le début de cette nage, on observe, dans environ la moitié des cas, une ou plusieurs longues bouffées de décharges. Ce type de bouffées apparaît fréquemment lors de la respiration normale au repos, autant chez les préparations de tronc cérébral isolé et les semi-intactes que *in vivo* (Rovainen, 1977, Thompson, 1985). Ces bouffées ont une durée variant entre 500 ms et 1000 ms. Ces bouffées correspondent à de fortes contractions branchiales et il a été suggéré qu'elles ont pour rôle d'évacuer des débris dans les branchies (Rovainen, 1974). Dans de nombreux cas, elles semblent avoir un effet excitateur sur le rythme de base, puis celui-ci retourne graduellement aux valeurs de base jusqu'à ce qu'une nouvelle longue bouffée apparaisse (Martel et al., 2005). Il est possible que le rôle de ces longues décharges précédant la nage soit d'activer la respiration afin de générer une réponse adéquate en prévision d'une demande métabolique plus grande. Dans d'autres cas, la nage est précédée d'une brève période d'arrêt de la respiration. Il est intéressant de noter que l'augmentation de l'activité respiratoire lors des épisodes

de nage suivant ces arrêts est comparable à celle observée suite aux épisodes précédés de bouffées longues. Ces dernières ne sont donc pas nécessaires à l'augmentation de l'activité respiratoire.

Une hypothèse pouvant expliquer l'apparition des épisodes de nage spontanée pourrait être un changement cyclique de l'excitabilité des centres locomoteurs du tronc cérébral. Par exemple, il a récemment été démontré qu'un de ces centres, la région locomotrice mésencéphalique (MLR) montre une augmentation d'excitabilité en présence de Substance P (Brocard et al. 2005). Les conditions expérimentales ayant été très stables durant les expériences, il est très peu probable que de faibles vibrations ou encore que la circulation du Ringer dans le bain aient causé la nage spontanée. Il est possible que le changement de l'activité respiratoire survenant avant le début de la nage en prévision d'un épisode locomoteur soit un exemple de mécanisme anticipatoire.

Chez les mammifères, certaines études ont démontré que des changements respiratoires pouvaient survenir avant l'apparition d'un comportement locomoteur et ce, autant lors d'une stimulation de l'hypothalamus que lors d'épisodes spontanés (Eldridge et al, 1981). De plus, une faible stimulation de l'hypothalamus peut modifier l'activité respiratoire sans que la locomotion n'ait lieu. Si on augmente progressivement le courant de stimulation, la locomotion apparaît. Il est donc possible que les centres respiratoires aient un seuil d'activation plus faible que les centres locomoteurs. Des données préliminaires chez la lamproie suggèrent la même chose (Gariépy, Gravel, Dubuc, données non publiées).

La réponse respiratoire était semblable, que la locomotion ait été induite par stimulation sensorielle ou qu'elle survienne spontanément. Cela suggère qu'une partie des mécanismes responsables de cet effet est commune. La locomotion induite par stimulation sensorielle est associée à un comportement de fuite. On sait qu'une stimulation sensorielle induit la nage via l'activation des cellules réticulospinales (Viana Di Prisco et al., 1997, 2000). La locomotion spontanée pourrait impliquer différents centres locomoteurs du tronc cérébral et du prosencéphale. Un de ces centres est la région locomotrice mésencéphalique (MLR) (Sirota et al., 2000). Il est possible que les projections provenant de la MLR ainsi que des projections sensorielles activent directement ou indirectement les mêmes régions rhombencéphaliques impliquées dans le contrôle de l'activité respiratoire.

Le rhombencéphale contient le réseau neuronal permettant la modulation de l'activité respiratoire par l'activité locomotrice.

Une stimulation cutanée transmise par le nerf trijumeau et induisant la locomotion produit toujours une augmentation de l'activité respiratoire suite à l'isolation complète du rhombencéphale du reste du SNC par transections. Ceci n'exclut pas pour autant la possibilité que les autres régions du SNC participent à la modulation de l'activité respiratoire lors de la locomotion. Le fait que les oscillations observées dans le décours temporel de la fréquence respiratoire disparaissent suite à une transection complète de la moelle épinière suggère fortement l'implication de celle-ci.

Nous savons que le rhombencéphale de la lamproie contient tous les motoneurones de la respiration (Rovainen, 1974; Kawasaki, 1984; Guimond et al., 2003). La région responsable de la genèse du rythme respiratoire n'est toutefois pas encore connue. Cependant, toutes les recherches pointent vers le rhombencéphale (Rovainen, 1977, Thompson, 1985; Russel, 1982; Martel et al., 2005). De plus, les cellules réticulospinales, responsables d'activer les CPG locomoteurs spinaux, se situent également dans le rhombencéphale (Brodin et al.; Grillner et al. 1995; Viana di Prisco et al., 2000). La proximité de ces structures locomotrices et respiratoires favorise l'hypothèse d'une interconnexion au niveau du rhombencéphale. Des études de traçage anatomiques seront réalisées prochainement afin d'éclaircir ceci.

Les mammifères demeurent des sujets plus difficiles pour les études de lésions à cause de leur survie très limitée *in vivo*. Cependant, il a été démontré que l'ablation du cortex chez le chat n'affecte pas l'hyperpnée, phénomène d'accélération du rythme respiratoire très similaire à celui décrit dans la présente étude (Ranson et Magoun, 1933; Eldridge et al., 1981, 1985; Millhorn et al., 1987). Eldridge et al. (1985) ont également enlevé le diencephale de 5 chats et induit la locomotion par stimulation de la MLR. La réponse obtenue était alors la même que chez un chat intact. Étrangement, les auteurs ont persisté à dire que le diencephale était le principal responsable de l'augmentation de l'activité respiratoire lors de la locomotion normale. Nos expériences nous permettent de conclure que les structures rostrales au rhombencéphale ne sont pas nécessaires pour obtenir cet effet sur le rythme respiratoire chez la lamproie.

Perspectives d'avenir

Ce projet n'est en fait qu'un premier pas devant mener à une meilleure connaissance des mécanismes sous-jacents à l'hyperpnée liée à la locomotion. D'abord, il faudra tenter de comprendre l'implication exacte des retours de la moelle dans ce phénomène. Pour ce faire, il s'agirait de bloquer, de façon réversible, toutes afférences provenant de la moelle épinière grâce à un puits de Xylocaïne au dessus de la moelle (Fénelon et al., 2003,2005). La locomotion serait alors induite par une stimulation cutanée de la tête de l'animal et cette locomotion 'fictive' serait enregistrée au niveau des racines ventrales rostrales au puits de Xylocaïne.

Il faudra également faire une expérience complémentaire sur une préparation isolée de tronc cérébral-moelle épinière placée dans un bain avec deux sections étanches, une comprenant la tête, le rhombencéphale et la partie rostrale de la moelle épinière, l'autre la partie caudale de la moelle épinière. L'ajout de NMDA dans la partie contenant la moelle épinière caudale déclenchera une locomotion fictive qui pourra être enregistrées au niveau des racines ventrales. On pourra ainsi évaluer l'effet de l'activation directe des CPG locomoteurs de la moelle épinière sur le rythme respiratoire enregistré dans le rhombencéphale. Des expériences faisant intervenir un tel paradigme expérimental ont déjà été réalisées par Dubuc et Grillner (1989), sans toutefois porter attention aux effets sur la respiration.

De plus, dans le cadre de ce mémoire, nous n'avons pas tenu compte du rôle possible des cellules sensibles à l'étirement, les « edge cells ». Ces mécanorécepteurs sont situés dans la marge latérale de la moelle épinière et sont

sensibles aux mouvements de torsion de la moelle épinière survenant lors de la nage (Grillner et al., 1984; Alford et al., 1990; Vinay et al. 1996). Il faudra déterminer si ces cellules participent à la réponse respiratoire observée durant la locomotion. Provoquer des mouvements passifs de la queue de l'animal sur une préparation paralysée pourrait constituer une première étape à cette étude.

Des études préliminaires semblent démontrer que la locomotion fictive induite par une stimulation électrique de la MLR d'une préparation moelle épinière-tronc cérébral, produit également une augmentation de l'activité respiratoire. Il serait intéressant de comparer cette réponse avec celles obtenues en présence ou absence de mouvement produit par la queue d'une préparation semi-intacte.

Des études de traçage anatomique pourront également être entreprises afin de caractériser la circuiterie impliquée dans ce phénomène. Il est possible qu'il existe des projections directes entre les structures locomotrices et respiratoires, par exemple entre la MLR et le générateur de rythme de la respiration. Des traceurs rétrogrades injectés dans cette dernière structure permettront de révéler une telle connexion si elle existe. De telles injections pourraient également nous informer sur l'existence de connexions entre le générateur de la respiration et les neurones du relais sensoriel du trijumeau, noyau impliqué dans la nage de fuite et qui projette aux cellules réticulospinales (Viana Di Prisco et al., 2005). Il faudra également vérifier de la même manière si une projection directe existe entre la MLR et les motoneurones respiratoires.

Conclusion

Cette étude sur l'interaction entre la respiration et la locomotion démontre qu'il existe bel et bien un lien entre ces deux fonctions motrices chez la lamproie. Lors d'épisodes de nage, il a clairement été démontré que les bouffées respiratoires voient leur amplitude et leur durée augmentées et que la fréquence du rythme respiratoire est également plus rapide. Cet effet serait dû, au moins en grande partie, à des mécanismes centraux d'origine rhombencéphalique puisque des lésions isolant le rhombencéphale de la moelle épinière et/ou du mésencéphale ne peuvent l'empêcher. De plus, le fait que des modifications de la respiration surviennent avant même le début de l'activité locomotrice spontanée suggère également un mécanisme d'origine central. Cela pourrait signifier que l'animal est en quelque sorte pré-programmé pour modifier sa respiration de façon anticipatoire afin de bénéficier d'une ventilation adaptée à une activité motrice avant même que celle-ci ne soit déclenchée. Bien que ces travaux démontrent que chez la lamproie une partie du mécanisme d'hyperpnée relié au mouvement est d'origine central, il n'est toutefois pas possible d'exclure la possibilité que d'autres facteurs puissent influencer ce phénomène. Ainsi, il est possible et même probable, si on se fie aux études réalisées chez les mammifères, que des facteurs humoraux ou encore que des retours sensoriels influencent également le rythme respiratoire lors de la nage chez l'animal intacte. Des études supplémentaires seront nécessaires pour déterminer quel est leur rôle dans le phénomène d'hyperpnée. D'autres études, à la fois de nature électrophysiologique et anatomique, devront également être menées afin de déterminer la circuiterie neuronale impliquée dans ce phénomène.

Bibliographie

Alford S, William TL, Sigvardt KA (1990) Effects of bicuculine and strychnine on synaptic inputs to edge cells during fictive locomotion. *Brain Res.* 509:137-140.

Anderson O, Grillner S (1983) Peripheral control of the cat's step cycle. II. Entrainment of the central pattern generators for locomotion by sinusoidal hip movement during 'fictive locomotion'. *Acta Physiol Scand* 118:229-239.

Ballanyi K, Onimaru H, Homma I (1999) Respiratory network function in the isolated brainstem-spinal cord of newborn rats. *Prog Neurobiol* 59:583-634.

Bianchi AI, Denavit-Saubié M, Champagnat J (1995) Central control of breathing in mammals : neuronal circuitry, membrane properties, and neurotransmitters. *Physiol Rev* 75:1-45.

Bongianni F, Deliagina TG, Grillner S (1999) Role of glutamate receptor subtypes in the lamprey respiratory network. *Brain Res* 826: 298-302.

Bramble DM, Carrier DR (1987) Running and breathing in mammals. *Science* 219:251-256.

Bramble DM (1989) Axial-appendicular dynamics and integration of breathing and gait in mammals. *Am Zool* 29:171-186.

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

Brocard F, Bardy C, Dubuc R (2005) Modulatory effect of substance P to the brain stem locomotor command in lampreys. *J Neurophysiol* 93:2127-2141.

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

Buchanan JT, Grillner S (1987) Newly identified 'glutamate interneurons' and their role in locomotion in the lamprey spinal cord. *Science* 236:312-314.

Burleson ML, Milson WK (1995) Cardio-ventilatory control in rainbow trout: I. Pharmacology of branchial, oxygen-sensitive chemoreceptors. *Respir Physiol* 100:231-238.

Campbell NA (1995) *Biologie*. Éditions du Renouveau Pédagogique Inc. Saint-Laurent, 1190 pages.

Carrier DR (1987) Lung ventilation during walking and running in four species of lizards. *Exp Biol* 47:33-42.

Casaburi R, Stringer W, Singer E, Wasserman K (1993) Dissimilarity of arterial potassium and ventilatory dynamics during sinusoidal work rate variation (abstract). In: Proceedings of 32nd Congress of the International Union of Physiological Sciences. The Physiological Society, Cambridge, p.81.

Champagnat J, Fortin G (1997) Primordial respiratory-like rhythm generation in the vertebrate embryo. *Trends Neurosci* 20:119-124.

Clarac F, Pearlstein E, Pflieger JF, Vinay L (2004) The *in vitro* neonatal rat spinal cord preparation: a new insight into mammalian locomotor mechanisms. *J Comp Physiol A Neuroethol. Sens Neural Behav Physiol* 190:343-357.

Corio M, Palisses R, Viala D (1993) Origin of the central entrainment of respiration by locomotion facilitated by MK 801 in the decerebrate rabbit. *Exp Brain Res* 95:84-90.

Costa F, Biaggioni I (1994) Role of adenosine in the sympathetic activation produced by isometric exercise in humans. *J Clin Invest* 93:1654-1660.

Denavit-Saubié M, Champagnat J, Rondouin G (1980) Central effect of adrenergic compounds on cat respiratory mechanisms. In: *Central adrenaline neurons: basic aspects and their role in cardiovascular functions*, edited by K. Fuxe, M. Goldstein, B. Höckfelt, and T. Höckfelt. Oxford, UK, p.277-287.

Dubayle D, Viala D (1993) Existence possible d'une activité inspiratoire spinale sur préparation *in vitro* tronc cérébral-moelle de rat nouveau-né, CR Acad Sci Paris, Sciences de la vie/Life Sci 316:1458-1462.

Dubayle D, Viala D (1996) Interactions between medullary and spinal respiratory generators in the *in vitro* brainstem spinal cord preparation from newborn rats. Exp Brain Res 109:1-8.

Dubayle D, Viala D (1998a) Effects of CO₂ and pH on the spinal respiratory rhythm generator *in vitro*. Brain Res Bull 45:83-87.

Dubayle D, Viala D (1998b) Entrainment of the medullary respiratory generators by electrical stimulation in the cervical grey matter on *in vitro* preparations of newborn rat. Neurosci Lett 248:204-208.

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

Dubuc R, Bongianni F, Ohta Y, Grillner S (1993a) 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.

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

Einum JF, Buchanan JT (2004) Reticulospinal neurons receive direct spinobulbar inputs during locomotor activity in lamprey. *J Neurophysiol* 92:1384-1390.

Eldridge FL, Millhorn DE, Waldrop TG (1981) Exercise hyperpnea and locomotion: parallel activation from the hypothalamus. *Science* 211:844-846.

Eldridge FL, Millhorn DE, Kiley JP, Waldrop TG (1985) Stimulation by central command of locomotion, respiration and circulation during exercise. *Respir Physiol* 59:313-337.

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

Ezure K (1990) Synaptic connections between medullary respiratory neurons and considerations on the genesis of respiratory rhythm. *Prog Neurobiol* 35:429-450.

Fénelon K, Dubuc R (2005) The effect of glycine on plateau potentials in lamprey reticulospinal cells. Soc Neurosci Abst Program No. 751.5.

Flandrois R, Favier R, Pequignot JM (1977) Role of adrenaline in gas exchanges and respiratory control in the dog at rest and exercise. *Respir Physiol* 30:291-303.

Funk GD, Milson WK, Steeves JD (1992) Coordination of wingbeat and respiration in the Canada goose. I. Passive wing flapping. *J Appl Physiol* 73:1014-1024.

Grillner S, Williams T, Lagerback PA (1984) The edge cell, a possible intraspinal mechanoreceptor. *Science*. 223: 500-503.

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

Grillner S, Deliagina T, Ekeberg O, El Manira A, Hill RH, Lansner A, Orlovsky GN, Wallen P (1995) Neural networks that co-ordinate locomotion and body orientation in lamprey. *Trends Neurosci* 18:270-279.

Grillner S, Cangiano L, Hu GY, Thompson R, Hill R, Wallén P (2000) The intrinsic function of a motor system- from ion channels to networks and behaviour. *Brain Res* 886:224-236.

Guan L, Kiemel T, Cohen AH (2001) Impact of movement and movement-related feedback on the lamprey central pattern generator for locomotion. *J Exp Biol* 204:2361-2370.

Guimond JC, Auclair F, Lund JP, Dubuc R (2003) Anatomical and physiological study of respiratory motor innervation in lampreys. *Neuroscience* 122:259-266.

Guyton AC, Hall, JE (2000) *Textbook of medical physiology*, 10th Edition. Saunders, Philadelphia, 1064 p.

Hagberg JM, King DS, Rogers MA, Mountain SJ, Jilka SM, Kohrt WM, Heller SL (1990) Exercise and recovery ventilatory and VO₂ responses of patients with McArdle's disease. *J Appl Physiol* 68:1393-1398.

Hardisty MW, Potter IC (1982) *The biology of lampreys*. Academic Press, New York. 30:75-85.

Harris-Warrick RM, Cohen AH (1985) Serotonin modulates the central pattern generator for locomotion in the isolated lamprey spinal cord. *J Exp Biol* 116:27-46.

Henneman E, Somjen G, Carpenter DO (1965) Functional significance of cell size in spinal motoneurons. *J Neurophysiol* 28: 560-580.

Iscoe S, Polosa C (1976) Synchronization of respiratory frequency by somatic afferent stimulation. *J Appl Physiol* 40:138-148.

Kawahara K, Yamauchi Y, Niizeki K, Yoshioka T (1994) Interaction between respiratory, cardiac and stepping rhythms in decerebrated cats: functional hierarchical structures of biological oscillators. *Methods Inf Med* 33:129-133.

Kawasaki R (1984) Breathing Rhythm-generation Mechanism in the Adult Lamprey (*Lampetra japonica*). *Jpn J Physiol* 34:319-335.

Kriellaars DJ, Brownstone RM, Noga BR, Jordan LM (1994) Mechanical entrainment of fictive locomotion in the decerebrate cat. *J Neurophysiol* 71: 2074-2086.

Krogh A, Lindhard J (1913) The regulation of respiration and circulation during the initial stages of muscular work. *J Physiol* 47:112-136.

Lavoisier (de) A-L, Séguin A (1789) *Premier mémoire sur la respiration des animaux*, mémoires de l'Académie de sciences, pages 688-703.

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

Marieb EN (1999) *Anatomie et physiologie humaine*, 2e edition, ERPI, 1194 pages.

Martel B, Guimond J, Kolta A, Dubuc R (2005) Respiratory generation in the lamprey rhombencephalon. Soc Neurosci Abst Program No. 866.3.

Mateika JH, Duffin J (1994) The ventilation, lactate and electro-myographic thresholds during incremental exercise tests in normoxia, hypoxia and hyperoxia. Eur J Appl Physiol 69: 110-118.

Mateika JH, Duffin J (1995) A review of the control of breathing during exercise. Eur J Appl Physiol 71:1-27.

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

McLoughlin P, Popham P, Linton RAF, Bruce RCH, Band DM (1994) Exercise induced changes in plasma potassium and the ventilatory threshold in man. J Physiol (Lond) 479:139-147.

Merrill EG (1981) Where are the real respiratory neurons? Fed Proc 40: 2389-2394.

Miller AD, Ezure K, Suzuki I (1985) Control of abdominal muscles by brain stem respiratory neurons in the cat. *J Neurophysiol* 54:155-167.

Millhorn DE, Eldridge FL, Waldrop TG, Kiley JP (1987) Diencephalic regulation of respiration and arterial pressure during actual and fictive locomotion in cat. *Circ Res* 61(suppl I):I-53-I-59.

Milsom WK (2002) Phylogeny of CO₂/H⁺ chemoreception in vertebrates. *Respir Physiol Neurobiol* 131:29-41.

Milsom WK, Chatburn J, Zimmer MB (2004) Pontine influences on respiratory control in ectothermic and heterothermic vertebrates. *Respir Physiol Neurobiol* 143:263-280.

Morin D, Viala D (2002) Coordination of locomotor and respiratory rhythms *in vitro* are critically dependent on hindlimb sensory inputs. *J Neurosci* 22:4756-4765.

Nagata A, Muro M, Moritani T, Yoshida T (1981) Anaerobic threshold determination by blood lactate and myoelectric signals. *Jpn j Physiol* 31: 585-597.

Onimaru H, Arata A, Homma I (1997) Neuronal mechanisms of respiratory rhythm generation: an approach using *in vitro* preparation. *Jpn. J Physiol* 47: 385-403.

Palisses R, Perségol L, Viala D, Viala G (1988) Reflex modulation of phrenic activity through hindlimb passive motion in decorticate and spinal rabbit preparation. *Neuroscience* 24:719-728.

Perry SF, Gilmour KM (2002) Sensing and transfer of respiratory gases at the fish gill. *J Exp Zool* 293:249-263.

Perségol L, Jordan M, Viala D, Fernandez C (1988) Evidence for central entrainment of the medullary respiratory pattern by locomotor pattern in the rabbit. *Exp Brain Res* 71:153-162.

Perségol L, Viala D (1994) Characteristics of slow bursting activities recorded in cervical ventral roots in the in vitro brainstem-spinal cord preparation of the neonatal rat. *Somatosens Mot Res* 11:57-64.

Potter IC, Welsch U, Wright GM, Honma Y, Chiba A (1995) Light and electron microscopic studies of the dermal capillaries in three species of hagfishes and three species of lampreys. *J Zool Lond* 235:677-688.

Potts JT, Rybak IA, Paton JFR (2005) Respiratory rhythm entrainment by somatic afferent stimulation. *J Neurosci* 25:1965-1978.

Ranson SW, Magoun HW (1933) Respiratory and papillary reactions induced by electrical stimulation of the hypothalamus. *Arch Neurol Psychiatry* 29:1179-1193.

Rassler B, Kohl J (2000) Coordination-related changes in the rhythms of breathing and walking in humans. *Eur J Appl Physiol* 82:280-288.

Rekling JC, Champagnat J, Denavit-Saubie M (1996) Electroresponsive properties and membrane potential trajectories of three types of inspiratory neurons in the newborn mouse brain stem in vitro. *J Neurophysiol* 75:795-810.

Rekling JC, Shao XM, Feldman JL (2000) Electrical coupling and excitatory synaptic transmission between rhythmogenic respiratory neurons in the preBötzing complex. *J Neurosci* 20:RC113: 1-5.

Roberts BL, Ballintijn CM (1988) Sensory interaction with central 'generators' during respiration in the dogfish. *J Comp Physiol A* 162:695-704.

Rovainen CM (1974) Respiratory motoneurons in lampreys. *J Comp Physiol* 94:57-68.

Rovainen CM (1977) Neural control of ventilation in the lamprey. *Fed Proc* 36: 2386-2389.

Rovainen CM (1982) Neurophysiology, In Hardisty, M.W. & Potter, I.C., (eds) *The biology of Lampreys*. Vol. 4A. Academic Press, London, pages 1-136.

Rovainen CM (1985) Respiratory bursts at the midline of the rostral medulla of the lamprey. *J Comp Physiol A* 157:303-309.

Rovainen CM (1996) Feeding and breathing in lampreys. *Brain Behav Evol* 48:297-305.

Russel DF (1986) Respiratory pattern generation in adult lampreys (*Lampetra fluviatilis*): interneurons and burst resetting. *J Comp Physiol A* 158:91-102.

Saltiel P, Rossignol S (2004) Critical points in the forelimb fictive locomotor cycle and motor coordination: effects of phasic retractions and protractions of the shoulder in the cat. *J Neurophysiol* 92:1342-1356.

Saltys HA, Jonz MG, Nurse CA (2005) Comparative study of gill neuroepithelial cells and their innervation in teleosts and *Xenopus* tadpoles. *Cell Tissue Res* 15:1-10.

Shao XM, Feldman JL (2005) Cholinergic neurotransmission in the preBötzinger complex modulates excitability of inspiratory neurons and regulates respiratory rhythm. *Neuroscience* 130:1069-1081.

Shen L, Duffin J (2002) Caudal expiratory neurones in the rat. *Pflugers Arch* 444:405-410.

Sirota MG, Viana Di Prisco G, Dubuc R (2000) Stimulation of the mesencephalic locomotor region elicits swimming in semi-intact lampreys. *Eur J Neurosci* 12:4081-4092.

Smith JC, Ellenberger HH, Ballanyi K, Richter DW, Feldman JL (1991) Pre-Bötzinger complex: A brainstem region that may generate respiratory rhythm in mammals. *Science* 254:726-729.

St-John WM (1999) Rostral medullary respiratory neuronal activities of decerebrate cats in eupnea, apneusis and gasping. *Respir Physiol* 116:47-65.

Stornetta RL, Sevigny CP, Guyenet PG (2003) Inspiratory augmenting bulbospinal neurons express both glutamatergic and enkephalinergic phenotypes. *J Comp Physiol* 455:113-124.

Sundin L, Reid SG, Rantin FT, Milsom WK (2000) Branchial receptors and cardiorespiratory reflexes in a neotropical fish, the tambaqui (*Colossoma macropomum*). *J Exp Biol* 203:1225-1239.

Thompson KJ (1985) Organization of inputs to motoneurons during fictive respiration in the isolated lamprey brain. *J Comp Physiol A* 157: 291-302.

Thompson KJ (1990) Control of respiratory motor pattern by sensory neurons in spinal cord of lamprey. *J Comp Physiol A* 166:675-684.

Thornton JM, Guz A, Murphy K, Griffith AR, Pedersen DL, Kardos A, Leff A, Adams L, Casadei B, Paterson DJ (2001) Identification of higher brain centres that may encode the cardiorespiratory response to exercise in humans. *J Physiol* 533:823-836.

Urban PP, Morgenstern M, Brause K, Wicht S, Vukurevic G, Kessler S, Stoefer P (2002) Distribution and course of cortico-respiratory projections for voluntary activation in man. *J Neurol* 249: 735-744.

Viala D, Freton E (1983) Evidence for respiratory and locomotor pattern generators in the rabbit cervico-thoracic cord and for their interactions. *Exp Brain Res* 49:247-256.

Viala D (1986) Evidence for direct reciprocal interactions between the central rhythm generators for spinal 'respiratory' and locomotor activities in the rabbit. *Exp Brain Res* 63:225-232.

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

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

Viitasalo JT, Luhtanen P, Rahkila P, Rusko H (1985) Electro-myographic activity related to aerobic and anaerobic threshold in ergometer bicycling. *Acta Physiol Scan* 124: 287-293.

Vinay L, Barthe J-Y, Grillner S (1996) Central modulation of stretch receptor neurons during fictive locomotion in lamprey. *J Neurophysiol* 76:1224-1235.

Vinay L, Bongianni F, Ohta Y, Grillner S, Dubuc R. (1998) Spinal inputs from lateral columns to reticulospinal neurons in lampreys. *Brain Res* 808:279-293.

Waldrop TG, Eldridge FL, Millhorn DE (1982) Prolonged post-stimulus inhibition of breathing following stimulation of afferents from muscle. *Respir Physiol* 50:239-254.

Waldrop TG, Eldridge FL, Millhorn DE (1983) Inhibition of breathing after stimulation of muscle is mediated by endogenous opiates and GABA. *Respir Physiol* 54:211-222.

Waldrop TG, Mullins DC, Millhorn DE (1986) Control of respiration by the hypothalamus and by feedback from contracting muscles in the cat. *Respir Physiol* 64:317-328.

Waldrop TG, Bauer RM, Iwamoto GA. (1988) Microinjection of GABA antagonists into the posterior hypothalamus elicits locomotor activity and a cardiorespiratory activation. *Brain Res* 444:84-94.

Waldrop TG, Eldridge FL, Iwamoto GA, Mitchell JH (1996) Central neural control of respiration and circulation during exercise. In: Rowell, L.B., Shepherd, J.T. (Eds) *Handbook of physiology, section 12: exercise: regulation and integration of multiple systems*. American physiological society, New York, pages 333-380.

Wang T, Carrier DR, Hicks JW (1997) Ventilation and gas exchange in lizards during treadmill exercise. *J Exp Biol* 200:2629-2639.

Wilkerson JE, Horvath SM, Gutin B, Molnar S, Diaz FJ. (1982) Plasma electrolyte content and concentration during treadmill exercise in humans. *J Appl Physiol* 53:1529-39.

Zapata P, Zuazo A (1982) Reversal of respiratory responses to dopamine after dopamine antagonists. *Respir Physiol* 47: 239-255.

Zhang B, Wootton JF, Harris-Warrick RM (1995) Ca^{2+} -dependent plateau potentials in a crab stomatogastric ganglion motor neuron. II. Ca^{2+} -activated slow inward current. *J Neurophysiol* 74:1938-1946.